

Aus dem Zentrum für Innere Medizin  
Abteilung für Kardiologie  
des Universitätsklinikums Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen  
Direktor: Prof. Dr. Christian Hamm

**Neue Biomarker für maladaptives rechtsventrikuläres Remodeling**

Kumulative Habilitationsschrift  
zur Erlangung der Venia legendi  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

**Dr. med. Stanislav Vasilev Keranov**

Gießen 2023

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>6</b>
1.1 Rechtsventrikuläres Remodeling	6
1.2 Diagnostik des rechtsventrikulären Remodelings	9
1.2.1 Rechtsherzkatheteruntersuchung (RHK) und RV-Druck-Volumen-Schleifen	9
1.2.2 Kardiale Magnetresonanztomographie (kMR)	10
1.2.3 Echokardiographie	10
1.2.4 Biomarker	11
1.3 Biomarker- und Bioimaging-Register für kardiovaskuläre Erkrankungen: BioRight, BioProspective und BioCVI	12
<b>2. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit</b>	<b>14</b>
<b>3. Neue Biomarker für maladaptives RV-Remodeling</b>	<b>15</b>
3.1 Cartilage intermediate layer protein 1 (CILP1)	15
3.1.1 CILP1 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH	15
3.1.2 CILP1 als Biomarker für RV-Dysfunktion in ICM	21
3.2 SPARC-like protein 1 (SPARCL 1) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH	25
3.3 Osteopontin (OPN) und Galectin-3 (Gal-3) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH	28
3.4 Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH	33
3.5 Soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2) und growth differentiation factor 15 (GDF-15) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH	39
<b>4. Diskussion</b>	<b>46</b>
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>54</b>
<b>6. Referenzen</b>	<b>57</b>
<b>7. Schriftenverzeichnis des Verfassers</b>	<b>74</b>
<b>8. Abbildungsverzeichnis</b>	<b>78</b>
<b>9. Danksagung</b>	<b>81</b>
<b>10. Zugrunde liegende Publikationen</b>	<b>82</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AUC	area under the curve
CFB	cardiac fibroblasts
CILP1	cartilage intermediate layer protein 1
CI	cardiac index
CTEPH	chronische thrombembolische pulmonale Hypertonie
DCM	dilatative Kardiomyopathie
EZM	extrazelluläre Matrix
FAC	fractional area change
FGF-23	fibroblast growth factor 23
GAL-3	Galectin-3
GDF-15	growth differentiation factor 15
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HFrEF	heart failure with reduced ejection fraction
HFpEF	heart failure with preserved ejection fraction
IVSd	end-diastolic interventricular septum thickness
IL-33	Interleukin-33
IPAH	idiopathische pulmonal-arterielle Hypertonie
ICM	ischämische Kardiomyopathie
kMR	kardiale Magnetresonanztomographie
LV	linker Ventrikel
LA	linkes Atrium
LVEDD	linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVEDVI	enddiastolischer linksventrikulärer Volumenindex

LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVESVI	endsystolischer linksventrikulärer Volumenindex
LVH	linksventrikuläre Hypertrophie
LVPWd	end-diastolic LV posterior wall thickness
mPAP	mean pulmonary arterial pressure
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
OPN	Osteopontin
PAB	pulmonary artery banding
PASP	pulmonary arterial systolic pressure
PH	pulmonale Hypertonie
PVR	pulmonary vascular resistance
RV	rechter Ventrikel
RVD	rechtsventrikuläre Dysfunktion
ROC	Receiver Operating Characteristic
RAP	right atrial pressure
RVEDD	rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
RVEDVI	enddiastolischer rechtsventrikulärer Volumenindex
RVEF	rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion
RVESVI	endsystolischer rechtsventrikulärer Volumenindex
SPARCL1	SPARC-like protein 1
sST2	soluble suppression of tumorigenicity 2
TAC	transverse aortic constriction
TAPSE	tricuspid annular plane systolic excursion
TGF- $\beta$	transforming growth factor $\beta$

## Die vorliegende kumulative Habilitationsschrift basiert auf folgenden Publikationen:

1. **Keranov S**, Dorr O, Jafari L, Troidl C, Liebetrau C, Kriechbaum S, Keller T, Voss S, Bauer T, Lorenz J, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Mayer E, Wiedenroth CB, Guth S, Lorchner H, Poling J, Chelladurai P, Pullamsetti SS, Braun T, Seeger W, Hamm CW, Nef H. CILP1 as a biomarker for right ventricular maladaptation in pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal* 2021; 57.
2. **Keranov S**, Jafari L, Haen S, Vietheer J, Kriechbaum S, Dörr O, Liebetrau C, Troidl C, Rutsatz W, Rieth A, Hamm CW, Nef H, Rolf A, Keller T. CILP1 as a biomarker for right ventricular dysfunction in patients with ischemic cardiomyopathy. *Pulmonary Circulation* 2022 Mar 25; 12(1): e12062.
3. **Keranov S**, Dorr O, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Richter M, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Mayer E, Seeger W, Hamm CW, Nef H. SPARCL1 as a biomarker of maladaptive right ventricular remodelling in pulmonary hypertension. *Biomarkers* 2020; 25: 290–295.
4. **Keranov S**, Dorr O, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Riehm J, Rutsatz W, Bauer P, Kriechbaum S, Voss S, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Nef H. Osteopontin and galectin-3 as biomarkers of maladaptive right ventricular remodeling in pulmonary hypertension. *Biomarkers in Medicine* 2021; 15: 1021–1034.
5. Widmann L, **Keranov S**, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Arsalan M, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Dörr O and Nef H. Fibroblast growth factor 23 as a biomarker of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *Clin Res Cardiol.* 2023 Feb 15. Epub ahead of print. PMID: 36790465.
6. **Keranov S**, Widmann L, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Bauer P, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Nef H and Dörr O. GDF-15 and sST2 as biomarkers of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *Biomark Med.* 2023 Feb 15. Epub ahead of print. PMID: 36790217

# 1. Einleitung

## 1.1 *Rechtsventrikuläres Remodeling*

Herzinsuffizienz ist die vierthäufigste Todesursache in Deutschland und die Anzahl stationärer Behandlungen aufgrund einer Herzinsuffizienz steigt seit Jahren stetig an [1]. Dementsprechend ist der Bedarf an neuen diagnostischen und therapeutischen Ansätzen bei Herzinsuffizienzpatienten groß.

Die Herzinsuffizienzforschung war lange Zeit auf den linken Ventrikel (LV) fokussiert und der rechte Ventrikel (RV) war die „vergessene Kammer“. Der RV wurde dabei als passives Conduit zwischen dem systemischen und dem pulmonalen Kreislauf ohne bedeutende Rolle bei der Aufrechterhaltung des Herzminutenvolumens (HMV) betrachtet. Eine stetig wachsende Anzahl an experimentellen und klinischen Studien deutet jedoch auf eine wichtige Rolle des RV als prognostischem Faktor für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität hin.

Eine Rechtsherzinsuffizienz ist bedingt durch eine systolische und/oder diastolische RV-Dysfunktion (RVD) und führt zu einer progredienten Leistungsminderung mit Beinödemen und Dyspnoe bis hin zum terminalen Rechtsherzversagen mit Multiorganversagen. Eine Reihe von intrinsischen und extrinsischen Pathologien wie angeborene oder erworbene Kardiomyopathien und Klappenerkrankungen, Myokardischämie oder pulmonale Hypertonie (PH) können durch erhöhte Vor- bzw. Nachlast oder gestörte Ino- und Lusitropie eine RVD verursachen. Das Vorhandensein einer RVD bei kardiovaskulären Erkrankungen ist mit einem signifikant erhöhten Risiko für Krankenhauseinweisungen, terminale Herzinsuffizienz und Gesamtmortalität assoziiert [2]. Insbesondere bei Patienten mit PH ist die RV-Funktion der wichtigste prognostische Faktor [3, 4]. Bei chronischer Linksherzinsuffizienz mit reduzierter systolischer LV-Funktion (engl. heart failure with reduced ejection fraction, HF<sub>r</sub>EF) ischämischer und nicht ischämischer Genese ist eine RVD ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität und terminale Herzinsuffizienz [5-10]. Bei chronischer Linksherzinsuffizienz und erhaltener systolischer LV-Funktion (engl. heart failure with preserved ejection fraction, HF<sub>p</sub>EF) ist eine RVD ebenfalls mit schlechteren Outcomes verbunden [11].

Der RV unterscheidet sich wesentlich vom LV sowohl in Bezug auf den embryonalen Ursprung als auch in vielen funktionellen und strukturellen Aspekten. Der LV stammt aus dem Ventriculus primitivus (engl. primary heart field), während der RV aus dem Bulbus cordis (engl. secondary heart field) entsteht [12]. Der RV hat im Unterschied zum konzentrisch geformten LV eine pyramidale Struktur. Die rechtsventrikuläre Wanddicke ist deutlich geringer als die

linksventrikuläre, während der RV aufgrund seiner starken Trabekularisierung eine größere Oberfläche als der LV hat. Dadurch ist die Compliance des RV im Vergleich zum LV höher. Durch die geringere Nachlast des nachgeschalteten Lungenkreislaufs ist die Pumpleistung des RV um ca. 75 % niedriger, obwohl beide Ventrikel das gleiche Blutminutenvolumen leisten [13]. Durch die bereits genannten Unterschiede zwischen RV und LV kommt es unter pathologischen Bedingungen wie chronischer Drucküberlastung oder Hypoxie zu unterschiedlichen Genexpressionsprofilen in LV und RV. Dies konnte bereits durch Studien mit Transkriptomanalysen in experimentellen Tiermodellen belegt werden [14, 15].

Die häufigste Ursache für eine chronische RV-Drucküberlastung ist die PH. Eine PH wird nach der neuen Definition bei einem mittleren pulmonal-arteriellen Druck von  $> 20$  mmHg (engl. mean pulmonary artery pressure, mPAP) diagnostiziert [16]. In den meisten großen Studien wurden jedoch PH-Patienten nach der alten Definition ( $\text{mPAP} \geq 25$  mmHg) eingeschlossen. Anhand des pulmonalvaskulären Widerstands (engl. pulmonary vascular resistance, PVR) und des pulmonalkapillären Verschlussdrucks (engl. pulmonary capillary wedge pressure, PCWP) wird zwischen präkapillärer ( $\text{PVR} > 2$  WE,  $\text{PCWP} \leq 15$  mmHg), postkapillärer ( $\text{PVR} \leq 2$  WE,  $\text{PCWP} > 15$  mmHg) oder gemischter PH ( $\text{PVR} > 2$  WE,  $\text{PCWP} > 15$  mmHg) unterschieden. Im Rahmen einer PH kommt es zu einer Druckerhöhung im Lungenkreislauf, was zu einer rechtsventrikulären Nachlasterrhöhung führt. Der RV reagiert auf die chronische Druckbelastung mit einer Steigerung der Kontraktilität, um die Auswurfleistung aufrechtzuerhalten. Diese Kontraktilitätssteigerung wird durch adaptives Remodeling im RV erreicht und beinhaltet RV-Hypertrophie und intrinsische Optimierung der kontraktilen Eigenschaften der Kardiomyozyten. Dadurch kann die RV-Kontraktilität um das 4- bis 5-Fache gesteigert werden [17]. Diese adaptiven RV-Veränderungen werden bei PH hauptsächlich durch die erhöhte Wandspannung während der RV-Systole verursacht, die proportional zur Nachlast ansteigt. Dem Laplace-Gesetz entsprechend ist die Wandspannung umgekehrt proportional zur Wanddicke, was die RV-Hypertrophie als kompensatorischen Mechanismus erklärt. Im Falle einer Vorlasterrhöhung, die ebenfalls bei PH auftreten kann, führt der Frank-Starling-Mechanismus ebenso zu einer zusätzlichen Inotropie, was die Abhängigkeit vom Volumenstatus einiger lastabhängiger diagnostischer Parameter aus der kardialen Bildgebung erklärt. Im Rahmen der progredienten Nachlasterrhöhung werden jedoch bei den meisten PH-Patienten im weiteren Verlauf die kontraktilen RV-Reserven überschritten. Demzufolge versucht der RV, durch eine Dilatation sowie eine Herzfrequenzsteigerung die Auswurfleistung aufrechtzuerhalten [18]. Durch die RV-Drucküberlastung werden jedoch maladaptive Remodelingprozesse induziert. Dabei spielen die folgenden Maladaptationsmechanismen eine entscheidende Rolle: kapilläre Rarefizierung,

metabolische Verschiebung vom oxidativen Stoffwechsel zur anaeroben Glykolyse, oxidativer Stress, neurohumorale Aktivierung, Inflammation und Fibrose [19]. Diese Veränderungen resultieren in einer progredienten RV-Dilatation sowie einer systolischen und diastolischen RVD und führen schließlich zu einer RV-pulmonal-arteriellen Entkopplung (RV-PA-Entkopplung) und terminaler Rechtsherzinsuffizienz [20].

Der erhöhte Sauerstoffbedarf und die Hypertrophie im RV bei PH erfordern eine bessere Perfusion, damit eine adäquate Versorgung gewährleistet werden kann. In der adaptiven Phase wird eine verstärkte Neoangiogenese durch angiogene Faktoren wie VEGF, Micro-RNA 126 und Apelin induziert. Im Rahmen der Maladaptation wird die Expression dieser Faktoren herunterreguliert, sodass es zu einer relativen kapillären Rarefizierung begleitetet von Ischämie, kardiomyozytärer Apoptose und Inflammation kommt [21]. Durch Hochregulation der Pyruvatkinase und Aktivierung anderer metabolischer Signalkaskaden wird die Oxidation von freien Fettsäuren, die das Hauptenergiesubstrat im gesunden Myokard darstellen, gehemmt und die anaerobe Glykolyse stimuliert, wodurch der Energiehaushalt der Kardiomyozyten und somit die kontraktile Funktion beeinträchtigt werden. [19] Ferner kommt es im Rahmen des gestörten Energiestoffwechsels zur erhöhten Produktion von reaktiven Sauerstoffverbindungen (engl. reactive oxygen species, ROS) in den Mitochondrien. Der daraus resultierende oxidative Stress führt zu Fibrose und Inflammation [22]. Eine neurohumorale Aktivierung mit Hochregulierung von andrenergen Signalwegen und Renin-Angiotensin-Aldosteron-System bei PH-Patienten führen ebenfalls durch Beeinflussung der Proteinexpression im RV zu einer kontraktilen Dysfunktion, Inflammation und Fibrose [23, 24]. Mechanischer Stress, Ischämie, sowie Mediatoren, die im Rahmen der Grunderkrankung in der Lunge produziert werden und ins Myokard transportiert werden, führen ebenfalls zu einer RV-Inflammation und Fibrose. Im Rahmen der inflammatorischen Reaktion werden Immunzellen in die extrazelluläre Matrix (EZM) gelockt und produzieren Chemokine und Zytokine, die entweder direkt pathologische Signalwege in den Kardiomyozyten aktivieren oder die Expression matrizellulärer Proteine beeinflussen [19]. Matrizelluläre Proteine sind nicht strukturelle Proteine, die in die extrazelluläre Matrix des Myokards sezerniert werden und dort als regulatorische Proteine die Interaktionen zwischen Myokardzellen und EZM beeinflussen. Studien zeigen, dass matrizelluläre Proteine beim maladaptiven myokardialen Remodeling häufig hochreguliert sind und unter anderem eine wichtige Rolle in der Regulation von profibrotischen und proinflammatorischen Signalwegen spielen [25, 26]. Fibrose ist ein prognostisch wichtiges Maladaptationsmerkmal im drucküberlasteten RV. Pathologische Stimuli aktivieren kardiale Fibroblasten und führen zu einer Transdifferenzierung zu Myofibroblasten. Diese leiten einen fibrotischen Umbau der EZM ein, der mit

Kollagenvermehrung und qualitativen Kollagenveränderungen einhergeht. Die Folge ist eine erhöhte Steifigkeit des Ventrikels sowie eine gestörte Koordination der Kontraktion. Dementsprechend kommt es zu einer wesentlichen Beeinträchtigung der systolischen und insbesondere der diastolischen RV-Funktion [27]. Die TGF- $\beta$ -Signalkaskade ist der bedeutendste profibrotische Signalweg im Myokard. TGF- $\beta$  induziert die Kollagen-Expression in der EZM und die Transdifferenzierung von Myofibroblasten im Myokard [28]. In Bezug auf Fibrose lassen sich jedoch erhebliche Unterschiede zwischen den drucküberlasteten RV und LV erkennen. Gesunde Probanden zeigten einen höheren Kollagengehalt im RV (7,4 %) als im LV (5,5 %) [29]. Unter chronischer Druckerhöhung kam es im RV zwar zu einem histologisch gesicherten und signifikanten, jedoch moderaten Anstieg des Kollagengehalts auf 9,6 % in PH-Patienten, die eine Lungentransplantation erhielten [30]. Bei Patienten mit hochgradiger Aortenklappenstenose dagegen zeigte sich in Biopsien, die während einer transfemorale Aortenklappenimplantation (TAVI) biopsiert wurden, eine ausgeprägte LV-Fibrose bei durchschnittlichem Kollagengehalt von 19,6 % [31]. Diese Befunde deuten auf Unterschiede zwischen LV und RV bei der Regulation von profibrotischen Signalwegen hin, die als Angriffspunkt für neue diagnostische und therapeutische Ansätze in PH dienen könnten.

## **1.2 Diagnostik des rechtsventrikulären Remodelings**

### **1.2.1 Rechtsherzkatheteruntersuchung (RHK) und RV-Druck-Volumen-Schleifen**

Mittels RHK können die Vor- und Nachlast sowie das HMV des RV bestimmt werden. Somit ist die RHK essenziell zur Diagnosestellung und Charakterisierung der PH. Der rechtsatriale Druck (engl. right atrial pressure, RAP), der während der RHK gemessen wird, stellt den wichtigsten prognostischen Vorlastparameter in PAH dar [32], während PVR und mPAP prognostisch bedeutsame Nachlastparameter sind [33]. Der Herzindex (cardiac index, CI) als standardisierter HMV-Parameter wird ebenfalls mittels RHK berechnet. Nach den aktuellen PH-Leitlinien sind  $CI < 2,5$  l/min/m<sup>2</sup> und  $RAP \geq 8$  mmHg mit einem erhöhten 1-Jahres-Mortalitätsrisiko ( $> 5$  %) assoziiert [16].

Der Goldstandard zur Bestimmung der maximalen nachlastunabhängigen RV-Kontraktilität (endsystolische Elastance, engl. end-systolic elastance, Ees) und der RV-Nachlast (arterielle Elastance, engl. arterial elastance, Ea) ist die invasive Druck-Volumen-Schleifenanalyse, die mittels spezieller Konduktanz-Katheter durchgeführt wird [18]. Die Relation Ees/Ea beschreibt dann die Kopplung von RV-Kontraktilität zur pulmonal-arteriellen Nachlast (RV-PA-

Kopplung). Je niedriger der Ees/Ea, desto schlechter kompensiert der RV die erhöhte Nachlast. Bei  $Ees/Ea < 0,7$  kommt es zu RV-PA-Entkopplung mit Rechtsherzversagen [34].

Es handelt sich jedoch um eine komplexe invasive Methode, die zeitaufwendig ist und nur in spezialisierten Zentren für PH-Diagnostik verfügbar ist. Des Weiteren stellt die Entkopplung die Endstrecke des maladaptiven Remodelings dar. Aufgrund von irreversiblen Veränderungen in der RV-Funktion und -Struktur bleibt die Prognose in diesem Stadium trotz aller therapeutischen Bemühungen meistens infaust.

Aus diesem Grund ist es von großer Bedeutung, neue diagnostische Instrumente zu entwickeln, die maladaptive Veränderungen in der Funktion und Struktur des rechten Ventrikels frühzeitig detektieren können.

### ***1.2.2 Kardiale Magnetresonanztomographie (kMR)***

Die kMR stellt den nicht invasiven Goldstandard zur Diagnostik der RV-Funktion und -Struktur dar. Durch dreidimensionale Volumetrie und hohe räumliche Auflösung erlaubt diese Methode eine exakte Quantifizierung kardialer Funktionen und Dimensionen [35, 36]. Dies ist aufgrund der besonderen Geometrie beim RV sehr wichtig. Ferner zeigen kMR-Messungen sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen eine sehr gute Reproduzierbarkeit [37-39]. kMR-basierte Indizes wie der endsystolische und enddiastolische rechtsventrikuläre Volumenindex (RVESVI; RVEDVI) als Parameter für RV-Dimensionen sowie die RV-Ejektionsfraktion (RVEF) als Parameter für die systolische rechtsventrikuläre Funktion haben einen hohen prognostischen Wert sowohl bei Linksherzinsuffizienz mit begleitender RVD als auch bei PH [5-7, 9, 40-42]. kMR-Parameter sind jedoch im Unterschied zu der Druck-Volumen-Schleifenanalyse von dem Volumenstatus und der Volumenbelastung abhängig, was eine bekannte wesentliche Limitation ist [34]. Zudem ist kMR eine aufwendige und kostenintensive Methode, die nicht überall verfügbar ist.

### ***1.2.3 Echokardiographie***

Die transthorakale Echokardiographie (TTE) spielt aufgrund der breiten Verfügbarkeit und der einfachen, kostengünstigen Durchführung in der klinischen Praxis eine entscheidende Rolle bei der Diagnostik, prognostischen Stratifizierung und Therapiekontrolle von Patienten mit PH. Sie

erlaubt eine Beurteilung der RV-Morphologie und -Dimensionen sowie der systolischen und diastolischen RV-Funktion. Des Weiteren ermöglicht die TTE eine Einschätzung des systolischen PA-Drucks (PASP, pulmonary artery systolic pressure) durch Bestimmung der maximalen Flussgeschwindigkeit vom Insuffizienzjet der Trikuspidalklappe.

Die Messung der longitudinalen systolischen Bewegungen der Trikuspidalklappenebene (TAPSE, tricuspid annular plane systolic excursion) ist die etablierte echokardiographische Methode zur Beurteilung der systolischen RV-Funktion. TAPSE < 17 mm kennzeichnet eine systolische RV-Dysfunktion und ist assoziiert mit einer schlechteren Prognose [43, 44].

Der echokardiographische Parameter TAPSE/PASP setzt TAPSE als Maß für die RV-Kontraktilität in Verhältnis zur RV-Nachlast, gemessen durch PASP. Dementsprechend wurde TAPSE/PASP als neuer nicht invasiver Parameter für RV-PA-Kopplung vorgeschlagen [45]. TAPSE/PASP zeigte eine gute Korrelation zu Ees/Ea in Patienten mit HFrEF und HFpEF [46-48]. TAPSE/PASP < 0,36 mm/mmHg war mit einer erhöhten Mortalität und einem schlechteren funktionellen Status in diesen Patientenkollektiven verbunden [49]. Bei Patienten mit idiopathischer pulmonal-arterieller Hypertonie (IPAH) und chronischer thromboembolischer pulmonaler Hypertonie (CTEPH) war ein niedriger TAPSE/PASP ebenfalls mit einer schlechteren Prognose und einem signifikant niedrigeren Ees/Ea assoziiert [50, 51]. Zudem konnten Tello et al. TAPSE/PASP als nicht invasiven Parameter der RV-PA-Kopplung validieren. TAPSE/PASP < 0,31 mm/mmHg wurde dabei als Referenzwert für RV-PA-Entkopplung, definiert als Ees/Ea < 0,805, identifiziert (88 % Sensitivität und 76 % Spezifität) [51].

#### ***1.2.4 Biomarker***

Die laborchemische Bestimmung von Biomolekülen im Blut bietet die Möglichkeit einer schnellen, kostengünstigen und vor allem frühen Detektion von pathologischen Prozessen im Körper. Biomarker spielen zunehmend eine wichtige Rolle in der Diagnostik und Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen. So haben Biomarker wie Troponin und BNP/NT-proBNP die Infarkt- und Herzinsuffizienzdiagnostik revolutioniert [52, 53]. Zudem sind BNP und NT-proBNP aktuell auch die einzigen in der klinischen Praxis etablierten Biomarker bei Patienten mit PH. BNP/NT-proBNP-Spiegel korrelieren mit RV-Funktion und -Maladaptation sowie auch mit dem klinischen Status in PH. Des Weiteren liefern sie prognostische Informationen sowohl zum Zeitpunkt der Diagnosestellung als auch im Verlauf [54]. BNP und NT-proBNP sind jedoch auch bei HFpEF und HFrEF erhöht, sodass es aktuell keine Biomarker gibt, die

spezifisch mit einer RV-Dysfunktion assoziiert sind [53, 54]. Darüber hinaus gibt es auch keine Biomarker, die spezifisch für bestimmte RV-Maladaptationsmerkmale sind.

### ***1.3 Biomarker- und Bioimaging-Register für kardiovaskuläre Erkrankungen: BioRight, BioProspective und BioCVI***

Im Rahmen der Forschungstätigkeit des Kerckhoff Herzforschungsinstituts mit der Justus-Liebig-Universität Gießen gGmbH (KHFI) wurde eine große, aus mehreren Registern bestehende Biodatenbank gegründet. In diesen Registern werden Patienten aus den Abteilungen für Pneumologie und Kardiologie des Universitätsklinikums Gießen sowie der Abteilungen für Kardiologie, Thorax- und Herzchirurgie der Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim seit 2011 konsekutiv nach schriftlicher Einwilligung eingeschlossen. Dabei werden klinische und apparative Daten erfasst sowie Blut- und Gewebeproben gesammelt. Die humanen Proben werden entsprechend einem definierten Protokoll entnommen, verarbeitet und bei  $-80\text{ °C}$  tiefgefroren aufbewahrt.

In der vorliegenden Habilitationsschrift wurden Patientendaten und -proben aus den folgenden Registern analysiert:

Das **BioRight**-Register entstand im Rahmen der Sonderforschungsbereich-Projekte (SFB-Projekte) B07 und CP01 der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG). Das Hauptziel des CP01-Projekts ist die Erstellung einer Biodatenbank bestehend aus Blutproben und Myokardbiopsien von CTEPH-Patienten, bei denen eine pulmonale Endarteriektomie (PEA) durchgeführt wird. Im Rahmen des B07-Projekts werden zusätzlich auch Blutproben von Patienten mit IPAH abgenommen.

Das Hauptziel des B07-Projekts ist die Identifikation von neuen Biomarkern für maladaptives RV-Remodeling in den Blut- und Gewebeproben von Patienten mit gesicherter IPAH oder CTEPH mit  $mPAP \geq 25\text{ mmHg}$  und ohne LV-Pathologien (LV-Ejektionsfraktion [LVEF]  $> 55\%$ , Septumdicke [end-diastolic interventricular septum thickness, IVSd]  $< 12\text{ mm}$  und Hinterwanddicke (end-diastolic LV posterior wall thickness [LVPWd]  $< 12\text{ mm}$ ).

Damit potenzielle Unterschiede in der Biomarkerexpression zwischen RV- und LV-Remodeling analysiert werden können, werden auch Patienten mit LV-Pathologien nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

- Patienten mit adaptivem LV-Remodeling bei linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) im

Rahmen einer hochgradigen Aortenstenose (mittlerer Druckgradient [Pmean] > 40 mmHg und/oder Klappenöffnungsfläche [KÖF] < 1,0 cm<sup>2</sup>, IVSd ≥ 12 mm, LVPWd ≥ 12 mm).

- Patienten mit maladapтивem LV-Remodeling bei dilatativer Kardiomyopathie (DCM, LVEF < 40 %, LVEDd > 56 mm).

Ferner werden auch gesunde Probanden ohne LV- oder RV-Pathologien als Kontrollen eingeschlossen.

Bei allen eingeschlossenen Patienten und Kontrollen werden Blutproben abgenommen. Darüber hinaus werden klinische, laborchemische und echokardiographische Daten sowie Daten aus kMR- und Rechtsherzkatheteruntersuchungen erfasst.

Im **BioCVI**-Register werden erwachsene Patienten (älter als 18 Jahre), bei denen eine kMR im Rahmen der kardiologischen Diagnostik und Therapie durchgeführt wird, eingeschlossen. Von jedem Patienten werden Blutproben asserviert und es werden klinische, laborchemische und echokardiographische Daten sowie Daten aus kMR- und Herzkatheteruntersuchungen erfasst.

## 2. Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die vorliegende Habilitationsschrift beschäftigt sich mit der Fragestellung, wie die Detektion eines maladaptiven rechtventrikulären Remodelings durch den Einsatz neuer Biomarker verbessert werden kann. RVD als Folge eines maladaptiven Remodelings unter chronischer Drucküberlastung ist der stärkste Prädiktor für erhöhte Mortalität in Patienten mit PH und sie hat zudem eine große prognostische Bedeutung in Patienten mit Linksherzinsuffizienz. Durch die Kombination von verschiedenen nicht invasiven Verfahren wie neue Biomarker und echokardiographische Parameter sollen diagnostische Instrumente zur frühzeitigen Detektion von maladaptiven Veränderungen in der RV-Struktur und -Funktion entwickelt werden. Ein weiteres wichtiges Ziel der aktuellen kardiovaskulären Forschung besteht darin, RV-spezifische Biomarker zu identifizieren, die unabhängig von LV-Pathologien adaptive und maladaptive Veränderungen im RV diagnostizieren können.

So ist das Ziel dieser Arbeit die Rolle verschiedener, am kardialen Remodeling und insbesondere an der Entstehung kardialer Fibrose beteiligter Biomoleküle als mögliche Biomarker für maladaptives RV-Remodeling zu analysieren. Des Weiteren sollen Unterschiede zwischen Biomarkerspiegeln in Patienten mit RV- und LV-Remodeling untersucht werden, um eine mögliche Spezifität für RV-Maladaptation zu detektieren.

### **3. Neue Biomarker für maladaptives RV-Remodeling**

#### ***3.1 Cartilage intermediate-layer-protein 1 (CILP1)***

CILP1 ist ein matricelluläres Protein, das in myokardialen Fibroblasten exprimiert wird. Es wurde als Inhibitor des profibrotischen „transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )“-Signalwegs identifiziert [55]. Das CILP1-Gen codiert ein Präkursor-Protein. Dieses wird durch Furin-Proteasen in ein N-terminales Fragment, das die TGF- $\beta$ 1-bindende WSXW-Sequenz enthält, und in ein C-terminales Fragment gespalten. Das Präkursor-Protein und das N-terminale Fragment werden in die EZM sezerniert und können TGF- $\beta$ 1 binden und dadurch den TGF- $\beta$ 1-Signalweg hemmen [56]. Es wurde wiederum gezeigt, dass TGF- $\beta$ 1 seinerseits die Expression von CILP1 induziert, sodass CILP1 und TGF- $\beta$ 1 eine funktionelle Schleife bilden [57, 58].

Expressionsanalysen in verschiedenen Mausmodellen des pathologischen kardialen Remodelings, wie partielle Aortenligatur (transaortic constriction, TAC) und Angiotensin-Infusion, zeigten eine deutliche Hochregulation der CILP1-Expression [55]. Diese korrelierte auch mit der Expression von TGF- $\beta$  und anderen ECM-Proteinen.

Entsprechend waren Analysen von endomyokardialen Biopsien aus Patienten mit hochgradiger Aortenstenose und Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie mit einer erhöhten CILP1-Expression assoziiert [55].

Eine experimentelle Studie hat darüber hinaus eine viel höhere CILP1-RNA-Expression im RV nach einem Banding der Pulmonalarterie (engl. pulmonary artery banding, PAB) als nach TAC im LV gezeigt [14].

Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass CILP1 mit RV-Remodeling und insbesondere Fibrose stärker assoziiert sein könnte als mit LV-Remodeling.

##### ***3.1.1 CILP1 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH***

In der im Folgenden vorgestellten Publikation wird die Rolle von CILP1 als Biomarker für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in PH untersucht. Des Weiteren sollen auch CILP1-Spiegel in Patienten mit LV- und RV-Remodeling verglichen werden.

*Publikation #1:*

**Keranov S, Dörr O, Jafari L, Troidl C, Liebetrau C, Kriechbaum S, Keller T, Voss S, Bauer T, Lorenz J, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Mayer E, Wiedenroth CB, Guth S, Lorchner H, Poling J, Chelladurai P, Pullamsetti SS, Braun T, Seeger W, Hamm CW, Nef H.** CILP1 as a biomarker for right ventricular maladaptation in pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal* 2021; 57.

Die folgende Studie bestand aus einem experimentellen und einem klinischen Arm.

Zunächst sollte die Evidenz über erhöhte CILP-1-RNA-Expression nach PAB im Mausmodell, die aus einer einzigen experimentellen Studie stammt [14], mittels Proteinanalysen überprüft werden.

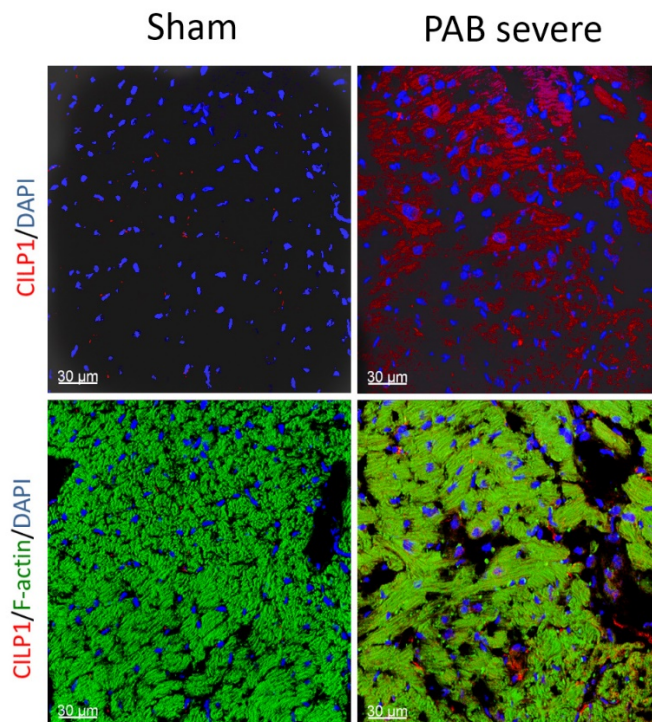
Im Tierexperiment wurden Wildtyp-Mäusen, die entweder einem PAB oder einer Schein-OP (Sham) unterzogen wurden, untersucht. Es wurde bei fünf Mäusen ein mildes PAB und bei neun Mäusen ein starkes PAB durchgeführt. Neun weitere scheinoperierte Mäuse dienten als Kontrollen. Alle Tiere wurden nach sieben Tagen geopfert und der RV wurde kryokonserviert. Im Western-Blot (Abbildung 1) zeigte sich bei der semiquantitativen Intensitätsanalyse eine signifikant höhere CILP1-Expression im RV nach starkem PAB im Vergleich zum milden PAB ( $p < 0,05$ ) und Sham ( $p < 0,01$ ). Diese korrelierte auch stark zur RV-Expression vom atrialen natriuretischen Peptid (ANP).

Passend dazu war in der Immunhistochemie die Expression von CILP1 nach starkem PAB deutlich ausgeprägter als nach Sham (Abbildung 2). Zusätzlich war der prozentuale Anteil an Kollagen I und III im RV nach starkem PAB deutlich höher als nach Sham ( $p < 0,001$ ).



**Abbildung 1:** Western-Blot-Analyse von CILP1- und ANP-Proteinexpression im rechten Ventrikel von Wildtyp-Mäusen eine Woche nach Schein-OP (Sham), leichtem Banding der Pulmonalarterie (PAB mild) und starkem Banding der Pulmonalarterie (PAB severe). Die Pan-actin-Expression dient als Ladekontrolle.

Zusätzlich erfolgten Versuche mit Zellkulturen von humanen kardialen Fibroblasten (engl. cardiac fibroblasts, CFB). Die CILP1-RNA-Expression in CFB war nach Behandlung der Zellkultur mit TGF- $\beta$ 1 signifikant höher als in den Kontrollen. Dabei zeigte sich unter TGF- $\beta$ 1-Behandlung auch eine starke Korrelation zwischen der Expression von CILP1 und Fibronectin 1, Periostin und Kollagen 1A2, die ebenfalls an pathologischen Remodelingvorgängen im Myokard beteiligt sind [59].



**Abbildung 2:** Immunofluoreszenzanalyse von CILP1-Expression (rote Färbung) im rechten Ventrikel von Wildtyp-Mäusen eine Woche nach Schein-OP (Sham) und starkem Banding der Pulmonalarterie (PAB severe). Zellkerne sind mit 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) blau gefärbt. F-Actin-Filamente sind grün gefärbt.

Im klinischen Teil dieser Studie wurden CILP1-Plasmaspiegel in 161 Patienten aus dem Bio-Right-Register gemessen. Darunter waren 97 Patienten mit PH (IPAH oder CTEPH), 25 Patienten mit LVH ohne RVD bei hochgradiger Aortenstenose und ohne RV-Dysfunktion, 20 Patienten mit DCM ohne RVD und 19 Probanden dienten als Kontrollen.

Die Patienten mit PH wurden in dieser Studie in zwei Gruppen mit adaptivem oder maladaptivem RV-Remodeling nach den folgenden Kriterien aufgeteilt:

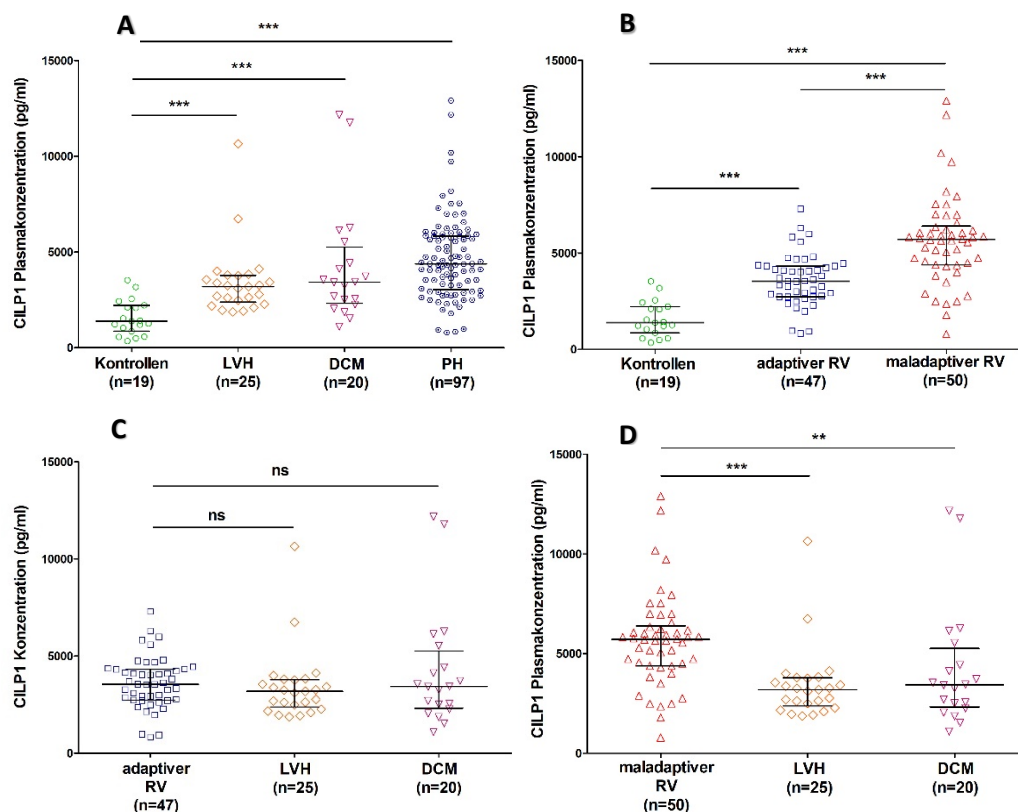
- adaptives RV-Remodeling (adaptiver RV): TAPSE > 20 mm, CI > 2,5 L/min/m<sup>2</sup>;
- maladaptives RV-Remodeling (maladaptiver RV): TAPSE < 16 mm, CI < 2,2 L/min/m<sup>2</sup> und RVEDd > 43 mm.

Die Patienten mit LV-Pathologien wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

- Patienten mit LVH bei hochgradiger Aortenstenose und ohne RVD ( $P_{\text{mean}} > 40$  mmHg und/oder Klappenöffnungsfläche (KÖF)  $< 1,0$  cm<sup>2</sup>, TAPSE  $> 20$  mm, RVEDd  $< 42$  mm, PAPmean  $< 25$  mmHg, IVSd  $\geq 12$  mm, LVPWd  $\geq 12$  mm, LVEF  $> 55$  %);
- Patienten mit DCM ohne RVD (TAPSE  $> 20$  mm, RVEDd  $< 42$  mm, PAPmean  $< 25$  mmHg, LVEDd  $> 56$  mm und LVEF  $< 40$  %).

Die Analysen der CILP1-Plasmakonzentrationen ergaben signifikant höhere CILP1-Spiegel in Patienten mit LVH und DCM als in der Kontrollgruppe (Abbildung 3 A). Es gab keine signifikanten Unterschiede diesbezüglich zwischen DCM und LVH-Patienten.

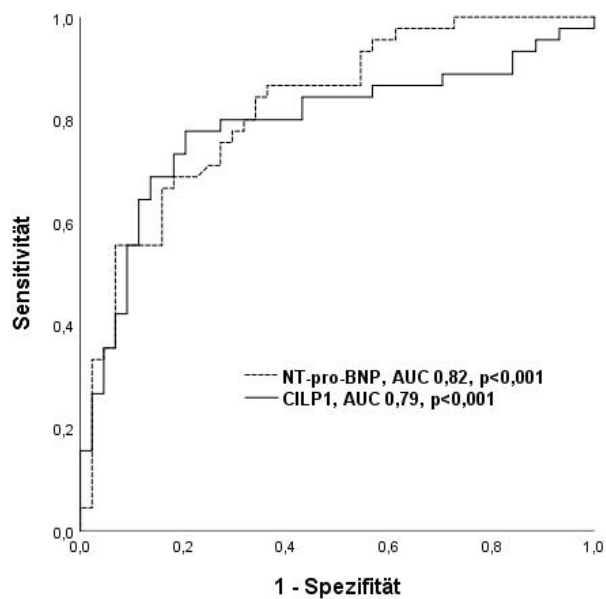
PH-Patienten zeigten ebenfalls höhere CILP-Spiegel als Kontrollen. Des Weiteren hatten PH-Patienten mit maladapтивem RV signifikant höhere CILP1-Konzentrationen als diejenigen mit adaptivem RV (Abbildung 3 B). Interessanterweise hatten PH-Patienten mit maladapтивem RV höhere CILP1-Spiegel als Patienten mit LVH und DCM (Abbildung 3 C), während es keinen Unterschied zwischen adaptivem RV, LVH und DCM gab (Abbildung 3 D).



**Abbildung 3:** Darstellung von CILP1-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und in Kontrollen; B) Patienten mit

PH und adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling. Boxplots zeigen Median mit Interquartilsabstand. Streuplots zeigen einzelne CILP1-Konzentrationen. ns: nicht signifikant. \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

Darüber hinaus waren in der „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse CILP1 und NT-proBNP gute Prädiktoren für maladaptiven RV in PH-Patienten (Abbildung 4), wobei es keine signifikanten Unterschiede zwischen der Prädiktionskraft von CILP1 und NT-proBNP gab.



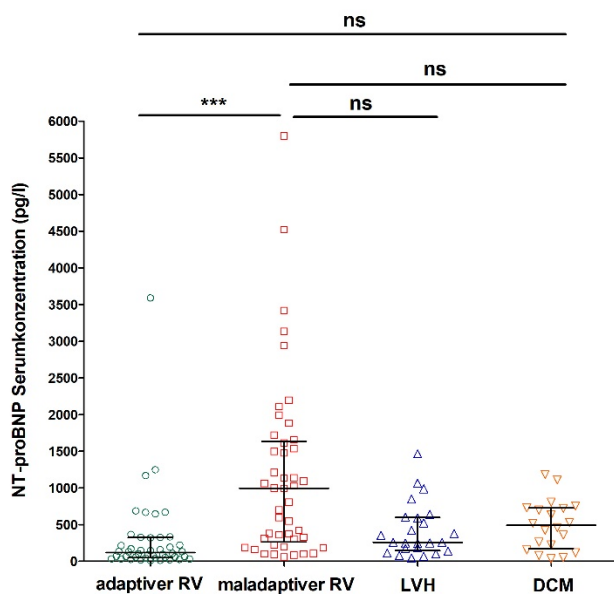
**Abbildung 4:** „Receiver-Operating-Characteristic (ROC)“-Analyse von CILP1 und NT-proBNP als Prädiktoren für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

Mittels Youden-Analyse konnte ein optimaler CILP1-cut-off-Wert für maladaptiven RV von 4373 pg/ml berechnet werden. In einer Regressionsanalyse war TAPSE/PASP der einzige unabhängige Prädiktor für hohe CILP1-Konzentrationen ( $CILP1 > 4373$  pg/ml, Tabelle 1). Zusätzlich zeigte sich in einer Tertilenanalyse eine starke Assoziation zwischen hohen CILP1-Spiegeln und niedrigen TAPSE/PASP-Werten in der PH-Gruppe ( $p < 0,001$ ).

Variable	p-Wert	OR	95%-KI
PAPmean	0,39	0,98	0,92–1,03
RVEDd	0,13	1,06	0,98–1,13
TAPSE/PASP	0,01	0,08	0,01–0,52

**Tabelle 1:** Logistische Regressionsanalyse von Prädiktoren für hohe CILP1-Konzentrationen (CILP1 > 4373 pg/ml). PAPmean: mittlerer pulmonal-arterieller Druck, RVEDd: rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, PASP: pulmonal-arterieller systolischer Druck, OR: odds ratio, KI: Konfidenzintervall.

In Bezug auf NT-proBNP-Spiegel gab es hingegen keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit DCM, LVH und PH mit maladapтивem RV, sondern lediglich zwischen adaptivem und maladapтивem RV in PH. Hier waren die NT-proBNP-Spiegel ebenfalls signifikant niedriger bei den PH-Patienten mit adaptivem RV (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Darstellung von NT-proBNP-Serumkonzentrationen in Patienten mit hochgradiger Aortenklappenstenose, linksventrikulärer Hypertrophie (LVH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und pulmonaler Hypertonie (PH) mit adaptivem (adaptiver RV) und maladapтивem (maladaptiver RV) RV-Remodeling sowie in Kontrollen; Boxplots zeigen Median mit Interquartilsabstand. Streuplots zeigen einzelne CILP1-Konzentrationen. ns: nicht signifikant. \*\*\*:  $p < 0,001$

In der Zusammenschau wurde CILP1 im experimentellen Teil dieser Arbeit als matrizelluläres Protein, dass unter Drucküberlastung im RV hochreguliert wird und an profibrotischen Signalwegen beteiligt ist, bestätigt. Im klinischen Teil konnte CILP1 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling und RV-PA-Entkopplung bei Patienten mit PH identifiziert werden. Darüber hinaus zeigten sich bei maladapтивem RV-Remodeling deutlich höhere CILP1-Spiegel als bei LV-Remodeling, womit CILP1 zu einem nützlichen diagnostischen Tool für die spezifische Detektion von RV-Remodeling werden könnte.

### ***3.1.2 CILP1 als Biomarker für RV-Dysfunktion in ICM***

Basierend auf den Ergebnissen der vorherigen Arbeit hinsichtlich der Rolle von CILP1 als Biomarker für RV-Maladaptation in PH entstand die Hypothese, dass CILP1 ebenfalls RV-Remodeling bei Patienten mit ICM detektieren könnte. Patienten mit ICM weisen ein pathologisches Myokardremodeling auf, das infolge eines chronischen Koronarsyndroms (CCS) mit relevanter Myokardischämie entstanden ist [60]. Das Ausmaß der LV-Dysfunktion ist ein entscheidender prognostischer Aspekt in dieser Population. Darüber hinaus ist eine RV-Dysfunktion in ICM ebenfalls ein unabhängiger Prädiktor für schlechte Outcomes [6-9]. Demzufolge bestand das Ziel der folgenden Publikation darin, die Rolle von CILP1 als Biomarker von RV-Dysfunktion in ICM zu untersuchen.

*Publikation #2:*

**Keranov S**, Jafari L, Haen S, Vietheer J, Kriechbaum SD, Dörr O, Liebetrau C, Troidl C, Rutsatz W, Rieth AJ, Hamm CW, Nef H, Rolf A, Keller T. CILP1 as a biomarker for right ventricular dysfunction in patients with ischemic cardiomyopathy. *Pulmonary Circulation* 2022 Mar 25; 12(1): e12062.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden CILP1-Plasmakonzentrationen in 128 Patienten aus dem BioCVI-Register gemessen. Dementsprechend wurde bei allen Teilnehmern eine kMR durchgeführt. Darunter waren 98 Patienten mit ICM und 30 Kontrollen ohne LV- oder RV-Pathologien. ICM wurde dabei definiert als CCS mit Z. n. Myokardinfarkt, PCI oder aortokoronarer Bypass-Operation (ACB-OP) und myokardiales late gadolinium enhancement (LGE) in kMR. Diese LGE-basierte Definition lehnt sich an bestehender Evidenz an, die LGE als wichtigen Prädiktor für ICM bei KHK identifiziert [61]. Zur Validierung der Ergebnisse wurden alle Analysen auch in der Subgruppe mit LVEF < 50 % durchgeführt (n = 59), da eine systolische LV-Dysfunktion (LVD) zur klassischen Definition der ICM gehört [60].

Patienten mit ICM zeigten höhere CILP1- und NT-proBNP-Konzentrationen als die Kontrollen (p < 0,001 für beide Vergleiche).

Tertilenanalysen in der ICM-Kohorte zeigten signifikant höhere CILP1-Konzentrationen in Patienten mit niedrigem RVEF (< 45 %) als in Patienten mit hohem (> 54 %) und mittlerem (45–54 %) RVEF (Abbildung 6 A). ICM-Patienten mit RVESVI > 43 ml/m<sup>2</sup> hatten ebenfalls signifikant höhere CILP1-Konzentrationen als diejenigen mit RVESVI von 32 bis 43 ml/m<sup>2</sup> und mit RVESVI < 32 ml/m<sup>2</sup> (Abbildung 6 B). Schließlich waren im hohen NT-proBNP-Tertil (> 1800 pg/ml) CILP1-Konzentrationen signifikant erhöht im Vergleich zu den anderen

Tertilen (Abbildung 6 C). Demgegenüber gab es in Bezug auf LVEF und LVESVI keine signifikanten Unterschiede zwischen den CILP1-Tertilen (Abbildungen 6 D und E).

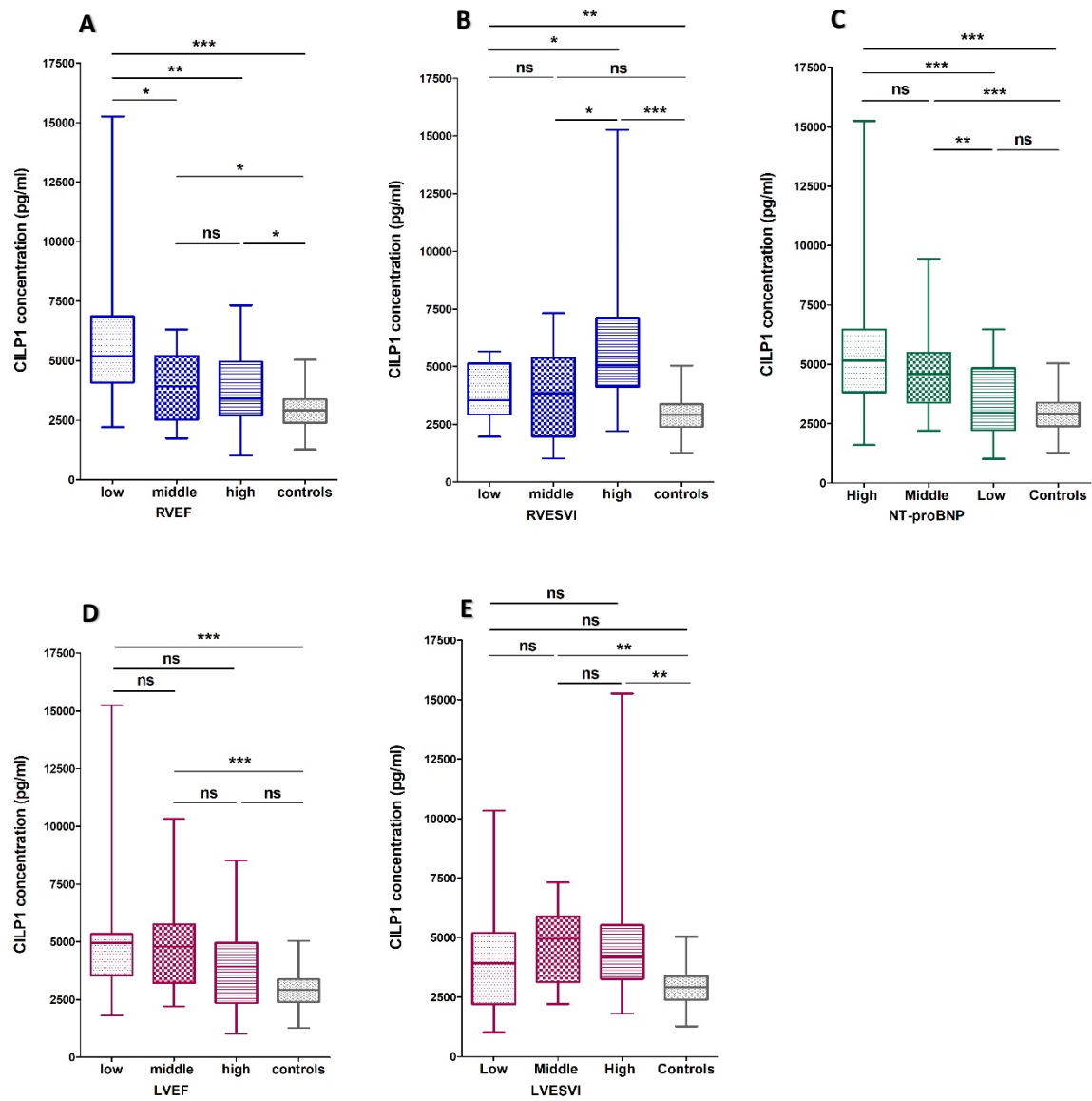
Erhöhte NT-proBNP-Spiegel zeigten in der Tertilenanalyse im Unterschied zu CILP1 signifikante Assoziationen sowohl mit niedriger RVEF und hohem RVESVI als auch mit niedriger LVEF und hohem LVESVI.

Frühere Arbeiten zeigen, dass RVEF ein etablierter prognostischer Parameter zur Bestimmung der RV-Funktion ist. In einer Studie mit 588 ICM-Patienten von Sabe et al. war in der multivariablen Analyse jede Reduktion der RVEF um 10 % mit einer Erhöhung der Mortalität um 17 % assoziiert [6]. In anderen Arbeiten war eine RVEF < 40 % ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität in Patienten mit ICM oder Z. n. Myokardinfarkt [7-9]. Ein erhöhter RVESVI als Parameter von RV-Dilatation war bei Patienten mit Linksherzinsuffizienz ebenfalls mit einer erhöhten Mortalität assoziiert [62].

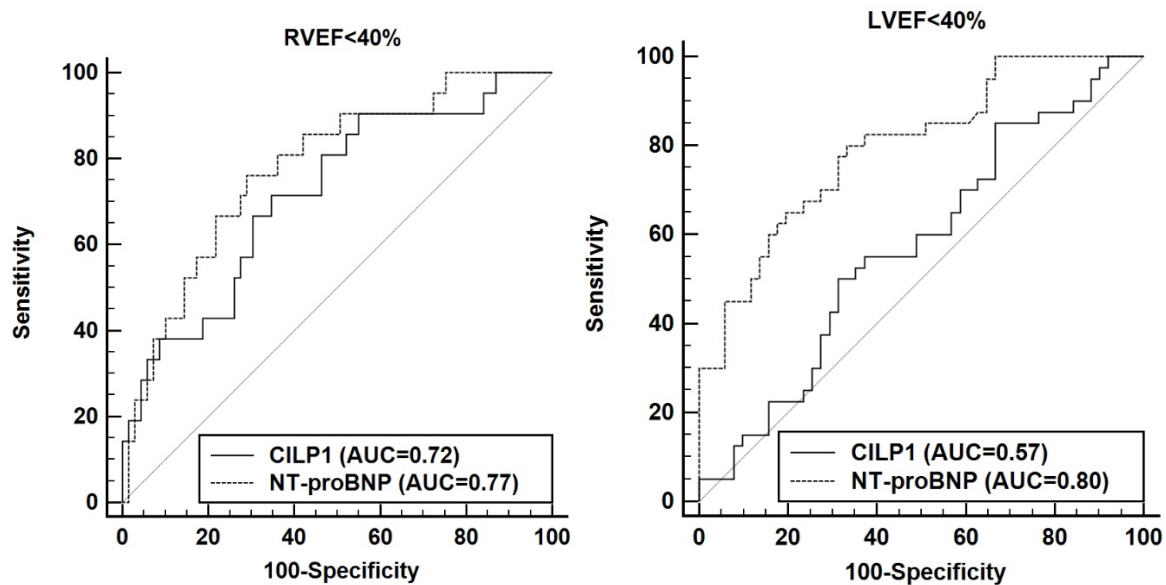
Dementsprechend zeigt CILP1 in der vorliegenden Studie eine Assoziation mit RV-Dysfunktion und Dilatation. Es fanden sich hingegen keine Assoziationen zwischen CILP1 und LV-Parametern. Diese Ergebnisse wurden zusätzlich durch Korrelationsanalysen bestätigt.

NT-proBNP dagegen ist mit Parametern von RV- und LV-Remodeling assoziiert und zeigt somit keine RV-Spezifität.

Diese Ergebnisse werden auch durch die ROC-Analyse bestätigt. Hier war CILP1 ein guter Prädiktor für RVEF < 40 % (AUC = 0,72, Abbildung 6 A), jedoch ein schlechter Prädiktor für LVEF < 40 % (AUC = 0,57, Abbildung 6 B). Hingegen war NT-proBNP ein guter Prädiktor für RVEF < 40 % (AUC = 0,77, Abbildung 6 A) und LVEF < 40 % (AUC = 0,80, Abbildung 6 B). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen der AUC von NT-proBNP und CILP1 für RVEF < 40 % ( $p = 0,42$ ). Mittels Youden-Analyse wurde der optimale CILP1-cut-off-Wert für RVEF < 40 % von 3545 pg/ml berechnet (90 % Sensitivität, 65 % Spezifität). In der binärlogistischen Regressionsanalyse war RVEF der einzige unabhängige Prädiktor für hohe CILP1-Spiegel (Tabelle 2).



**Abbildung 6:** Darstellung von CILP1-Konzentrationen in A) RVEF-Tertilen (high: > 54 %, middle: 45–54 %, low: < 45 %), B) RVESVI-Tertilen (low: < 32 ml/m<sup>2</sup>; middle: 32–43 ml/m<sup>2</sup>; high: > 43 ml/m<sup>2</sup>), C) NT-proBNP-Tertilen (low: < 465 pg/ml; middle: 465–1800 pg/ml; high: > 1800 pg/ml), D) LVEF-Tertilen (low: < 35 %; middle: 35–52 %; high: > 52 %) und E) LVESVI-Tertilen (low: < 39 ml/m<sup>2</sup>; middle: 39–66 ml/m<sup>2</sup>; high: > 66 ml/m<sup>2</sup>), ns: nicht signifikant. \*: p < 0,05, \*\*: p < 0,01, \*\*\*: p < 0,001



**Abbildung 7:** „Receiver-Operating-Characteristic (ROC)“-Analyse von CILP1 als Prädiktor für A) RVEF < 40 % und B) LEVF < 40 % in Patienten mit ICM.

Variable	p-Wert	OR	95%-KI
NT-proBNP	0,96	1	1
eGFR	0,06	0,98	0,97–1,002
RVEF	0,01	0,94	0,90–0,98
Vorhofflimmern	0,27	2,51	0,6–6,19

**Tabelle 2:** Logistische Regressionsanalyse von Prädiktoren für hohe CILP1-Konzentrationen (CILP1 > 3545 pg/ml pg/ml).

Zusammenfassend konnte in der hier aufgeführten Publikation gezeigt werden, dass CILP1 bei ICM-Patienten ebenfalls mit Parametern für maladaptives RV-Remodeling wie systolischer RVD und RV-Dilatation assoziiert ist. Eine Assoziation mit Parametern von LV-Remodeling konnte jedoch im Unterschied zu NT-proBNP nicht bestätigt werden, womit die Hypothese einer differenziellen CILP1-Expression beim RV-Remodeling weiter gestützt wird.

### ***3.2 SPARC-like protein 1 (SPARCL 1) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH***

Das Protein SPARCL1 gehört zur Gruppe der SPARC-Proteine. Es handelt sich um eine Familie von matrizellulären Proteinen, die ähnliche Struktur und eine homologe C-terminale Domäne aufweisen [63]. In früheren Studien war eine erhöhte SPARC-Expression in experimentellen Tiermodellen von LV-Hypertrophie und Fibrose nachzuweisen [26]. In SPARC-null-Mäusen zeigte sich nach TAC ein reduzierter myokardialer Kollagengehalt und eine bessere diastolische Funktion im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen [64]. Es findet sich jedoch wenig Evidenz über den Stellenwert von SPARCL1 in kardiovaskulären Erkrankungen. Eine Studie konnte eine erhöhte RV-Expression von SPARCL1 in Ratten mit maladaptivem RV-Remodeling infolge einer Monocrotalin-induzierten PH zeigen [65]. Somit stellt SPARCL1 einen neuen und wenig erforschten Biomarkerkandidat für RV-Remodeling dar.

Ziel der nachfolgend genannten Publikation war es, die Rolle von SPARCL1 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in Patienten mit PH zu untersuchen. Darüber hinaus sollte im direkten Vergleich zu Patienten mit DCM ohne RV-Belastung auch eine eventuelle RV-Spezifität von SPARCL1 untersucht werden.

*Publikation #3:*

**Keranov S, Dörr O, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Richter M, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Mayer E, Seeger W, Hamm CW, Nef H.** SPARCL1 as a biomarker of maladaptive right ventricular remodelling in pulmonary hypertension. *Biomarkers* 2020; 25: 290–295.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden SPARCL1-Plasmakonzentrationen in 105 Patienten aus dem BioRight-Register gemessen. Darunter waren 66 Patienten mit PH (IPAH oder CTEPH), 18 Patienten mit DCM und 21 Probanden als Kontrollen.

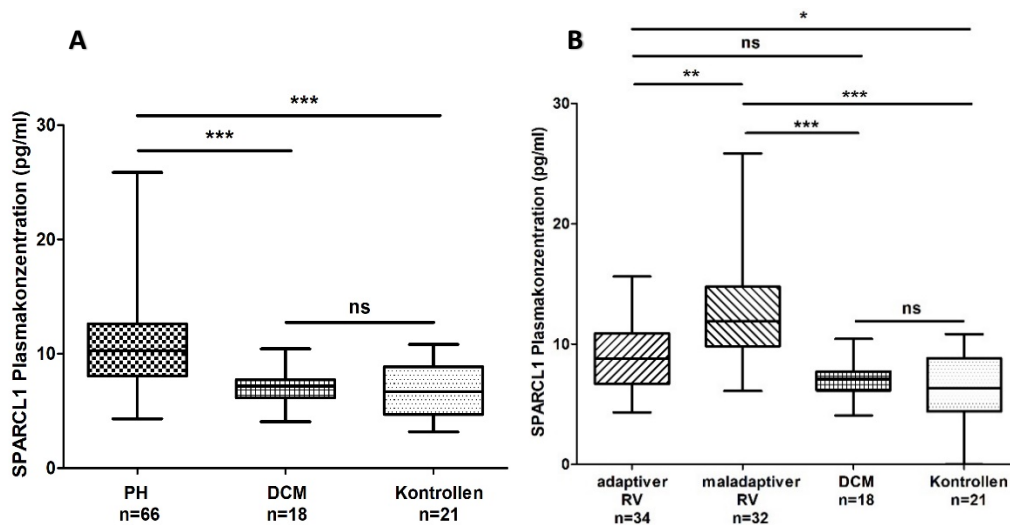
Die Patienten mit PH wurden in dieser Studie in zwei Gruppen mit adaptivem oder maladaptivem RV-Remodeling nach den folgenden Kriterien aufgeteilt:

- adaptives RV-Remodeling (adaptiver RV): TAPSE > 20 mm, RVEDd < 43 mm;
- maladaptives RV-Remodeling (maladaptiver RV): TAPSE < 16 mm und RVEDd > 43 mm.

Die Patienten mit DCM wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

- Patienten mit DCM ohne RV-Dysfunktion (TAPSE > 20 mm, RVEDd < 42 mm, PAPmean < 25 mmHg, LVEDd > 56 mm and LVEF < 40 %).

Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen DCM und Kontrollen in Bezug auf SPARCL1-Konzentrationen. Bei Patienten mit PH dagegen waren die SPARCL1-Plasmaspiegel signifikant höher als bei den Kontrollen (Abbildung 6 A).

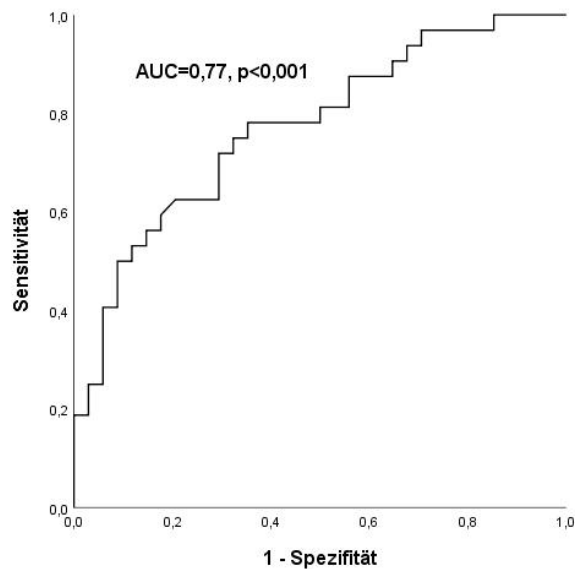


**Abbildung 8:** Darstellung von SPARCL1-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und in Kontrollen; B) Patienten mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling bei PH, DCM und in Kontrollen; Boxen zeigen Median mit Interquartilsabstand. ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

Dieser signifikante Unterschied blieb auch in den PH-Subgruppen bestehen. Sowohl Patienten mit adaptivem RV als auch diejenigen mit maladaptivem RV zeigten höhere SPARCL1-Spiegel als die Kontrollgruppe (Abbildung 6 B).

Des Weiteren waren SPARCL1-Konzentrationen bei PH-Patienten in der Gruppe mit maladaptivem RV deutlich höher als bei adaptivem RV (Abbildung 6 B).

In der ROC-Analyse war SPARCL1 ein guter Prädiktor für einen maladaptiven RV in PH (Abbildung 7) und ein optimaler Cut-off-Wert von 9,66 ng/ml wurde mittels Youden-Analyse ermittelt.



**Abbildung 9:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von SPARCL1 als Prädiktor für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

In einer Regressionsanalyse mit allen Prädiktoren für einen hohen SPARCL1-Spiegel (SPARCL1 > 9,66 ng/ml) war TAPSE/PASP der einzige unabhängige Prädiktor (Tabelle 3).

Variable	p-Wert	OR
TAPSE/PASP	0,02	0,16
RVEDd	0,26	0,95
RAP	0,06	1,2

**Tabelle 3:** Logistische Regressionsanalyse von Prädiktoren für hohe SPARCL1-Konzentrationen (SPARCL1 > 9,66 ng/ml). RAP: rechtsatrialer Druck, RVEDd: rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, PASP: pulmonal-arterieller systolischer Druck, OR: odds ratio.

Zusätzlich zeigten sich in der TAPSE/PASP-Tertilenanalyse in PH-Patienten im niedrigen TAPSE/PASP-Tertil ebenfalls signifikant höhere SPARCL1-Konzentrationen als in den anderen Tertilen ( $p < 0,05$ ).

Zusammenfassend zeigt diese Pilotstudie, dass SPARCL-1-Spiegel bei PH mit adaptivem und maladaptivem RV-Remodeling sowie bei DCM mit maladaptivem LV-Remodeling signifikant erhöht sind. Dabei haben PH-Patienten mit maladaptivem RV-Remodeling signifikant höhere SPARCL-1-Konzentrationen als DCM-Patienten mit maladaptivem LV-Remodeling. Darüber hinaus zeigen hohe SPARCL1-Spiegel signifikante Assoziationen mit Parametern von maladaptivem RV-Remodeling und RV-PA-Entkopplung. Dementsprechend konnte diese Arbeit SPARCL-1 als potenziellen spezifischen Biomarker für RV-Maladaptation identifizieren.

### ***3.3 Osteopontin (OPN) und Galectin-3 (Gal-3) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH***

Osteopontin ist ein matricelluläres Glykoprotein, das sowohl als membrangebundenes Protein als auch als Zytokin zu finden ist. Es wird unter anderem in Kardiomyozyten und kardialen Fibroblasten exprimiert und nimmt als regulatorisches Protein Einfluss auf die Struktur und Funktion der EZM [66]. In tierexperimentellen Studien war OPN an der Signaltransduktion der Angiotensin-II-induzierten Myokardfibrose beteiligt [67, 68].

Gal-3 ist ein  $\beta$ -Galactosidase-bindendes Lektin, das von aktivierten Makrophagen in die kardiale EZM sezerniert wird und dort als Mediator für Inflammation und Fibrose dient [69, 70]. In einer experimentellen Studie führte die Behandlung von Wildtyp-Ratten mit rekombinantem Gal-3 zur linksventrikulären Dysfunktion mit ausgeprägter LV-Fibrose [70].

Die Ergebnisse von mehreren klinischen Studien deuten auf eine potenzielle Rolle von OPN und Gal-3 als diagnostische und prognostische Biomarker für pathologisches LV- und RV-Remodeling [66, 71-80].

Ziel der folgenden Arbeit ist es, die bestehende Evidenz über OPN und Gal-3 als Biomarker für pathologisches LV- und RV-Remodeling zu ergänzen. Es sollen die Assoziationen von erhöhten OPN- und Gal-3-Spiegeln mit echokardiographischen und MR-Parametern von RV-Maladaptation überprüft werden. Insbesondere sollen potenzielle Unterschiede in den OPN- und Gal-3-Konzentrationen zwischen Patienten mit LV- und RV-Remodeling detektiert werden.

#### *Publikation #4:*

**Keranov S, Dörr O, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Riehm J, Rutsatz W, Bauer P, Kriechbaum S, Voss S, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Nef H. *Osteopontin and galectin-3 as biomarkers of maladaptive right ventricular remodeling in pulmonary hypertension. Biomarkers in Medicine 2021; 15: 1021–1034.***

Im Rahmen dieser Arbeit wurden OPN- und Gal-3-Plasmakonzentrationen in 181 Patienten aus dem BioRight-Register gemessen. Darunter waren 62 Patienten mit PH (33 Patienten mit IPAH und 29 Patienten mit CTEPH), 34 Patienten mit DCM, 47 Patienten mit LVH und 38 Kontrollen.

Die Patienten mit PH wurden in dieser Studie in zwei Gruppen mit adaptivem oder maladaptivem RV-Remodeling nach den folgenden Kriterien aufgeteilt:

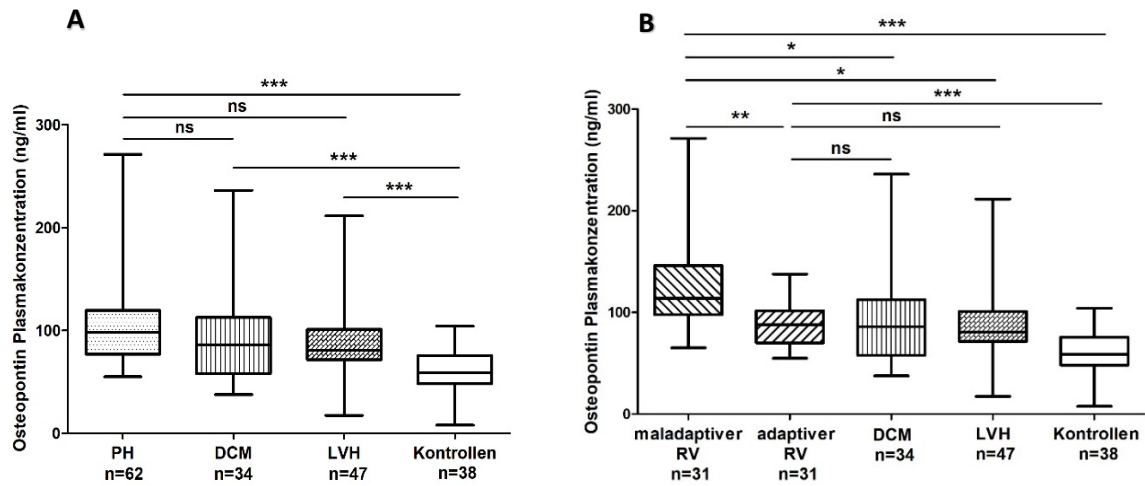
- adaptives RV-Remodeling (adaptiver RV): TAPSE > 17 mm, TAPSE/PASP  $\geq 0,26$  mm/mHg, RVEDd < 43 mm, PCWP < 15 mmHg, LVEF  $\geq 55$  %, IVSd < 12 mm, LVPWd < 12 mm;
- maladaptives RV-Remodeling (maladaptiver RV): TAPSE  $\leq 17$  mm, TAPSE/PASP < 0,26 mm/mmHg, RVEDd  $\geq 43$  mm, PCWP < 15 mmHg, LVEF  $\geq 55$  %, IVSd < 12 mm, LVPWd < 12 mm.

Die Patienten mit LV-Pathologien wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

- Patienten mit LVH bei hochgradiger Aortenstenose und ohne RV-Dysfunktion (aortic valve mean pressure gradient > 40 mmHg and/or aortic valve area < 10 cm<sup>2</sup>, TAPSE > 20 mm, RVEDd < 42 mm, PAPmean < 25 mmHg, IVSd  $\geq 12$  mm, LVPWd  $\geq 12$  mm, LVEF > 55 %);
- Patienten mit DCM ohne RV-Dysfunktion (TAPSE > 20 mm, RVEDd < 42 mm, PAPmean < 25 mmHg, LVEDd > 56 mm and LVEF < 40 %).

Bei 28 IPAH-Patienten wurde auch ein kMR durchgeführt. In dieser Kohorte waren signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen mit maladaptivem und adaptivem RV in Bezug auf kMR-Parameter zu sehen. Bei den Patienten mit maladaptivem RV waren RVEF, RVEDV und RVESV signifikant höher und die T1-Zeit im RV als Parameter für Fibrose signifikant länger als bei der Gruppe mit adaptivem RV. Folglich zeigt die Analyse der MRT-Parameter in dieser Subgruppe, dass die Aufteilung der PH-Gruppe nach adaptivem und maladaptivem RV anhand echokardiografischer Parameter tatsächlich gelungen ist.

OPN-Plasmakonzentrationen waren in der Kontrollgruppe signifikant niedriger als in Patienten mit LV-Remodeling bei DCM und LVH (Abbildung 8). Korrelationsanalysen ergaben jedoch keine signifikanten Korrelationen zwischen OPN-Spiegeln und echokardiographischen Parametern in Patienten mit DCM und LVH ( $p > 0,05$  für alle Korrelationen).

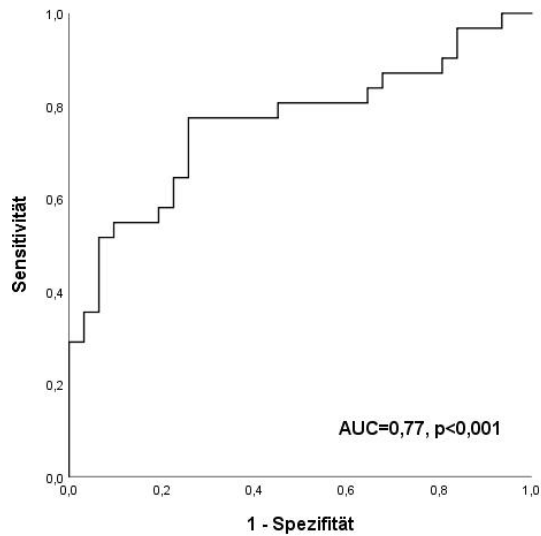


**Abbildung 10:** Darstellung von Osteopontin-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen; B) Patienten mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling bei PH, DCM, LVH und in Kontrollen; Boxen zeigen Median mit Interquartilsabstand. ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

Patienten mit PH hatten ebenfalls höhere OPN-Spiegel als die Kontrollen, es gab diesbezüglich jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen PH, LVH und DCM (Abbildung 8 A).

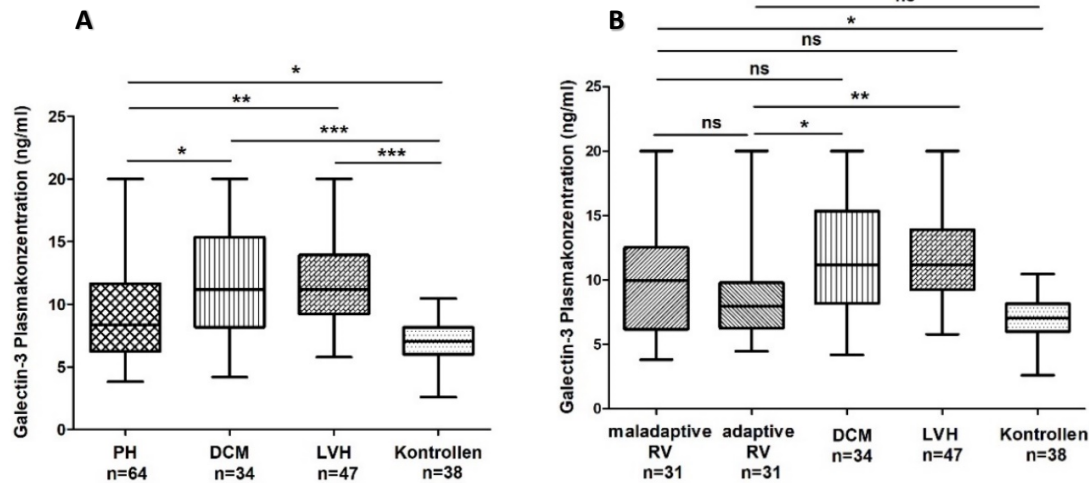
Demgegenüber waren die OPN-Spiegel bei PH-Patienten mit maladaptivem RV signifikant höher als bei PH mit adaptivem RV, DCM, LVH und den Kontrollen (Abbildung 8 B).

Darüber hinaus zeigte sich OPN als guter Prädiktor für maladaptiven RV in PH in der ROC-Analyse, es war diesbezüglich jedoch signifikant schlechter als NT-proBNP (Abbildung 9,  $p = 0,01$  für  $AUC_{NT-proBNP}$  vs.  $AUC_{OPN}$ ). Des Weiteren gab es keine Korrelation zwischen OPN-Spiegeln und T1-Zeit vom RV in der MRT-Subkohorte in PH-Patienten ( $p > 0,05$ ), was für eine fehlende Assoziation zwischen erhöhtem OPN-Spiegel und RV-Fibrose spricht.



**Abbildung 11:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von Osteopontin als Prädiktor für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

Gal-3-Plasmakonzentrationen in DCM und LVH sowie PH mit maladaptivem RV waren signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Abbildung 10). Demgegenüber hatten PH-Patienten mit adaptivem PH keine höheren Gal-3-Spiegel als die Kontrollen. Gal-3-Spiegel in Patienten mit PH und maladaptivem RV zeigten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu Patienten mit PH und adaptivem RV, DCM und LVH (Abbildung 10 B). Des Weiteren zeigten sich in allen Gruppen keine Korrelationen zwischen Gal-3 und echokardiographischen, hämodynamischen und kernspintomographischen LV- und RV-Parametern ( $p > 0,05$  für alle Vergleiche).



**Abbildung 12:** Darstellung von Galectin-3-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen; B) Patienten mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling bei PH, DCM, LVH und in Kontrollen; Boxen zeigen Median mit Interquartilsabstand. ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass OPN-Plasmakonzentrationen bei adaptivem und maladaptivem LV-Remodeling zwar erhöht sind, jedoch nicht mit Remodeling-Parametern korrelieren. Demgegenüber zeigte sich eine gute Assoziation von erhöhten OPN-Spiegeln und Parametern von maladaptivem RV-Remodeling in PH. Dennoch zeigte OPN keine Korrelation zur RV-Fibrose und sein prädiktiver Wert war schlechter als bei NT-proBNP. Schließlich waren die OPN-Spiegel bei maladaptivem RV-Remodeling höher als beim adaptivem oder maladaptivem LV-Remodeling. Gal-3 war bei Patienten mit kardialen Pathologien erhöht, es zeigte jedoch keine Korrelationen zu Parametern von LV- oder RV-Remodeling.

### ***3.4 Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH***

FGF-23 ist ein Protein aus der Familie der Fibroblasten-Wachstumsfaktoren. Es wird hauptsächlich in Osteozyten hergestellt und spielt eine wichtige Rolle in der Phosphat- und Vitamin-D-Homöostase [81]. Bei Niereninsuffizienz steigen FGF-23-Spiegel an, damit Phosphatkonzentrationen im Normbereich bleiben [82]. Außer in Osteozyten, wird FGF-23 auch in Kardiomyozyten und kardialen Fibroblasten unter pathologischen Bedingungen wie z. B. Myokardinfarkt, LV- oder RV-Drucküberlastung und Herzinsuffizienz gebildet [83]. Tierexperimentelle Studien konnten zeigen, dass FGF-23 den Calcineurin-NFAT-Signalweg aktiviert, was zu einer pathologischen Hypertrophie und Fibrose führt [84, 85]. Darüber hinaus stimuliert FGF-23 zusätzlich die Entstehung kardialer Fibrose über die Aktivierung der  $\beta$ -Catenin- und TGF- $\beta$ -Signalwege [86]. In einer Studie mit PAB in Ratten zeigten die Herzen mit histologisch nachgewiesener RV-Fibrose einen deutlichen FGF-23-Anstieg, während diejenigen, die lediglich eine RV-Hypertrophie ohne Fibrose aufwiesen, vergleichbare FGF-23-Spiegel wie die Sham-operierten Tiere hatten [87].

Die Assoziation von erhöhten FGF-23-Konzentrationen mit LV-Dysfunktion und schlechterer Prognose wurde in Patienten mit Linksherzpathologien bereits umfassend untersucht. Erhöhte FGF-23 Konzentrationen waren ein starker und unabhängiger Prädiktor für Mortalität bei Patienten mit HFrEF und HFpEF [88-90]. In Patienten mit LVH waren hohe FGF-23-Spiegel mit echokardiographischen Parametern des LV-Remodelings assoziiert [91-94].

Dementsprechend stellt FGF-23 einen prognostischer Biomarker für LV-Remodeling dar.

Es gibt jedoch lediglich geringe Evidenz über die Rolle von FGF-23 als Biomarker von RV-Remodeling.

Folglich war das Hauptziel der folgenden Arbeit, die Rolle von FGF-23 als Biomarker für RV-Remodeling in Patienten mit PH zu untersuchen. Darüber hinaus sollten FGF-23-Konzentrationen in Patienten mit LV-Remodeling im Rahmen von einer DCM oder LVH analysiert werden und mit denen in RV-Remodeling in PH verglichen werden.

*Publikation #5:*

Widmann L, **Keranov S**, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Arsalan M, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Dörr O and Nef H. *Fibroblast growth factor 23 as a biomarker of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension*. *Clinical Research in Cardiology* 2023

Im Rahmen dieser Arbeit wurden FGF-Plasmakonzentrationen in 755 Patienten aus dem Bio-Right-Register gemessen. Darunter waren 627 Patienten mit PH (85 Patienten mit IPAH und 542 Patienten mit CTEPH), 59 Patienten mit DCM, 35 Patienten mit LVH und 34 Probanden als Kontrollen.

Die Patienten mit PH wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

- mPAP  $\geq$  25 mmHg, pulmonary artery wedge pressure (PAWP)  $\leq$  15 mmHg, left ventricular ejection fraction (LVEF)  $\geq$  50 %, and no LVH (end-diastolic interventricular septum thickness (IVSd)  $\leq$  13 mm).

Die Patienten mit LV-Pathologien wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

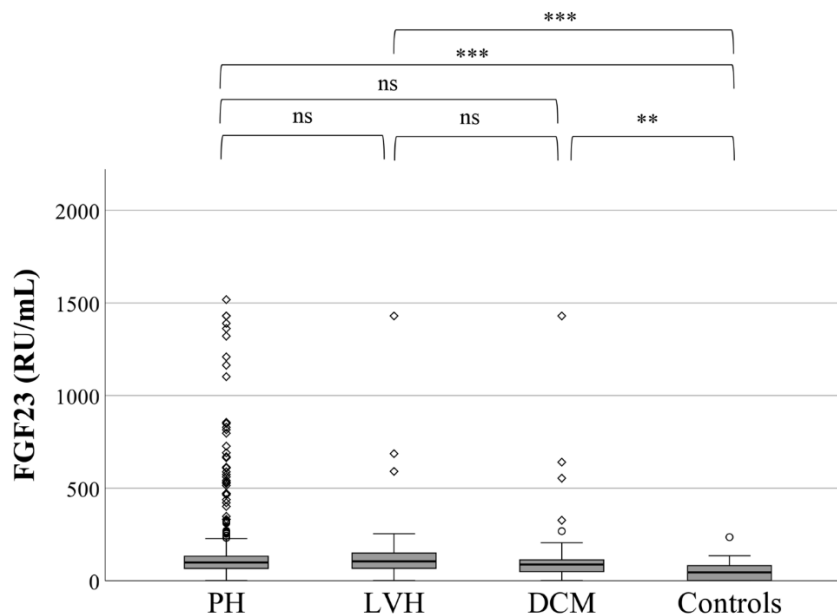
- Patienten mit LVH bei hochgradiger Aortenstenose (aortic valve mean pressure gradient  $>$  40 mmHg and/or aortic valve area  $<$  1,0 cm<sup>2</sup>, IVSd  $\geq$  12 mm, LVPWd  $\geq$  12 mm, LVEF  $>$  55 %);
- Patienten mit DCM (PAPmean  $<$  25 mmHg, LVEDd  $>$  56 mm and LVEF  $<$  40 %).

Hinsichtlich der Basischarakteristiken zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen PH, LVH und DCM. Patienten mit LVH waren älter und zeigten eine schlechtere Nierenfunktion und höhere IVSd und LVPWd als die Patienten in den anderen beiden Gruppen. Außerdem war die Rate von Vorhofflimmern, koronare Herzkrankheit, Z. n. PCI oder Bypass-OP und Z. n. Myokardinfarkt in dieser Kohorte signifikant höher. PH-Patienten zeigten signifikant höhere RVEDd und PASP sowie niedrigere TAPSE und TAPSE/PASP als DCM und LVH ( $p < 0,05$  für alle Vergleiche).

Die FGF-23-Plasmakonzentrationen waren signifikant höher in Patienten mit PH, DCM und LVH als in der Kontrollgruppe (Abbildung 13), was konsistent zu bereits publizierten Daten ist [94-96]. Es gab jedoch keine signifikanten Unterschiede in FGF-23-Spiegeln zwischen PH, DCM und LVH (Abbildung 13).

Eine Korrelationsanalyse in der DCM-Kohorte zeigte signifikante Korrelationen ( $p < 0,05$ ) von RV- und LV-Parametern wie RVEDd, TAPSE und LVEF mit FGF-23-Spiegeln. Bei LVH-

Patienten fanden sich dagegen keine signifikanten Korrelationen von FGF-23 zu RV- und LV-Parametern.



**Abbildung 13:** Darstellung von FGF-23-Plasmakonzentrationen in Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen (Controls); Boxen zeigen Median mit Interquartilsabstand. Kreise zeigen Ausreißer, ns: nicht signifikant. \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

In der PH-Gruppe wurde mittels Tertilenanalyse die Assoziation von FGF-23 mit Basischarakteristiken sowie mit RHK- und echokardiographischen Parametern untersucht. Alle PH-Patienten wurden dabei in drei Gruppen unterteilt: unteres FGF-Tertil (FGF  $< 78$  RU/mL), mittleres Tertil (FGF-23 =  $78-117$  RU/mL) und oberes Tertil (FGF-23  $> 117$  RU/mL). Es fanden sich keine Unterschiede zwischen den Tertilen in Bezug auf Alter, Geschlecht, NYHA-Stadium, Komorbiditäten wie Vorhofflimmern, KHK, Z. n. Myokardinfarkt und Koronarinterventionen, PAVK und Z. n. Hirninfarkt. In Bezug auf arterielle Hypertonie, Dyslipidämie, positive Familienanamnese und Rauchen gab es ebenfalls keine Unterschiede. Die Patienten im oberen Tertil hatten jedoch häufiger Diabetes mellitus ( $p < 0,05$  für alle Vergleiche) und schlechtere Nierenfunktion gemessen nach eGFR ( $p < 0,05$  für alle Vergleiche, Abbildung 14 I) als in den anderen beiden Tertilen.

In Bezug auf RHK-Parameter hatten PH-Patienten im oberen Tertil höhere PVR, mPAP und RAP als im mittleren ( $p < 0,05$  für alle Vergleiche) und unteren ( $p < 0,001$  für alle Vergleiche) Tertil (Abbildung 14 A–C). Der CI war im oberen Tertil signifikant niedriger als im mittleren

( $p < 0,05$  für alle Vergleiche) und unteren Tertil ( $p < 0,001$  für alle Vergleiche, Abbildung 14 D).

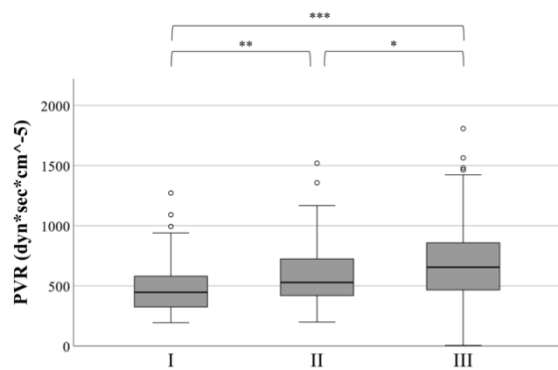
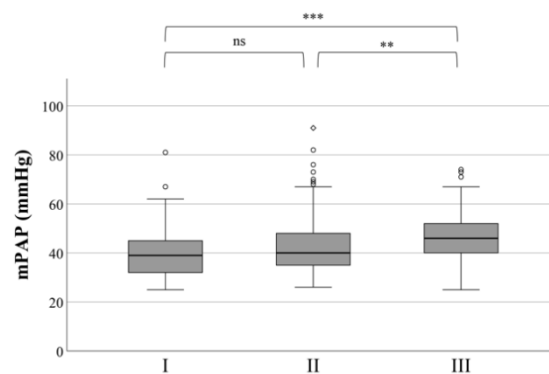
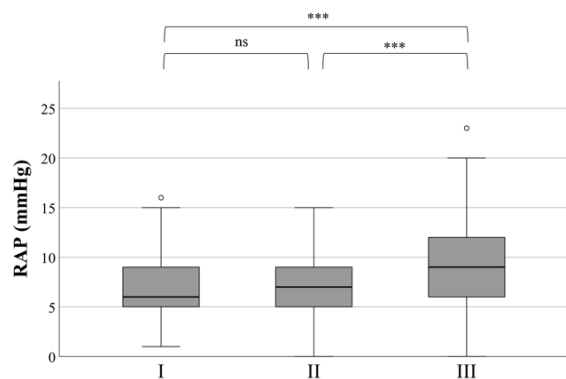
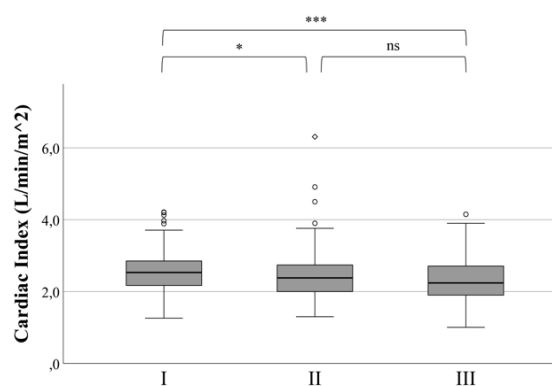
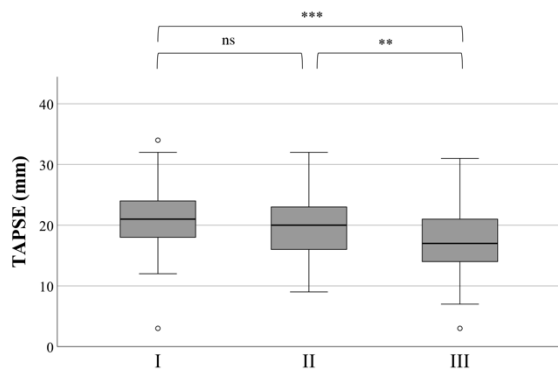
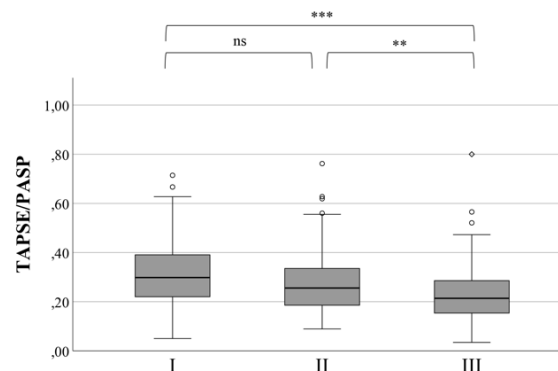
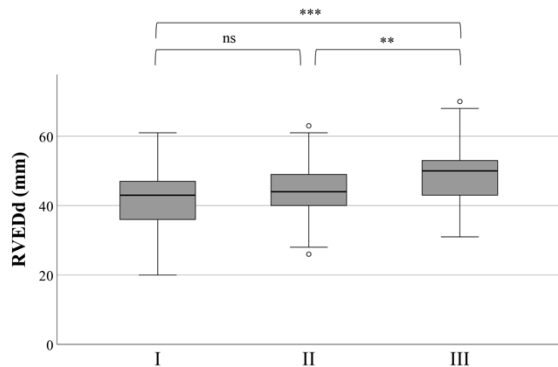
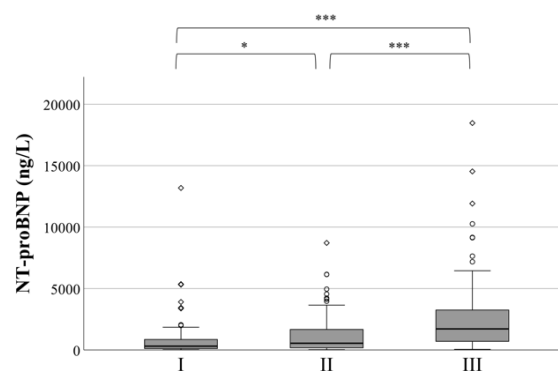
Darüber hinaus waren im oberen Tertil TAPSE und TAPSE/PASP niedriger und RVEDd war höher als im mittleren ( $p < 0,05$  für alle Vergleiche) und unteren ( $p < 0,001$  für alle Vergleiche) Tertil (Abbildung 14 E–G).

Schließlich zeigte sich auch NT-proBNP (Abbildung 14 H) im oberen Tertil deutlich höher als in den anderen beiden Tertilen ( $p < 0,001$  für alle Vergleiche).

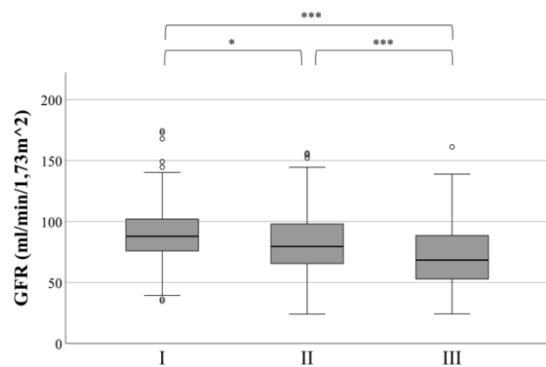
In der ROC-Analyse war FGF-23 ein guter Prädiktor für maladaptiven RV definiert als TAPSE  $< 17$  mm und CI  $< 2,5$  L/min/m<sup>2</sup> in PH-Patienten (Fig. 13).

In einer binär-logistischen Regressionsanalyse war FGF-23 unabhängig von eGFR ein Prädiktor für TAPSE  $< 17$  mm ( $p < 0,001$ , OR 1,21), CI  $< 2,0$  l/min/m<sup>2</sup> ( $p < 0,01$ , OR 1,13), RVEDd  $> 43$  mm ( $p = 0,05$ , OR 1,44), RAP  $> 7$  mmHg ( $p < 0,001$ , OR 1,5).

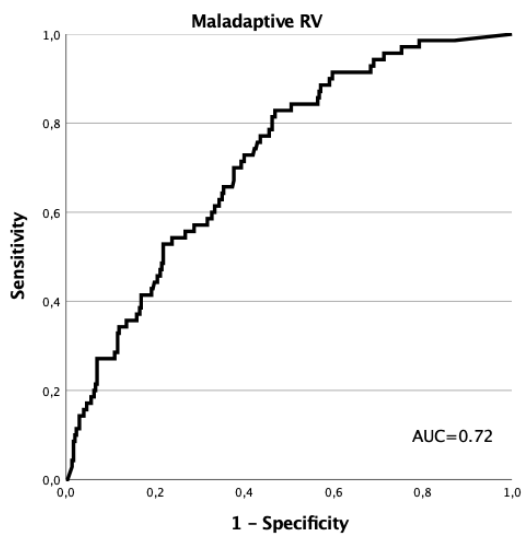
In der Zusammenschau zeigten sich in der hier vorgestellten Studie signifikante Assoziationen von hohen FGF-23-Plasmaspiegeln ( $> 117$  RU/mL) mit Parametern von maladaptivem RV-Remodeling und RV-PA-Entkopplung in PH-Patienten mit isoliertem RV-Remodeling. Bei fehlenden signifikanten Unterschieden zwischen PH, LVH und DCM in Bezug auf FGF-23-Spiegel, kann FGF-23 nicht als RV-spezifischer Biomarker eingesetzt werden.

**A****B****C****D****E****F****G****H**

I



**Abbildung 14:** Darstellung von A) pulmonalem Widerstand (PVR); B) mittlerem pulmonal-arteriellem Druck (mPAP); C) right atrial pressure (RAP); D) cardiac index (CI); E) TAPSE; F) TAPSE/PASP; G) rechtsventrikulärem enddiastolischem Durchmesser (RVEDd); H) NT-proBNP und I) GFR aufgeteilt nach FGF-23-Tertilen in Patienten mit PH; I: unteres Tertil (FGF-23 < 78 RU/mL); II: mittleres Tertil (FGF-23 = 78–117 RU/mL); oberes Tertil (FGF-23 > 117 RU/mL); ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$



**Abbildung 15:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von FGF-23 als Prädiktor für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

### ***3.5 Soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2) und growth differentiation factor 15 (GDF-15) als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH***

sST2 gehört zur Familie der Interleukin-1-Rezeptoren und wird in zwei Isoformen exprimiert: eine membrangebundene Form (ST2L) und eine zirkulierende Form (sST2) [97]. Die membrangebundene Form wird unter pathologischem Stress in Kardiomyozyten exprimiert [98]. Durch die Bindung von Interleukin-33 (IL-33) an ST2L werden kardioprotektive Signalkaskaden aktiviert, die zur Reduktion von Apoptose, pathologischer Hypertrophie, Fibrose und somit zur Verbesserung der Myokardfunktion führen [99]. sST2 bindet IL-33 und verhindert die Interaktion zwischen IL-33 und ST2L. Folglich werden auch die kardioprotektiven Effekte von IL-33 auf das Myokard inhibiert [100, 101]. Eine Vielzahl von Studien belegen einen guten prädiktiven Wert von sST2 für schlechte Outcomes in Patienten mit akuter und chronischer Herzinsuffizienz [102-107].

GDF-15 ist ein stressinduziertes Zytokin, das zur TGF- $\beta$ -Familie gehört. Es ist unter diversen pathologischen Bedingungen hochreguliert, insbesondere bei Entzündung, Ischämie oder oxidativem Stress [108, 109]. In früheren Arbeiten konnte GDF-15 als guter Prädiktor für Mortalität und Morbidität in diversen kardiovaskulären Pathologien identifiziert werden [110-112]. GDF-15 und sST2 waren auch in mehreren kleineren Studien mit einem schweren Verlauf und einer höheren Mortalität bei PH-Patienten assoziiert [113-116].

Das Ziel der folgenden Arbeit ist es, die Assoziation von erhöhten sST2- und GDF-15- Spiegeln mit Parametern von RV-Dysfunktion und -Nachlast in einer größeren, zeitgemäßen PH-Kohorte zu untersuchen. Des Weiteren sollen potenzielle Unterschiede in sST2- und GDF-15-Spiegeln zwischen Patienten mit LV und RV-Remodeling detektiert werden.

*Publikation #6:*

**Keranov S, Widmann L, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Bauer P, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Nef H and Dörr O. *GDF-15 and sST2 as biomarkers of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. Biomarkers in medicine 2023***

Im Rahmen dieser Arbeit wurden GDF-15- und sST2-Plasmakonzentrationen in 767 Patienten aus dem BioRight-Register gemessen. Darunter waren 628 Patienten mit PH (85 Patienten mit IPAH und 543 Patienten mit CTEPH), 31 Patienten mit DCM, 47 Patienten mit LVH und 61 Probanden als Kontrollen.

Die Patienten mit PH wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

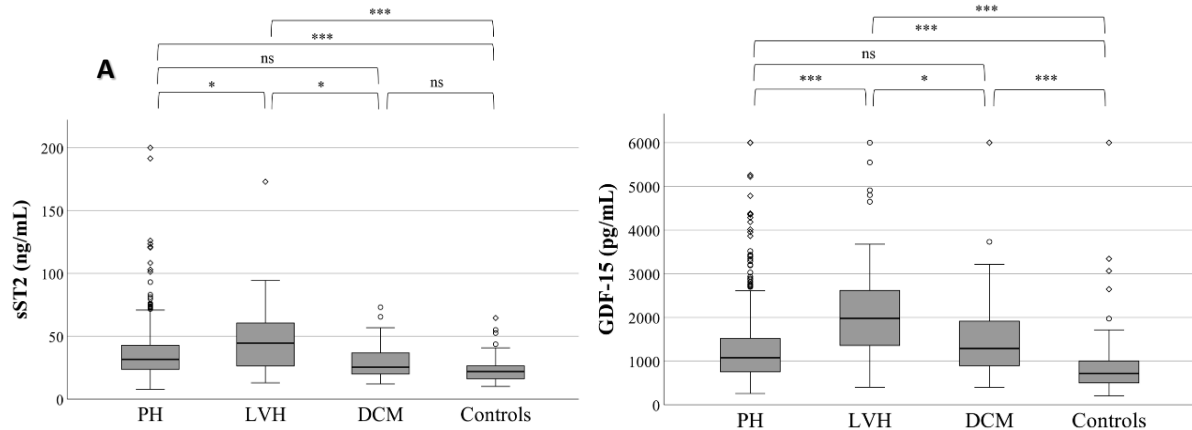
- mPAP  $\geq$  25 mmHg, pulmonary artery wedge pressure (PAWP)  $\leq$  15 mmHg, left ventricular ejection fraction (LVEF)  $\geq$  50 %, and no LVH (end-diastolic interventricular septum thickness (IVSd)  $\leq$  13 mm).

Die Patienten mit LV-Pathologien wurden nach den folgenden Kriterien eingeschlossen:

- Patienten mit LVH bei hochgradiger Aortenstenose (Pmean  $>$  40 mmHg und/oder KÖF  $<$  1;0 cm<sup>2</sup>, IVSd  $\geq$  12 mm, LVPWd  $\geq$  12 mm, LVEF  $>$  55 %);
- Patienten mit DCM (PAPmean  $<$  25 mmHg, LVEDd  $>$  56 mm and LVEF  $<$  40 %).

Hinsichtlich der Basisdaten waren die LVH-Patienten im Vergleich zu den Patienten mit PH und DCM oder Kontrollen ( $p < 0,01$  für alle Vergleiche) signifikant älter und litten häufiger unter Vorhofflimmern, KHK, Z. n. PCI, Z. n. Myokardinfarkt, Diabetes, arterieller Hypertonie und chronischer Niereninsuffizienz. PH-Patienten zeigten signifikant höhere RVEDd und PASP sowie niedrigere TAPSE und TAPSE/PASP als Patienten mit DCM und LVH ( $p < 0,01$  für alle Vergleiche).

sST2- und GDF-15-Serumkonzentrationen waren in der Kontrollgruppe signifikant niedriger als in Patienten mit PH, DCM und LVH (Abbildung 16). Patienten mit LVH hatten signifikant höhere sST2- und GDF-15-Spiegel als diejenigen mit DCM und PH und es gab diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede zwischen PH und DCM (Abbildung 16).

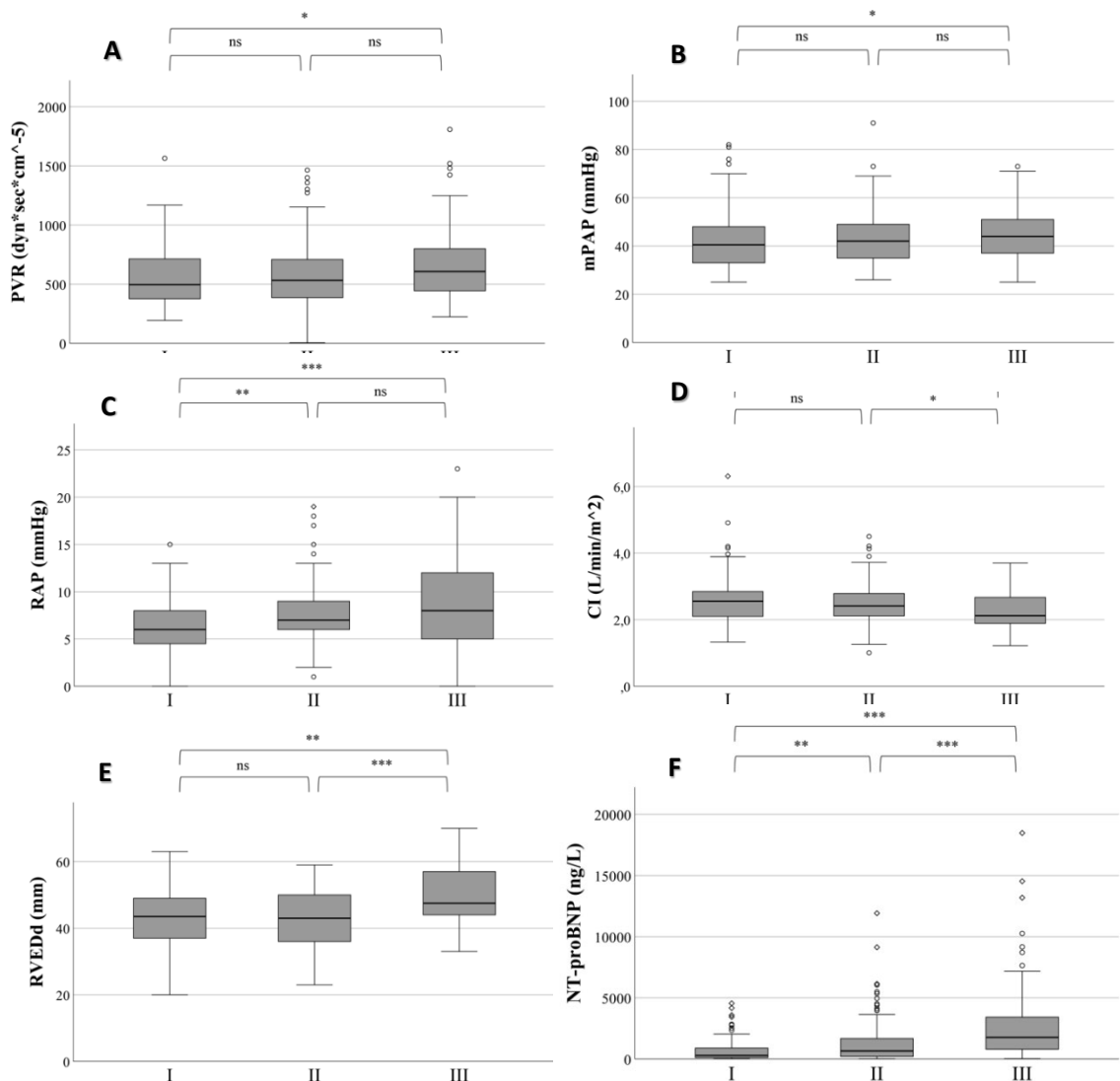


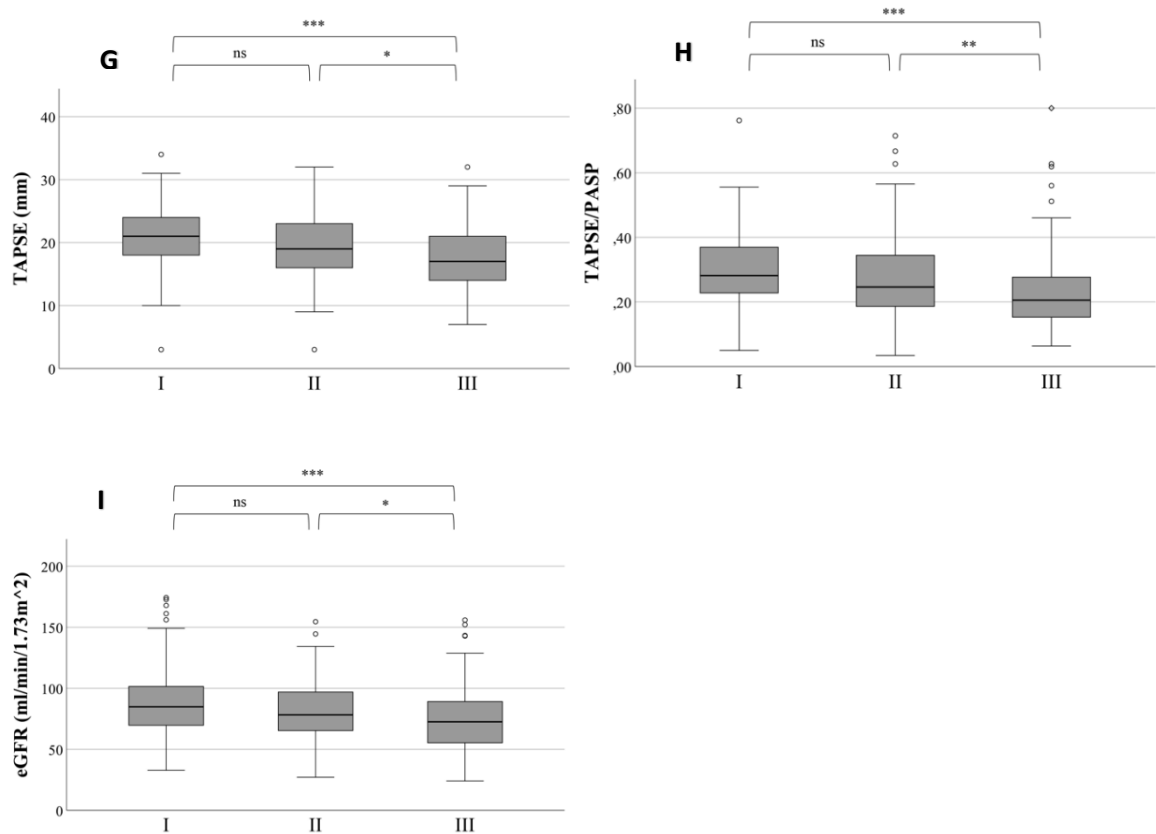
**Abbildung 16:** Darstellung von A) sST2- und B) GDF-15-Serumkonzentrationen in Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen (Controls); Boxen zeigen Median mit Interquartilsabstand. Kreise zeigen Ausreißer, ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

In Patienten mit LVH und DCM zeigten sich keine Korrelationen zwischen sST2-Spiegel und Parametern von RV- und LV-Remodeling.

Die Tertilenanalysen in der PH-Kohorte zeigten niedrigere TAPSE, TAPSE/PASP und CI sowie höhere RVEDd, NT-proBNP, PVR, mPAP und RAP in dem oberen sST2-Tertil (sST2 > 38 ng/mL) als in dem mittleren (sST2 26–38 ng/mL,  $p < 0,05$  für alle Vergleiche) und dem unteren (sST2 < 26 ng/mL,  $p < 0,05$  für alle Vergleiche) Tertil (Abbildung 16 A–H).

Des Weiteren war im oberen Tertil die eGFR schlechter als in den anderen beiden Tertilen. Eine binär-logistische Regressionsanalyse zeigte jedoch, dass sST2 ein eGFR-unabhängiger Prädiktor von TAPSE < 17 mm, CI < 2,2 l/min/m<sup>2</sup> und RAP > 7 mmHg ist.

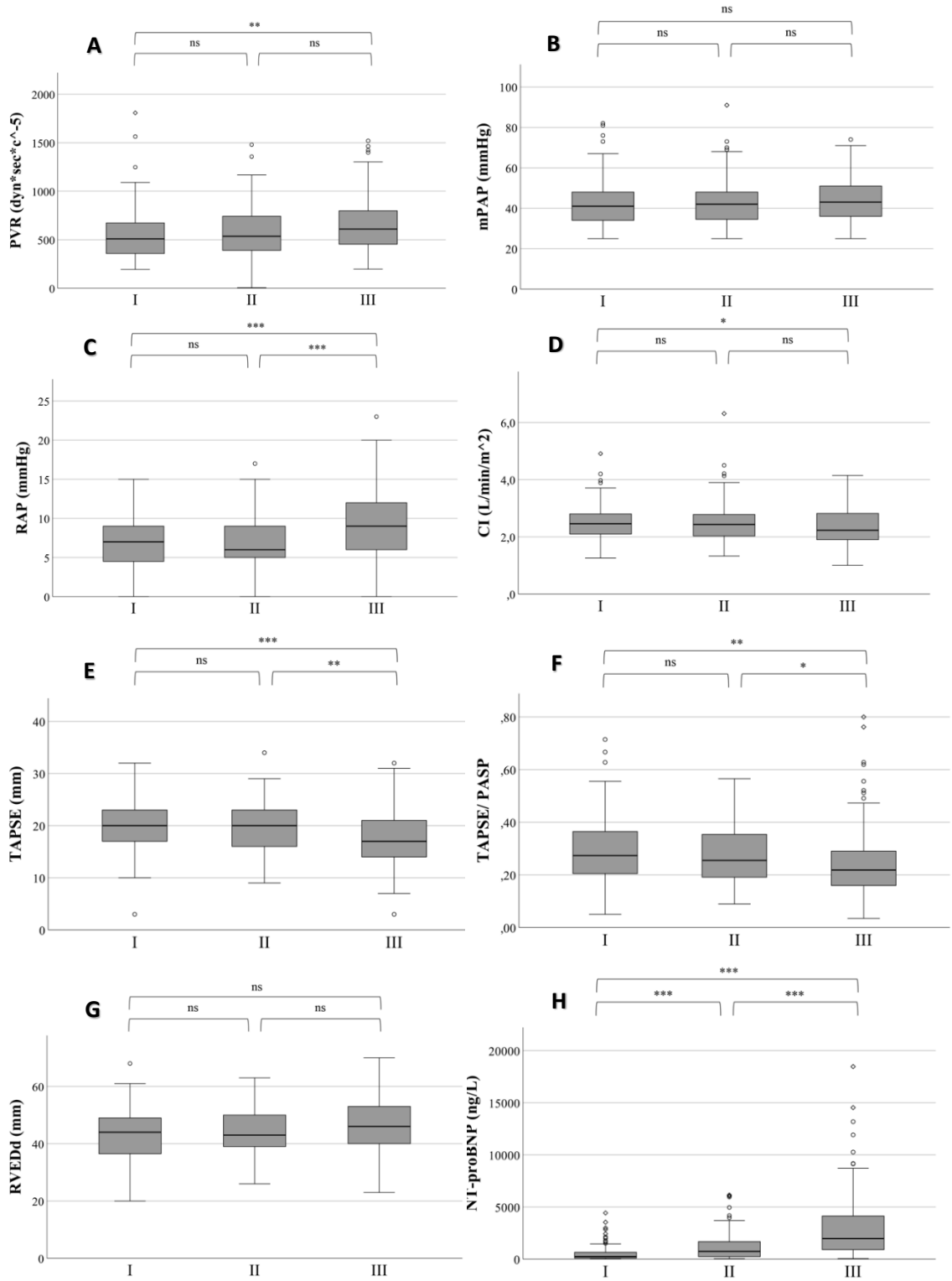


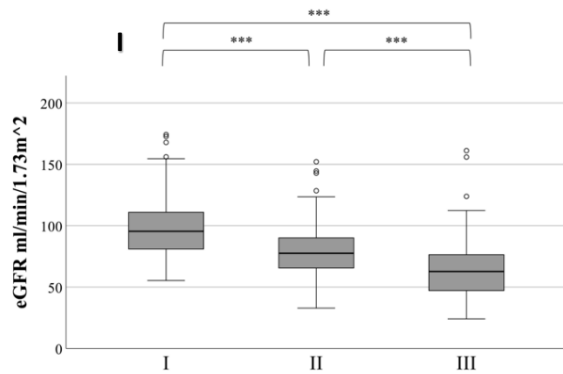


**Abbildung 17:** Darstellung von A) pulmonalem Widerstand (PVR); B) mittlerem pulmonal-arteriellem Druck (mPAP); C) right atrial pressure (RAP); D) cardiac index; E) TAPSE; F) TAPSE/PASP; G) rechtsventrikulärem enddiastolischem Durchmesser (RVEDd); H) NT-proBNP und I) GFR aufgeteilt nach sST2-Tertilen in Patienten mit PH; I: unteres Tertil (sST2 < 26 ng/mL); II: mittleres Tertil (sST2 = 26–38 ng/mL); III: oberes Tertil (sST2 > 38 ng/mL); ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

GDF-15 war in Patienten mit LVH zu eGFR korreliert ( $r = -0,355$ ,  $p = 0,014$ ) und in Patienten mit DCM zu sPAP ( $r = 0,541$ ,  $p = 0,002$ ), eGFR ( $-0,439$ ,  $p = 0,022$ ), und Alter ( $r = 0,364$ ,  $p = 0,044$ ).

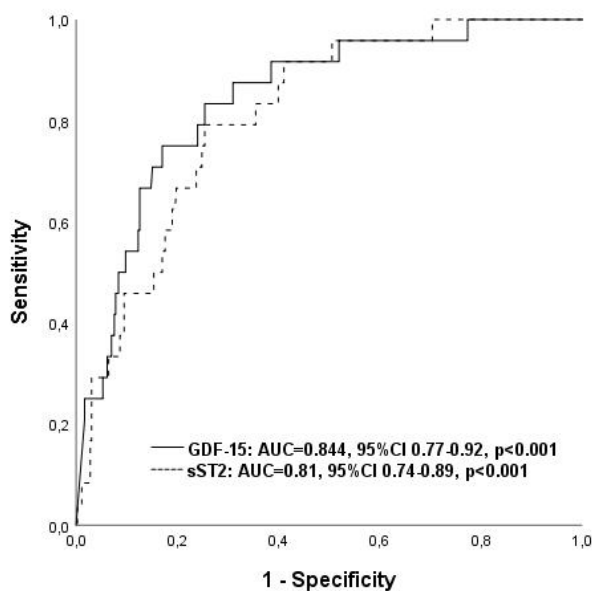
In Bezug auf GDF-15 ergab die Tertilenanalyse (Abbildung 18) niedrigere TAPSE und TAPSE/PASP sowie höhere NT-proBNP und RAP in dem oberen GDF-15-Tertil (GDF-15 > 1363 pg/mL) als in dem mittleren (GDF-15 = 887–1363 pg/mL) und unteren (GDF-15 < 887 pg/mL) Tertil. Im oberen Tertil war PVR höher und CI niedriger als im unteren und es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den GDF-15-Tertilen in Bezug auf mPAP und RVEDd.





**Abbildung 18:** Darstellung von A) pulmonalem Widerstand (PVR); B) mittlerem pulmonal-arteriellem Druck (mPAP); C) right atrial pressure (RAP); D) cardiac index; E) TAPSE; F) TAPSE/PASP; G) rechtsventrikulärem enddiastolischem Durchmesser (RVEDd); H) NT-proBNP und I) GFR aufgeteilt nach GDF-15-Tertilen in Patienten mit PH; I: unteres Tertil (GDF-15 < 887 pg/mL); II: mittleres Tertil (GDF-15 = 887–1363 pg/mL); III: oberes Tertil (GDF-15 > 1363 pg/mL); ns: nicht signifikant. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$

In der ROC-Analyse waren sST2 und GDF-15 gute Prädiktoren ( $AUC_{sST2} = 0,84$ ,  $AUC_{GDF-15} = 0,81$ , Fig. 5) für schwere Rechtsherzinsuffizienz, definiert als PH mit  $TAPSE < 17$  mm,  $CI < 2,2$  L/min/m<sup>2</sup> und  $RAP > 7$  mmHg (Abbildung 19).



**Abbildung 19:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von sST2 und GDF-15 als Prädiktoren für maladaptives rechtsventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

In der Zusammenschau zeigt diese Arbeit, dass hohe sST2- (> 38 ng/mL) und GDF-15- (> 1363 pg/mL) Plasmaspiegeln mit Parametern von maladapтивem RV-Remodeling, RV-PA-Entkopplung und terminaler Rechtsherzinsuffizienz in PH-Patienten mit isoliertem RV-Remodeling assoziiert sind. Sowohl sST2 als auch GDF-15 können jedoch als Biomarker nicht zwischen RV- und LV-Remodeling unterscheiden.

## 4. Diskussion

Die in genannten Studien untersuchten PH-Kohorten beinhalten Patienten, die unter einer chronischen RV-Druckbelastung leiden und keine relevanten LV-Pathologien aufweisen. Dabei wurden sowohl Patienten mit adaptivem RV-Remodeling und gutem funktionellem Status als auch Patienten mit maladaptivem RV-Remodeling und RV-PA-Entkopplung eingeschlossen. Als Kontrollgruppen dienten nicht nur Patienten ohne LV- oder RV-Pathologien, sondern auch Patienten mit adaptivem (LVH) oder maladaptivem (DCM) LV-Remodeling. Dieses Studiendesign erlaubt eine Detektion von RV-spezifischen Biomarkern und deren Assoziation mit maladaptivem RV-Remodeling, was das Hauptziel der hier vorgestellten Arbeit darstellt.

In den drei Studien, die die Rolle von CILP1, SPARCL1, OPN und GAL-3 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling untersuchten, erfolgte primär die Aufteilung der PH-Kohorten in zwei Gruppen: adaptives RV-Remodeling und maladaptives RV-Remodeling. Dafür wurden evidenzbasierte und prognostische Cut-offs von CI als wichtigem hämodynamischem Parameter für die RV-Auswurfleistung und von echokardiographischen Parametern für RV-Dilatation (RVEDd), systolische RVD (TAPSE) und RV-PA-Entkopplung (TAPSE/PASP) implementiert. Die Analyse der echokardiographischen und hämodynamischen Charakteristiken belegt signifikante Unterschiede zwischen der adaptiven und maladaptiven Subgruppe in Bezug auf diese strukturellen und funktionellen RV-Charakteristika sowie eindeutige maladaptive Merkmale der maladaptiven RV-Kohorte in diesen Studien. Die Analyse der kMR-Subgruppe in der OPN/Gal-3-Studie liefert zusätzlich eine verlässliche Validierung dieser Aufteilung durch die Benutzung von als „Goldstandard in der kardialen Bildgebung“ etablierten kernspintomographischen Parametern. Des Weiteren liefert die kMR-Analyse anhand der T1-Messung die Erkenntnis, dass nach dieser Aufteilung identifizierten Patienten mit maladaptivem RV-Remodeling signifikant mehr RV-Fibrose aufweisen.

Zusammenfassend ermöglicht die in den drei Studien durchgeführte Aufteilung der PH-Patienten in Patienten mit adaptivem und maladaptivem RV-Remodeling eine verlässliche Analyse der Rolle von CILP1, SPARCL1, OPN und GAL-3 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling.

In den beiden Studien, die die Rolle von FGF-23, sST2 und GDF-15 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling untersuchten, wird dagegen eine Biomarker-zentrierte Aufteilung anhand einer auf dem entsprechenden Biomarkerkandidat basierten Tertilenanalyse präferiert. Der Vorteil dieser Methode ist die Möglichkeit der Aufteilung der PH-Patienten in drei statt zwei Gruppen. In der aktuellen Literatur gibt es keine einheitliche Definition für maladaptives Remodeling und die genaue Betrachtung des klinischen Verlaufs bei PH-Patienten zeigt, dass

der Verlauf von adaptiv zu maladaptiv fließend ist und Zwischenstadien beinhaltet [20]. Dementsprechend erlaubt die Hinzunahme einer dritten, „mittleren“ Gruppe eine genauere und statistisch gesehen aussagekräftigere Analyse. Bei dieser Aufteilung zeigt der Vergleich zwischen den Tertilen bei allen drei Biomarkern ebenfalls signifikante Unterschiede in den echokardiographischen und hämodynamischen Merkmalen von RV-Struktur und -Funktion. Dabei zeigen Patienten in dem hohen Tertil einen maladaptiven RV-Phänotyp.

Die in allen Studien stets parallel durchgeführte Analyse der NT-proBNP-Werte in den PH-Kohorten erlaubt einen direkten Vergleich zwischen dem prädiktiven Wert des jeweiligen Biomarkerkandidats und des etablierten, von Leitlinien empfohlenen Biomarkers, NT-proBNP.

Aufgrund der Unterschiede zwischen LV und RV in Bezug auf ventrikuläre Fibrose unter chronischer Nachlasterrhöhung [29-31] wurde der Fokus bei der Biomarkersuche auf matrizelluläre Proteine, die in der myokardialen EZM exprimiert werden, gelegt. Matrizelluläre Proteine werden einerseits ins Interstitium sezerniert und sind somit mit einer hohen Wahrscheinlichkeit auch im Blut nachweisbar. Andererseits sind sie als regulatorische EZM-Proteine häufig an fibrotischen Signalwegen beteiligt [25]. Sowohl in PH-Patienten als auch in Patienten mit DCM und LVH wurde eine relevante kardiale Fibrose beschrieben [117-119].

In der ersten Studie über das matrizelluläre CILP1 wurde zunächst im experimentellen Teil die bestehende Evidenz über die Rolle von CILP1 im RV-Remodeling überprüft.

Mehrere Studien haben CILP1 als TGF- $\beta$ -Inhibitor, der am profibrotischer Signaltransduktion beteiligt ist, identifiziert. Diese haben auch eine deutlich erhöhte CILP1-Expression nach Aktivierung der TGF- $\beta$ -Signalkaskade [55, 57, 120] gezeigt. In den hier durchgeführten experimentellen Analysen mit kardialen Fibroblasten wurden diese Ergebnisse bestätigt. Die CILP1-Expression war nach Simulation mit TGF- $\beta$  im Vergleich zu Kontrollen signifikant erhöht. Ferner fanden sich Assoziationen zwischen CILP1 und weiteren, am pathologischen Myokardremodeling beteiligten Molekülen wie Fibronectin 1, Periostin und Kollagen 1A2.

In der experimentellen Studie von Kreymborg et. al. war die CILP1-RNA-Expression nach TAC in Wildtyp-Mäusen um das 5-Fache erhöht, während diese nach PAB um das 26-Fache erhöht war [14]. Das Ausmaß der Konstriktion war dabei in beiden Mausmodellen vergleichbar. Demzufolge entstand die Hypothese, dass CILP1 ein spezifischer Biomarker für RV-Maladaptation sein kann, die danach im klinischen Teil der vorliegenden Studie überprüft wird. Vorher sollte jedoch im PAB-Mausmodell die aus einer einzigen RNA-Expressionsstudie stammende Evidenz über erhöhte CILP1-Expression im RV unter Drucküberlastung validiert werden. Die vorliegende Analyse zeigte in der Tat eine signifikant höhere CILP1-Proteinexpression im

Western-Blot und in der Immunhistochemie, die zudem zur Kollagen- und ANP-Expression gut korrelierte.

Im klinischen Teil waren dann hohe CILP1-Plasmaspiegel mit Parametern von maladapтивem RV-Remodeling und RV-PA-Entkopplung in PH-Patienten assoziiert. CILP1 war zudem ein guter Prädiktor für maladapтивес RV-Remodeling in der ROC-Analyse. Diese Ergebnisse stellen einen wichtigen neuen Aspekt der hier vorgestellten Studie dar.

Die signifikant erhöhten CILP1-Spiegel in DCM- und LVH-Patienten im Vergleich zu Kontrollen decken sich mit den Ergebnissen früherer Arbeiten, die erhöhte CILP1-Expression in Myokardbiopsien aus Patienten mit hochgradiger Aortenstenose oder Z. n. Myokardinfarkt belegen konnten [55].

Die wichtigste Erkenntnis der vorliegenden Studie sind die im Vergleich zu Patienten mit DCM und LVH signifikant höheren CILP1-Plasmakonzentrationen bei PH-Patienten mit maladapтивem Remodeling. Dieses Ergebnis deutet auf eine stärkere CILP1-Expression bei RV-Remodeling im Vergleich zu LV-Remodeling hin und bestätigt somit die Ergebnisse der experimentellen Mausstudie. Demgegenüber gab es in der vorliegenden Studie keine Unterschiede in NT-proBNP-Spiegeln zwischen Patienten mit RV- und LV-Remodeling, obwohl NT-proBNP gut mit einem maladapтивem RV-Remodeling in PH, passend zur aktuellen Evidenzlage [54], assoziiert war. Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Prädiktionskraft von NT-proBNP und CILP1 in Bezug auf maladapтивес RV-Remodeling.

Das Hauptziel der zweiten CILP1-Studie bestand darin, zu überprüfen, ob CILP1 als Plasmabiomarker spezifisch RV-Maladaptation in Patienten, die sowohl RV- als auch LV-Remodeling aufweisen können, identifizieren kann. Hierfür wurden die Assoziationen von CILP1-Plasmaspiegeln und kMR-Parametern in ICM-Patienten untersucht. Sowohl Tertilen- und Korrelationsanalysen als auch ROC-Analysen fanden in der vorliegenden Studie signifikante Assoziation von erhöhten CILP1-Siegeln mit RV-Dysfunktion und -Dilatation. Es zeigten sich jedoch keine Assoziationen zwischen CILP1 und LV-Parametern. In dieser Studie erfolgte ebenfalls ein paralleler Vergleich zu NT-proBNP-Spiegeln, der starke Assoziationen von erhöhtem NT-proBNP mit Parametern des maladapтивен RV- und LV-Remodelings zeigte. Zudem war NT-proBNP ein guter Prädiktor für LV- und RV-Dysfunktion, während CILP1 nur prognostisch eine bedeutsame RV-Dysfunktion (RVEF < 35 %) vorhersagen konnte.

Somit ergänzt diese Analyse die Ergebnisse in der PH-Kohorte aus der vorherigen Studie und zeigt, dass CILP1 im Unterschied zu NT-proBNP bei ICM-Patienten ebenfalls zur spezifischen Detektion von maladapтивem RV-Remodeling eingesetzt werden könnte.

Eine mögliche Erklärung für die differenzielle CILP1-Expression im RV könnten die Unterschiede zwischen RV- und LV-Fibrose unter pathologischem Remodeling sein. Eine stärkere CILP1-Expression im RV würde zu einer stärkeren Inhibition von TGF- $\beta$  und somit weniger Fibrose im RV führen.

In der vorliegenden Studie über das matrizelluläre Protein SPARCL1 konnte gezeigt werden, dass SPARCL-1 bei PH mit adaptivem und maladaptivem RV-Remodeling sowie bei DCM mit maladaptivem LV-Remodeling im Plasma erhöht ist und somit als kardialer Biomarker fungieren könnte. Darüber hinaus waren hohe SPARCL-1-Spiegel mit RVD, RV-Dilatation und RV-PA-Entkopplung assoziiert und SPARCL-1 war ein guter Prädiktor für maladaptives RV-Remodeling. Diese Ergebnisse bestätigen die aus der tierexperimentellen Forschung bekannte Assoziation von maladaptivem RV-Remodeling mit signifikant erhöhter SPARCL1-Expression [65]. Darüber hinaus zeigten erhöhte SPARCL1-Spiegel ähnlich wie CILP1 im Vergleich zu maladaptivem LV-Remodeling in DCM eine stärkere Assoziation mit maladaptivem RV-Remodeling in PH. Dementsprechend könnte SPARCL1 durch den Einsatz von RV-spezifischen Cut-offs als spezifischer Biomarker für RV-Remodeling ebenfalls eine Rolle bei der Diagnostik von kardialen Erkrankungen spielen. Da es sich hierbei um eine Pilotstudie mit kleinen Patientenzahlen handelt, sind weitere größere Untersuchungen notwendig, um diese Ergebnisse zu validieren.

FGF-23 wurde ähnlich wie CILP1 und SPARCL1 in zahlreichen experimentellen Studien als profibrotischer Signaltransduktor, der an pathologischen Calcineurin-NFAT- und TGF- $\beta$ -Signalwegen beteiligt ist, untersucht [84-86]. In klinischen Studien konnten auch signifikante Assoziationen von erhöhten FGF-23-Spiegeln mit LV-Parametern und Mortalität in Patienten mit LV-Remodeling nachgewiesen werden [88-90]. Passend dazu waren in der vorliegenden Arbeit FGF-23-Spiegel in DCM- und LVH-Patienten mit LV-Remodeling signifikant erhöht. Patienten mit DCM zeigten signifikante Korrelationen zwischen FGF-23-Spiegeln und Parametern des LV-Remodelings. In der LVH-Gruppe gab es jedoch keine solchen Korrelationen. Im Gegensatz dazu waren in früheren Studien hohe FGF-23-Spiegel bei LVH-Patienten mit höherer LV-Masse, Vergrößerung des linken Atriums (LA) und niedrigerer LVEF assoziiert [91-94]. Aufgrund der geringen Evidenz war die Rolle von FGF-23 als Biomarker für RV-Remodeling unklar. Die bestehende Evidenz stammt von kleinen Patientenkohorten und beruht lediglich auf Korrelationsanalysen. Bei Patienten mit PAH (n = 48) zeigte FGF-23 gute Korrelationen zu mPAP, CI, PVR, NT-proBNP und dem REVEAL-Risiko-Score [121]. In einer größeren Studie von 143 HFpEF-Patienten war FGF-23 signifikant mit TAPSE, RV FAC (fractional area change), LA Volumenindex (LAVI), RVEDVI, RVEF und extrazellulärem Volumen (ECV)

als Parameter von Myokardfibrose korreliert. Die RV-Parameter bei HFpEF korrelieren jedoch mit dem Grad der diastolischen Dysfunktion und die LV-Fibrose stellt einen wichtigen Faktor dar, der zur diastolischen Dysfunktion beiträgt. Dementsprechend könnten die Korrelationen von FGF-23 zu RV-Parametern indirekt durch den Grad der diastolischen Dysfunktion und Fibrose im LV bedingt sein.

In der vorliegenden, in einer großen PH-Kohorte mit isoliertem RV-Remodeling durchgeführten Analyse wurde FGF-23 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling identifiziert. Es zeigten sich signifikante Assoziationen von hohen FGF-23-Plasmaspiegeln ( $> 117$  RU/mL) mit RVD, RV-Dilatation, niedrigem CI und RV-PA-Entkopplung sowie mit hohen mPAP und PVR. FGF-23 zeigte auch einen guten prädiktiven Wert für maladaptiven RV definiert als TAPSE  $< 17$  und CI  $< 2,5$  L/min/m<sup>2</sup>. Die fehlenden signifikanten Unterschiede zwischen FGF-23-Konzentrationen in Patienten mit PH, LVH und DCM deuten jedoch darauf hin, dass FGF-23 keinen RV-spezifischer Remodeling-Biomarker darstellt.

Ein wichtiger Aspekt der FGF-23-Analyse war die Adjustierung nach Nierenfunktion, da FGF-23 auch im Rahmen einer Niereninsuffizienz erhöht sein kann. In der Regressionsanalyse zeigte sich FGF-23 als eGFR-unabhängiger Prädiktor für RVD, RV-Dilatation, niedrigen CI und hohen RAP. Diese Ergebnisse decken sich mit denen früherer Arbeiten, die belegen konnten, dass erhöhte FGF-23-Spiegel auch bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eine unabhängige Assoziation zu PH, LVH und chronischer Herzinsuffizienz zeigen [84, 122-124]. Im Unterschied zu CILP1, SPARCL1 und FGF-23 wurde die Rolle von OPN, Gal-3, sST-2 und GDF-15 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling in PH bereits in mehreren Arbeiten untersucht. Bei den meisten Studien wurden jedoch relativ kleine PH-Kohorten analysiert, was die Aussagekraft einschränkt. Dementsprechend war das Ziel der vorliegenden Studien einerseits, die Ergebnisse früherer Arbeiten in einer größeren PH-Kohorte zu validieren. Darüber hinaus soll der direkte Vergleich von Biomarkerspiegeln in Patienten mit PH, DCM und LVH Expressionsunterschiede zwischen LV- und RV-Remodeling detektieren.

In Patienten mit LV-Remodeling bei DCM und LVH waren OPN-Plasmakonzentrationen signifikant erhöht, es zeigten sich jedoch keine Korrelationen zu echokardiographischen Parametern von LV-Remodeling. Diese Ergebnisse decken sich mit denen früherer Arbeiten.

Rosenberg et al. fanden, dass OPN-Spiegel bei Patienten mit chronischer Linksherzinsuffizienz im Rahmen einer DCM oder ICM signifikant erhöht waren und einen unabhängigen Prädiktor für Mortalität und schweren Verlauf darstellten [66]. In einer weiteren Studie hatten Patienten mit arterieller Hypertonie, die echokardiographisch eine LVH und diastolische Dysfunktion aufwiesen, ebenfalls höhere OPN-Plasmaspiegel [71]. Schließlich waren erhöhte OPN-

Konzentrationen mit hochgradiger Aortenklappenstenose und höherer Mortalität nach trans-femoralem Aortenklappenersatz (TAVI) assoziiert [72]. Diese Arbeiten zeigen jedoch ebenfalls keine Korrelationen von OPN-Konzentrationen zu funktionellen und strukturellen echokardiographischen Parametern in LV-Pathologien.

PH-Patienten hatten ebenfalls signifikant erhöhte OPN-Konzentrationen. Darüber hinaus zeigten PH-Patienten mit maladaptivem RV im Vergleich zu PH-Patienten mit adaptivem RV sowie Patienten mit DCM und LVH signifikant höhere OPN-Spiegel. Diese Ergebnisse bestätigen einerseits die Ergebnisse früherer Studien. In einer Arbeit von Lorenzen et al. war OPN in IPAHA höher als in gesunden Probanden. Überdies war OPN ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität und zeigte eine gute Korrelation zu NYHA-Klasse und NT-proBNP-Konzentrationen in derselben Kohorte [73]. In einer anderen Studie mit IPAHA- und CTEPH-Patienten war hohes OPN mit fortgeschrittener Rechtsherzinsuffizienz und höherer Mortalität assoziiert [75]. In einer gemischten Kohorte von PH-Patienten fand sich eine Assoziation zwischen hohen OPN-Konzentrationen und echokardiographischen Parametern von RV-Dilatation und -Dysfunktion [74].

Andererseits liefert die hier vorgestellte Arbeit mit dem Vergleich zwischen OPN und NT-proBNP sowie zwischen LV- und RV-Remodeling in Bezug auf OPN neue wichtige Erkenntnisse. NT-proBNP scheint ein besserer Prädiktor für RV-Maladaptation in PH als OPN zu sein. Es kann jedoch nicht zwischen LV- und RV-Maladaptation unterscheiden. Des Weiteren fand die hier vorgestellte Analyse keine Korrelation zwischen OPN und MRT-Parametern der RV-Fibrose, obwohl OPN an profibrotischen Signalwegen beteiligt ist [67, 68]. Demgegenüber waren OPN-Spiegel höher in Patienten mit PH und RV-Maladaptation im Vergleich zu den Patienten mit DCM und LVH. Eine mögliche Erklärung dafür ist die erhöhte OPN-Produktion in der Lunge bei Patienten mit PH, die laut einer Arbeit von Mura et al. mit der Krankheitsschwere korreliert [125].

Die erhöhten Gal-3-Spiegel in Patienten mit LV- oder RV-Remodeling in der vorliegenden Analyse sind konsistent mit früheren Arbeiten, in denen Gal-3 ebenfalls signifikant höher in Patienten mit DCM, hochgradiger Aortenklappenstenose und hypertensiver Herzkrankheit als in Kontrollen war [76, 77]. Interessanterweise zeigte in der vorliegenden Arbeit der Vergleich zwischen PH-Patienten mit adaptivem RV und Kontrollen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Gal-3-Spiegel.

Erhöhte Gal-3-Spiegel waren mit höherer Mortalität bei Patienten mit Linksherzinsuffizienz assoziiert [78]. In Patienten mit PH war Gal-3 ebenfalls ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität [79]. Bereits publizierte Studien liefern jedoch widersprüchliche Evidenz über die Assoziation von Gal-3 mit Parametern von kardialer Funktion und Struktur. Gal-3 zeigte keine

Korrelation zu MRT-Parametern von pathologischem LV-Remodeling in Patienten mit Z. n. akutem Myokardinfarkt [126]. Demgegenüber waren erhöhte Gal-3-Spiegel mit MRT-Parametern für RV-Remodeling in PAH assoziiert [80]. In der hier vorgestellten Arbeit fanden sich keine Korrelationen von Gal-3 mit Parametern von LV- und RV-Remodeling. Des Weiteren gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den PH-Kohorten mit adaptivem und maladaptivem RV sowie zwischen PH-Patienten mit maladaptivem RV und Patienten mit DCM oder LVH.

Dementsprechend scheint Gal-3 kein geeigneter Biomarker für maladaptives RV-Remodeling zu sein. Eine mögliche Erklärung für die erhöhten Gal-3-Spiegel bei maladaptivem kardialen Remodeling und deren Assoziation mit höherer Mortalität sind extrakardiale Ursachen, wie z. B. eine systemische Inflammation, die mit der Verschlechterung der kardialen Leistung zusammenhängen. Gal-3 wird von aktivierten Makrophagen sezerniert und ist eng mit inflammatorischen Reaktionen assoziiert [69, 70].

Zahlreiche Studien belegen eine signifikante Erhöhung und prognostische Bedeutung von GDF-15 und sST-2 nicht nur beim LV- und RV-Remodeling, sondern auch im Rahmen von kardiovaskulären Erkrankungen [102-107, 110-112]. In der hier vorgestellten Arbeit waren GDF-15- und sST-2-Spiegel in PH, DCM und LVH ebenfalls signifikant erhöht.

In LVH-Patienten zeigten sich höhere GDF-15- und sST2-Spiegel als in Patienten mit PH oder DCM. Das lässt sich am ehesten auf das höhere Alter sowie auf die höhere Rate an kardiovaskulären Risikofaktoren und Erkrankungen in der LVH-Gruppe zurückführen. Frühere Arbeiten zeigten ebenfalls eine Assoziation von sST2 und GDF-15 mit Alter, kardiovaskulären Risikofaktoren und Inflammation [127-129]. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen DCM und PH in Bezug auf sST2- und GDF-15-Spiegel, jedoch aber in Bezug auf Alter und kardiovaskuläre Begleiterkrankungen. Demzufolge können sST2 und GDF-15 in der vorliegenden Analyse als Biomarker nicht zwischen RV- und LV-Remodeling differenzieren.

In der Tertilenanalyse der PH-Kohorte waren hohe sST2- ( $> 38$  ng/mL) und GDF-15- ( $> 1363$  pg/mL) Spiegel mit RV-Dysfunktion, hämodynamischer Verschlechterung und RV-PA-Entkopplung sowie erhöhten pulmonalen Widerständen und NT-proBNP-Werten assoziiert. sST2 war zusätzlich auch mit RV-Dilatation und erhöhten pulmonalen Drücken assoziiert. Beide Parameter waren ebenfalls gute Prädiktoren für schwere rechtsventrikuläre Herzinsuffizienz in der ROC-Analyse.

Diese Ergebnisse sind konsistent zu bereits publizierten Daten über die Rolle von sST2 und GDF-15 als Biomarker in PH. In drei Studien mit PH-Patienten waren erhöhte sST2-Spiegel mit RV-Dysfunktion und schlechten Outcomes verbunden [113, 115, 130]. In früheren Arbeiten

war GDF-15 ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität in IPAH [131] und in einer gemischten PH-Kohorte [116]. Im Gegensatz zu der hier vorgestellten Analyse zeigten sich jedoch in diesen Kohorten keine Assoziationen zu echokardiographischen oder RHK-Parametern [116].

Bei diesen sST2- und GDF-15-Studien handelt es sich jedoch um relativ kleine Kohorten von maximal 120 Patienten. In der hier untersuchten deutlich größeren Kohorte von 628 Patienten konnte eine signifikante Assoziation beider Biomarker mit maladapтивem RV-Remodeling bestätigt werden.

## 5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde die Rolle von CILP1, SPARCL1, OPN, Gal-3, FGF-23, sST-2 und GDF-15 als Biomarker für maladaptives RV-Remodeling untersucht.

Die Plasmakonzentrationen der Biomarkerkandidaten wurden in Patienten mit PH, LVH und DCM sowie in herzgesunden Probanden bestimmt. CILP1 wurde zusätzlich in einem experimentellen Mausmodell mit PAB sowie in ICM-Patienten untersucht. Das Hauptziel der Arbeit war, mittels echokardiographischer, hämodynamischer und kernspintomographischer Parameter den prädiktiven Wert der Biomarkerkandidaten für typische Merkmale des maladaptiven RV-Remodelings wie systolische RV-Dysfunktion, RV-Dilatation, RV-Fibrose und RV-PA-Entkopplung zu analysieren. Darüber hinaus wurden Unterschiede zwischen Biomarkerspiegeln in Patienten mit RV- und LV-Remodeling untersucht, um eine mögliche Spezifität für RV-Maladaptation zu detektieren.

In der vorliegenden experimentellen Arbeit (*Publikation 1*) konnte nachgewiesen werden, dass RV-Druckbelastung im Mausmodell zu einer signifikanten Hochregulation der CILP1-Expression im RV führt. Des Weiteren konnte in der humanen CFB-Kultur die Assoziation von CILP1-Expression mit dem profibrotischen TGF- $\beta$ 1-Signalweg sowie mit anderen am maladaptiven RV-Remodeling beteiligten Signaltransduktoren wie Fibronectin 1, Periostin und Kollagen 1A2 belegt werden. Somit wurde CILP1 als potenzieller Biomarker für RV-Remodeling identifiziert.

Im klinischen Teil wurden dann zum ersten Mal CILP1-Plasmakonzentrationen in Patienten mit RV- und LV-Remodeling gemessen. Die Analyse ergab eine Assoziation von hohen CILP1-Spiegeln mit RV-Dysfunktion und Dilatation sowie mit RV-PA-Entkopplung und erhöhtem NT-proBNP. Darüber hinaus war CILP1 ein guter Prädiktor für maladaptives RV-Remodeling. Ein weiteres wichtiges Ergebnis dieser Studie waren die im Vergleich zu Patienten mit DCM und LVH signifikant höheren CILP1-Spiegel in PH-Patienten. Diese Unterschiede waren bei NT-proBNP nicht zu beobachten und deuten auf eine differenzielle CILP1-Expression, was den Einsatz von CILP1 als Biomarker zur spezifischen Detektion von RV-Maladaptation ermöglichen könnte.

Zur weiteren Erforschung dieser Hypothese wurden CILP1-Plasmakonzentrationen in einer kMR-Kohorte bestehend aus ICM-Patienten mit LV- und RV-Remodeling analysiert (*Publikation 2*). Anhand der kMR-Parameter konnten hier die Assoziationen von hohem CILP1 mit RV-Dysfunktion und -Dilatation, die in der ersten CILP1-Studie mittels Echokardiographie ermittelt wurden, validiert werden. Noch bedeutender war jedoch das Ergebnis, dass CILP1 in ICM

lediglich mit RV-Parametern und nicht mit LV-Parametern für Dilatation und systolische Funktion assoziiert war. Zusätzlich war CILP1 ein guter Prädiktor für eine prognostisch bedeutsame niedrige RVEF, jedoch nicht für eine niedrige LVEF. Demgegenüber zeigte NT-proBNP ähnliche signifikante Assoziationen sowohl mit RV- als auch mit LV-Parametern. Dadurch wurde die Hypothese der differentiellen CILP1-Expression bei RV-Remodeling im Vergleich zu LV-Remodeling ebenfalls bestätigt. Weitere Studien sollen zeigen, ob der Einsatz von RV-spezifischen CILP1-Cut-offs sich als nützliches Tool bei der Diagnostik des maladaptiven RV-Remodelings erweisen würde.

In der vorliegenden klinischen Pilotstudie über SPARCL-1 in Patienten mit myokardialen Erkrankungen (*Publikation 3*) konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass SPARCL1-Plasmakonzentrationen in Patienten mit RV-Remodeling bei PH und maladaptivem LV-Remodeling bei DCM signifikant erhöht waren.

Dabei war SPARCL-1 ein guter Prädiktor für maladaptives RV-Remodeling in PH, der signifikant mit RV-Dilatation und Dysfunktion sowie mit RV-PA-Entkopplung assoziiert war.

Interessanterweise waren SPARCL-1-Spiegel bei maladaptivem RV-Remodeling höher als bei maladaptivem LV-Remodeling. Dementsprechend sollen weitere größere Studien zeigen, ob SPARCL1 eine Rolle als selektiver Biomarker für maladaptives RV-Remodeling spielen könnte.

In der vorliegenden Studie über OPN und Gal-3 (*Publikation 4*) war OPN in DCM und LVH zwar erhöht, jedoch nicht mit Parametern von LV-Remodeling assoziiert. In PH waren hohe OPN-Spiegel mit RV-Dilatation und -Dysfunktion sowie mit RV-PA-Entkopplung assoziiert und zeigten eine gute prädiktive Kraft für RV-Maladaptation, diese erreicht jedoch nicht diejenige von NT-proBNP. Darüber hinaus war OPN nicht zu RV-Fibrose korreliert. Die Analyse liefert auch Hinweise für höhere OPN-Spiegel bei maladaptivem RV-Remodeling im Vergleich zu adaptivem oder maladaptivem LV-Remodeling. Gal-3 war kein guter Biomarkerkandidat für myokardiales Remodeling bei fehlender Korrelation mit Parametern von RV- und LV-Remodeling.

In der Analyse über FGF-23 (*Publikation 5*) waren hohe FGF-23-Plasmaspiegel ( $> 117$  RU/mL) in Patienten mit PH und isoliertem RV-Remodeling mit RVD, RV-Dilatation, niedrigem CI und RV-PA-Entkopplung sowie mit hohem Pulmonaldruck und -widerstand assoziiert. Diese Assoziationen waren unabhängig von der Nierenfunktion der PH-Patienten. Es gab jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen FGF-23-Konzentrationen in Patienten mit PH, LVH und DCM. Demzufolge konnte die vorliegende Arbeit FGF-23 zwar als

Biomarker vom maladaptivem RV-Remodeling identifizieren, dieser besitzt jedoch keine RV-Spezifität.

Schließlich waren hohe sST2- (> 38 ng/mL) und GDF-15- (> 1363 pg/mL) Plasmaspiegel (*Publikation 6*) mit RV-Dysfunktion, hämodynamischer Verschlechterung und RV-PA-Entkopplung sowie erhöhten pulmonalen Widerständen und NT-proBNP-Werten assoziiert. Hohes sST2 zeigte zusätzlich auch mit RV-Dilatation und erhöhten pulmonalen Drücken eine signifikante Assoziation. Beide Parameter waren ebenfalls gute Prädiktoren für schwere Herzinsuffizienz in der ROC-Analyse. sST2 und GDF-15 konnten jedoch als Biomarker nicht zwischen LV- und RV-Remodeling unterscheiden. Dementsprechend könnten sie keinen Einsatz als RV-spezifische Biomarker finden.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Habilitationsarbeit, dass CILP1, SPARCL1, OPN, FGF-23, sST-2 und GDF-15 eine signifikante Assoziation mit Parametern von maladaptivem RV-Remodeling zeigen und somit als Biomarker fungieren könnten. Demgegenüber zeigen jedoch lediglich die drei Biomoleküle CILP1, SPARCL1 und OPN Hinweise für eine differenzielle Expression bei maladaptivem RV-Remodeling. Weitere Studien sollen zeigen, ob RV-spezifische Cut-offs den gezielten Einsatz dieser Biomarker zur selektiven Detektion von maladaptivem Remodeling ermöglichen könnten.

## 6. Referenzen

1. [Anonym]. Todesursachenstatistik 2020, Statistisches Bundesamt (Destatis).
2. Purmah Y, Lei LY, Dykstra S, Mikami Y, Cornhill A, Satriano A, Flewitt J, Rivest S, Sandonato R, Seib M, Lydell CP, Howarth AG, Heydari B, Merchant N, Bristow M, Fine N, Gaztanaga J, White JA. Right Ventricular Ejection Fraction for the Prediction of Major Adverse Cardiovascular and Heart Failure-Related Events: A Cardiac MRI Based Study of 7131 Patients With Known or Suspected Cardiovascular Disease. *Circulation Cardiovascular imaging* 2021; 14: e011337.  
doi: 10.1161/CIRCIMAGING.120.011337
3. Kylhammar D, Kjellstrom B, Hjalmarsson C, Jansson K, Nisell M, Soderberg S, Wikstrom G, Radegran G, SveFph, Spahr. A comprehensive risk stratification at early follow-up determines prognosis in pulmonary arterial hypertension. *European Heart Journal* 2017. doi: 10.1093/eurheartj/ehx257. doi: 10.1093/eurheartj/ehx257
4. Li Y, Liang L, Guo D, Yang Y, Gong J, Zhang X, Zhang D, Jiang Z, Lu X. Right Ventricular Function Predicts Adverse Clinical Outcomes in Patients With Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension: A Three-Dimensional Echocardiographic Study. *Frontiers in Medicine* 2021; 8: 697396. doi: 10.3389/fmed.2021.697396
5. Gulati A, Ismail TF, Jabbour A, Alpendurada F, Guha K, Ismail NA, Raza S, Khwaja J, Brown TD, Morarji K, Liodakis E, Roughton M, Wage R, Pakrashi TC, Sharma R, Carpenter JP, Cook SA, Cowie MR, Assomull RG, Pennell DJ, Prasad SK. The prevalence and prognostic significance of right ventricular systolic dysfunction in nonischemic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2013; 128: 1623–1633.  
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002518
6. Sabe MA, Sabe SA, Kusunose K, Flamm SD, Griffin BP, Kwon DH. Predictors and Prognostic Significance of Right Ventricular Ejection Fraction in Patients With Ischemic Cardiomyopathy. *Circulation* 2016; 134: 656–665.  
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022339
7. Zornoff LA, Skali H, Pfeffer MA, St John Sutton M, Rouleau JL, Lamas GA, Plappert T, Rouleau JR, Moye LA, Lewis SJ, Braunwald E, Solomon SD, Investigators S. Right ventricular dysfunction and risk of heart failure and mortality after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2002; 39: 1450–1455.  
doi: 10.1016/s0735-1097(02)01804-1

8. van der Maas N, Braam RL, van der Zaag-Loonen HJ, Meerman J, Cozijnsen L, Scholte AJ. Right ventricular ejection fraction measured by multigated planar equilibrium radionuclide ventriculography is an independent prognostic factor in patients with ischemic heart disease. *Journal of Nuclear Cardiology* 2012; 19: 1162–1169. doi: 10.1007/s12350-012-9613-y
9. Larose E, Ganz P, Reynolds HG, Dorbala S, Di Carli MF, Brown KA, Kwong RY. Right ventricular dysfunction assessed by cardiovascular magnetic resonance imaging predicts poor prognosis late after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 49: 855–862. doi: 10.1016/j.jacc.2006.10.056
10. Ghio S, Gavazzi A, Campana C, Inserra C, Klersy C, Sebastiani R, Arbustini E, Recusani F, Tavazzi L. Independent and additive prognostic value of right ventricular systolic function and pulmonary artery pressure in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2001; 37: 183–188. doi: 10.1016/s0735-1097(00)01102-5
11. Gorter TM, van Veldhuisen DJ, Bauersachs J, Borlaug BA, Celutkiene J, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Guazzi M, Harjola VP, Heymans S, Hill L, Lainscak M, Lam CSP, Lund LH, Lyon AR, Mebazaa A, Mueller C, Paulus WJ, Pieske B, Piepoli MF, Ruschitzka F, Rutten FH, Seferovic PM, Solomon SD, Shah SJ, Triposkiadis F, Wachter R, Tschope C, de Boer RA. Right heart dysfunction and failure in heart failure with preserved ejection fraction: mechanisms and management. Position statement on behalf of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *European Journal of Heart Failure* 2018; 20: 16–37. doi: 10.1002/ejhf.1029
12. Zaffran S, Kelly RG, Meilhac SM, Buckingham ME, Brown NA. Right ventricular myocardium derives from the anterior heart field. *Circulation Research* 2004; 95: 261–268. doi: 10.1161/01.RES.0000136815.73623.BE
13. Haddad F, Hunt SA, Rosenthal DN, Murphy DJ. Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: Anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle. *Circulation* 2008; 117: 1436–1448. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.653576
14. Kreymborg K, Uchida S, Gellert P, Schneider A, Boettger T, Voswinckel R, Wietelmann A, Szibor M, Weissmann N, Ghofrani AH, Schermuly R, Schranz D, Seeger W, Braun T. Identification of right heart-enriched genes in a murine model of

- chronic outflow tract obstruction. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2010; 49: 598–605. doi: 10.1016/j.yjmcc.2010.07.014
15. Gorr MW, Sriram K, Chinn AM, Muthusamy A, Insel PA. Transcriptomic profiles reveal differences between the right and left ventricle in normoxia and hypoxia. *Physiological Reports* 2020; 8: e14344. doi: 10.14814/phy2.14344
  16. Humbert M, Kovacs G, Hoeper MM, Badagliacca R, Berger RMF, Brida M, Carlsen J, Coats AJS, Escribano-Subias P, Ferrari P, Ferreira DS, Ghofrani HA, Giannakoulas G, Kiely DG, Mayer E, Meszaros G, Nagavci B, Olsson KM, Pepke-Zaba J, Quint JK, Radegran G, Simonneau G, Sitbon O, Tonia T, Toshner M, Vachiery JL, Vonk Noordegraaf A, Delcroix M, Rosenkranz S, Group EESD. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal* 2022. doi: 10.1183/13993003.00879-2022. doi: 10.1183/13993003.00879-2022
  17. Frangogiannis NG. Fibroblasts and the extracellular matrix in right ventricular disease. *Cardiovascular Research* 2017; 113: 1453–1464. doi: 10.1093/cvr/cvx146
  18. Noordegraaf AV, Westerhof BE, Westerhof N. The Relationship Between the Right Ventricle and its Load in Pulmonary Hypertension. *Journal of the American College of Cardiology* 2017; 69: 236–243.
  19. Zelt JGE, Chaudhary KR, Cadete VJ, Mielniczuk LM, Stewart DJ. Medical Therapy for Heart Failure Associated With Pulmonary Hypertension. *Circulation Research* 2019; 124: 1551–1567. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313650
  20. Vonk Noordegraaf A, Chin KM, Haddad F, Hassoun PM, Hemnes AR, Hopkins SR, Kawut SM, Langleben D, Lumens J, Naeije R. Pathophysiology of the right ventricle and of the pulmonary circulation in pulmonary hypertension: an update. *European Respiratory Journal* 2019; 53. doi: 10.1183/13993003.01900-2018
  21. Potus F, Ruffenach G, Dahou A, Thebault C, Breuils-Bonnet S, Tremblay E, Nadeau V, Paradis R, Graydon C, Wong R, Johnson I, Paulin R, Lajoie AC, Perron J, Charbonneau E, Joubert P, Pibarot P, Michelakis ED, Provencher S, Bonnet S. Downregulation of MicroRNA-126 Contributes to the Failing Right Ventricle in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation* 2015; 132: 932–943. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016382
  22. Bogaard HJ, Natarajan R, Henderson SC, Long CS, Kraskauskas D, Smithson L, Ockaili R, McCord JM, Voelkel NF. Chronic pulmonary artery pressure elevation is

- insufficient to explain right heart failure. *Circulation* 2009; 120: 1951–1960.  
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.883843
23. Ciarka A, Doan V, Velez-Roa S, Naeije R, van de Borne P. Prognostic significance of sympathetic nervous system activation in pulmonary arterial hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2010; 181: 1269–1275.  
doi: 10.1164/rccm.200912-1856OC
  24. Goldsmith SR. Interactions between the sympathetic nervous system and the RAAS in heart failure. *Current Heart Failure Reports* 2004; 1: 45–50. doi: 10.1007/s11897-004-0024-5
  25. Bornstein P. Matricellular proteins: an overview. *Journal of Cell Communication and Signaling* 2009; 3: 163–165. doi: 10.1007/s12079-009-0069-z
  26. Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. *Physiological Reviews* 2012; 92: 635–688. doi: 10.1152/physrev.00008.2011
  27. Andersen S, Nielsen-Kudsk JE, Vonk Noordegraaf A, de Man FS. Right Ventricular Fibrosis. *Circulation* 2019; 139: 269–285.  
doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035326
  28. Gyongyosi M, Winkler J, Ramos I, Do QT, Firat H, McDonald K, Gonzalez A, Thum T, Diez J, Jaisser F, Pizard A, Zannad F. Myocardial fibrosis: biomedical research from bench to bedside. *European Journal of Heart Failure* 2017; 19: 177–191.  
doi: 10.1002/ejhf.696
  29. Oken DE, Boucek RJ. Quantitation of collagen in human myocardium. *Circulation Research* 1957; 5: 357–361. doi: 10.1161/01.res.5.4.357
  30. Rain S, Handoko ML, Trip P, Gan CT, Westerhof N, Stienen GJ, Paulus WJ, Ottenheijm CA, Marcus JT, Dorfmueller P, Guignabert C, Humbert M, Macdonald P, Dos Remedios C, Postmus PE, Saripalli C, Hidalgo CG, Granzier HL, Vonk-Noordegraaf A, van der Velden J, de Man FS. Right ventricular diastolic impairment in patients with pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2013; 128: 2016–2025, 2011–2010. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001873
  31. Puls M, Beuthner BE, Topci R, Vogelgesang A, Bleckmann A, Sitte M, Lange T, Backhaus SJ, Schuster A, Seidler T, Kutschka I, Toischer K, Zeisberg EM, Jacobshagen C, Hasenfuss G. Impact of myocardial fibrosis on left ventricular remodelling, recovery, and outcome after transcatheter aortic valve implantation in different haemodynamic subtypes of severe aortic stenosis. *European Heart Journal* 2020; 41: 1903–1914. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa033

32. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A, Bertocchi M, Habib G, Gressin V, Yaici A, Weitzenblum E, Cordier JF, Chabot F, Dromer C, Pison C, Reynaud-Gaubert M, Haloun A, Laurent M, Hachulla E, Cottin V, Degano B, Jais X, Montani D, Souza R, Simonneau G. Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation* 2010; 122: 156–163. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.911818
33. Benza RL, Miller DP, Gomberg-Maitland M, Frantz RP, Foreman AJ, Coffey CS, Frost A, Barst RJ, Badesch DB, Elliott CG, Liou TG, McGoon MD. Predicting survival in pulmonary arterial hypertension: insights from the Registry to Evaluate Early and Long-Term Pulmonary Arterial Hypertension Disease Management (REVEAL). *Circulation* 2010; 122: 164–172. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.898122
34. Tello K, Gall H, Richter M, Ghofrani A, Schermuly R. Right ventricular function in pulmonary (arterial) hypertension. *Herz* 2019; 44: 509–516. doi: 10.1007/s00059-019-4815-6
35. Geva T. Is MRI the preferred method for evaluating right ventricular size and function in patients with congenital heart disease?: MRI is the preferred method for evaluating right ventricular size and function in patients with congenital heart disease. *Circulation: Cardiovascular Imaging* 2014; 7: 190–197. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.113.000553
36. Agasthi P, Chao CJ, Siegel RJ, Pujari SH, Mookadam F, Venepally NR, Wang P, Ashraf H, Marcotte F, Brown L, Semkiv OI, Fath AR, Allam MNA, Jokerst CE, Arsanjani R. Comparison of echocardiographic parameters with cardiac magnetic resonance imaging in the assessment of right ventricular function. *Echocardiography* 2020; 37: 1792–1802. doi: 10.1111/echo.14877
37. Beygui F, Furber A, Delepine S, Helft G, Metzger JP, Geslin P, Le Jeune JJ. Routine breath-hold gradient echo MRI-derived right ventricular mass, volumes and function: accuracy, reproducibility and coherence study. *The International Journal of Cardiovascular Imaging* 2004; 20: 509–516. doi: 10.1007/s10554-004-1097-7
38. Grothues F, Moon JC, Bellenger NG, Smith GS, Klein HU, Pennell DJ. Interstudy reproducibility of right ventricular volumes, function, and mass with cardiovascular magnetic resonance. *American Heart Journal* 2004; 147: 218–223. doi: 10.1016/j.ahj.2003.10.005

39. Mooij CF, de Wit CJ, Graham DA, Powell AJ, Geva T. Reproducibility of MRI measurements of right ventricular size and function in patients with normal and dilated ventricles. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI* 2008; 28: 67–73. doi: 10.1002/jmri.21407
40. Swift AJ, Capener D, Johns C, Hamilton N, Rothman A, Elliot C, Condliffe R, Charalampopoulos A, Rajaram S, Lawrie A, Campbell MJ, Wild JM, Kiely DG. Magnetic Resonance Imaging in the Prognostic Evaluation of Patients with Pulmonary Arterial Hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2017; 196: 228–239. doi: 10.1164/rccm.201611-2365OC
41. van de Veerdonk MC, Kind T, Marcus JT, Mauritz GJ, Heymans MW, Bogaard HJ, Boonstra A, Marques KM, Westerhof N, Vonk-Noordegraaf A. Progressive right ventricular dysfunction in patients with pulmonary arterial hypertension responding to therapy. *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 58: 2511–2519. doi: 10.1016/j.jacc.2011.06.068
42. Swift AJ, Rajaram S, Campbell MJ, Hurdman J, Thomas S, Capener D, Elliot C, Condliffe R, Wild JM, Kiely DG. Prognostic value of cardiovascular magnetic resonance imaging measurements corrected for age and sex in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation: Cardiovascular Imaging* 2014; 7: 100–106. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.113.000338
43. Bossone E, D'Andrea A, D'Alto M, Citro R, Argiento P, Ferrara F, Cittadini A, Rubenfire M, Naeije R. Echocardiography in pulmonary arterial hypertension: from diagnosis to prognosis. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2013; 26: 1–14. doi: 10.1016/j.echo.2012.10.009
44. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, Flachskampf FA, Foster E, Goldstein SA, Kuznetsova T, Lancellotti P, Muraru D, Picard MH, Rietzschel ER, Rudski L, Spencer KT, Tsang W, Voigt JU. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography* 2015; 28: 1–39 e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003
45. Guazzi M, Bandera F, Pelissero G, Castelvechio S, Menicanti L, Ghio S, Temporelli PL, Arena R. Tricuspid annular plane systolic excursion and pulmonary arterial systolic pressure relationship in heart failure: an index of right ventricular contractile

- function and prognosis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2013; 305: H1373–1381. doi: 10.1152/ajpheart.00157.2013
46. Guazzi M, Dixon D, Labate V, Beussink-Nelson L, Bandera F, Cuttica MJ, Shah SJ. RV Contractile Function and its Coupling to Pulmonary Circulation in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Stratification of Clinical Phenotypes and Outcomes. *JACC: Cardiovascular Imaging* 2017; 10: 1211–1221. doi: 10.1016/j.jcmg.2016.12.024
47. Ghio S, Guazzi M, Scardovi AB, Klersy C, Clemenza F, Carluccio E, Temporelli PL, Rossi A, Faggiano P, Traversi E, Vriza O, Dini FL, et al. Different correlates but similar prognostic implications for right ventricular dysfunction in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction. *European Journal of Heart Failure* 2017; 19: 873–879. doi: 10.1002/ejhf.664
48. Schmeisser A, Rauwolf T, Groscheck T, Kropf S, Luani B, Tanev I, Hansen M, Meissler S, Steendijk P, Braun-Dullaeus RC. Pressure-volume loop validation of TAPSE/PASP for right ventricular arterial coupling in heart failure with pulmonary hypertension. *European Heart Journal: Cardiovascular Imaging* 2021; 22: 168–176. doi: 10.1093/ehjci/jeaa285
49. Guazzi M, Naeije R, Arena R, Corra U, Ghio S, Forfia P, Rossi A, Cahalin LP, Bandera F, Temporelli P. Echocardiography of Right Ventriculoarterial Coupling Combined With Cardiopulmonary Exercise Testing to Predict Outcome in Heart Failure. *Chest* 2015; 148: 226–234. doi: 10.1378/chest.14-2065
50. Tello K, Axmann J, Ghofrani HA, Naeije R, Narcin N, Rieth A, Seeger W, Gall H, Richter MJ. Relevance of the TAPSE/PASP ratio in pulmonary arterial hypertension. *International Journal of Cardiology* 2018; 266: 229–235. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.01.053
51. Tello K, Wan J, Dalmer A, Vanderpool R, Ghofrani HA, Naeije R, Roller F, Mohajerani E, Seeger W, Herberg U, Sommer N, Gall H, Richter MJ. Validation of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion/Systolic Pulmonary Artery Pressure Ratio for the Assessment of Right Ventricular-Arterial Coupling in Severe Pulmonary Hypertension. *Circulation: Cardiovascular Imaging* 2019; 12: e009047. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.119.009047
52. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthelémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, Dendale P, Dorobantu M, Edvardsen T, Folliguet T, Gale CP, Gilard M, Jobs A, Juni P, Lambrinou E, Lewis BS, Mehilli J, Meliga E, Merkely B, Mueller C, Roffi M, Rutten

- FH, Sibbing D, Siontis GCM, Group ESCSD. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *European Heart Journal* 2021; 42: 1289–1367.  
doi: 10.1093/eurheartj/ehaa575
53. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Bohm M, Burri H, Butler J, Celutkiene J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A, Group ESCSD. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal* 2021; 42: 3599–3726.  
doi: 10.1093/eurheartj/ehab368
54. Galie N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M, Group ESCSD. 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). *European Heart Journal* 2016; 37: 67–119. doi: 10.1093/eurheartj/ehv317
55. van Nieuwenhoven FA, Munts C, Op't Veld RC, Gonzalez A, Diez J, Heymans S, Schroen B, van Bilsen M. Cartilage intermediate layer protein 1 (CILP1): A novel mediator of cardiac extracellular matrix remodelling. *Scientific Reports* 2017; 7: 16042. doi: 10.1038/s41598-017-16201-y
56. Lorenzo P, Neame P, Sommarin Y, Heinegard D. Cloning and deduced amino acid sequence of a novel cartilage protein (CILP) identifies a proform including a nucleotide pyrophosphohydrolase. *The Journal of Biological Chemistry* 1998; 273: 23469–23475. doi: 10.1074/jbc.273.36.23469
57. Shindo K, Asakura M, Min K-D, Ito S, Fu HY, Yamazaki S, Takahashi A, Imazu M, Fukuda H, Nakajima Y, Asanuma H, Minamino T, Takashima S, Minamino N, Mochizuki N, Kitakaze M. Cartilage Intermediate Layer Protein 1 Suppresses TGF- $\beta$

- Signaling in Cardiac Fibroblasts. *International Journal of Gerontology* 2017; 11: 67–74. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijge.2017.01.002>
58. Park S, Ranjbarvaziri S, Zhao P, Ardehali R. Cardiac Fibrosis Is Associated With Decreased Circulating Levels of Full-Length CILP in Heart Failure. *JACC: Basic to Translational Science* 2020; 5: 432–443. doi: 10.1016/j.jacbts.2020.01.016
  59. Arslan F, Smeets MB, Riem Vis PW, Karper JC, Quax PH, Bongartz LG, Peters JH, Hoefler IE, Doevendans PA, Pasterkamp G, de Kleijn DP. Lack of fibronectin-EDA promotes survival and prevents adverse remodeling and heart function deterioration after myocardial infarction. *Circulation Research* 2011; 108: 582–592. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.224428
  60. Felker GM, Shaw LK, O'Connor CM. A standardized definition of ischemic cardiomyopathy for use in clinical research. *Journal of the American College of Cardiology* 2002; 39: 210–218. doi: 10.1016/s0735-1097(01)01738-7
  61. Soriano CJ, Ridocci F, Estornell J, Perez-Bosca JL, Pomar F, Trigo A, Planas A, Nadal M, Jacas V, Martinez V, Paya R. Late gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance identifies patients with standardized definition of ischemic cardiomyopathy: a single centre experience. *International Journal of Cardiology* 2007; 116: 167–173. doi: 10.1016/j.ijcard.2006.03.040
  62. Bourantas CV, Loh HP, Bragadeesh T, Rigby AS, Lukaschuk EI, Garg S, Tweddel AC, Alamgir FM, Nikitin NP, Clark AL, Cleland JG. Relationship between right ventricular volumes measured by cardiac magnetic resonance imaging and prognosis in patients with chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure* 2011; 13: 52–60. doi: 10.1093/eurjhf/hfq161
  63. Sullivan MM, Barker TH, Funk SE, Karchin A, Seo NS, Hook M, Sanders J, Starcher B, Wight TN, Puolakkainen P, Sage EH. Matricellular hevin regulates decorin production and collagen assembly. *The Journal of Biological Chemistry* 2006; 281: 27621–27632. doi: 10.1074/jbc.M510507200
  64. Bradshaw AD, Baicu CF, Rentz TJ, Van Laer AO, Boggs J, Lacy JM, Zile MR. Pressure overload-induced alterations in fibrillar collagen content and myocardial diastolic function: role of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in post-synthetic procollagen processing. *Circulation* 2009; 119: 269–280. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.773424
  65. Imoto K, Okada M, Yamawaki H. Expression profile of matricellular proteins in hypertrophied right ventricle of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats.

- Journal of Veterinary Medical Science 2017; 79: 1096–1102. doi: 10.1292/jvms.17-0053
66. Rosenberg M, Zugck C, Nelles M, Juenger C, Frank D, Remppis A, Giannitsis E, Katus HA, Frey N. Osteopontin, a new prognostic biomarker in patients with chronic heart failure. *Circulation: Heart Failure* 2008; 1: 43–49. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.107.746172
  67. Yu Q, Vazquez R, Khojeini EV, Patel C, Venkataramani R, Larson DF. IL-18 induction of osteopontin mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction in mice. *American journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2009; 297: H76–85. doi: 10.1152/ajpheart.01285.2008
  68. Collins AR, Schnee J, Wang W, Kim S, Fishbein MC, Bruemmer D, Law RE, Nicholas S, Ross RS, Hsueh WA. Osteopontin modulates angiotensin II-induced fibrosis in the intact murine heart. *Journal of the American College of Cardiology* 2004; 43: 1698–1705. doi: 10.1016/j.jacc.2003.11.058
  69. Sano H, Hsu DK, Apgar JR, Yu L, Sharma BB, Kuwabara I, Izui S, Liu FT. Critical role of galectin-3 in phagocytosis by macrophages. *Journal of Clinical Investigation* 2003; 112: 389–397. doi: 10.1172/JCI17592
  70. Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JP, Schroen B, Andre S, Crijns HJ, Gabius HJ, Maessen J, Pinto YM. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation* 2004; 110: 3121–3128. doi: 10.1161/01.CIR.0000147181.65298.4D
  71. Yang Y, Wang Y, Gao PJ. Osteopontin associated with left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in essential hypertension. *Journal of Human Hypertension* 2020; 34: 388–396. doi: 10.1038/s41371-019-0246-3
  72. Lutz M, von Ingersleben N, Lambers M, Rosenberg M, Freitag-Wolf S, Dempfle A, Lutter G, Frank J, Bramlage P, Frey N, Frank D. Osteopontin predicts clinical outcome in patients after treatment of severe aortic stenosis with transcatheter aortic valve implantation (TAVI). *Open Heart* 2017; 4: e000633. doi: 10.1136/openhrt-2017-000633
  73. Lorenzen JM, Nickel N, Kramer R, Golpon H, Westerkamp V, Olsson KM, Haller H, Hoepfer MM. Osteopontin in patients with idiopathic pulmonary hypertension. *Chest* 2011; 139: 1010–1017. doi: 10.1378/chest.10-1146

74. Rosenberg M, Meyer FJ, Gruenig E, Lutz M, Lossnitzer D, Wipplinger R, Katus HA, Frey N. Osteopontin predicts adverse right ventricular remodelling and dysfunction in pulmonary hypertension. *European Journal of Clinical Investigation* 2012; 42: 933–942. doi: 10.1111/j.1365-2362.2012.02671.x
75. Rosenberg M, Meyer FJ, Gruenig E, Schuster T, Lutz M, Lossnitzer D, Wipplinger R, Katus HA, Frey N. Osteopontin (OPN) improves risk stratification in pulmonary hypertension (PH). *International Journal of Cardiology* 2012; 155: 504–505. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.12.108
76. Lopez B, Gonzalez A, Querejeta R, Zubillaga E, Larman M, Diez J. Galectin-3 and histological, molecular and biochemical aspects of myocardial fibrosis in heart failure of hypertensive origin. *European Journal of Heart Failure* 2015; 17: 385–392. doi: 10.1002/ejhf.246
77. Besler C, Lang D, Urban D, Rommel KP, von Roeder M, Fengler K, Blazek S, Kandolf R, Klingel K, Thiele H, Linke A, Schuler G, Adams V, Lurz P. Plasma and Cardiac Galectin-3 in Patients With Heart Failure Reflects Both Inflammation and Fibrosis: Implications for Its Use as a Biomarker. *Circulation: Heart Failure* 2017; 10. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.116.003804
78. van der Velde AR, Gullestad L, Ueland T, Aukrust P, Guo Y, Adourian A, Muntendam P, van Veldhuisen DJ, de Boer RA. Prognostic value of changes in galectin-3 levels over time in patients with heart failure: data from CORONA and COACH. *Circulation: Heart Failure* 2013; 6: 219–226. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.000129
79. Mazurek JA, Horne BD, Saeed W, Sardar MR, Zolty R. Galectin-3 Levels Are Elevated and Predictive of Mortality in Pulmonary Hypertension. *Heart, Lung and Circulation* 2017; 26: 1208–1215. doi: 10.1016/j.hlc.2016.12.012
80. Fenster BE, Lasalvia L, Schroeder JD, Smyser J, Silveira LJ, Buckner JK, Brown KK. Galectin-3 levels are associated with right ventricular functional and morphologic changes in pulmonary arterial hypertension. *Heart and Vessels* 2016; 31: 939–946. doi: 10.1007/s00380-015-0691-z
81. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, Fujita T, Nakahara K, Fukumoto S, Yamashita T. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *Journal of Bone and Mineral Research* 2004; 19: 429–435. doi: 10.1359/JBMR.0301264

82. Isakova T, Gutierrez O, Shah A, Castaldo L, Holmes J, Lee H, Wolf M. Postprandial mineral metabolism and secondary hyperparathyroidism in early CKD. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* 2008; 19: 615–623.  
doi: 10.1681/ASN.2007060673
83. Leifheit-Nestler M, Haffner D. Paracrine Effects of FGF23 on the Heart. *Frontiers in Endocrinology* 2018; 9: 278. doi: 10.3389/fendo.2018.00278
84. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, Gutierrez OM, Aguillon-Prada R, Lincoln J, Hare JM, Mundel P, Morales A, Scialla J, Fischer M, Soliman EZ, Chen J, Go AS, Rosas SE, Nessel L, Townsend RR, Feldman HI, St John Sutton M, Ojo A, Gadegbeku C, Di Marco GS, Reuter S, Kentrup D, Tiemann K, Brand M, Hill JA, Moe OW, Kuro OM, Kusek JW, Keane MG, Wolf M. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *Journal of Clinical Investigation* 2011; 121: 4393–4408.  
doi: 10.1172/JCI46122
85. Grabner A, Amaral AP, Schramm K, Singh S, Sloan A, Yanucil C, Li J, Shehadeh LA, Hare JM, David V, Martin A, Fornoni A, Di Marco GS, Kentrup D, Reuter S, Mayer AB, Pavenstadt H, Stypmann J, Kuhn C, Hille S, Frey N, Leifheit-Nestler M, Richter B, Haffner D, Abraham R, Bange J, Sperl B, Ullrich A, Brand M, Wolf M, Faul C. Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metabolism* 2015; 22: 1020–1032.  
doi: 10.1016/j.cmet.2015.09.002
86. Hao H, Li X, Li Q, Lin H, Chen Z, Xie J, Xuan W, Liao W, Bin J, Huang X, Kitakaze M, Liao Y. FGF23 promotes myocardial fibrosis in mice through activation of beta-catenin. *Oncotarget* 2016; 7: 64649–64664. doi: 10.18632/oncotarget.11623
87. Kuga K, Kusakari Y, Uesugi K, Semba K, Urashima T, Akaike T, Minamisawa S. Fibrosis growth factor 23 is a promoting factor for cardiac fibrosis in the presence of transforming growth factor-beta1. *PLOS ONE* 2020; 15: e0231905.  
doi: 10.1371/journal.pone.0231905
88. Gruson D, Lepoutre T, Ketelslegers JM, Cumps J, Ahn SA, Rousseau MF. C-terminal FGF23 is a strong predictor of survival in systolic heart failure. *Peptides* 2012; 37: 258–262. doi: 10.1016/j.peptides.2012.08.003
89. Plischke M, Neuhold S, Adlbrecht C, Bielez B, Shayganfar S, Bieglmayer C, Szekeres T, Horl WH, Strunk G, Vavken P, Pacher R, Hulsmann M. Inorganic phosphate and FGF-23 predict outcome in stable systolic heart failure. *European*

- Journal of Clinical Investigation 2012; 42: 649–656. doi: 10.1111/j.1365-2362.2011.02631.x
90. Roy C, Lejeune S, Slimani A, de Meester C, Ahn As SA, Rousseau MF, Mihaela A, Ginion A, Ferracin B, Pasquet A, Vancraeynest D, Beauloye C, Vanoverschelde JL, Horman S, Gruson D, Gerber BL, Pouleur AC. Fibroblast growth factor 23: a biomarker of fibrosis and prognosis in heart failure with preserved ejection fraction. *ESC Heart Failure* 2020; 7: 2494–2507. doi: 10.1002/ehf2.12816
  91. Masson S, Agabiti N, Vago T, Miceli M, Mayer F, Letizia T, Wienhues-Thelen U, Mureddu GF, Davoli M, Boccanelli A, Latini R, Investigators of the Ps. The fibroblast growth factor-23 and Vitamin D emerge as nontraditional risk factors and may affect cardiovascular risk. *Journal of Internal Medicine* 2015; 277: 318–330. doi: 10.1111/joim.12232
  92. Han J, Yuan X, Song W, Cheng Y, Lu Y, Zhang Y, Liu Y, Jiang Y. The Correlation of Fibroblast Growth Factor 23 with Cardiac Remodeling in Essential Hypertension with Normal Renal Function. *Cardiology* 2022; 147: 271–280. doi: 10.1159/000524764
  93. Cheng N, He Y, Dang A, Lv N, Wang X, Li H. Association between plasma fibroblast growth factor 23 and left ventricular mass index in patients with Takayasu arteritis. *Clinical Rheumatology* 2020; 39: 1591–1599. doi: 10.1007/s10067-019-04895-6
  94. Shibata K, Fujita S, Morita H, Okamoto Y, Sohmiya K, Hoshiga M, Ishizaka N. Association between circulating fibroblast growth factor 23, alpha-Klotho, and the left ventricular ejection fraction and left ventricular mass in cardiology inpatients. *PLOS ONE* 2013; 8: e73184. doi: 10.1371/journal.pone.0073184
  95. Isakova T, Houston J, Santacruz L, Schiavenato E, Somarriba G, Harmon WG, Lipshultz SE, Miller TL, Rusconi PG. Associations between fibroblast growth factor 23 and cardiac characteristics in pediatric heart failure. *Pediatric Nephrology* 2013; 28: 2035–2042. doi: 10.1007/s00467-013-2515-7
  96. Mirza MA, Larsson A, Melhus H, Lind L, Larsson TE. Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis* 2009; 207: 546–551. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.05.013
  97. Aimo A, Januzzi JL, Jr., Bayes-Genis A, Vergaro G, Sciarrone P, Passino C, Emdin M. Clinical and Prognostic Significance of sST2 in Heart Failure: JACC Review Topic of the Week. *Journal of the American College of Cardiology* 2019; 74: 2193–2203. doi: 10.1016/j.jacc.2019.08.1039

98. Weinberg EO, Shimpo M, De Keulenaer GW, MacGillivray C, Tominaga S, Solomon SD, Rouleau JL, Lee RT. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106: 2961–2966. doi: 10.1161/01.cir.0000038705.69871.d9
99. Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RT. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *Journal of Clinical Investigation* 2007; 117: 1538–1549. doi: 10.1172/jci30634
100. Pascual-Figal DA, Januzzi JL. The biology of ST2: the International ST2 Consensus Panel. *The American Journal of Cardiology* 2015; 115: 3b–7b. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.01.034
101. Seki K, Sanada S, Kudinova AY, Steinhäuser ML, Handa V, Gannon J, Lee RT. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. *Circulation: Heart Failure* 2009; 2: 684–691. doi: 10.1161/circheartfailure.109.873240
102. Ky B, French B, McCloskey K, Rame JE, McIntosh E, Shahi P, Dries DL, Tang WH, Wu AH, Fang JC, Boxer R, Sweitzer NK, Levy WC, Goldberg LR, Jessup M, Cappola TP. High-sensitivity ST2 for prediction of adverse outcomes in chronic heart failure. *Circulation: Heart Failure* 2011; 4: 180–187. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.958223
103. Aimo A, Vergaro G, Passino C, Ripoli A, Ky B, Miller WL, Bayes-Genis A, Anand I, Januzzi JL, Emdin M. Prognostic Value of Soluble Suppression of Tumorigenicity-2 in Chronic Heart Failure: A Meta-Analysis. *JACC: Heart Failure* 2017; 5: 280–286. doi: 10.1016/j.jchf.2016.09.010
104. Miller WL, Saenger AK, Grill DE, Slusser JP, Bayes-Genis A, Jaffe AS. Prognostic Value of Serial Measurements of Soluble Suppression of Tumorigenicity 2 and Galectin-3 in Ambulatory Patients With Chronic Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure* 2016; 22: 249–255. doi: 10.1016/j.cardfail.2015.07.017
105. Emdin M, Aimo A, Vergaro G, Bayes-Genis A, Lupon J, Latini R, Meessen J, Anand IS, Cohn JN, Gravning J, Gullestad L, Broch K, Ueland T, Nymo SH, Brunner-La Rocca HP, de Boer RA, Gaggin HK, Ripoli A, Passino C, Januzzi JL, Jr. sST2 Predicts Outcome in Chronic Heart Failure Beyond NT-proBNP and High-Sensitivity Troponin T. *Journal of the American College of Cardiology* 2018; 72: 2309–2320. doi: 10.1016/j.jacc.2018.08.2165

106. Pascual-Figal DA, Bayes-Genis A, Asensio-Lopez MC, Hernandez-Vicente A, Garrido-Bravo I, Pastor-Perez F, Diez J, Ibanez B, Lax A. The Interleukin-1 Axis and Risk of Death in Patients With Acutely Decompensated Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2019; 73: 1016–1025.  
doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.054
107. Pascual-Figal DA, Manzano-Fernandez S, Boronat M, Casas T, Garrido IP, Bonaque JC, Pastor-Perez F, Valdes M, Januzzi JL. Soluble ST2, high-sensitivity troponin T- and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: complementary role for risk stratification in acutely decompensated heart failure. *European Journal of Heart Failure* 2011; 13: 718–725. doi: 10.1093/eurjhf/hfr047
108. Zimmers TA, Jin X, Hsiao EC, McGrath SA, Esquela AF, Koniaris LG. Growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 induction after kidney and lung injury. *Shock* 2005; 23: 543–548
109. Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers J, Heineke J, Kotlarz D, Xu J, Molkentin JD, Niessen HW, Drexler H, Wollert KC. The transforming growth factor-beta superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circulation Research* 2006; 98: 351–360. doi: 10.1161/01.Res.0000202805.73038.48
110. Mueller T, Leitner I, Egger M, Haltmayer M, Dieplinger B. Association of the biomarkers soluble ST2, galectin-3 and growth-differentiation factor-15 with heart failure and other non-cardiac diseases. *Clinica Chimica Acta – International Journal of Clinical Chemistry* 2015; 445: 155–160. doi: 10.1016/j.cca.2015.03.033
111. Sharma A, Stevens SR, Lucas J, Fiuzat M, Adams KF, Whellan DJ, Donahue MP, Kitzman DW, Pina IL, Zannad F, Kraus WE, O'Connor CM, Felker GM. Utility of Growth Differentiation Factor-15, A Marker of Oxidative Stress and Inflammation, in Chronic Heart Failure: Insights From the HF-ACTION Study. *JACC Heart Failure* 2017; 5: 724–734. doi: 10.1016/j.jchf.2017.07.013
112. Lindholm D, James SK, Gabrysch K, Storey RF, Himmelmann A, Cannon CP, Mahaffey KW, Steg PG, Held C, Siegbahn A, Wallentin L. Association of Multiple Biomarkers With Risk of All-Cause and Cause-Specific Mortality After Acute Coronary Syndromes: A Secondary Analysis of the PLATO Biomarker Study. *JAMA Cardiology* 2018; 3: 1160–1166. doi: 10.1001/jamacardio.2018.3811
113. Carlomagno G, Messalli G, Melillo RM, Stanziola AA, Visciano C, Mercurio V, Imbriaco M, Ghio S, Sofia M, Bonaduce D, Fazio S. Serum soluble ST2 and

- interleukin-33 levels in patients with pulmonary arterial hypertension. *International Journal of Cardiology* 2013; 168: 1545–1547. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.12.031
114. Zheng Y-G, Yang T, He J-G, Chen G, Liu Z-H, Xiong C-M, Gu Q, Ni X-H, Zhao Z-H. Plasma Soluble ST2 Levels Correlate With Disease Severity and Predict Clinical Worsening in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension. *Clinical Cardiology* 2014; 37: 365–370. doi:https://doi.org/10.1002/clc.22262
115. Geenen LW, Baggen VJM, Kauling RM, Koudstaal T, Boomars KA, Boersma E, Roos-Hesselink JW, van den Bosch AE. The Prognostic Value of Soluble ST2 in Adults with Pulmonary Hypertension. *Journal of Clinical Medicine* 2019; 8. doi: 10.3390/jcm8101517
116. Geenen LW, Baggen VJM, Kauling RM, Koudstaal T, Boomars KA, Boersma E, Roos-Hesselink JW, van den Bosch AE. Growth differentiation factor-15 as candidate predictor for mortality in adults with pulmonary hypertension. *Heart* 2020; 106: 467. doi: 10.1136/heartjnl-2019-315111
117. Cojan-Minzat BO, Zlibut A, Agoston-Coldea L. Non-ischemic dilated cardiomyopathy and cardiac fibrosis. *Heart Failure Reviews* 2021; 26: 1081–1101. doi: 10.1007/s10741-020-09940-0
118. Freed BH, Gomberg-Maitland M, Chandra S, Mor-Avi V, Rich S, Archer SL, Jamison EB, Jr., Lang RM, Patel AR. Late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance predicts clinical worsening in patients with pulmonary hypertension. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 2012; 14: 11. doi: 10.1186/1532-429X-14-11
119. Lazzeroni D, Rimoldi O, Camici PG. From Left Ventricular Hypertrophy to Dysfunction and Failure. *Circulation Journal* 2016; 80: 555–564. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0062
120. Zhang CL, Zhao Q, Liang H, Qiao X, Wang JY, Wu D, Wu LL, Li L. Cartilage intermediate layer protein-1 alleviates pressure overload-induced cardiac fibrosis via interfering TGF-beta1 signaling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2018; 116: 135–144. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.02.006
121. Bouzina H, Hesselstrand R, Radegran G. Higher plasma fibroblast growth factor 23 levels are associated with a higher risk profile in pulmonary arterial hypertension. *Pulmonary Circulation* 2019; 9: 2045894019895446. doi: 10.1177/2045894019895446

122. Gutierrez OM, Januzzi JL, Isakova T, Laliberte K, Smith K, Collerone G, Sarwar A, Hoffmann U, Coglianese E, Christenson R, Wang TJ, deFilippi C, Wolf M. Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation* 2009; 119: 2545–2552. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.844506
123. Miri M, Ahmadi M, Hatami M. Correlation Between Fibroblast Growth Factor-23 and Pulmonary Arterial Hypertension in Hemodialysis Patients. *Iranian Journal of Kidney Diseases* 2021; 15: 300–305.
124. Niizuma S, Iwanaga Y, Yahata T, Miyazaki S. Renocardiovascular Biomarkers: from the Perspective of Managing Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2017; 4: 10. doi: 10.3389/fcvm.2017.00010
125. Mura M, Cecchini MJ, Joseph M, Granton JT. Osteopontin lung gene expression is a marker of disease severity in pulmonary arterial hypertension. *Respirology* 2019; 24: 1104–1110. doi: 10.1111/resp.13557
126. Weir RA, Petrie CJ, Murphy CA, Clements S, Steedman T, Miller AM, McInnes IB, Squire IB, Ng LL, Dargie HJ, McMurray JJ. Galectin-3 and cardiac function in survivors of acute myocardial infarction. *Circulation: Heart Failure* 2013; 6: 492–498. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.000146
127. Parikh RH, Seliger SL, Christenson R, Gottdiener JS, Psaty BM, deFilippi CR. Soluble ST2 for Prediction of Heart Failure and Cardiovascular Death in an Elderly, Community-Dwelling Population. *Journal of the American Heart Association* 2016; 5. doi: 10.1161/JAHA.115.003188
128. Sardu C, Paolisso G, Marfella R. Inflammatory Related Cardiovascular Diseases: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Targets. *Current Pharmaceutical Design* 2020; 26: 2565–2573. doi: 10.2174/1381612826666200213123029
129. Geenen LW, Baggen VJM, Kauling RM, Koudstaal T, Boomars KA, Boersma E, Roos-Hesselink JW, van den Bosch AE. Growth differentiation factor-15 as candidate predictor for mortality in adults with pulmonary hypertension. *Heart* 2020; 106: 467–473. doi: 10.1136/heartjnl-2019-315111
130. Zheng YG, Yang T, He JG, Chen G, Liu ZH, Xiong CM, Gu Q, Ni XH, Zhao ZH. Plasma soluble ST2 levels correlate with disease severity and predict clinical worsening in patients with pulmonary arterial hypertension. *Clinical Cardiology* 2014; 37: 365–370. doi: 10.1002/clc.22262
131. Nickel N, Kempf T, Tapken H, Tongers J, Laenger F, Lehmann U, Golpon H, Olsson K, Wilkins MR, Gibbs JS, Hoepfer MM, Wollert KC. Growth differentiation factor-15

in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008; 178: 534–541. doi: 10.1164/rccm.200802-235OC

## 7. Schriftenverzeichnis des Verfassers

### *Erstautorenschaften/Letztautorenschaften*

1. **Keranov S**, Widmann L, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Bauer P, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Nef H and Dörr O. GDF-15 and sST2 as biomarkers of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *Biomark Med.* 2023 Feb 15. Epub ahead of print. PMID: 36790217
2. Widmann L, **Keranov S**, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Arsalan M, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Dörr O and Nef H. Fibroblast growth factor 23 as a biomarker of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *Clin Res Cardiol.* 2023 Feb 15. Epub ahead of print. PMID: 36790465.
3. **Keranov S**, Jafari L, Haen S, Vietheer J, Kriechbaum S, Dörr O, Liebetrau C, Troidl C, Rutsatz W, Rieth A, Hamm CW, Nef H, Rolf A, Keller T. CILP1 as a biomarker for right ventricular dysfunction in patients with ischemic cardiomyopathy. *Pulmonary Circulation* 2022 Mar 25; 12(1): e12062.
4. **Keranov S**, Haen S, Vietheer J, Rutsatz W, Wolter JS, Kriechbaum SD, von Jeinsen B, Bauer P, Tello K, Richter M, Dörr O, Rieth AJ, Nef H, Hamm CW, Liebetrau C, Rolf A, Keller T. Application and Validation of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion/Systolic Pulmonary Artery Pressure Ratio in Patients with Ischemic and Non-Ischemic Cardiomyopathy. *Diagnostics* 2021 Nov 24; 11(12): 2188.
5. **Keranov S**, Dorr O, Jafari L, Troidl C, Liebetrau C, Kriechbaum S, Keller T, Voss S, Bauer T, Lorenz J, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Mayer E, Wiedenroth CB, Guth S, Lorchner H, Poling J, Chelladurai P, Pullamsetti SS, Braun T,

Seeger W, Hamm CW, Nef H. CILP1 as a biomarker for right ventricular maladaptation in pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal* 2021; 57.

6. **Keranov S**, Dorr O, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Riehm J, Rutsatz W, Bauer P, Kriechbaum S, Voss S, Richter MJ, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Guth S, Seeger W, Hamm CW, Nef H. Osteopontin and galectin-3 as biomarkers of maladaptive right ventricular remodeling in pulmonary hypertension. *Biomarkers in Medicine* 2021; 15: 1021–1034.
7. **Keranov S**, Dorr O, Jafari L, Liebetrau C, Keller T, Troidl C, Kriechbaum S, Voss S, Richter M, Tello K, Gall H, Ghofrani HA, Mayer E, Seeger W, Hamm CW, Nef H. SPARCL1 as a biomarker of maladaptive right ventricular remodelling in pulmonary hypertension. *Biomarkers* 2020; 25: 290–295.
8. **Keranov S**, Kim WK, Arsalan M, Renker M, Keller T, Bauer T, Dorr O, Nef HM, Gaede L, Mollmann H, Walther T, Hamm CW, Liebetrau C. Predictive value of preprocedural procalcitonin for short- and long-term mortality after transfemoral transcatheter aortic valve implantation. *Heart and Vessels* 2019; 34: 1993–2001.
9. **Keranov S**, Zahn R, Zeymer U. The shrinking carotid stent. *EuroIntervention* 2016; 12: 403.

### *Übersichtsarbeiten*

1. **Keranov S**, Nef H. [Chronic coronary syndrome]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 2020; 145: 1476–1480.
2. Hofmann FJ, Dorr O, Blachutzik F, Boeder N, Elsasser A, **Keranov S**, Kohne A, Hofmann S, Mollmann H, Hamm C, Nef HM. Latest Developments in Robotic Percutaneous Coronary Intervention. *Surgical Technology International* 2021; 38: 325–330.

## *Co-Autorenschaften*

1. Richter MJ, Douschan P, Fortuni F, Gall H, Ghofrani HA, **Keranov S**, Kremer N, Kriechbaum SD, Rako ZA, Rieth AJ, da Rocha BB, Seeger W, Zedler D, Yildiz S, Yogeswaran A, Tello K. Echocardiographic pressure-strain loop-derived stroke work of the right ventricle: validation against the gold standard. *ESC Heart Fail.* 2023 Jul 6.
2. Bauer P, Tello K, Kraushaar L, Dörr O, **Keranov S**, Husain-Syed F, Nef H, Hamm CW, Most A. Normative values of non-invasively assessed RV function and pulmonary circulation coupling for pre-participation screening derived from 497 male elite athletes. *Clinical Research in Cardiology* 2022 Sep 14.
3. Yogeswaran A, Kuhnert S, Gall H, Faber M, Krauss E, Rako ZA, **Keranov S**, Grimminger F, Ghofrani HA, Naeije R, Seeger W, Richter M, Tello K. Relevance of Cor Pulmonale in COPD With and Without Pulmonary Hypertension: A Retrospective Cohort Study. *Frontiers in Cardiovascular Medicine.* 2022; 9.
4. Bauer P, Kraushaar L, Dörr O, **Keranov S**, Nef H, Hamm CW, Most A. Vascular alterations among male elite athletes recovering from SARS-CoV-2 infection. *Scientific Reports* 2022 May 23; 12(1): 8655
5. Bauer P, Tello K, Kraushaar L, Dörr O, **Keranov S**, Husain-Syed F, Nef H, Hamm CW, Most A. Normative values of non-invasively assessed RV function and pulmonary circulation coupling for pre-participation screening derived from 497 male elite athletes. *Clinical Research in Cardiology* 2022 Sep 14.
6. Bauer P, Kraushaar L, Hoelscher S, Weber R, Akdogan E, **Keranov S**, Dorr O, Nef H, Hamm CW, Most A. Blood Pressure Response and Vascular Function of Professional Athletes and Controls. *Sports Medicine International Open* 2021; 5: E45–E52.
7. Dorr O, Liebetrau C, Weferling M, Hoffmann F, Forderer N, Keller T, Boeder N, Blachutzik F, **Keranov S**, Bauer P, Bauer T, Hamm CW, Nef H. Fractional flow

reserve and frequency of PCI in patients with coronary artery disease. *Herz* 2020; 45: 752–758.

8. Kreusser MM, Lehmann LH, **Keranov S**, Hoting MO, Oehl U, Kohlhaas M, Reil JC, Neumann K, Schneider MD, Hill JA, Dobrev D, Maack C, Maier LS, Grone HJ, Katus HA, Olson EN, Backs J. Cardiac CaM Kinase II genes delta and gamma contribute to adverse remodeling but redundantly inhibit calcineurin-induced myocardial hypertrophy. *Circulation* 2014; 130: 1262–73.
9. Kreusser MM, Lehmann LH, Wolf N, **Keranov S**, Jungmann A, Grone HJ, Muller OJ, Katus HA, Backs J. Inducible cardiomyocyte-specific deletion of CaM kinase II protects from pressure overload-induced heart failure. *Basic Research in Cardiology* 2016; 111: 65.

## 8. Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Western-Blot-Analyse von CILP1- und ANP-Proteinexpression im rechten Ventrikel von Wildtyp-Mäusen eine Woche nach Schein-OP (Sham), leichtem Banding der Pulmonalarterie (PAB mild) und starkem Banding der Pulmonalarterie (PAB severe). Pan-actin-Expression dient als Ladekontrolle.

**Abbildung 2:** Immunofluoreszenzanalyse von CILP1-Expression (rote Färbung) im rechten Ventrikel von Wildtyp-Mäusen eine Woche nach Schein-OP (Sham) und starkem Banding der Pulmonalarterie (PAB severe).

**Abbildung 3:** Darstellung von CILP1-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und in Kontrollen; B) Patienten mit PH und adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling.

**Abbildung 4:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von CILP1 und NT-proBNP als Prädiktoren für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

**Abbildung 5:** Darstellung von NT-proBNP-Serumkonzentrationen in Patienten mit hochgradiger Aortenklappenstenose, linksventrikulärer Hypertrophie (LVH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und pulmonaler Hypertonie (PH) mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling sowie in Kontrollen.

**Abbildung 6:** Darstellung von CILP1-Konzentrationen in A) RVEF-Tertilen (high: > 54 %, middle: 45–54 %, low: < 45 %), B) RVESVI-Tertilen (low: < 32 ml/m<sup>2</sup>; middle: 32–43 ml/m<sup>2</sup>; high: > 43 ml/m<sup>2</sup>), C) NT-proBNP-Tertilen (low: < 465 pg/ml; middle: 465–1800 pg/ml; high: > 1800 pg/ml), D) LVEF-Tertilen (low: < 35 %; middle: 35–52 %; high: > 52 %) and E) LVESVI-Tertilen (low: < 39 ml/m<sup>2</sup>; middle: 39–66 ml/m<sup>2</sup>; high: > 66 ml/m<sup>2</sup>).

**Abbildung 7:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von CILP1 als Prädiktor

für A) RVEF < 40 % und B) LEVF < 40 % in Patienten mit ICM.

**Abbildung 8:** Darstellung von SPARCL1-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und in Kontrollen; B) Patienten mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling bei PH, DCM und in Kontrollen.

**Abbildung 9:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von SPARCL1 als Prädiktor für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

**Abbildung 10:** Darstellung von Osteopontin-Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen; B) Patienten mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling bei PH, DCM, LVH und in Kontrollen.

**Abbildung 11:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von Osteopontin als Prädiktor für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

**Abbildung 12:** Darstellung von Galectin-3 Plasmakonzentrationen in A) Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen; B) Patienten mit adaptivem (adaptiver RV) und maladaptivem (maladaptiver RV) RV-Remodeling bei PH, DCM, LVH und in Kontrollen.

**Abbildung 13:** Darstellung von FGF-23-Plasmakonzentrationen in pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen (Controls).

**Abbildung 14:** Darstellung von A) pulmonalem Widerstand (PVR); B) mittlerem pulmonalarteriellem Druck (mPAP); C) right atrial pressure (RAP); D) cardiac index (CI), E) TAPSE; F) TAPSE/PASP; G) rechtsventrikulärer enddiastolischer

Durchmesser (RVEDd); H) NT-proBNP und I) GFR aufgeteilt nach FGF-23-Tertilen in Patienten mit PH; I: unteres Tertil (FGF-23 < 78 RU/mL); II: mittleres Tertil (FGF-23 = 78–117 RU/mL); oberes Tertil (FGF-23 > 117 RU/mL).

**Abbildung 15:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von FGF-23 als Prädiktor für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.

**Abbildung 16:** Darstellung von A) sST2- und B) GDF-15-Serumkonzentrationen in Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH), dilatativer Kardiomyopathie (DCM), linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) und in Kontrollen (Controls).

**Abbildung 17:** Darstellung von A) pulmonalem Widerstand (PVR); B) mittlerem pulmonalarteriellem Druck (mPAP); C) right atrial pressure (RAP); D) cardiac index; E) TAPSE; F) TAPSE/PASP; G) rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (RVEDd); H) NT-proBNP und I) GFR aufgeteilt nach sST2-Tertilen in Patienten mit PH; I: unteres Tertil (sST2 < 26 ng/mL); II: mittleres Tertil (sST2 = 26–38 ng/mL); III: oberes Tertil (sST2 > 38 ng/mL).

**Abbildung 18:** Darstellung von A) pulmonalem Widerstand (PVR); B) mittlerem pulmonalarteriellem Druck (mPAP); C) right atrial pressure (RAP); D) cardiac index; E) TAPSE; F) TAPSE/PASP; G) rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (RVEDd); H) NT-proBNP und I) GFR aufgeteilt nach GDF-15-Tertilen in Patienten mit PH; I: unteres Tertil (GDF-15 < 887 pg/mL); II: mittleres Tertil (GDF-15 = 887–1363 pg/mL); III: oberes Tertil (GDF-15 > 1363 pg/mL).

**Abbildung 19:** „Receiver Operating Characteristic (ROC)“-Analyse von sST2 und GDF-15 als Prädiktoren für maladaptives rechtventrikuläres Remodeling in Patienten mit pulmonaler Hypertonie.