

Die Bedeutung des Biomarkers CILP1 in der Risikostratifizierung bei
Patient*innen mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie

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

vorgelegt von Kamml, Nora
aus Wien

Gießen 2024

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen,
Campus Kerckhoff
Medizinische Klinik I, Kardiologie

Gutachter: Prof. Dr. Till Keller

Gutachter: PD Dr. Aslam

Tag der Disputation: 14.01.2026

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
1 Einleitung	10
1.1 Kardiomyopathien	11
1.2 Ischämische Kardiomyopathie	12
1.2.1 Definition	12
1.2.2 Der linke Ventrikel im Rahmen einer ischämischen Kardiomyopathie	13
1.2.3 Der rechten Ventrikel im Rahmen einer ischämischen Kardiomyopathie ..	14
1.2.4 Echokardiografische Einschätzung der rechtsventrikulären Funktion anhand des Parameters TAPSE (Tricuspid Plane Annular Systolic Excursion)	14
1.3 Cartilage Intermediate Layer Protein – CILP	16
1.3.1 CILP – Aufbau	17
1.3.2 Funktion von CILP1 – Molekulare Ebene	19
1.3.3 CILP1 und seine Domänen	21
1.3.4 CILP1 als Biomarker des kardialen Remodelings	22
1.3.5 CILP1 und rechtsventrikuläre Veränderungen	22
1.3.6 CILP1 und sein Entstehungsort bei kardialen Pathologien	24
1.3.7 CILP1 und CILP2 – Unterschiede	24
1.3.8 Zirkulierendes CILP1	25
1.4 Hintergrund – Biomarker	26
1.4.1 Biomarker – Definition	26
1.4.2 Kardiovaskuläre Biomarker	27
2 Fragestellung und Hypothesen	29
3 Material & Methoden	30
3.1 Studienkohorte	30
3.2 Untersuchungsmethoden	31

3.3	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA.....	31
3.4	Datenschutz	32
3.5	Statistische Analyse.....	32
4	Ergebnisse	35
4.1	Beschreibung der Studienteilnehmer*innen.....	35
4.2	Der Biomarker CILP1 in der Gesamtkohorte	37
4.3	Einfluss einer ischämischen Kardiomyopathie	39
4.4	Vergleich CILP1 Spiegel bei Proband*innen mit und ohne ischämischer Kardiomyopathie	41
4.5	Einflussgrößen auf den Biomarker CILP1	42
4.6	Vorhersagekraft von CILP1 in Bezug auf das Vorliegen einer ischämischen Kardiomyopathie	44
4.7	Analyse des Zusammenhangs zwischen CILP1 und den 4 Einzelindikatoren der ischämischen Kardiomyopathie	45
4.8	Vergleich der CILP1-Spiegel zwischen den Gruppen mit reduzierter und erhaltener rechtsventrikulärer Funktion	47
4.9	Vergleich der CILP1-Spiegel zwischen den Gruppen mit reduzierter und erhaltener linksventrikulärer Funktion	49
4.10	Zusammenhang zwischen CILP1 und Mortalität.....	52
4.10.1	CILP1 als Prognoseindikator	54
4.10.2	Prüfung des Einflusses verschiedener, unabhängiger Variablen auf die Variable Mortalität	55
4.10.3	CILP1 als Prognoseindikator bei ischämischer Kardiomyopathie.....	57
4.10.4	CILP1 als Prognoseindikator in Abhängigkeit von der linksventrikulären Funktion	58
4.10.5	CILP1 als Prognoseindikator in Abhängigkeit der rechtsventrikulären Funktion	59
4.10.6	Analyse des Einflusses verschiedener, unabhängiger Variablen der Gruppe mit erhaltener rechtsventrikulärer Funktion auf die Variable Mortalität	60

4.10.7	Evaluation des Einflusses verschiedener, unabhängiger Variablen der Gruppe mit reduzierter rechtsventrikulärer Funktion auf die Variable Mortalität ..	62
5	Diskussion	64
5.1	CILP1 als spezifischer Biomarker für ischämischen Kardiomyopathien	66
5.2	CILP1 als spezifischer Biomarker zur Risikostratifizierung der Mortalität ...	69
5.3	Studienlimitationen	71
5.4	Ausblick	71
6	Zusammenfassung.....	74
7	Summary.....	76
	Literaturverzeichnis.....	77
	Ehrenwörtliche Erklärung	85
	Danksagung.....	86

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Vierkammerprojektion	15
Abbildung 2: Echokardiografische Darstellung der Vierkammerprojektion	16
Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Zelle mit Extrazellulärmatrix	17
Abbildung 4: 2D Abbildung des Proteins CILP1	19
Abbildung 5: Modell der CILP1-Tertiärstruktur	19
Abbildung 6: Histogramm CILP1 – Verteilungsfunktion	38
Abbildung 7: Darstellung der Verteilung der CILP1-Konzentration	38
Abbildung 8: Vergleich der Mediane der ICM Kohorten	41
Abbildung 9: Differenzierungsfähigkeit von CILP1	44
Abbildung 10: Rechtsventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (2 Gruppen)	47
Abbildung 11: Rechtsventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (3 Gruppen)	49
Abbildung 12: Linksventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (2 Gruppen)	50
Abbildung 13: Linksventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (3 Gruppen)	51
Abbildung 14: Mortalitätsvorhersage mittels CILP1	55
Abbildung 15a: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration in der Kardiomyopathie Kohorte	57
Abbildung 15b: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration in der Kontrollgruppe	57
Abbildung 16a: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei eingeschränkter linksventrikulärer Funktion	58
Abbildung 16b: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei erhaltener linksventrikulärer Funktion	58
Abbildung 17a: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei reduzierter rechtsventrikulärer Funktion	59
Abbildung 17b: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei erhaltener rechtsventrikulärer Funktion	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Kardiomyopathien	12
Tabelle 2: Datenverfügbarkeit	34
Tabelle 3: Klinische Daten der Patient*innen	36
Tabelle 4: Vergleich der Mediane zwischen den Patient*innen mit und ohne ischämische Kardiomyopathie	40
Tabelle 5: Zusammenhang der Variablen via Korrelationsmatrix	43
Tabelle 6: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Einzelindikatoren	45
Tabelle 7: Zusammenhang zwischen CILP1, den Einzelindikatoren und ICM 2	46
Tabelle 8: Vergleich der Mediane - Mortalität	53
Tabelle 9: Vorhersagefähigkeit von CILP1 bezogen auf die Mortalität	54
Tabelle 10: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Indikatoren in einer multivariaten Analyse über die gesamte Kohorte	56
Tabelle 11: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Indikatoren in einer multivariaten Analyse: TAPSE >16mm	61
Tabelle 12: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Indikatoren in einer multivariaten Analyse: TAPSE <16mm	63

Abkürzungsverzeichnis

α SMA	α Smooth Muscle Actin
Agc1	Aggrecan
AHA	American Heart Association
ANOVA	Analysis of Variance
ARVCM	Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathie (dt. arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie)
AST	Aspartat - Aminotransferase
BMI	Body-Mass-Index
CAD/(dt. KHK)	Coronary Artery Disease (dt. Koronare Herzkrankheit)
CCS	Chronic Coronary Syndrom (dt. Chronisches Koronarsyndrom)
CILP1	Cartilage Intermediate Layer Protein 1
Col2a1	Collagen Typ 2 Gen
CRP	C-reaktives Protein
cTnI	Kardiales Troponin I
cTnT	Kardiales Troponin T
DCM	Dilated Cardiomyopathy (dt. dilatative Kardiomyopathie)
Ddr2	Discoidin Domain Receptor 2
eGFR	Estimated Glomerular Filtration Rate (dt. geschätzte Glomerulärefiltrationsrate)
ESC	European Society of Cardiology
ELISA	Ezyme Linked Immunosorbent Assay
ERK1/2	Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2
EMA	European Medicine Agency
HCM	Hypertrophic Cardiomyopathy (dt. hypertrophe Kardiomyopathie)
HEK293	Human Embryonic Kidney 293
HFrEF	Heart Failure with reduced Ejection Fraction
IGF1	Insulin- like Growth Factor 1
ICM	Ischemic Cardiomyopathy (dt. Ischämische Kardiomyopathie)
ISFC	International Society and Federation of Cardiology
IQR	Interquartilsabstand
IVSd	Diastolische Interventrikuläre Septumdicke
LGE	Late Gadolinum Enhancement

LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVPWd	Diastolische Stärke der linksventrikulären Hinterwand
MI	Myokardinfarkt
mTOR	Mammalian/ mechanistic target of rapamycin
mRNA	Micor Ribonucleic Acid
NT-proBNP	N-Terminales pro Hormon B-Typ Natriuretisches Peptid
NYHA	New York Heart Association
PCI	Percutan Coronary Intervention (dt.Perkutane Koronarintervention)
PAPS	Pulmonary Artery Pressure
PCR	Polymerase Chain Reaction (dt. Polymerase Kettenreaktion)
PI3-Kinase	Phosphoinositid -3- Kinase
PPi	Proton Pump inhibitor
RCM	Restrictive Cardiomyopathy (dt. Restrictive Kardiomyopathie)
ROC	Receiver Operating Characteristic
RNA	Ribonucleic Acid
RVEF	Rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion
SOX9	SRY-related high mobility group box
Smad3	Small mothers against decapentaplegic homolog 3
TAC	Transverse Aortic Constriction (quere Aortenverengung)
TAPSE	Tricuspid Plane Annular Systolic Excursion (dt. Auslenkung des trikuspiden annulus)
TGFB1	Transforming Growth Factor Beta 1
WHO	World Health Organisation

1 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen gehören weltweit zu den führenden Todesursachen, und im Jahr 2010 war allein die ischämische Herzkrankheit gemeinsam mit dem Insult, Grundlage für eine von vier Todesursachen ^{1,2}.

Einen wichtigen Stellenwert nimmt hier auch die Herzinsuffizienz ein, bietet sie denn, aufgrund des zunehmenden Anteils älterer Menschen innerhalb der Bevölkerung, nicht nur medizinische, sondern auch ökonomische Herausforderungen. Die Herzinsuffizienz ist ein Symptomkomplex, welcher auf Grundlage einer insuffizienten Ventrikelfüllung oder Pumpleistung des Herzens entsteht und auf eine funktionelle oder strukturelle Beeinträchtigung zurückzuführen ist. Häufige Ursachen für eine Herzinsuffizienz können beispielsweise ischämische Herzkrankheiten, ein Myokardinfarkt, Arterielle Hypertonie oder pathologische Klappenveränderungen sein ³.

Obwohl eine ischämische Kardiomyopathie ursächlich für eine Herzinsuffizienz sein kann, lassen sich Analogien, wie beispielsweise im Falle von gemeinsamen, prognostischen Biomarkern, dennoch nicht so einfach ziehen ⁴. Klassische Biomarker, wie NT-proBNP, konnten sich in der Diagnose und Prognose einer Herzinsuffizienz zwar sehr gut etablieren, sind allerdings als alleiniger prognostischer Marker bei einer ischämischen Kardiomyopathie potenziell wenig spezifisch ^{5,6}. Von besonderem Interesse ist daher ein Biomarker, welcher spezifisch für die ischämische Kaskade einer Kardiomyopathie ist und zur Evaluation des Mortalitätsrisikos herangezogen werden kann, da Patient*innen mit einer ischämischen Kardiomyopathie, ein erhöhtes Mortalitätsrisiko haben, im Vergleich zu Personen mit einer Kardiomyopathie nichtischämischer Genese ⁷.

Einen speziellen Stellenwert nimmt hier der rechte Ventrikel ein, da beispielsweise eine Studie von Voelkel et al. (2006) zeigen konnte, dass die rechtsventrikuläre Dysfunktion bei Patient*innen mit einer Herzinsuffizienz, auf Grundlage einer Kardiomyopathie, ein signifikanter Vorhersagewert bezüglich der Mortalität sein kann ⁸. Im Laufe der Forschung an ischämischen Herzerkrankungen sowie aufgrund der größer werdenden Präsenz von Biomarkern innerhalb der Forschung, schenkte man dem Cartilage Intermediate layer Protein (CILP1) immer mehr Aufmerksamkeit. Am Anfang noch vorrangig der Knorpelmatrix zugeschrieben ^{9,10} wurde das Glycoprotein, aufgrund seiner erhöhten Expression, beispielsweise nach einem Myokardinfarkt, oder im Rahmen einer pulmonalen Hypertonie, zu einem spannenden Anwärter auf eine Rolle im Bereich der kardialen Biomarkerforschung ^{11,12}. Die Assoziation von CILP1 mit dem Krankheitsbild

einer ischämischen Kardiomyopathie wurde erst 2022 in einer Studie beschrieben und lässt vermuten, dass CILP1 eine prognostische Rolle bei Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie und zusätzlicher rechtsventrikulärer Dysfunktion hat ¹³. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zu untersuchen, ob das Protein CILP1 als kardialer Biomarker das Potential haben könnte, zur Risikostratifizierung der Mortalität bei Patient*innen mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie, herangezogen zu werden.

1.1 Kardiomyopathien

Der Begriff Kardiomyopathie ist ein Terminus, welcher in dieser Form das erste Mal 1957, durch den britischen Kardiologen Wallace Brigden (1957) definiert wurde, und damals als nicht-koronare myokardiale Krankheit unbekannter Genese beschrieben wurde ^{14,15}. Ab diesem Zeitpunkt unterlief der Begriff stetigen Erweiterungen, sowie Einschränkungen und so schlug die World Health Organisation (WHO) gemeinsam mit der International Society and Federation of Cardiology (ISFC) 1980 eine neue Klassifizierung vor. Kardiomyopathien wurden in dilatiert, hypertroph sowie restriktiv unterteilt und gleichzeitig schloss man bekannte Genesen einer Herzmuskelerkrankung wie beispielsweise die Koronare Herzerkrankung, von dieser Einteilung aus ¹⁶.

1996 schlossen sich die WHO und ISFC erneut zusammen und erarbeiten eine differenziertere Klassifikation, in welcher Kardiomyopathien, abhängig von der vorherrschenden Pathologie, in zwei große Gruppen eingeteilt wurden. Wie in Tabelle 1 ersichtlich, setzt sich die erste große Gruppe der Kardiomyopathien aus den dilatativen (DCM), hypertrophen (HCM), restriktiven (RCM), arrhythmogenisch-rechtsventrikulären (ARVCM) und unklassifizierbaren Kardiomyopathien zusammen. Die zweite große Gruppe bildete die Gruppe der spezifischen Kardiomyopathien, welche mit spezifischen kardialen oder systemischen Dysfunktionen assoziiert war. Hierzu zählen Erkrankungen wie die ischämische, valvuläre oder hypertensive Kardiomyopathie¹⁷.

Tabelle 1: Einteilung der Kardiomyopathien nach Richardson et al., 1996 ¹⁷

Begriff	Klassifikation
Kardiomyopathien	Dilatative Kardiomyopathie
	Hypertrophe Kardiomyopathie
	Restriktive Kardiomyopathie
	Arrhythmogenisch-rechtsventrikulären Kardiomyopathie
	Unklassifizierbare Kardiomyopathie
Spezifische Kardiomyopathien	Ischämische Kardiomyopathie
	Valvuläre Kardiomyopathie
	Hypertensive Kardiomyopathie

1.2 Ischämische Kardiomyopathie

1.2.1 Definition

Der Begriff der ischämischen Kardiomyopathie beschrieb ursprünglich eine Herzmuskelerkrankung, ohne zugrundeliegende kardiale Erkrankung. So schloss die American Heart Association (AHA) 2006 die ischämische Kardiomyopathie nicht in die Klassifikation einer Herzmuskelerkrankung mit ein, wenn sie auf Basis eines Myokardinfarktes oder einer myokardialen Ischämie durch atherosklerotischen Grunderkrankungen, entstanden war ¹⁸. Felker et al. (2002) beschreiben die ischämische Kardiomyopathie als linksventrikuläre, systolische Dysfunktion, welche entweder mit einer vergangenen koronaren Intervention oder einem vergangenen Myokardinfarkt einhergeht. Darüber hinaus wird unterschieden, ob entweder eine ≥ 75 -prozentigen Stenose der linken Hauptkoronararterie, eine Stenose der proximalen, linksanterioren, deszendierenden Koronararterie oder eine mehr als 75-prozentige Stenose von zwei anderen epikardialen Gefäßen vorliegt. Das Ziel dieser Studie war es, eine akkurate Definition des Begriffes zu erhalten und damit eine bessere Prognose stellen zu können ¹⁹. Zur weiteren und präziseren Definition einer ischämischen Kardiomyopathie wurde die kardiale Magnetresonanzuntersuchung ergänzend hinzugezogen. In einer Studie von Soriano et al. (2007) konnte eine subendokardiale, späte Gadolinium-Anreicherung (LGE) bei 94% der Patient*innen mit einer ischämischen Kardiomyopathie nachgewiesen werden. Ebenso konnte eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der LGE und der Ausprägung des koronararteriellen Verschlusses (CAD) aufgezeigt werden. Dies

macht die LGE zu einem reliablen Indikator, um eine ischämische Kardiomyopathie zu diagnostizieren und um gleichzeitig eine CAD nachzuweisen ²⁰.

Rezenten Bestrebungen, eine aktuelle Definition der ischämischen Kardiomyopathie zu erarbeiten, verstehen die Erkrankung als einen Komplex aus Symptomen einer Herzinsuffizienz mit linksventrikulärer Dysfunktion, häufig auf der Grundlage einer kardialen Gefäßerkrankung mit ischämischer Komponente und folgender myokardialer Minderperfusion ^{21,22,23}.

1.2.2 Der linke Ventrikel im Rahmen einer ischämischen Kardiomyopathie

Das Krankheitsbild der ischämischen Kardiomyopathie besteht aus einer Reihe an pathophysiologischen Prozessen, welche im Verlauf häufig in einem linksventrikulären Remodeling münden ²⁴. Diese Veränderungen auf molekularer Ebene führen oftmals zu Veränderungen der Kontraktionsfähigkeit und in weiterer Folge zu einer Reduktion der linksventrikulären Ejektionsfraktion ⁷. Ein Teil dieses Pathomechanismus ist das „myocardial stunning“. Dabei kommt es zu einer Ischämie-bedingten, myokardialen Dysfunktion der Kontraktionsfähigkeit. Ursache eines solchen „myocardial stunning“ ist wahrscheinlich ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren ²⁵. Zum einen kann die Entstehung von freien Sauerstoffradikalen daran beteiligt sein, zum anderen eine Calciumüberlastung nach Reperfusion sowie eine verringerte Reaktion der kontraktilen Filamente auf Calcium. Durch eine Revaskularisation ist diese Form der Hypokontraktilität zwar reversibel, der Zeitraum bis zur vollständigen Regeneration des Myokards allerdings lang. Ein weiterer Begriff, welcher vom „myocardial stunning“ abgrenzbar und ebenfalls Teil des Pathomechanismus der ischämischen Kardiomyopathie ist, ist der Begriff der „hibernation“. Darunter versteht man den, durch eine Ischämie ausgelösten, temporären Verlust der myokardialen Kontraktilität. Dieser reversible Prozess soll ein protektiver Anpassungsmechanismus des Myokards auf die verringerte Perfusion sein. Im Unterschied zum „myocardial stunning“ kommt es bei der „hibernation“, parallel zur Revaskularisierung, zu einer Regeneration des Myokards und somit zu einem Funktionsgewinn. Die „hibernation“ besteht aus einer Reihe an strukturellen Veränderungen und eine Chronifizierung dieses Zustandes kann zu irreversiblen Veränderungen der Extrazellulärmatrix sowie zu einer Fibrose und letztlich zur Narbenbildung führen ²⁶. Durch bestimmte Charakteristika, beispielsweise in bildgebenden Verfahren, kann eine prospektive Aussage darüber getroffen werden, ob

bestimmte myokardiale Areale von einer Revaskularisierung profitieren würden oder nicht. Diese potenzielle Kapazität zur Regeneration, wird „viability“ bzw. „viable myocard“ genannt. ^{24,26}. Pathophysiologische Mechanismen, wie Narbenbildung, „myocardial stunning“ oder „myocardial hibernation“ sind Teil der ischämischen Kardiomyopathie und auch in einer, aus der Kardiomyopathie resultierenden, ischämischen Herzinsuffizienz zu finden ²⁷.

1.2.3 Der rechten Ventrikel im Rahmen einer ischämischen Kardiomyopathie

Beim Krankheitsbild der ischämischen Kardiomyopathie sind allerdings nicht nur linksventrikuläre Pathologien zu finden sondern ebenso rechtsventrikuläre Einschränkungen ²⁸. Entsprechend lohnt sich auch eine isoliertere Betrachtung des rechten Ventrikels, da angenommen werden kann, dass Patient*innen mit einer Kardiomyopathie im Verlauf häufiger an einer Rechtsherzinsuffizienz erkranken ⁸. Hervorzuheben ist hier die Studie von Sabe et al. (2016), welche annehmen lässt, dass innerhalb der Kohorte von Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie, eine verringerte rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion mit einer schlechter Prognose assoziiert sein kann ²⁹. Mit neueren diagnostischen Methoden wie der dreidimensionalen Echokardiografie, der zweidimensionalen „speckle-tracking“ Echokardiografie oder der kardialen Magnetresonanztomografie (CMR) rückte der rechte Ventrikel mit seiner Funktion etwas mehr in den Fokus. So war man damit ebenfalls in der Lage, akkuratere Aussagen bezüglich der Pathophysiologie und der rechtsventrikulären Pumpfunktion zu tätigen ³⁰. Eine weitere und gängige echokardiografische Möglichkeit, den rechten Ventrikel in seiner Funktion zu evaluieren, ist die tricuspid plane annular systolic excursion, kurz TAPSE.

1.2.4 Echokardiografische Einschätzung der rechtsventrikulären Funktion anhand des Parameters TAPSE (Tricuspid Plane Annular Systolic Excursion)

1983 evaluierten Kaul et al. echokardiografisch die rechtsventrikuläre Funktion und beschrieben als eine der ersten eine Korrelation zwischen der RVEF und der TAPSE ³¹. Gemessen via M-Mode in einer apikalen Vierkammerprojektion, charakterisiert die TAPSE die systolische Auslenkung des Trikuspidalklappenrings und gibt dadurch die longitudinale Funktion des rechten Ventrikels wieder ³². In Abbildung 1 ist eine schematische Darstellung der apikalen Vierkammerprojektion mit eingezeichneter

Gerade zu sehen. Die Achse verläuft durch den lateralen Rand des trikuspiden anulus und misst zwischen Enddiastole und Endsystole die Strecke, die der Trikuspidalklappenring zurücklegt³³. Je größer die Bewegungskapazität im Rahmen von Enddiastole bis Endsystole, desto besser die rechtsventrikuläre Funktion, und so sei laut American Society of Echocardiography eine TAPSE < 16 mm ein Indikator einer rechtsventrikuläre Dysfunktion³⁴. In Abbildung 1 und 2 ist die echokardiografische Darstellung der TAPSE Messung mit M-mode zu sehen. Auch hier liegt der M-mode-Zeiger am lateralen Rand des Trikuspidalklappenrings und das longitudinale Bewegungsausmaß des rechten Ventrikels ist als vertikale Gerade in der Echokardiografie ersichtlich³⁵.

Ein Vorteil der TAPSE ist, dass sie eine niederschwellige Untersuchungsmethode ist, welche abseits von aufwendigen bildgebenden Verfahren, eine rasche Aussage bezüglich der rechtsventrikulären Pumpfunktion ermöglichen kann. Im Vergleich zur RVEF ist die TAPSE hinsichtlich geringer kardiovaskulärer Versteifungen sensibel und ermöglicht somit frühzeitig eine genauere Annäherung an die tatsächliche rechtsventrikuläre Pumpfunktion³⁶.

Sowohl bei einer pulmonalen Hypertonie als auch bei einer Herzinsuffizienz hat die Untersuchung via TAPSE eine hohe prädiktive Vorhersage und kann gleichzeitig bei nahezu jeder Person durchgeführt werden. Dennoch ist zu beachten, dass mit dem eindimensionalen M-mode der Untersuchungsmethode dreidimensionale regionale rechtsventrikuläre Veränderungen vernachlässigt werden und das gegebenenfalls die Repräsentativität des TAPSE-Wertes beeinflussen kann^{32,37}.

Abbildung 1: Schematische Darstellung der apikalen Vierkammerprojektion. Die hier abgebildete Gerade läuft echokardiografisch über den lateralen Rand des trikuspiden anulus und misst im M-mode die Auslenkung des Trikuspidalklappenrings.
(<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0736467919308005-gr2.jpg>)³³

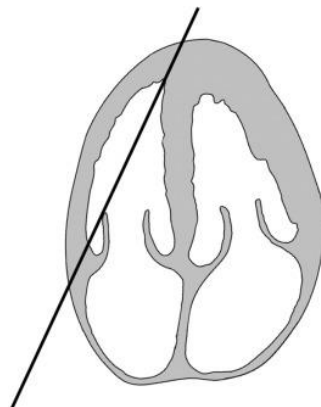
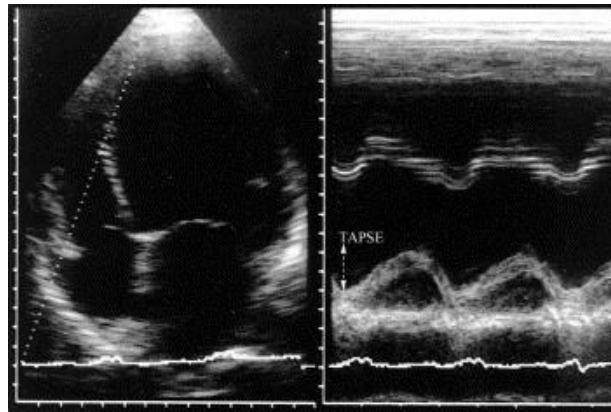


Abbildung 2: Echokardiografische Darstellung der apikalen Vierkammerprojektion. Links, die M-mode Gerade hier gelegen am seitlichen Rand des trikuspiden annulus. Rechts die Messung der TAPSE via M-mode.

(<https://www.ajconline.org/cms/attachment/29563e5a-a178-442a-b54f-ca8130ad7f7d/gr1.jpg>)³⁵



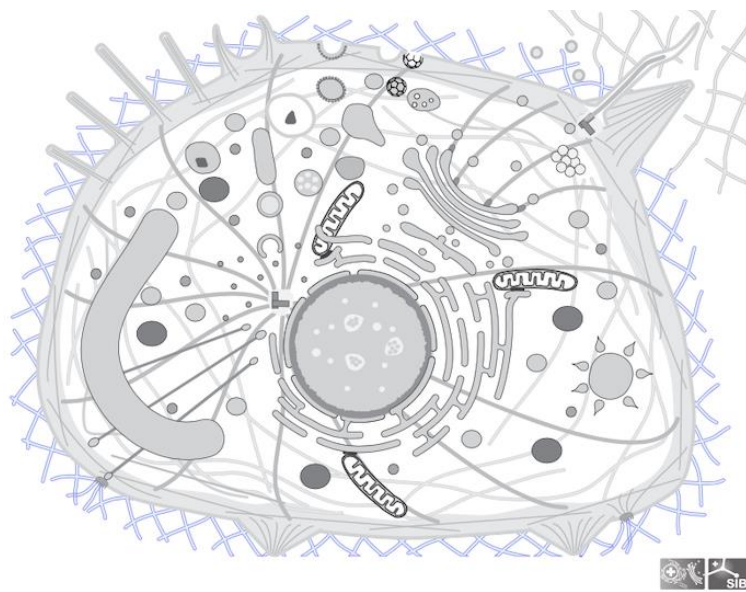
1.3 Cartilage Intermediate Layer Protein – CILP

Das Cartilage intermediate layer Protein - CILP ist ein Glycoprotein welches 1989 von Lorenzo et al. in der Extrazellulärmatrix von Gelenkknorpeln beschrieben wurde und man schrieb insbesondere der Isoform CILP1 die Funktion zu, modulierenden Einfluss auf die Struktur der Knorpelmatrix zu nehmen¹⁰. Untersuchungen in vitro ergaben eine Erhöhung von zwei Isoformen, CILP1 und CILP2, in der intermediär-Zone von alternden Gelenken sowie in, von Osteoarthritis befallenen Gelenkknorpeln⁹. Eine Immunisierung von Mäusen mit CILP1 führte zu einer langanhaltenden aber milden Arthritis sowie zu Kalzifizierungsprozessen der Achillessehne und Veränderungen der Knochenmatrixstruktur³⁸. Man assoziierte CILP1 in erster Linie mit matrizellulären Prozessen, welche beispielsweise wichtig für den Erhalt der Homöostase von Knorpeln sind und eine Rolle bei der Pathogenese von Knorpel- und Knochenerkrankungen spielen³⁹. Zur schematischen Verdeutlichung der potentiellen Lokalisation von CILP1 im zellulären Netzwerk ist in Abbildung 3 sowohl eine Zelle, als auch die Extrazellulärmatrix als blaues, strangförmiges Netz abgebildet. Im Falle von Chondrozyten liegt CILP1 somit, eingebettet innerhalb des extrazellulären Geflechtes, zwischen den einzelnen Knorpelzellen⁴⁰.

Studien konnten zeigen, dass zirkulierendes CILP1 nicht ausschließlich mit einer Knorpeldegeneration zusammenhängt. So konnte nach einer Myokardischämie ein

Einfluss von CILP1 auf das Remodeling der kardialen Extrazellulärmatrix nachgewiesen werden ⁴¹. Im Verlauf der letzten Jahre, häuften sich die Studien zu zirkulierendem CILP1 und dessen potentieller Fähigkeit, modulierend in kardiale, fibrotische Prozesse eingreifen zu können ^{42,43,44,45,46,47,12,48}. Diese Arbeit untersucht, wie schon Shao et al. (2021) und Keranov et al. (2022), speziell die CILP1-Expression bei einer ischämischen Kardiomyopathie und ob das Glycoprotein das Potential haben könnte, hierfür ein prognostischer Vorhersagewert zu sein.

Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Tierzelle. Als die Zelle umgebend, ist die Extrazellulärmatrix als blaues, strangförmiges Netzwerk abgebildet. Im Falle von Chondrozyten befindet sich CILP1 innerhalb dieses extrazellulären Geflechts zwischen den einzelnen Zellen. Erstellt von Swiss Institutes of Bioinformatics. Copyright: SwissBioPics unter CC BY 4.0 (https://www.swissbiopics.org/name/Animal_cell) ⁴⁰



1.3.1 CILP – Aufbau

Das Cartilage Intermediate Layer Protein ist ein 138kd großes, matrizelluläres Protein, welches vermehrt von Chondrozyten der intermediären Knorpelschicht produziert wird ⁴⁸. Anschließend wird CILP1 sowohl in die Interterritorialmatrix als auch in den perizellulären Matrixraum der Extrazellulärmatrix abgegeben. Beide CILP1 Isoformen, CILP1 und CILP2, werden von hyalinen Gelenksknorpelzellen exprimiert und sind in ihrer cDNA zu 51,5% ident ⁹. Die N-terminale Domäne von CILP1 (NCILP1) ist ein, in etwa, 78,5 kda großes Fragment. Es besteht aus einer Thrombospondin-Typ-1

Wiederholungsdomäne mit einem WSXW-Motif, einer Immunglobulin-C2-Domäne, einer Aldehyddehydrogenase-Seite sowie einer ATP-Bindungsseite.

Zur Verdeutlichung der Lage der angeführten Domänen innerhalb des Proteins CILP1, ist untenstehend, in Abbildung 4 eine schematische Darstellung des Proteins. Im Bereich des N-terminalen Endes von CILP1 findet sich, nach Johnson et al. (2003), die Thrombospondin-Typ1-Domäne mit Aldehyddehydrogenase-Seite. Ihr nachgeschaltet ist die ATP-Bindungsseite und anschließend die Immunglobulin-C2-Domäne. Die C-terminale Domäne (CCILP1) hat eine Größe von in etwa 51,8 kda¹⁰. Ihr wurde eine Nucleotid-Pyrophosphatase-Phosphodiesterase-Funktion nachgesagt, dies konnte 2003 durch Johnson et al. allerdings nicht bestätigt werden⁹.

Das N-terminale Ende von CILP2 besteht ebenfalls aus einer Thrombospondin-Typ-1 Wiederholungsdomäne mit einem WSXW-Motif sowie einer Immunglobulin-C2-Domäne. Hier allerdings nicht vorhanden ist die Aldehyddehydrogenase-Seite sowie die ATP-Bindungsseite. Die C-terminale Domäne von CILP2 war so erhalten wie in CILP1 und hier wurde ebenso keine Nucleotid-Pyrophosphatase-Phosphodiesterase-Funktion nachgewiesen⁹. Zur Veranschaulichung der Tertiärstruktur von CILP1 dient das Modell in Abbildung 5⁴⁹.

Abbildung 4: Zweidimensionale Abbildung von CILP1. Dargestellt ist das Protein mit seinem N-terminalen sowie C-terminalen Ende. Innerhalb des N-terminalen Endes abgebildet, die Thrombospondin-Typ-1-Domäne, Aldehyddehydrogenase-Seite, Immunglobulin-C2-Domäne und der ATP-Bindungsseite. Copyright John Wiley and Sons, Inc. ⁹

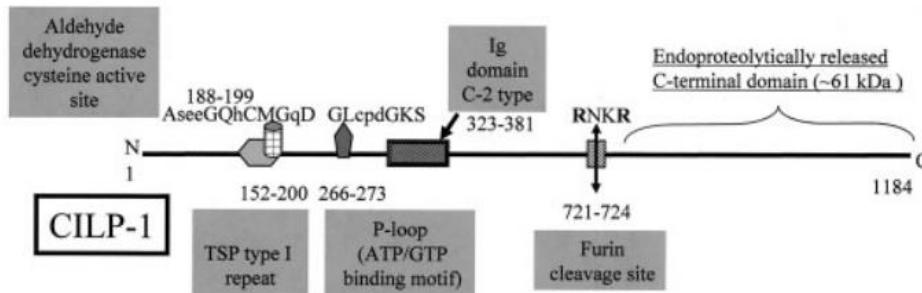


Abbildung 5: Modell der CILP1-Tertiärstruktur. Erstellt von SWISS-MODEL Repository. Copyright: Waterhouse et al. 2018 unter CC BY (<https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/O75339?template=8ov0.1.A&range=53-143>) ⁴⁹



1.3.2 Funktion von CILP1 – Molekulare Ebene

Unter pathologischen Umständen konnte man eine Erhöhung der CILP1-Expression in Chondrozyten beobachten. Gefördert wird die CILP1-Expression durch den Transforming Growth Factor Beta1 -TGFB1, welcher ebenso die Fähigkeit hat, die

Menge an extrazellulärem, anorganischem Pyrophosphat PPi zu steigern und damit die Kristallablagerung in humanen Gelenkknorpeln begünstigen kann. Physiologischerweise würde der Insulin-Growth-like-Faktor IGF1, die TGFB1-induzierte extrazelluläre PPi-Anreicherung hemmen. Man konnte aber beobachten, dass in alternden und in von Osteoarthritis befallenen Gelenken, CILP1 als IGF1-Antagonist fungiert und somit zu einer Erhöhung des extrazellulären PPi's beiträgt. Beobachtet wurde diese Fähigkeit zur Hemmung, bei der Isoform CILP1, nicht allerdings in CILP2, was vermuten ließ, dass die N-terminale Domäne maßgeblich an dieser Art der Antagonisierung beteiligt sei ⁹.

In humanen Zelllinien konnte man via quantitativer Echtzeit-PCR CILP1 sowohl in Chondrozyten als auch in HEK293-Zellen nachweisen und schrieb dem Glykoprotein so eine Rolle in der frühen Chondrogenese zu. SOX9, ein Transkriptionsfaktor der frühen Chondrozytendifferenzierung, Col2a1 und Agc1, nahmen keinen Einfluss auf die CILP1-mRNA-Expression. Beeinflusst wird CILP1 allerdings von TGFB1, einem Schlüsselregulator der Chondrogenese. 24 Stunden nachdem man Huh7-Zelllinien mit TGFB1 versetzte, konnte man den höchsten CILP1-mRNA-Wert messen. Das Protein Smad3 spielt eine wichtige Rolle in der Modulierung von Signalen, welche von TGFB1 initiiert werden. Smad3 induziert über eine Smad3-Phosphorylierung die CILP1-Expression über TGFB1. Diese Einflussnahme wird durch Nukleotidsequenzen, welche eine Smad3-Empfindlichkeit besitzen, vermittelt und befinden sich im Nukleotidsequenzbereich zwischen -3190 und -1014. Neben Smad3 gibt es mit der PI3-Kinase, ERK1/2, der Proteinkinase A und p38 weitere Mediatoren der TGFB1-induzierten CILP1-Expression innerhalb von Chondrozyten. Eine Hemmung dieser Faktoren über ihre spezifischen Antagonisten führten zu einer Verringerung der CILP1-mRNA-Produktion ³⁹. In-vitro und In vivo-Untersuchungen ergaben, dass CILP1 durch eine direkte Bindung über die Thrombospondin-Typ-1-Wiederholungsdomäne, die Fähigkeit hat, TGFB1 Signalwege zu hemmen. Somit interagieren CILP1 und TGFB1 im Sinne eines negativen Feedbackmechanismus miteinander und nehmen damit einen wichtigen Stellenwert im Erhalt der Knorpelhomöostase und im matrizellulären Remodeling ein ^{50,39}.

In den letzten Jahren rückten pathologische, kardiale Prozesse in den Fokus der Untersuchungen, da man erkannte, dass TGFB1 kardiale profibrotische Ereignisse fördert und ebenso die Extrazellulärmatrix reguliert, indem es Proteaseinhibitoren hemmt und damit die Matrixdestruktion bremst ⁴⁴. Auf kardialer Ebene intensiviert TGFB1 die Differenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten und fördert somit die

Myofibroblasten-assoziierte α SMA-Produktion. Durch die Bindung von NCILP1 an TGFB1 und der darauffolgenden Hemmung von TGFB1 wurde lange angenommen, dass CILP1 die Fähigkeit hat, die Myofibroblastendifferenzierung zu unterbinden und somit möglicherweise profibrotische Prozesse zu stoppen. Das hätte CILP1 die Möglichkeit gegeben, eine Akkumulation von matrizellulären Proteinen zu stoppen und einer kardialen Fibrose entgegenzuwirken. ^{44,41,42}.

Neuere Studien konnten zeigen, dass CILP1 über den mTOR-Signalweg kardiales Remodeling sowie eine kardiale Fibrose verstärkt und die Myofibroblastendifferenzierung vorantreibt ¹². Unterstützt wird die Annahme dadurch, dass eine Eliminierung von CILP1 zu einer zu einer schwächeren postmyokardialen, fibrotischen Veränderung führt und zum anderen in eine verringerte Myofibroblastendifferenzierung mündet ¹². Weiters führt eine Überexprimierung von NCILP1 in Myofibroblasten zu einem Voranschreiten des postmyokardialen Remodelings und eine Hemmung des mTOR-Signalwegs zu einer Reduktion der CILP1-vermittelten Myofibroblastenproliferation ¹². All diese Annahmen stehen in Kontrast zu den vergangenen Studien von Shindo et al. (2017) oder van Nieuwenhoven et al. (2017) und lassen darauf schließen, dass CILP1, trotz der antagonisierenden Wirkung gegenüber TGFB1, in profibrotische Prozesse involviert ist und nicht vor einem kardialen Remodeling schützen kann ¹².

1.3.3 CILP1 und seine Domänen

Die unterschiedlichen Domänen von CILP1 nehmen in der Funktion von CILP1 unterschiedliche Rollen ein. Bekannt ist, dass das N-terminale Ende von CILP1 über die Thrombospondin-Typ-1-Domäne an TGFB1 bindet, und damit dessen Signalwege direkt hemmen kann ^{39,50}. Dadurch wird zum einen, in Form einer negativen Rückkopplung, die TGFB1-induzierte Smad3-Phosphorylierung gehemmt. Des Weiteren wird die Differenzierung von kardialen Fibroblasten zu Myofibroblasten gehemmt und in der Folge kommt es zu verminderten α SMA- und SM22 α -Konzentrationen. Auch die TGFB1-geförderte Expression von Kollagen I und Kollagen III nahm nach Bindung von CILP1 an TGFB1 ab ⁴⁵. Untersuchungen bezüglich des biologischen Effektes des C-terminalen Endes von CILP1 ergaben, dass C-CILP nicht hemmend in die TGFB1-Signalwege eingreift, im Gegensatz zu N-CILP1 und CILP1. Dies ließ vermuten, dass

das C-terminale Ende von CILP1, nicht direkt an TGFB1 bindet und dessen Funktion eher indirekt antagonisieren könnte ⁴⁵.

1.3.4 CILP1 als Biomarker des kardialen Remodelings

Das TGFB1-induzierte Remodeling der Extrazellulärmatrix spielt unter anderem nach einem Myokardinfarkt eine große Rolle und fördert anschließend die Differenzierung von kardialen Fibroblasten zu Myofibroblasten. Es kommt zu einer erhöhten Kollagenproduktion durch Myofibroblasten sowie zu fibrotischen Umbauprozessen. Diese Veränderungen im Remodeling führen zu Beeinträchtigungen im Rahmen der Systole und Diastole sowie zu Arrhythmien ausgelöst durch eine elektrische Entkopplung ^{12,41}. RNA-Sequenzierungen von Mäuseherzen ergaben, dass das Glykoprotein CILP1 am siebten Tag post Myokardinfarkt einen Höhepunkt erreicht. Die CILP1-Expression wurde in kardialen Fibroblasten durch TGFB1 induziert und war in Infarktarealen 29-mal höher als in der Kontrollgruppe ⁴⁴.

CILP1 als kardiales matrizelluläres Protein wird nicht nur nach einem Myokardinfarkt vermehrt exprimiert. Bei Patient*innen mit einer Aortenklappenstenose waren myokardiale CILP1-Werte in kardialen Fibroblasten, im Vergleich zu der Kontrollgruppe, ebenfalls erhöht. Mikroarray-Analysen zeigten eine gesteigert CILP1-Expression bei Patient*innen, welche eine Ejektionsfraktion von weniger als 55% hatten. So scheint CILP1 sensitiv gegenüber druckinduzierten Veränderungen der kardialen extrazellulären Matrix zu sein ⁴².

Eine in-Vitro-TGFB1-Stimulation von menschlichen, kardialen Fibroblasten führte zu der Induktion einer CILP1-Expression. Um zu erkennen, ob CILP1 das Potential haben könnte als Biomarker für die kardiale Fibrose zu fungieren, führte man eine RNA-Sequenzierungen von menschlichem, myokardialem Gewebe durch. Diese ergab, dass es bei Patient*innen mit einem Herzversagen, ausgelöst durch ischämische Ereignisse, zu einer erhöhten CILP1-Expression kommt. Dies unterstützt die Annahme, dass CILP1 das Potential haben könnte, als Biomarker für eine kardiale Fibrose zu fungieren ⁴⁶.

1.3.5 CILP1 und rechtsventrikuläre Veränderungen

Der kardialen Hypertrophie des linken und rechten Ventrikels liegen viele molekularpathologische Mechanismen zugrunde, welche es insbesondere im rechten Ventrikel noch zu erforschen gilt. Bekannt ist, dass die rechtsventrikuläre Hypertrophie,

bei chronischer Druckerhöhung, weniger stark ausgeprägt ist als die, des linken Ventrikels ⁴³. In Modellen einer chronischen Ausflusstraktobstruktion bei Mäusen waren beim rechtsventrikulären Remodeling andere transkriptionelle Mechanismen involviert als im linken Ventrikel. Die Anzahl an Genen, welche auf transkriptioneller Ebene eine statistisch signifikante Veränderung aufwiesen, war im rechten Ventrikel 75-mal höher als im linken Ventrikel. Dies wurde als Kompensationsmechanismus verstanden, um eine übermäßige, rechtsventrikuläre Hypertrophie zu verhindern, da spekuliert wurde, dass der rechte Ventrikel aus physiologischer Perspektive eine eher mildere Form der Hypertrophie entwickelt, im Vergleich zum linken Ventrikel, welcher durch die hohe Druckbelastung schneller in einen hypertrophen Zustand übergehen muss ⁴³.

Unter chronischen Druckverhältnissen fand man innerhalb des rechten Ventrikels stärkere Veränderungen in den TGFB1-Signalwegen als linksventrikulär. Die CILP1-Expression war im rechten Ventrikel 26-mal größer als unter physiologischen Bedingungen. Im Vergleich war im linken Ventrikel, die CILP1-mRNA Expression nur 5-mal größer war als in der Kontrollgruppe ⁴³.

Die pulmonale Hypertonie führt zu einer Druckerhöhung im rechten Ventrikel, welche auf Dauer zu einem pathologischen Remodeling sowie in der Folge zu einem Rechtsherzversagen führen kann ⁵¹. CILP1-Expressionsanalysen von Mäusemyokarden, zeigten bei einer rechtsventrikulären Maladaptation, ausgelöst durch ein pulmonales Banding, höhere CILP1-Werte als in der Kontrollgruppe. Keranov et al. (2021) konnten zeigen, dass Patient*innen mit einem maladaptiven, rechten Ventrikel eine höhere CILP1-Expression hatten, als Patient*innen mit einer linksventrikulären Hypertrophie oder mit einer dilatativen Kardiomyopathie. Im Fall einer dilatativen Kardiomyopathie, führt eine rechtsventrikuläre Druckerhöhung in der Regel zu einer weniger stark ausgeprägten Fibrose als es im linken Ventrikel zu erwarten wäre. Anhand dieser Ergebnisse wurde spekuliert, dass der CILP1-Signalweg darin involviert sein könnte, die TGFB1 induzierte Fibrosen des Myokards zu hemmen ¹¹. Es wurde diskutiert, dass CILP1 in diesem Fall als antifibrotischer Modulator fungieren könnte, dies steht mittlerweile allerdings in Kontrast zu anderen Studien ^{12,47,48}.

1.3.6 CILP1 und sein Entstehungsort bei kardialen Pathologien

Shindo et al. (2017) untersuchten ischämisches Gewebe von Mäuseherzen und verstanden auf kardialer Ebene vor allem kardiale Fibroblasten als Quelle für das Protein CILP1. Es konnte in dieser Studie keine CILP1-Expression in Kardiomyozyten detektiert werden ⁴⁴. Ähnliche Ergebnisse wurden durch Nieuwenhoven et al. (2017) beschrieben. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde ischämisches, myokardiales Gewebe von Ratten in Bezug auf eine CILP1-Expression untersucht. Ebenso konnte innerhalb dieser Untersuchungen festgestellt werden, dass kardiale Fibroblasten der Ursprung für die Produktion des Glykoproteins CILP1 sind ⁴².

In Kontrast dazu steht die Studie von Zhang et al. (2018), in welcher ebenso untersucht wurde, welche Zelltypen für die CILP1- und CILP2-Produktion verantwortlich sein könnten. Eine CILP1-Expression konnte sowohl in kardialen Myozyten als auch in nicht-Myozyten von adulten Mäuseherzen festgestellt werden. Allerdings war die Menge an CILP1 in Myozyten höher. Immunfluoreszenzfärbungen in kultivierten kardialen Myozyten sowie in Fibroblasten zeigten eine deutliche CILP1-Expression in adulten Myozyten. Eine Studie aus dem Jahre 2020 untersuchte kardiale Fibroblasten von Mäusen nach einer queren Aortenverengung (transverse aortic constriction - TAC) und verstand erneut Fibroblasten in Arealen einer Fibrose als zelluläre Quelle für das Protein CILP1 ⁴⁶. Via Immunfluoreszenzfärbungen von myokardialem Narbengewebe konnte die anatomische Lage von CILP1 innerhalb fibrotischer Regionen detektiert werden. Eine Kollokalisierung von CILP1 mit anderen Fibroblastenmarkern, wie dem Discodin Domain-containing receptor 2 (Ddr2) oder α SMA wurde ebenfalls nachgewiesen was darauf hindeutet, dass es eine CILP1-Expression aus kardialen Fibroblasten in fibrotischen Arealen geben könnte ⁴⁶.

1.3.7 CILP1 und CILP2 – Unterschiede

CILP1 und CILP2 haben zwar eine ähnliche Primärstruktur, unterscheiden sich aber in ihrer Expression bei bestimmten pathologischen Gegebenheiten voneinander ^{9,45}. Im Vergleich zu CILP1, verringerte sich die CILP2-Expression in von Osteoarthritis befallenen Mäusegelenken ⁵² und CILP2 hat keinen hemmenden Einfluss auf IGF1 ⁹. Im linken Ventrikel von Mäusen kam es bei einer Druckerhöhung nach einer queren Aortenverengung zu einer erhöhten Protein-Expression von CILP1. CILP2 wiederum zeigte unter diesen Umständen keine Veränderung in der mRNA- und Proteinexpression.

Diese Erkenntnisse untermauern die Annahme, dass CILP1 ein Marker für druckinduziertes, kardiales Remodeling werden könnte, aber CILP2 dafür weniger geeignet zu sein scheint ⁴⁵.

1.3.8 Zirkulierendes CILP1

Im Kontrast zu der erhöhten CILP1-Expression innerhalb des fibrotischen Myokards in Studien von Shindo et al. (2017), Nieuwenhoven et al. (2017) oder Keranov et al. (2021) stehen die Erkenntnisse von Park et al. (2020) bezüglich des zirkulierenden CILP1s. Das Serum von Patient*innen mit einer Herzinsuffizienz wies in dieser Studie niedrigere CILP1-Werte auf als das Serum von gesunden Patient*innen. Auch in Untersuchungen mit Mäusen konnte man beobachten, dass die zirkulierenden CILP1-Werte bei den Mäusen, welche eine quere Aortenverengung erhielten, niedriger war als in der Kontrollgruppe. Während nach Park et al. (2020) Fibroblasten in fibrotischen Arealen des Myokards vermehrt CILP1 sezernieren, waren zirkulierende CILP1-Werte bei Patient*innen mit einer Herzinsuffizienz deutlich niedriger als die Werte von herzgesunden Patient*innen. Eine mögliche Ursache für dieses Paradoxon könnte sein, dass CILP1 in die Extrazellulärmatrix sezerniert wird und anschließend TGF β 1 bindet, und sich somit zirkulierende CILP1-Werte verringern ⁴⁶.

Die Studie von Keranov et al. (2021) konnte zeigen, dass die CILP1-Werte im Serum von Patient*innen mit einer Herzinsuffizienz höher waren als die CILP1-Werte in der Kontrollgruppe ¹¹. Dies wird durch die Ergebnisse von Wang et al. (2022) unterstützt, welche außerdem zusätzlich eine positive Korrelation mit NT-proBNP-Werten erfasst haben. Auch die Studie von Zhang et al. (2021) konnte nach einer kardialen Schädigung, im Sinne eines Myokardinfarktes, eine Hochregulation von CILP1-Werten im Serum messen ¹².

Eine mögliche Ursache für die abweichenden Ergebnisse der Studie von Park et al. (2020) könnte in den Antikörpern, welche in dieser Studie genutzt wurden, liegen. In dieser Arbeit wurden Anti-CILP1-Antikörper genutzt, welche gegen eine mittlere Sequenz von CILP1 gerichtet waren und somit in der Lage waren, ausschließlich CILP1 in voller Länge zu erfassen. Wang et al. (2022) sowie Keranov et al. (2021) und Q.-J. Zhang (2021) verwendeten hingegen andere Enzym-linked Immunosorbent Assay-Kits (ELISA). In diesem Fall wurde ein Anti-CILP1-Antikörper genutzt, welcher gegen das NCILP1 gerichtet war und somit zusätzlich zu CILP1 auch NCILP1 erfassen konnte.

Dieser Erklärungsansatz könnte die Begründung für die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien darstellen. Q.-J. Zhang (2021) fanden in ihrer Studie niedrigere Messwerte für CILP1 in voller Länge als für NCILP1 und detektierten weiters eine Hochregulation von NCILP1, sowohl im Gewebe als auch im Blut. Daher könnte die pathologische Wirkung des Proteins vorrangig im N-terminalen Ende gesehen werden, dies müsste allerdings in weiteren Studien genauer evaluiert werden ¹².

Bei einer chronischen Herzinsuffizienz erwies sich in der Studie von Wang et al. (2022) zirkulierendes CILP1 als unabhängiger Vorhersagewert in Bezug auf die Mortalität bei chronischer Herzinsuffizienz und zeigte sogar eine bessere prognostische Aussagekraft als NT-proBNP. Die erhöhten CILP1-Werte wurden von Wang et al. zum einen damit erklärt, dass bei einer Herzinsuffizienz häufig schon bereits eine rechtsventrikuläre Maladaptation bestehen würde, und diese wie Keranov et al. (2014) bereits zeigten, am stärksten mit einer CILP1-Erhöhung assoziiert sei. Weiters könne CILP1 die TGFB1-Expression zwar hemmen, wahrscheinlich allerdings nicht in dem Ausmaß wie TGFB1 die CILP1-Bildung fördern kann, woraus sich eine positive Korrelation zwischen CILP1 und dem profibrotischen TGFB1 ergibt. Wie genau der Wirkmechanismus dieses negativen Feedbackmechanismus ist, ist allerdings noch nicht gänzlich geklärt ⁴⁸.

1.4 Hintergrund – Biomarker

1.4.1 Biomarker – Definition

Der Begriff „Biomarker“ wird von der European Medicine Agency (EMA) als biologisches Molekül beschrieben, welches im Blut, in anderen Körperflüssigkeiten oder in Gewebe erfasst werden kann und die Funktion haben soll, Erkenntnisse über Pathologien in Mensch und Tier zu liefern ⁵³. Vasan et al. (2006) erklärten einen Biomarker als objektiv messbarer Kennwert, welcher eine Bewertung von physiologischen, pathogenen und pharmakologischen Prozessen erlaubt und mit einer therapeutischen Intervention assoziiert sein soll. Es gibt verschiedene Typen von Biomarkern, welche eine Vielzahl an Charakteristika anzeigen können, wie beispielsweise als klinischer Marker einer Krankheit oder die Einschätzung einer Therapieantwort ⁵⁴. Die idealen Charakteristika eines Biomarkers ergeben sich laut Dhingra und Vasan (2017) daraus, ob der Biomarker für diagnostische, prognostische oder Screening-Zwecke genutzt werden soll. So ist beispielsweise im Falle eines

diagnostischen Biomarkers wichtig, dass er sich proportional zu der Ausprägung der Erkrankung verhält, kostengünstig und gewebspezifisch ist ⁵⁵.

1.4.2 Kardiovaskuläre Biomarker

Die frühen Anfänge der kardialen Biomarkerforschung, hatten vorrangig das Ziel, Biomarker für Pathologien wie einen Myokardinfarkt oder das akute Koronarsyndrom zu entwickeln. So wurde 1950 der erste Biomarker in Bezug auf den Myokardinfarkt definiert, damals noch die Aspartat-Aminotransferase (AST) ⁵⁶. In den letzten Jahren etablierten sich kardiale Biomarker immer mehr im klinischen Alltag, zum einen aufgrund ihrer wichtigen Rolle als diagnostische Wegweiser, zum anderen aufgrund ihrer Funktion als präziser Wert zur Risikoabschätzung. Im Fokus stehen hier die B-Typ natriuretischen Peptide (BNP, NT-proBNP), die kardialen Troponine (cTnI, cTnT) und das C-reaktive Protein (CRP) ^{57,58}. Im Falle kardiovaskulärer Erkrankungen, versuchte man den Begriff Biomarker etwas globaler zu verstehen und involvierte bildgebende Verfahren sowie weitere messbare klinische Charakteristika mit ⁵⁹.

Wichtig für die klinische Aussagekraft eines kardialen Biomarkers ist zum einen die Organspezifität, idealerweise ist der Messwert bei Verletzungen anderer Organsysteme quantitativ kaum nachweisbar. Eine hohe Sensitivität, wie beispielsweise hohe Konzentrationen nach einem ischämischen Vorfall, können die Relevanz eines kardialen Biomarkers ebenfalls erhöhen. Wichtig sind außerdem eine einfache analytische Handhabung sowie die Tatsache, dass der Biomarker einen Einfluss auf das weitere klinische Prozedere haben kann ⁵⁷.

Der Weg hin zu einem Biomarker, welcher sich im praktischen Nutzen bewährt, ist mit vielen Anforderungen verknüpft und so schaffen es nur wenige, Biomarker nachhaltig in den klinischen Alltag ⁵⁹. Prospektive Studien, welche den klinischen Nutzen untersuchten, konnten sich als aussichtsreiche Vorgehensweise etablieren ⁶⁰. Die Implementierung von spezifischen, effizienten und wissenschaftsorientierten Entwicklungsschritten könne laut Elliott et al. (2021) maßgeblich dabei helfen, zukünftig mehr Biomarker im klinischen Alltag zu etablieren. Zu Beginn sollte das Augenmerk darauf liegen, dass klar definierte, klinische Anforderungen gesetzt werden und der Biomarker diese erfüllt. Der spezielle Biomarker sollte sich außerdem in seinem Nutzen positiv auf das Patient*innenmanagement auswirken und klare Vorteile im Vergleich zu anderen aktuellen Standards liefern. Im klinischen Alltag sollte der Biomarker möglichst

praktikabel sein und seine Verfügbarkeit, beispielsweise via Blut oder Urin, leicht und unkompliziert. Zuletzt muss sich der Marker positiv auf das weitere therapeutische oder diagnostische Prozedere der Patient*innen auswirken und beispielsweise zu einer Verringerung der Mortalitätsrate führen.⁶¹ Dennoch empfehlen beispielsweise Kott et al. (2022) etwas von den bewährten dichotomen Endpunkten, wie dem Eintritt des Todes oder dem Eintritt eines Myokardinfarktes, abzurücken. Der Fokus könnte so beispielsweise etwas mehr darauf gelegt werden, den Schweregrad einer Erkrankung via Biomarker einzuteilen und somit eine differenziertere Betrachtung zu erhalten⁵⁶. Es ist davon auszugehen, dass die Forschung rund um kardiale Biomarker in den folgenden Jahren weiter zunehmen wird.

Weitere klinische und epidemiologische Studien sowie Kosten-Nutzen-Analysen werden nötig sein, um zu evaluieren, welche Biomarker die anfallenden Anforderungen erfüllen, um in die medizinische Grundversorgung integriert werden zu können⁵⁴. Nach einer aktuellen Studie aus dem Jahre 2021 erwies sich CILP1 in Zirkulation als chancenreicher prädiktiver Faktor um die Mortalität bei einer chronischen Herzinsuffizienz vorherzusagen⁴⁸. Dieser derzeitige Forschungsstand, sowie die vergangenen Erkenntnisse zur Assoziation von CILP1 mit einer kardialen Fibrose machen das Glykoprotein zu einem vielversprechenden Anwärter für die Rolle als kardialen Biomarker¹².

2 Fragestellung und Hypothesen

In der vorliegenden Dissertation wird das Glykoprotein CILP1 untersucht und dessen Potential evaluiert, ein Marker zur Risikostratifizierung bei Patient*innen mit ischämischen Kardiomyopathie, zu sein.

Hierbei ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Ist CILP1 vermehrt im Blut von Proband*innen mit ischämischer Kardiomyopathie nachweisbar?
2. Findet sich eine erhöhte CILP1-Konzentration, bei Proband*innen mit zusätzlicher linksventrikulärer Einschränkung?
3. Kann CILP1 die Mortalität vorhersagen?
4. Hat das Protein CILP1 bei erhöhter Expression die Fähigkeit ein suffizienter Biomarker hinsichtlich des Mortalitätsrisikos, bei einer rechtsventrikulären Dysfunktion, zu sein?

Basierend auf den bisherigen Erkenntnissen in der Literatur sowie den genannten Fragestellungen sollen nachfolgend diese Hypothesen geprüft werden.

- Hypothese 1: CILP1 ist positiv mit ICM assoziiert.
- Hypothese 2: CILP1 ist positiv mit LVEF assoziiert.
- Hypothese 3: CILP1 ist positiv mit der Mortalität assoziiert.
- Hypothese 4: Bei rechtsventrikulärer Dysfunktion (TAPSE < 16mm) steigt mit zunehmendem CILP1 das Mortalitätsrisiko.

3 Material & Methoden

Um die Bedeutung von CILP bei der Risikostratifizierung von Patient*innen mit einer Kardiomyopathie ischämischer und nicht-ischämischer Ursache zu untersuchen, wurde im Sinne einer post-hoc Analyse eine Subgruppe der Bioprospective-Kohorte des Biomarker-Registers in Bad Nauheim verwendet. Für diese Evaluation wurden Daten und Bioproben von 538 Patient*innen des Registers, die im Zeitraum von 2010 bis 2014 eingeschlossen wurden, genutzt. Das Vorgehen der Registerstudie richtete sich nach der Deklaration von Helsinki sowie nach allen institutionellen Reglements. Das unabhängige Ethikvotum (AZ147/11) wurde von der Universität Gießen genehmigt.

3.1 Studienkohorte

Insgesamt ergab sich für die analysierte Subkohorte eine Studienteilnehmer*innen-Zahl von 538. Maßgebliches Kriterium zur Teilnahme an der ursprünglichen Registerstudie war die Einweisung zur medizinisch indizierten, invasiven Koronarangiographie bei Verdacht auf ein chronisches Koronarsyndrom (CCS). Dabei wurde die Indikation zur invasiven Koronarangiographie unabhängig von einer schon bekannten, koronaren Herzkrankheit gestellt. Die Behandlung fand in der Kerckhoff-Klinik, Abteilung für Kardiologie, statt. Aufnahmekriterien in die Studie war darüber hinaus eine Volljährigkeit (>18 Jahre) sowie eine persönlich unterzeichnete Einwilligungserklärung. Patient*innen, welche aktiv die Teilnahme an der Studie ablehnten, jünger als 18 Jahre alt waren oder nicht in der Lage waren, die Einverständniserklärung persönlich zu unterzeichnen, wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Für die vorliegende Arbeit wurden alle Patient*innen im entsprechenden Zeitraum mit eingeschränkter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (LVEF<50%) und vorhandenem Biomaterial zur CILP-Bestimmung ausgewählt. Hieraus ergab sich die analysierte Kohorte von 538 Studienteilnehmer*innen.

Daten bezüglich der Mortalität der Patient*innen wurden im August 2018 erhoben, mit einem zeitlichen Median von 6,53 (5,64 – 7,4) Jahren seit dem Studieneinschluss. Ischämische Kardiomyopathie (ICM) wurde definiert bei eingeschränkter LVEF und Vorliegen eines vergangenen Myokardinfarktes oder im Falle einer perkutanen Koronarintervention (PCI) oder eines koronararteriellen Bypasses. Es wurde ergänzend, mit Bezug auf die rechtsventrikuläre Funktion, eine Subgruppenanalyse mit 101 Patient*innen durchgeführt, welche eine rechtsventrikuläre Einschränkung im Sinne

einer verringerten TAPSE von <20mm hatten. Darüber hinaus wurde eine Subgruppenanalyse mit 514 Proband*innen durchgeführt, welche eine deutlicher eingeschränkte systolische linksventrikuläre Ejektionsfraktion von <40% hatten.

3.2 Untersuchungsmethoden

Bei allen analysierten Patient*innen der Kohorte wurde initial, entsprechend der am Zentrum genutzten SOP's, gel-gefüllte Monovetten (Saarstädt, Nümrecht, Germany) mit venösen Blut befüllt, zentrifugiert und weiterverarbeitet. Um die CILP1-Konzentration im Serum festzustellen, wurde das pseudonomysierte und bei -80 Grad Celsius eingefrorene Material genutzt. Alle Messungen des CILP1-Proteins wurden von ausgebildetem Personal in Etappen an aufgetauten Proben durchgeführt. Die Proben wurden das erste Mal direkt vor der CILP1-Messung aufgetaut, die Kühlkette wurde nicht unterbrochen. Zur Bestimmung der CILP1-Konzentration im Serum wurde ein hochsensitives Enzyme-linked immunosorbent Assay- Kit verwendet (ELISA) (Human Cartilage Intermediate Protein 1 ELISA Assay, Tecan infinite M200 Pro Plate reader with Magellan 7.3. Software, Cusabion Technology LCC Wuhan China).

3.3 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA

Die CILP1-Konzentration wurde mithilfe eines CILP-ELISA bestimmt. Der Erfassungsbereich des Assays beträgt 93,75-6000 pg/ml bzw. 93,75-60,000 pg/ml. Das Minimum an CILP1-Konzentration, welche noch über das CILP1-Assay zu detektieren ist, beträgt 23,4 pg/ml. Der Intra-Assay-Variationskoeffizient (CV) lag bei <8% und stellt sicher, dass die Ergebnisse, welche man innerhalb eines Assays erhalten hat, miteinander vergleichbar sind. Der Inter-Assay-Variationskoeffizient lag bei < 10% und beschreibt die Präzision, mit der man Ergebnisse aus Untersuchungen mit verschiedenen Assays miteinander vergleichen kann. Eine Kreuzreaktivität zwischen CILP und den Analoga wurde nicht beobachtet.

Für die Bestimmung von CILP wurde das Sandwich-ELISA-Prinzip angewendet. Die Wells-Vertiefungen einer Mikrotiterplatte wurden mit CILP-spezifischen Antikörpern vorbeschichtet. Die Proben, welche das CILP1-Antigen beinhalteten, wurden anschließend ebenfalls in diese Behälter pipettiert und CILP1 konnte somit an den immobilisierten Antikörper binden. Ungebundene Substanzen wurden durch das Waschen der Platte entfernt und ein zweiter Biotin-konjugierter Antikörper, ebenso

spezifisch für CILP1, wurde erneut in den Wells hinzugefügt. Es entsteht ein Antikörperpaar, welches das CILP1-Antigen ummantelt. Durch eine weitere Waschung wurden erneut überschüssige Substanzen eliminiert und im Anschluss wurde eine, an einen Antikörper gebundene, Peroxidase, in das Wells beigefügt, dessen ungebundene Anteile durch weiteres Waschen entfernt werden. Eine Substratlösung, passend zum Enzym, wurde in den Wells-Behälter hinzugefügt und eine Farbreaktion, abhängig von der Menge an gebundenem CILP1, konnte detektiert werden.

3.4 Datenschutz

Die erhobenen Biomaterialien und Daten der Patient*innen unterliefen einer Qualitätskontrolle und wurden nach standardisierten Sicherheitsbedingungen pseudonymisiert und unvollständige Informationen wurden via Patient*innen-Akten ergänzt.

3.5 Statistische Analyse

Alle kategorialen Variablen wurden als Anzahlen (n) und Prozente (%) der Patient*innen angegeben. Kontinuierliche Variablen wurden als Median mit dem entsprechenden Interquartilsabstand (IQR) beschrieben. Vor Gruppenvergleichen kontinuierlicher Variablen erfolgte über den Shapiro-Wilk-Test eine Überprüfung auf eine Normalverteilung. Vergleiche zwischen normalverteilten Variablen erfolgten mittels des Bonferroni-Tests sowie des Welch-two-sample t-Tests. Für nicht-normalverteilte Variablen wurde der Mann-Whitney-U-Test sowie der Kruskal-Wallis-Test oder die Dunnett-post-hoc-Analyse durchgeführt. Für die visuelle Darstellung der Daten wurden Histogramme und Grafiken erstellt. Eine Korrelationsanalyse, in Form einer Korrelationsmatrix, wurde mit allen kontinuierlichen Variablen durchgeführt. Um die prognostische Aussagekraft von CILP1 in Zusammenhang mit einer ischämischen Kardiomyopathie oder der Mortalität zu evaluieren, wurden ROC-Analysen (Receiver-operating-characteristic) ausgeführt. Für die ICM-Indikatoren und die Erweiterung der ICM-Indikatoren, wurde eine univariate hierarchische logistische Regression durchgeführt. Für die Subgruppenanalysen wurde die Anova-Analyse und Dunnett-post-hoc-Analyse angewandt. Hinsichtlich der Mortalität wurde eine uni-sowie multivariate hierarchische logistische Regression für ausgewählte Variablen ausgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte durch die Software Stata 17.0 BE- Basic Edition. Für die

verwendeten statistischen Tests wurde ein zweiseitiger p-Wert von $<0,05$ als statistisch signifikant angenommen. Die Datenverfügbarkeit der Kohorte ist in Tabelle 2 aufgezeigt.

Tabelle 2: Datenverfügbarkeit

Variable	Datenverfügbarkeit
Soziologische Indikatoren	
Alter (Jahren) Median (IQR)	538/538
Weibliches Geschlecht (%) n	538/ 538
BMI (kg/m ²) Median (IQR)	538/ 538
Kardiovaskuläre Risikofaktoren	
Diabetes mellitus (%) n	538/ 538
Arterielle Hypertonie (%) n	538/ 538
Dyslipidämie (%) n	534/ 538
Raucher*innen (%) n	538/ 538
Klinische Charakteristika	
KHK (%) n	538/ 538
Z.n. Myokardinfarkt (%) n	537/ 538
Z.n. PCI (%) n	538/ 538
Z.n. KAB (%) n	538/ 538
pAVK (%) n	529/ 538
Atriale Tachyarrhythmie (%) n	127/ 538
Z.n. Dekompensation (%) n	23/538
Z.n. Klappenoperation n	54/ 538
Z.n. Schlaganfall (%) n	530/ 538
NYHA ≥ 3 (%) n	246/538
Echokardiografische Charakteristika	
LVEF (%) Median (IQR)	537/ 538
LVPWd (mm) Median (IQR)	196/ 538
LVEDd (mm) Median (IQR)	213/ 538
IVSd (mm) Median (IQR)	205/ 538
TAPSE (mm) Median (IQR)	149/ 538
PASP (mmHg) Median (IQR)	124/ 538
Biomarker	
CILP1 (pg/dl) Median (IQR)	538/538
CRP (mg/dl) Median (IQR)	389/ 538
eGFR (ml/min/Vol) Median (IQR)	537/ 539
Kreatinin (mmol/dl) Median (IQR)	404/ 538

4 Ergebnisse

In den Vorliegenden Analysen wurden 295 Patient*innen mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie und 243 Patient*innen ohne ischämische Kardiomyopathie analysiert.

4.1 Beschreibung der Studienteilnehmer*innen

Die Daten der untersuchten Studienteilnehmer*innen, inklusive klinischer Daten, echokardiografischer Parameter sowie Biomarker finden sich detailliert in der unten aufgeführten Tabelle 3. Eine koronare Herzkrankheit (KHK) ließ sich bei 343 (64%) Personen diagnostizieren, ein vergangener Myokardinfarkt bei 191 (36%), eine vergangenen perkutane koronare Intervention bei 217 (40%) und ein koronararterieller Bypass bei 118 (22%) Studienteilnehmer*innen. Bei den 538 Patient*innen lag echokardiografisch eine mediane LVEF von 33% (IQR 25-38) vor. Der mediane TAPSE-Wert betrug 18mm (IQR 15-22). Die Bestimmung von CILP1 ergab eine mediane Konzentration von 2873 pg/ml (IQR 1907-4221) sowie eine CRP-Konzentration die im Median bei 0,3mg/dl (IQR 0,1-0,6) lag. Die Kreatinin Bestimmung ergab eine mediane Konzentration von 0,9 mmol/dl (IQR 0,8-1,2).

Tabelle 3: Klinische Daten aller Patient*innen der Kohorte

Variable	Deskription
Soziologische Indikatoren	
Alter (Jahren) Median (IQR)	69,5 (60,5-76,2)
Weibliches Geschlecht (%) n	97 (18,0)
BMI (kg/m ²) Median (IQR)	28 (25,5-31,8)
Kardiovaskuläre Risikofaktoren	
Diabetes mellitus (%) n	182 (34)
Arterielle Hypertonie (%) n	444 (83)
Dyslipidämie (%) n	377 (71)
Raucher*innen (%) n	126 (23)
Klinische Charakteristika	
KHK (%) n	343 (64)
Z.n. Myokardinfarkt (%) n	191 (36)
Z.n. PCI (%) n	217 (40)
Z.n. KAB (%) n	118 (22)
pAVK (%) n	55 (10)
Atriale Tachyarrhythmie (%) n	99 (78)
Z.n. Dekompensation (%) n	11 (48)
Z.n. Klappenoperation n	5 (9)
Z.n. Schlaganfall (%) n	58 (11)
NYHA \geq 3 (%) n	246 (45)
Echokardiografische Charakteristika	
LVEF (%) Median (IQR)	33 (25-38)
LVPWd (mm) Median (IQR)	11 (10-12)
LVEDd (mm) Median (IQR)	59 (54-64)
IVSd (mm) Median (IQR)	11 (10-12)
TAPSE (mm) Median (IQR)	18 (15-22)
PASP (mmHg) Median (IQR)	37 (32-49,4)
Biomarker	
CILP1 (pg/dl) Median (IQR)	2873 (1907-4221)
CRP (mg/dl) Median (IQR)	0,3 (0,1-0,6)
eGFR (ml/min/Vol) Median (IQR)	69 (47,8-95,3)
Kreatinin (mmol/dl) Median (IQR)	0,9 (0,8-1,2)

4.2 Der Biomarker CILP1 in der Gesamtkohorte

Das Histogramm in der Abbildung 6 spiegelt die Verteilung der CILP1-Werte innerhalb der Kohorte wider. Auf der x-Achse ist die CILP1-Konzentration in pg/ml angegeben und auf der y-Achse die Dichte der Verteilung. Der Stichprobenumfang betrug 538 und die Spitze der Daten liegt in etwa bei einem CILP1-Wert von 3000 pg/ml. Das Histogramm in Abbildung 6 zeigt eine nach links verschobene (rechtsschiefe) sowie spitze Verteilung mit einer Schiefe von 2,582 und einer Kurtosis von 13,396 und bestätigt grafisch, dass die Variable CILP1 nicht normalverteilt ist.

Eine Schiefe von 2,583 bedeutet, dass die Verteilung der CILP1-Werte eine zu geringe Symmetrie aufweisen. Die Kurtosis liegt bei dieser CILP1-Verteilung bei 13,396, somit besitzt die Distribution eine Leptokurtosis. Um die Variable CILP1 in eine normalverteilte Variable zu überführen, wurde eine Log-Transformation durchgeführt. Um eine Transformation zu identifizieren, welche eine annähernde Normalverteilung generiert, wurden verschiedene Transformationen miteinander verglichen (z.B. kubisch, Quadratwurzel etc.). In Abbildung 7 sind die Ergebnisse der unterschiedlichen Transformationen dargestellt, wobei die durchgezogene blaue Referenzlinie einer perfekten Normalverteilung entspricht. Wie der Abbildung 7 zu entnehmen ist, führt eine Log-Transformation von CILP1 zu einer normalverteilten Verteilungsfunktion (siehe Log-Histogramm). Uni- und multivariate Regressionen wurden mit der logarithmierten Variablen CILP1 durchgeführt.

Abbildung 6: Histogramm CILP1 – Verteilung der CILP1-Konzentration innerhalb der gesamten Kohorte

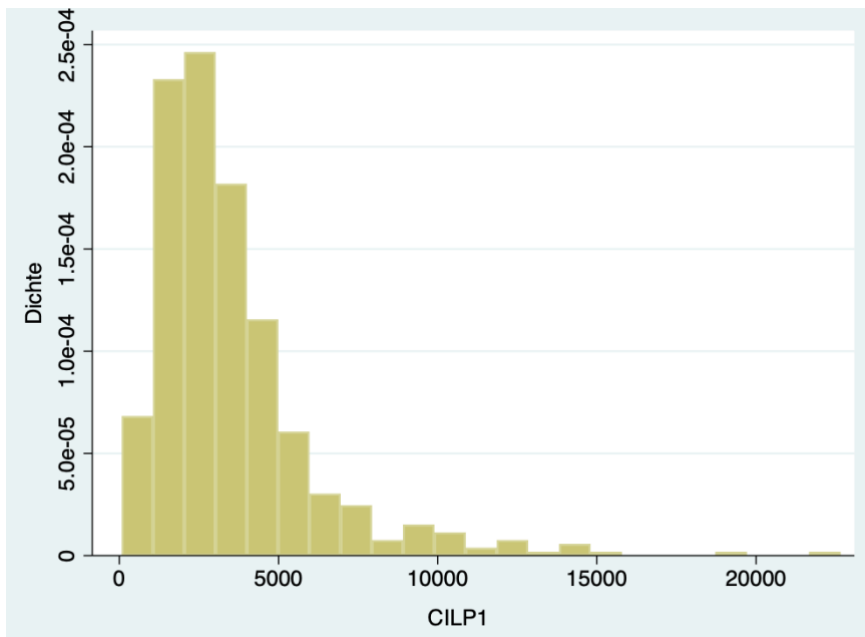
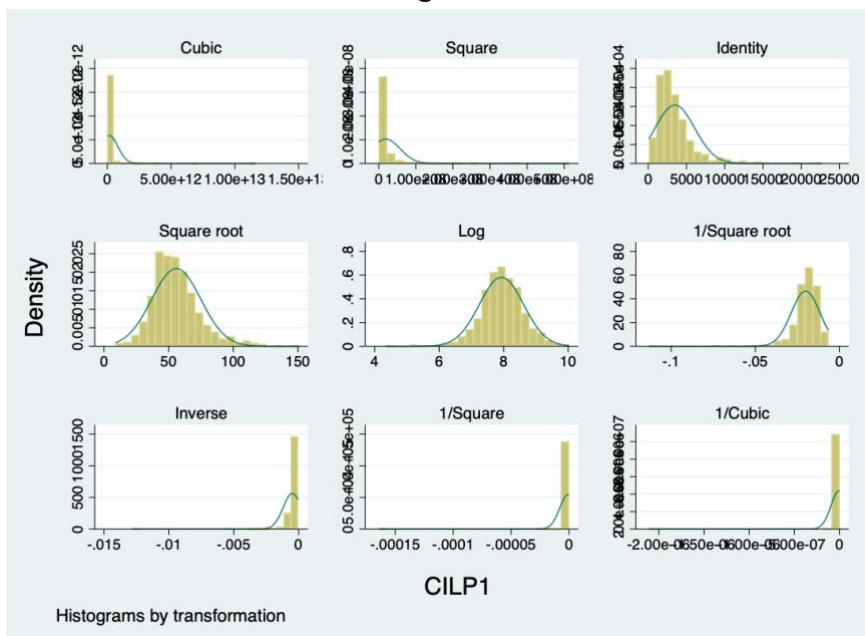


Abbildung 7: Darstellung der Verteilung der CILP1-Konzentration, visualisiert anhand verschiedener Verteilungsfunktionen



4.3 Einfluss einer ischämischen Kardiomyopathie

Die Gesamtkohorte (538 Studienteilnehmer*innen) wurde in die beiden Gruppen, Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie (ICM=1) und Kontrollgruppe (ICM=0), eingeteilt. Bei 295 Patient*innen bestand der Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie, 243 Patient*innen gehörten zur Kontrollgruppe ohne ischämische Kardiomyopathie-Diagnose. Eine KHK konnte bei 294 Teilnehmer*innen (99,7%) in der Kohorte mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie erfasst werden. Im Vergleich konnte bei 49 Personen (20,2 %) in der Kontrollgruppe eine KHK diagnostiziert werden, womit ein signifikanter Unterschied erkennbar ist ($p < 0,01$). Ein Myokardinfarkt war bei 191 (64,8%) Proband*innen ($p < 0,001$), eine vergangene perkutane Koronarintervention bei 217 Personen (73,6%; $p < 0,01$) und ein koronararterieller Bypass bei 118 Teilnehmer*innen (40%; $p < 0,01$) mit Verdacht auf einer ischämischen Kardiomyopathie dokumentiert worden.

In der Kontrollgruppe gab es keine Proband*innen mit den erwähnten klinischen Charakteristika, somit fanden sich bei den erwähnten vier Variablen überall signifikante Unterschiede. Die LVEF betrug bei Teilnehmer*innen mit einer Kardiomyopathie ischämischer Genese im Median 34% (IQR 25-38), und bei Patient*innen in der Kontrollgruppe 33% (IQR 25-38). Ein signifikanter Unterschied fand sich bei den TAPSE-Werten der Teilnehmer*innen, so lag die mediane TAPSE in der Gruppe mit Kardiomyopathie ischämischer Genese bei 18mm und in der Gruppe ohne Kardiomyopathie ischämischer Genese bei 20mm ($p < 0,01$). Die mediane CILP1-Konzentration betrug 2923,3pg/dl bei Teilnehmer*innen ohne ischämische Kardiomyopathie und 2870,7 pg/dl bei den Personen mit ischämischer Kardiomyopathie ($p = 0,7$), somit gibt es keinen signifikanten Unterschied in der CILP1-Konzentration zwischen den beiden Kohorten. Beim Vergleich der Proband*innen mit und ohne ischämische Kardiomyopathie fanden sich weiters signifikante Unterschiede in den CRP-Werten und in den Kreatininwerten. Der CRP-Wert von Personen mit ischämischer Kardiomyopathie lag im Median bei 0,2 mg/dl und bei Personen ohne ischämische Kardiomyopathie bei 0,3 mg/dl ($p < 0,01$). Der Kreatininwert lag bei Patient*innen ohne Kardiomyopathie ischämischer Genese im Median bei 1 mmol/dl und bei Patient*innen der Kontrollgruppe bei 0,95 mmol/dl ($p < 0,1$).

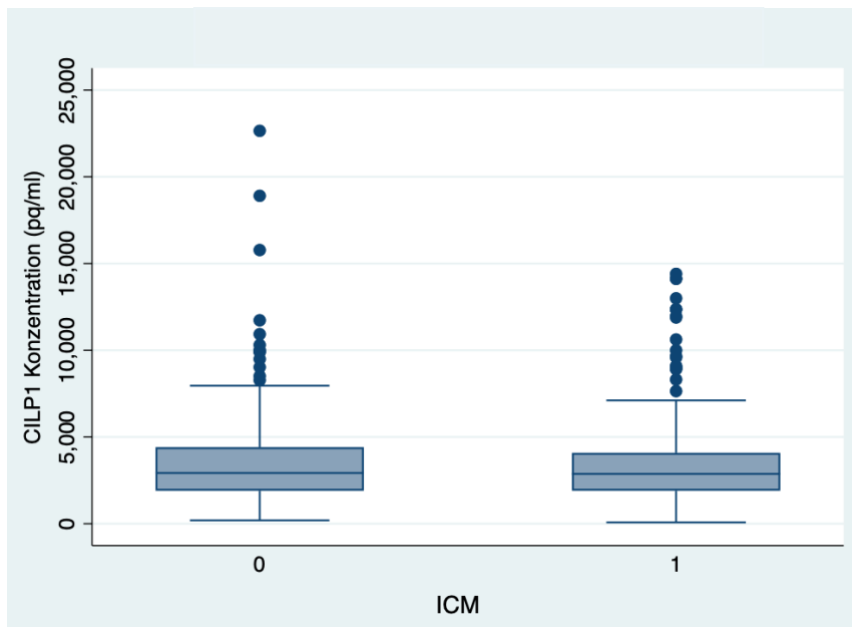
Tabelle 4: Vergleich der Mediane zwischen der Patient*innenkohorte mit (ICM=1) und ohne (ICM=0) ischämischer Kardiomyopathie

Variablen	ICM=0 n=243	ICM=1 n=295	p-Wert
Soziale Indikatoren			
Alter (Jahren) Median (IQR)	67,6 (58,6-75,3)	70,4 (61,9-76,8)	<0,05
Weibliches Geschlecht n (%)	59 (24,2)	38 (12,9)	<0,01
BMI (kg/m ²) Median (IQR)	28,4 (25-31,2)	28,3 (25,7-32,2)	0,3
Kardiovaskuläre Risikofaktoren			
Diabetes mellitus n (%)	59 (24,2)	123 (41,7)	<0,01
Arterielle Hypertonie n (%)	190 (78,1)	254 (86,1)	<0,05
Dyslipidämie n (%)	143 (58,9)	234 (79,3)	<0,01
Raucher*innen n (%)	57 (23,5)	69 (23,4)	0,9
Klinische Charakteristika			
KHK n (%)	49 (20,2)	294 (99,7)	<0,01
Z.n. Myokardinfarkt n (%)	0 (0)	191 (64,8)	<0,001
Z.n. PCI n (%)	0 (0)	217 (73,6)	<0,01
Z.n. KAB n (%)	0 (0)	118 (40,0)	<0,01
pAVK n (%)	9 (3,7)	46 (15,6)	<0,01
Atriale Tachyarrhythmie n (%)	56 (23,1)	43 (14,6)	<0,1
Z.n. Dekompensation n (%)	5 (2,1)	6 (2,0)	0,9
Z.n. Klappenoperation n (%)	(1,2)	2 (0,7)	0,4
Z.n. Schlaganfall n (%)	32 (13,2)	26 (8,8)	<0,1
NYHA \geq 3 n (%)	123 (50,6)	123 (41,7)	< 0,01
Echokardiografische Charakteristika			
LVEF (%) Median (IQR)	33 (25-38)	34 (25-38)	0,6
LVPWd (mm) Median (IQR)	11 (10-12)	10 (9-12)	<0,05
LVEDd (mm) Median (IQR)	58 (54-65)	60 (54-64)	0,5
IVSd (mm) Median (IQR)	11 (10-13)	11 (10-12)	< 0,1
TAPSE (mm) Median (IQR)	20 (16-23)	18 (15-20)	<0,01
PASP (mmHg) Median (IQR)	39 (31-49)	37 (33-51)	0,7
Biomarker			
CILP1 (pg/dl) Median (IQR)	2923,2 (1905,1-4409,9)	2870,7 (1906,6- 4082,3)	0,7
CRP (mg/dl) Median (IQR)	0,3 (0,2-0,7)	0,2 (0,1-0,5)	<0,01
eGFR (ml/min/ Vol) Median (IQR)	73,9 (52,6-69,8)	66,6 (43,0-94,6)	<0,05
Kreatinin (mmol/dl) Median (IQR)	0,95 (0,8-1,2)	1(0,8-1,3)	<0,1

4.4 Vergleich CILP1 Spiegels bei Proband*innen mit und ohne ischämischer Kardiomyopathie

Der Box-Plot in der Abbildung 8 zeigt die CILP1-Werte (pg/ml) bei Patient*innen mit und ohne ischämischen Kardiomyopathie. Auf der x-Achse ist die dichotome Variable ICM aufgetragen. Die Gruppe ICM=0 beinhaltet Patient*innen ohne ischämische Kardiomyopathie und die Gruppe ICM=1 Teilnehmer*innen mit Verdacht auf ischämische Kardiomyopathie. Auf der y-Achse befindet sich die numerische CILP1-Konzentration (pg/ml). Die horizontalen Grenzen der Boxen repräsentieren den Interquartilsabstand, die obere Linie der Box das 75. Perzentil und die untere Linie der Box das 25. Perzentil. Die Linien innerhalb der Boxen repräsentieren den Median der entsprechenden Kohorte. Die vertikalen Linien ausgehend von den Boxen werden Whiskers genannt und die horizontalen Linien am Ende der Whiskers stellen zum einen den minimalen sowie den maximalen CILP1-Wert der jeweiligen Gruppe dar. Datenpunkte, welche sich außerhalb der Whiskers befinden, können als Ausreißer beschrieben werden.

Abbildung 8: Vergleich der Mediane beider Kohorten
Gegenüberstellung der medianen CILP1-Konzentration bei Patient*innen mit (ICM=1) und ohne (ICM=0) ischämische Kardiomyopathie (p-Wert: 0,8)



Die Mediane der beiden Gruppen zeigen keinen signifikanten Unterschied ($p=0,8$). So liegt der Median der Kontrollgruppe ohne ischämische Kardiomyopathie bei 2923,2 pg/ml und im Vergleich dazu beträgt der Median der Gruppe mit ischämischer Kardiomyopathie 2870,7 pg/ml.

4.5 Einflussgrößen auf den Biomarker CILP1

Der mögliche Zusammenhang kontinuierlicher klinischer Variablen und der CILP1-Konzentration ist in Tabelle 5 als Korrelationsmatrix dargestellt. Hier sind alle kontinuierlichen Variablen der Kohorte aufgetragen. In der letzten Zeile ist die Variable CILP1 (12) dargestellt. Das Protein korreliert mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,157 schwach positiv mit dem Alter (1). Weitere eher schwach positive Korrelationen finden sich zum einen zwischen CILP1 (12) und dem Laborparameter CRP (9), mit einem Koeffizienten von 0,134. Zum anderen korreliert CILP1 mit einem weiteren Laborwert, dem Kreatinin (11), mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,120. Eine ebenso eher schwach ausgeprägte und negative Korrelation findet sich mit einem Koeffizienten von -0,160 zwischen dem Glykoprotein CILP1 (12) und dem Body-Mass-Index (BMI) (2). Weiter korrelieren CILP1 und der Nierenparameter eGFR (10), mit einem signifikanten Korrelationswert von -0,150 negativ miteinander.

Tabelle 5: Darstellung eines potenziellen Zusammenhanges zwischen den kontinuierlichen Variablen der Kohorte [(1)-(11)] und CILP1 (12), aufgetragen in einer Korrelationsmatrix

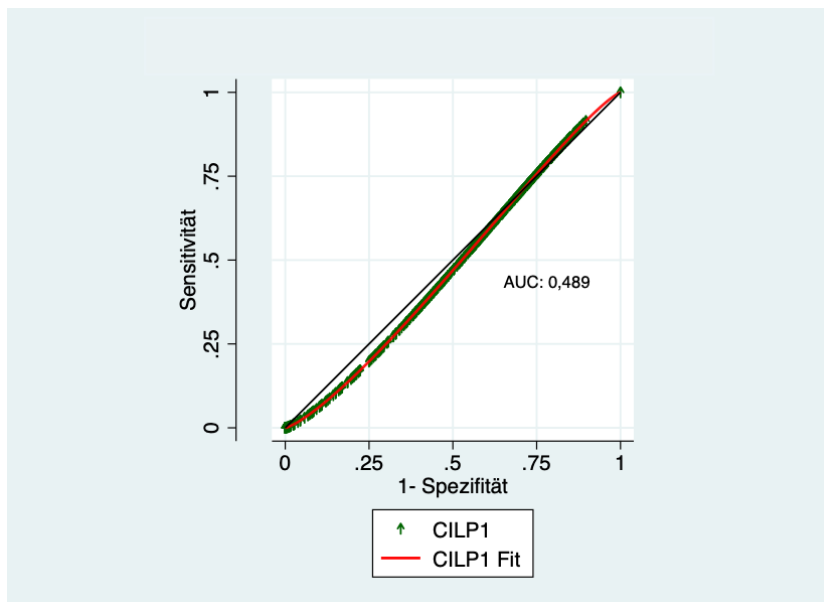
Variablen	(1) Alter	(2) BMI	(3) LVEF	(4) LVPWd	(5) LVEDd	(6) IVSd	(7) TAPSE	(8) PAPS	(9) CRP	(10) eGFR	(11) Krea	(12) CILP1
(1) Alter	1.000											
(2) BMI	-0.158*	1.000										
(3) LVEF	0.082	0.020	1.000									
(4) LVPWd	0.002	0.041	-0.073	1.000								
(5) LVEDd	-0.196*	0.190*	-0.508*	0.058	1.000							
(6) IVSd	0.007	0.180*	0.145*	0.010	-0.172*	1.000						
(7) TAPSE	0.095	0.109	0.001	-0.002	-0.122	-0.003	1.000					
(8) PAPS	0.117	0.037	-0.247*	-0.045	0.057	0.086	-0.011	1.000				
(9) CRP	0.009	0.035	0.035	-0.003	-0.002	0.045	-0.024	0.180	1.000			
(10) eGFR	-0.447*	-0.033	0.021	0.016	0.014	-0.134	-0.128	-0.161	-0.095	1.000		
(11) Krea	0.159*	0.026	-0.057	-0.057	-0.029	0.146	0.113	0.015	0.222*	-0.652*	1.000	
(12) CILP1	0.157*	-0.160*	0.013	0.017	-0.126	0.010	-0.052	0.032	0.134*	-0.150*	0.120*	1.000

*** p<0,01, ** p<0,05, * p<0,1

4.6 Vorhersagekraft von CILP1 in Bezug auf das Vorliegen einer ischämischen Kardiomyopathie

In der Abbildung 9 ist die ROC- Kurve für CILP1 präsentiert. Auf der x-Achse ist die Falsch-Positiv-Rate als 1-Spezifität markiert und auf der y-Achse die Sensitivität von CILP1 aufgetragen. Für jede CILP1-Konzentration wurde ein Wertepaar aus Sensitivität und Falsch-Positive-Rate berechnet und als ROC-Kurve dargestellt. Die Wahrscheinlichkeit der prognostischen Diskriminierung durch den Biomarker CILP1, ersichtlich durch die Area under the curve, lag bei einer AUC von 0,48862, also entsprechend bei 48,9 Prozent. Das bedeutet, dass das Protein CILP1 mit einer Wahrscheinlichkeit von 48,9 Prozent zwischen Patient*innen mit und ohne ischämischer Kardiomyopathie unterschieden kann und somit unter einer Ratewahrscheinlichkeit von 50% liegt. Anhand der Abbildung 9 lässt sich erkennen, dass die Konzentrationen des Glykoproteins CILP1 keine Differenzierung zwischen ischämischer Kardiomyopathie und der Kontrollgruppe erlaubt.

Abbildung 9: Differenzierungsfähigkeit von CILP1
Prognostische Fähigkeit von CILP1, zwischen der Kontrollgruppe und Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie zu unterscheiden



4.7 Analyse des Zusammenhangs zwischen CILP1 und den 4 Einzelindikatoren der ischämischen Kardiomyopathie

In der Tabelle 6 ist eine univariate hierarchische logistische Regression präsentiert. Die Variable ICM wurde mithilfe der vier Einzelindikatoren KHK, Z.n. MI, Z.n. PCI, Z.n. Bypass operationalisiert. ICM hat dabei den Wert 1 angenommen, wenn die Proband*innen auf mindestens eine der vier Einzelindikatoren affirmativ geantwortet haben. Um zu prüfen, ob es einen signifikanten Zusammenhang zwischen CILP1 und den Einzelindikatoren gibt, wurde eine univariate hierarchische logistische Regression durchgeführt, in der CILP1 als unabhängige, kontinuierliche Variable aufgelistet ist. Die Einzelindikatoren haben binären Charakter und für jede der abhängigen Variablen wurde im Rahmen der Regression die Odds-Ratio sowie der Standardfehler erhoben und in einer Spalte von (1) bis (4) aufgelistet. Signifikanzen werden mit * angegeben. Man kann erkennen, dass zwischen CILP1 als unabhängige Variable und den Einzelindikatoren KHK, Z.n. MI, Z.n. PCI und z.n Bypass als abhängige Variablen, keine Kausalität besteht, und CILP1 in keinem der Modelle einen statistisch signifikanten Einfluss besitzt. Da die Variable ICM mithilfe dieser Indikatoren operationalisiert wurde, besteht somit kein Zusammenhang zwischen CILP1 und einer ischämischen Kardiomyopathie und Hypothese 1 muss somit abgelehnt werden.

Tabelle 6: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Einzelindikatoren
Evaluation des Zusammenhangs zwischen CILP1 und den Einzelindikatoren der Variablen ICM mittels logistischer Regression

	(1)	(2)	(3)	(4)
Abhängige Variable	KHK	Z.n. MI	Z.n. PCI	Z.n. Bypass
CILP1	1,000 (0,000)	1,000 (0,127)	1,000 (0,000)	1,000 (0,045)
Konstante	1,675 (0,252)	0,790 (0,127)	0,783 (0,117)	0,260 (0,045)
Beobachtungen	538	337	538	538
Pseudo R ²	0,0002	0,011	0,002	0,00

Standardfehler in Klammern. *** p<,01, ** p<,05, * p<,1

In der Tabelle 7 ist als Ergänzung zu der univariaten Regression aus Tabelle 6 eine weitere univariate hierarchische logistische Regression präsentiert. Hierfür wurde eine neue Variable ICM 2 gebildet. Diese soll neben den Einzelindikatoren, KHK, Z.n. MI, Z.n. PCI, Z.n. Bypass, welche schon in ICM inkludiert waren, noch zusätzlich die Variable LVEF <40% beinhalten. Das Ziel ist es, zu evaluieren, ob CILP1 unter zusätzlicher Miteinbeziehung einer verringerten LVEF einen Einfluss auf das Krankheitsbild ischämische Kardiomyopathie hat. Auch hier wurde CILP1 als unabhängige, kontinuierliche Variable aufgelistet und die Einzelindikatoren in den Spalten (1) bis (4) präsentiert. Signifikanzen werden mit * angegeben. Aus Tabelle 7 lässt sich erkennen, dass zwischen CILP1 als unabhängige Variable und allen Einzelindikatoren keine Kausalbeziehung besteht. Ebenso kann zwischen CILP1 und der neu integrierten Variablen LVEF< 40% keine Kausalität unterstellt werden. Hypothese 2 muss hiermit abgelehnt werden und CILP1 besitzt in diesem Modell keinen statistisch signifikanten Einfluss.

Tabelle 7: Zusammenhang zwischen CILP1, den Einzelindikatoren und ICM2
 Evaluation des Zusammenhangs zwischen CILP1 und der neuen Variablen ICM 2
 (gebildet aus ICM + LVEF<40) mittels logistischer Regression

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Abhängige Variable	ICM2	KHK	Z.n. MI	Z.n. PCI	Z.n. Bypass	LVEF <40
CILP1	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)
Konstante	45,108 (23,382)	1,675 (0,252)	0,790 (0,127)	0,783 (0,117)	0,260 (0,045)	2,783 (0,4889)
Beobachtungen	538	538	337	538	538	538
Pseudo R ²	0,00	0,002	0,011	0,002	0,000	0,002

Standardfehler in Klammern. *** p<,01, ** p<,05, * p<,1

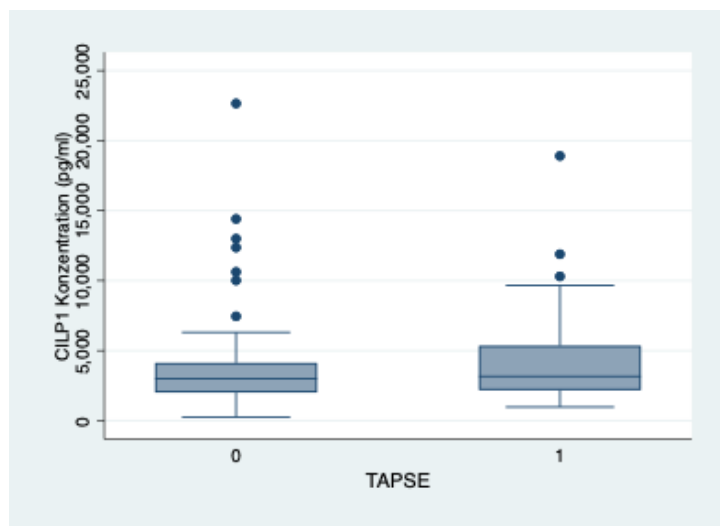
4.8 Vergleich der CILP1-Spiegel zwischen den Gruppen mit reduzierter und erhaltener rechtsventrikulärer Funktion

Die kontinuierliche Variable TAPSE wurde für den Mann-Whitney-U-Test in zwei Gruppen unterteilt. Hierfür wurde, wie schon bei Keranov et al. (2020), ein Cut-off Wert von 16mm festgelegt. Die Gruppe TAPSE=1 involviert alle Patient*innen mit einem TAPSE-Wert, welcher kleiner als 16mm ist. Somit beinhaltet diese Kohorte Personen, welche zusätzlich zu einer LVEF von <40% noch eine eingeschränkte rechtsventrikuläre Funktion haben. In der Gruppe TAPSE=0 befinden sich alle Patient*innen mit einem TAPSE-Wert größer oder gleich 16mm, somit Teilnehmer*innen welche keine rechtsventrikuläre Einschränkung haben. In der Gruppe TAPSE=1 waren 39 Proband*innen, und in der Gruppe TAPSE=0 fanden sich 109 Teilnehmer*innen. Nimmt man einen zweiseitigen p-Wert von $p < 0,05$ als statistisch signifikant an, dann zeigt der Vergleich der Mediane via Mann-Whitney-U-Test einen p-Wert von 0,171 auf. Somit ergibt sich, dass es in Bezug auf die CILP1-Konzentrationen de facto zwar keinen signifikanten Unterschied zwischen den Medianen der beiden Gruppen gibt, eine gewisse Tendenz aber aufgrund der geringen Differenz zu erkennen ist.

Die Visualisierung via Boxplot in Abbildung 10 zeigt ebenfalls, dass sich, bezogen auf CILP1, der Median der Kohorte mit einem verringerten TAPSE-Wert zwar nur geringfügig, aber erkennbar, von dem Median der Gruppe mit physiologischem TAPSE-Wert unterscheidet.

Abbildung 10: Rechtsventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (2 Gruppen)

Vergleich der medianen CILP1-Konzentration bei Patient*innen mit (TAPSE=1) und ohne (TAPSE=0) rechtsventrikulärer Einschränkung (p-Wert: 0,171)



Um den weiteren potenziellen Zusammenhang zwischen CILP1 und einer verminderten TAPSE zu prüfen, wurde im Verlauf eine Subgruppenanalyse durchgeführt. Hierfür wurde die Variable TAPSE in eine kategoriale Variable à drei Gruppen eingeteilt. Die oberen und unteren Grenzen der Gruppen wurden analog zu dem Paper von Keranov et al. (2020) festgelegt und die Gruppen wurden wie folgt eingeteilt.

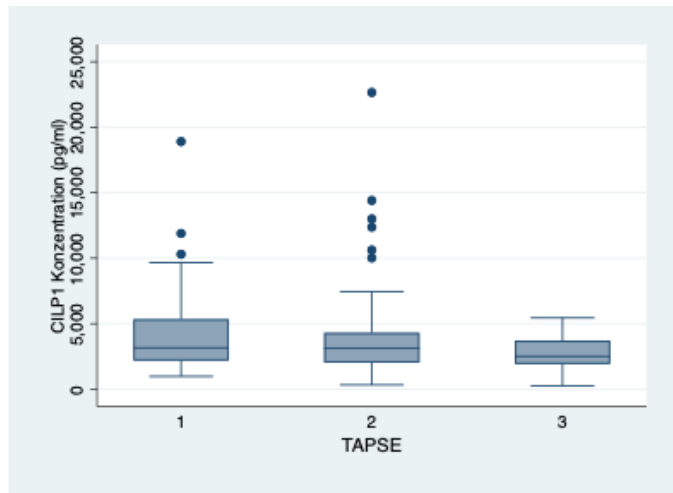
- TAPSE =1, bei einer Strecke von <16 mm (n=39)
- TAPSE =2, bei einer Strecke von 16 bis 20 mm (n=62)
- TAPSE =3, bei einer Strecke von >20 mm (n=47)

TAPSE=1 bezeichnet alle Patient*innen mit einer eingeschränkten rechtsventrikulären Funktion. In der Gruppe TAPSE = 2 befinden sich alle Personen mit einer grenzwertigen rechtsventrikulären Dysfunktion und in der Gruppe TAPSE=3 finden sich Patient*innen, welche keine rechtsventrikuläre Einschränkung haben.

Die im Anschluss durchgeführte ANOVA-Analyse zeigte, dass es einen signifikanten Unterschied von $p=0,02$ zwischen den CILP1-Werten der drei Gruppen zu geben scheint. Zur genaueren Evaluierung wurde eine Dunnett-post-hoc Analyse durchgeführt, welche bestätigen konnte, dass es zwischen der Gruppe TAPSE=1 und TAPSE=3 einen signifikanten Unterschied von $p=0,030$ gibt. Dieser Unterschied wurde ergänzend mit einer Boxplot Grafik in Abbildung 11 dargestellt, in welcher erkennbar ist, dass sich der Median der Gruppe 1 und der Median der Gruppe 3 visuell voneinander differenzieren lassen.

Abbildung 11: Rechtsventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (3 Gruppen)

Vergleich der medianen CILP1-Konzentration bei Patient*innen mit (TAPSE=1; TAPSE=2) und ohne (TAPSE=3) rechtsventrikulärer Einschränkung (p-Wert: 0,02)



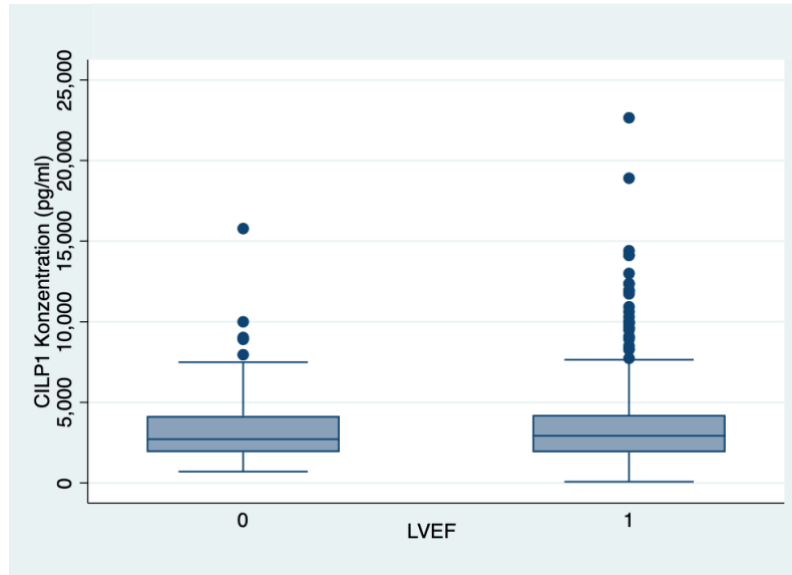
4.9 Vergleich der CILP1-Spiegel zwischen den Gruppen mit reduzierter und erhaltener linksventrikulärer Funktion

Um eine gewisse Analogie zwischen rechtem und linkem Herzen herstellen zu können, wurde der Mann-Whitney-U-Test sowie eine Boxplot-Analyse für Patient*innen mit eingeschränkter LVEF durchgeführt. Auch hier wurde die kontinuierliche Variable LVEF anhand eines Cut-off-Werts, welcher sich an der Herzinsuffizienz Einteilung der European Society of Cardiology (ESC) orientiert, in zwei Gruppen eingeteilt. Der Cut-off-Wert der Gruppen liegt bei einer LVEF von $< 40\%$ und somit bei einer so genannten „Heart failure with reduced ejection fraction“ kurz „HF_{rEF}“²⁷.

Die Kohorte LVEF=1 beinhaltet somit alle Patient*innen, welche eine Herzinsuffizienz mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion von $< 40\%$ haben, in Summe 412 Personen. In der Gruppe LVEF=0 finden sich im Vergleich dazu 126 Proband*innen mit einer LVEF $\geq 40\%$. Der Vergleich der Mediane via Mann-Whitney-U-Tests ergab einen p-Wert von 0,4283. Somit zeigt sich, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Medianen der beiden Gruppen gibt. Auch die Visualisierung durch die Boxplot Grafik in Abbildung 12 zeigt, dass sich der Median der Gruppe LVEF=0 und der Median der Gruppe LVEF=1 nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Abbildung 12: Linksventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (2 Gruppen)

Vergleich der medianen CILP1-Konzentration bei Patient*innen mit (LVEF=1) und ohne (LVEF=0) linksventrikulärer Einschränkung (p-Wert: 0,4283)



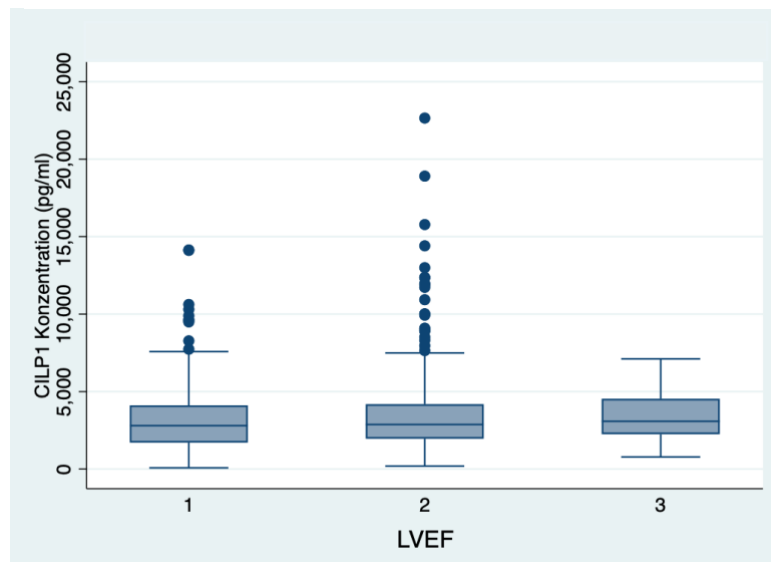
Um einen möglichen Zusammenhang zwischen CILP1 und einer verminderten LVEF zu prüfen, wurde im Verlauf eine Subgruppenanalyse durchgeführt. Für diese Subgruppen Analyse wurde die Variable LVEF in eine kategoriale Variable à drei Gruppen überführt. Die obere Grenze wurde analog zu dem Mann-Whitney-U-Test bei einer LVEF von >40% festgelegt. Um eine homogenere Verteilung der Gruppen zu gewährleisten und eine bessere Interpretierbarkeit der Ergebnisse zu erhalten, wurde die untere Grenze bei einer LVEF von <30% gesetzt. Die drei Gruppen unterteilen sich in:

- LVEF=1, wenn die LVEF <30% ist (n=181)
- LVEF=2, wenn die LVEF $\geq 30\%$ oder $\leq 40\%$ ist (n=333)
- LVEF=3, wenn die LVEF >40% ist (n=24)

LVEF = 1 bezeichnet alle Patient*innen mit einer eingeschränkten linksventrikulären Funktion. In der Gruppe LVEF=2 befinden sich alle Personen mit einer grenzwertigen linksventrikulären Dysfunktion und in der Gruppe LVEF=3 finden sich Patient*innen, welche keine linksventrikuläre Einschränkung haben.

Die zunächst durchgeführte ANOVA-Analyse zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen den CILP1-Werten der drei Gruppen gibt ($p= 0,526$). Um diese Annahme zu erhärten, wurde ebenfalls eine Dunnett-post-hoc Analyse durchgeführt, welche bestätigen konnte, dass es auch im internen Gruppenvergleich keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gibt. Die abschließend durchgeführte Boxplot-Analyse in Abbildung 13 untermauert das Ergebnis und zeigt keinen graphischen Unterschied zwischen dem Median der Gruppe LVEF=1 und dem Median der Gruppe LVEF=3.

Abbildung 13: Linksventrikuläre Funktion und CILP1-Konzentration (3 Gruppen)
Vergleich der medianen CILP1-Konzentration bei Patient*innen mit (LVEF=1, LVEF=2) und ohne (LVEF=3) linksventrikulärer Einschränkung (p-Wert: 0,526)



4.10 Zusammenhang zwischen CILP1 und Mortalität

Von den 538 Patient*innen der Studienkohorte sind 178 Patient*innen innerhalb des Beobachtungszeitraums verstorben. 360 Teilnehmer*innen haben zu diesem Zeitpunkt noch gelebt. Der Vergleich der Mediane bezüglich der Mortalität, dargestellt in Tabelle 8, ergab, dass es innerhalb der Gruppe der klinischen Charakteristika, hinsichtlich der Indikatoren, KHK, Z.n. PCI, Z.n. koronararteriellem Bypass, Z.n. pAVK sowie atrialer Tachyarrhythmie, Z.n. Apoplex oder einem NYHA Stadium ≥ 3 einen signifikanten Unterschied zwischen verstorbenen und überlebenden Patient*innen gibt. Unter den echokardiografischen Charakteristika konnte man sowohl in Bezug auf die LVEF und die TAPSE eine signifikante Differenz zwischen der Kohorte „Verstorben“ und der Kohorte „Lebend“ erkennen. Betrachtet man die Kategorie der Biomarker, erkennt man, dass bis auf den Biomarker CILP1 alle laborchemischen Parameter, CRP, eGFR und Kreatinin, statistisch signifikant sind. Lediglich CILP1 kann mit einem $p=0,3$ als Biomarker nicht alleine zwischen verstorbenen und überlebenden Patient*innen differenzieren.

Tabelle 8: Vergleich der Mediane der Variablen nach Trennung der Kohorte in Überlebende und Verstorbene

Variablen	Lebend n=360	Verstorben N=178	p-Wert
Soziale Indikatoren			
Alter (Jahren) Median (IQR)	66,5 (57,5-74,6)	73,2 (67,9-78,1)	<0,01
Weibliches Geschlecht n (%)	67 (18,6)	30 (16,9)	0,6
BMI (kg/m ²) Median (IQR)	28,7 (25,5-31,9)	28,0 (25,3-31,6)	0,3
Kardiovaskuläre Risikofaktoren			
Diabetes mellitus n (%)	107 (29,7)	75 (42,1)	<0,01
Arterielle Hypertonie n (%)	288 (80,0)	156 (87,6)	<0,05
Dyslipidämie n (%)	249 (69,1)	128 (77,9)	0,4
Raucher*innen n (%)	93 (25,8)	33 (18,5)	<0,1
Klinische Charakteristika			
KHK n (%)	217 (60,3)	126 (70,8)	<0,05
Z.n. Myokardinfarkt n (%)	123 (34,2)	68 (38,2)	0,3
Z.n. PCI n (%)	131 (36,4)	86 (48,3)	<0,01
Z.n. KAB n (%)	67 (18,6)	51 (28,7)	<0,01
pAVK n (%)	18 (7,9)	27 (15,7)	<0,05
Atriale Tachyarrhythmie n (%)	64 (17,7)	35 (19,7)	<0,05
Z.n. Dekompensation n (%)	10 (2,8)	1 (0,5?)	0,9
Z.n. Klappenoperation n (%)	3 (0,8)	2 (1,1)	0,2
Z.n. Schlaganfall n (%)	30 (8,3)	28 (15,7)	<0,05
NYHA ≥ 3 n (%)	152 (44,3)	94 (54,3)	<0,05
Echokardiografische Charakteristika			
LVEF (%) Median (IQR)	35 (25-40)	30 (25-35)	<0,01
LVPWd (mm) Median (IQR)	11 (10-12)	11 (10-12)	0,9
LVEDd (mm) Median (IQR)	58 (54-64)	60 (55-65)	<0,1
IVSd (mm) Median (IQR)	11 (10-12)	11 (10-12)	0,7
TAPSE (mm) Median (IQR)	19 (17-23)	16 (14-20)	<0,05
PASP (mmHg) Median (IQR)	36 (29,5-47)	42 (35-56,5)	<0,01
Biomarker			
CILP1 (pg/dl) Median (IQR)	2803,7 (1917,1-4111,8)	3023,4 (1889,3-4420,7)	0,3
CRP (mg/dl) Median (IQR)	0,2 (0,1-0,5)	0,3 (0,1-0,7)	<0,05
eGFR (ml/min/ Vol) Median (IQR)	74,5 (53-102,6)	59,9 (40-93,9)	<0,01
Kreatinin (mmol/dl) Median (IQR)	0,93 (0,8-1,2)	1,2 (0,9-1,4)	<0,01

4.10.1 CILP1 als Prognoseindikator

Um einen ersten Gesamtüberblick über die area under the receiver operating characteristic curve zu bekommen, wurden die AUC's sowie die entsprechenden Konfidenzintervalle der ROC-Analysen in Bezug auf die Mortalität in Tabelle 9 aufgetragen. Zu erkennen ist, dass die Analyse TAPSE=1 mit 79,9% die höchste AUC, im Vergleich zu den anderen ROC-Analysen, liefert. Bestätigt wird die Signifikanz auch durch das entsprechende Konfidenzintervall von 0,6503 bis 0,9474, da dieses nicht den Wert null umfasst. Die weiteren ROC-Kurven ergaben AUC-Werte, welche meist nur knapp über einer Ratewahrscheinlichkeit von 50% lagen, und zeigen, dass in diesen Fällen CILP1 nicht suffizient zwischen dem Outcome „Versterben“ und „Überleben“ differenziert.

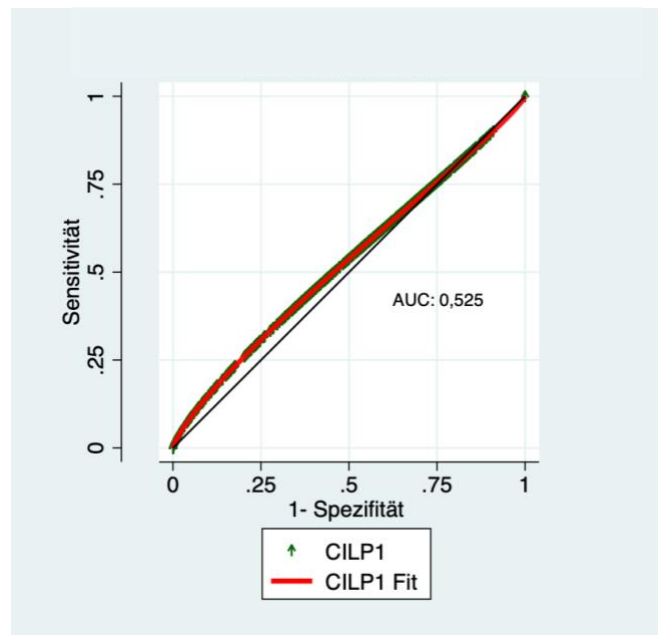
Tabelle 9: Vorhersagefähigkeit von CILP1 bezogen auf die Mortalität– Fähigkeit von CILP1, in den verschiedenen Gruppen eine Aussage über das Mortalitätsrisiko zu ermöglichen. Gliederung in unterschiedliche Kohorten, in Abhängigkeit der kardialen Erkrankung. Dargestellt über die AUC's sowie die entsprechenden Konfidenzintervalle

CILP1 zu Mortalität	AUC (%)	Konfidenzintervall (oberes – unteres)
Gesamte Kohorte	0,5248 (52,5%)	0,4732 – 0,5764
ICM=1	0,5294 (52,9%)	0,4523 – 0,5885
ICM=0	0,5313 (53,1%)	0,4473 – 0,6155
TAPSE=1	0,7989 (79,9%)	0,6503 – 0,9474
TAPSE=0	0,444 (44,4%)	0,3272 – 0,5619
LVEF=1	0,5213 (52,1%)	0,4615 – 0,5811
LVEF=0	0,5311 (53,1%)	0,4092 – 0,6529

Um zu bestimmen, wie gut verschiedene CILP1-Konzentrationen zwischen Verstorbenen und Lebenden differenzieren können, wurde über die gesamte Kohorte eine ROC-Analyse durchgeführt. Anhand der Abbildung 14 lässt sich erkennen, dass der Biomarker CILP1 innerhalb der gesamten Kohorte von 538 Patient*innen nicht zwischen dem Outcome „Versterben“ oder „Überleben“ unterscheiden kann. Die AUC liegt in Folge bei 52,5% und damit nur geringfügig über eine Ratewahrscheinlichkeit von 50%.

Abbildung 14: Mortalitätsvorhersage mittels CILP1

Assoziation von CILP1 auf die Mortalität bezogen



4.10.2 Prüfung des Einflusses verschiedener, unabhängiger Variablen auf die Variable Mortalität

Die Tabelle 10 präsentiert eine multivariate hierarchische logistische Regression über die gesamte Kohorte. Ziel dieser Analyse war es, den Einfluss mehrere unabhängiger Variablen auf die abhängige Variable Mortalität zu überprüfen. Da Mortalität dichotom ist, wurde eine logistische Regression mit logit-Linkfunktion verwendet und hierarchisch um zusätzliche unabhängige Variablen erweitert. Hierbei wurden insbesondere Variablen berücksichtigt, welche sich in der Literatur als relevant gezeigt haben. In Spalte (1) wurde zuerst in einer logistischen Regression der univariate Zusammenhang von CILP1 als unabhängige Variable auf die Mortalität untersucht. In dieser Analyse konnte keine Beziehung zwischen CILP1 und der Mortalität festgestellt werden. Somit muss Hypothese 3 abgelehnt werden. Innerhalb der Spalte (2) wurde als zusätzliche unabhängige Variable, ICM in die Regression mitaufgenommen. Hiermit sollte untersucht werden, ob es einen Zusammenhang zwischen einer ischämischen Kardiomyopathie und der Mortalität gibt. Eine Kausalität konnte unterstellt werden, und es zeigte sich, dass eine ischämische Kardiomyopathie zusammen in dieser Regression, die Wahrscheinlichkeit für eine Mortalität erhöht (OR=1,6; $p < 0,05$). In der Spalte (3)

wurden anschließend Variablen involviert, welche im Wertevergleich einen p-Wert von $<0,05$ oder $p<0,1$ aufwiesen und „Mortalität“ beeinflussen könnten. Hieraus ergab sich ausschließlich, dass ein steigendes Alter auch die Wahrscheinlichkeit für eine Mortalität erhöht (OR=1,087; $p<0,05$).

Tabelle 10: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Indikatoren in einer multivariaten Analyse - Einfluss der aufgeführten Variablen auf die Mortalität, über die gesamte Kohorte, dargestellt als multivariate hierarchische logistische Regression

	(1) Mortalität	(2) Mortalität	(3) Mortalität
CILP1	1 (0)	1 (0)	1 (0)
ICM		1.6** (0.3)	
Alter			1.087** (0.04)*
Diabetes Mellitus			2.999 (1.922)
Arterielle Hypertonie			0.555 (0.554)
LVEF			0.989 (0.043)
LVEDd			1.065 (0.052)
TAPSE			0.882 (0.383)
PAPS			0.988 (0.022)
CRP			1.201 (0.614)
Kreatinin			0.983 (0.374)
Konstante	0.432*** (0.066)	0.326*** (0.063)	0.000** (0.001)
Beobachtungen	538	538	62
Pseudo R ²	0.002	0.011	0.165

*Standardfehler in Klammern. Koeffizienten stellen Odds Ratios (OR) dar. *** $p<,01$, ** $p<,05$, * $p<,1$*

4.10.3 CILP1 als Prognoseindikator bei ischämischer Kardiomyopathie

Unterteilt man die Kohorte in ICM=0 und ICM=1, dann ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei der Betrachtung der Gesamtkohorte. Bei den Proband*innen mit ischämischer Kardiomyopathie zeigt die ROC-Kurve, dass CILP1 keine merkliche Differenzierung zwischen dem Outcome „Versterben“ oder „Überleben“ erlaubt. Erhärtet wird diese Annahme durch einen AUC-Wert von 52%, welcher in Abbildung 15a abgebildet ist. Dies bedeutete, dass es nur eine 52-prozentige Wahrscheinlichkeit gibt, dass CILP1 zwischen den beiden Gruppen diskriminieren kann. Die ROC-Analyse bei den Teilnehmer*innen ohne Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie ergab, dass eine prognostische Unterscheidung durch CILP1 mit einer 53,1-prozentigen Wahrscheinlichkeit möglich sei und somit ebenso nur geringfügig über eine Ratewahrscheinlichkeit liegt (siehe Abbildung 15b). Auch innerhalb dieser Gruppe war es damit nicht möglich allein via CILP1 deutlich zwischen Versterben oder Überleben unterscheiden zu können.

Abbildung 15a: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration in der Kardiomyopathie Kohorte
prognostische Fähigkeit von CILP1 zur Einschätzung der Mortalität bei Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie (ICM=1)

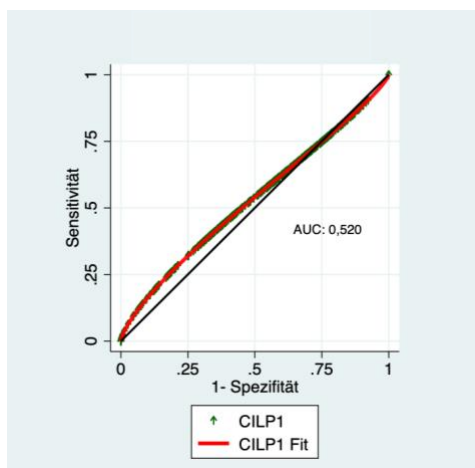
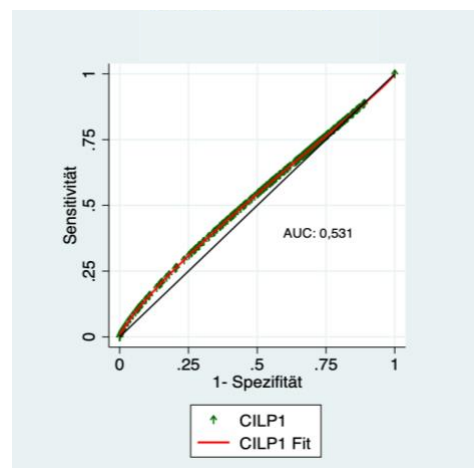


Abbildung 15b: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration in der Kontrollgruppe
prognostische Fähigkeit von CILP1 zur Einschätzung der Mortalität bei Patient*innen ohne ischämischer Kardiomyopathie (ICM=0)



4.10.4 CILP1 als Prognoseindikator in Abhängigkeit von der linksventrikulären Funktion

Um zu eruieren, ob sich ein ähnliches Bild in Bezug auf den linken Ventrikel abzeichnen lässt, wurden zwei weitere ROC-Analysen durchgeführt. Hierfür wurde die Gesamtkohorte in zwei Gruppen differenziert. Die Unterteilung dieser Gruppen basiert, wie schon beim Mann-Whitney-U-Test, auf einen LVEF-Cut-off-Wert von $<40\%$. Eine eingeschränkte linksventrikuläre Funktion ergab sich somit aus einer LVEF, welche kleiner als 40% ist, eine erhaltene linksventrikuläre Funktion im Vergleich aus einer LVEF die größer oder gleich 40% ist.

Die Zusammenschau aus ROC-Kurve und AUC in der Abbildung 16a, lässt annehmen, dass CILP1 als alleiniger Biomarker nicht in der Lage ist, innerhalb der Kohorte mit reduzierter linksventrikulärer Funktion zwischen einem Versterben oder Überleben zu unterscheiden zu können. Die Gruppe mit erhaltener linksventrikulärer Funktion in Abbildung in 16b spiegelt ein ähnliches Bild wider. Hier zeigt die AUC-Analyse, dass CILP1 mit nur $53,1\%$ Wahrscheinlichkeit zwischen dem Outcome Versterben oder Überleben differenzieren kann.

Abbildung 16a: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei eingeschränkter linksventrikulärer Funktion

prognostische Fähigkeit von CILP1 zur Einschätzung der Mortalität bei Patient*innen mit linksventrikulärer Einschränkung (LVEF $\leq 40\%$)

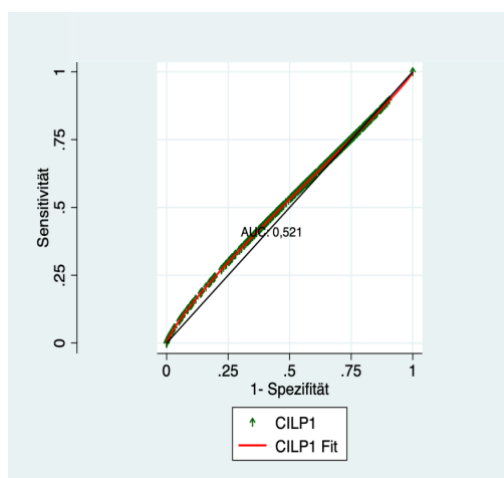
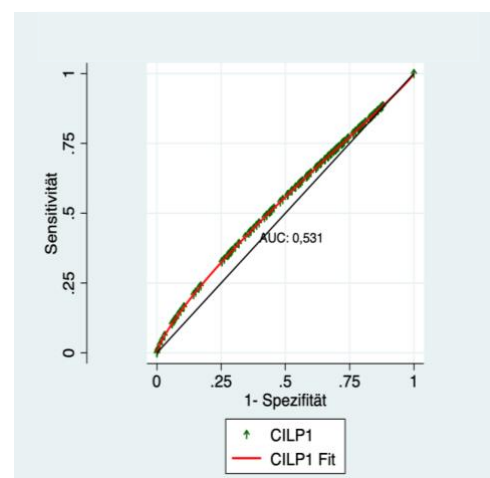


Abbildung 16b: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei erhaltener linksventrikulärer Funktion

prognostische Fähigkeit von CILP1 zur Einschätzung der Mortalität bei Patient*innen ohne linksventrikulärer Einschränkung (LVEF $\geq 40\%$)



4.10.5 CILP1 als Prognoseindikator in Abhängigkeit der rechtsventrikulären Funktion

Bei dieser Analyse sollte evaluiert werden, wie präzise CILP1 die Mortalität in den Gruppen mit und ohne eingeschränkte rechtsventrikuläre Funktion vorhersagen kann. Wie schon bei dem Mann-Whitney-U-Test wurden die beiden Gruppen anhand eines TAPSE Cut-off-Wertes von 16mm unterteilt¹³. Eine eingeschränkte rechtsventrikuläre Funktion wurde somit durch einen TAPSE-Werte welcher kleiner als 16mm ist definiert und eine erhaltene rechtsventrikuläre Funktion anhand eines TAPSE-Wertes welcher größer oder gleich 16mm ist. Die Analyse via ROC-Kurve und eine Berechnung der entsprechenden AUC ergab, dass es einen CILP1 Cut-off-Wert gibt, welcher innerhalb der Kohorte mit eingeschränkter rechtsventrikulärer Funktion, mit einer 79,9-prozentigen Wahrscheinlichkeit zwischen Versterben und Überleben diskriminieren kann (siehe Abbildung 17a). Im Gegensatz dazu steht die ROC-Kurve der Kohorte mit erhaltener rechtsventrikulärer Funktion. Hier liegt die AUC bei lediglich 44,4 Prozent (siehe Abbildung 17b). Somit kann CILP1 innerhalb dieser Gruppe keine suffiziente Aussage bezüglich der Mortalität treffen.

Abbildung 17a: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei reduzierter rechtsventrikulärer Funktion

prognostische Fähigkeit von CILP1 zur Einschätzung der Mortalität bei Patient*innen mit rechtsventrikulärer Einschränkung (TAPSE=1)

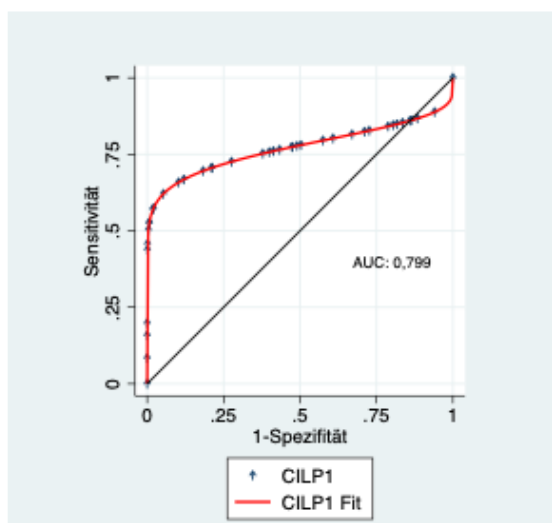
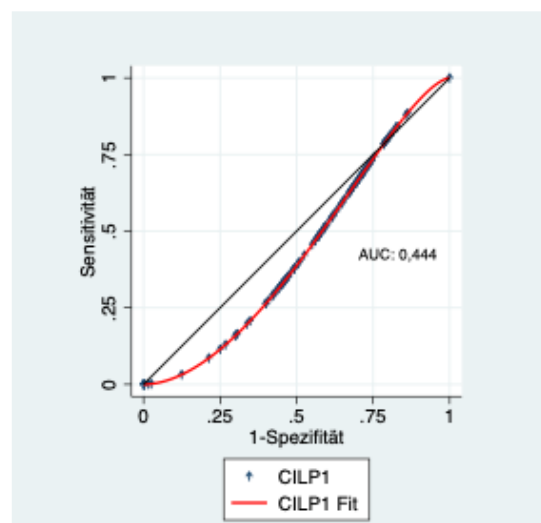


Abbildung 17b: Mortalitätsrisiko und CILP1-Konzentration bei erhaltener rechtsventrikulärer Funktion

prognostische Fähigkeit von CILP1 zur Einschätzung der Mortalität bei Patient*innen ohne rechtsventrikulärer Einschränkung (TAPSE=0)



4.10.6 Analyse des Einflusses verschiedener, unabhängiger Variablen der Gruppe mit erhaltener rechtsventrikulärer Funktion auf die Variable Mortalität

In der zweiten aufgeführten multivariaten hierarchischen logistischen Regression (Tabelle 11) wurde die Analyse über die Patient*innenkohorte mit einer TAPSE ≥ 16 mm durchgeführt. Um eine Analogie mit der vorherigen Regressionsanalyse herstellen zu können wurde auch hier die Mortalität als abhängige Variable festgelegt und zu Beginn eine univariate logistische Regression mit CILP1 als unabhängige Variable durchgeführt. In dieser Analyse, dargestellt in Spalte (1), konnte keine Kausalität festgestellt werden. In der Regressionsanalyse in Spalte (2) wurde die Variable ICM mitaufgenommen. Hier konnte nachgewiesen werden, dass es eine Kausalität zwischen einer ischämischen Kardiomyopathie und der Mortalität gibt und mit einer OR von 3,372 die Wahrscheinlichkeit des Versterbens mit Auftreten einer ICM steigt ($p < 0,05$). In der in Spalte (3) anschließend durchgeführten statistischen Untersuchung wurden ebenfalls Variablen integriert, welche bei dem durchgeführten Wertevergleichen ein $p < 0,05$ oder $p < 0,1$ vorwiesen und im Zusammenhang mit einer Mortalität stehen, wie in der vorherigen multivariaten Regression über die gesamte Kohorte ebenso. Hier konnte eine Kausalität zwischen den unabhängigen Variablen TAPSE sowie Kreatinin und der Mortalität festgestellt werden. TAPSE besitzt eine OR=0,1. Somit kommt es bei einer Verringerung des TAPSE-Werts um eine Einheit zu einer Erhöhung der Wahrscheinlichkeit für ein Versterben. Im Falle von Kreatinin, dargestellt mit einer OR von 53,211, kommt es bei einer Erhöhung des Kreatinin-Werts um eine Einheit zu einer Steigerung der Wahrscheinlichkeit der Mortalität.

Tabelle 11: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Indikatoren in einer multivariaten Analyse - Einfluss der aufgeführten Variablen auf die Mortalität, bei Patient*innen mit physiologischer rechtsventrikulärer Funktion (TAPSE ≥ 16 mm), dargestellt als multivariate hierarchische logistische Regression

	(1) Mortalität	(2) Mortalität	(3) Mortalität
CILP1	1 (0)	1 (0)	1 (0)
ICM		3.372** (1.522)	
Alter			1.043 (0.005)
Diabetes Mellitus			2.501 (2.405)
Arterielle Hypertonie			0.375 (0.499)
LVEF			1.027 (0.072)
LVEDd			1.065 (0.07)
TAPSE			0.1* (0.134)
PAPS			1.004 (0.039)
CRP			0.886 (0.954)
Kreatinin			53.211* (118.588)
Konstante	0.588 (0.211)	0.328** (0.147)	0.007 (0.049)
Beobachtungen	109	109	36
Pseudo R ²	0.009	0.067	0.306

Standardfehler in Klammern. Koeffizienten stellen Odds Ratios (OR) dar. *** $p < .01$, ** $p < .05$, * $p < .1$

4.10.7 Evaluation des Einflusses verschiedener, unabhängiger Variablen der Gruppe mit reduzierter rechtsventrikulärer Funktion auf die Variable Mortalität

Als weitere multivariate hierarchische logistische Regression wurde die Analyse über die Proband*innenkohorte mit einer eingeschränkten rechtsventrikulärer Funktion, ergo TAPSE <16mm durchgeführt. Die Regression in Tabelle 12 zeigte in Spalte (1) eine Kausalität zwischen CILP1 und der Mortalität und mit einer OR von 1,001 konnte erwiesen werden, dass die Erhöhung des CILP1 Werts um eine Einheit, eine Erhöhung der Mortalitätswahrscheinlichkeit mit sich bringt ($p < 0,05$). Die Hypothese 4 kann somit angenommen werden. In Spalte (2) wurde die Variable ICM in die Regressionsanalyse mitaufgenommen und es sollte überprüft werden, ob es beim Auftreten einer ischämischen Kardiomyopathie zu einer Erhöhung der Mortalitätswahrscheinlichkeit kommt. Es zeigte sich, dass es keine Kausalität zwischen einer ischämischen Kardiomyopathie und der Mortalität gibt. Der signifikante Einfluss von CILP1 auf die Mortalität blieb jedoch auch in Spalte (2) bestehen (OR=1,001; $p < 0,05$). Die zusätzliche Analyse in Spalte (3) zeigte jedoch keine Kausalität zwischen den angeführten unabhängigen Variablen und der Mortalität. Beobachten lässt sich, dass die Berücksichtigung der angeführten Variablen in die Regression dazu führt, dass der Einfluss von CILP1 auf die Mortalität geringer und statistisch nicht mehr signifikant wird.

Tabelle 12: Zusammenhang zwischen CILP1 und den Indikatoren in einer multivariaten Analyse - Einfluss der aufgeführten Variablen auf die Mortalität bei Patient*innen mit eingeschränkter rechtsventrikulärer Funktion (TAPSE <16mm), dargestellt als multivariate hierarchische logistische Regression

	(1) Mortalität	(2) Mortalität	(3) Mortalität
CILP1	1.001** (0)	1.001** (0)	1.001 (0)
ICM		1.992 (1.683)	
Alter			1.099 (0.099)
Diabetes Mellitus			3.684 (4.853)
Arterielle Hypertonie			8.423 (30.308)
LVEF			0.957 (0.083)
LVEDd			1.023 (0.114)
TAPSE			
PAPS			0.983 (0.035)
CRP			1.823 (1.674)
Kreatinin			0.724 (0.464)
Konstante	0.073*** (0.073)	0.051*** (0.055)	0 (0)
Beobachtungen	39	39	26
Pseudo R ²	0.244	0.257	0.345

*Standardfehler in Klammern. Koeffizienten stellen Odds Ratios (OR) dar. *** p<,01, ** p<,05, * p<,1*

5 Diskussion

Biomarker können als therapeutische Zielstrukturen genutzt werden, geben Aufschluss über potentielle molekulare Veränderungen und sind als diagnostisches Tool in den letzten Jahren immer relevanter geworden⁶². Auch im Falle der kardialen Diagnostik haben sich Biomarker wie die kardialen Troponine (cTnI, cTnT), das C-reaktive Protein (CRP) oder die B-Typ natriuretischen Peptide (BNP, NT-proBNP) etabliert und die Ermittlung weiterer, spezifischer Biomarker ist Inhalt aktueller Forschung⁵⁸. Insbesondere in den letzten Jahren, häuften sich die Studien zu dem Protein CILP1, und seine Assoziation mit kardialen Erkrankungen wie einer Herzinsuffizienz⁴⁸, einem Myokardinfarkt¹² oder ischämischen sowie dilatativen Kardiomyopathien¹¹ rückten immer weiter in den Fokus. Zusammenhänge mit fibrotischen Umbauprozessen wurden entdeckt, das genaue Ursache-Wirkungsprinzip ist bis dato allerdings noch nicht vollständig geklärt und Gegenstand aktueller Diskussionen. Auch Hinweise auf eine unterschiedliche Expression des Biomarkers, abhängig davon, ob eine rechts-oder linksventrikuläre Dysfunktion vorliegt, lassen Raum für weitere Forschungsarbeiten.

Diese Arbeit, beleuchtet CILP1 in seiner Rolle als kardialen Biomarker bei Patient*innen mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie. Entsprechend der Fragestellung dieser Arbeit wurden vier Hypothesen aufgestellt und im Verlauf dieser Dissertation auf ihre Plausibilität überprüft. Im Rahmen dieser Analyse konnte sich zeigen, dass die Hypothese eins abgelehnt werden musste, da es keine positive Assoziation zwischen CILP1 und einer ischämischen Kardiomyopathie gab. Weiters untersuchte Hypothese zwei, ob CILP1 in erhöhtem Maße bei Proband*innen mit linksventrikulärer Einschränkung exprimiert wird und musste im Verlauf der Arbeit ebenso widerlegt werden. Um einen Fokus auf die Risikostratifizierung zu legen, wurde in Hypothese 3 geprüft, ob CILP1 positiv mit der Mortalität assoziiert ist, jedoch musste Hypothese drei im Verlauf der Arbeit abgelehnt werden. In der letzten Hypothese vier wurde als zusätzlicher Parameter eine eingeschränkte TAPSE (<16mm) miteinbezogen und untersucht, ob bei Personen mit verringerter rechtsventrikulärer Funktion eine positive Assoziation zwischen CILP1 und der Mortalität nachgewiesen werden kann. Hypothese vier konnte angenommen werden und es zeigte sich, dass CILP1 speziell bei einer rechtsventrikulären Dysfunktion erhöht exprimiert wird und die Fähigkeit besitzt, ein suffizienter Biomarker hinsichtlich der Mortalität zu sein. Eine Erweiterung des klassischen, laborchemischen Biomarkers um zusätzliche, bildgebende Methoden erwies

sich in dem Fall als besonders sinnvoll und so war es möglich auch in der Risikostratifizierung der Mortalität, hierdurch eine präzisere Prognose zu erhalten.

Die Forschung rund um das Protein CILP1 wurde in den letzten Jahren durch eine Vielzahl an Studien vorangetrieben, die insbesondere den Stellenwert von CILP1 bei kardialen Grunderkrankungen näher untersuchten. Zentrale Studien in diesem Zusammenhang waren unter anderem die im Jahr 2021 sowie 2022 veröffentlichten Studien von Keranov et al.^{11,13}. In der Forschungsarbeit von 2021 wurden 161 Personen untersucht, von denen 142 eine kardiale Vorerkrankung hatten. Es konnte nachgewiesen werden, dass erhöhte CILP1-Konzentrationen, insbesondere bei Proband*innen mit pulmonalen Hypertonie und dysfunktionalem rechten Ventrikel, festzustellen sind¹¹. Die im Jahr 2022 veröffentlichte Studie untersuchte CILP1 im Plasma von 128 Patient*innen, von denen 98 eine ischämische Kardiomyopathie hatten. Es zeigte sich die höchste Assoziation von CILP1 bei Personen, die zusätzlich zur ischämischen Kardiomyopathie auch rechtsventrikulären Einschränkungen sowie erhöhten NT-proBNP-Werte aufwiesen¹³. Die Erkenntnisse aus den Studien von Keranov et al. bilden nur einen Teil der wachsenden Evidenz, die den Stellenwert von CILP1 in Bezug auf kardiale Erkrankungen beleuchten. Zusätzlich zu diesen Studien haben Forschungsarbeiten von Zhang et al. (2021) sowie Wang et al. (2022) weitere Einblicke geliefert^{12,48}. In der Arbeit von Zhang et al. (2021) wurden Blutproben von Personen untersucht, die einen abgelaufenen Myokardinfarkt erlitten hatten. Das Ziel bestand darin, zu ermitteln, ob CILP1 nach einem Myokardschaden eine Rolle in profibrotischen Prozessen spielt. Erhöhte CILP1-Konzentrationen wurden sowohl in kardialen Fibroblasten als auch im Blut von Personen, die einen Herzinfarkt erlitten hatten, festgestellt. So wird angenommen, dass CILP1 eine Rolle in profibrotischen, kardialen Prozessen spielt. Ihre Ergebnisse ergänzen die vorherigen, indem sie die Hemmung der zellulären CILP1-Signalwege als therapeutische Maßnahme gegen das Fortschreiten einer Herzinsuffizienz betrachten¹². Weitere wichtige Erkenntnisse bezüglich der Assoziation zwischen CILP1 und der Mortalität bei chronischen Herzinsuffizienz lieferte die Studie von Wang et al. im Jahr 2022⁴⁸. CILP1 erwies sich als unabhängiger Vorhersageparameter für die Mortalität und so unterstreicht diese Erkenntnis die Bedeutung von CILP1 als potenziellen Parameter für die Risikostratifizierung⁴⁸.

5.1 CILP1 als spezifischer Biomarker für ischämischen Kardiomyopathien

Die Proband*innenkohorte „ICM=1“ schloss sich zusammen aus Personen, welche in der Vergangenheit eine koronare Herzkrankheit, einen Myokardinfarkt, eine perkutane Koronarintervention oder einen Bypass hatten. Der Vergleich der Mediane der beiden Kohorten „ICM=0“ und „ICM=1“ in Tabelle 4 zeigte zu Beginn, dass Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie keine erhöhten CILP1-Werte, im Vergleich zur Kontrollgruppe, aufwiesen. Die zusätzlich durchgeführte Boxplot-Analyse in Abbildung 8 sowie die ROC-Analyse in Abbildung 9 spiegeln ein ähnliches Bild wider. Das Boxplot-Diagramm in Abbildung 8 zeigt, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Median der Gruppe „ICM=0“ und „ICM=1“ gibt. Die Receiver-Operating-Characteristic-Analyse in Abbildung 9 lässt ergänzend dazu, durch die AUC von 48,9%, erkennen, dass die Konzentrationen des Glykoproteins CILP1 keine Differenzierung zwischen ischämischer Kardiomyopathie und der Kontrollgruppe erlaubt. Greift man die initiale Forschungsfrage dieser Dissertation auf, lässt sich anhand der durchgeführten Datenanalyse dieser Arbeit keine Assoziation zwischen CILP1, und einer ischämischen Kardiomyopathie nachweisen.

In Kontrast dazu stehen zum einen die Ergebnisse der Studie von Keranov et al. (2021). Hier wurde bei den Personen mit einer pulmonalen Hypertonie, einer linksventrikulären Hypertrophie oder einer dilatativen Kardiomyopathie höhere mediane CILP1-Werte detektiert als in der Kontrollgruppe ¹¹. Auch 2022 präsentierten Keranov et al. eine weitere Studie zu CILP1 in welcher ein Zusammenhang zwischen Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie und erhöhten CILP1-Werten gefunden werden konnte. Eine mögliche Ursache hierfür könnte sein, dass in dieser Studie die Variable „Ischämische Kardiomyopathie“ anders definiert wurde. ICM wurde als chronisches Koronarsyndrom beschrieben und neben den Einzelindikatoren vergangener Myokardinfarkt, stattgehabte perkutane Koronarintervention und, vergangener koronararterielle Bypass war auch die späte myokardiale Gadolinumanreicherung (LGE) in der kardialen Magnetresonanztomographie (CMR) ein Teil dieser Definition. Die LGE erwies sich laut Keranov et al. in rezenten Studien als prognostisch signifikanter Vorhersagewert für ein chronisches Koronarsyndrom. Als zusätzlicher Marker für den Schweregrad einer kardialen Einschränkung könnte die Miteinbeziehung dieser Variablen unter Umständen ein Grund für den Zusammenhang zwischen erhöhten CILP1 Werten bei einer ischämischen Kardiomyopathie darstellen ¹³. Shao et al. (2021) präsentierten auf molekularer Ebene, dass speziell das CILP1-Gen bei einer Ischämischen

Kardiomyopathie verstärkt exprimiert wird. So wird angenommen, dass die microRNA miR-542-3p und sein Zielgen CILP1, durch den TGF-B/ Smad-Signalweg, in der Entwicklung und dem Auftreten einer Herzinsuffizienz, entstanden durch eine ischämische Kardiomyopathie, involviert sind. Somit könnte CILP1 ein früher Marker einer kardiomyopathie-bedingten Herzinsuffizienz sein. ⁴⁷.

TAPSE ist einer der am häufigsten genutzten echokardiografischen Parameter zur Einschätzung der systolischen Funktion des rechten Ventrikels ³². In Tabelle 4 wird ersichtlich, dass die Personen in der Kohorte mit einer ischämischen Kardiomyopathie im Median einen niedrigeren TAPSE-Wert hatten als die Kontrollgruppe. Dies wird unter anderem durch Erkenntnisse von Wasemiller et al. (2016) bestätigt, welche annehmen, dass bei einer Vielzahl der Patient*innen mit einer Kardiomyopathie ischämischer sowie nicht ischämischer Genese, rechtsventrikuläre Dysfunktionen sowie kardiales Remodeling entstehen kann ²⁸. Dies spiegelt sich häufig in verringerten TAPSE-Werten (TAPSE <14mm) wider und so kann TAPSE als prognostischer Marker der rechtsventrikulären Funktion bei Patient*innen mit einer kongestiven Herzinsuffizienz, entstanden durch eine ischämischen oder nicht ischämischen Kardiomyopathie, herangezogen werden ³⁵. Auch bei Patient*innen mit einer diagnostizierten pulmonalen Hypertonie war der TAPSE/PASP-Quotient ein Indikator für die hämodynamische Funktion und unabhängig mit einer Mortalität assoziiert ⁶³.

Um zu evaluieren, ob es einen Zusammenhang zwischen CILP1 und der TAPSE gibt, wurde eine Subgruppenanalyse durchgeführt, welche ergab, dass es einen statistisch signifikanten Unterschied insbesondere zwischen den CILP1-Medianen der Gruppe TAPSE=1 und TAPSE=3 zu geben scheint. Daraus ergibt sich, dass bei Patient*innen mit einem verringerten TAPSE-Wert (<16mm) im Median, höhere CILP1-Werte, als in der Kohorte mit physiologischer TAPSE zu erwarten sind. Für Personen mit einer rechtsventrikulären Dysfunktion könnte ein erhöhter CILP1-Wert somit ein prognostischer Marker für den Schweregrad der kardialen Einschränkung sein. Auch bei der Untersuchung von Patient*innen mit pulmonaler Hypertonie und verringertem TAPSE/PASP-Quotient fanden sich im Median erhöhte CILP1-Werte ¹¹. Dies gibt Anlass zu der Vermutung, dass es eine Assoziation zwischen CILP1 und einer verringerten TAPSE gibt. Das Ziel einer Forschungsfrage dieser Dissertation war es zu eruieren, ob CILP1 bei den Proband*innen mit ischämischer Kardiomyopathie und zusätzlicher rechtsventrikulärer Einschränkung erhöht exprimiert wird und so liefern die Ergebnisse

die suggestive Evidenz, dass CILP1 und TAPSE kombiniert eine Aussage bezüglich des Schweregrades einer rechtsventrikulären Maladaptation treffen können.

Im Vergleich dazu steht die Subgruppenanalyse „CILP1 über LVEF“, welche den Zusammenhang zwischen CILP1 und einer verringerten LVEF untersuchen sollte. Die Ergebnisse konnten zeigen, dass es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den CILP1-Medianen der drei aufgeführten Gruppen gibt. Schon in Tabelle 7 wurde eine univariate hierarchische logistische Regression unter zusätzlicher Miteinbeziehung einer LVEF<40% ausgeführt. Diese Analyse zeigte, dass CILP1-Konzentrationen bei Personen mit ischämischer Kardiomyopathie nicht mit einer linksventrikulären Einschränkung, im Sinne einer verminderten LVEF, assoziiert sind. Keranov et al. präsentierten 2022 ein ähnliches Ergebnis und zeigten in einer Subgruppenanalyse mit 59 Proband*innen, dass es bei Patient*innen mit einer LVEF $\leq 50\%$ und einer ischämischen Kardiomyopathie keinen Zusammenhang von CILP1 und Parametern des linksventrikulären Remodelings gab ¹³. Entsprechend lässt sich aus diesen Analysen die Forschungsfrage, ob es einen Zusammenhang zwischen CILP1 und linksventrikulärer Maladaptation bei ischämischer Kardiomyopathie gibt, dahingehend beantworten, dass es keine merkliche Assoziation zwischen erhöhten CILP1-Werten und einer verminderten linksventrikulären Funktion bei einer ischämischen Kardiomyopathie zu geben scheint. Diese Ergebnisse korrespondieren auch mit den Ergebnissen vergangener Studien und so zeigte Kreymborg et al. (2010) in einer Studie an Mäusen, dass es nach Konstriktion der Pulmonalarterie zu einer 26-mal höheren Hochregulation des CILP1-Gens kommt, im Vergleich zu der nur 5-mal höheren CILP1-Expression nach einer Transvers Aortic Constriction (TAC) ⁴³. Aber auch Keranov et al. (2021) zeigten an Proband*innen, dass erhöhte CILP1-Werte bedeutend stärker mit maladaptiven, rechtsventrikulären Veränderungen assoziiert sind als mit linksventrikulären Dysfunktionen oder Hypertrophien ¹¹.

Kreymborg et al. (2010) sahen den Grund hierfür in der antagonisierenden Wirkung von CILP1 auf das profibrotische Protein TGFB1. Es wurde spekuliert, dass die verringerten CILP1-Werte bei einer linksventrikulären Dysfunktion darauf zurückzuführen sind, dass höhere TGFB1-Werte von physiologischerem Vorteil seien, da der linke Ventrikel eine physiologisch höhere Drucklast habe und somit auf eine stärkere Hypertrophie angewiesen sei. Keranov et al. (2020) fanden in CILP1 das mögliche Potential zwischen rechts- und linksventrikulärer Dysfunktion zu differenzieren

⁶⁴. Man argumentierte damit, dass linksventrikuläre Fibrosen in der Regel stärker ausgeprägt seien als rechtsventrikuläre. Dies sei womöglich auf niedrigere CILP1- und höhere TGFB1-Werte zurückzuführen und somit TGFB1-assoziiert ^{43,11}. In Kontrast dazu stehen die Erkenntnisse von Wang et al. (2022), welche besagen, dass CILP1 zwar die Fähigkeit habe, TGFB1 zu antagonisieren, aber nicht in dem Ausmaß wie bisher vermutet und CILP1 womöglich eher eine Aussage bezüglich des Schweregrades einer kardiopulmonalen Erkrankung ermögliche. So führen sie auch die erhöhten zirkulierenden CILP1-Werte darauf zurück, dass Patient*innen mit einer rechtsventrikulären Herzinsuffizienz häufig eine zugrundeliegende linksventrikuläre Insuffizienz haben und in der Folge auch häufig eine pulmonale Hypertonie ausbilden können. Diese Kombination sorge im Allgemeinen für eine stärker ausgeprägte globale Insuffizienz, höhere CILP1-Werte und somit für eine schlechtere Prognose ⁴⁸.

Die durchgeführten statistischen Analysen dieser Arbeit lassen vermuten, dass eine Kombination aus rechtsventrikulären und linksventrikulären Dysfunktionen eine mögliche Assoziation mit erhöhten CILP1-Werten haben könnte. Zhang et al. (2021) erkannten, dass CILP1 eine pathologische Rolle in der Entstehung und Progredienz von kardialer Fibrose nach einem Myokardinfarkt spielt. Somit könnte CILP1 durchaus als Biomarker bei pathologischem kardialen Remodeling fungieren und eine Hemmung des CILP1-Proteins eine Strategie gegen das Fortschreiten einer Herzinsuffizienz sein ¹².

5.2 CILP1 als spezifischer Biomarker zur Risikostratifizierung der Mortalität

Um ein Augenmerk auf den Aspekt der Risikostratifizierung zu legen, wurde in Tabelle 8 ein Vergleich der Mediane der gesamten 538 Proband*innen über die Mortalität durchgeführt. Diese Analyse ergab, dass CILP1 als einziger aufgeführter Biomarker keine signifikante Assoziation mit der Mortalität hatte. Hingegen zeigten CRP, eGFR und Kreatinin als weitere Biomarker dieser Studie durchaus eine statistisch signifikante Assoziation mit der Mortalität. In einer ergänzend durchgeführten ROC-Analyse wurde überprüft, ob sich CILP1 dafür eignen könnte, innerhalb der gesamten Kohorte eine unabhängige Vorhersage in Bezug auf die Mortalität zu treffen. Es zeigte sich, dass CILP1 nicht die Fähigkeit besitzt, ein unabhängiger Vorhersageparameter in Hinblick auf die Sterblichkeit zu sein. Andere Erkenntnisse lieferten allerdings Wang et al. im Jahr 2021 und legten in ihrer Studie ein Augenmerk darauf, ob CILP1 die Fähigkeit habe als prognostischer Biomarker die Mortalität vorherzusagen. Man fand heraus, dass innerhalb

eines Proband*innenkollektives mit diagnostizierter chronischer Herzinsuffizienz, zirkulierende CILP1-Werte durchaus mit einer erhöhten Mortalität assoziiert waren. Es wurde beschrieben, dass CILP1 sogar eine bessere prognostische Unterscheidung hinsichtlich der Mortalität ermögliche als der kardiale Biomarker NT-proBNP. Somit könnte in der Risikostratifizierung der Mortalität, die Kombination aus CILP1 und NT-proBNP einer alleinigen Prognose via NT-proBNP überlegen sein ⁴⁸.

Betrachtet man nun die Risikostratifizierung innerhalb einer Kohorte von Patient*innen mit einer ischämischen Kardiomyopathie, so zeigten schon Sabe et al. (2016), dass die RVEF ein unabhängiger prädiktiver Faktor bezüglich der Mortalität sei ²⁹. Passend dazu koalierte in dieser Arbeit schon im Vergleich der Mediane ein erhöhtes Sterberisiko signifikant mit verringerten TAPSE-Werten. Ähnliches analysierten schon Damy et al (2012) und Venner et al (2016) in ihren Studien, und eruierten, dass Patient*innen mit einer rechtsventrikulären Einschränkung, dargestellt durch eine verringerte TAPSE, auch unabhängig von einer verringerten linksventrikulären Ejektionsfraktion, ein höheres Mortalitätsrisiko haben und eine TAPSE<15mm eine relevante, prognostische Rolle spielen kann ^{65,66}. Ebenfalls zeigten Kjaergaard et al. (2006), dass über die Evaluation der maladaptiven rechtsventrikulären Funktion via TAPSE, eine unabhängige Prädiktion bezüglich der Sterblichkeit, bei Patient*innen mit diagnostizierter Herzinsuffizienz, erfolgen kann ⁶⁷.

Um der Vermutung nachzugehen, ob erhöhtes CILP1 bei einer Kombination aus rechts- sowie linksventrikulärer Dysfunktion als Biomarker zur Risikostratifizierung fungieren kann, wurde die Patient*innenkohorte mit eingeschränkter rechtsventrikulärer Funktion, und folglich verringerter TAPSE, untersucht und eine Receiver Operating Characteristic durchgeführt. In der ROC-Analyse wurde präsentiert, dass CILP1 mit 79,9-prozentiger Wahrscheinlichkeit, in der Kohorte mit verringerter TAPSE die Fähigkeit aufweist, ein unabhängiger Vorhersageparameter in Hinblick auf die Mortalität zu sein. Im Vergleich dazu konnte innerhalb der Kohorte mit physiologischer TAPSE aber verringerter LVEF der Biomarker CILP1 nur mit 49,9-prozentiger Wahrscheinlichkeit als Mortalitätsprädiktor fungieren. Die ROC-Analysen dieser Arbeit bestätigen daher den Verdacht, dass es eine enge Assoziation speziell zwischen erhöhten CILP1-Werten, verringerten TAPSE-Werten und dem Endpunkt Mortalität gibt. Die zusätzlich durchgeführte, multivariate hierarchische logistische Regression erhärtete diese Erkenntnis. Diese abschließend durchgeführten Analysen zeigten, dass es ausschließlich in dem Patient*innenkollektiv mit verringerter TAPSE, einen Zusammenhang zwischen

erhöhten CILP1-Werten und der Mortalität gibt und dass dieser Zusammenhang auch bei Personen mit ischämischer Kardiomyopathie erhalten bleibt. Blickt man auf die Forschungsfragen zurück, so beleuchtete eine dieser Fragen das Potential von CILP1, ein Marker zur Risikostratifizierung bei Personen mit einer ischämischen Kardiomyopathie und zusätzlicher rechts- oder linksventrikulärer Maladaptation zu sein. Aus der Diskussion der Ergebnisse lässt sich schlussfolgern, dass CILP1 bei Patient*innen mit einer ischämischen Kardiomyopathie und zusätzlichen rechtsventrikulären Einschränkungen im Sinne einer verringerten TAPSE ein suffizienter Biomarker in Hinblick auf die Risikostratifizierung der Mortalität sein könnte.

5.3 Studienlimitationen

Die Variable Ischämische Kardiomyopathie wurde aus den Einzelindikatoren Koronare Herzkrankheit, Z.n. Myokardinfarkt, Z.n. perkutaner Koronarintervention und Z.n. Bypass-Operation gebildet. Diese Neuoperationalisierung der Variablen "ICM" sowie die Tatsache, dass die angeführten Variablen nicht direkt messbar sind, könnten eine mögliche Schwäche der Studie darstellen. Dass CILP1 als einziger kardialer Biomarker in dieser Studie aufgeführt wird, könnte ebenfalls eine Limitation dieser Arbeit sein. Weiters wurde die Risikostratifizierung innerhalb einer herzkranken Population bewertet, was wiederum die Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Mit 538 Personen war die Größe dieser Studie eher klein und könnte daher, insbesondere in der Subgruppe, einen limitierenden Einfluss auf die Validität der Analyse genommen haben. Des Weiteren fanden sich Differenzen in Bezug auf die Anzahl der weiblichen Proband*innen in der Gruppe mit ischämischer Kardiomyopathie und in der Kontrollgruppe, was ebenfalls die Analyse beeinflusst haben könnte. Da es sich um eine Registerstudie handelt, gab es innerhalb des Datensatzes zum Teil unvollständige Parameter. Die Anzahl der verfügbaren Variablen im Vergleich zu der gesamten Kohorte wurde in der Tabelle zur Datenverfügbarkeit präsentiert. Statistische Analysen wurden darauf angepasst, diese Tatsache könnte sich allerdings dennoch auf die statistischen Analysen ausgewirkt haben.

5.4 Ausblick

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei Proband*innen mit einer ischämischen Kardiomyopathie und zusätzlicher rechtsventrikulärer Maladaptation ein Zusammenhang

zwischen CILP1 und dem Schweregrad der Einschränkung nachweisbar war und sich CILP1 innerhalb dieser Kohorte weiters als suffizienter Biomarker in Bezug auf die Risikostratifizierung präsentierte. Da die Variable „ICM“ für diese Arbeit aus vier nicht direkt messbaren Einzelindikatoren operationalisiert wurde, könnte eine Erweiterung der Indexvariablen „ICM“ um messbare Werte von Interesse sein. Beispielsweise könnten echokardiografische Parameter oder andere radiologische Kriterien in die Definition anderer Studien miteinfließen. Die Involvierung weiterer, klassischer kardialer Biomarker wie beispielsweise NT-proBNP könnten, in Hinblick auf die Kombination von CILP1 mit anderen kardialen Laborparametern, zur Risikostratifizierung der Mortalität vielversprechend sein. Die Ergebnisse dieser Arbeit sollten daher, kombiniert mit anderen kardialen Biomarkern und echokardiografischen Diagnosemethoden, in weiteren multizentralen Studien genauer untersucht werden. Da alle Proband*innen aus dem Biomarkerregister des Herzforschungszentrum stammen, waren die Personen dieser Studie herzkrank. Eine Kontrollgruppe mit klinisch herzgesunden Proband*innen könnte eine differenziertere Betrachtung ermöglichen.

In Bezug auf die durchgeführten statistischen Methoden wäre die Involvierung des propensity score matching eine Option um die prognostische Aussagekraft von CILP1 erweiternd zu untersuchen. 1983 durch Rosenbaum und Rubin das erste Mal vorgestellt, hat diese statistische Analyse zum Ziel, Störfaktoren und Verzerrungen innerhalb einer Stichprobe möglichst zu minimieren. Eine Verteilung sollte bezüglich der beobachteten Kovariaten ausgeglichen sein und möglichst wenige Störfaktoren beinhalten. Ein Zustand, welcher häufig durch Randomisierungen erreicht wird, sollte durch Matching Methoden im Rahmen des propensity score matchings erreicht werden. Proband*innen der Vergleichsgruppe werden mit Proband*innen der Kontrollgruppe gepaart, welche ähnliche Ausprägungen in den entsprechenden Kovariaten aufweisen. Damit will man Vergleichs- und Kontrollgruppen erhalten, welche in Hinblick auf ihre Kovariaten eine gewisse Homogenität aufweisen ⁶⁸⁻⁷⁰. Schon in vergangenen Studien zu Biomarkern wurde diese Art der statistischen Analyse angewandt. So war es in einer Studie zu renalen Biomarkern möglich so den Einfluss von Störfaktoren zu reduzieren und auch in einer Studie zu Biomarkern bei metastasierten Nierenzellkarzinomen war das propensity score matching eine Methode um Stichprobenverzerrung zu minimieren ^{71, 72}. Auch für den kardialen Biomarker CILP1 könnte diese Form der statistischen Analyse somit eine vielversprechende Methode sein, um eine noch bessere Vergleichbarkeit innerhalb der Kohorte zu erhalten.

Von zusätzlichem Interesse könnte auch eine Erweiterung der Methodik um das maschinelle Lernen in Biomarkern sein. Diese Form der Untersuchung bedient sich der künstlichen Intelligenz und deren Fähigkeit, durch vorherige Programmierung von verschiedenen Algorithmen so trainiert zu werden, dass eigenständig und ohne vorherige, explizite Programmierung, eine Klassifikation erfolgen kann. Im Falle von Biomarkern ist ein stabiles Verfahren, welches ähnliche Gensets selektieren kann, obwohl der Dateninput unterschiedlich ist, von besonderer Wichtigkeit. Auch die Vorhersagegenauigkeit einer Methode zur Biomarkerermittlung ist ein relevanter Parameter, um die Genauigkeit eines Verfahrens zu evaluieren. Unpassende Gene eines Gensets können die Vorhersagefähigkeit limitieren und hinderlich für einen Klassifizierer sein. So führte das Nutzen von Gensets, welche nur die charakteristischsten Informationen beinhalten, zu einer akkurateren Vorhersagefähigkeit ⁶². In einer 2021 publizierten Studie zu Bronchialkarzinomen erwies sich das maschinelle Lernen in Biomarkern, als vielversprechende Methode um zukünftig Biomarker zur Früherkennung von Lungenkarzinomen zu ermitteln ⁷³. Auch in einer Studie zu Mammakarzinomen, wurden Methoden des maschinellen Lernens angewandt, um Biomarker zu identifizieren, welche eine akkuratere und auf die Genexpression angepasste Therapie ermöglichen und Überlebensraten steigern könnten ⁷⁴. So könnte dieser methodische Ansatz, etwas abseits der klassischen statistischen Analysen, auch im Falle von CILP1 aussichtsreiche Erkenntnisse in der Biomarkerforschung liefern.

6 Zusammenfassung

Das Krankheitsbild der ischämischen Kardiomyopathie besteht aus einer Vielzahl an pathophysiologischen Prozessen, welche häufig in ein Remodeling des linken sowie rechten Ventrikels münden und in der Folge eine reduzierte, kardiale Ejektionsfraktion begünstigen. Trotz des erhöhten Mortalitätsrisikos von Patient*innen mit einer ischämischen Kardiomyopathie konnten sich bis dato noch keine Biomarker etablieren, welche eine suffiziente Aussage hinsichtlich des Schweregrads sowie des Mortalitätsrisikos dieser kardialen Erkrankung, treffen konnte. In den letzten Jahren häuften sich allerdings Studien zu dem Biomarker CILP1 und dessen Assoziation mit ischämischen sowie dilatativen Kardiomyopathien.

Ziel dieser Dissertation war es, zum einen zu evaluieren, ob der Biomarker CILP1 bei dem Krankheitsbild der ischämischen Kardiomyopathie exprimiert wird und ob das Glykoprotein CILP1 einen Zusammenhang mit einer zusätzlichen rechts- oder linksventrikulären Maladaptation hat. Ferner sollte untersucht werden, ob CILP1 zur Prognose des Mortalitätsrisikos bei Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie fungieren kann und ob die Involvierung weiterer klinischer Parameter von Bedeutung sein könnte.

Mittels statistischer Analysen wurden die Daten der 538 Patient*innen auf ihre Evidenz in Bezug auf das Protein CILP1 untersucht und es konnte nachgewiesen werden, dass CILP1 in der Gruppe von Patient*innen mit ischämischer Kardiomyopathie nicht vermehrt exprimiert wird. Subgruppenanalysen lieferten die Annahme, dass eine rechtsventrikuläre Einschränkung, im Sinne eines verminderten TAPSE-Wertes, bei den Personen mit ischämischer Kardiomyopathie mit höheren CILP1-Konzentrationen assoziiert sein könnten. In weiterer Folge wurden ROC-Analysen durchgeführt, welche das Potential von CILP1 in der Risikostratifizierung beleuchten sollten. Es konnte aufgezeigt werden, dass CILP1 bei Personen mit ischämischer Kardiomyopathie und zusätzlicher rechtsventrikulärer Dysfunktion das Potential haben kann zwischen Versterben und Überleben zu diskriminieren. Verstärkt wurde diese Annahme mit einer final durchgeführten uni- und multivariaten hierarchischen Regression. Demnach zeigen die vorliegenden Daten, dass es durchaus eine Assoziation zwischen CILP1 und der Mortalität bei zusätzlicher rechtsventrikulärer Maladaptation ($TAPSE < 16\text{mm}$) gibt und dass in diesem Fall CILP1 das Potential haben könnte als Biomarker in der Risikostratifizierung zu fungieren.

In Hinblick auf die zukünftige Forschungsperspektive könnte die Involvierung weiterer, kardialer Biomarker von Interesse sein. Eine Kombination von CILP1 und klassischen Biomarkern, wie beispielsweise NT-proBNP, könnte die Zuverlässigkeit erhöhen und zusammen mit echokardiografischen Parametern, wie der TAPSE, die Genauigkeit einer Prognose im klinischen Alltag verbessern.

7 Summary

The clinical picture of ischemic cardiomyopathy consists of a variety of pathophysiological processes which often result in the remodeling of the left and right ventricles and consequently result in a reduced cardiac ejection fraction. Despite the increased mortality risk of patients with ischemic cardiomyopathy, still, no specific biomarkers have been established that could provide sufficient information about the severity and mortality risk of this cardiac disease. In recent years, however, studies on the biomarker CILP1 and its association with ischemic and dilated cardiomyopathies have increased.

The aim of this dissertation was to evaluate whether the biomarker CILP1 is expressed in ischemic cardiomyopathy and whether the glycoprotein is associated with an additional right or left ventricular maladaptation. Furthermore, the intention was to examine whether CILP1 could serve as a prognostic indicator for mortality risk among patients with ischemic cardiomyopathy and if the involvement of additional clinical parameters could be helpful.

Statistical analyses were used to examine the data from 538 patients and to understand the relation between ischemic cardiomyopathy and the protein CILP1. It was demonstrated that CILP1 is not expressed to an increased extent in the group of patients with ischemic cardiomyopathy. Subgroup analyses provided the assumption that a right ventricular restriction, in the sense of a reduced TAPSE value, is associated with higher CILP1 concentrations in people with ischemic cardiomyopathy. Subsequently, ROC analyses were carried out to shed light on the potential of CILP1 in risk stratification. The results suggest that CILP1 may have the potential to differentiate between survival and mortality in people with ischemic cardiomyopathy and additional right ventricular dysfunction. This assumption was supported by a final univariate and multivariate hierarchical regression. The available data show an association between CILP1 and mortality together with additional right ventricular maladaptation (TAPSE < 16mm) and indicate that CILP1 has the potential to establish itself as a biomarker in risk stratification of ischemic cardiomyopathy.

In terms of future research, the involvement of additional cardiac biomarkers could be of interest. A combination of CILP1 and classical biomarkers, such as NT-proBNP, could improve reliability and, together with echocardiographic parameters like TAPSE, enhance the accuracy of prognosis in clinical practice.

Literaturverzeichnis

1. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, Abraham J, Adair T, Aggarwal R, Ahn SY, et al. *Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010*. The Lancet. 2012;380(9859):2095–2128. doi:10.1016/S0140-6736(12)61728-0
2. Mc Namara K, Alzubaidi H, Jackson JK. *Cardiovascular disease as a leading cause of death: how are pharmacists getting involved? Integrated Pharmacy Research and Practice*. 2019;Volume 8:1–11. doi:10.2147/IPRP.S133088
3. Heidenreich PA, Bozkurt B, Aguilar D, Allen LA, Byun JJ, Colvin MM, Deswal A, Drazner MH, Dunlay SM, Evers LR, et al. 2022 AHA/ACC/HFSA *Guideline for the Management of Heart Failure*. *Journal of the American College of Cardiology*. 2022;79(17):e263–e421. doi:10.1016/j.jacc.2021.12.012
4. Cabac-Pogorevici I, Muk B, Rustamova Y, Kalogeropoulos A, Tzeis S, Vardas P. *Ischaemic cardiomyopathy. Pathophysiological insights, diagnostic management and the roles of revascularisation and device treatment. Gaps and dilemmas in the era of advanced technology*. *European Journal of Heart Failure*. 2020;22(5):789–799. doi:10.1002/ejhf.1747
5. de Boer RA, Daniels LB, Maisel AS, Januzzi JL. *State of the Art: Newer biomarkers in heart failure: Newer biomarkers in heart failure*. *European Journal of Heart Failure*. 2015;17(6):559–569. doi:10.1002/ejhf.273
6. Nayak A, Liu C, Mehta A, Ko Y, Tahhan AS, Dhindsa DS, Uppal K, Jones DP, Butler J, Morris AA, et al. *N8-Acetylspermidine: A Polyamine Biomarker in Ischemic Cardiomyopathy With Reduced Ejection Fraction*. *Journal of the American Heart Association*. 2020;9(11):e016055. doi:10.1161/JAHA.120.016055
7. Bart BA, Shaw LK, McCants CB, Fortin DF, Lee KL, Califf RM, O'Connor CM. *Clinical Determinants of Mortality in Patients With Angiographically Diagnosed Ischemic or Nonischemic Cardiomyopathy*. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997;30(4):1002–1008. doi:10.1016/S0735-1097(97)00235-0
8. Voelkel NF, Quaipe RA, Leinwand LA, Barst RJ, McGoon MD, Meldrum DR, Dupuis J, Long CS, Rubin LJ, Smart FW, et al. *Right Ventricular Function and Failure: Report of a National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group on Cellular and Molecular Mechanisms of Right Heart Failure*. *Circulation*. 2006;114(17):1883–1891. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.632208
9. Johnson K, Farley D, Hu S-I, Terkeltaub R. *One of two chondrocyte-expressed isoforms of cartilage intermediate-layer protein functions as an insulin-like growth factor I antagonist*. *Arthritis & Rheumatism*. 2003;48(5):1302–1314. doi:10.1002/art.10927

10. Lorenzo P, Neame P, Sommarin Y, Heinegård D. *Cloning and Deduced Amino Acid Sequence of a Novel Cartilage Protein (CILP) Identifies a Proform Including a Nucleotide Pyrophosphohydrolase*. Journal of Biological Chemistry. 1998;273(36):23469–23475. doi:10.1074/jbc.273.36.23469
11. Keranov S, Dörr O, Jafari L, Troidl C, Liebetrau C, Kriechbaum S, Keller T, Voss S, Bauer T, Lorenz J, et al. *CILP1 as a biomarker for right ventricular maladaptation in pulmonary hypertension*. European Respiratory Journal. 2021;57(4):1901192. doi:10.1183/13993003.01192-2019
12. Zhang Q-J, He Y, Li Y, Shen H, Lin L, Zhu M, Wang Z, Luo X, Hill JA, Cao D, et al. *Matricellular Protein Cilp1 Promotes Myocardial Fibrosis in Response to Myocardial Infarction*. Circulation Research. 2021;129(11):1021–1035. doi:10.1161/CIRCRESAHA.121.319482
13. Keranov S, Jafari L, Haen S, Vietheer J, Kriechbaum S, Dörr O, Liebetrau C, Troidl C, Rutsatz W, Rieth A, et al. *CILP1 as a biomarker for right ventricular dysfunction in patients with ischemic cardiomyopathy*. Pulmonary Circulation. 2022;12(1):e12062. doi:10.1002/pul2.12062
14. Salemi VMC, Mohty D, Altavila SLL de, Melo MDT de, Kalil R, Bocchi EA. *Insights into the Classification of Cardiomyopathies: Past, Present, and Future Directions*. Clinics. 2021;76:e2808. doi:10.6061/clinics/2021/e2808
15. Brigden W. *Uncommon myocardial diseases the non-coronary cardiomyopathies*. The Lancet. 1957;270(7007):1179–1184. doi:10.1016/S0140-6736(57)90159-9
16. Br Heart J. *Report of the WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies*. Heart. 1980;44(6):672–673. doi:10.1136/hrt.44.6.672
17. Richardson et al. P. *Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies*. Circulation. 1996;93(5):841–842. doi:10.1161/01.CIR.93.5.841
18. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB. *Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies: An American Heart Association Scientific Statement From the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention*. Circulation. 2006;113(14):1807–1816. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.174287
19. 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(2):210–218. doi:10.1016/S0735-1097(01)01738-7

20. Soriano CJ, Ridocci F, Estornell J, Pérez-Boscá JL, Pomar F, Trigo A, Planas A, Nadal M, Jacas V, Martinez V, et al. *Late gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance identifies patients with standardized definition of ischemic cardiomyopathy: A single centre experience*. International Journal of Cardiology. 2007;116(2):167–173. doi:10.1016/j.ijcard.2006.03.040
21. Panza JA, Chrzanowski L, Bonow RO. *Myocardial Viability Assessment Before Surgical Revascularization in Ischemic Cardiomyopathy*. Journal of the American College of Cardiology. 2021;78(10):1068–1077. doi:10.1016/j.jacc.2021.07.004
22. Bhandari B, Rodriguez BSQ, Masood W. *Ischemic Cardiomyopathy*. StatPearls Publishing; 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537301/>
23. Vaskova EA, Yang PC. *Exosomes as natural nanocarriers for therapeutic and diagnostic use in cardiovascular diseases*. In: *Nanomedicine for Ischemic Cardiomyopathy*. Elsevier; 2020. p. 71–88. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128174340000064>. doi:10.1016/B978-0-12-817434-0.00006-4
24. Briceno N, Schuster A, Lumley M, Perera D. *Ischaemic cardiomyopathy: pathophysiology, assessment and the role of revascularisation*. Heart. 2016;102(5):397–406. doi:10.1136/heartjnl-2015-308037
25. Bolli R, Marbán E. *Molecular and Cellular Mechanisms of Myocardial Stunning*. Physiological Reviews. 1999;79(2):609–634. doi:10.1152/physrev.1999.79.2.609
26. Camici PG, Prasad SK, Rimoldi OE. *Stunning, Hibernation, and Assessment of Myocardial Viability*. Circulation. 2008;117(1):103–114. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.702993
27. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola V-P, Jankowska EA, et al. *2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC*. European Heart Journal. 2016;37(27):2129–2200. doi:10.1093/eurheartj/ehw128
28. Wasemiller S, Earle T, Kashner M, Foster G, Silvet H. *Right Ventricular Ejection Fraction in Ischemic Versus Nonischemic Cardiomyopathy*. The American Journal of Cardiology. 2016;117(2):278–281. doi:10.1016/j.amjcard.2015.10.033
29. 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(9):656–665. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022339

30. Cavigli L, Focardi M, Cameli M, Mandoli GE, Mondillo S, D'Ascenzi F. *The right ventricle in "Left-sided" cardiomyopathies: The dark side of the moon*. Trends in Cardiovascular Medicine. 2021;31(8):476–484. doi:10.1016/j.tcm.2020.10.003
31. Kaul S, Tei C, Hopkins JM, Shah PM. *Assessment of right ventricular function using two-dimensional echocardiography*. American Heart Journal. 1984;107(3):526–531. doi:10.1016/0002-8703(84)90095-4
32. Aloia E, Cameli M, D'Ascenzi F, Sciacaluga C, Mondillo S. *TAPSE: An old but useful tool in different diseases*. International Journal of Cardiology. 2016;225:177–183. doi:10.1016/j.ijcard.2016.10.009
33. Alerhand S, Hickey SM. *Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) for Risk Stratification and Prognostication of Patients with Pulmonary Embolism*. The Journal of Emergency Medicine. 2020;58(3):449–456. doi:10.1016/j.jemermed.2019.09.017
34. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, Solomon SD, Louie EK, Schiller NB. *Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults: A Report from the American Society of Echocardiography*. Journal of the American Society of Echocardiography. 2010;23(7):685–713. doi:10.1016/j.echo.2010.05.010
35. Ghio S, Recusani F, Klersy C, Sebastiani R, Laudisa ML, Campana C, Gavazzi A, Tavazzi L. *Prognostic usefulness of the tricuspid annular plane systolic excursion in patients with congestive heart failure secondary to idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy*. The American Journal of Cardiology. 2000;85(7):837–842. doi:10.1016/S0002-9149(99)00877-2
36. Giovanardi P, Tincani E, Maioli M, Tondi S. *The Prognostic Importance of TAPSE in Early and in Stable Cardiovascular Diseases*. Journal of Cardiovascular Development and Disease. 2020;7(1):4. doi:10.3390/jcdd7010004
37. Badano LP, Ghingina C, Easaw J, Muraru D, Grillo MT, Lancellotti P, Pinamonti B, Coghlan G, Marra MP, Popescu BA, et al. *Right ventricle in pulmonary arterial hypertension: haemodynamics, structural changes, imaging, and proposal of a study protocol aimed to assess remodelling and treatment effects*. European Journal of Echocardiography. 2010;11(1):27–37. doi:10.1093/ejechocard/jep152
38. Yao Z. *Characterisation of cartilage intermediate layer protein (CILP)-induced arthropathy in mice*. Annals of the Rheumatic Diseases. 2004;63(3):252–258. doi:10.1136/ard.2003.008045
39. Mori M, Nakajima M, Mikami Y, Seki S, Takigawa M, Kubo T, Ikegawa S. *Transcriptional regulation of the cartilage intermediate layer protein (CILP) gene*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2006;341(1):121–127. doi:10.1016/j.bbrc.2005.12.159
40. Le Mercier P, Bolleman J, de Castro E, Gasteiger E, Bansal P, Auchincloss AH, Boutet E, Breuza L, Casals-Casas C, Estreicher A, Feuermann M, Lieberherr D,

- Rivoire C, Pedruzzi I, Redaschi N, Bridge A. *SwissBioPics-an interactive library of cell images for the visualization of subcellular location data*. Database (Oxford). 2022 Apr 12;2022:baac026. doi: 10.1093/database/baac026
41. Barallobre-Barreiro J, Didangelos A, Schoendube FA, Drozdov I, Yin X, Fernández-Caggiano M, Willeit P, Puntmann VO, Aldama-López G, Shah AM, et al. *Proteomics Analysis of Cardiac Extracellular Matrix Remodeling in a Porcine Model of Ischemia/Reperfusion Injury*. *Circulation*. 2012;125(6):789–802. doi:10.1161/Circulationaha.111.056952
 42. van Nieuwenhoven FA, Munts C, op't Veld RC, González 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(1):16042. doi:10.1038/s41598-017-16201-y
 43. Kreymborg K, grosse Uchida S, Gellert P, Schneider A, Boettger T, Voswinckel R, Wietelmann A, Szibor M, Weissmann N, Ghofrani AH, et al. *Identification of right heart-enriched genes in a murine model of chronic outflow tract obstruction*. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2010;49(4):598–605. doi:10.1016/j.yjmcc.2010.07.014
 44. Shindo K, Asakura M, Min K-D, Ito S, Fu HY, Yamazaki S, Takahashi A, Imazu M, Fukuda H, Nakajima Y, et al. *Cartilage Intermediate Layer Protein 1 Suppresses TGF- β Signaling in Cardiac Fibroblasts*. *International Journal of Gerontology*. 2017;11(2):67–74. doi:10.1016/j.ijge.2017.01.002
 45. Zhang C-L, Zhao Q, Liang H, Qiao X, Wang J-Y, Wu D, Wu L-L, Li L. *Cartilage intermediate layer protein-1 alleviates pressure overload-induced cardiac fibrosis via interfering TGF- β 1 signaling*. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2018;116:135–144. doi:10.1016/j.yjmcc.2018.02.006
 46. 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(5):432–443. doi:10.1016/j.jacbts.2020.01.016
 47. Shao X, Zhang X, Yang L, Zhang R, Zhu R, Feng R. *Integrated analysis of mRNA and microRNA expression profiles reveals differential transcriptome signature in ischaemic and dilated cardiomyopathy induced heart failure*. *Epigenetics*. 2021;16(8):917–932. doi:10.1080/15592294.2020.1827721
 48. Wang C, Jian W, Luo Q, Cui J, Qing Y, Qin C, Li G, Chen W. *Prognostic value of cartilage intermediate layer protein 1 in chronic heart failure*. *ESC Heart Failure*. 2022;9(1):345–352. doi:10.1002/ehf2.13746
 49. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, Heer FT, de Beer TAP, Rempfer C, Bordoli L, Lepore R, Schwede T. *SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes*. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jul 2;46(W1):W296-W303. doi: 10.1093/nar/gky427
 50. Seki S, Kawaguchi Y, Chiba K, Mikami Y, Kizawa H, Oya T, Mio F, Mori M,

- Miyamoto Y, Masuda I, et al. *A functional SNP in CILP, encoding cartilage intermediate layer protein, is associated with susceptibility to lumbar disc disease*. *Nature Genetics*. 2005;37(6):607–612. doi:10.1038/ng1557
51. Naeije R, Manes A. *The right ventricle in pulmonary arterial hypertension*. *European Respiratory Review*. 2014;23(134):476–487. doi:10.1183/09059180.00007414
52. Bernardo BC, Belluoccio D, Rowley L, Little CB, Hansen U, Bateman JF. *Cartilage Intermediate Layer Protein 2 (CILP-2) Is Expressed in Articular and Meniscal Cartilage and Down-regulated in Experimental Osteoarthritis*. *Journal of Biological Chemistry*. 2011;286(43):37758–37767. doi:10.1074/jbc.M111.248039
53. *European Medicines Agency. Glossary: Biomarker*. <https://www.ema.europa.eu/en/glossary/biomarker>
54. Vasani RS. *Biomarkers of Cardiovascular Disease: Molecular Basis and Practical Considerations*. *Circulation*. 2006;113(19):2335–2362. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.482570
55. Dhingra R, Vasani RS. *Biomarkers in cardiovascular disease: Statistical assessment and section on key novel heart failure biomarkers*. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2017;27(2):123–133. doi:10.1016/j.tcm.2016.07.005
56. Kott KA, Bishop M, Yang CHJ, Plasto TM, Cheng DC, Kaplan AI, Cullen L, Celermajer DS, Meikle PJ, Vernon ST, et al. *Biomarker Development in Cardiology: Reviewing the Past to Inform the Future*. *Cells*. 2022;11(3):588. doi:10.3390/cells11030588
57. Dolci A, Panteghini M. *The exciting story of cardiac biomarkers: From retrospective detection to gold diagnostic standard for acute myocardial infarction and more*. *Clinica Chimica Acta*. 2006;369(2):179–187. doi:10.1016/j.cca.2006.02.042
58. Ghantous CM, Kamareddine L, Farhat R, Zouein FA, Mondello S, Kobeissy F, Zeidan A. *Advances in Cardiovascular Biomarker Discovery*. *Biomedicines*. 2020;8(12):552. doi:10.3390/biomedicines8120552
59. Elliott P, Cowie MR, Franke J, Ziegler A, Antoniades C, Bax J, Bucciarelli-Ducci C, Flachskampf FA, Hamm C, Jensen MT, et al. *Development, validation, and implementation of biomarker testing in cardiovascular medicine state-of-the-art: proceedings of the European Society of Cardiology—Cardiovascular Round Table*. *Cardiovascular Research*. 2021;117(5):1248–1256. doi:10.1093/cvr/cvaa272
60. Ahmad T, Fiuzat M, Pencina MJ, Geller NL, Zannad F, Cleland JGF, Snider JV, Blankenberg S, Adams KF, Redberg RF, et al. *Charting a Roadmap for Heart Failure Biomarker Studies*. *JACC: Heart Failure*. 2014;2(5):477–488. doi:10.1016/j.jchf.2014.02.005
61. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O,

- Kuhl U, Maisch B, McKenna WJ, et al. *Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases*. *European Heart Journal*. 2007;29(2):270–276. doi:10.1093/eurheartj/ehm342
62. Zhang X, Jonassen I, Goksøyr A. *Machine Learning Approaches for Biomarker Discovery Using Gene Expression Data*. In: Department of Clinical and Toxicological Analyses, School of Pharmaceutical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, Nakaya HI, editors. *Bioinformatics*. Exon Publications; 2021. p. 53–64. <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/285>. doi:10.36255/exonpublications.bioinformatics.2021.ch4
63. 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
64. Keranov S, Haen S, Vietheer J, Rutsatz W, Wolter J-S, Kriechbaum SD, von Jeinsen B, Bauer P, Tello K, Richter M, et al. *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;11(12):2188. doi:10.3390/diagnostics11122188
65. Damy T, Kallvikbacka-Bennett A, Goode K, Khaleva O, Lewinter C, Hobkirk J, Nikitin NP, Dubois-Randé J-L, Hittinger L, Clark AL, et al. *Prevalence of, Associations With, and Prognostic Value of Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) Among Out-Patients Referred for the Evaluation of Heart Failure*. *Journal of Cardiac Failure*. 2012;18(3):216–225. doi:10.1016/j.cardfail.2011.12.003
66. Venner C, Selton-Suty C, Huttin O, Erpelding M-L, Aliot E, Juillière Y. *Right ventricular dysfunction in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: Prognostic value and predictive factors*. *Archives of Cardiovascular Diseases*. 2016;109(4):231–241. doi:10.1016/j.acvd.2015.10.006
67. Kjaergaard J, Akkan D, Iversen KK, Køber L, Torp-Pedersen C, Hassager C. *Right ventricular dysfunction as an independent predictor of short- and long-term mortality in patients with heart failure*. *European Journal of Heart Failure*. 2007;9(6–7):610–616. doi:10.1016/j.ejheart.2007.03.001
68. Austin PC. *An Introduction to Propensity Score Methods for Reducing the Effects of Confounding in Observational Studies*. *Multivariate Behavioral Research*. 2011;46(3):399–424. doi:10.1080/00273171.2011.568786
69. Pan W, Bai H. *Propensity score interval matching: using bootstrap confidence intervals for accommodating estimation errors of propensity scores*. *BMC Medical Research Methodology*. 2015;15(1):53. doi:10.1186/s12874-015-0049-3
70. Rosenbaum PR, Rubin DB. *The central role of the propensity score in observational studies for causal effects*. *Biometrika*. 1983;70(1):41–55. doi:10.1093/biomet/70.1.41

71. Qin Y, Zhang S, Shen X, Zhang S, Wang J, Zuo M, Cui X, Gao Z, Yang J, Zhu H, et al. *Evaluation of urinary biomarkers for prediction of diabetic kidney disease: a propensity score matching analysis*. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 2019;10:2042018819891111. doi:10.1177/2042018819891110
72. Ishihara H, Kondo T, Yoshida K, Omae K, Takagi T, Iizuka J, Tanabe K. *Evaluation of Preoperative Aspartate Transaminase/Alanine Transaminase Ratio as an Independent Predictive Biomarker in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma Undergoing Cytoreductive Nephrectomy: A Propensity Score Matching Study*. *Clinical Genitourinary Cancer*. 2017;15(5):598–604. doi:10.1016/j.clgc.2017.04.011
73. Xie Y, Meng W-Y, Li R-Z, Wang Y-W, Qian X, Chan C, Yu Z-F, Fan X-X, Pan H-D, Xie C, et al. *Early lung cancer diagnostic biomarker discovery by machine learning methods*. *Translational Oncology*. 2021;14(1):100907. doi:10.1016/j.tranon.2020.100907
74. Tabl AA, Alkhateeb A, ElMaraghy W, Rueda L, Ngom A. *A Machine Learning Approach for Identifying Gene Biomarkers Guiding the Treatment of Breast Cancer*. *Frontiers in Genetics*. 2019;10:256. doi:10.3389/fgene.2019.00256

Ehrenwörtliche Erklärung

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

Ort/Datum

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen, welche mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben, meinen großen Dank aussprechen.

Allen voran gilt mein Dank Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Till Keller für die großzügige Überlassung des Themas sowie seiner Unterstützung bei der Durchführung der gesamten Arbeit. Ihre Rückmeldung sowie die produktiven Gespräche waren stets von großer Hilfe.

Weiters möchte ich mich bei dem gesamten Team des Kerckhoff Herzforschungsinstituts für die herzliche Betreuung während meiner Arbeit am Institut sowie in der folgenden Zeit bedanken. Mein großer Dank gilt hier Monika Rieschel, Annett Kirchhoff, Nora Staubach und Dimitri Grün.

Ein großer Dank gilt auch meinem guten Freund Philipp, welcher mir über den gesamten Zeitraum eine große Stütze war und auf dessen Freundschaft ich mich während dieser Zeit immer verlassen konnte. Ebenfalls möchte ich meiner guten Freundin Alexandra danken, die während des gesamten Studiums in allen Belangen immer für mich da war.

Zu guter Letzt möchte ich mich von Herzen bei meinen Eltern bedanken, die so viel hinter sich lassen mussten, um mir das Leben, so wie ich es jetzt führen kann, zu ermöglichen. Danke für alles und vor allem für eure Liebe.

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Jan 18, 2026

This Agreement between Nora Kamml ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	6192041026306
License date	Jan 18, 2026
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	The Journal of Emergency Medicine
Licensed Content Title	Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) for Risk Stratification and Prognostication of Patients with Pulmonary Embolism
Licensed Content Author	Stephen Alerhand, Sean M. Hickey
Licensed Content Date	Mar 1, 2020
Licensed Content Volume	58
Licensed Content Issue	3
Licensed Content Pages	8
Start Page	449
End Page	456
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	No
Title of new work	Die Bedeutung des Biomarkers CILP1 in der Risikostratifizierung bei Patient*innen mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie
Institution name	Justus-Liebig Universität Gießen
Expected presentation date	Jan 2026
Portions	figure 2
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Nora Kamml
Requestor Location	Nora Kamml [REDACTED]
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Jan 18, 2026

This Agreement between Nora Kamml ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	6192041406686
License date	Jan 18, 2026
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	The American Journal of Cardiology
Licensed Content Title	Prognostic usefulness of the tricuspid annular plane systolic excursion in patients with congestive heart failure secondary to idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy
Licensed Content Author	Stefano Ghio, Franco Recusan, Catherine Klersy, Roberta Sebastiani, Maria Luisa Laudisa, Carlo Campana, Antonello Gavazzi, Luigi Tavazzi
Licensed Content Date	Apr 1, 2000
Licensed Content Volume	85
Licensed Content Issue	7
Licensed Content Pages	6
Start Page	837
End Page	842
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/ illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	No
Title of new work	Die Bedeutung des Biomarkers CILP1 in der Risikostratifizierung bei Patient*innen mit Verdacht auf eine ischämische Kardiomyopathie
Institution name	Justus-Liebig Universität Gießen
Expected presentation date	Jan 2026
Portions	figure 1
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Nora Kamml
Requestor Location	Nora Kamml [REDACTED]
	[REDACTED]
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

Lizenzierung

Abbildung 3: Schematische Darstellung einer Tierzelle. Als die Zelle umgebend, ist die Extrazellulärmatrix als blaues, strangförmiges Netzwerk abgebildet. Im Falle von Chondrozyten befindet sich CILP1 innerhalb dieses extrazellulären Geflechts zwischen den einzelnen Zellen. Erstellt von Swiss Institutes of Bioinformatics. Copyright: SwissBioPics unter CC BY 4.0 (https://www.swissbiopics.org/name/Animal_cell)⁴⁰

Diese Abbildung wurde erstellt von Swiss Institutes of Bioinformatics und publiziert von SwissBioPics unter der Creative Commons BY 4.0 Lizenz:

„This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.“

40. Le Mercier P, Bolleman J, de Castro E, Gasteiger E, Bansal P, Auchincloss AH, Boutet E, Breuza L, Casals-Casas C, Estreicher A, Feuermann M, Lieberherr D, Rivoire C, Pedruzzi I, Redaschi N, Bridge A. *SwissBioPics-an interactive library of cell images for the visualization of subcellular location data*. Database (Oxford). 2022 Apr 12;2022:baac026. doi: 10.1093/database/baac026. https://www.swissbiopics.org/name/Animal_cell

JOHN WILEY AND SONS LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Jan 15, 2026

This Agreement between Nora Kamml ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	5614281368852
License date	Aug 22, 2023
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Arthritis & Rheumatology
Licensed Content Title	One of two chondrocyte-expressed isoforms of cartilage intermediate-layer protein functions as an insulin-like growth factor 1 antagonist
Licensed Content Author	Robert Terkeltaub, Shou-lh Hu, David Farley, et al
Licensed Content Date	May 6, 2003
Licensed Content Volume	48
Licensed Content Issue	5
Licensed Content Pages	13
Type of Use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/Academic
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table
Number of figures/tables	1
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Title	Die Bedeutung des Biomarkers CILP1 in der Risikostratifizierung bei Patient*innen mit Verdacht auf eine Ischämie Kardiomyopathie
Institution name	Justus Liebig Universität
Expected presentation date	Jun 2024
Portions	Abbildung 4
Specific Languages	Deutsch
Requestor Location	Nora Kamml [REDACTED]
	[REDACTED]
Publisher Tax ID	EU826007151
Total	0.00 EUR
Terms and Conditions	

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you

Lizenzierung

Abbildung 5: Modell der CILP1-Tertiärstruktur. Erstellt von SWISS-MODEL Repository.

Copyright: Waterhouse et al. 2018 unter CC BY

(<https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/O75339?template=8ov0.1.A&range=53-143>)⁴⁹

„This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.“

49. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, Heer FT, de Beer TAP, Rempfer C, Bordoli L, Lepore R, Schwede T. *SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes*. Nucleic Acids Res. 2018 Jul 2;46(W1):W296-W303. doi: 10.1093/nar/gky427
<https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/O75339?template=8ov0.1.A&range=53-143>