Lösliches Endoglin und YKL-40 als Biomarker für die pulmonale Hypertonie

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Matthias Maerz

aus Köln

Gießen 2020

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II
Leiter: Herr Prof. Dr. Werner Seeger

des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. Henning Gall

Gutachter: Prof. Dr. med. Till Keller

Tag der Disputation: 18.02.2021

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
1.1 Pulmonale Hypertonie 1
1.1.1 Definition und Klassifikation 2
1.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie 4
1.1.3 Klinik 6
1.1.4 Diagnostik 6
1.1.5 Therapie 8
1.1.6 Prognose und Risikostratifizierung 9
1.2 Biomarker 10
1.2.1 Definition und Allgemeines 10
1.2.2 Biomarker der pulmonalen Hypertonie 10
1.3 Lösliches Endoglin und YKL-40 13
1.3.1 Lösliches Endoglin 13
1.3.2 YKL-40 17
2 Fragestellung 20
3 Material und Methoden 21
3.1 Studienkollektiv 21
3.2 Blutproben 21
3.3 Enzym-linked Immunosorbent Assay 22
3.4 Erfassung der klinischen Parameter 23
3.5 Statistische Auswertung 24
4 Ergebnisse 26
4.1 Lösliches Endoglin 26
4.1.1 Studienkollektiv 26
4.1.2 Biomarkerverteilung 27
4.1.3 SEng als Biomarker bei PH-Patienten 28
4.1.4 SEng als Biomarker der einzelnen ätiologischen Gruppen 34
4.2 YKL-40 39
4.2.1 Studienkollektiv 39
4.2.2 Biomarkerverteilung 40
4.2.3 YKL-40 als Biomarker bei PH-Patienten 41
4.2.4 YKL-40 als Biomarker der einzelnen ätiologischen Gruppen 49
5 Diskussion 55
5.1 Diskussion zum löslichen Endoglin 55
5.1.1 Rolle von sEng als ein diagnostischer Biomarker bei PH 55

5.1.2 Rolle von sEng bezüglich des Schweregrads der PH 59
5.1.3 Bedeutung von sEng als ein prognostischer Biomarker bei PH 60
5.1.4 SEng und die Rolle bezüglich der Angiogenese 61
5.2 Diskussion zu YKL-40 63
5.2.1 Rolle von YKL-40 als ein diagnostischer Biomarker bei PH 63
5.2.2 Rolle von YKL-40 bezüglich des Schweregrads der PH 65
5.2.3 Bedeutung von YKL-40 als ein prognostischer Biomarker bei PH 66
5.2.4 YKL-40 als allgemeiner Biomarker für die Prognose 67
5.3 Studienlimitationen 69
5.4 Ausblick 70
6 Zusammenfassung 71
7 Anhang 73
7.1 ELISA für humanes Endoglin (CD105) 73
7.2 ELISA für humanes YKL-40 (CHI3L1) 75
7.3 Ergebnisse der Altersunterschiede des Post-Hoc-Tests bei YKL-40 77
7.4 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei sEng 78
7.5 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei sEng (dichotomisiert) 79
7.6 Übersicht der Ergebnisse bei den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten von sEng 80
7.7 Übersicht der Ergebnisse bei den einzelnen PH-Gruppen und den Ausschluss-PH-Patienten von sEng 81
7.8 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei YKL-40 82
7.9 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei YKL-40 (dichotomisiert) 83
7.10 Übersicht der Ergebnisse bei den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten von YKL-40 (logarithmiert) 84
7.11 Übersicht der Ergebnisse bei den einzelnen PH-Gruppen und den Ausschluss-PH-Patienten von YKL-40 (logarithmiert) 85
8 Schreiben der Ethikkommission 86
9 Abbildungsverzeichnis 88
10 Tabellenverzeichnis 90
11 Abkürzungsverzeichnis 91
12 Literaturverzeichnis 95
13 Erklärung zur Dissertation 108
14 Danksagung 109

1 Einleitung

1.1 Pulmonale Hypertonie

Die Lunge unterscheidet sich insbesondere durch ihre Zirkulation von den anderen Organen des menschlichen Körpers. Der Lungenkreislauf wird als Niederdrucksystem bezeichnet. [90] In Ruhe liegt der normale pulmonal-arterielle Mitteldruck beim gesunden Erwachsenen bei 14 ± 3 mmHg und die obere Grenze der Norm liegt bei ca. 20 mmHg [74]. Die Lungengefäße besitzen die Möglichkeit diese Druckverhältnisse sogar bei maximaler Steigerung des Herzzeitvolumens (HZV), wie es z.B. bei starker körperlicher Belastung der Fall ist, nur mäßig ansteigen zu lassen. Diese Tatsache beruht auf verschiedenen Mechanismen, wie der druckpassiven Dehnung (Distension), der Rekrutierung von in Ruhe kollabierten Gefäßarealen, insbesondere der apikalen Lungenabschnitte sowie der aktiven Vasodilatation der Lungengefäße. [90] Aufgrund dieser Regulationsmechanismen zusammen mit dem vergleichsweise niedrigen Druck der Lungengefäße besitzt die Lunge primär keine hypertensive Prädisposition [28].

Ein weiterer Unterschied der pulmonalen Strombahn zur Übrigen ist die autonome Regulierung der Gefäße mit Hilfe der hypoxischen Vasokonstriktion. Diese Regulierung, auch als von Euler-Liljestrand Mechanismus bezeichnet, spielt eine elementare Rolle bei der Anpassung der lokalen Perfusion an die lokale Ventilation. [107]

Die pulmonale Hypertonie (PH), also eine Druckerhöhung in den pulmonalen Gefäßen, kann eingeteilt werden in eine akute und in eine chronische Form. Die akute Form ist durch einen sprunghaften Anstieg des Drucks mit einer Ausschöpfung der Regulationsmechanismen und klinischen Zeichen des Rechtsherzversagens charakterisiert. Dies kann unterschiedliche Ursachen haben. Sie kann beispielsweise durch eine akute Embolisation der Lungengefäße ausgelöst sein oder durch Komplikationen wie Infektionen bei Patienten mit einer chronischen pulmonalen Hypertonie als eine akute pulmonal-hypertensive Krise auftreten. [90]

Eine andere Gruppe an Erkrankungen bildet die seltenere **chronische pulmonale Hypertonie**, die im Folgenden ausschließlich in dieser Arbeit behandelt wird [90].

1.1.1 Definition und Klassifikation

Die PH ist eine schwere Erkrankung der Lungenstrombahn [121]. Sie ist grundsätzlich definiert als eine Erhöhung des pulmonal-arteriellen Mitteldrucks (mPAP) auf ≥ 25 mmHg in Ruhe während eines invasiven Rechtsherzkatheters (RHK) [57,74]. Der Bereich von > 20 mmHg bis < 25 mmHg als wird Übergangsbereich oder auch als *Borderline-PH* bezeichnet. Die Bedeutung bzw. die Frage nach dem Krankheitswert in diesem Übergangsbereich sind nach dem aktuellen Stand nur unzureichend zu beantworten. [57]

Es gibt Ansätze für die Definition die Erhöhung des mPAP auf 20 mmHg in Ruhe zu reduzieren [34]. Diese Grenze hat jedoch noch keinen Einzug in aktuelle Leitlinien gefunden [33].

Darüber hinaus wird in der aktuellen Definition eine präkapilläre von einer postkapillären Form der PH mit Hilfe von hämodynamischen Kriterien unterschieden [33]. Diese Unterscheidung wird benötigt, um die PH in ihre einzelnen ätiologischen Untergruppen einzuteilen. Eine präkapilläre PH liegt bei einem mPAP von ≥ 25 mmHg und einem pulmonal-arteriellen Verschlussdruck (PAWP) von ≤ 15 mmHg vor. [57] Eine postkapilläre PH liegt infolgedessen bei einem mPAP von ≥ 25 mmHg und einem PAWP von > 15 mmHg vor [33,125].

Die PH wurde Aufgrund einer Vielzahl an Ursachen erstmals 1998 in Evian, Frankreich, in fünf verschiede Untergruppen unterteilt [130]. Das Ziel dieser Einteilung war unterschiedliche Gruppen mit ähnlichen pathophysiologischen Mechanismen, klinischen Symptomen und therapeutischen Optionen zu bilden. Während der 6. Weltkonferenz 2018 bzw. in der gemeinsamen Leitlinie von 2015 der *European Society of Cardiology* (ESC) und der *European Respiratory Society* (ERS) wurde diese Einteilung aktualisiert und ergänzt. [33,34,131]. Es werden fünf Gruppen unterschieden. Die genaue Einteilung ist in Tab. 1 auf Seite 3 dargestellt.

Klassifikation der pulmonalen Hypertonie

1. Pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH)
- 1.1 Idiopathisch (IPAH)
- 1.2 Hereditär
  - 1.2.1 BMPRII-Mutation
  - 1.2.2 Sonstige Mutationen
- 1.3 Durch Medikamente oder Toxine verursacht
- 1.4 Assoziiert mit:
  - 1.4.1 Bindegewebserkrankungen (CTD)
  - 1.4.2 Infektionen mit dem humanen Immundefizienz-Virus (HIV)
  - 1.4.3 Portale Hypertension
  - 1.4.4 Angeborenen Herzfehlern (CHD)
  - 1.4.5 Schistosomiasis

1´. Pulmonale veno-okklusive Erkrankung und/ oder pulmonale kapilläre Hämangiomatose

1´´. Persistierende pulmonale Hypertonie des Neugeborenen

2. Pulmonale Hypertonie infolge von Linksherzerkrankungen (PH-LHD)
- 2.1 Linksventrikuläre systolische Dysfunktion
- 2.2 diastolische Dysfunktion
- 2.3 Klappenerkrankungen, linksventrikulär
- 2.4 Angeborene/ erworbene Linksherz-Einfluss-/ Ausfluss-Obstruktionen und angeborene Kardiomyopathien
- 2.5 Angeborene/ erworbene Pulmonalvenenstenose

3. Pulmonale Hypertonie infolge von Lungenerkrankungen und/ oder Hypoxie
- 3.1 Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)
- 3.2 Interstitielle Lungenerkrankung (ILD)
- 3.3 Andere Lungenerkrankungen mit gemischt restriktivem und obstruktivem Muster
- 3.4 Schlafbezogene Atemstörung
- 3.5 Alveoläre Hypoventilationsstörung
- 3.6 Chronischer Aufenthalt in großer Höhe
- 3.7 Entwicklungsstörungen der Lunge

4. Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie und andere Pulmonalarterienobstruktionen
- 4.1 Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie (CTEPH)
- 4.2 Andere Pulmonalarterienobstruktionen
  - 4.2.1 Angiosarkom
  - 4.2.2 Andere intravaskuläre Tumore
  - 4.2.3 Arteriitis
  - 4.2.4 Angeborene Pulmonalarterienstenose
  - 4.2.5 Parasiten (Hydatidose)

5. Pulmonale Hypertonie mit unklarem und/ oder multifaktoriellem Mechanismus
- 5.1 Hämatologische Erkrankungen: chronische hämolytische Anämie, myeloproliferative Erkrankungen, Splenektomie
- 5.2 Systemische Erkrankungen: Sarkoidose, pulmonale Langerhans-Zell-Histiozytose, Lymphangioleiomyomatose
- 5.3 Metabolische Störungen: Glykogenspeicherkrankheiten, M. Gaucher, Schilddrüsenerkrankungen
- 5.4 Andere: pulmonale tumorbedingte thrombotische Mikroangiopathie, fibrosierende Mediastinitis, chronisches Nierenversagen (mit/ ohne Dialyse), segmentale pulmonale Hypertonie

Tab. 1: Aktualisierte klinische Klassifikation der pulmonalen Hypertonie (mod. nach Galie et al. 2015a und Rosenkranz et al. 2016 [33,125]); BMPRII: bone-morphogenetic-protein-receptor II

1.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie

Pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH):

Die PAH, als eine Gruppe der präkapillären PH, benötigt zusätzlich definitionsgemäß einen pulmonal vaskulären Widerstand (PVR) von > 3 Wood-Einheiten (WU, entspricht 240 dyn) sowie das Fehlen von anderen Gründen für eine PH [33,57].

Die PAH ist eine Erkrankung der kleinen Lungenarterien, bei der es zu einer chronischen Erhöhung des PVR und mPAP kommt. Wichtige Veränderungen sind eine dauerhafte Vasokonstriktion, chronische Gefäßumbauprozesse und die in-situ Thrombosierung [60]. Neben Fibroblasten und glatten Muskelzellen spielen die Endothelzellen eine besondere Rolle. Durch eine Dysfunktion dieser Zellen kommen verschiedene Prozesse aus dem Gleichgewicht. Zu nennen wäre hierbei die Beeinflussung der Vasokonstriktion bzw. -dilatation, die Stimulierung der glatten Muskelzellen in Wachstum und Migration, thrombotische Prozesse sowie Entzündungssignale. [95] Diese komplexen Zusammenhänge verdeutlichen, dass die PAH zusätzlich zu der Veränderung des Gefäßtonus als eine entzündliche, chronisch-proliferative Erkrankung verstanden wird [48]. Diese Gruppe der pulmonal-arteriellen Hypertonie wird in eine idiopathische PAH, in eine hereditäre Form der PAH (HPAH), in eine Medikamenten- bzw. Toxin-induzierte PAH und ein eine PAH assoziiert mit anderen Erkrankungen (APAH) unterteilt [33]. Bei der familiären Form der PAH konnte in 75% der Fälle eine Mutation in dem *bone morphogenetic protein receptor II (BMPRII)* nachgewiesen werden [134]. Des Weiteren gibt es eine durch Medikamente oder toxische Stoffe ausgelöste PAH. Diese Medikamenten- bzw. Toxin-induzierte Erkrankung kann beispielsweise durch den Konsum von Appetitzüglern wie Derivaten der Fenfluramine ausgelöst werden. [1] Als eine weitere Untergruppe bezeichnet man die PAH, welche mit anderen Erkrankungen assoziiert ist (APAH). Als Erkrankungen wären Bindegewebserkrankungen (*Connective tissue disease*, CTD), Infektionen mit dem humanen Immundefizienz-Virus (HIV), eine portale Hypertonie, angeborene Herzfehler (CHD) und die Schistosomiasis zu nennen. [131] Die PAH aufgrund von Bindegewebserkrankungen (CTD) hat einen besonderen Stellenwert. In Europa und den USA scheint die systemische Sklerose (SSc) den größten Anteil an den CTDs zu stellen [21,61]. 5-12% der Patienten mit einer systemischen Sklerose erkranken an einer PAH [5,96], weshalb ein Screening auf eine APAH empfohlen wird [68]. Als letztes wäre die Diagnose einer idiopathischen PAH (IPAH) zu

nennen. Wichtig bei dieser Gruppe ist, dass dies nur eine Ausschlussdiagnose ist und diese nur verwendet wird, wenn keine andere Ursache der PAH in Betracht kommt. [33]

Pulmonale Hypertonie infolge von Linksherzerkrankungen (PH-LHD):

Die pulmonale Hypertonie infolge von Linksherzerkrankungen (PH-LHD) ist zusätzlich zum erhöhten mPAP durch einen PAWP von > 15 mmHg charakterisiert und somit als postkapillär definiert. Man unterscheidet zwischen einer isoliert postkapillären PH (Ipc-PH) und einer kombinierten post- und präkapillären PH (Cpc-PH). Hierfür wird zusätzlich noch der diastolische pulmonale Druckgradient (DPG= diastolischer PAP - PAWP) und der PVR hinzugezogen. [33] Diese genaue Unterscheidung bedarf jedoch weitere Untersuchungen [125]. Durch einen Rückstau im linken Ventrikel kommt es im linken Atrium zu einer Druckerhöhung, welche durch den weiteren Rückstau einen erhöhten mPAP erklärt [29]. Über die Zeit kommt es ähnlich der PAH zu einer endothelialen Dysfunktion und strukturellen Umbauprozessen [94]. Hierdurch kommt es zu einer Steigerung des PVR und einer abermaligen Steigerung des mPAP über die eigentliche Steigerung des PAWP [139].

Pulmonale Hypertonie infolge von Lungenerkrankungen und/oder Hypoxie:

Eine chronische Hypoxie, wie bei Lungenerkrankungen oder dem Aufenthalt in großen Höhen, kann eine pulmonale Hypertonie begünstigen [132]. Die PH ist häufig sowohl in der schweren Form einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) als auch bei schweren interstitiellen Lungenerkrankung zu finden [128]. Neben der bereits angesprochenen hypoxischen Vasokonstriktion spielen hierbei Hypoxie induzierte Entzündungsreaktionen und Gefäßumbauprozesse eine bedeutende Rolle [151].

Chronische thromboembolische pulmonale Hypertonie (CTEPH):

Für die Diagnose einer CTEPH ist wichtig, dass vor dieser Diagnosestellung mindestens 3 Monate eine effektive Antikoagulation stattgefunden hat. Zusätzlich muss ein Perfusionsdefizit in der Lunge nachgewiesen sein [33,79]. Um dieses Perfusionsdefizit zu finden eignet sich bei PH-Patienten am Besten die Ventilations-Perfusions-Szintigraphie [138]. Das wichtigste Merkmal gegenüber der PAH ist die inhomogene Verteilung der Pathologien in Segmenten des Gefäßnetzes und deren Zusammenhang zu venösen Thromboembolien [80]. Eine der Begründungen der Entstehung einer CTEPH ist eine entzündliche Thrombose, bei der nicht-spaltbare Fibrinmoleküle, eine

unausgeglichene Koagulation, verklebte rote Blutkörperchen durch infektiöse, entzündliche oder immunologische Prozesse beeinflusst werden und es zu Umbauprozessen in den Gefäßen kommt [79,80]. Die CTEPH ist eine langfristige Komplikation nach einer Lungenembolie. Die kumulative Inzidenz nach dem Ereignis einer Lungenembolie liegt bei ca. 1-3,8% [8,110].

1.1.3 Klinik

Die klinische Symptomatik der PH ist sehr unspezifisch und steht primär im Zusammenhang mit einer progredienten rechtsventrikulären Dysfunktion. Zu Beginn kann sie aus Belastungsdyspnoe und Ödemen bestehen. Im weiteren Verlauf kommen jedoch häufig Schwindel, Synkopen und pektanginöse Beschwerden hinzu. [33,133] Weniger häufig wird von den Patienten ein trockener Husten und belastungsabhängige Übelkeit und Erbrechen beschrieben. Zu bedenken ist jedoch, dass das klinische Erscheinungsbild durch Begleiterkrankungen verändert werden kann. [33]

1.1.4 Diagnostik

Die Diagnose der PH soll nach einem bestimmten Algorithmus erfolgen, welcher in der Leitlinie von 2015 [33] beschrieben wird und in Abb. 1 auf Seite 7 modifiziert gezeigt ist. Durch die Anamnese und die klinische Symptomatik kann der Verdacht auf eine PH entstehen. Dieser kann durch eine Echokardiographie erhärtet werden. Hierbei kann der systolische pulmonal-arterielle Druck (sPAP) gemessen werden. Dieser besitzt eine gute Sensitivität (87%) und eine mäßige bis gute Spezifität (79%) bei der Diagnose einer PH [43]. Somit dient die Echokardiografie als ein wichtiges Screeninginstrument für eine PH [16]. Zusätzlich werden unterstützend weitere Untersuchungen durchgeführt, um den Verdacht zu erhärten. Hierzu zählen das Elektrokardiogramm, eine Lungenfunktionsprüfung, die Abnahme des *brain natriuretic peptide* (BNP) und bildgebende Untersuchungen wie eine Röntgenuntersuchung des Thorax oder eine Computertomographie. Konnte sich der Verdacht auf eine PH bestätigen, kommt als nächster Schritt eine Ventilations-Perfusions-Szintigrafie zum Einsatz. Hier kann das Vorliegen von Perfusionsdefiziten untersucht werden und so den Verdacht auf eine CTEPH lenken. Im Folgenden ist es wichtig zu erwähnen, dass die weitere Diagnostik an einem Expertenzentrum für PH durchgeführt werden soll. [33,133] (Siehe Abb. 1)

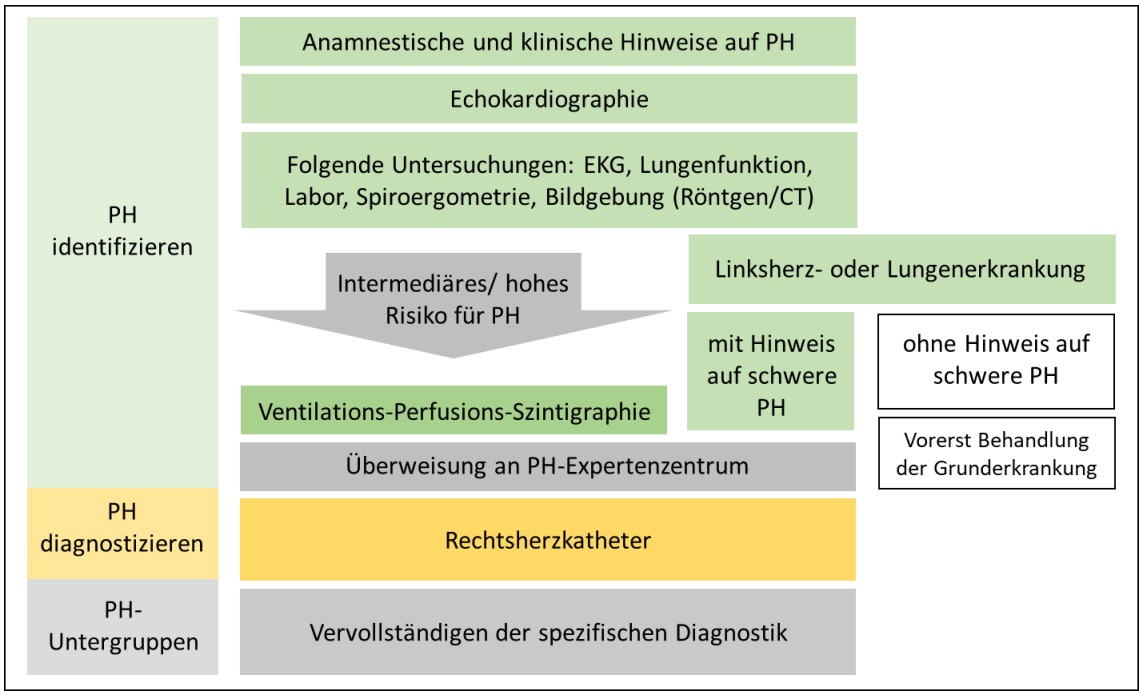

Abb. 1: Diagnosealgorithmus der PH, mod. nach Sommer, Richter et al. [133] und Galie et al. [33]
Abkürzung: EKG: Elektrokardiogramm, CT: Computertomographie

Falls in der Diagnostik eine Linksherz- oder Lungenerkrankung festgestellt werden sollte, wird empfohlen, nur bei dem Verdacht auf eine schwere PH die Patienten an ein Zentrum für PH zu überweisen. Andernfalls kann zunächst die Grunderkrankung therapiert werden. [33,133]

An dem Zentrum für PH wird nun die Diagnose einer PH definitionsgemäß mit Hilfe eines RHK gestellt [33]. Hier kann wie oben beschrieben mit Hilfe des mPAP und des PAWP eine präkapilläre von einer postkapillären Form abgegrenzt werden. Zusätzlich sind auch die Herzleistung über das Herzzeitvolumen (HZV) und der Herzindex (*cardiac index*, CI) bestimmbar [33]. Die Untersuchung hat ein geringes Morbiditäts- (1,1%) und Mortalitätsrisiko (0,055%) [56] Der Rechtsherzkatheter ist ein Ballon-Einschwemmkatheter, welcher über die bevorzugt rechte *Vena jugularis* und die *Vena cava superior* in das rechte Atrium und dann über den rechten Ventrikel in die Pulmonalarterie eingeschwemmt wird. So können direkt die Drücke im rechten Atrium, im rechten Ventrikel und in der Pulmonalarterie gemessen werden. Durch den Ballon an der Spitze des Katheters ist es möglich den pulmonal-arteriellen Verschlussdruck (PAWP) zu messen, welcher bei einer PH-LHD erhöht wäre.[33,57,90]

Bei Patienten mit einer CTEPH kann abschließend noch eine Angiographie der Pulmonalarterie durchgeführt werden, um eine eventuelle Operabilität abzuklären (s.u.). [70] Falls eine PAH wahrscheinlich ist, werden noch spezifische Folgeuntersuchungen durchgeführt, wie beispielsweise immunologische (bei Verdacht auf CTD), virologische und spezielle bildgebende Verfahren [133]. Die IPAH ist wie oben bereits beschrieben eine Ausschlussdiagnose. [33]

1.1.5 Therapie

Die Therapie der PH unterscheidet sich in allgemeine Maßnahmen, eine supportive und eine spezifische Therapie. Bei allgemeinen Maßnahmen wäre eine konsequente Verhütung bei weiblichen Patienten, eine Impfprophylaxe, psychologische Betreuung und ein überwachtes körperliches Training abzuwägen. [33,44] Die supportive Therapie richtet sich sehr nach den individuellen Bedürfnissen und kann aus einer Diuretikatherapie, einer Langzeitsauerstofftherapie (LTOT), ggf. einer Antikoagulation (z.B. bei CTEPH) und weiteren Therapieoptionen, insbesondere bei Komorbiditäten, bestehen. [33,44]

Die spezifische Therapie bei PAH baut auf einer individuellen Risikostratifizierung auf. [58] Die Therapieoptionen beziehen sich vorwiegend auf die endotheliale Dysfunktion. Zu nennen wäre eine Verstärkung des NO-cGMP-Signalweges mit Hilfe von Phosphodiesterase-5-Inhibitoren (PDE5-I) und Stimulatoren der löslichen Guanylatcyclase (sGC). Als weitere Gruppen gibt es die Endothelinrezeptorantagonisten (ERA), die Prostazykline bzw. Prostazyklinanaloga sowie einen Prostazyklin-Rezeptor-Agonisten. [33,58,133] Zu beachten ist, dass manche Medikamente nur bei bestimmten funktionellen WHO-Klassen (WHO-FC, siehe Tab. 2 auf Seite 24) zugelassen sind. [33,133]

Bei Patienten mit einer IPAH und verwandter Formen kann eine Vasoreagibilitätstestung zur Identifikation von Kalziumantagonisten-Respondern erwogen werden. [33,58]

Als nichtmedikamentöse Therapieoptionen gibt es bei schwer betroffenen Patienten die Option der Lungentransplantation und bei Patienten mit einer CTEPH die pulmonale Endarteriektomie. [33,133]

1.1.6 Prognose und Risikostratifizierung

Die Prognose der PH ist trotz aller Therapiemöglichkeiten schlecht. [33,133] Das 5-Jahres-Überleben liegt bei PH-Patienten bei ca. 54%, auch wenn sich dieses wiederum in den einzelnen Gruppen deutlich unterscheidet. [35]

Bei Patienten mit einer PAH (IPAH und PAH-CTD) ist das 5-Jahres-Überleben bei ca. 59%, wohingegen das 5-Jahres-Überleben bei Patienten mit einer CTEPH bei ca. 67% liegt. Bezüglich der Gruppe der Patienten mit einer PH bei Linksherzerkrankungen liegt das 5-Jahres-Überleben bei ca. 56%. Das generell schlechtere Überleben der gesamten PH-Patienten ist damit assoziiert, dass Patienten mit einer PH aufgrund einer Lungenerkrankung eine schlechtere Prognose haben (COPD 5JÜ 54%, ILD 5JÜ 22,5%). [35]

Eine Risikostratifizierung sollte in regelmäßigen Verlaufskontrollen in PH-Expertenzentren erfolgen. Da es aktuell keine einzelne Variable gibt, welche die Prognose der Patienten zufriedenstellend wiedergeben kann, ist eine zusammenfassende Sicht einzelner Unterbefunde von Nöten. [33]

Empfohlen wird eine Begutachtung nach Zeichen eines Rechtsherzversagens bzw. einer Verschlechterung dieser Symptome. Dies kann mit einer ausführlichen Anamnese, einer körperlichen Untersuchung sowie der WHO-FC annähernd versucht werden. Belastungsuntersuchungen, Laborparameter und regelmäßige EKG-Untersuchungen können weitere Hinweise liefern. Somit werde diese in mindestens halbjährlichen Verlaufskontrollen empfohlen. [33,133] Verlaufskontrollen nach einer längeren Zeitspanne sollten ebenfalls eine Blutgasanalyse sowie eine Echokardiographie beinhalten. Als invasives Verfahren kann ein erneuter Rechtsherzkatheter zur Erfassung hämodynamischer Parameter erwogen werden. [33]

Für den Fall einer klinischen Verschlechterung oder der Notwendigkeit einer Therapieeskalation wird ein engmaschigeres Monitoring empfohlen. [33]

1.2 Biomarker

1.2.1 Definition und Allgemeines

Im Jahr 2001 wurde der Begriff Biomarker (biologischer Marker) von der Arbeitsgruppe des National Institute of Health (NIH) wie folgend definiert:

"A characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes or pharmacologic responses to a therapeutic intervention." [13]

Ob es sich hierbei um eine Komponente eines biologischen Systems (z.B. Urin, Plasma) handelt oder ob es eine biologische Zustandsgröße (z.B. Konzentration X im Plasma, der Blutdruck) ist, wird nicht einheitlich berücksichtigt [31]. So können klinische Beobachtungen, Messdaten oder erhobene Laborwerte unter kontrollierten Bedingungen als Biomarker fungieren [93]. Biomarker besitzen außerdem unterschiedliche Anwendungsbereiche. Sie können als diagnostische Biomarker verwendet werden, um Patienten mit bestimmten Krankheiten oder Zuständen, die eine Krankheit begünstigen, zu identifizieren. Darüber hinaus können sie auch die Möglichkeit besitzen den Schweregrad einer Erkrankung einzuschätzen. Ein anderer Bereich wäre der Nutzen für die prognostische Einschätzung. Als letztes wäre noch die Vorhersage oder die Überwachung einer klinischen Reaktion auf eine Therapie zu nennen, welche positive oder negative Konsequenzen für den Patienten haben könnte. [13]

1.2.2 Biomarker der pulmonalen Hypertonie

Im Folgenden wird sich ausschließlich auf biochemische Marker bezogen. Die Auswahl an Biomarkern für die PH wächst konstant [4,89]. Das BNP bzw. das N-Terminale Propeptid BNP (NT-proBNP) haben es soweit als wichtigste in die Routinepraktiken der PH-Zentren geschafft [33]. Zusätzlich werde in der klinischen Routine weitere Marker untersucht, welche primär mit anderen Organschäden in Verbindung stehen. Zu nennen wären der Kohlenstoffdioxydpartialdruck im Blut (pCO_2), die Troponine T und I, das C-reaktive-Protein (CRP), Nierenparameter und das Bilirubin. [89]

Aufgrund der Relevanz wird das BNP im Folgenden kurz angesprochen.

Das *brain natriuretic peptide*:

Das BNP wurde im Jahr 1988 erstmals in Gehirnen von Schweinen nachgewiesen und wird deswegen im englischen auch als *brain natriuretic peptide* bezeichnet [135]. Hormone wie das atriale natriuretische Peptid (ANP) oder das BNP werden von den kardialen Muskelzellen als eine Reaktion auf einen erhöhten Druck oder eine Volumenüberlastung sezerniert [149]. Diese Druckerhöhung bzw. die Volumenüberlastung führt zu einer vermehrten Dehnung des Ventrikels, aus welchem BNP überwiegend sezerniert wird [150]. BNP wird als Propeptid (Pro-BNP) gebildet und durch eine Protease in BNP und NT-proBNP gespalten. Das NT-proBNP ist ein inaktives Peptid, von dem keine aktiven Funktionen bekannt sind [145,149]. Natriuretische Peptide wirken an der Niere und führen zu einer vermehrten Natrium- und Wasserausscheidung. Darüber hinaus führen sie über eine Gefäßdilatation zu einer Blutdrucksenkung und zu einer Senkung der Vorlast des rechten Ventrikels [145].

Erhöhte BNP-Werte wurden bei Patienten mit einer PAH [100], bei Patienten mit einer PH aufgrund von Lungenerkrankungen [18,82] und bei Patienten mit einer CTEPH [101] gefunden. Des Weiteren korreliert das BNP mit dem Schweregrad der Erkrankung [83] und der Prognose der Patienten [100]. Als Alternative zu dem BNP gibt es das NT-proBNP, welches dem Anschein nach die gleichen Informationen wie BNP liefern kann [46]. Es ist bei Patienten mit einer PH erhöht, korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung und liefert Informationen über die Prognose der Patienten [3]. Da die beiden Proteine jedoch eine niedrige Spezifität besitzen, kommen sie nicht für die alleinige Diagnose einer PH infrage [133,145]. Es gibt keine klaren Vorteile bei der PH zwischen BNP und NT-proBNP [33].

Potenzielle Biomarker der PH:

Die Komplexität und der Umfang der potenziellen Biomarker sind nach Anwar, Ruffenach et al. in Abb. 2 auf Seite 12 schematisch am Beispiel der PAH dargestellt [4]. Die Liste wächst konstant. [89] Man kann diese einzelnen Marker auf verschiedene Gruppen einteilen, welche jedoch nicht definitiv sind. Eine Alternative wäre die Einteilung in Entzündung, endotheliale Dysfunktion, Endorganschäden, in situ Thrombose und myokardialen Stress.[4,89]

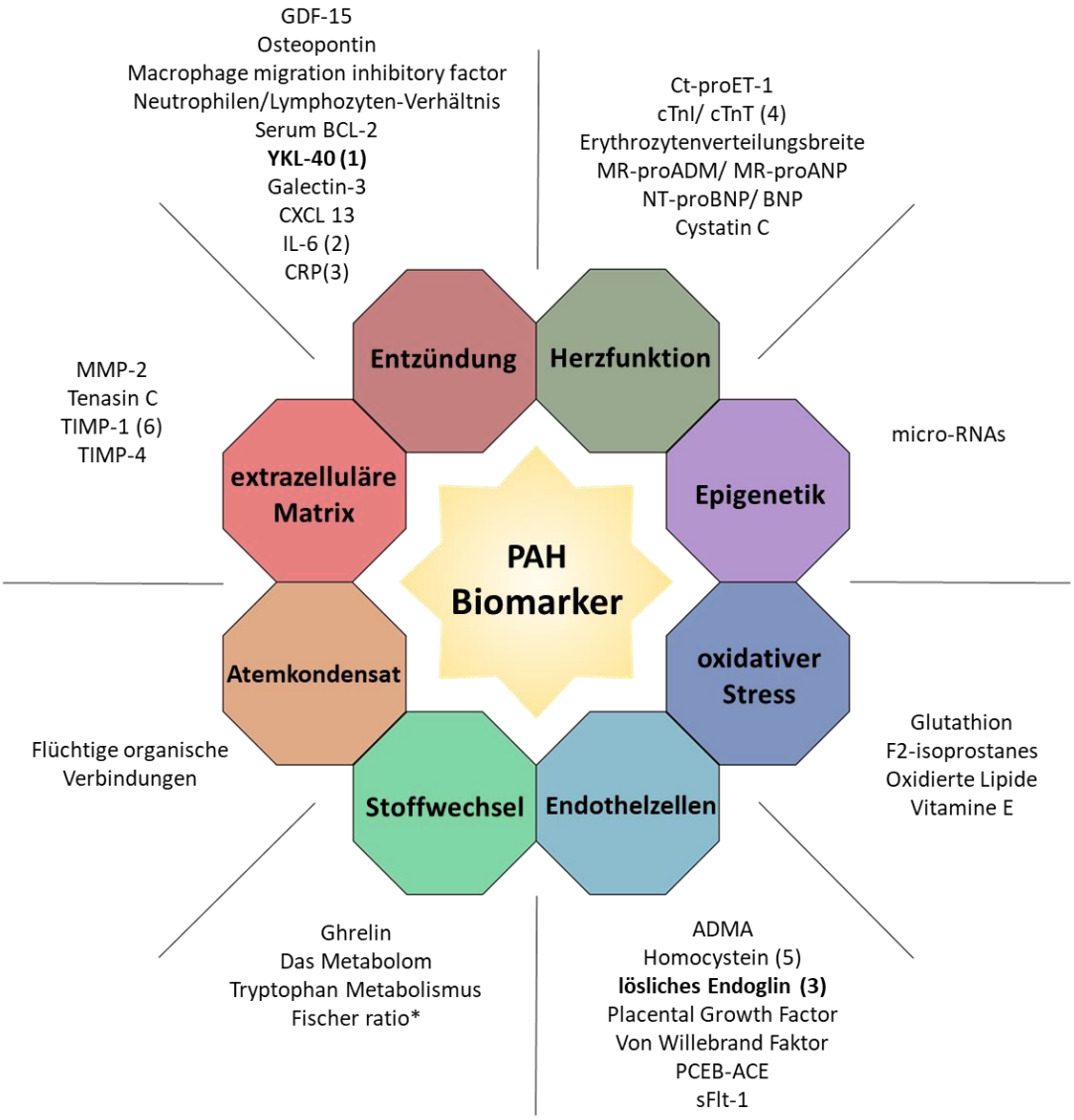

Abb. 2: Schematische Darstellung der verschiedenen thematischen Gruppen von Biomarkern für die PAH nach Anwar et al. 2016. [4] und Marra, Bossone et al. [89]; *modifiziert durch*: (1) Chen et al. 2014 [20], (2) Heresi et al. 2014 [54], (3) Malhotra et al. 2013 [87], (4) Filusch et al. 2010 [30], (5) Sanli et al. 2012 [126], (6) Tiede et al. 2016 [136].
* Fischer Ratio: Verhältnis zwischen verzweigtkettigen Aminosäuren (AS) und aromatischen AS. Abkürzungen: ADMA: asymmetrisches Dimethylarginin, BCL-2: B-cell lymphoma 2, BNP: B-Typ natriuretisches Peptid, CRP: C-reaktives Protein, cTnI/cTnT: kardiales Troponin I/T, CT-proET-1: Carboxy-terminal pro-endothelin-1, CXCL 13: Chemokine CXC ligand 13, GDF-15: Growth-differentiation factor 15, IL-6: Interleukin 6, MMP: Matrix-Metalloproteasen, MR-proADM: mid-regional proadrenomedullin, MR-proANP: Mid-regional proatrial natriuretic peptide, NT-proBNP: N-Terminales Propeptid BNP, PCEB-ACE: Pulmonary capillary endothelium-bound angiotensin converting enzyme, RNA: Ribonucleic acid, sFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase 1, TIMP: Tissue inhibitor of matix metalloprotases

1.3 Lösliches Endoglin und YKL-40

Trotz der beachtlichen Anzahl an potenziellen Biomarkern für die pulmonale Hypertonie bleibt das BNP/ NT-proBNP der einzige klinisch etablierte biochemische Marker [33]. Dies zeigt, dass es weiteren Bedarf an Untersuchungen in diesem Gebiet gibt. Im Folgenden werden nun zwei weitere potenzielle Biomarker der pulmonalen Hypertonie vorgestellt. Hierbei handelt es sich um das lösliche Endoglin (*soluble Endoglin*, sEng) und das Glycoprotein YKL-40. Diese sind ebenfalls thematisch in der Abb. 2 zu finden, da es bereits Hinweise auf einen Zusammenhang mit der PH und diesen Proteinen gibt [6,20,87].

1.3.1 Lösliches Endoglin

Endoglin, auch bekannt unter dem Namen CD105, ist als eine membranständige Form und als eine lösliche Form (sEng) beschrieben. [42]

Die membranständige Form wurde erstmals 1985 mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen Leukämiezellen entdeckt [112]. Seit 1990 ist die Primärstruktur bekannt [39]. Daraufhin wurde es als ein zusätzlicher Co-Rezeptor für TGF- β *(transforming growth factor beta)* identifiziert [148]. Das transmembrane Protein besitzt ein Molekulargewicht von ca. 180 kDa und ist ein homodimeres Glycoprotein [19]. Der extrazelluläre Anteil ist wesentlich größer als der intrazelluläre [19]. Es sind zwei verschiedene Spleiß-Varianten bekannt, welche sich jedoch nur durch die Länge der intrazellulären Region unterscheiden [9]. Endoglin ist vorwiegend auf Endothelzellen exprimiert. Seine Konzentration nimmt bei Aktivität der Endothelzelle deutlich zu. [38,86] Endoglin wurde jedoch auch auf Chondrozyten [109], auf Zellen der Plazenta [40] und auf Monozyten gefunden [81].

Die lösliche Form von Endoglin (sEng) ist der extrazelluläre Anteil der membranständigen Form und wird bei unterschiedlichen Gegebenheiten in den systemischen Kreislauf abgegeben [42]. Es wird angenommen, dass sEng als ein Spaltungsprodukt durch die Matrix-Metalloprotease 14 (MMP-14) entsteht [50]. Hohe Plasmawerte für sEng wurden in Tierexperimenten bei Mäusen gefunden, welche MMP-14 überexprimieren [140]. Es sind uns keine Daten über die durch MMP-14 vermittelte Spaltung von Endoglin bei Lungenerkrankungen bekannt. Es gibt keine sicheren Hinweise, ob sEng im Blut in gebundener Form oder in freier Form vorliegt [42]. In

Bezug auf die Präeklampsie wurden des Weiteren unterschiedliche Molekülgrößen von sEng gefunden [141]. Es wurden jedoch in der Literatur keine Informationen über die Größe des Moleküls bei Lungenerkrankungen gefunden.

Endoglin in seiner membranständigen Form spielt eine bedeutende Rolle bei der Förderung der Angiogenese [86]. Dies wird durch verschiedene Tatsachen deutlich. Das Gen für Endoglin ist verändert bei der hereditären hämorrhagischen Teleangiektasie Typ 1 (HHT1), einer Krankheit bei der es zu Fehlbildungen an den Gefäßen kommt [91]. Hinzu kommt, dass in Tierversuchen mit Mausembryonen, bei denen das Gen für Endoglin komplett ausgeschaltet wurde, diese im mittleren Teil der Schwangerschaft an einer fehlerhaften Angiogenese sterben [17]. Ein anderer Punkt ist, dass Endoglin vermehrt auf neu gebildeten Gefäßen, während einer Entzündung oder in Tumoren zu finden ist [86]. Bei verschiedenen Tumoren bildet Endoglin ein mögliches Ziel für eine Hemmung der Gefäßbildung [11].

Zusätzlich zu diesen Tatsachen ist Endoglin, wie oben bereits erwähnt, ein Mitglied der TGF-β-Superfamilie. In Endothelzellen wird diesem Signalweg eine große Bedeutung hinsichtlich der Regulierung der Angiogenese zugeschrieben [36]. Es wird auch in anderen Erkrankungen, welche mit den Gefäßen bzw. deren Umbau zu tun haben, gefunden. Zu nennen wäre die Atherosklerose [118]. Zusätzlich zu der Angiogenese spielt Endoglin auch eine Rolle bei der Beeinflussung des Gefäßtonus über die endotheliale NO-Synthase (eNOS) [86,141].

Der löslichen Form wird ein hemmender Einfluss auf die Angiogenese zugeschrieben [86]. Dies wird durch die Tatsache begründet, dass sEng ähnliche Wirkungen im Bereich der Präeklampsie zeigt wie das bereits als Hemmstoff bekannte sFlt-1 *(soluble Fms-like thyrosinkinase-1)* [141,147]. SEng inhibiert die Formation von Gefäßen *in vitro* und induziert eine erhöhte vaskuläre Permeabilität und einen erhöhten Druck in den Gefäßen *in vivo* [141]. Erhöhte Werte konnten bereits vor dem Ausbrechen der Präeklampsie gefunden werden und korrelieren mit der Schwere der Erkrankung [42]. Es ist ebenfalls ein potenzieller Biomarker für die Prognose und den Schweregrad bei Tumorerkrankungen. [11]

Bei der Atherosklerose spielt es ebenfalls eine Rolle. Hier konnte gezeigt werden, dass sEng ein potenzieller Biomarker für die endotheliale Dysfunktion und die Hypercholesterinämie ist. Es wird in Betracht gezogen, sEng zur Therapieüberwachung

zu nutzen [99,118]. Darüber hinaus wurden veränderte sEng-Werte bei der koronaren Herzkrankheit [85], bei der Hepatitis [23], beim Diabetes mellitus [27], bei der systemischen Sklerose [146], bei der Malaria [26] und bei der Sichelzellkrankheit [78] gefunden.

Einen Überblick über den TGF-β-Signalweg und die mögliche Rolle von sEng in diesem liefert Abb. 3.

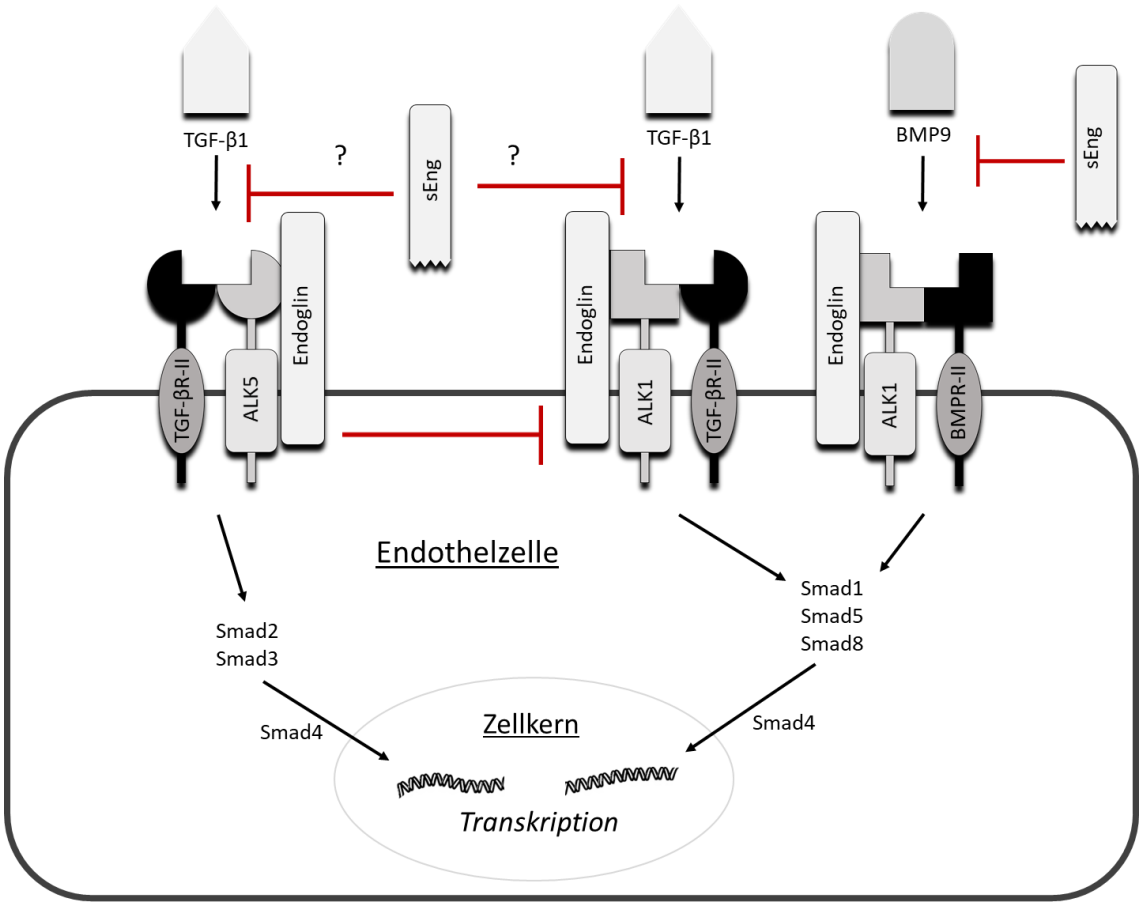

Abb. 3: Schematische Darstellung der hypothetischen Beeinflussung von Endoglin und sEng bezüglich des TGF-β-Signalwegs (mod. nach Lopez-Novoa und Bernabeu et al. 2010 und Gregory et al. 2014 [42,86]).
Aufgrund der Häufung von Endoglin auf Endothelzellen wird der TGF-β-Signalweg am Beispiel dieses Zelltyps gezeigt. Die Moleküle sind der übersichtshalber als Monomere dargestellt und es wird nur auf die Liganden TGF-β1 und BMP9 eingegangen. Der ALK5 Signalweg wird in Verbindung mit einer Hemmung der Zellproliferation gebracht [42]. In Verschiedenen Studien wird angenommen, dass ALK5 die Endothelzellproliferation und –migration hemmt und ALK1 diese fördert [37,41]. Der ALK5/Smad 2,3-Signalweg antagonisiert den ALK1/Smad 1,5,8-Signalweg [42].
Es gibt Hinweise dafür, dass sEng BMP9 binden und den Signalweg blockieren kann. Für TGF-β1 ist dies unklar. [42]
Abkürzungen: ALK1: Activin receptor-like kinase 1, BMP9: bone-morphogenetic-protein 9, BMPR-II: BMP-Rezeptor-II, sEng: soluble Endoglin, Smad: Small-mothers-against decapentaplegic, TGF-β: Transforming growth factor β, TGF-βR-II: TGF-β-Rezeptor-II.

Dem TGF-β/ALK1/Endoglin-Signalweg wird eine Schlüsselrolle bei der PH zugeschrieben. Dies wird bei Untersuchungen an IPAH-Patienten deutlich [37] aber auch durch die Tatsache, dass die Mutationen in den Genen für BMPR-II/ ALK1/ Endoglin im Zusammenhang mit der Entwicklung einer PH gesehen werden [33,49]. Das lösliche Endoglin selbst wurde ebenfalls in Bezug auf die PH untersucht. Malhotra et al. konnten zeigen, dass erhöhte Werte bei PAH-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen gefunden werden, dass das Protein mit den Schweregrad der Erkrankung korreliert und dass es auch potenzielle prognostische Eigenschaften besitzt. [87] Erhöhte Konzentrationen finden sich zusätzlich in der Untersuchung von Al-Dujaili et al. [2]. Coral-Alvarado et al. haben ebenfalls den Zusammenhang zwischen sEng und der PH untersucht, genauer der PAH-CTD am Beispiel der systemischen Sklerose. Hier zeigen sich gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe erhöhte Serumwerte bei Patienten mit systemischer Sklerose. [25]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sEng eine bedeutende Rolle bei der Angiogenese spielt [86]. Der Zusammenhang zwischen sEng und der PH wurde ebenfalls untersucht. Hierbei zeigten sich deutliche Hinweise für eine mögliche Rolle von sEng als Biomarker für die PH, welche jedoch durch weitere Untersuchungen bestätigt werden sollten. [2,25,87]

1.3.2 YKL-40

Das humane Glycoprotein YKL-40 ist auch bekannt unter den Namen *human chitinase 3-like 1* (CHI3L1) [120], *human cartilage glycoprotein 39* (HC-gp39) [45], *38- kDa heparin-binding glycoprotein* (gp38k) [129] und Chondrex [47]. Im Folgenden wird nur der Name YKL-40 benutzt. Das entsprechende Protein in Mäusen wird *breast regression protein 39* (BRP-39) genannt [122].

Es besteht aus 383 Aminosäuren. Die Abkürzung YKL-40 steht für die ersten drei N-Terminalen Aminosäuren Tyrosin (Y), Lysin (K) und Leucin (L) des Proteins sowie seine molare Masse von ca. 40 kDa [45,62].

Das Protein gehört zu der Gruppe der Glykosylhydrolasen-Familie 18 und hat eine große Ähnlichkeit zu Chitinasen. Aufgrund von zwei Punktmutationen ist YKL-40 nicht mehr in der Lage Chitin zu spalten, sondern es zu binden [77,123]. Darüber hinaus ist YKL-40 in der Lage Heparin [129] und Kollagen [12] zu binden.

YKL-40 wird *in vivo* von einer Vielzahl von verschiedenen Zellen sezerniert, wobei diese eine wichtige Rolle bei Entzündungen und Umbauprozessen spielen [65]. Dies trifft für neutrophile Granulozyten [143], Makrophagen [65,71], glatten Gefäßmuskelzellen [92], verschiedene Tumorzellen [65], Osteozyten [24] und den Chondrozyten der Gelenke [45] zu. Aufgrund der Vielzahl von Zellen, welche YKL-40 sezernieren, kann nicht davon ausgegangen werden, dass YKL-40 ein spezifisches Protein für eine Erkrankung darstellt [98].

Über den Wirkmechanismus von YKL-40 ist noch sehr wenig bekannt. YKL-40 wird bei Gegebenheiten von erhöhten Umbauprozessen in Geweben gefunden. Malinda et al. konnte zeigen, dass im Rahmen der Angiogenese die Gefäßendothelzellen *in vitro* durch YKL-40 stimuliert werden. [88] Zusätzlich scheint es ein Wachstumsfaktor für Bindegewebszellen darzustellen. Dies scheint über den MAP-Kinase- (*mitogen-activated protein kinase*) und den Proteinkinase-B (*AKT*)-Signalweg stimuliert zu werden. [51,119] YKL-40 kann Heparansulfat binden, welches über eine Bindung zu Syndectan 1 den MAP/AKT-Signalweg initiieren kann. [65,111] Die Rolle von YKL-40 ist bei entzündlichen Vorgängen noch etwas unklarer. Houston et al. beschreiben YKL-40 als ein Molekül, welches über die Bindung von Chitin das Immunsystem regulieren könnte.

[59] Renkema, Boote et al. diskutieren zusätzlich die Möglichkeit, dass YKL-40 als ein Opsonin ein Teil der Immunantwort sein könnte [123].

YKL-40 spielt eine Rolle bei diversen Erkrankungen. Als eine wichtige Gruppe wären maligne Erkrankungen zu nennen, wobei sowohl verschiedene solide also auch nicht-solide Neoplasien eine Rolle spielen. [127] Darüber hinaus spielt YKL-40 ebenfalls eine Rolle bei nicht-malignen Erkrankungen. Diese sind, wie oben bereits angedeutet, meist charakterisiert durch eine Entzündungsreaktion, erhöhte Umbauprozesse oder eine Fibrose. Eine Gruppe wären die bakteriellen Erkrankungen wie Pneumonien durch *Streptococcus pneumoniae [75,104]*, Tuberkulose [65,69] oder Meningitiden [108]. Des Weiteren finden sich kardiovaskuläre Erkrankungen wie die Atheriosklerose [76], der Myokardinfarkt [103] und das Vorhofflimmern [52]. Als Stoffwechselerkrankung wäre der Diabetes mellitus Typ 2 zu nennen [116]. Zusätzlich sind bei der rheumatoiden Arthritis [144], chronisch entzündlichen Darmerkrankungen [142] und der Leberfibrose [63] Zusammenhänge zu YKL-40 aufgefallen.

Bei Lungenerkrankungen scheint YKL-40 ebenfalls eine Rolle zu spielen. Die Pneumonie und die Tuberkulose wurden bei den bakteriellen Erkrankungen oben bereits erwähnt. Bei chronischen Erkrankungen der Lunge sind die COPD und das Asthma zu nennen. Hierbei zeigt sich YKL-40 als möglicher Marker für die Diagnose und die Überwachung einer COPD. [22,137] Aufgrund chronischen Entzündungsreaktion scheint YKL-40 ebenfalls beim Asthma bronchiale eine Rolle zu spielen [22,73]. Als eine granulomatöse Erkrankung wäre die Sarkoidose zu nennen, wo YKL-40 ein Marker für die Krankheitsaktivität darstellen könnte [64]. Wie in Kapitel 1.1.2 bereits beschrieben hat die systemische Sklerose einen deutlichen Zusammenhang mit der PH. Interessanterweise ist YKL-40 bei SSc-Patienten im Serum erhöht, insbesondere wenn sich bei den Patienten eine Lungenbeteiligung zeigt. [105]

Der Wirkmechanismus von YKL-40 ist im Bereich der PH nur marginal erforscht. Chen, Yang et al. konnten zeigen, dass die Werte von YKL-40 bei 82 IPAH-Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe im Blutplasma erhöht sind (IPAH 24,90ng/ml (Median), gesunde Kontrollen 16,58 ng/ml (Median)). Zusätzlich korreliert es mit der Krankheitsschwere und der Prognose und stellt somit einen potenziellen Biomarker für diese Erkrankung dar [20]. Furukawa et al. haben zusätzlich herausgefunden, dass YKL-40 bei SSc-Patienten mit einer PAH erhöhte Werte von YKL-

40 zeigen als Patienten ohne eine PAH [32]. Zu weiteren Untergruppen der PH konnten keine Daten gefunden werden.

Das Protein YKL-40 ist ein potenzieller Biomarker für das Überleben. Dies konnte für kardiovaskuläre Erkrankungen, Tumorerkrankungen und andere Erkrankungen in der generellen Bevölkerung gezeigt werden [66]. Es wird des Weiteren angenommen, dass das Überleben möglicherweise unabhängig von der Diagnose prognostiziert werden könnte. Dies wurde bei Patienten untersucht, welche akut im Krankenhaus aufgenommen wurden [97]. Ein weiterer Punkt ist, dass die Werte für YKL-40 generell mit dem Alter ansteigen [15]. Zusätzlich ist YKL-40 als ein Akute-Phase-Protein zu verstehen, denn seine Werte steigen reversibel nach einem entzündlichen Stimulus um mehr als 25% an [127].

Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass YKL-40 noch ein wenig verstandenes Molekül ist. Lediglich die Zusammenhänge zu Entzündungen und Umbauprozessen scheinen sicher. Es ist vermutlich auch aufgrund der Fülle an Erkrankungen kein spezifischer Biomarker, jedoch besitzt es durchaus prognostisches Potential [65]. Somit stellt es einen interessanten möglichen Biomarker für die PH dar.

2 Fragestellung

Die pulmonale Hypertonie ist eine schwere Erkrankung. Aufgrund der Tatsachen, dass die Klinik der Patienten so unspezifisch ist [115] und ein verlässliches Screening nur mit apparativen Methoden verfügbar ist, sind weitere Diagnosemöglichkeiten von Interesse. [33]

Ein einfacher Bluttest als schnelle und kostengünstige Untersuchung wäre eine sinnvolle Ergänzung. Der klinisch etablierte Biomarker BNP/ NT-proBNP kann diese Aufgabe nur unzureichend übernehmen. Die Prognose lässt sich zwar mit dem BNP/ NT-proBNP einschätzen, jedoch wären weitere Marker von Vorteil. [33]

<u>Hieraus lassen sich folgende Fragestellungen formulieren:</u>

- Lässt sich zwischen den Plasmakonzentrationen von sEng und YKL-40 der PH-Patienten und den Nicht-PH-Patienten ein Unterschied finden, welcher auf einen **diagnostischen Biomarker** hinweisen könnte? Lässt sich dies auf die einzelnen ätiologischen Gruppen der PH ausweiten?

- Korreliert die Plasmakonzentration von sEng und YKL-40 mit dem Überleben bzw. der Zeit bis zur klinischen Verschlechterung *(time to clinical worsening, TTCW)* bei Patienten, was auf einen **prognostischen Biomarker** hinweisen würde? Findet sich dies wiederum bei den einzelnen ätiologischen Gruppen der PH?

- Findet sich ein Zusammenhang zwischen der Plasmakonzentration der beiden Proteine und der klinischen Einschränkung des Patienten bzw. dem **Schweregrad der Erkrankung**? Ist dies ebenfalls bei den einzelnen ätiologischen Gruppen zu finden?

3 Material und Methoden

3.1 Studienkollektiv

Bei sEng umfasst das Patientenkollektiv 185 Patienten. Diese teilen sich auf in 39 Patienten mit einer IPAH, 38 Patienten mit einer PAH bei CTD, 38 Patienten mit einer CTEPH, 29 Patienten mit einer PH-LHD und 41 Patienten mit dem Ausschluss einer PH.

Das Studienkollektiv umfasst bei YKL-40 173 Patienten. Diese Patienten teilen sich wiederum auf in 38 Patienten mit einer IPAH, 34 Patienten mit einer PAH bei CTD, 36 Patienten mit deiner CTEPH, 27 Patienten mit einer PH-LHD und 38 Patienten mit dem Ausschuss einer PH.

Die Patienten der Studie befanden sich zum Untersuchungs- bzw. Abnahmezeitpunkt in stationärer Behandlung im Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Standort Gießen. Die Einteilung in die einzelnen Diagnosegruppen wurde durch ein interdisziplinäres Team von PH-Experten vorgenommen. Voraussetzung für den Einschluss in die Studie war die Erstuntersuchung mittels Rechtsherzkatheter in Gießen zum Untersuchungs- und Abnahmezeitpunkt. Die Patienten wurden rückwirkend und ohne weitere Ausschlusskriterien bis zu einer Gruppengröße von ca. 40 eingeschlossen. Dies traf ebenfalls für die Kontrollgruppe zu, sodass wir keine Anpassungen an das Geschlecht, Alter oder Vorerkrankungen vorgenommen haben. Die RHK-Untersuchung war ausnahmslos medizinisch indiziert. Die unterschiedliche Gruppengröße ist durch die verschiedene Verfügbarkeit und Qualität der Plasma-Proben für die ELISA-Tests zu erklären. Die unterschiedliche Gruppengröße bei den einzelnen klinischen Vergleichen resultiert aus unvollständigen Daten.

Für die Probengewinnung bzw. deren Weiterverwertung liegt ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität vor (AZ 100/13 mit einer Ergänzung vom 19.01.2016). Jeder Patient hat schriftlich der Blutentnahme und Verwertung seiner Probe zugestimmt.

3.2 Blutproben

Zur Bestimmung der Plasmawerte von sEng und YKL-40 erfolgte während der invasiven RHK-Untersuchung mit dem Verdacht auf eine PH eine zentral-venöse Blutentnahme in

eine EDTA-Monovette®. Diese Abnahme erfolgte über den bereits liegenden Swan-Ganz-Katheter. Es wurden zwei EDTA-Monovetten® abgenommen und unverzüglich kühl gelagert. Nachdem die Proben für zehn Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert wurden, wurde das EDTA-Plasma aus dem Überstand der Blutprobe gewonnen, in 1,5 ml Eppendorf®-Reaktionsgefäße aliquotiert und im direkten Anschluss bis zur weiteren Analyse mittels ELISA bei -80 °C gelagert. Die korpuskularen Anteile der Blutproben wurden verworfen.

3.3 Enzym-linked Immunosorbent Assay

Mit Hilfe von spezifischen Antikörpern ist es möglich, die Menge von Proteinen oder anderen Antigenen zu bestimmen. Diese Methode nennt sich ELISA (E*nzyme-linked Immunosorbent Assay*). Zunächst wird bei dem hier verwendeten Sandwich-ELISA eine 96-well-Platte mit dem primären, spezifischen Antikörper vorbereitet. Im nächsten Schritt wird das Untersuchungsmaterial (hier Plasma) auf den Antikörper gegeben. Anschließend wird ein sekundärer, enzymgekoppelter Antikörper hinzugegeben, welcher das Antigen an einem anderen Epitop bindet. Schließlich gibt man ein Farbreagenz (Substrat) hinzu, welches durch das Enzym verändert wird. Dies führt zu einem Farbumschlag, welcher in seiner Geschwindigkeit direkt proportional zur Menge des vorhandenen Antigens ist. Daher lassen sich auch sehr geringe Mengen eines bestimmten Proteins bzw. Antigens quantitativ bestimmen. [10] Das Prinzip eines Sandwich-ELISAs ist in Abb. 4 schematisch dargestellt.

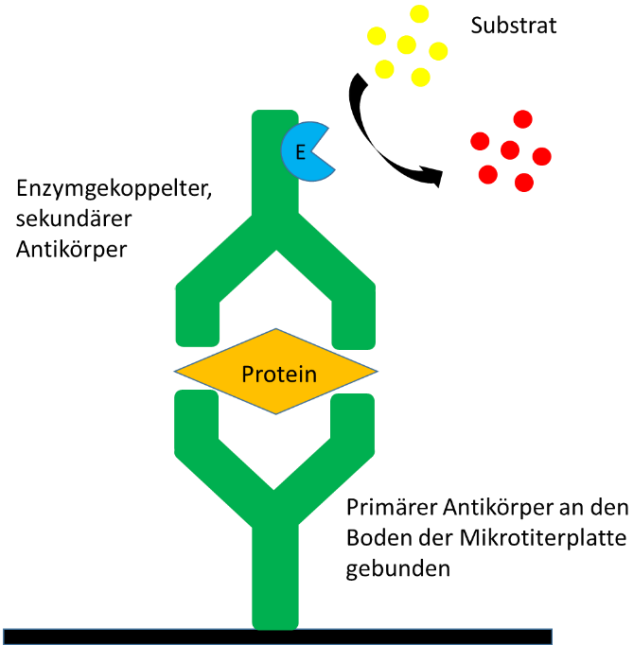

Abb. 4: Schema eines Sandwich-ELISA nach Berg et al. 2014 [10]. E: Enzym

Das genaue Untersuchungsprotokoll bzw. der Untersuchungsablauf von den ELISAs von sEng und YKL-40 sind im Anhang auf den Seiten 73 bis 76 dargestellt.

3.4 Erfassung der klinischen Parameter

Die hämodynamischen Parameter mPAP, PAWP, HZV, CI und PVR wurden rückwirkend aus den medizinisch indizierten und routinemäßig durchgeführten RHK-Untersuchungen erfasst. Der mPAP und der PAWP konnten mit Hilfe des RHK direkt gemessen werden.

Das HZV wurde mit Hilfe der Fickschen Formel berechnet.

$$HZV = \frac{aufgenommene\ Sauerstoffmenge\ pro\ Zeit}{arteriovenöse\ Sauerstoffdifferenz}$$

Der CI wurde wie folgt berechnet:

$$CI = \frac{HZV}{Körperoberfläche}$$

Der PVR wurde wie folgt berechnet:

$$PVR = \frac{mPAP - PAWP}{HZV}$$

Die WHO-funktionelle Klasse (WHO-FC, NYHA-FC) wurde aus den Patientenunterlagen übernommen. Tab. 2 auf Seite 24 gibt einen Überblick über diese Einteilung.

Die 6-Minuten-Gehstrecke (SMWD) wurde standardisiert erfasst und ebenfalls aus den Patientenunterlagen übernommen. Diese hat einen relevanten Zusammenhang mit der Prognose bei Patienten mit PH [152].

Für die Überlebenszeitanalyse wird das transplantat-freie Überleben untersucht. Die TTCW setzt sich aus den Ereignissen Tod (Transplantation wird wie der Tod als Endpunkt klassifiziert) und Therapieerweiterung (spezifische PH-Therapie) zusammen. Diese Zeit wird als Ergänzung zur Lebenszeitanalyse durchgeführt. Die Patienten wurden bis zu Ihrem Tod bzw. ihrer Transplantation oder bis zum April 2015 rückwirkend untersucht.

Klasse	
I	Patienten mit pulmonaler Hypertonie, aber ohne hierdurch entstehende Einschränkungen ihrer physischen Aktivität. Alltägliche physische Aktivitäten führen nicht zu unangemessener Atemnot oder Müdigkeit, Brustschmerz oder Beinahe-Synkopen.
II	Patienten mit pulmonaler Hypertonie und hierdurch mit einer leichten Einschränkung ihrer physischen Aktivitäten. In Ruhe bestehen keine Beschwerden. Alltägliche physische Aktivitäten führen zu unangemessener Atemnot oder Müdigkeit, Brustschmerz oder Beinahe-Synkopen.
III	Patienten mit pulmonaler Hypertonie und hierdurch mit einer deutlichen Einschränkung ihrer physischen Aktivitäten. In Ruhe bestehen keine Beschwerden. Weniger als alltägliche Beschwerden führen zu unangemessener Atemnot oder Müdigkeit, Brustschmerz oder Beinahe-Synkopen.
IV	Patienten mit pulmonaler Hypertonie mit der Unfähigkeit ohne Symptome jegliche physische Aktivität auszuführen. Die Patienten zeigen Zeichen einer Rechtsherzinsuffizienz. Atemnot und/oder Müdigkeit treten sogar in Ruhe auf. Die Beschwerden verschlimmern sich bei jeglicher physischen Aktivität.

Tab. 2: Einteilung des Schweregrads der PH nach der funktionellen Klassifikation (WHO-FC) mod. nach Barst et al. 2004 und Galie et al. 2015a [7,33]

3.5 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit Hilfe der Software Microsoft Excel ® 2016 für Windows gesammelt und anschließend statistisch mit dem Programm IBM SPSS Statistics 24 ausgewertet. Für die Erstellung der Abbildungen und Graphiken wurden sowohl Microsoft PowerPoint ® 2016 für Windows als auch IBM SPSS Statistics 24 genutzt.

Für die statistische Auswertung wurde auf eine Normalverteilung der Messwerte geachtet und bei einer linksgipfligen Verteilung (YKL-40) wurden die Messwerte mit dem natürlichen Logarithmus (ln) logarithmiert, sodass auch hier eine Normalverteilung vorlagt. Die deskriptive Statistik wird bei einer Normalverteilung der Messwerte mit Hilfe des Mittelwerts ± Standartabweichung (SD) und bei nicht-normalverteilten Messwerten mit Hilfe des Medians und des Interquartilsabstands (IQR) dargestellt.

Der Mann-Whitney-U-Test wurde bei der Unterscheidung zwischen den Gesamt-PH-Patienten und der Kontrollgruppe gewählt. Um einen Unterschied zwischen den einzelnen ätiologischen Untersuchungsgruppen feststellen zu können, wurde ein einfaktorieller ANOVA-Test genutzt und anschließend wurden Mehrfachvergleiche mit Hilfe des Post-Hoc-Tests durchgeführt. Nicht-parametrische Tests wurden bei dem Vergleich der einzelnen WHO-FC (Kruskal-Wallis-Test) und des Geschlechts (Mann-

Whitney-U-Test) benutzt. Um einen Altersunterschied bei YKL-40 herauszufinden, wurde bei der WHO-FC ebenfalls ein einfaktorieller ANOVA-Test mit einem anschließenden Post-Hoc-Test genutzt. Die hämodynamischen Werte der einzelnen Patienten wurden mit Hilfe der Korrelation nach Pearson mit dem Plasmawerten der Proteine verglichen. Zur Überprüfung wurden bei YKL-40 noch die hämodynamischen Werte mit dem Alter korreliert. Eine Korrelation mit einem $r<0,3$ wird als schwach, einem $r<0,5$ als mittel und einem $r>0,5$ als stark gewertet. Für diese Untersuchungen werden P-Werte von $<0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

Das Überleben bzw. die TTCW wurden durch die Kaplan-Meier-Analyse (Log-Rank-Test) und die Cox-Regression auf einen Zusammenhang mit den Proteinkonzentrationen untersucht. Die Cox-Regression wurde univariat und multivariat durchgeführt. Bei der univariaten Analyse wurde das Patientenkollektiv nach den Medianen der Plasmawerten der Proteine dichotomisiert und in Quartile eingeteilt. Bei der multivariaten Analyse wurden die Parameter Geschlecht, SMWD, WHO-FC, CI und PVR untersucht. Es wird für die Kaplan-Meier-Analyse und die univariate Cox-Regression ein P-Wert von $<0,05$ und für die multivariate Cox-Regression ein P-Wert von $<0,154$ [136] als statistisch signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 Lösliches Endoglin

4.1.1 Studienkollektiv

Demographische Daten:

Das für das Protein sEng ausgewählte Patientenkollektiv besteht aus 185 Patienten. Die 185 Patienten verteilten sich auf 144 PH-Patienten und 41 Ausschluss-Patienten. Die Gruppe der PH-Patienten gliedert sich noch einmal in die verschiedenen Untergruppen IPAH, PAH bei CTD, CTEPH und PH-LHD auf.

Die einzelnen Gruppen werden zusätzlich nach weiteren Charakteristika untersucht. Hierbei handelt es sich um das Alter und das Geschlecht, die WHO-FC und der SMWD sowie die hämodynamischen Parameter mPAP, PAWP, HZV, CI und PVR. Hinzu kommen für die Überlebensanalysen noch die Todesfälle und die Ereignisse für die TTCW.

Einen Überblick liefert Tab. 3 auf Seite 27.

Charakterisierung der Ausschluss-PH-Patienten:

Die Ausschlusspatienten haben jeweils unterschiedliche Gruppen von Grunderkrankungen. 16 (39%) haben eine kardiale, 18 (43,9%) haben eine pulmonale, drei (7,3%) haben eine thromboembolische Grunderkrankung und vier (9,8%) haben eine Erkrankung aus der Gruppe der Kollagenosen. Sie haben eine mittlere Ejektionsfraktion des linken Ventrikels (EFLV) von 59,75 % (±14,7) (N=25) und einen mittleren Body-Maß-Index (BMI) von 27,70 Kg/m² (± 7,1) (N=41).

	PH-Patienten	IPAH	PAH-CTD	CTEPH	PH-LHD	Ausschluss-PH
sEng [ng/ml] (±SD)	4,26 (±1,24) N=144	4,20 (±1,12) N=39	4,43 (±1,18) N=38	3,82 (±0,98) N=38	4,68 (±1,59) N=29	3,59 (±1,13) N=41
WHO-FC gesamt (II, III, IV)	N=141	N=39	N=37	N=37	N=28	N=29
WHO Klasse II	N=41 (29,1%)	N=16 (41,0%)	N=4 (10,8%)	N=9 (24,3%)	N=12 (42,9%)	N=6 (20,6%)
WHO Klasse III	N=79 (56,0%)	N=20 (51,3%)	N=22 (59,5%)	N=24 (64,9%)	N=13 (46,4%)	N=21 (72,4%)
WHO Klasse IV	N=21 (14,9%)	N=3 (7,7%)	N=11 (29,7%)	N=4 (10,8%)	N=3 (10,7%)	N=2 (6,9%)
SMWD [m] (±SD)	326,4 (±119,1) N=127	351,6 (±125,0) N=39	310,7 (±129,0) N=33	315,7 (±115,9) N=34	321,5 (±95,0) N=21	326,3 (±126,3) N=25
mPAP [mmHg] (±SD)	42,42 (±12,2) N=144	47,10 (±15,4) N=39	42,95 (±11,0) N=38	40,74 (±9,9) N=38	37,66 (±9,6) N=29	18,02 (±3,7) N=41
PAWP [mmHg] (±SD)	10,08 (±5,6) N=144	7,97 (±3,1) N=39	7,18 (±3,2) N=38	9,78 (±4,2) N=38	17,10 (±6,3) N=29	8,24 (±3,4) N=41
HZV [l/min] (±SD)	4,43 (±1,2) N=144	4,26 (±1,4) N=39	4,26 (±0,9) N=38	4,39 (±1,3) N=38	4,91 (±1,3) N=29	5,18 (±1,3) N=41
CI [l/min/m²] (±SD)	2,39 (±0,6) N=144	2,31 (±0,7) N=39	2,39 (±0,5) N=38	2,31 (±0,6) N=38	2,61 (±0,6) N=29	2,75 (±0,6) N=41
PVR [dyn x s x cm $^{-5}$] (IQR)	546 (499) N=144	750 (631) N=39	636 (505) N=38	508 (450) N=38	306 (276) N=29	150 (104) N=41
Alter zum Messzeitpunkt [Jahre] (±SD)	62,91 (±15,2) N=144	55,76 (±17,1) N=39	59,45 (±13,4) N=38	65,70 (±13,6) N=38	73,42 (±9,4) N=29	66,56 (±11,3) N=41
Geschlechtsverhältnis weiblich : männlich	1,94 : 1 N=141	2 : 1 N=39	5,17 : 1 N=37	1,05 : 1 N=37	1,55 : 1 N=28	1,9 : 1 N=29
Todesfälle	N=47 (32,6%)	N=13 (33,3%)	N=18 (47,4%)	N=7 (18,9%)	N=9 (31,0%)	N=2 (7,4%)
Ereignisse in der TTCW	N=83 (59,7%)	N=28 (75,7%)	N=29 (80,6%)	N=13 (35,1%)	N=13 (44,8%)	N=2 (7,4%)

Tab. 3: Darstellung der einzelnen untersuchten Charakteristika in Bezug auf die einzelnen Gruppen bei sEng

4.1.2 Biomarkerverteilung

Die Biomarkerverteilung bei sEng hat einem Mittelwert von 4,10 ng/ml (±1,25 ng/ml) und einen Median von 3,87 ng/ml (IQR 1,41 ng/ml). Die Verteilung ist in Abb. 5 auf Seite 28 dargestellt. Die Werte wurden als valide angesehen.

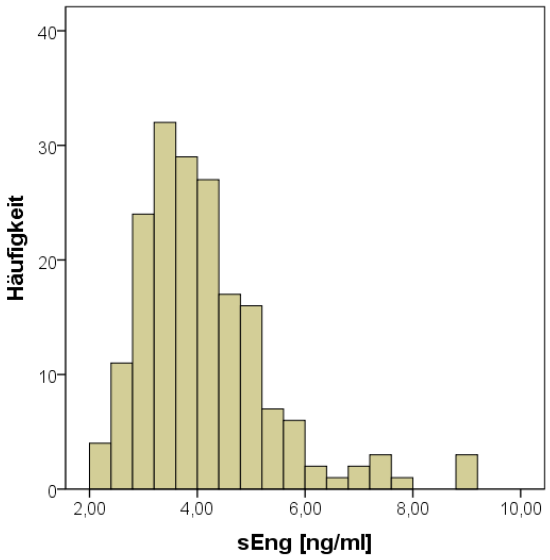

Abb. 5: Biomarkerverteilung von sEng

4.1.3 SEng als Biomarker bei PH-Patienten

Diagnostischer Biomarker:

Das Protein sEng wird zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen der PH und der Aussschlussgruppe verglichen.

Zwischen der Verteilung der Plasmakonzentration von sEng bei den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten findet sich ein Unterschied im Mann-Whitney-U-Test ($p<0,001$). Dies ist in Abb. 6 dargestellt.

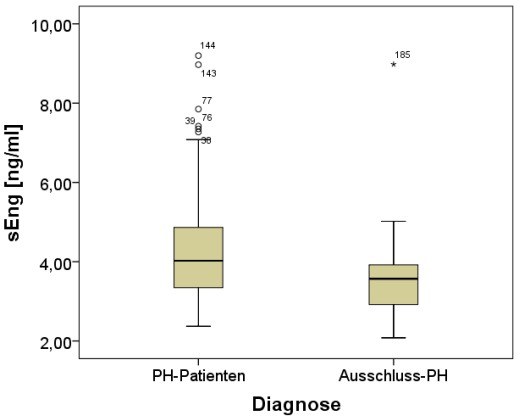

Abb. 6: Plasmawerte von sEng im Vergleich von den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten

Bei dem Vergleich der Verteilungen der sEng-Plasmakonzentrationen der einzelnen Gruppen der PH bzw. der Ausschluss-PH-Gruppe kann der einfaktorielle ANOVA-Test einen Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen feststellen ($p=0,001$). Die Ergebnisse des folgenden Post-Hoc-Tests sind in Tab. 4 auf Seite 29 dargestellt. In Abb. 7 sind noch

einmal die Plasmawerte der einzelnen PH-/Ausschluss-PH-Gruppen graphisch gegenübergestellt.

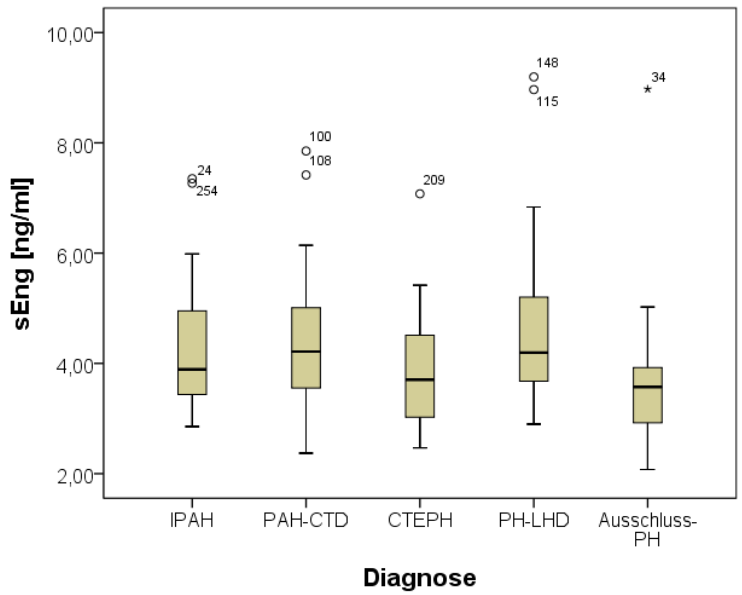

Abb. 7: Plasmawerte von sEng im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen

Diagnosegruppe		Signifikanz	Diagnosegruppe		Signifikanz
IPAH zu	PAH-CTD	0,917	PH-LHD zu	IPAH	0,469
	CTEPH	0,630		PAH-CTD	0,912
	PH-LHD	0,469		CTEPH	0,031
	Ausschluss	0,152		Ausschluss	0,002
PAH-CTD zu	IPAH	0,917	Ausschluss-PH zu	IPAH	0,152
	CTEPH	0,175		PAH-CTD	0,017
	PH-LHD	0,912		CTEPH	0,910
	Ausschluss	0,017		PH-LHD	0,002
CTEPH zu	IPAH	0,630			
	PAH-CTD	0,175			
	PH-LHD	0,031			
	Ausschluss	0,910			

Tab. 4: Ergebnisse des folgenden Post-Hoc-Testes der einzelnen zu untersuchenden Gruppen

Biomarker für den Schweregrad der Erkrankung, dem Geschlecht und dem Alter:

Im Folgenden wird die Gruppe der Ausschluss-PH-Patienten aus der Analyse genommen und die übrigen PH-Patienten der einzelnen Gruppen zusammengefasst. Dies führt dazu, dass nun nur die PH-Patienten analysiert werden. Die Stichprobengröße beträgt nun 144 Patienten.

Bei dem Vergleich der Plasmawerte der beiden Geschlechter mit dem Mann-Whitney-U-Test kann kein relevanter Unterschied gefunden werden. Daraufhin wird die Biomarkerkonzentration von sEng untersucht, ob sie mit dem Schweregrad der Erkrankung in Zusammenhang stehen könnte. Dafür werden zunächst die Plasmawerte in Bezug auf die funktionelle Klasse (WHO, NYHA-FC) verglichen. Die Ergebnisse in Bezug auf das Geschlecht und die funktionelle Klasse sind in Tab. 5 dargestellt.

WHO-FC	sEng [ng/ml] (±SD)	Signifikanz
II	4,08 (±1,02)	0,613
III	4,29 (±1,33)	
IV	4,44 (±1,36)	
Geschlecht		
Weiblich	4,27 (±1,29)	0,749
Männlich	4,21 (±1,18)	

Tab. 5: Ergebnisse von der WHO-FC und dem Geschlecht in Bezug auf sEng bei PH-Patienten

In einer Korrelation nach Pearson findet man bei dem Vergleich der SMWD bzw. dem Alter und der Plasmakonzentration von sEng keine Korrelation (vgl. Tab. 6 auf Seite 31).

Während der routinemäßig durchgeführten RHK-Untersuchung werden hämodynamische Parameter der Patienten bestimmt. Die hämodynamischen Parameter werden ebenfalls mit den Plasmawerten von sEng korreliert. Bei dieser Auswertung kann jedoch nur eine allenfalls leichte, signifikante Korrelation zwischen dem PAWP und der sEng-Konzentration gefunden werden (vgl. Abb. 8). Die übrigen erhobenen Parameter mPAP, HZV, CI und PVR weisen keinen signifikanten Zusammenhang auf. Eine Zusammenfassung ist in der Tab. 6 auf Seite 31 dargestellt.

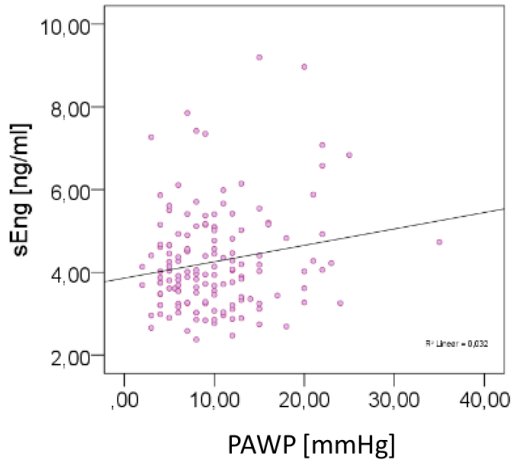

Abb. 8: Korrelationen zwischen den Plasmawerten (sEng) und dem PAWP (r=0,179, p=0,032)

		mPAP [mmHg]	PAWP [mmHg]	HZV [l/min]	CI [l/min/m²]	PVR [dyn x s x cm $^{-5}$]	SMWD [m]	Alter [Jahre]
sEng [ng/ml]	Korrelation nach Pearson	0,135	0,179	-0,085	-0,110	0,084	-0,055	0,005
	Signifikanz (p)	0,108	0,032	0,311	0,187	0,319	0,543	0,957

Tab. 6: Korrelationen zwischen den Plasmawerten (sEng) und den erhobenen Daten

Prognostischer Biomarker:

Es wird auch die Biomarkerkonzentration im Hinblick auf das transplantatfreie Überleben bzw. die TTCW untersucht. Hierdurch kann überprüft werden, ob es sich um einen prognostischen Biomarker handelt. Für das Überleben wurden 143 PH-Patienten (Ereignisse 47 (32,9%); zensiert 96 (67,1%)) und für die TTCW 139 (Ereignisse 83 (59,7%); zensiert 56 (40,3%)) einbezogen. Das Überleben der PH-Patienten liegt in unserem Kollektiv in der Kaplan-Meier-Kurve nach einem Jahr bei 89,2%, nach drei Jahren bei 69,5% und nach fünf Jahren bei 64,4% (vgl. Abb. 9 A Seite 32). Um dieses Überleben nun mit den Plasmaspiegeln von sEng zu vergleichen, werden die Patienten nach den jeweiligen Konzentrationen in Quartile eingeteilt. Das erste Quartil hat die niedrigsten Konzentrationen, das letzte Quartil hat die höchsten Konzentrationen.

Bei dem Vergleich der Quartile kann ein leichter Zusammenhang zwischen der Biomarkerkonzentration von sEng und dem Überleben gezeigt werden. Der Log-Rank-Test ist im Gesamtvergleich der PH-Patienten mit einem p=0,035 signifikant. Das fünf-Jahres-Überleben des ersten Quartils liegt bei 80,6%, des zweiten Quartils bei 70,6%, des dritten Quartils bei 58,6% und das fünf-Jahres-Überleben des vierten Quartils liegt bei 50,7%. Dieser Zusammenhang ist in Abb. 9 B aus Seite 32 dargestellt.

Die ereignisfreie TTCW in der Kaplan-Meier-Kurve liegt nach einem Jahr bei 68,7%, nach drei Jahren bei 41,3% und nach fünf Jahren lag sie bei 31,0%. Die TTCW wird ebenfalls für die beschriebenen Quartile bestimmt. Hierbei kann allenfalls eine leichte Tendenz über die Quartile festgestellt werden (p=0,315). Die TTCW ist in Abb. 10 auf Seite 32 dargestellt.

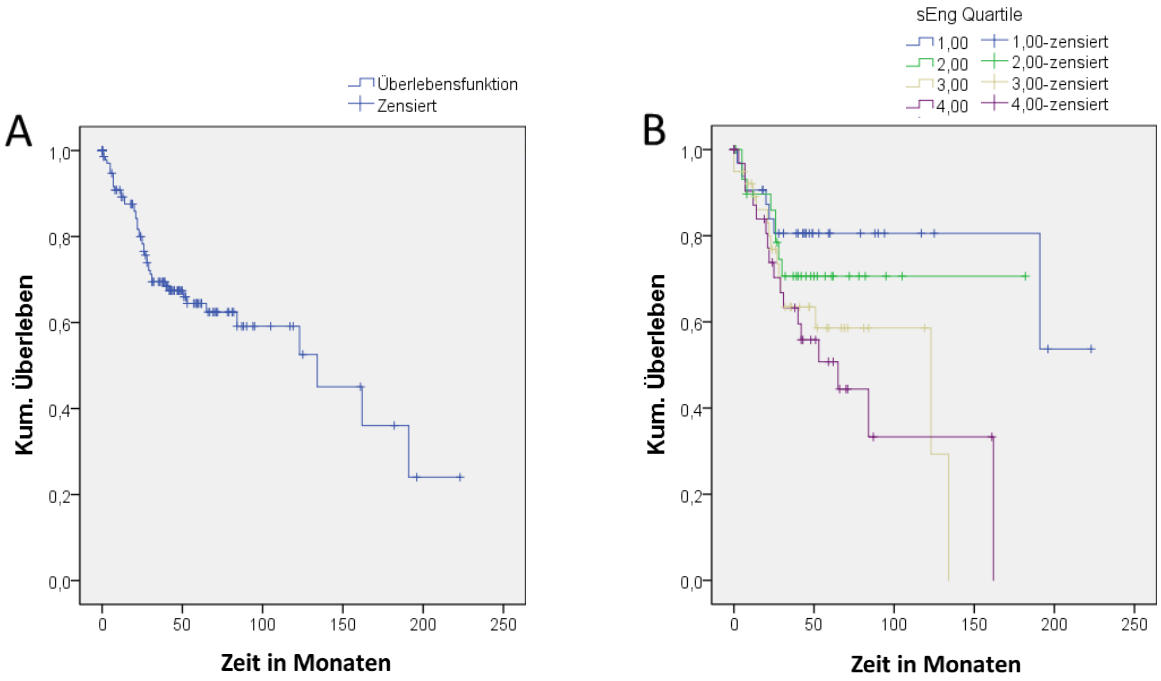

Abb. 9: Darstellung des Überlebens

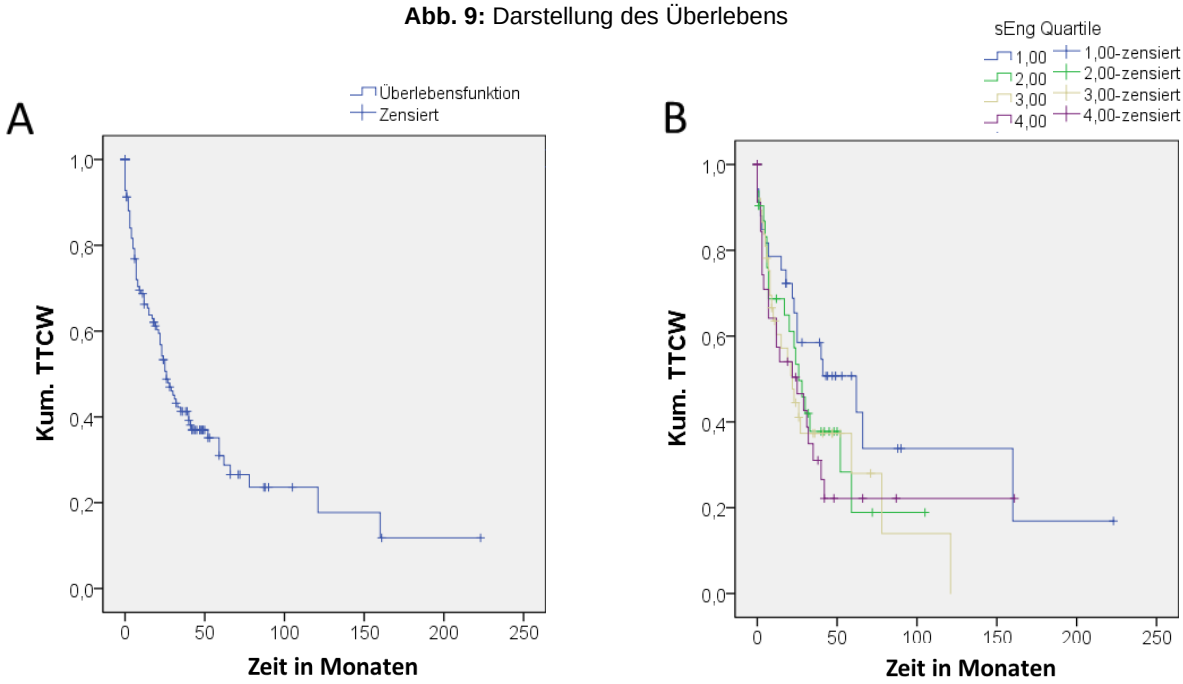

Abb. 10: Darstellung der TTCW

Das Überleben und die TTCW in unserem Studienkollektiv werden ebenfalls mit Hilfe der Cox-Regression untersucht. Dies wird uni- und multivariat durchgeführt. Das Studienkollektiv wird sowohl dichotomisiert als auch in Quartilen untersucht.

Das Überleben in der univariaten Cox-Regression ist in Bezug auf den Biomarker signifikant (p=0,001) mit einem HR (Hazard Ratio) von 1,459 (95%-KI 1,170-1,820).

Dies kann in der Analyse der einzelnen Quartile ebenfalls nachvollzogen werden. Hier ist jedoch nur das erste zu dem vierten Quartil grenzwertig signifikant (p=0,010) mit einem HR von 3,401 (95%-KI 1,335-8,696).

Wenn man das Überleben multivariat untersucht, stellte sich der Marker sEng ebenfalls als stabiler Prädiktor für das Überleben heraus. Verglichen wird die Proteinkonzentration mit dem PVR, dem Geschlecht, der SMWD und der WHO-FC. Bei dieser Analyse ist das HR 1,369 (95%-KI 1,047- 1,790) signifikant mit einem p=0,022.

Bei der univariaten Cox-Regression kann ebenfalls ein Zusammenhang zwischen der dichotomisierten Biomarkerkonzentration und dem Überleben festgestellt werden. Das HR lieg hier bei 2,674 (95%-KI 1,349-5,300) mit einem p-Werte von 0,005. Dies kann in einer multivariaten Analyse mit den Parametern Geschlecht, SMWD, CI und PVR ebenfalls bestätigt werden (HR 3,316, 95%-KI 1,412- 7,788, p=0,006).

Die genaue Einführung der Variablen bei den multivariaten Analysen ist im Anhang auf den Seiten 78 und 79 aufgezeigt.

Bei der univariaten Cox-Regression hinsichtlich der TTCW kann ebenfalls ein leichter Zusammenhang gefunden werden. Die Regression ist mit einem HR von 1,193 (95%-KI 1,006-1,415) signifikant (p=0,043).

Eine Übersicht über die Zusammenhänge zwischen sEng und den einzelnen Parametern liefert eine Tabelle im Anhang auf Seite 80. Diese sind dort auch den Ausschlusspatienten gegenübergestellt.

4.1.4 SEng als Biomarker der einzelnen ätiologischen Gruppen

Die Art der statistischen Tests ist in den Untergruppen identisch zur Gesamtanalyse. Es werden nur relevante Ergebnisse dargelegt. Eine Gesamtübersicht liefert eine Tabelle auf Seite 81 im Anhang.

IPAH:

Die Stichprobengröße bei den IPAH-Patienten liegt bei 39. Hier werden ebenfalls die Biomarkerkonzentrationen in Zusammenhang mit den klinischen und demographischen Werten gesetzt. Bei dem Vergleich der beiden Geschlechter kann kein Zusammenhang in der Verteilung gefunden werden. Der Mittelwert liegt bei den weiblichen Patienten bei 3,99 ng/ml (± 0,89) und bei den männlichen Patienten bei 4,62 ng/ml (± 0,1,43). Bei dem Vergleich der funktionellen Klassen kann eine Tendenz gefunden werden (p=0,094). Der Mittelwert von Klasse II liegt bei 3,94 ng/m (± 1,00), bei Klasse III bei 4,20 ng/ml (± 1,07) und bei Klasse IV bei 5,60 ng/ml (± 1,48). Dies ist noch einmal graphisch in Abb. 11 dargestellt.

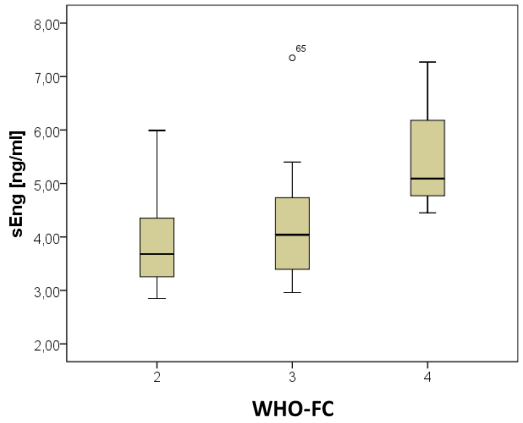

Abb. 11: Zusammenhang zwischen der Biomarkerkonzentration von sEng und der funktionellen Klasse

Die 6-Minuten-Gehstrecke und das Alter korrelieren bei dieser Patientengruppe nicht signifikant mit der Biomarkerkonzentration. Die hämodynamischen Werte werden ebenfalls in Zusammenhang mit der Konzentration gesetzt. Bei der Korrelation nach Pearson wird nur bei dem mPAP (r=0,313, p=0,052) ein grenzwertiger Zusammenhang gefunden. Dies ist in Abb. 12 auf Seite 35 dargestellt. Für den PAWP, das HZV, den CI und den PVR wird kein Zusammenhang gefunden.

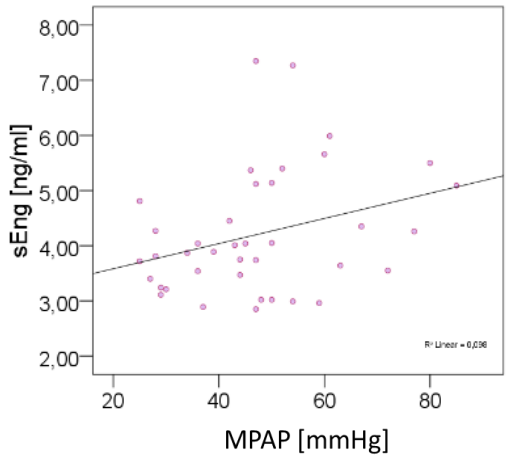

Abb. 12: Zusammenhang zwischen den mPAP-Werten und der Plasmakonzentration bei den IPAH-Patienten (r=0,313, p=0,052)

Für die Überlebensanalyse konnten 39 Patienten (Ereignisse 13, zensiert 26) und für die TTCW konnten 37 Patienten (Ereignisse 28, zensiert 9) eingeschlossen werden. In dieser Gruppe haben nach einem Jahr 94,8%, nach drei Jahren 78,4% und nach fünf Jahren ebenfalls 78,4% der Patienten überlebt. Wenn man das Überleben in Bezug auf die Quartile in der Kaplan-Meier-Kurve untersucht, findet man eine Tendenz ohne Signifikanz (p=0,061). Dies ist in Abb. 13 dargestellt. Bei der Untersuchung der TTCW in der Kaplan-Meier-Kurve (in Quartilen) kann kein Zusammenhang gefunden werden (p=0,481).

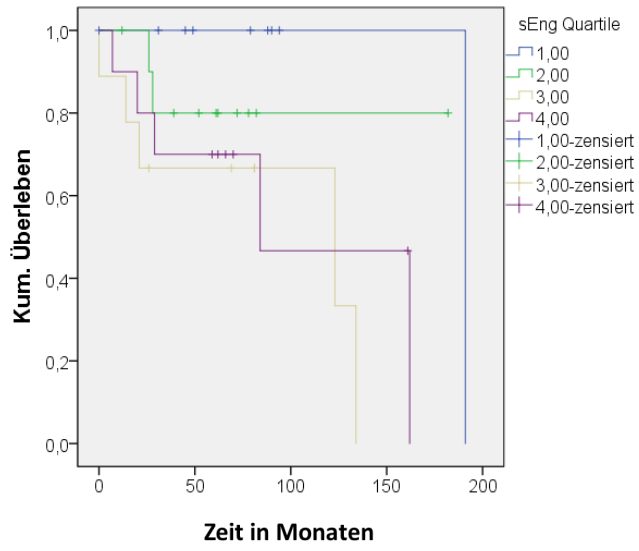

Abb. 13: Überleben in Quartilen in Bezug auf den Biomarker bei IPAH

Das Überleben in der univariaten Cox-Regression bei den IPAH-Patienten ist grenzwertig signifikant (p=0,028) mit einem HR von 1,667 (95%-KI 1,058-2,628). Der Biomarker erweist sich jedoch als nicht stabil in der multivariaten Analyse (p>0,154). In der Cox-Analyse nach den Quartilen kann kein Zusammenhang mit dem Überleben festgestellt

werden (p>0,05). Wenn man dies jedoch dichotomisiert betrachtet, ist es grenzwertig signifikant (p=0,048) mit einem HR von 4,689 (95%-KI 1,016- 21,648). Dies ist auch multivariat mit den Störfaktoren Geschlecht, SMWD, CI und PVR stabil (HR=4,037, 95%-KI 0,722- 22,553, p=0,112). Die TTCW ist in der Cox-Regression nicht signifikant (p>0,05). Es gab 13 Todesfälle und 28 Ereignisse in der TTCW bei den IPAH-Patienten.

PAH-CTD:

Die Stichprobengröße bei den PAH-CTD-Patienten liegt bei 38. Bei dem Vergleich der Verteilung der Geschlechter kann kein Zusammenhang gefunden werden (weiblich 4,45 ng/ml, (±1,24), männlich 4,39 ng/ml (±0,98)). Dies ist ebenfalls für die funktionelle Klasse der Fall (WHO II 4,25 ng/ml (±0,59), WHO III 4,52 ng/ml (±1,21) und WHO IV 4,36 ng/ml (±1,39)). Die SMWD und das Alter sind im Vergleich zu sEng ebenfalls in der Paerson-Korrelation nicht signifikant. Dies setzt sich bei dem Vergleich der hämodynamischen Parameter fort. Die Korrelation nach Pearson zeigt bei dem mPAP, dem PAWP, dem HZV, dem CI und dem PVR keinen Zusammenhang auf. In die Mortalitätsanalyse fließen die Daten von 38 PAH-CTD-Patienten (Ereignisse 18, zensiert 20) sowie für die TTCW fließen 36 (Ereignisse 29, zensiert 7) ein. Das Überleben nach einem Jahr liegt in der Kaplan-Meier-Kurve bei 81,1%, nach drei Jahren bei 59,3% und nach fünf Jahren bei 48,1%. Dieses Überleben verfehlt jedoch in der Untersuchung nach den Quartilen das Signifikanzniveau. Dies ist ebenfalls für die TTCW der Fall. In der univariaten Cox-Regression kann kein Zusammenhang zum Überleben und zur TTCW gefunden werden. Dies ist ebenfalls in der multivariaten Cox-Regression der Fall. Die Einteilung in Quartile und die dichotomisierte Untersuchung ist ebenfalls nicht signifikant. (p>0,05 bzw. p>0,154 jeweils)

CTEPH:

Die Stichprobengröße der CTEPH-Gruppe liegt bei 38 Patienten. Es wird in Bezug auf die Verteilung des Biomarkers kein Unterschied bei den Geschlechtern gefunden (weiblich 3,79 ng/ml (±1,11), männlich 3,82 ng/ml (±0,89)). Dies ist ebenfalls bei dem Vergleich der Verteilungen funktionellen Klassen der Fall (WHO II 4,16 ng/ml (±1,23), WHO III 3,66 ng/ml (±0,87), WHO IV 3,90 ng/ml (±1,16)). Die SMWD und das Alter sind im Vergleich zu sEng ebenfalls in der Paerson-Korrelation nicht signifikant. Dies setzt sich ebenfalls bei dem Vergleich der hämodynamischen Parameter fort. Die Korrelation nach Pearson weist wie bei dem mPAP, dem PAWP, dem HZV, dem CI und

bei dem PVR keinen Zusammenhang auf. Für die Überlebenszeitanalyse können 37 Patienten (Ereignisse 7, zensiert 30) sowie für die TTCW ebenfalls 37 Patienten (Ereignisse 13, zensiert 24) berücksichtigt werden. Das Überleben nach einem Jahr liegt in dieser Gruppe bei 87,4%, nach drei Jahren bei 77,0% und nach fünf Jahren ebenfalls bei 77,0%. Es gibt 7 Todesfälle bei den CTEPH-Patienten. Dieses Überleben verfehlte jedoch in der Untersuchung nach den Quartilen das Signifikanzniveau. Dies war ebenfalls für die TTCW der Fall ($p>0,05$). In der univariaten Cox-Regression kann kein Zusammenhang zum Überleben und zur TTCW gefunden werden. Dies ist ebenfalls in der multivariaten Cox-Regression der Fall. Die Einteilung in Quartile und die dichotomisierte Untersuchung ist ebenfalls nicht signifikant. ($p>0,05$ bzw. $p>0,154$ jeweils)

PH-LHD:

Die Stichprobengröße bei den PH-LHD-Patienten liegt bei 29. Bei dem Vergleich der beiden Geschlechter kann kein Zusammenhang in der Verteilung gefunden werden (weiblich 4,92 ng/ml (±1,76), männlich 4,25 ng/ml (±1,32)). Dies ist ebenfalls bei dem Vergleich der Verteilungen funktionellen Klassen der Fall (WHO II 4,16 ng/ml (±1,07), WHO III 5,20 ng/ml (±1,96), WHO IV 4,25 ng/ml (±1,42)). Die SMWD und das Alter sind im Vergleich zu sEng ebenfalls in der Paerson-Korrelation nicht signifikant. Dies setzt sich ebenfalls bei dem Vergleich der hämodynamischen Parameter fort. Die Korrelation nach Pearson weist wie bei dem mPAP, bei dem PAWP, bei dem HZV, bei dem CI und bei dem PVR keinen signifikanten Zusammenhang auf. Die Studiengröße beträgt für das Überleben 29 Patienten (Ereignisse 9, zensiert 20) sowie für die TTCW 29 Patienten (Ereignisse 13, zensiert 16). In dieser Gruppe haben nach einem Jahr 95,5%, nach drei Jahren 60,7% und nach fünf Jahren 53,1% der Patienten überlebt. Wenn man das Überleben in Bezug auf die Quartile in der Kaplan-Meier-Kurve untersucht, findet man eine Tendenz, welche jedoch nicht signifikant ist ($p=0,310$). Dies ist in Abb. 14 auf Seite 38 dargestellt. Bei der Untersuchung der TTCW in der Kaplan-Meier-Kurve (in Quartilen) kann kein Zusammenhang gefunden werden.

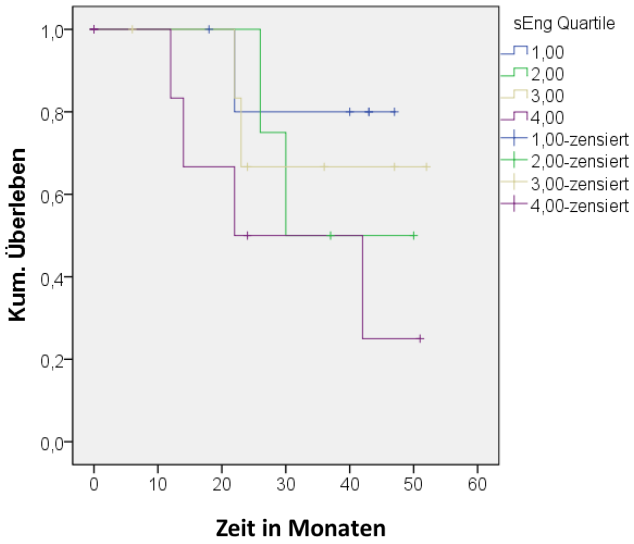

Abb. 14: Überleben in Quartilen in Bezug auf den Biomarker bei PVH-Patienten

Das Überleben in der univariaten Cox-Regression bei den PH-LHD-Patienten ist signifikant (p=0,013) mit einem HR von 2,333 (95%-KI 1,197-4,547). Der Biomarker erweist sich ebenfalls als stabil in der multivariaten Cox-Analyse. Zusammen mit den Parametern PVR, Geschlecht, SMWD und der WHO-FC gibt es ein HR=3,637 (95%-KI 1,132- 11,690) mit einem p=0,030. In der Cox-Analyse nach den Quartilen bei der dichotomisierten Analyse kann kein Zusammenhang mit dem Überleben festgestellt werden (p>0,05). Die TTCW ist in der Cox-Regression nicht signifikant. (p>0,05 bzw. >0,154 jeweils).

4.2 YKL-40

Die statistischen Analysemethoden sind, falls dies nicht anders beschrieben wird, identisch zu sEng.

4.2.1 Studienkollektiv

Demographische Daten:

Das untersuchte Patientenkollektiv bei YKL-40 besteht aus 173 Patienten. Die 173 Patienten verteilen sich auf 135 PH-Patienten und 38 Ausschluss-Patienten. Die PH-Patienten verteilen sich noch einmal auf die vier verschiedenen Untersuchungsgruppen IPAH, PAH bei CTD, CTEPH und PH-LHD.

Die einzelnen Gruppen werden zusätzlich nach weiteren Charakteristika untersucht. Hierbei handelt es sich um das Alter und das Geschlecht, die WHO-FC und der SMWD sowie die hämodynamischen Parameter mPAP, PAWP, HZV, CI und PVR. Hinzu kommen für die Überlebensanalysen noch die Todesfälle und die Ereignisse für die TTCW.

Dies ist in der Tab. 7 auf Seite 40 dargestellt.

Charakterisierung der Ausschluss-PH-Patienten:

Die Ausschluss-Patienten haben jeweils unterschiedliche Gruppen von Grunderkrankungen. 14 (36,9%) haben eine kardiale, 17 (44,7%) haben eine pulmonale, drei (7,9%) haben eine thromboembolische Grunderkrankung und vier (10,5%) haben eine Erkrankung aus der Gruppe der Kollagenosen. Sie haben eine mittlere Ejektionsfraktion des linken Ventrikels (EFLV) von 58,35% (±14,51, N=23) und einen mittleren Body-Maß-Index (BMI) von 28,17 kg/m² (± 7,12, N=38).

	PH-Patienten	IPAH	PAH-CTD	CTEPH	PH-LHD	Ausschluss-PH
YKL-40 [ng/ml] (IQR)	49,02 (43,25) N=135	35,60 (36,87) N=38	53,22 (56,55) N=34	47,05 (43,21) N=36	57,73 (33,87) N=27	48,43 (44,44) N=38
LN (YKL-40 [ng/ml]) (±SD)	3,91 (±0,61) N=135	3,72 (±0,59) N=38	4,00 (±0,66) N=34	3,89 (±0,64) N=36	4,07 (±0,46) N=27	3,88 (±0,67) N=38
WHO-FC gesamt (II, III, IV)	N=133	N=38	N=33	N=35	N=27	N=26
WHO Klasse II	N=40 (30,1%)	N=16 (42,1%)	N=4 (12,1%)	N=9 (25,7%)	N=11 (40,7%)	N=6 (23,1%)
WHO Klasse III	N=75 (56,4%)	N=20 (52,6%)	N=20 (60,6%)	N=22 (62,9%)	N=13 (48,1%)	N=18 (69,2%)
WHO Klasse IV	N=18 (13,5%)	N=2 (5,3%)	N=9 (27,3%)	N=4 (11,4%)	N=3 (11,1%)	N=2 (7,7%)
SMWD [m] (±SD)	325,7 (±121,6) N=121	354,3 (±127,6) N=38	307,5 (±133,6) N=30	311,4 (±117,3) N=32	321,5 (±95,0) N=21	334,9 (±131,8) N=22
mPAP [mmHg] (±SD)	42,71 (±12,6) N=135	47,26 (±15,5) N=38	42,79 (±11,1) N=34	41,25 (±11,2) N=36	38,15 (±9,8) N=27	17,97 (±3,8) N=38
PAWP [mmHg] (±SD)	10,12 (±5,8) N=135	7,95 (±3,1) N=38	6,94 (±3,2) N=34	9,93 (±4,5) N=36	17,41 (±6,4) N=27	8,16 (±3,3) N=38
HZV [l/min] (±SD)	4,42 (±1,2) N=135	4,25 (±1,4) N=38	4,33 (±0,9) N=34	4,29 (±1,1) N=36	4,95 (±1,3) N=27	5,22 (±1,3) N=38
CI [l/min/m²] (±SD)	2,38 (±0,6) N=135	2,31 (±0,7) N=38	2,43 (±0,6) N=34	2,25 (±0,5) N=36	2,60 (±0,6) N=27	2,75 (±0,6) N=38
PVR [dyn x s x cm $^{-5}$] (IQR)	565 (505) N=135	764 (718) N=38	636 (488) N=34	522 (460) N=36	306 (304) N=27	154 (93) N=38
Alter zum Messzeitpunkt [Jahre] (±SD)	62,24 (±15,5) N=135	55,02 (±17,1) N=38	59,58 (±13,6) N=34	64,29 (±14,7) N=36	73,00 (±9,5) N=27	66,13 (±11,2) N=38
Geschlechtsverhältnis weiblich : männlich	1,89 : 1 N=133	2,17 : 1 N=38	5,60 : 1 N=33	0,94 : 1 N=35	1,45 : 1 N=27	1,89 : 1 N=26
Todesfälle	N=41 (30,6%)	N=11 (28,9%)	N=15 (44,1%)	N=7 (20,0%)	N=8 (29,6%)	N=2 (7,4%)
Ereignisse in der TTCW	N=76 (58,9%)	N=26 (74,3%)	N=25 (78,1%)	N=13 (37,1%)	N=12 (44,4%)	N=2 (7,4%)

Tab. 7: Dargestellt sind die einzelnen untersuchten Charakteristika in Bezug auf die einzelnen Gruppen bei YKL-40

4.2.2 Biomarkerverteilung

Der Mittelwert der Biomarkerverteilung über alle untersuchten Patienten bei YKL-40 liegt bei 59,55 ng/ml, die SD lag bei 38,60 ng/ml. Der Median lag bei 49,02 ng/ml, was für eine linksgipflige Verteilung spricht. Aus diesem Grund werden für die statistische Auswertung die Plasmawerte dieses Proteins logarithmiert, um eine Normalverteilung für die korrekte Auswertung zu erhalten. Dies ist in Abb. 15 auf Seite 41 dargestellt. Somit ergibt sich nun einen Mittelwert in der logarithmierten Verteilung von 3,90 (SD ±0,62)

und einen Median von 3,89. Nun können statistische Test für normalverteilte Variablen für die logarithmierten Werte benutzt werden. Die Werte wurden als valide angesehen.

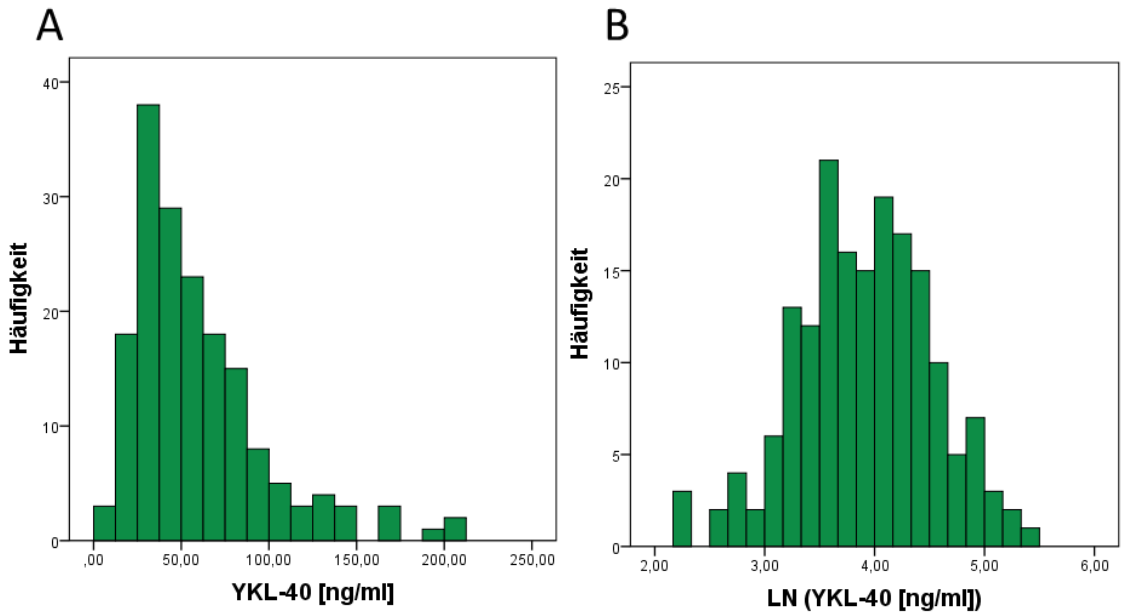

Abb. 15: Biomarkerverteilung von YKL-40. A: linksgipflige Verteilung der Plasmawerte, **B:** Normalverteilung der logarithmierten Plasmawerte

4.2.3 YKL-40 als Biomarker bei PH-Patienten

<u>Diagnostischer Biomarker:</u>

Der Biomarker YKL-40 wird zwischen den Gruppen der PH und der Ausschlussgruppe verglichen. Dies könnte ein Hinweis für einen diagnostischen Biomarker sein. Bei dem Vergleich der gesamten PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten konnte im Mann-Whitney-U-Test kein Unterschied gefunden werden (p=0,982). Abb. 16 zeigt diesen Vergleich.

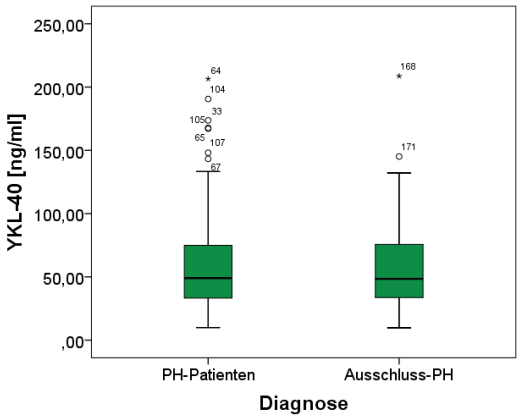

Abb. 16: Plasmawerte von YKL-40 im Vergleich von den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten

Bei dem Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen kann ebenfalls kein Unterschied festgestellt werden. Der ANOVA-Test findet keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (p=0,188). In Abb. 17 sind die Plasmawerte der einzelnen Gruppen graphisch gegenübergestellt.

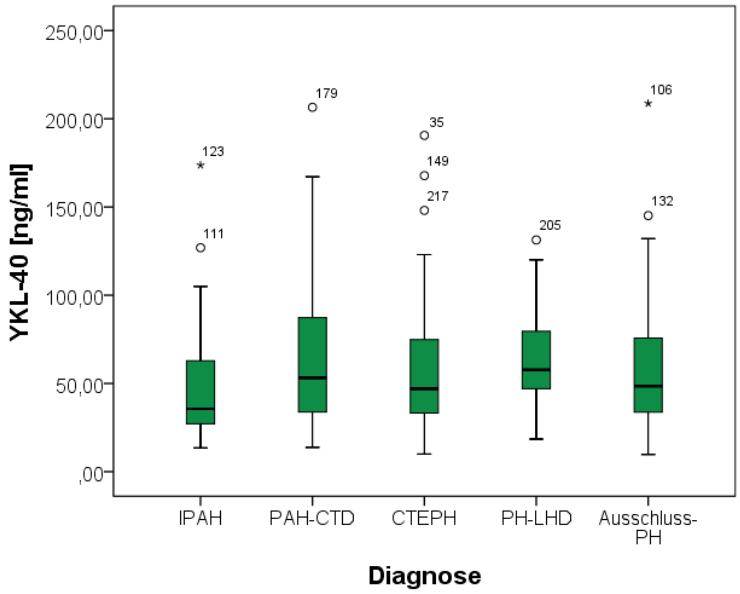

Abb. 17: Plasmawerte von YKL-40 im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen

Biomarker für den Schweregrad der Erkrankung, dem Geschlecht und dem Alter:

Da bekanntermaßen die Konzentration von YKL-40 mit dem Alter ansteigt, haben wir das Alter der einzelnen Untersuchungsgruppen verglichen [15]. Der einfaktorielle ANOVA-Test konnte einen Altersunterschied zwischen den einzelnen Ätiologien feststellen (p<0,001). In folgenden Post-Hoc-Test fanden sich signifikante Anteile nur in einem Teil der Verhältnisse (zwischen PH-LHD- und den Gesamt-PH-, den IPAH- sowie den PH-CTD-Patienten; zwischen den IPAH- und den Ausschluss-Patienten) Die genaue Aufstellung ist im Anhang auf Seite 77 zu finden.

Im Folgenden wird die Gruppe der Ausschluss-PH-Patienten aus der Analyse genommen und die übrigen PH-Patienten der einzelnen Gruppen zusammengefasst. Die Stichprobengröße beträgt nun 135 Patienten.

Es wird ebenfalls untersucht, ob sich ein Unterschied in der Plasmakonzentration (logarithmiert) zwischen den Geschlechtern finden lässt. Die Verteilungen dieser beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant (vgl. Tab. 8 auf Seite 43).

Nun wird auch untersucht, ob die Plasmakonzentration von YKL-40, bzw. ihre logarithmierten Werte, im Zusammenhang mit dem Schweregrad der Erkrankung stehen. Zunächst wird untersucht, wie sich die Plasmawerte bei den einzelnen funktionellen Klassen (WHO, NYHA-FC) unterscheiden. Der Unterschied in den Verteilungen ist im Kruskal-Wallis-Test signifikant (p=0,007, vgl. Tab. 8). Die Abb. 18 veranschaulicht diese Tatsache noch einmal.

WHO-FC	YKL-40 [ng/ml] (IQR)	Signifikanz
II	47,42 (42,07)	p=0,007
III	46,78 (40,30)	
IV	77,17 (64,21)	
Geschlecht		
Weiblich	47,85 (40,00)	p=0,719
Männlich	52,03 (44,56)	

Tab. 8: Ergebnisse von der WHO-FC und dem Geschlecht in Bezug auf YKL-40 bei PH-Patienten

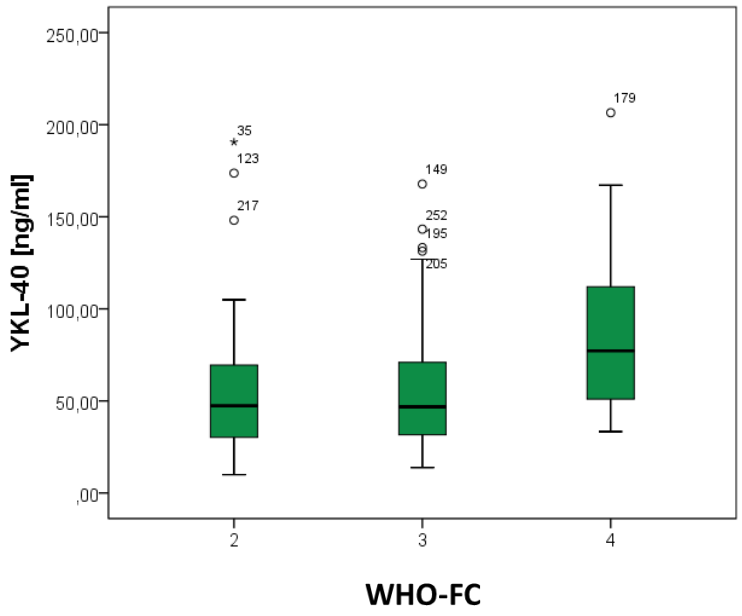

Abb. 18: Zusammenhang zwischen den Plasmawerten und der funktionellen Klasse

Der einfaktorielle ANOVA-Test konnte keinen Altersunterschied zwischen den WHO-FC-Gruppen feststellen (p=0,993).

Die SMWD korreliert mit den logarithmierten Plasmawerten von YKL-40. Diese Korrelation ist jedoch nur schwach ausgeprägt. (vgl. Abb. 19 A auf Seite 45 und Tab. 9)

Das Alter der Patienten ist ebenfalls in der Pearson-Korrelation signifikant im Vergleich zu YKL-40 (logarithmiert). Der Zusammenhang ist mittel ausgeprägt (0,3< r <0,5; vgl. Abb. 19 B auf Seite 45 und Tab. 9)

Die während der RHK-Untersuchung erhobenen hämodynamischen Werte werden ebenfalls mit den logarithmierten Plasmawerten von YKL-40 korreliert. Hierbei kann bei dem mPAP, bei dem PAWP und bei dem PVR eine Korrelation gefunden werden. Diese sind jedoch nur jeweils schwach ausgeprägt (r<0,3). Das HZV und der CI weisen keinen signifikanten Zusammenhang auf. (vgl. Abb. 19 C-E auf Seite 45 und Tab. 9)
Um eventuelle Zusammenhänge zwischen den Korrelationen und dem Alter nachzuweisen, haben wir die erhobenen Daten ebenfalls mit dem Alter korreliert. Dies ist ebenfalls in Tab. 9 dargestellt.

		mPAP [mmHg]	PAWP [mmHg]	HZV [l/min]	CI [l/min/m²]	PVR [dyn x s x cm $^{-5}$]	SMWD [m]	Alter [Jahre]
LN (YKL-40[ng/ml])	Korrelation nach Pearson	-0,171	0,185	0,071	0,106	-0,198	-0,274	0,317
	Signifikanz (p)	0,047	0,032	0,415	0,415	0,021	0,002	<0,001
Alter [Jahre]	Korrelation nach Pearson	-0,451	0,262	0,243	0,275	-0,478	-0,374	
	Signifikanz (p)	<0,001	0,002	0,004	0,001	<0,001	<0,001	

Tab. 9: Korrelationen zwischen den logarithmierten Plasmawerten (YKL-40) sowie dem Alter und den erhobenen Daten

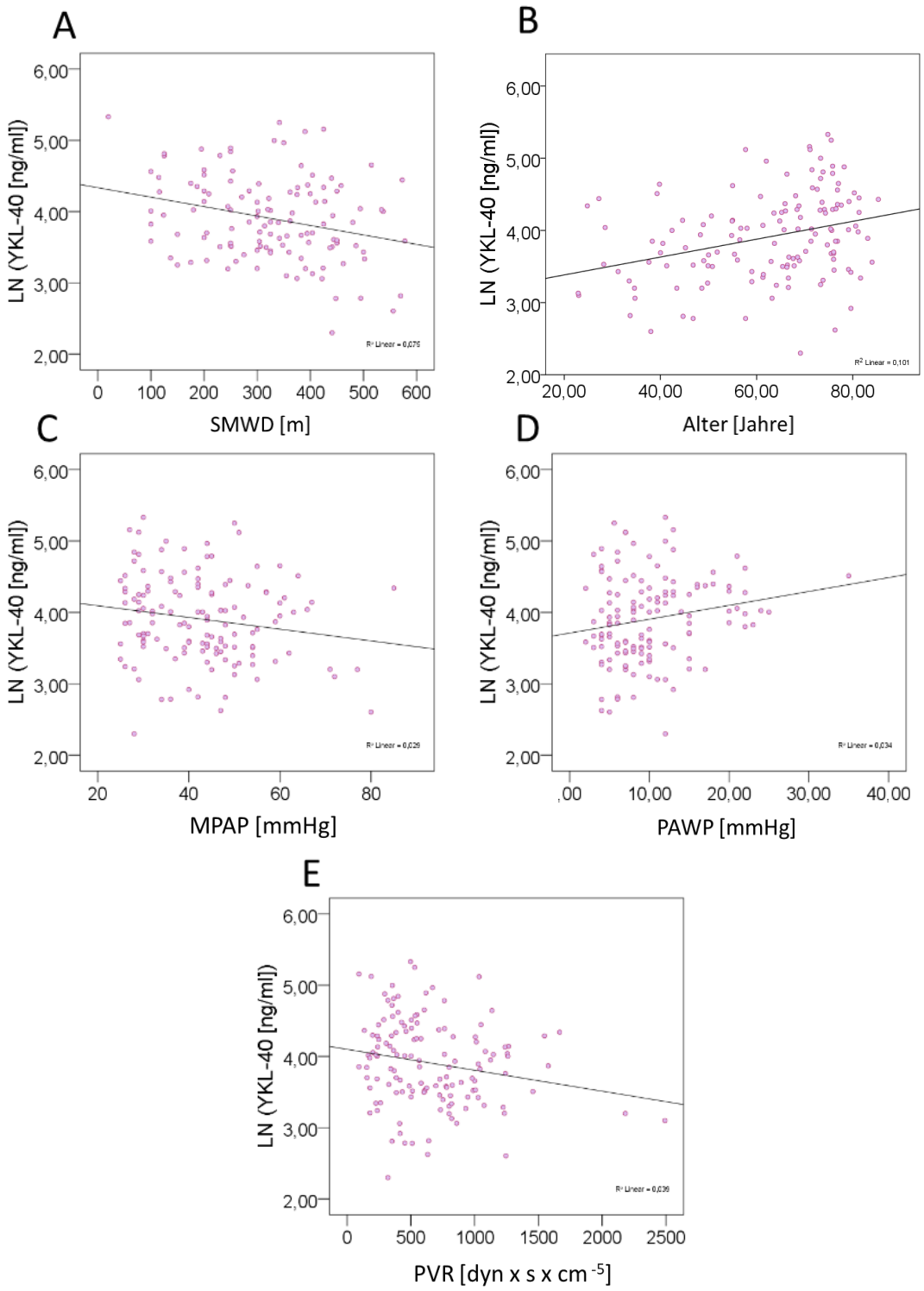

Abb. 19: Korrelationen zwischen den logarithmierten Plasmawerten (YKL-40) und den erhobenen Daten. A: SMWD (r=-0,274, p=0,002), B: Alter (r=0,317, p<0,001), C: MPAP (r=-0,171, p=0,047), D: PAWP (r=0,185, p=0,032**,** E: PVR (r=-0,198, p=0,021)

Prognostischer Biomarker:

Es wird ebenfalls das Überleben bzw. TTCW in Bezug auf den Biomarker untersucht. Für die Überlebensanalyse wurden 134 Patienten (Ereignisse 41 (30,6%), zensiert 93 (69,4%))) und für die TTCW 129 Patienten (Ereignisse 76 (58,9%), zensiert 53 (41,1%)) einbezogen. Das Überleben der PH-Patienten in der Kaplan-Meier-Kurve liegt in unserem Studienkollektiv nach einem Jahr bei 90,1%, nach drei Jahren bei 71,7% und nach fünf Jahren lag es bei 66,3% (vgl. Abb. 20 A auf Seite 47). Um dieses Überleben nun mit den Biomarkerkonzentrationen vergleichen zu können, wird das Kollektiv in Quartile eingeteilt. Der ausschlaggebende Parameter ist hier die Proteinkonzentration. Das erste Quartil hat die niedrigsten Konzentrationen, das letzte Quartil hat die höchsten Konzentrationen. Bei dem Vergleich der Quartile hinsichtlich des Überlebens ist eine Tendenz zu sehen, die im Gesamtvergleich mit Hilfe des Log-Rang-Tests das Signifikanzniveau jedoch verfehlte (p=0,083). Das fünf-Jahres-Überleben des ersten Quartils liegt bei 79,0%, des zweiten Quartils bei 77,0%, des dritten Quartils bei 64,6% und das fünf-Jahres-Überleben des vierten Quartils lag bei 43,3%. Dieser Zusammenhang ist in Abb. 20 B auf Seite 47 dargestellt.

Die Ereignisse bei der TTCW werden definiert als Therapieerweiterung mit einem PH-spezifischen Medikament plus Tod und ist als Ergänzung zur Überlebenszeitanalyse zu sehen. Die ereignisfreie TTCW in der Kaplan-Meier-Kurve liegt nach einem Jahr bei 66,1%, nach drei Jahren bei 43,0% und nach fünf Jahren lag sie bei 31,8%. Die TTCW wird ebenfalls für die beschriebenen Quartile bestimmt. Hierbei kann kein Zusammenhang im Gesamtvergleich festgestellt werden (p=0,472). Die TTCW ist in Abb. 21 auf Seite 47 dargestellt.

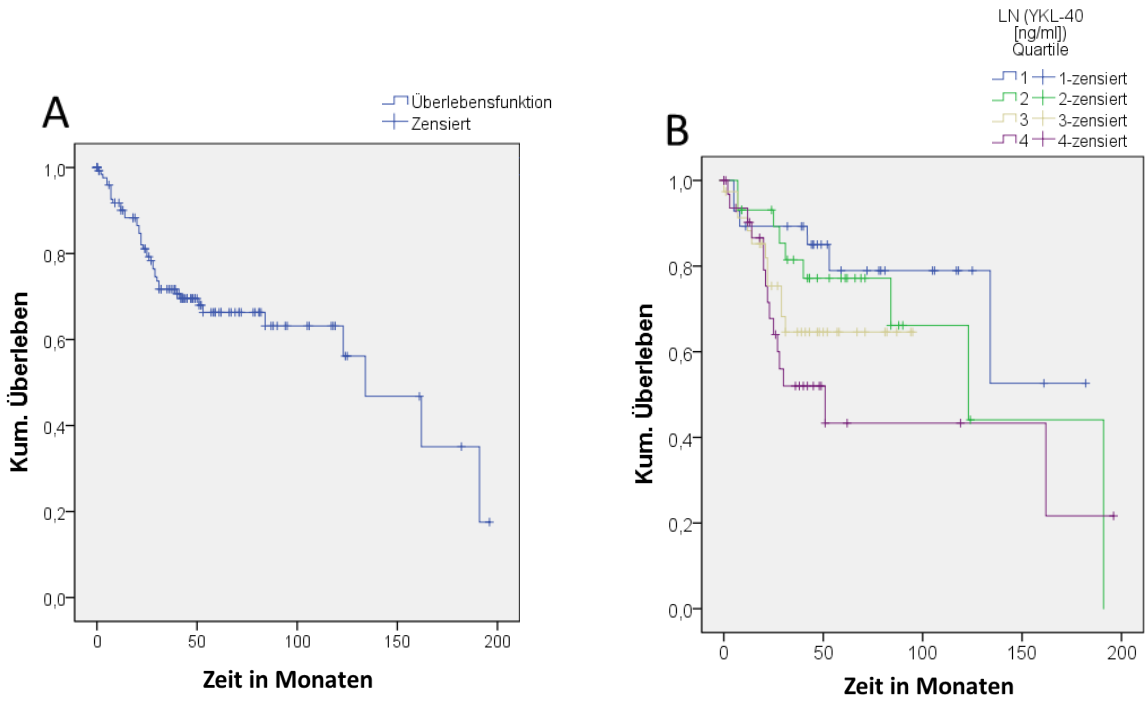

Abb. 20: Darstellung des Überlebens. **A:** Gesamtüberleben der PH-Patienten. **B:** Überleben der einzelnen Quartile

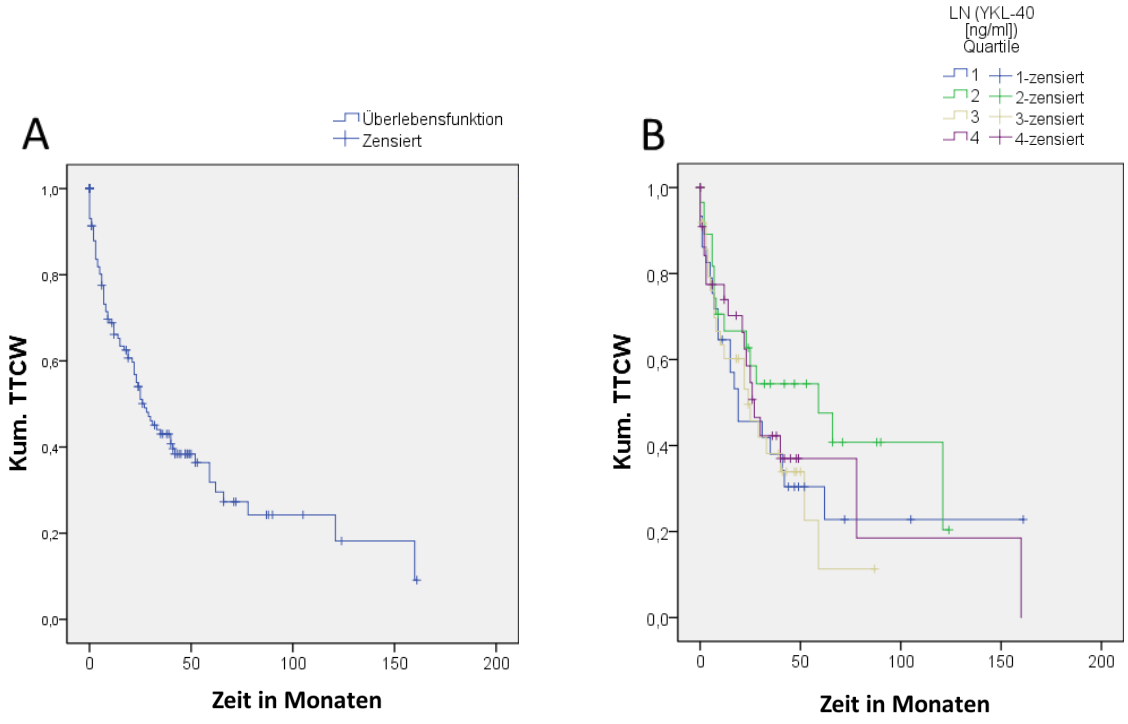

Abb. 21: Darstellung der TTCW. **A:** Gesamt-TTCW der PH-Patienten, **B:** TTCW der einzelnen Quartile

Das Überleben und die TTCW im Studienkollektiv werden ebenfalls mit Hilfe der Cox-Regression untersucht. Dies wird uni- und multivariat durchgeführt. Das Studienkollektiv wird sowohl dichotomisiert als auch in Quartilen untersucht.

Das Überleben in der univariaten Cox-Regression ist in Bezug auf den Biomarker signifikant (p=0,011) mit einem HR von 1,893 (95%-KI 1,158- 3,095). Dies kann in der Analyse der einzelnen Quartile ebenfalls nachvollzogen werden. Hier ist jedoch nur das erste zu dem vierten Quartil signifikant (p=0,022) mit einem HR von 3,077 (95%-KI 1,178- 8,000).

Wenn man das Überleben multivariat untersucht, stellt sich der Marker YKL-40 ebenfalls als stabiler Prädiktor für das Überleben heraus. Zusammen mit den Parametern PVR, Geschlecht, SMWD, und der WHO-FC ist YKL-40 (logarithmiert) mit einem p=0,018 und einem HR=2,316 (95%-KI 1,153- 4,651) signifikant.

Bei der univariaten Cox-Regression kann ebenfalls ein Zusammenhang zwischen der dichotomisierten Biomarkerkonzentration (logarithmiert) und dem Überleben festgestellt werden. Das HR liegt hier bei 2,073 (95%-KI 1,090- 3,945) mit einem P-Wert von 0,026. Bei der multivariaten Cox-Regression (dichotomisiert) erweist sich YKL-40 (logarithmiert) als stabiler Prädiktor für das Überleben (HR=1,935, 95%-KI 0,884-4,233, p=0,098) mit den Parametern Geschlecht, SMWD, CI und PVR.

Die genaue Einführung der Variablen bei den multivariaten Analysen ist im Anhang auf Seite 82 und 83 aufgezeigt.

Bei der univariaten Cox-Regression hinsichtlich der TTCW kann kein Zusammenhang gefunden werden. Es zeigt sich ein HR mit 1,144 (95%-KI 0,802- 1,631; p=0,458).

Eine Übersicht über die Zusammenhänge zwischen YKL-40 und den einzelnen Parametern liefert eine Tabelle im Anhang auf Seite 84 und 85. Diese sind dort auch den Ausschluss-PH-Patienten gegenübergestellt.

4.2.4 YKL-40 als Biomarker der einzelnen ätiologischen Gruppen

Die Art der statistischen Tests und die Tatsache, dass die Plasmawerte bei der Untersuchung logarithmiert werden, sind in den Untergruppen identisch zu der Gesamtanalyse.

IPAH:

Die Stichprobengröße bei den IPAH-Patienten liegt bei 38. Hier wurden ebenfalls die logarithmierten Biomarkerkonzentrationen in Zusammenhang mit den klinischen und demographischen Werten gesetzt. Bei dem Vergleich der beiden Geschlechter kann kein Zusammenhang in der Verteilung gefunden werden. Der Median liegt bei den weiblichen Patienten bei 35,60 ng/ml [IQR 33,48] und bei den männlichen Patienten bei 35,85 ng/ml [IQR 53,26]. Bei dem Vergleich der funktionellen Klassen kann ebenfalls kein Zusammenhang gefunden werden (p= 0,856). Der Median von Klasse II liegt bei 35,60 ng/ml [IQR 48,95], bei Klasse III bei 35,98 ng/ml [IQR 24,35] und bei Klasse IV bei 55,03 ng/ml [N=2; Spannweite 43,36]. Die 6-Minuten-Gehstrecke korreliert bei dieser Patientengruppe ebenfalls nicht signifikant mit der logarithmierten Biomarkerkonzentration. Die hämodynamischen Werte werden ebenfalls in Zusammenhang mit der Konzentration gesetzt. Bei der Korrelation nach Pearson wird nur bei dem PAWP (r=0,326, p=0,046) und bei dem HZV (r=0,348, p=0,032) das Signifikanzniveau unterschritten. Dies ist in Abb. 22 dargestellt. Für den mPAP, den CI und den PVR wird kein Zusammenhang gefunden. Der PAWP korreliert nicht signifikant mit dem Alter (r=0,252, p=0,128). Das HZV korreliert signifikant mit dem Alter (r=0,414, p=0,010).

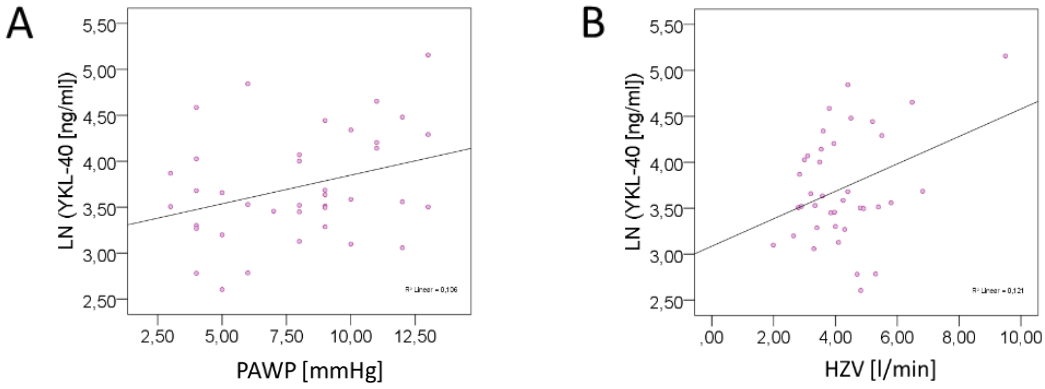

Abb. 22: Zusammenhang zwischen den hämodynamischen Werten und der logarithmierten Plasmakonzentration von YKL-40 bei den IPAH-Patienten. A: PAWP (r=0,326, p=0,046), B: HZV (r=0,348, p=0,032)

In die Überlebensanalyse fließen 38 Patienten (Ereignisse 11, zensiert 27) und in die TTCW 35 Patienten (Ereignisse 26, zensiert 9). In dieser Gruppe haben nach einem, drei und fünf Jahren 82,8% der Patienten überlebt. Wenn man das Überleben in Bezug auf die Quartile in der Kaplan-Meier-Kurve untersucht, findet man eine leichte Tendenz, welche jedoch nicht signifikant ist (p=0,214). Dies ist in Abb. 23 dargestellt. Bei der Untersuchung der TTCW in der Kaplan-Meier-Kurve (in Quartilen) kann kein Zusammenhang gefunden werden (p=0,614).

Das Überleben in der univariaten Cox-Regression wird bei den IPAH-Patienten grenzwertig signifikant (p=0,047) mit einem HR von 2,609 (95%-KI 1,011- 6,730). Der Biomarker erweist sich ebenfalls stabil in der multivariaten Cox-Analyse mit einem HR von 10,688 (95%-KI 1,514- 75,442) und einem p=0,017. Als weitere Parameter werden hier der PVR, das Geschlecht, der SMWD, und die funktionelle Klasse (WHO) untersucht. In der univariaten Cox-Analyse nach den Quartilen und in der dichotomisierten Analyse kann kein Zusammenhang festgestellt werden. Dies ist ebenfalls für die TTCW der Fall. (p>0,05 bzw. p>0,154 jeweils)

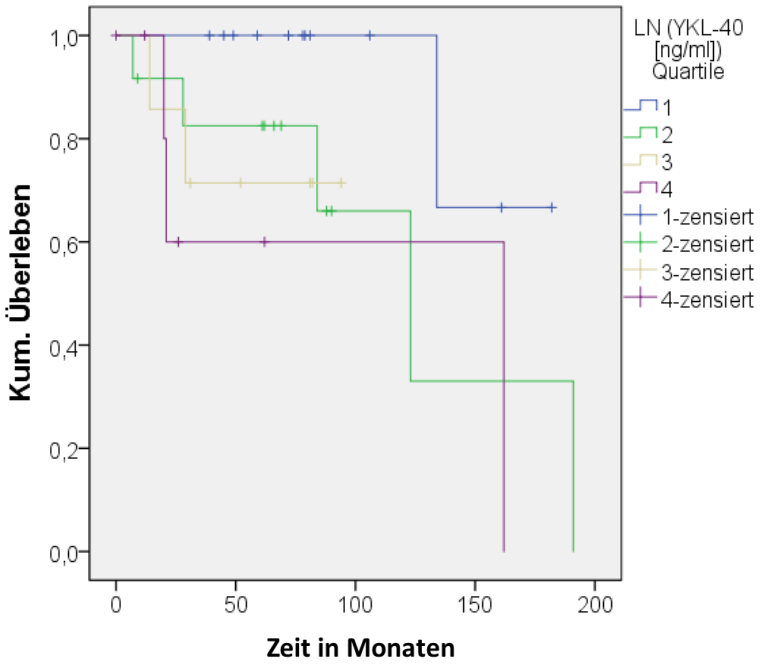

Abb. 23: Überleben in Quartilen in Bezug auf den Biomarker bei IPAH

PAH-CTD:

Die Stichprobengröße bei den PAH-CTD-Patienten liegt bei 34. Bei dem Vergleich der Verteilung (LN) der Geschlechter kann kein Zusammenhang gefunden werden. (weiblich 59,89 ng/ml [IQR 67,98], männlich 39,16 ng/ml [IQR 35,11], p=0,213)

Bei der WHO-Klasse (NYHA-FC) kann man eine leichte Tendenz im Vergleich zu dem Biomarker erkennen, welche jedoch in unserem Kollektiv für die PAH-CTD-Patienten nicht signifikant ist (p=0,125). Dies ist in Abb. 24 dargestellt. Der Median für die Klasse II liegt bei 45,36 ng/ml [IQR 25,93], bei der Klasse III bei 59,89 ng/ml [IQR 46,52] und bei der Klasse IV bei 96,64 ng/ml [IQR 98,94].

Der einfaktorielle ANOVA-Test konnte keinen Altersunterschied zwischen den WHO-FC-Gruppen feststellen (p=0,770).

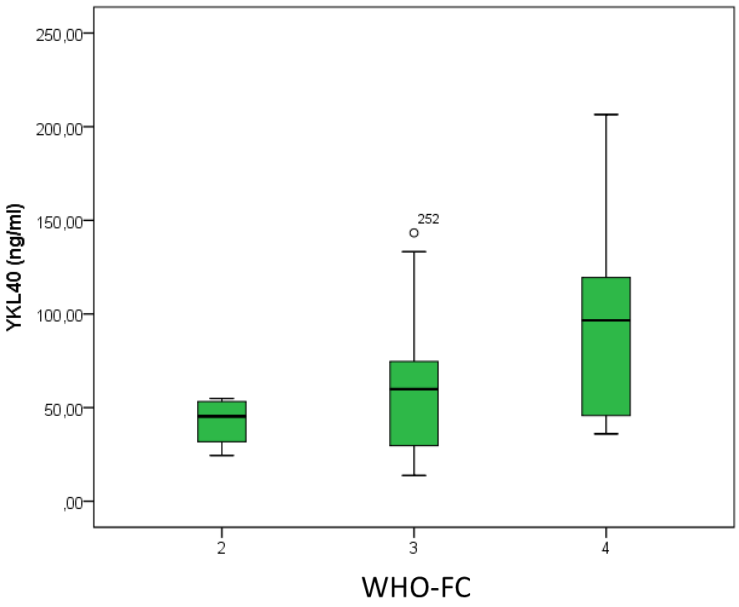

Abb. 24: Vergleich der FC bei den CTD-Patienten mit den Plasmawerten von YKL-40

Die SMWD ist ebenfalls in der Paerson-Korrelation nicht signifikant (r=-0,288, p=0,123). Dies setzt sich bei dem Vergleich der hämodynamischen Parameter mit der logarithmierten YKL-40-Konzentration fort. Die Korrelation nach Pearson zeigt wie bei dem mPAP (r=-0,195, p=0,269), bei dem PAWP (r=0,106, p=0,549), bei dem HZV (r=-0,277, p=0,112), bei dem CI (r=-0,149, p=0,401) und bei dem PVR (r=-0,031, p=0,860) keinen signifikanten Zusammenhang auf.

Für die Überlebensanalyse wurden 34 Patienten (Ereignisse 15, zensiert 19) und für die TTCW 32 Patienten (Ereignisse 25, zensiert 7) einbezogen. Das Überleben nach einem Jahr liegt in der Kaplan-Meier-Kurve bei 81,8%, nach drei Jahren bei 61,4% und nach fünf Jahren bei 49,0%. Dieses Überleben verfehlt jedoch in der Untersuchung nach den Quartilen das Signifikanzniveau (p=0,790). Dies ist ebenfalls für die TTCW der Fall (p=0,707). In der univariaten Cox-Regression kann kein Zusammenhang zum Überleben (HR=1,324, 95%-KI 0,546- 3,213, p=0,535) und zur TTCW (HR 1,023, 95%-KI 0,546-1,917, p=0,944) gefunden werden. Dies ist ebenfalls in der multivariaten Cox-Regression der Fall (p>0,154). Die Einteilung in Quartile und die dichotomisierte Untersuchung ist ebenfalls nicht signifikant (p>0,05 jeweils).

CTEPH:

Die Stichprobengröße der CTEPH-Gruppe liegt bei 36 Patienten. Es wurde in Bezug auf die Verteilung des Biomarkers kein Unterschied bei den Geschlechtern gefunden (p=0,196, weiblich 40,48 ng/ml [IQR 27,73], männlich 51,72 ng/ml [IQR 69,69]). Dies ist ebenfalls bei dem Vergleich der Verteilungen funktionellen Klassen der Fall (p=0,143, Klasse II 37,53 ng/ml [IQR 84,20], Klasse III 43,69 ng/ml [IQR 33,77] und Klasse IV 81,48 ng/ml [IQR 31,57]).

Bei der 6-Minuten-Gehstrecke kann ein signifikanter mittlerer Zusammenhang mit der Plasmakonzentration festgestellt werden (r=-0,371, p=0,037). Dies ist in Abb. 25 auf Seite 53 dargestellt. Für die hämodynamischen Parameter mPAP (r=-0,065, p=0,705), PAWP (r=-0,010, p=0,956), HZV (-0,044, p=0,799), CI (r=0,146, p=0,397) und PVR (r=-0,087, p=0,615) kann kein Zusammenhang mit YKL-40 in der Pearson-Korrelation gefunden werden. Die SMWD korreliert in diesem Kollektiv signifikant mit dem Alter (r=-0,538, p=0,002).

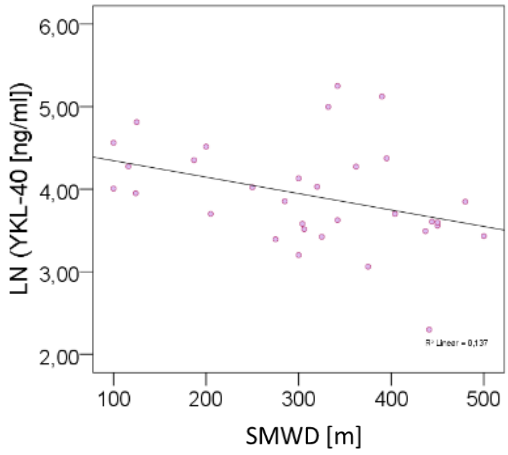

Abb. 25: Zusammenhang zwischen der Plasmakonzentration und der SMWD bei CTEPH (r=-0,371, p=0,037)

Für die Überlebensanalyse konnten 35 Patienten (Ereignisse 7, zensiert 28) und für die TTCW 35 Patienten (Ereignisse 13, zensiert 22) verwendet werden. Das Überleben nach einem Jahr liegt in dieser Gruppe bei 86,6%, nach drei Jahren bei 75,3% und nach fünf Jahren ebenfalls bei 75,3%. Es kann jedoch bei den Quartilen kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden (p=0,328). Der Log-Rank-Test für die TTCW der einzelnen Quartile kann jedoch einen signifikanten Unterschied finden (p=0,026). Dies ist in Abb. 26 dargestellt. Zu beachten ist in dieser Abbildung die Anordnung der einzelnen Quartile.

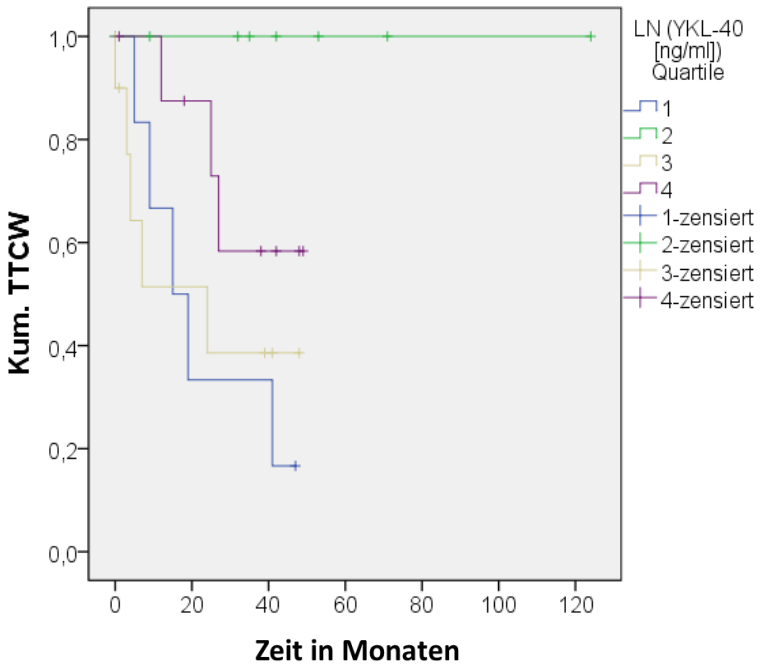

Abb. 26: Darstellung der TTCW der einzelnen Quartile bei CTEPH-Patienten (p=0,026)

In der univariaten Cox-Regression kann weder bei dem Überleben (HR 1,960, 95%-KI 0,640- 6,000, p=0,238) noch bei der TTCW (HR 0,878, 95%-KI 0,409- 1,887, p=0,739) ein Zusammenhang mit der Plasmakonzentration von YKL-40 gefunden werden. Die Einteilung nach Quartilen und dichotomisiert weist ebenfalls keinen Zusammenhang auf (p>0,05 jeweils).

PH-LHD:

Die Gruppengröße liegt hier bei 27 Patienten. Von diesen sind 8 verstorben. Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Biomarkerkonzentration (logarithmiert) und den Parametern in diesem Kollektiv gefunden werden

Es kann kein Unterschied in der Biomarkerverteilung bei den Geschlechtern gefunden werden (p=0,451, weiblich 64,03 ng/ml [IQR 36,22], männlich 55,46 ng/ml [IQR 32,53]). Dies ist ebenfalls bei dem Vergleich der Verteilungen der funktionellen Klassen der Fall (p=0,421, Klasse II 55,93 ng/ml [IQR 26,98], Klasse III 57,73 ng/ml [IQR 41,66] und Klasse IV 73,49 ng/ml [N=3, Spannweite 64,53].

Bei der Korrelation nach Pearson kann weder für die SMWD (r=-0,112, p=0,628) noch für die hämodynamischen Parameter mPAP (r=0,059, p=0,772), PAWP (r=0,259, p=0,192), HZV (r=-0,016, p=0,939), CI (r=0,073, p=0,716) und PVR (r=-0,083, p=0,680) eine Signifikanz gefunden werden.

Für die Überlebensanalyse wurden 27 Patienten (Ereignisse 8, zensiert 19) und für die TTCW 27 Patienten (Ereignisse 12, zensiert 15) eingezogen. Das Überleben in der Kaplan-Meier-Kurve in dieser Gruppe nach einem Jahr liegt bei 95,2%, nach drei Jahren bei 64,5% und nach 5 Jahren bei 56,4%. Nach der Einteilung in die Quartile kann jedoch kein signifikanter Unterschied gefunden werden (p=0,305). Dies war ebenfalls für die TTCW der Fall (p=0,552).

In der univariaten Cox-Regression ist das Überleben (HR 2,674, 95%-KI 0,536- 13,350, p=0,231) und die TTCW (HR 1,503, 95%-KI 0,433- 5,213, p=0,521) ebenfalls nicht signifikant. Dies zeigt sich auch multivariat, wie auch dichotomisiert und in den Quartilen (p>0,05 bzw. p>0,154 jeweils).

5 Diskussion

Mit Hilfe dieser Arbeit soll die Frage untersucht werden, ob sEng und YKL-40 als Biomarker für die Diagnostik, den klinischen Schweregrad und die Prognose bei Patienten mit PH eine Rolle spielen könnten. Es gibt in der Literatur bereits beschriebene Zusammenhänge zwischen den Proteinen und PH-Patienten [6,20,25,32,87]. SEng und YKL-40 werden hierfür im Blutplasma untersucht.

5.1 Diskussion zum löslichen Endoglin

5.1.1 Rolle von sEng als ein diagnostischer Biomarker bei PH

Bei sEng stellt sich heraus, dass es bedingt eine diagnostische Differenzierung zwischen PH-Patienten und den Ausschluss-Patienten ermöglichen kann ($p<0,001$). Dies lässt sich bei den Untergruppen für die Patienten mit einer PAH-CTD ($p=0,017$) oder PH-LHD ($p=0,002$) gegenüber den Ausschluss-Patienten nachvollziehen. Zusätzlich zeigt sich ein Unterschied zwischen den CTEPH- und den PH-LHD-Patienten ($p=0,031$).

	PH-Patienten	IPAH	PAH-CTD	CTEPH	PH-LHD	Ausschluss-PH
sEng [ng/ml] (±SD)	4,26 (±1,24) N=144	4,20 (±1,12) N=39	4,43 (±1,18) N=38	3,82 (±0,98) N=38	4,68 (±1,59) N=29	3,59 (±1,13) N=41

Tab. 10: Mittelwerte von sEng der einzelnen Gruppen

Für die Untersuchung, ob es sich um einen diagnostischen Biomarker handeln könnte, wird die Konzentrationen von sEng den Konzentrationen einer Kontrollgruppe mit dem Ausschluss einer PH gegenübergestellt. Dies soll eine realistische Kontrolle darstellen, da bei allen Patientenproben ein RHK in der Diagnostik durchgeführt wurde. Auch wenn die Biomarkerkonzentrationen in einem gesunden Patientenkollektiv von Interesse sind, so sollte der Biomarker unserer Ansicht nach bei Patienten mit ähnlichen Symptomen in der Diagnostik der PH untersucht werden. Coral-Alvarado et al., Malhotra et al. sowie Al-Dujaili et al. benutzten in ihren Arbeiten jeweils eine gesunde Kontrollgruppe [2,25,87] und Bakouboula et al. benutzten eine Kontrollgruppe ohne kardiovaskuläres Ereignis im letzten Jahr [6].

Bakouboula et al. zeigten nach unserer Kenntnis erstmals 2008 eine Erhöhung der Endoglinkonzentration im Plasma bei PAH-Patienten gegenüber einer Kontrollgruppe (vgl. Tab. 11 auf Seite 57). Da sich die Methodik mit einem antikörperbasierten *functional prothrombinase assay* von der in dieser Arbeit benutzten ELISA unterscheidet, ist ein direkter Vergleich jedoch nur sehr eingeschränkt möglich. [6] Dennoch überschneiden sich die Ergebnisse in der Tendenz mit diesen Untersuchungen, da bei den PH-Patienten, speziell der PAH-CTD-Patienten, ebenfalls eine Erhöhung festgestellt werden kann. Coral-Alvarado et al. untersuchten im Jahr 2010 Serumproben von Patienten mit SSc auf die Konzentration von sEng. Hierbei wurden SSc-Patienten mit und ohne echokardiographisch erhöhtem sPAP sowie eine gesunde Kontrollgruppe untersucht. Die SSc-Gruppe mit erhöhtem sPAP unterschied sich signifikant von der Kontrollgruppe, wo hingegen bei der reinen SSc-Gruppe (ohne erhöhten sPAP) nur eine Tendenz ohne Signifikanz zu sehen war (vgl. Tab. 11). [25] Die fehlende Signifikanz lässt sich möglicherweise auf die geringe Gruppengröße von nur 20 Patienten zurückführen [55]. Die im Gesamten niedrigeren Konzentrationen bei Coral et al. lassen sich möglicherweise damit begründen, dass Serumproben verwendet wurden. R&D Systems hat ebenfalls in ihren ELISA tendenziell niedrigere Konzentrationen bei gesunden Probanden im Serum als im EDTA-Plasma gefunden (Serum 3,96ng/ml (SD ±0,92) gegenüber Plasma 4,17 ng/ml (SD ±0,90)). [114]. Die Größe des Unterschiedes ist jedoch unklar. Der ELISA war in der Studie von Coral-Alvarado et al. wie in dieser Arbeit jeweils ein kommerzieller ELISA von R&D Systems, USA. Die abschließende Vergleichbarkeit erscheint somit fraglich. Jedoch decken sich die erhöhten Konzentrationen bei SSc Patienten mit der PAH-CTD-Gruppe gegenüber einer Kontrollgruppe dieser Studie (vgl. Tab. 11 auf Seite 57).

Malhotra et al. haben 2013 das Plasma von PAH-Patienten bezüglich sEng mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Hierbei zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den gesamten PAH-Patienten und der gesunden Kontrolle. Zusätzlich gab es signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Untergruppen der PAH und der gesunden Kontrolle (vgl. Tab. 11). [87] Für die Messung wurde ebenfalls ein R&D-Systems ELISA benutzt. Obwohl sich die Kontrollgruppe zu unserer Studie unterscheidet (gesunde bzw. kranke Patienten) zeigen sich ähnliche Plasmaspiegel von sEng in eben diesen Gruppen (Malhotra et al: 3,66 ng/ml, Kontrollgruppe in dieser Studie 3,59 ng/ml). Dies macht eine gute Vergleichbarkeit zwischen den Studien möglich. In der Arbeit von Malhotra et al.

wurden jedoch generell bei den PAH-Patienten höhere Plasmakonzentrationen von sEng gemessen als in dieser Arbeit. Dies ist vermutlich auch der Grund, dass sich zusätzlich zu dieser Studie die IPAH/HPAH-Patienten bei Malhotra et al. ebenfalls signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden. Der Konzentrationsunterschied kann vermutlich dadurch begründet werden, dass in dieser hier durchgeführten Studie die Patienten bei der Erstuntersuchung im Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Standort Gießen, eingeschlossen wurden. Im Gegensatz hierzu waren die Patienten bei Malhotra et al. bereits mit einer PH-spezifischen Therapie behandelt (Anteil nicht ersichtlich). [87]

Studien	Material	Untersuchungs-gruppe	Charakteristika	
Bakouboula, Morel et al. 2008[6]	Plasma, zentral-venös	PAH-Patienten N=20	Eng^+-Mikropartikel (±SD), [nmol/L PhtdSer Eq]	1,10 (±0,46)
	Plasma, peripher-venös	Kontrollgruppe, N=23, kranke Patienten ohne kardiovaskuläres Ereignis im letzten Jahr	Eng^+-Mikropartikel (±SD), [nmol/L PhtdSer Eq]	0,49 (±0,33)
Coral-Alvarado, Garces et al. 2010[25]	Serum, peripher-venös	SSc mit erhöhtem sPAP N=20	sEng [ng/dl]	6,89 [1]
		SSc ohne erhöhtem sPAP N=20	sEng [ng/dl]	6,20 [1]
		Kontrollgruppe, N=20 (gesunde Patienten)	sEng [ng/dl]	5,42 [1]
Malhotra, Paskin-Flerage et al. 2013[87]	Plasma, peripher-venös	PAH-Patienten N=97	sEng (±SD) [ng/ml]	5,15 (±0,15)
		IPAH/HPAH N=50	sEng (±SD) [ng/ml]	5,12 (±0,19)
		PAH-CTD N=21	sEng (±SD) [ng/ml]	5,43 (±0,40)
		Kontrollgruppe, N=56 (gesunde Patienten)	sEng (±SD) [ng/ml]	3,66 (±0,12)
Al-Dujaili et al. 2018 [2]	Serum, peripher-venös	PAH-Patienten N=67	sEng (±SD) [ng/ml]	1,09 (±0,06)
		Kontrollgruppe, N=21 (gesunde Patienten)	sEng (±SD) [ng/ml]	0,54(±0,11)
Daten dieser Studie	EDTA-Plasma, zentral-venös	PH-Patienten N=144	sEng (±SD) [ng/ml]	4,26 (±1,24)
		IPAH N=39	sEng (±SD) [ng/ml]	4,20 (±1,12)
		PAH-CTD N=38	sEng (±SD) [ng/ml]	4,43(±1,18)
		Kontrollgruppe, N=41 (kranke Patienten)	sEng (±SD) [ng/ml]	3,59 (±1,13)

Tab. 11: Studienvergleich zu sEng und PH
[1] Standardabweichung nicht verfügbar

Al-Dujaili et. al konnten 2018 in ihrer Studie erneut die erhöhten Konzentrationen von sEng im Serum nachweisen [2]. Die Konzentrationen waren jedoch geringer als in

vorherigen Studien sowie in dieser Arbeit (vgl. Tab. 11 auf Seite 57). Somit ist die Vergleichbarkeit sehr fraglich. Eine mögliche Ursache ist der unterschiedlich verwendete ELISA von Elabscience (in dieser Arbeit R&D-Systems). Zusätzlich wurden die Proben lediglich bei -20°C (in dieser Arbeit -80°C) gelagert, wobei die Dauer nicht bekannt ist. Die Tendenz der Ergebnisse konnte jedoch wiederholt werden. [2]

Bezüglich des diagnostischen Potentials von sEng bei PH-LHD-Patienten kann dies in der Studie von Al-Dujaili nachvollzogen werden. Hier fanden sich in einer Subgruppe der PH-Patienten, bei Patienten mit einer Linksherzerkrankung, ebenfalls erhöhte Werte. Diese wurden jedoch nur mit Patienten mit einer PH aufgrund von Lungenarterienembolien, angeborenen Herzfehlern sowie Herzklappenerkrankungen verglichen. [2] In dieser Arbeit fand sich ein Unterschied zu den Ausschluss-PH-Patienten. Es ist zu vermuten, dass dieser Unterschied in den kardiovaskulären Erkrankungen der Patienten begründet ist, auch wenn hier noch weitere Untersuchungen von Nöten sind. [99,118] Dies ist möglicherweise auch der Grund für den grenzwertigen Unterschied zwischen der CTEPH-Gruppe und der PH-LHD-Gruppe. Dieser ist jedoch aufgrund der guten diagnostischen Möglichkeiten bezüglich der CTEPH klinisch wenig relevant [33].

Die IPAH- bzw. die CTEPH-Patientengruppe zeigen zwar erhöhte Werte im Vergleich zur Ausschlussgruppe, jedoch kann kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Dies ist bei der IPAH-Gruppe möglicherweise auf die kleine Gruppengröße zurückzuführen, da Malhotra et al. für diese Gruppe einen Zusammenhang zeigen konnte. [87]

Bei anderen Gefäßerkrankungen wurden unterschiedliche Plasmakonzentrationen gefunden. Bei der Präeklampsie wird unter anderem vermutet, dass sie durch eine Fehlregulierung der Angiogenese gekennzeichnet ist [102]. Bei dieser werden Serumwerte von ca. 46,4 ng/ml gefunden [84]. Diese sind deutlich höher als die Werte dieser Studie. Dies kann damit begründet werden, dass eine fehlregulierte Angiogenese nur ein Teil der Pathophysiologie bei der PH darstellt, da diese eine pathogenetisch sehr heterogene Erkrankung darstellt [124]. Bei Patienten mit einer SSc werden ebenfalls erhöhte Serumwerte von sEng gefunden. Diese sind in Ihrer Konzentration eher vergleichbar mit den gemessenen Werten dieser Arbeit, auch wenn es sich um Serumwerte handelt. [146] Da Coral-Alvarado et al. keinen signifikanten Unterschied

zwischen CTD-Patienten mit und ohne echokardiographisch erhöhtem sPAP finden konnten, bleibt die Rolle von sEng bei diesen Patienten bezüglich der PH noch offen. [25] Im Bereich der Atherosklerose können ebenfalls erhöhte Serumwerte gefunden werden. Diese sind mit 5,9 ng/ml zwar dezent höher als bei diesen Untersuchungen, jedoch sind sie wie bei den SSc-Patienten eher mit den hier gemachten Ergebnissen vergleichbar. [14] Zusätzlich ermöglicht eine Statintherapie bei diesen Patienten eine Reduktion der Serumwerte [99,118]. Dies lässt auf eine Möglichkeit hoffen, dass ein Therapiemonitoring auch auf andere Erkrankungen erweiterbar wäre.

Das diagnostische Potential von sEng konnte mit leichten Einschränkungen aus vorherigen Studien bestätigt werden. Speziell die Rolle bei der PAH-CTD wurde erneut bekräftigt. Generell sind jedoch Konzentrationsunterschiede festzustellen, welche eine Vergleichbarkeit der einzelnen Studien einschränken.

5.1.2 Rolle von sEng bezüglich des Schweregrads der PH

Der Schweregrad der PH wurde in dieser Studie mit Hilfe der WHO-FC, dem SMWD und der oben beschrieben hämodynamischen Werte beurteilt. Bei den gesamten PH-Patienten korreliert lediglich der PAWP mit sEng. Jedoch weist diese Korrelation keine klinische Relevanz auf. Bezüglich der einzelnen Untergruppen kann nur für die IPAH-Patienten ein leichter tendenzieller Zusammenhang zwischen der WHO-FC bzw. dem mPAP und sEng festgestellt werden. Die übrigen Untergruppen weisen keine Zusammenhänge auf.

Coral-Alvarado et al. konnten 2010 in Ihrer Untersuchung bei PAH-CTD-Patienten keinen Zusammenhang zwischen dem sPAP und sEng finden [25]. Erst Malhotra et al. konnten 2013 einen Hinweis auf den Zusammenhang von sEng und der Erkrankungsschwere nachweisen. Hierbei korrelierte sEng mit einer erhöhten WHO-FC [87]. In dieser Studie kann bei dem PH-Patienten-Kollektiv der Zusammenhang mit der WHO-FC nicht nachgewiesen werden. Dies liegt vermutlich an dem gemischten Kollektiv, da Malhotra et al. lediglich PAH-Patienten untersucht hat. Die hier gemachten Untersuchungen können in den Untergruppen bei den IPAH-Patienten eine leichte Tendenz finden bezüglich der WHO-FC und sEng, jedoch nicht bei PAH-CTD-Patienten. Dies zeigt, dass sEng möglicherweise mit der Leistungseinschränkung bei IPAH-Patienten zusammenhängt. Dem widersprechen würde, dass Malhotra et al. und diese Arbeit keinen Zusammenhang zwischen der SMWD und sEng finden können. [87] Die

SMWD korreliert ebenfalls mit der Prognose der Patienten. [152] Zusätzlich zeigt diese Studie, dass relevante Zusammenhänge zwischen hämodynamischen Werten und sEng in unserem Kollektiv fehlen.

In der Zusammenschau ist davon auszugehen, dass sEng möglicherweise eine Rolle unabhängig der hämodynamischen Veränderungen bei PH-Patienten spielt.

5.1.3 Bedeutung von sEng als ein prognostischer Biomarker bei PH

Malhotra et al. konnten 2013 zeigen, dass sEng ein unabhängiger Prädiktor für das transplantatfreie Überleben bei PAH-Patienten darstellt [87]. Dies lässt sich in dieser Studie bei PH-Patienten bestätigen. In der Gesamtgruppe zeigt das Überleben bei der Unterteilung in Quartile in der Kaplan-Meier-Kurve einen grenzwertigen Zusammenhang, wobei höhere Konzentrationen mit einer schlechteren Prognose zusammenhängen. In einer zusätzlich durchgeführten Cox Regression kann dieser Hinweis deutlicher nachvollzogen werden. Hier zeigte sich sEng univariat signifikant mit einem HR von 1,459 (KI 1,170-1,820, p=0,001). Bei der multivariaten Cox-Regression ist sEng hinter der SMWD der deutlichste prognostische Faktor (HR 1,369 KI 1,047-1,790, p=0,022). Wenn man sich zusätzlich sEng dichotomisiert in der Cox-Regression anschaut, zeigt das Protein signifikant einen Unterschied in der Sterblichkeit mit einem HR von 2,674 (KI 1,349-5,300, p=0,005). Dies konnte ebenfalls multivariat bestätigt werden.

Als weiterer prognostischer Endpunkt wird in dieser Studie die TTCW als Ergänzung zur Überlebenszeitanalyse analysiert. Hierbei zeigen sich jedoch bei der Gesamtgruppe geringere Zusammenhänge zu sEng als bei der reinen Überlebenszeitanalyse. In der Kaplan-Meier-Kurve ist die TTCW in Quartilen nicht signifikant. Dies setzt sich in der Cox Regression fort. Hier ist sEng bezüglich der TTCW nur grenzwertig signifikant. Somit ergibt sich die Möglichkeit, dass sEng therapieunabhängig ein Marker für die Prognose der PH darstellt. Dies deckt sich mit Ergebnissen von Malhotra et al. von 2013, wo keine PH-spezifische Therapie mit einer bestimmten sEng-Konzentration assoziiert war. [87]

Die Überlebenszeitanalysen sind in den einzelnen Untergruppen nur sehr eingeschränkt beurteilbar, da die Patientenzahlen und die Ereignisse in der TTCW (Tod bzw. Therapieerweiterung) sehr klein sind (vgl. Tab. 3 Seite 27). Bei der Gruppe der IPAH-

Patienten zeigt sich in der univariaten Cox Regression ein leichter Zusammenhang zwischen sEng und dem Überleben (HR 1,667, KI 1,058-2,628, p=0,028). Dieser ist jedoch multivariat nicht stabil. Da das Patientenkollektiv von Malhotra et al. in seiner Studie von 2013 zum größten Teil aus IPAH/HPAH-Patienten bestand (51,5%), unterstützen diese Ergebnisse zumindest tendenziell die vorherige Studie [87]. In der Gruppe der PH-LHD-Patienten ist das Überleben bezüglich sEng in der univariaten Cox Regression mit einem HR von 2,333 signifikant (KI 1,197-4,547, p=0,013). Es zeigt sich auch, dass sEng in der multivariaten Analyse stabil ist. Da, wie oben beschrieben, die Gruppengröße mit 29 Patienten und 9 Todesfällen sehr klein ist, sollten diese Ergebnisse in einer größeren Studie überprüft werden. Dies ist nach unserem Wissen die erste Studie, die das Überleben bei PH-LHD-Patienten untersucht hat.

5.1.4 SEng und die Rolle bezüglich der Angiogenese

Wie bereits initial beschrieben spielt sEng eine große Rolle bei der Angiogenese. Bei dem kompletten Fehlen von Endoglin bei Untersuchungen an Mäusen zeigt sich, dass diese noch *in uteri* an einer fehlerhaften Angiogenese versterben. [17] Ein vergleichbares Krankheitsbild beim Menschen wäre die hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie Typ 1. Diese autosomal-dominante Erkrankung, bestehend aus vaskulären Dysplasien und Hämorrhagien, ist auf eine Mutation in dem Gen für Endoglin zurückzuführen. [91] Lediglich heterozygote Träger scheinen überlebensfähig. Es wird aktuell vermutet, dass homozygote Träger *in uteri* versterben [67].

Patienten mit einer HHT Typ 1 haben niedrigere Plasmawerte von sEng (Mittelwert bei 1,48 ng/ml (±0,11)) im Vergleich zu gesunden Kontrollen (3,95 ng/ml ±0,87)). Dies ist vermutlich damit zu erklären, dass die HHT Typ 1 aufgrund einer Haploinsuffizienz von Endoglin auftritt. [106] In unserer Studie wurden höhere Plasmawerte (4,26 ng/ml ±1,24) bei Patienten mit einer PH nachgewiesen. Dies lässt sich ebenfalls in weiteren Studien nachvollziehen (vgl Tab. 11 Seite 57). Passend hierzu konnte bei Patienten mit IPAH sowie HPAH eine tendenziell erhöhte Expression von Endoglin auf Endothelzellen nachgewiesen werden im Vergleich zu Patienten ohne eine Erkrankung der Lungengefäße [87].

Endoglin in seiner membranständigen Form wird, wie eingangs dargestellt, eine Förderung der Angiogenese zugeschrieben, wo hingegeben bezüglich der löslichen Form eine Hemmung dieser angenommen wird [86].

Wenn man sich diese Gesichtspunkte vor Augen führt, erscheint die Endoglinerhöhung, sowohl die zelluläre Expression als auch von sEng, aufgrund vermehrt auftretender Gefäßumbauprozesse eine Rolle bei der PH zu spielen.

Die Aussagekraft bezüglich der Gefäßumbauprozesse und somit der Prognose der Patienten könnte durch eine Kombination von ähnlichen Biomarkern erhöht werden. Der lösliche VEGF-receptor-1 (sFlt-1) weist ähnliche Effekte bezüglich der Angiogenese auf wie sEng bei dem Erkrankungsbild der Präeklampsie [141,147]. Ein Zusammenhang bezüglich der PH und den beiden Biomarkern wurde ebenfalls festgestellt [87]. Ob ein zusätzlicher Vergleich dieser Biomarker jedoch ein Zugewinn an Informationen liefern kann, muss abgewartet werden.

5.2 Diskussion zu YKL-40

5.2.1 Rolle von YKL-40 als ein diagnostischer Biomarker bei PH

Es wird wie bei sEng die Plasmakonzentrationen von YKL-40 einem Kontrollkollektiv mit dem Ausschluss einer PH gegenübergestellt. Dies steht im Gegensatz zu Chen et al. 2014 [20] und Furukawa et al. 2018 [32]. Hier wurden gesunde Kontrollen verwendet bzw. Kontrollen, bei denen Erkrankungen mit einer bekannten YKL-40-Erhöhung ausgeschlossen wurden (vgl. Tab. 12 auf Seite 64).

Bojesen et al konnten 2011 zeigen, dass die YKL-40-Konzentrationen im Plasma mit dem Alter ansteigen. [15] Chen et al. sowie Furukawa et al. konnten dies an unterschiedlichen PH-Kollektiven ebenfalls nachweisen. [20,32] In diesem Kollektiv kann dies ebenfalls nachvollzogen werden, auch wenn es nur mittelmäßig klinisch relevant ist ($r=0,317$, $p<0,001$). Somit unterstützt dies die Validität unserer Untersuchung.

In dem hier gewählten Patientenkollektiv können keine relevanten Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden. Chen et al. konnten 2014 jedoch einen Konzentrationsunterschied im Plasma zwischen IPAH-Patienten und einer gesunden Kontrolle nachweisen. [20] Diese Plasmawerte liegen jedoch unter den in dieser Studie gemessenen Werten. Dies ist vermutlich damit zu erklären, dass die Patienten dieser Studie deutlich älter sind als in der Studie von Chen et al. Zusätzlich wurden in der Studie von Chen et al. die IPAH-Patienten nach Erkrankungen mit einer bekannten YKL-40-Erhöhung vorselektiert (vgl. Tab. 12 auf Seite 64). Der fehlende Unterschied zwischen dem IPAH-Kollektiv dieser Arbeit und der Kontrollgruppe mag darüber hinaus an verschiedenen Gründen liegen. In dieser Studie sind die IPAH-Patienten signifikant jünger als in der Kontrollgruppe. [20] Somit kann davon ausgegangen werden, dass bei einer ähnlichen Altersverteilung die Werte höher wären [15]. Zusätzlich ist die Gruppengröße mit N=38 deutlich kleiner als bei Chen et al. mit N=82. In beiden Studien wurden die Plasmaproben mit ELISA von R&D-Systems, USA untersucht [20].

Studien	Material	Untersuchungs-gruppe	Charakteristika	
Chen, Yang et al. 2014[20]	Plasma, peripher-venös	IPAH [2] N=82	Alter (±SD) [Jahre]	31,7 (±9,1)
			YKL-40 (IQR) [ng/ml]	24,90 (22,1)
		Kontrollgruppe N=54 (gesunde Patienten)	Alter (±SD) [Jahre]	29,8 (±7,0)
			YKL-40 (IQR) [ng/ml]	16,58 (5,44)
Furukawa, Matsui et al. 2018[32]	Serum [1]	SSc mit PAH [3] N=5	YKL-40-Altersperzentile (±SD)	89,7 (±10,4)
		SSc mit PAH und ILD [3], N=5	YKL-40-Altersperzentile (±SD)	93,9 (±11,2)
		SSc ohne PAH und ILD [3], N=50	YKL-40-Altersperzentile (±SD)	45,3 (±26,6)
		Kontrollgruppe N=17 (gesunde Patienten)	YKL-40-Altersperzentile (±SD)	23,9 (±17,1)
Daten dieser Studie	EDTA-Plasma, zentral-venös	PH-Patienten N=135	Alter (±SD) [Jahre]	62,25 (±15,52)
			YKL-40 (IQR) [ng/ml]	49,02 (43,25)
		IPAH N=38	Alter (±SD) [Jahre]	55,02 (±17,14)
			YKL-40 (IQR) [ng/ml]	35,60 (36,87)
		PAH-CTD N=34	Alter (±SD) [Jahre]	59,58 (±13,55)
			YKL-40 (IQR) [ng/ml]	53,22 (56,55)
		Kontrollgruppe N=38 (kranke Patienten)	Alter (±SD) [Jahre]	66,13 (±11,19)
			YKL-40 (IQR) [ng/ml]	48,43 (44,44)

Tab. 12: Studienvergleich zu YKL-40 und PH

[1] Der Abnahmeort ist nicht ersichtlich. [2]Ausgeschlossen wurden Patienten mit einer chronisch-obstruktiven Lungenerkrankung, Bindegewebserkrankung, koronaren Herzerkrankung, systemischer Bluthochdruck, Dyslipoproteinämie, chronisches Nierenversagen, Diabetes Mellitus, Lebererkrankungen, Infektionen oder Asthma. [3]Ausgeschlossen wurden Patienten mit Infektionserkrankungen, malignen Grunderkrankungen, SSc mit subklinischen Symptomen oder anderen Erkrankungen mit einer bekannten YKL-40-Erhöhung. ILD: Interstitielle Lungenerkrankung

Furukawa et al. veröffentlichten 2018 ebenfalls eine Studie zu YKL-40 bei PAH. Hierbei ist jedoch die unterschiedliche Methodik gegenüber dieser Untersuchung wichtig. Furukawa et al. haben die Altersperzentile von YKL-40 bei SSc-Patienten im Serum berechnet und dann ihre Auswertungen mit Hilfe der Perzentile von YKL-40 gemacht und nicht mit den direkten Serumwerten. [32] In dieser Arbeit werden hingegen die Plasmawerte, bzw. deren logarithmierte Form, benutzt. Die Arbeitsgruppe um Furukawa konnte zeigen, dass Patienten mit SSc gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe auf einer höheren Altersperzentile sind. Zusätzlich konnte hierbei gezeigt werden, dass SSc-Patienten erhöhte Altersperzentilen von YKL-40 aufweisen, wenn sie eine PAH

entwickeln. [32] In dieser Untersuchung kann kein Unterschied zwischen den PH- bzw. den PAH-CTD-Patienten und der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Da sich die Untersuchungsgruppen dieser Arbeit nicht signifikant im Alter unterscheiden, liegt der fehlende Unterschied möglicherweise an den Grunderkrankungen der Kontrollgruppe. Es gibt sowohl kardiale, pulmonale und thromboembolische Grunderkrankungen sowie Kollagenosen. Bei diesen Erkrankungen ist eine YKL-40-Erhöhung bereits bekannt. [72,105,137] Die Ergebnisse von Furukawa et al. sind auch insofern als kritisch zu sehen, als dass die Untersuchungsgruppen der PAH-Patienten mit einem N=5 sehr klein waren. [32]

In der hier durchgeführten Studie wurden bei den PH-Patienten niedrigere Konzentrationen als bei anderen chronischen Erkrankungen der Lunge gefunden. Bei Patienten mit einer COPD konnten Tong et al. in einer großen Metaanalyse ein Median von 124,7 ng/ml (IQR 59,3-273,5) im Serum feststellen (diese Studie 49,02 ng/ml (IQR 43,25) im Plasma). [137] Dies lässt sich ebenfalls bei Patienten mit Asthma nachvollziehen. Chupp et al. zeigten 2007, dass der Median je nach Untersuchungsgruppe bei 69,7-97,7 ng/ml liegt. [22] Nordenbaek et al. konnten 2005 bei SSc-Patienten einen Median von 161 ng/ml (IQR 112-284) im Serum feststellen. Zusätzlich ist das Protein erhöht, wenn die Patienten eine Lungenbeteiligung zeigen. [105] Dies lässt vermuten, dass YKL-40 im Bereich der Lunge eine Rolle zu spielen scheint, jedoch weniger bei der PH als bei anderen Erkrankungen. Zusätzlich ist YKL-40 bei Erkrankungen außerhalb der Lunge erhöht. [65]

Zusammenfassend muss in unserer Studie festgestellt werden, dass hier die vorbeschriebenen Konzentrationsunterschiede bei PH-Patienten in diesem Patientenkollektiv nicht bestätigen werden können. Dies liegt vermutlich an dem unterschiedlichen Studienaufbau im Vergleich zu vorherigen Studien.

5.2.2 Rolle von YKL-40 bezüglich des Schweregrads der PH

Bezüglich der Krankheitsschwere kann in dieser Studie ein Zusammenhang zwischen der WHO-FC und der Plasmakonzentration von YKL-40 bei den PH-Patienten nachgewiesen werden. Dies scheint auch unabhängig von dem Alter der Fall zu sein, da sich die einzelnen Untergruppen der WHO-FC bei den PH-Patienten in dieser Studie im Alter

nicht signifikant unterscheiden. Dies legt den Verdacht nahe, dass erhöhte Plasmakonzentrationen mit einer größeren Krankheitsschwere assoziiert sind. Dem gegenüber steht die Tatsache, dass Chen et al. keine Zusammenhänge zwischen YKL-40 und der WHO-FC bei IPAH nachweisen konnte. [20] Dieser Unterschied kann durch die unterschiedlichen Patientengruppen begründet sein. Chen et al. haben lediglich IPAH-Patienten untersucht, wo hingegen in dieser Arbeit ein gemischtes Patientenkollektiv untersucht wird. Somit kann es sein, dass der Zusammenhang von der WHO-FC und YKL-40 eher außerhalb der Gruppe der IPAH-Patienten zu suchen ist. Unterstützen würde diese These die Tatsache, dass diese Arbeit bei den PAH-CTD-Patienten eine Tendenz zwischen der WHO-FC und YKL-40 feststellen kann, welche jedoch das Signifikanzniveau nicht erreicht. In den übrigen Gruppen kann keine derartige Tendenz festgestellt werden. Rathcke et al. konnten 2009 bei Patienten mit einer chronischen Herzinsuffizienz keinen Unterschied in der YKL-40-Konzentration zwischen niedrigen (I/II) und hohen (II/IV) NYHA-Klassen (WHO-FC) finden. Dies ergibt die Möglichkeit, dass YKL-40 außerhalb von kardialen Erkrankungen mit der Leistungseinschränkung zusammenhängt. [117]

Es kann ebenfalls bei den PH-Patienten einen Zusammenhang zwischen YKL-40 und den klinischen Parametern wie der SMWD, mPAP, PAWP und PVR nachgewiesen werden. Da diese Parameter in diesem Patientenkollektiv jedoch ebenfalls mit dem Alter korrelieren (vgl. Tab. 9 Seite 44), ist ein unabhängiger Zusammenhang fraglich. Dies setzt sich ebenfalls in den Untergruppen fort. Hierbei korreliert lediglich der PAWP bei IPAH-Patienten signifikant mit YKL-40 und ist altersunabhängig. Dies ist jedoch isoliert wenig relevant. Chen et al. konnten 2014 lediglich einen Zusammenhang mit dem CI nachweisen, der jedoch nur grenzwertig signifikant war. [20]

Abschließend ist zu sagen, dass YKL-40 mit dem klinischen Schweregrad bei PH-Patienten im Bereich der WHO-FC zusammenhängt. Aufgrund des Zusammenhangs mit dem Alter ist jedoch eine Krankheitsspezifität fraglich.

5.2.3 Bedeutung von YKL-40 als ein prognostischer Biomarker bei PH

Chen et al. waren nach 2014 die erste Forschungsgruppe, die bei IPAH-Patienten einen Zusammenhang zwischen YKL-40 im Blutplasma und der Sterblichkeit bzw. der

klinischen Verschlechterung festgestellt haben. Die klinische Verschlechterung setzt sich in ihrer Studie aus dem Tod, Lungentransplantation, Krankenhausaufnahme aufgrund von Rechtsherzversagen und die Erweiterung einer PAH-spezifischen Therapie zusammen. [20] In dieser Studie können wir diese Ergebnisse nur bedingt wiederholen. In der Gesamtgruppe zeigt das Überleben bei der Unterteilung in Quartile in der Kaplan-Meier-Kurve einen nur tendenziellen Zusammenhang, wobei höhere Konzentrationen mit einer schlechteren Prognose zusammenhängen. In einer folgenden Cox-Regression kann diese Tendenz bestätigt werden. Hierbei zeigt sich YKL-40 univariat mit einem HR von 1,893 (KI 1,158-3,095, p=0,011). Dies ist ebenfalls multivariat stabil. In der dichotomisierten Untersuchung können in dieser Arbeit ähnliche Ergebnisse gezeigt werden. Als eine weitere Untersuchung wurde YKL-40 in Bezug auf die TTCW analysiert. Diese TTCW kommt der Studie von Chen et al. näher als die reine Überlebenszeitanalyse. [20] Hierbei kann kein Zusammenhang zu YKL-40 gefunden werden. In der hier untersuchten IPAH-Gruppe ist das Überleben ebenfalls in der Kaplan-Meier-Kurve bei der Einteilung in Quartile tendenziell unterschiedlich. Zusätzlich kann dies in der univariaten Cox-Regression nachvollzogen werden (HR 2,906, KI 1,011-6,730, p=0,047). Diese Tendenz erweist sich multivariat ebenfalls als stabil. Es kann jedoch im Gegensatz zu Chen et al. keinen Zusammenhang zwischen YKL-40 und der TTCW bei den IPAH-Patienten gefunden werden.

Dies mag einerseits an dem kleineren Studienkollektiv bei den IPAH-Patienten liegen (N=38 gegenüber Chen et al. N=82), andererseits aber auch an dem ungefilterten Patientenkollektiv. Chen et al. haben systematisch Patienten mit anderen möglichen Gründen für eine YKL-40-Erhöhung ausgeschlossen. [20] Der fehlende Zusammenhang zwischen der TTCW und YKL-40 zeigt, dass in unserem Kollektiv die Prognose möglicherweise eher therapieunabhängig beurteilt werden kann.

5.2.4 YKL-40 als allgemeiner Biomarker für die Prognose

Wie initial beschrieben, korreliert YKL-40 mit dem Alter [15]. Dies ist in dieser Studie ebenso wie bei der WHO-FC und dem Überleben der Fall. Da dies jedoch für eine große Bandbreite an Erkrankungen nachgewiesen wurde, muss diskutiert werden, ob YKL-40 nicht aufgrund seiner Unspezifität gegenüber einzelnen Erkrankungen ein prognostischer

Marker allgemein von Patienten darstellt [65,66]. Unterstützt wird dies durch die Tatsache, dass YKL-40 von verschiedensten Zellen sezerniert wird. [65]

Diesen Aspekt haben Mygind, Iversen et al. 2013 aufgegriffen. Sie konnten zeigen, dass die YKL-40-Konzentrationen im Serum ein starker Marker für das Überleben darstellt und dies sogar unabhängig der Diagnose bei Entlassung aus einer stationären Behandlung. Untersucht wurde dies an Patienten, die akut in einem Kopenhagener Krankenhaus aufgenommen wurden. [97] Unterstützt wird dies durch diese Studie in dem Sinne, dass hier kein relevanter Hinweis auf einen diagnostischen Biomarker gefunden wurde. Ein weiterer Punkt wäre, dass in dieser Untersuchung zwar ein Zusammenhang mit dem Überleben nachgewiesen werden konnte, jedoch nicht mit der TTCW. Dies spricht bezüglich YKL-40 von einem prognostischen Wert unabhängig der PH bzw. deren spezifischer Therapie.

YKL-40 ist als ein Akute-Phase-Protein zu verstehen. Da jedoch nur geringe Zusammenhänge zu dem klinisch weit etabliertem Marker CRP nachgewiesen wurden, kann angenommen werden, dass YKL-40 einen unterschiedlichen Aspekt einer Entzündungsreaktion wiederspiegelt. [127]

Zusammenfassend betrachtet kann YKL-40 die Prognose bei PH-Patienten sowie vielen weiterer Erkrankungen darstellen.

5.3 Studienlimitationen

Die Messungen der Biomarker und die Auswertung erfolgten rein retrospektiv. Dies stellt eine relevante Beeinträchtigung dieser Studie dar. Zusätzlich sind die Untersuchungsgruppen speziell bei den Untergruppen vergleichsweise klein. In dieser Studie wurden Patienten nicht aufgrund ihrer Begleiterkrankungen vorselektiert. Dies mag mögliche Zusammenhänge maskieren und behindert eine uneingeschränkte Vergleichbarkeit zwischen vorherigen Studien, speziell bei YKL-40. Dies betrifft im Speziellen unser Ausschluss-PH-Kollektiv. Da hier nur Patienten mit einer RHK-Untersuchung eingeschlossen wurden, ist es nicht möglich eine gesunde Kontrollgruppe zu vergleichen. [20,32] Es wurden nur Patienten aus der Universitätsklinik in Gießen in die Studie eingeschlossen. Es ist somit fraglich, ob unsere Ergebnisse auf andere Bevölkerungen übertragen werden können.

Die Konzentrationsmessungen mittels ELISA wurden unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen durchgeführt. Dennoch können eventuelle Messungenauigkeiten nicht ausgeschlossen werden.

Bei den zukünftigen Untersuchungen sollten zusätzlich zu den zentral-venösen Blutproben peripher-venöse Proben verwendet werden, da diese Testmethode weniger invasiv ist und eine einfachere Vergleichbarkeit ermöglicht. Bakouboula et al. haben nachgewiesen, dass es Konzentrationsunterschiede von Eng^{+}-Mikropartikeln zwischen der verschlossenen Pulmonalarterie und der V. jugularis gibt [6]. Dies führt dazu, dass Konzentrationsunterschiede zwischen anderen Orten zumindest nicht ausgeschlossen werden können.

Aufgrund des Studienaufbaus wurde keine Sortierung nach Alter oder Vorerkrankungen vorgenommen. Dies sollte realistischere Untersuchungsbedingungen möglich machen. Leider können so die vorherigen Ergebnisse bei YKL-40 zum größten Teil nicht wiederholt werden. Als Konsequenz sollte bei zukünftigen Untersuchungen nach dem Vorbild von Furukawa et al. die Altersperzentile von YKL-40 verglichen werden. [32] Eine Sortierung in Vorerkrankungen ist aufgrund der Fülle von Zusammenhängen bei YKL-40 und bestimmten Erkrankungen durchaus kritisch zu sehen. [65]

Es wurde ebenfalls keine Vorsortierung anhand bestehender medikamentöser Therapien vorgenommen. Bei sEng ist ein Zusammenhang zwischen einer Statintherapie und einer

Reduzierung der Konzentration beschrieben. [99,118] Es kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass dies die gemachten Ergebnisse beeinflusst hat.

5.4 Ausblick

Diese Untersuchung zeigt ein deutliches Potential von sEng und YKL-40 als Biomarker für die PH. Dieses Potential sollte jedoch in einem größeren Patientenkollektiv untersucht werden. Der Schwerpunkt bei den Patienten könnte bei sEng auf die PAH-CTD und PH-LHD gesetzt werden, da in dieser Gruppe die relevantesten Ergebnisse gefunden wurden. Dies könnte ebenfalls in einer prospektiven und multizentrischen Studie untersucht werden, möglichst mit einem internationalen Patientenkollektiv. [53]

YKL-40 zeigt sich in dieser Studie eher weniger PH-spezifisch in seinen Ergebnissen. Dies könnte jedoch für eine diagnoseunabhängige Beurteilung der Patienten mit Lungenerkrankungen genutzt werden. [97] Hierzu sollten Studien mit gemischten Patientenkollektiven durchgeführt werden.

Die prognostische Relevanz kann zusätzlich durch weitere Messungen der Biomarkerkonzentration im Verlauf beurteilt werden. Somit könnte dies auch die Beurteilung des individuellen Verlaufs ermöglichen. YKL-40 bietet hier die Möglichkeit dies in einem sehr allgemeinen Patientenkollektiv zu tun. [97]

Aufgrund der begrenzten Aussagekraft der hier untersuchten Biomarker könnte eine Kombination von zusätzlichen Biomarkern das Potential weiter ausschöpfen und somit auch die heterogene Erkrankung PH besser abbilden. Dies könnte insbesondere bei sEng und dem Zusammenhang mit der Angiogenese hilfreich sein.

Es konnte kein Zusammenhang zur TTCW bei beiden Markern festgestellt werden. Dies limitiert die Marker auf der einen Seite bei der Frage des Therapiemonitorings. Auf der anderen Seite ermöglicht es jedoch auch potenziell die Beurteilung der Patienten therapieunabhängig. Dies könnte bei Patienten von Vorteil sein, welche unterschiedliche Therapien bereits durchlaufen haben oder bei denen diese noch geplant sind.

6 Zusammenfassung

Hintergrund: Die pulmonale Hypertonie ist eine schwere Erkrankung der Lungengefäße. Da die Symptomatik sehr unspezifisch und die Prognose ungünstig ist, sind zusätzlich zu den bekannten Möglichkeiten weitere Biomarker wünschenswert. Bei den Proteinen sEng und YKL-40 wurden Zusammenhänge zwischen der Plasmakonzentration und der PH bereits beschrieben. In dieser Untersuchung wurde die Konzentration der Biomarker in einem gemischten PH-Kollektiv einer Kontrollgruppe gegenübergestellt und ein möglicher Zusammenhang zwischen den Proteinen und der Krankheitsschwere bzw. der Prognose untersucht.

Methoden: Es wurden bei sEng 185 Plasmaproben und bei YKL-40 173 Plasmaproben mit Hilfe von ELISA untersucht. Die Patienten wurden aufgrund von RHK-Untersuchungen in die Studie eingeschlossen und teilen sich jeweils auf IPAH-, PAH-CTD-, CTEPH- und PH-LHD-Patienten sowie eine Kontrollgruppe auf. Zusammenhänge mit klinischen und hämodynamischen Parametern wurden mittels Pearson Korrelation untersucht. Zusätzlich wurden Mortalitätsanalysen mittels Kaplan-Meier-Kurven und Cox Regression durchgeführt.

Ergebnisse: Für sEng konnten erhöhte Plasmawerte bei den gesamt PH-Patienten sowie den PAH-CTD- und PH-LDH- Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe gefunden werden. Es konnte kein relevanter Zusammenhang zwischen sEng und dem klinischen Schweregrad der PH nachgewiesen werden. In der Kaplan-Meier-Analyse nach Quartilen und in der Cox Regression erwies sich sEng als stabiler prognostischer Marker. Für YKL-40 konnte kein diagnostischer Nachweis gefunden werden. Das Protein korreliert in unserem PH-Kollektiv mit der WHO-FC und mit dem Alter. In der Cox Regression zeigte sich YKL-40 als stabiler Prädikator für das Überleben der PH-Patienten. Bezüglich der TTCW konnten weder sEng noch YKL-40 einen Zusammenhang nachweisen.

Fazit: SEng hat diagnostisches Potential in unserem Kollektiv bei PH-Patienten, speziell bei der PAH-CTD und der PH-LHD. YKL-40 erweist sich nicht als diagnostischer Biomarker in unserer Untersuchung, korreliert jedoch im Bereich der WHO-FC mit dem Schweregrad. SEng und YKL-40 zeigen prognostisches Potential, auch wenn sEng die deutlicheren Zusammenhänge hierbei aufweist. Es sind jedoch weitere Untersuchungen von Nöten, um diese Zusammenhänge zu bestätigen.

Summary

Background: Pulmonary hypertension is severe disease of the pulmonary vessels. Since the symptoms are very nonspezific and the prognosis unfavorable, further biomarkers are desirable in addition to the known possibilities. For the proteins sEng und YKL-40, correlations between the plasma concentrations and the PH have already been described. In this study, the concentration of biomarkers in a mixed PH collective was compared to a control group and a possible correlation between the proteins and the disease severity or the prognosis of the disease was investigated.

Methods: 185 plasma samples were analyzed in sEng and 173 plasma samples in YKL-40 using ELISA. Patients were enrolled in the study as a result of RHC examinations, with IPAH-, PAH-CTD- CTEPH- an PH-LHD-patients as well a a control group. Correlations with clinical and hemodynamic parameters were examined by Pearson´s correlation. In addition, mortality analyzes were performed using Kaplan-Meier-curves and Cox regression.

Results: For sEng, increased plassma levels were found in the total PH-patients and the PAH-CTD- and PH-LHD-patients compared to the control group. No relevant relationship between sEng and the clinical severity of PH could be demonstrated. In the Kaplan-Meier curve according to quartiles and Cox regression, sEng proved to be a stable prognostic marker. For YKL-40 no diagnostic proof could be found. The protein correlates with WHO-FC and with age in our PH-collectiv. In the Cox regression, YKL-40 was a stable predictor fort the survival of PH-patients. With regard to the TTCW, neither sEng nor YKL-40 could prove a connection.

Conclusion: SEng has diagnostic potential in our collectiv of PH-patients, especially in PAH-CTD and PH-LHD. YKL-40 did not prove to be a diagnostic biomarker in our study, but correlated with severity in WHO-FC. SEng and YKL-40 show prognostic potential, although sEng has the clearer relationships here. However, further investigations are needed to confirm these relationships.

7 Anhang

7.1 ELISA für humanes Endoglin (CD105)

Zur Bestimmung der Proteinkonzentrationen von sEng im Plasma wurde der kommerzielle Quantikine® ELISA für humanes Endoglin/CD105 verwendet. [114]

Material:

- ELISA für humanes Endoglin/CD105 (R&D Systems, USA, Katalognummer DNDG00):
    - Humanes Endoglin Mikrotiterplatte (Part: 892530)
    - Humanes Endoglin Konjugat (Part: 892531, Part: 892532)
    - Assay Diluent RD1S (Part: 895137)
    - Calibrator Diluent RD5K (Part: 895119)
    - Waschpuffer-Konzentrat (Part: 895003)
    - Farblösung A (Part: 895000)
    - Farblösung B (Part: 895001)
    - Stopp-Lösung (Part: 895032)
    - 4 klebende Folien
- Horizontaler Inkubationsschüttler (Thriller®)
- Photometer (Tecan Sunrise™ Plate-Reader (Mikrotiterplatten-Lesegerät))
- Destilliertes Wasser

Methode:

Die Untersuchungen wurden nach dem mitgelieferten und von R&D Systems empfohlenen Prozedere durchgeführt *(Katalognummer DNDG00*), welches weiter unten erläutert wird. Die Plasmaproben wurden pur verwendet. Es wurde eine identische Plasmaprobe als Kontrolle bei jeder Messung untersucht. Die Messungen wurden bei allen Proben in Duplikaten durchgeführt.

Vorbereitung: Mithilfe von 480 ml destilliertem Wasser wurden 20 ml des Waschpuffer-Konzentrats verdünnt. Der gefriergetrocknete Standard wurde durch Hinzufügen von 1 ml destilliertem Wasser zu einer Lösung von 100 ng/ml vorbereitet. So konnte eine Verdünnungsreihe von 10 ng/ml bis 0,156 ng/ml hergestellt werden.

Ablauf: Nachdem bereits pro Vertiefung 100µl Assay Diluent RD1S pipettiert wurden, konnte auf der 96-well-Platte je 50 µl der Standardreihe, der Kontrolle und der Plasmaproben in Duplikaten verteilt werden. Die Platte wurde im Anschluss mit der Folie verschlossen und für 2 Stunden bei Raumtemperatur (wie in allen weiteren Schritten) auf dem horizontalen Schüttler bei 500 U/min inkubiert. Nach viermaligem Waschen wurden pro Well 200µl des humanen Endoglin Konjugat (der Peroxidase-gekoppelte Antikörper) zugegeben. Daraufhin wurde die Platte erneut mit einer Folie verschlossen und 2 Stunden auf dem Schüttler inkubiert. Es folgte eine weitere viermalige Waschung. In der Zwischenzeit wurde aus den beiden Farblösungen A und B eine Lösung aus jeweils gleichen Volumina hergestellt. Von dieser wurden nun 200µl in jede Vertiefung gefüllt. Die Platte wurde nun unter absolutem Lichtschutz in Ruhe auf der Arbeitsplatte für 30 Minuten inkubiert. Nach dieser Inkubationszeit wurde die Reaktion durch jeweils 50µl Stopp-Lösung beendet. Die Absorption wurde im direkten Anschluss mittels Photometers bei λ=450nm bestimmt, wobei eine Wellenlängenkorrektur mit λ=540 nm durchgeführt wurde. Die Berechnung der Standardkurve und den daraus resultierenden Messwerten erfolgte mit der Magellan™ Software Version 7.1. [114]

7.2 ELISA für humanes YKL-40 (CHI3L1)

Zur Bestimmung der Proteinkonzentrationen von YKL-40 im Plasma wurde der kommerzielle Quantikine® ELISA für humanes CHI3L1 (YKL-40) verwendet. [113]

Material:

- ELISA für humanes CHI3L1 (R&D Systems, USA, Katalognummer DC3L10):
    - CHI3L1 Mikrotiterplatte (Part: 893664)
    - CHI3L1 Konjugat (Part: 893665)
    - CHI3L1 Standard (Part: 893666)
    - Assay Diluent RD1-34 (Part: 895265)
    - Calibrator Diluent RD5P Konzentrat (Part: 895151)
    - Waschpuffer-Konzentrat (Part: 895003)
    - Farblösung A (Part: 895000)
    - Farblösung B (Part: 895001)
    - Stopp-Lösung (Part: 895032)
    - 4 klebende Folien
- Photometer (Tecan Sunrise™ Plate-Reader (Mikrotiterplatten-Lesegerät))
- Destilliertes Wasser

Methode:

Die Untersuchungen wurde wie bei dem ersten Protein nach dem mitgelieferten und von R&D Systems empfohlenen Prozedere durchgeführt *(Katalognummer DC3L10)*. Die Plasmaproben wurden in diesem Fall 1:50 bzw. bei nicht messbar hohen Konzentrationen 1:80 verdünnt. Es wurde ebenfalls eine identische Plasmaprobe als Kontrolle bei jeder Messung untersucht. Die Messungen wurden bei allen Proben in Duplikaten durchgeführt.

Vorbereitung: 20 ml des Waschpuffer-Konzentrats werden mit 480ml destilliertem Wasser verdünnt. Ebenfalls 20 ml des Calibrator Diluent RD5P Konzentrat werden mit 80 ml destilliertem Wasser verdünnt. Das Standard-Pulver wird durch Hinzufügen von 1 ml destilliertem Wasser zu einer Lösung von 40.000 pg/ml vorbereitet. So kann eine Verdünnungsreihe von 4000 pg/ml bis 62,5 pg/ml hergestellt werden.

Ablauf: Nachdem bereits pro Vertiefung 100µl Assay Diluent pipettiert wurden, konnte auf der 96-well-Platte je 50 µl der Standardreihe, der Kontrolle und der Proben in Duplikaten verteilt werden. Die Platte wurde im Anschluss mit der Folie verschlossen und für 2 Stunden bei Raumtemperatur (wie in allen weiteren Schritten) inkubiert. Nach viermaligem Waschen wurden pro Well 200µl CHI3L1 Konjugat (der Peroxidase-gekoppelte Antikörper) zugegeben. Daraufhin wurde die Platte erneut mit einer Folie verschlossen und 2 Stunden inkubiert. Es folgte eine weitere viermalige Waschung. In der Zwischenzeit wurde aus den beiden Farblösungen A und B eine Lösung aus jeweils gleichen Volumina hergestellt. Von dieser wurden nun 200µl in jede Vertiefung gefüllt. Die Platte wurde nun unter absolutem Lichtschutz für 30 Minuten inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurde die Reaktion durch jeweils 50µl Stopp-Lösung beendet. Die Absorption wurde im direkten Anschluss mittels Photometers bei λ=450 nm bestimmt, wobei eine Wellenlängenkorrektur mit λ=540 nm durchgeführt wurde. Die Berechnung der Standardkurve und den daraus resultierenden Messwerten erfolgte mit der Magellan™ Software Version 7.1. [113]

7.3 Ergebnisse der Altersunterschiede des Post-Hoc-Tests bei YKL-40

Altersgruppe		Signifikanz	Altersgruppe		Signifikanz
PH-Patienten	IPAH	0,077	CTEPH zu	PH-Patienten	0,975
	PAH-CTD	0,932		IPAH	0,070
	CTEPH	0,975		PAH-CTD	0,754
	PH-LHD	0,007		PH-LHD	0,176
	Ausschluss	0,690		Ausschluss	0,994
IPAH zu	PH-Patienten	0,077	PH-LHD zu	PH-Patienten	0,007
	PAH-CTD	0,769		IPAH	<0,001
	CTEPH	0,070		PAH-CTD	0,005
	PH-LHD	<0,001		CTEPH	0,176
	Ausschluss	0,012		Ausschluss	0,418
PAH-CTD zu	PH-Patienten	0,932	Ausschluss-PH zu	PH-Patienten	0,690
	IPAH	0,769		IPAH	0,012
	CTEPH	0,754		PAH-CTD	0,398
	PH-LHD	0,005		CTEPH	0,994
	Ausschluss	0,398		PH-LHD	0,418

7.4 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei sEng

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml]	0,001	1,459	1,170	1,820

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml]	0,007	1,403	1,097	1,794
SMWD	0,000	0,994	0,991	0,997

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml]	0,002	1,433	1,143	1,797
PVR	0,998	1,000	0,999	1,001
Geschlecht	0,166	1,533	0,837	2,806

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml]	0,010	1,390	1,080	1,788
PVR	0,941	1,000	0,999	1,001
Geschlecht	0,384	1,371	0,673	2,790
SMWD	0,000	0,994	0,991	0,997

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml]	0,003	1,418	1,126	1,785
FC IV	0,000	Referenz		
FC II	0,000	0,188	0,076	0,464
FC III	0,001	0,290	0,137	0,615
Geschlecht	0,808	1,086	0,559	2,111
PVR	0,450	1,000	0,999	1,000

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml]	0,022	1,369	1,047	1,790
PVR	0,639	1,000	0,999	1,001
Geschlecht	0,943	0,971	0,441	2,139
SMWD	0,012	0,996	0,992	0,999
FC IV	0,067	Referenz		
FC II	0,036	0,292	0,092	0,922
FC III	0,036	0,359	0,138	0,933

7.5 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei sEng (dichotomisiert)

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml] dichotomisiert	0,005	2,674	1,349	5,300

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml] dichotomisiert	0,006	2,606	1,319	5,152
Geschlecht	0,102	1,641	0,906	2,970

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml] dichotomisiert	0,005	3,316	1,424	7,724
Geschlecht	0,319	1,430	0,708	2,890
SMWD	0,000	0,994	0,991	0,997

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
sEng [ng/ml] dichotomisiert	0,006	3,316	1,412	7,788
Geschlecht	0,287	1,479	0,720	3,038
SMWD	0,000	0,994	0,991	0,997
CI	0,765	1,135	0,494	2,607
PVR	0,652	1,000	0,999	1,001

7.6 Übersicht der Ergebnisse bei den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten von sEng

	PH-Patienten	Ausschluss-PH
Kruskal-Wallis-Test:		
WHO-FC	p=0,613	p=0,419
Mann-Whitney-U-Test		
Geschlecht	p=0,749	p=0,602
Pearson-Korrelation:		
MPAP	r=0,135 p=0,108	r= -0,243 p= 0,126
PAWP	r=0,179 p=0,032	r= 0,139 p= 0,385
HZV	r=-0,085 p=0,311	r= -0,307 p= 0,051
CI	r=-0,110 p=0,187	r= -0,307 p= 0,051
PVR	r=0,084 p=0,319	r=-0,083 p= 0,608
SMWD	r=-0,055 p=0,543	r= 0,354 p= 0,083
Alter	r=0,005 p=0,957	r=0,160 p=0,317
Überleben Kaplan-Meier	p=0,035	p= 0,122
Überleben Cox-Regression	HR=1,459 p=0,001	HR= 1,624 p= 0,066
TTCW Kaplan-Meier	p=0,315	p=0,122
TTCW Cox-Regression	HR=1,193 p=0,043	HR= 1,624 p=0,066
Überleben multivariat Cox-Regression:		
mit SMWD	HR=1,403 p=0,007	HR= 6,221 p= 0,842
mit PVR, Geschlecht	HR=1,433 p=0,002	HR= 3,1*10^14 p= 0,345
mit PVR, Geschlecht, SMWD	HR=1,390 p=0,010	HR= 5,634 p= 0,960
mit WHO-FC, Geschlecht, PVR	HR=1,418 p=0,003	HR= 3,0*10^16 p= 0,405
mit PVR, Geschlecht, SMWD, WHO-FC	HR=1,369 p=0,022	HR= 3,292 p= 0,978
Überleben dichotomisiert Cox-Regression:		
Univariat:	HR=2,674 p=0,005	HR= 101,052 p= 0,441
Multivariat:		
mit Geschlecht	HR=2,606 p=0,006	HR= 348626,5 p= 0,969
mit Geschlecht, SMWD	HR=3,316 p=0,005	HR= 384698,5, p= 0,981
mit Geschlecht, SMWD, CI, PVR	HR=3,316 p=0,006	HR= 3,161, p= 0,995

7.7 Übersicht der Ergebnisse bei den einzelnen PH-Gruppen und den Ausschluss-PH-Patienten von sEng

	IPAH	PAH-CTD	CTEPH	PH-LHD	Ausschluss-PH
Kruskal-Wallis-Test:					
WHO-FC	p=0,094	p= 0,678	p=0,596	p=0,224	p=0,419
Mann-Whitney-U-Test					
Geschlecht	p=0,255	p=1,000	p=0,563	p=0,146	p=0,602
Pearson-Korrelation:					
MPAP	r= 0,313 p= 0,052	r= 0,246 p= 0,136	r= 0,217 p= 0,191	r= -0,170 p= 0,378	r= -0,243 p= 0,126
PAWP	r= 0,064 p= 0,689	r= -0,120 p= 0,473	r= 0,288 p= 0,080	r= 0,225 p= 0,240	r= 0,139 p= 0,385
HZV	r=-0,063 p= 0,703	r= -0,256 p= 0,120	r= -0,220 p= 0,184	r= -0,003 p= 0,986	r= -0,307 p= 0,051
CI	r= -0,139 p= 0,399	r= -0,306 p= 0,062	r= -0,307 p= 0,060	r= 0,056 p= 0,772	r= -0,307 p= 0,051
PVR	r= 0,159 p= 0,335	r= 0,297 p= 0,071	r= 0,238 p= 0,150	r= -0,190 p= 0,324	r=-0,083 p= 0,608
SMWD	r= -0,256 p= 0,116	r= 0,093 p= 0,607	r= -0,020 p= 0,909	r= 0,016 p= 0,946	r= 0,354 p= 0,083
Alter	r=0,059 p=0,723	r=-0,193 p=0,245	r=-0,037 p=0,826	r=0,057 p=0,771	r=0,160 p=0,317
Überleben in Quatielen Kaplan-Meier	p= 0,061	p= 0,899	p= 0,676	p= 0,310	p= 0,122
Überleben Cox-Regression	HR= 1,667 p= 0,028	HR= 1,197 p= 0,350	HR= 1,119 p= 0,741	HR= 2,333 p= 0,013	HR= 1,624 p= 0,066
TTCW in Quartilen Kaplan-Meier	p= 0,481	p= 0,722	p= 0,676	p= 0,478	p=0,122
TTCW Cox-Regression	HR= 1,308 p= 0,124	HR= 1,101 p= 0,498	HR= 1,008 p= 0,976	HR= 1,469 p= 0,143	HR= 1,624 p=0,066
Überleben multivariat Cox-Regression:					
mit SMWD	HR= 1,563 p= 0,048	HR= 1,239 p= 0,418	HR= 1,139 p= 0,786	HR= 2,367 p= 0,042	HR= 6,221 p= 0,842
mit PVR, Geschlecht	HR= 1,800 p= 0,030	HR= 1,159 p= 0,498	HR= 0,857 p= 0,742	HR= 2,332 p= 0,013	HR= 3,1*10^14 p= 0,345
mit PVR, Geschlecht, SMWD	HR= 1,680 p= 0,070	HR= 0,897 p= 0,759	HR= 0,794 p= 0,724	HR= 2,295 p= 0,040	HR= 5,634 p= 0,960
mit WHO-FC, Geschlecht, PVR	HR= 1,613 p= 0,148	HR= 1,295 p= 0,243	HR= 0,737 p= 0,562	HR= 3,026 p= 0,017	HR= 3,0*10^16 p= 0,405
mit PVR, Geschlecht, SMWD, WHO-FC	HR= 1,560 p= 0,198	HR= 0,886 p= 0,745	HR= 0,827 p= 0,772	HR= 3,637 p= 0,030	HR= 3,292 p= 0,978
Überleben dichotomisiert Cox-Regression:					
Univariat:	HR= 4,689 p= 0,048	HR= 1,589 p= 0,414	HR= 1,489 p= 0,602	HR= 2,920 p= 0,183	HR= 101,052 p= 0,441
Multivariat:					
mit Geschlecht	HR= 4,788 p= 0,049	HR= 1,490 p= 0,486	HR= 1,133 p= 0,872	HR= 3,942 p= 0,100	HR= 348626,5 p= 0,969
mit Geschlecht, SMWD	HR= 4,162 p= 0,097	HR= 2,155 p= 0,328	HR= 0,797 p= 0,829	HR= 5,870 p= 0,126	HR= 384698,5, p= 0,981
mit Geschlecht, SMWD, CI, PVR	HR= 4,037 p= 0,112	HR= 1,046 p= 0,959	HR= 0,437 p= 0,567	HR= 10,269 p= 0,133	HR= 3,161, p= 0,995

7.8 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei YKL-40

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml])	0,011	1,893	1,158	3,095

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml])	0,019	2,026	1,121	3,664
SMWD	0,001	0,995	0,991	0,998

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml])	0,016	1,939	1,133	3,318
PVR	0,206	1,000	1,000	1,001
Geschlecht	0,063	1,867	0,966	3,610

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml])	0,011	2,424	1,223	4,806
PVR	0,137	1,001	1,000	1,002
Geschlecht	0,360	1,440	0,660	3,144
SMWD	0,001	0,995	0,991	0,998

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml])	0,059	1,767	0,979	3,187
FC IV	0,008	Referenz		
FC II	0,003	0,239	0,093	0,614
FC III	0,019	0,375	0,166	0,850
Geschlecht	0,232	1,555	0,754	3,204
PVR	0,414	1,000	1,000	1,001

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml])	0,018	2,316	1,153	4,651
PVR	0,257	1,001	1,000	1,001
Geschlecht	0,955	1,024	0,443	2,369
SMWD	0,041	0,996	0,992	1,000
FC IV	0,078	Referenz		
FC II	0,114	0,382	0,116	1,260
FC III	0,025	0,325	0,122	0,869

7.9 Einführung der Variablen bei der multivariaten Cox-Regression der PH-Patienten bei YKL-40 (dichotomisiert)

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml]) dichotomisiert	0,026	2,073	1,090	3,945

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml]) dichotomisiert	0,045	1,936	1,014	3,697
Geschlecht	0,058	1,847	0,979	3,484

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml]) dichotomisiert	0,149	1,731	0,822	3,643
Geschlecht	0,332	1,448	0,686	3,060
SMWD	0,001	0,994	0,991	0,998

	Signifikanz	HR	95,0% Konfidenzintervall für HR	
			Untere	Obere
LN (YKL-40 [ng/ml]) dichotomisiert	0,098	1,935	0,884	4,233
Geschlecht	0,267	1,551	0,715	3,369
SMWD	0,001	0,994	0,991	0,998
CI	0,622	1,234	0,534	2,854
PVR	0,334	1,001	0,999	1,002

7.10 Übersicht der Ergebnisse bei den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten von YKL-40 (logarithmiert)

	PH-Patienten	Ausschluss-PH
Kruskal-Wallis-Test:		
WHO-FC	p=0,007	p=0,409
Mann-Whitney-U-Test		
Geschlecht	p=0,719	p=0,223
Pearson-Korrelation:		
MPAP	r=-0,171 p=0,047	r=0,380 p=0,019
PAWP	r=0,185 p=0,032	r=0,267 p=0,105
HZV	r=0,071 p=0,415	r=0,003 p=0,105
CI	r=0,106 p=0,221	r=-0,148 p=0,376
PVR	r=-0,198 p=0,021	r=0,191 p=0,251
SMWD	r=-0,274 p=0,002	r=-0,509 p=0,015
Alter	r=0,317 p<0,001	r=0,513 p=0,001
Überleben Kaplan-Meier	p=0,083	p=0,814
Überleben Cox-Regression	HR=1,893 p=0,011	HR=0,504 p=0,616
TTCW Kaplan-Meier	p=0,472	p=0,814
TTCW Cox-Regression	HR=1,144 p=0,458	HR=0,504 p=0,616
Überleben multivariat Cox-Regression:		
mit SMWD	HR=2,026 p=0,019	HR=2639,077 p=0,419
mit PVR, Geschlecht	HR=1,939 p=0,016	HR=0,229 p=0,385
mit PVR, Geschlecht, SMWD	HR=2,424 p=0,011	HR=186,044 p=0,924
mit WHO-FC, Geschlecht, PVR	HR= 1,767 p=0,059	HR=0,299 p=0,502
mit PVR, Geschlecht, SMWD, WHO-FC	HR=2,316 p=0,018	HR=8,814 p=0,988
Überleben dichotomisiert Cox-Regression:		
Univariat:	HR=2,073 p=0,026	HR=0,791 p=0,868
Multivariat:		
mit Geschlecht	HR=1,936 p=0,045	HR=0,406 p=0,617
mit Geschlecht, SMWD	HR=1,731 p=0,149	HR=3044,672 p=0,445
mit Geschlecht, SMWD, CI, PVR	HR=1,935 p=0,098	HR=8,974 p=0,974

7.11 Übersicht der Ergebnisse bei den einzelnen PH-Gruppen und den Ausschluss-PH-Patienten von YKL-40 (logarithmiert)

	IPAH	PH-CTD	CTEPH	PH-LHD	Ausschluss-PH
Kruskal-Wallis-Test:					
WHO-FC	p=0,856	p=0,125	p=0,143	p=0,421	p=0,409
Mann-Whitney-U-Test					
Geschlecht	p=0,505	p=0,213	p=0,196	p=0,451	p=0,223
Pearson-Korrelation:					
MPAP	r=-0,197 p=0,236	r=-0,195 p=0,269	r=-0,065 p=0,705	r=0,059 p=0,772	r=0,380 p=0,019
PAWP	r=0,326 p=0,046	r=0,106 p=0,549	r=-0,010 p=0,956	r=0,259 p=0,192	r=0,267 p=0,105
HZV	r=0,348 p=0,032	r=-0,277 p=0,112	r=-0,044 p=0,799	r=-0,016 p=0,939	r=0,003 p=0,105
CI	r=0,205 p=0,216	r=-0,149 p=0,401	r=0,146 p=0,397	r=0,073 p=0,716	r=-0,148 p=0,376
PVR	r=-0,262 p=0,112	r=-0,031 p=0,860	r=-0,087 p=0,615	r=-0,083 p=0,680	r=0,191 p=0,251
SMWD	r=-0,172 p=0,302	r=-0,288 p=0,123	r=-0,371 p=0,037	r=-0,112 p=0,628	r=-0,509 p=0,015
Alter	r=0318 p=0,052	r=0,189 p=0,285	r=0,448 p=0,006	r=-0,101 p=0,617	r=0,513 p=0,001
Überleben in Quartilen Kaplan-Meier	p=0,214	p=0,790	p=0,328	p=0,305	p=0,814
Überleben Cox-Regression	HR=2,609 p=0,047	HR=1,324 p=0,535	HR=1,960 p=0,238	HR=2,674 p=0,231	HR=0,504 p=0,616
TTCW in Quartilen Kaplan-Meier	p=0,614	0,707	p=0,026	p=0,552	p=0,814
TTCW Cox-Regression	HR=1,829 p=0,095	HR=1,023 p=0,944	HR=0,878 p=0,739	HR=1,503 p=0,521	HR=0,504 p=0,616
Überleben multivariat Cox-Regression:					
mit SMWD	HR=4,014 p=0,019	HR=1,221 p=0,697	HR=4,134 p=0,048	HR=8,111 p=0,095	HR=2639,077 p=0,419
mit PVR, Geschlecht	HR=6,107 p=0,033	HR=1,660 p=0,329	HR=1,338 p=0,649	HR=2,481 p=0,248	HR=0,229 p=0,385
mit PVR, Geschlecht, SMWD	HR=7,704 p=0,034	HR=1,534 p=0,511	HR=7,993 p=0,069	HR=13,046 p=0,114	HR=186,044 p=0,924
mit WHO-FC, Geschlecht, PVR	HR=7,766 p=0,017	HR=1,407 p=0,551	HR=1,408 p=0,655	HR=1,725 p=0,415	HR=0,299 p=0,502
mit PVR, Geschlecht, SMWD, WHO-FC	HR=10,688 p=0,017	HR=1,664 p=0,462	HR=319,542 p=0,031	HR=15,373 p=0,184	HR=8,814 p=0,988
Überleben dichotomisiert Cox-Regression:					
Univariat:	HR=2,677 p=0,125	HR=0,860 p=0,772	HR=5,399 p=0,119	HR=4,071 p=0,191	HR=0,791 p=0,868
Multivariat:					
mit Geschlecht	HR=3,034 p=0,127	HR=0,933 p=0,895	HR=4,204 p=0,187	HR=4,424 p=0,167	HR=0,406 p=0,617
mit Geschlecht, SMWD	HR=3,439 p=0,104	HR=1,205 p=0,768	HR=3447302 p=0,954	HR=332764,4 p=0,968	HR=3044,672 p=0,445
mit Geschlecht, SMWD, CI, PVR	HR=3,174 p=0,134	HR= 1,463 p=0,561	HR=7952499 p=0,954	HR=349230,2 p=0,969	HR=8,974 p=0,974

8 Schreiben der Ethikkommission

JUSTUS-LIEBIG UNIVERSITÄT GIESSEN

FACHBEREICH 11 MEDIZIN

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

Dr. H. Tiede
Med. Klinik II
Pneumologie
Klinikstr. 33
35385 Gießen

ETHIK-KOMMISSION
am Fachbereich Medizin
Vorsitz: Prof. H. Tillmanns

Klinikstr. 32 (Alte Frauenklinik)
D-35385 Gießen
Tel.: (0641)99-42470 / 47660
ethik.kommission@pharma.med.uni-giessen.de

Gießen, 25. Juli 2013
Dr. Kr./erb

AZ.: **100/13**

Titel: *Biomarker für die pulmonale Hypertonie.*

Sitzung am 14.05.2013

Sehr geehrte(r) Antragsteller/Antragstellerin, liebe Ken Tiede,

wir bedanken uns für die Vorstellung Ihres Forschungsprojektes. Im Folgenden erhalten Sie das Votum der Gießener Ethik-Kommission zur oben genannten Studie:

Es handelt sich um eine Erstbegutachtung für den Leiter der Klinischen Prüfung (LKP) ☒
Es handelt sich um eine Anschlussbegutachtung ☐

Eingesandte Unterlagen:

☒ Formalisierter Antrag vom 18.04.13
☒ Ausführliche Darstellung des Vorhabens (Studienprotokoll)

Der Antrag wurde unter ethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und rechtlichen Gesichtspunkten geprüft. Soweit betreffend, wurde **das auf Seite 2 wiedergegebene Protokoll** unter Berücksichtigung des Good Clinical Practice for Trials on Medicinal Products in the European Community (ICH-GCP) erstellt. Es bezieht sich auf die vorgelegte Fassung des Antrags.

Forderungen der Ethik-Kommission, soweit darin aufgeführt, wurden inzwischen erfüllt. ☐
Sie stimmt dem Vorhaben zu. ☒
Sie stimmt dem Vorhaben unter Auflagen zu (siehe S. 2). ☐
Sie stimmt dem Vorhaben nicht zu (siehe S. 2). ☐

Die Ethik-Kommission erwartet, dass ihr bis 31.12.15 ohne Aufforderung ein kurzer Bericht auf beigefügtem (roten) Formblatt übermittelt wird. Er soll mitteilen, ob das Ziel der Studie erreicht wurde, ob ethische, medizinisch-wissenschaftliche oder rechtliche Probleme aufgetreten sind, und ob das Ergebnis publiziert ist/wird. Unabhängig davon ist die Ethik-Kommission über alle Änderungen des Prüfplans zu unterrichten. Ihr sind alle schweren unerwünschten Wirkungen mitzuteilen, soweit sie im Bereich der Zuständigkeit dieser Ethik-Kommission aufgetreten sind. Bei überregionalen Studien sind sie auch dem LKP mitzuteilen.
Die ärztliche und juristische Verantwortung des Leiters der klinischen Prüfung und der an der Prüfung teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethik-Kommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

JUSTUS-LIEBIG UNIVERSITÄT GIESSEN

FACHBEREICH 11 MEDIZIN

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

Prof. Dr. A. Ghofrani
Med. Klinik II
Pneumologie
Klinikstr. 33
35385 Gießen

ETHIK-KOMMISSION
am Fachbereich Medizin
Vorsitz: Prof. H. Tillmanns

Klinikstr. 32 (Alte Frauenklinik)
D-35385 Gießen
Tel.: (0641)99-42470 / 47660
ethik.kommission@pharma.med.uni-giessen.de

Gießen, 2. Februar 2016
Dr. Kr./erb

AZ.: **100/13**

Titel: *Biomarker für die pulmonale Hypertonie.*

Amendment vom 19. Januar 2016 bzgl. Messung weiterer potentieller Biomarker

Sehr geehrter Herr Prof. Ghofrani, lieber Herr Ghofrani,

die oben genannten Unterlagen wurden gemeinsam mit einem weiteren Mitglied der Kommission, Herrn Apotheker Brumhard, am 28.01.2016 besprochen. Die Ethik-Kommission hat keine Einwände und stimmt dem Amendment zu.

Mit freundlichen Grüßen

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

9 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Diagnosealgorithmus der PH

Abb. 2: Schematische Darstellung der verschiedenen thematischen Gruppen von Biomarkern für die PAH

Abb. 3: Schematische Darstellung der hypothetischen Beeinflussung von Endoglin und sEng bezüglich des TGF-β-Signalwegs

Abb. 4: Schema eines Sandwich-ELISA

Abb. 5: Biomarkerverteilung von sEng

Abb. 6: Plasmawerte von sEng im Vergleich von den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten

Abb. 7: Plasmawerte von sEng im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen

Abb. 8: Korrelationen zwischen den Plasmawerten (sEng) und dem PAWP

Abb. 9: Darstellung des Überlebens

Abb. 10: Darstellung der TTCW

Abb. 11: Zusammenhang zwischen der Biomarkerkonzentration von sEng und der funktionellen Klasse

Abb. 12: Zusammenhang zwischen den mPAP-Werten und der Plasmakonzentration bei den IPAH-Patienten

Abb. 13: Überleben in Quartilen in Bezug auf den Biomarker bei IPAH

Abb. 14: Überleben in Quartilen in Bezug auf den Biomarker bei PVH-Patienten

Abb. 15: Biomarkerverteilung von YKL-40

Abb. 16: Plasmawerte von YKL-40 im Vergleich von den PH-Patienten und den Ausschluss-PH-Patienten

Abb. 17: Plasmawerte von YKL-40 im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen

Abb. 18: Zusammenhang zwischen den Plasmawerten und der funktionellen Klasse

Abb. 19: Korrelationen zwischen den logarithmierten Plasmawerten (YKL-40) und den erhobenen Daten

Abb. 20: Darstellung des Überlebens

Abb. 21: Darstellung der TTCW

Abb. 22: Zusammenhang zwischen den hämodynamischen Werten und der logarithmierten Plasmakonzentration von YKL-40 bei den IPAH-Patienten

Abb. 23: Überleben in Quartilen in Bezug auf den Biomarker bei IPAH

Abb. 24: Vergleich der FC bei den CTD-Patienten mit den Plasmawerten von YKL-40 (LN)

Abb. 25: Zusammenhang zwischen der Plasmakonzentration und der SMWD bei CTEPH

Abb. 26: Darstellung der TTCW der einzelnen Quartile bei CTEPH-Patienten

10 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Aktualisierte klinische Klassifikation der pulmonalen Hypertonie

Tab. 2: Einteilung des Schweregrads der PH nach der funktionellen Klassifikation

Tab. 3: Darstellung der einzelnen untersuchten Charakteristika in Bezug auf die einzelnen Gruppen bei sEng

Tab. 4: Ergebnisse des folgenden Post-Hoc-Testes der einzelnen zu untersuchenden Gruppen

Tab. 5: Ergebnisse von der WHO-FC und dem Geschlecht in Bezug auf sEng bei PH-Patienten

Tab. 6: Korrelationen zwischen den Plasmawerten (sEng) und den erhobenen Daten

Tab. 7: Dargestellt sind die einzelnen untersuchten Charakteristika in Bezug auf die einzelnen Gruppen bei YKL-40

Tab. 8: Ergebnisse von der WHO-FC und dem Geschlecht in Bezug auf YKL-40 bei PH-Patienten

Tab. 9: Korrelationen zwischen den logarithmierten Plasmawerten (YKL-40) sowie dem Alter und den erhobenen Daten

Tab. 10: Mittelwerte von sEng der einzelnen Gruppen

Tab. 11: Studienvergleich zu sEng und PH

Tab. 12: Studienvergleich zu YKL-40 und PH

11 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
5JÜ	5-Jahres-Überleben
Abb.	Abbildung
ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
AKT	Proteinkinase-B
ALK1	*activin receptor-like kinase 1*
ANP	atriales natriuretisches Peptid
APAH	assoziierte pulmonal-arterielle Hypertonie
AS	Aminosäure
BCL-2	*B-cell lymphoma 2*
BMI	Body-Maß-Index
BMP9	*bone morphogenetic protein 9*
BMPRII	*bone morphogenetic protein receptor II*
BNP	*brain natriuretic peptide*
BRP-39	*breast regression protein 39*
CD	*cluser of differentation*
cGC	zyklisches Guanosinmonophosphat *(cyclisches Guanosinmonophosphat)*
CHD	angeborene Herzfehler *(congenital heart defect)*
CHI3L1	*human chitinase 3-like 1*
CI	Herzindex *(cardiac index)*
cm	Zentimeter
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung *(chronic obstructive pulmonary disease)*
Cpc-PH	kombiniert postkapilläre und präkapilläre pulmonale Hypertonie
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CTD	Bindegewebserkrankung *(connective tissue disease)*
CTEPH	chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie (*chronic thromboembolic pulmonary hypertension)*
cTNI/cTNT	kardiales Troponin I/T

CT-proET-1	*carboxy-terminal pro-endothelin 1*
CXCL 13	*chemokine CXC ligand 13*
DPG	diastolischer pulmonaler Druckgradient
E	Enzym
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EFLV	Ejektionsfraktion des linken Ventrikels
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	*enzym-linked immunosorbent assay*
Eng	Endolgin
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ERA	Endothelinrezeptorantagonisten
ERS	*european respiratory society*
ESC	e*uropean society of cardiology*
et al.	und andere
GDF-15	*growth-differentation factor 15*
gp38k	*38-kDa heparin-binding glycoprotein*
HC-gp39	*human cartilage glycoprotein 39*
HHT	hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie
HIV	humanes Immundefizienz-Virus
HPAH	hereditäre pulmonal-arterielle Hypertonie
HR	*Hazard Ratio*
HZV	Herzzeitvolumen
IL-6	Interleukin 6
ILD	interstitielle Lungenerkrankung *(interstitial lung disease)*
IPAH	idiopathische pulmonal-arterielle Hypertonie (*idiopathic pulmonary arterial hypertension)*
Ipc-PH	Isoliert postkapilläre pulmonale Hypertonie
IQR	Interquartilsabstand
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KI	Konfidenzintervall
l	Liter

LN	natürlicher Logarithmus
LTOT	Langzeitsauerstofftherapie *(long-term oxygen therapy)*
m	Meter
MAP	*mitogen-activated protein kinase*
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MMP-14	*Matrix-Metalloprotease 14*
mod.	modifiziert
mPAP	pulmonal-arterieller Mitteldruck *(mean pulmonary arterial pressure)*
MR-pro-ADM	*mid-regional proadrenomedullin*
MR-proANP	*mid-regional proatrial natriuretic peptide*
N	Anzahl
ng	Nanogramm
NIH	*National Institute of Health*
nmol	Nanomol
NO	Stickstoffmonoxyd
NT-proBNP	N-terminale Propeptid BNP
NYHA	*New York heart association*
PAH	pulmonal-arterielle Hypertonie
PAP	pulmonal-arterieller Druck *(pulmonary arterial pressure)*
PAWP	pulmonal-arterieller Verschlussdruck *(pulmonary artery wedge pressure)*
PCEB-ACE	*pulmonary capillary endothelium-bound angiotensin converting enzyme*
pCO_2	Kohlenstoffdioxydpartialdruck
PDE5-I	Phosphodiesterase-5-Inhibitoren
PH	pulmonale Hypertonie
PH-LHD	pulmonale Hypertonie bei Linksherzerkrankungen (*pulmonary hypertension by left heart disease)*
PhtdSer Eq	*phosphatidylserine Equivalent*
PVR	pulmonal vaskulärer Widerstand *(pulmonary vascular resistance)*
R&D	*reach and development*

RHC	right heart catheterization
RHK	Rechtsherzkatheter
RNA	*ribonucleic acid*
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
sEng	lösliches Endoglin *(soluble Endoglin)*
Smad	*small-mother-against decapentaplegic*
sFlt-1	*soluble Fms-like thyrosinkinase-1*
SMWD	6-Minuten-Gehstrecke *(six-minute-walk-distance)*
sPAP	systolischer pulmonal-arterieller Druck *(systolic pulmonary arterial pressure)*
SSc	systemische Sklerose
Tab.	Tabelle
TGF-β	*transforming growth factor beta*
TGF-βR-II	*transforming growth factor beta receptor II*
TIMP	*tissue inhibitor of matric metalloproteinases*
TTCW	Zeit bis zur klinischen Verschlechterung *(time to clinical worsening)*
V.	*Vena*
vgl.	vergleiche
WHO-FC	*World health organisation functional class*
WU	Wood-Einheiten
YKL-40	Akronym aus Tyrosin (Y), Lysin (K), Leucin (L) und 40 Kilodalton

12 Literaturverzeichnis

1. Abenhaim L, Moride Y, Brenot F et al (1996) Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension. International Primary Pulmonary Hypertension Study Group. N Engl J Med 335(9): 609–616
2. Al-Dujaili N M, Al-Khafaji K H A, Al-Dujaili A N G (2018) Endoglin level in pulmonary arterial hypertension patients and its association with some criteria. J. Pharm. Sci & Res. (10): 644–651
3. Andreassen A K, Wergeland R, Simonsen S et al (2006) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as an indicator of disease severity in a heterogeneous group of patients with chronic precapillary pulmonary hypertension. Am J Cardiol 98(4): 525–529
4. Anwar A, Ruffenach G, Mahajan A et al (2016) Novel biomarkers for pulmonary arterial hypertension. Respir Res 17(1): 88
5. Avouac J, Airo P, Meune C et al (2010) Prevalence of pulmonary hypertension in systemic sclerosis in European Caucasians and metaanalysis of 5 studies. J Rheumatol 37(11): 2290–2298
6. Bakouboula B, Morel O, Faure A et al (2008) Procoagulant membrane microparticles correlate with the severity of pulmonary arterial hypertension. Am J Respir Crit Care Med 177(5): 536–543
7. Barst R J, McGoon M, Torbicki A et al (2004) Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 43(12 Suppl S): 40S-47S
8. Becattini C, Agnelli G, Pesavento R et al (2006) Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after a first episode of pulmonary embolism. Chest 130(1): 172–175
9. Bellon T, Corbi A, Lastres P et al (1993) Identification and expression of two forms of the human transforming growth factor-beta-binding protein endoglin with distinct cytoplasmic regions. Eur J Immunol 23(9): 2340–2345
10. Berg J M, Tymoczko J L, Stryer L et al (2014) Biochemie, 7. Aufl. Springer Spektrum, Berlin
11. Bernabeu C, Lopez-Novoa J M, Quintanilla M (2009) The emerging role of TGF-beta superfamily coreceptors in cancer. Biochim Biophys Acta 1792(10): 954–973

12. Bigg H F, Wait R, Rowan A D et al (2006) The mammalian chitinase-like lectin, YKL-40, binds specifically to type I collagen and modulates the rate of type I collagen fibril formation. J Biol Chem 281(30): 21082–21095
13. Biomarkers Defintions Working Group (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther 69(3): 89–95
14. Blann A D, Wang J M, Wilson P B et al (1996) Serum levels of the TGF-beta receptor are increased in atherosclerosis. Atherosclerosis 120(1-2): 221–226
15. Bojesen S E, Johansen J S, Nordestgaard B G (2011) Plasma YKL-40 levels in healthy subjects from the general population. Clin Chim Acta 412(9-10): 709–712
16. Bossone E, D'Andrea A, D'Alto M et al (2013) Echocardiography in pulmonary arterial hypertension: from diagnosis to prognosis. J Am Soc Echocardiogr 26(1): 1–14
17. Bourdeau A, Dumont D J, Letarte M (1999) A murine model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. J Clin Invest 104(10): 1343–1351
18. Bozkanat E, Tozkoparan E, Baysan O et al (2005) The significance of elevated brain natriuretic peptide levels in chronic obstructive pulmonary disease. J Int Med Res 33(5): 537–544
19. Cheifetz S, Bellon T, Cales C et al (1992) Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. J Biol Chem 267(27): 19027–19030
20. Chen G, Yang T, Gu Q et al (2014) Elevated plasma YKL-40 as a prognostic indicator in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Respirology 19(4): 608–615
21. Chung L, Liu J, Parsons L et al (2010) Characterization of connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension from REVEAL: identifying systemic sclerosis as a unique phenotype. Chest 138(6): 1383–1394
22. Chupp G L, Lee C G, Jarjour N et al (2007) A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. N Engl J Med 357(20): 2016–2027
23. Clemente M, Nunez O, Lorente R et al (2006) Increased intrahepatic and circulating levels of endoglin, a TGF-beta1 co-receptor, in patients with chronic hepatitis C virus infection: relationship to histological and serum markers of hepatic fibrosis. J Viral Hepat 13(9): 625–632

24. Connor J R, Dodds R A, Emery J G et al (2000) Human cartilage glycoprotein 39 (HC gp-39) mRNA expression in adult and fetal chondrocytes, osteoblasts and osteocytes by in-situ hybridization. Osteoarthr Cartil 8(2): 87–95
25. Coral-Alvarado P X, Garces M F, Caminos J E et al (2010) Serum endoglin levels in patients suffering from systemic sclerosis and elevated systolic pulmonary arterial pressure. Int J Rheumatol 2010
26. Dietmann A, Helbok R, Lackner P et al (2009) Endoglin in African children with Plasmodium falciparum malaria: a novel player in severe malaria pathogenesis? J Infect Dis 200(12): 1842–1848
27. Emeksiz H C, Bideci A, Damar C et al (2016) Soluble Endoglin Level Increase Occurs Prior to Development of Subclinical Structural Vascular Alterations in Diabetic Adolescents. J Clin Res Pediatr Endocrinol 8(3): 313–320
28. Erdmann E (2011) Klinische Kardiologie, 8. Aufl. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
29. Fang J C, DeMarco T, Givertz M M et al (2012) World Health Organization Pulmonary Hypertension group 2: pulmonary hypertension due to left heart disease in the adult--a summary statement from the Pulmonary Hypertension Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. J Heart Lung Transplant 31(9): 913–933
30. Filusch A, Giannitsis E, Katus H A et al (2010) High-sensitive troponin T: a novel biomarker for prognosis and disease severity in patients with pulmonary arterial hypertension. Clin Sci (Lond) 119(5): 207–213
31. Fuentes-Arderiu X (2013) What is a biomarker? It's time for a renewed definition. Clin Chem Lab Med 51(9): 1689–1690
32. Furukawa T, Matsui K, Kitano M et al (2018) Relationship between YKL-40 and Pulmonary Arterial Hypertension in Systemic Sclerosis. Mod Rheumatol: 1–21
33. Galie N, Humbert M, Vachiery J-L et al (2015) 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). Eur Respir J 46(4): 903–975

34. Galiè N, McLaughlin V V, Rubin L J et al (2019) An overview of the 6th World Symposium on Pulmonary Hypertension. Eur Respir J 53(1)
35. Gall H, Felix J F, Schneck F K et al (2017) The Giessen Pulmonary Hypertension Registry. J Heart Lung Transplant 36(9): 957–967
36. Gordon K J, Blobe G C (2008) Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. Biochim Biophys Acta 1782(4): 197–228
37. Gore B, Izikki M, Mercier O et al (2014) Key role of the endothelial TGF-beta/ALK1/endoglin signaling pathway in humans and rodents pulmonary hypertension. PLoS One 9(6): e100310
38. Gougos A, Letarte M (1988) Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. J Immunol 141(6): 1925–1933
39. Gougos A, Letarte M (1990) Primary structure of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of human endothelial cells. J Biol Chem 265(15): 8361–8364
40. Gougos A, St Jacques S, Greaves A et al (1992) Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. Int Immunol 4(1): 83–92
41. Goumans M J, Valdimarsdottir G, Itoh S et al (2003) Activin receptor-like kinase (ALK)1 is an antagonistic mediator of lateral TGFbeta/ALK5 signaling. Mol Cell 12(4): 817–828
42. Gregory A L, Xu G, Sotov V et al (2014) Review: the enigmatic role of endoglin in the placenta. Placenta 35 Suppl: S93-9
43. Greiner S, Jud A, Aurich M et al (2014) Reliability of noninvasive assessment of systolic pulmonary artery pressure by Doppler echocardiography compared to right heart catheterization: analysis in a large patient population. J Am Heart Assoc 3(4)
44. Grünig E, Benjamin N, Krüger U et al (2016) Allgemeine und supportive Therapie der pulmonal arteriellen Hypertonie. Dtsch Med Wochenschr 141(S 01): S26-S32
45. Hakala B E, White C, Recklies A D (1993) Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. J Biol Chem 268(34): 25803–25810
46. Hammerer-Lercher A, Neubauer E, Muller S et al (2001) Head-to-head comparison of N-terminal pro-brain natriuretic peptide, brain natriuretic peptide and N-terminal

pro-atrial natriuretic peptide in diagnosing left ventricular dysfunction. Clin Chim Acta 310(2): 193–197

47. Harvey S, Weisman M, O'Dell J et al (1998) Chondrex: new marker of joint disease. Clin Chem 44(3): 509–516
48. Hassoun P M, Mouthon L, Barbera J A et al (2009) Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling. J Am Coll Cardiol 54(1 Suppl): S10-9
49. Hatton N, Frech T, Smith B et al (2011) Transforming growth factor signalling: a common pathway in pulmonary arterial hypertension and systemic sclerosis. Int J Clin Pract Suppl (172): 35–43
50. Hawinkels, Kuiper P, Wiercinska E et al (2010) Matrix metalloproteinase-14 (MT1-MMP)-mediated endoglin shedding inhibits tumor angiogenesis. Cancer Res 70(10): 4141–4150
51. He C H, Lee C G, Dela Cruz C S et al (2013) Chitinase 3-like 1 regulates cellular and tissue responses via IL-13 receptor alpha2. Cell Rep 4(4): 830–841
52. Henningsen K M, Therkelsen S K, Johansen J S et al (2009) Plasma YKL-40, a new biomarker for atrial fibrillation? Europace 11(8): 1032–1036
53. Heresi G A (2011) Clinical perspective. Int J Clin Pract Suppl (169): 5–7
54. Heresi G A, Aytekin M, Hammel J P et al (2014) Plasma interleukin-6 adds prognostic information in pulmonary arterial hypertension. Eur Respir J 43(3): 912–914
55. Hickey P M, Lawrie A, Condliffe R (2018) Circulating Protein Biomarkers in Systemic Sclerosis Related Pulmonary Arterial Hypertension. Front Med (Lausanne) 5: 175
56. Hoeper M M, Lee S H, Voswinckel R et al (2006) Complications of right heart catheterization procedures in patients with pulmonary hypertension in experienced centers. J Am Coll Cardiol 48(12): 2546–2552
57. Hoeper M M, Bogaard H J, Condliffe R et al (2013) Definitions and diagnosis of pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 62(25 Suppl): D42-50
58. Hoeper M M, Apitz C, Grünig E et al (2016) Gezielte Therapie der pulmonal arteriellen Hypertonie. Dtsch Med Wochenschr 141(S 01): S33-S41
59. Houston D R, Recklies A D, Krupa J C et al (2003) Structure and ligand-induced conformational change of the 39-kDa glycoprotein from human articular chondrocytes. J Biol Chem 278(32): 30206–30212

60. Humbert M, Morrell N W, Archer S L et al (2004) Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 43(12 Suppl S): 13S-24S
61. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A et al (2006) Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. Am J Respir Crit Care Med 173(9): 1023–1030
62. Johansen J S, Williamson M K, Rice J S et al (1992) Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture. J Bone Miner Res 7(5): 501–512
63. Johansen J S, Christoffersen P, Møller S et al (2000) Serum YKL-40 is increased in patients with hepatic fibrosis. J Hepatol 32(6): 911–920
64. Johansen J S, Milman N, Hansen M et al (2005) Increased serum YKL-40 in patients with pulmonary sarcoidosis--a potential marker of disease activity? Respir Med 99(4): 396–402
65. Johansen J S (2006) Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibroses and cancer. Dan Med Bull 53(2): 172–209
66. Johansen J S, Bojesen S E, Tybjaerg-Hansen A et al (2010) Plasma YKL-40 and total and disease-specific mortality in the general population. Clin Chem 56(10): 1580–1591
67. Karabegovic A, Shinawi M, Cymerman U et al (2004) No live individual homozygous for a novel endoglin mutation was found in a consanguineous Arab family with hereditary haemorrhagic telangiectasia. J Med Genet 41(11): e119
68. Khanna D, Gladue H, Channick R et al (2013) Recommendations for screening and detection of connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension. Arthritis Rheum 65(12): 3194–3201
69. Kim H-R, Jun C-D, Lee K-S et al (2012) Levels of YKL-40 in pleural effusions and blood from patients with pulmonary or pleural disease. Cytokine 58(3): 336–343
70. Kim N H, Delcroix M, Jenkins D P et al (2013) Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 62(25 Suppl): D92-9
71. Kirkpatrick R B, Emery J G, Connor J R et al (1997) Induction and expression of human cartilage glycoprotein 39 in rheumatoid inflammatory and peripheral blood monocyte-derived macrophages. Exp Cell Res 237(1): 46–54

72. Kjaergaard A D, Johansen J S, Bojesen S E et al (2016) Role of inflammatory marker YKL-40 in the diagnosis, prognosis and cause of cardiovascular and liver diseases. Crit Rev Clin Lab Sci 53(6): 396–408
73. Komi D E A, Kazemi T, Bussink A P (2016) New Insights Into the Relationship Between Chitinase-3-Like-1 and Asthma. Curr Allergy Asthma Rep 16(8): 57
74. Kovacs G, Berghold A, Scheidl S et al (2009) Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects: a systematic review. Eur Respir J 34(4): 888–894
75. Kronborg G, Ostergaard C, Weis N et al (2002) Serum level of YKL-40 is elevated in patients with Streptococcus pneumoniae bacteremia and is associated with the outcome of the disease. Scand J Infect Dis 34(5): 323–326
76. Kucur M, Isman F K, Karadag B et al (2007) Serum YKL-40 levels in patients with coronary artery disease. Coron Artery Dis 18(5): 391–396
77. Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerdt S (2007) Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer. Biomark Insights 2: 128–146
78. Landburg P P, Elsenga H, Schnog J B et al (2008) Increased serum levels of anti-angiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase and soluble endoglin in sickle cell disease. Acta Haematol 120(3): 130–133
79. Lang I M, Pesavento R, Bonderman D et al (2013) Risk factors and basic mechanisms of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a current understanding. Eur Respir J 41(2): 462–468
80. Lang I M, Madani M (2014) Update on chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Circulation 130(6): 508–518
81. Lastres P, Bellon T, Cabanas C et al (1992) Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. Eur J Immunol 22(2): 393–397
82. Leuchte H H, Neurohr C, Baumgartner R et al (2004) Brain natriuretic peptide and exercise capacity in lung fibrosis and pulmonary hypertension. Am J Respir Crit Care Med 170(4): 360–365
83. Leuchte H H, Holzapfel M, Baumgartner R A et al (2004) Clinical significance of brain natriuretic peptide in primary pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 43(5): 764–770

84. Levine R J, Lam C, Qian C et al (2006) Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. N Engl J Med 355(10): 992–1005
85. Li C G, Bethell H, Wilson P B et al (2000) The significance of CD105, TGFbeta and CD105/TGFbeta complexes in coronary artery disease. Atherosclerosis 152(1): 249–256
86. Lopez-Novoa J M, Bernabeu C (2010) The physiological role of endoglin in the cardiovascular system. Am J Physiol Heart Circ Physiol 299(4): H959-74
87. Malhotra R, Paskin-Flerlage S, Zamanian R T et al (2013) Circulating angiogenic modulatory factors predict survival and functional class in pulmonary arterial hypertension. Pulm Circ 3(2): 369–380
88. Malinda K M, Ponce L, Kleinman H K et al (1999) Gp38k, a protein synthesized by vascular smooth muscle cells, stimulates directional migration of human umbilical vein endothelial cells. Exp Cell Res 250(1): 168–173
89. Marra A M, Bossone E, Salzano A et al (2018) Biomarkers in Pulmonary Hypertension. Heart Fail Clin 14(3): 393–402
90. Matthys H, Seeger W (2008) Klinische Pneumologie, 4. Aufl. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
91. McAllister K A, Grogg K M, Johnson D W et al (1994) Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. Nat Genet 8(4): 345–351
92. Millis A J, Hoyle M, Kent L (1986) In vitro expression of a 38,000 dalton heparin-binding glycoprotein by morphologically differentiated smooth muscle cells. J Cell Physiol 127(3): 366–372
93. Minai O A (2014) Saudi Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension: Biomarkers in pulmonary arterial hypertension. Ann Thorac Med 9(Suppl 1): S92-7
94. Moraes D L, Colucci W S, Givertz M M (2000) Secondary Pulmonary Hypertension in Chronic Heart Failure. Circulation 102(14): 1718–1723
95. Morrell N W, Adnot S, Archer S L et al (2009) Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 54(1 Suppl): S20-31
96. Mukerjee D, St George D, Coleiro B et al (2003) Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: application of a registry approach. Ann Rheum Dis 62(11): 1088–1093

97. Mygind N D, Iversen K, Kober L et al (2013) The inflammatory biomarker YKL-40 at admission is a strong predictor of overall mortality. J Intern Med 273(2): 205–216
98. Mygind N D, Kastrup J (2015) YKL-40 as Biomarker: Focus on Cardiovascular Disease. In: Preedy V R, Patel V B (Hrsg.) General methods in biomarker research and their applications. Springer Reference, Dordrecht, S. 783–810
99. Nachtigal P, Zemankova Vecerova L, Rathouska J et al (2012) The role of endoglin in atherosclerosis. Atherosclerosis 224(1): 4–11
100. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M et al (2000) Plasma Brain Natriuretic Peptide as a Prognostic Indicator in Patients With Primary Pulmonary Hypertension. Circulation 102(8): 865–870
101. Nagaya N, Ando M, Oya H et al (2002) Plasma brain natriuretic peptide as a noninvasive marker for efficacy of pulmonary thromboendarterectomy. Ann Thorac Surg 74(1): 180-4; discussion 184
102. Ngene N C, Moodley J (2018) Role of angiogenic factors in the pathogenesis and management of pre-eclampsia. Int J Gynaecol Obstet 141(1): 5–13
103. Nojgaard C, Host N B, Christensen I J et al (2008) Serum levels of YKL-40 increases in patients with acute myocardial infarction. Coron Artery Dis 19(4): 257–263
104. Nordenbaek C, Johansen J S, Junker P et al (1999) YKL-40, a matrix protein of specific granules in neutrophils, is elevated in serum of patients with community-acquired pneumonia requiring hospitalization. J Infect Dis 180(5): 1722–1726
105. Nordenbaek C, Johansen J S, Halberg P et al (2005) High serum levels of YKL-40 in patients with systemic sclerosis are associated with pulmonary involvement. Scand J Rheumatol 34(4): 293–297
106. Ojeda-Fernandez L, Barrios L, Rodriguez-Barbero A et al (2010) Reduced plasma levels of Ang-2 and sEng as novel biomarkers in hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT). Clin Chim Acta 411(7-8): 494–499
107. Olschewski H, Seeger W, Grimminger F (1999) Physiologie und Pathophysiologie der pulmonalen Zirkulation. Internist (Berl) 40(7): 696–709
108. Ostergaard C, Johansen J S, Benfield T et al (2002) YKL-40 Is Elevated in Cerebrospinal Fluid from Patients with Purulent Meningitis. Clinical and Vaccine Immunology 9(3): 598–604

109. Parker W L, Goldring M B, Philip A (2003) Endoglin is expressed on human chondrocytes and forms a heteromeric complex with betaglycan in a ligand and type II TGFbeta receptor independent manner. J Bone Miner Res 18(2): 289–302
110. Pengo V, Lensing A W A, Prins M H et al (2004) Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism. N Engl J Med 350(22): 2257–2264
111. Prakash M, Bodas M, Prakash D et al (2013) Diverse pathological implications of YKL-40. Cell Signal 25(7): 1567–1573
112. Quackenbush E J, Letarte M (1985) Identification of several cell surface proteins of non-T, non-B acute lymphoblastic leukemia by using monoclonal antibodies. J Immunol 134(2): 1276–1285
113. R&D Systems Quantikina ELISA (2012) Human Chitinase 3-like 1 Immunoassay. R&D Systems, inc., USA
114. R&D Systems Quantikina ELISA (2014) Human Endoglin/CD105 Immunoassay. R&D Systems, inc., USA
115. Rabinovitch M (2008) Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. J Clin Invest 118(7): 2372–2379
116. Rathcke C N, Johansen J S, Vestergaard H (2006) YKL-40, a biomarker of inflammation, is elevated in patients with type 2 diabetes and is related to insulin resistance. Inflamm Res 55(2): 53–59
117. Rathcke C N, Kistorp C, Raymond I et al (2009) Plasma YKL-40 levels are elevated in patients with chronic heart failure. Scand Cardiovasc J 44(2): 92–99
118. Rathouska J, Jezkova K, Nemeckova I et al (2015) Soluble endoglin, hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. Atherosclerosis 243(2): 383–388
119. Recklies A D, White C, Ling H (2002) The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 (HC-gp39) stimulates proliferation of human connective-tissue cells and activates both extracellular signal-regulated kinase- and protein kinase B-mediated signalling pathways. Biochem J 365(Pt 1): 119–126
120. Rehli M, Krause S W, Andreesen R (1997) Molecular characterization of the gene for human cartilage gp-39 (CHI3L1), a member of the chitinase protein family and marker for late stages of macrophage differentiation. Genomics 43(2): 221–225
121. Reichenberger F, Voswinckel R (2011) Pulmonary arterial hypertension. Internist (Berl) 52(4): 405-14; quiz 415

122. Rejman J J, Hurley W L (1988) Isolation and characterization of a novel 39 kilodalton whey protein from bovine mammary secretions collected during the nonlactating period. Biochem Biophys Res Commun 150(1): 329–334
123. Renkema G H, Boot R G, Au F L et al (1998) Chitotriosidase, a chitinase, and the 39-kDa human cartilage glycoprotein, a chitin-binding lectin, are homologues of family 18 glycosyl hydrolases secreted by human macrophages. Eur J Biochem 251(1-2): 504–509
124. Rosenkranz S (2006) Pulmonary hypertension: classification, pathophysiology and noninvasive diagnosis. Dtsch Med Wochenschr 131(49 Suppl 9): S295-9
125. Rosenkranz S, Baldus S, Grünig E et al (2016) Kommentar zu den 2015 ESC/ERS-Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der pulmonalen Hypertonie. Kardiologe 10(4): 211–221
126. Sanli C, Oguz D, Olgunturk R et al (2012) Elevated homocysteine and asymmetric dimethyl arginine levels in pulmonary hypertension associated with congenital heart disease. Pediatr Cardiol 33(8): 1323–1331
127. Schultz N A, Johansen J S (2010) YKL-40-A Protein in the Field of Translational Medicine: A Role as a Biomarker in Cancer Patients? Cancers (Basel) 2(3): 1453–1491
128. Seeger W, Adir Y, Barbera J A et al (2013) Pulmonary hypertension in chronic lung diseases. J Am Coll Cardiol 62(25 Suppl): D109-16
129. Shackelton L M, Mann D M, Millis A J (1995) Identification of a 38-kDa heparin-binding glycoprotein (gp38k) in differentiating vascular smooth muscle cells as a member of a group of proteins associated with tissue remodeling. J Biol Chem 270(22): 13076–13083
130. Simonneau G, Galie N, Rubin L J et al (2004) Clinical classification of pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 43(12 Suppl S): 5S-12S
131. Simonneau G, Gatzoulis M A, Adatia I et al (2013) Updated clinical classification of pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 62(25 Suppl): D34-41
132. Sommer N, Dietrich A, Schermuly R T et al (2008) Regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction: basic mechanisms. Eur Respir J 32(6): 1639–1651
133. Sommer N, Richter M J, Tello K et al (2017) Update pulmonalarterielle Hypertonie. Internist (Berl) 58(9): 937–957
134. Soubrier F, Chung W K, Machado R et al (2013) Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 62(25 Suppl): D13-21

135. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N et al (1988) A new natriuretic peptide in porcine brain. Nature 332(6159): 78–81
136. Tiede S L, Wassenberg M, Christ K et al (2016) Biomarkers of tissue remodeling predict survival in patients with pulmonary hypertension. Int J Cardiol 223: 821–826
137. Tong X, Wang D, Liu S et al (2018) The YKL-40 protein is a potential biomarker for COPD. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 13: 409–418
138. Tunariu N, Gibbs S J R, Win Z et al (2007) Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic thromboembolic pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. J Nucl Med 48(5): 680–684
139. Vachiery J-L, Adir Y, Barbera J A et al (2013) Pulmonary hypertension due to left heart diseases. J Am Coll Cardiol 62(25 Suppl): D100-8
140. Valbuena-Diez A C, Blanco F J, Oujo B et al (2012) Oxysterol-induced soluble endoglin release and its involvement in hypertension. Circulation 126(22): 2612–2624
141. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C et al (2006) Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Nat Med 12(6): 642–649
142. Vind I, Johansen J S, Price P A et al (2003) Serum YKL-40, a potential new marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 38(6): 599–605
143. Volck B, Price P A, Johansen J S et al (1998) YKL-40, a mammalian member of the chitinase family, is a matrix protein of specific granules in human neutrophils. Proc Assoc Am Physicians 110(4): 351–360
144. Vos K, Steenbakkers P, Miltenburg A M et al (2000) Raised human cartilage glycoprotein-39 plasma levels in patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. Ann Rheum Dis 59(7): 544–548
145. Warwick G, Thomas P S, Yates D H (2008) Biomarkers in pulmonary hypertension. Eur Respir J 32(2): 503–512
146. Wipff J, Avouac J, Borderie D et al (2008) Disturbed angiogenesis in systemic sclerosis: high levels of soluble endoglin. Rheumatology (Oxford) 47(7): 972–975
147. Wu F T H, Stefanini M O, Mac Gabhann F et al (2010) A systems biology perspective on sVEGFR1: its biological function, pathogenic role and therapeutic use. J Cell Mol Med 14(3): 528–552

148. Yamashita H, Ichijo H, Grimsby S et al (1994) Endoglin forms a heteromeric complex with the signaling receptors for transforming growth factor-beta. J Biol Chem 269(3): 1995–2001
149. Yap L B, Mukerjee D, Timms P M et al (2004) Natriuretic peptides, respiratory disease, and the right heart. Chest 126(4): 1330–1336
150. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K et al (1993) Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. Circulation 87(2): 464–469
151. Zangiabadi A, Pasquale C G de, Sajkov D (2014) Pulmonary hypertension and right heart dysfunction in chronic lung disease. Biomed Res Int 2014: 739674
152. Zelniker T A, Huscher D, Vonk-Noordegraaf A et al (2018) The 6MWT as a prognostic tool in pulmonary arterial hypertension. Clin Res Cardiol 107(6): 460–470

13 Erklärung zur Dissertation

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

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift

14 Danksagung

Mein Dank geht an Herrn Prof. Dr. med. Dr. Henning Gall für die Bereitstellung des Dissertationsthemas, die exzellente Betreuung und unglaubliche Motivation zur Durchführung dieser Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. med. A. Ghofrani für die vorbildliche Unterstützung.

Weiterhin möchte ich mit bei Dr. Svenja Tiede für die sorgsame Betreuung und die langjährigen Anregungen bedanken.

Ein ebenso großer Dank geht an das gesamte Team der PH-Ambulanz.

Ich danke ebenfalls meiner Frau Ina und meiner gesamten Familie für die enorme Unterstützung, welche maßgeblich an der Fertigstellung dieser Arbeit beteiligt war.

Für die Begleitung und Hilfestellung über die vielen Jahre danke ich ebenfalls Sebastian.