

**Untersuchungen zur Assoziation des neuen Biomarkers Cellular  
Communication Network Factor 1 (CCN1) im Serum mit  
linksventrikulärem Remodeling**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Hupach, Luise

aus Rochlitz

Gießen 2023

**Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Abteilung für Kardiologie, Campus Kerckhoff

Gutachter: PD Dr. Roland Klingenberg

Gutachter: Prof. Dr. Heinrich Sauer

Tag der Disputation: 07.02.2024

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
1.1 Herzerkrankungen – Epidemiologie .....	1
1.1.1 Risikofaktoren für die Entstehung von Herzkrankheiten.....	2
1.1.2 Diagnostische Möglichkeiten und Therapie .....	3
1.1.3 Kardiale Umbauprozesse als Reaktion auf Gewebeschädigung .....	8
1.1.4 Ursachen des Remodelings .....	10
1.1.5 Behandlungsmöglichkeiten und Begrenzung der Umbauprozesse.....	11
1.2 Hintergrund der Dissertation .....	13
1.3 Relevanz .....	14
1.4 Zielstellung der Arbeit.....	15
1.5 Stand der Forschung .....	15
1.6 CCN1 – ein matrizelluläres Protein mit vielfältigen Funktionen .....	15
2. Material und Methoden .....	18
2.1. Patientenauswahl und Studiendurchführung .....	18
2.1.1 Einschlusskriterien .....	19
2.1.2 Ausschlusskriterien .....	20
2.2 Definition von LV-Remodeling.....	21
2.3 Probengewinnung und Messung von CCN1 .....	21
2.4 Das Messverfahren .....	22
2.5 Statistik .....	23
3. Ergebnisse .....	24

3.1 Auswahl eines geeigneten Patientenkollektivs.....	24
3.2 Beschreibung der Kohorte .....	26
3.3 Unterschiede der drei Gruppen.....	27
3.4 Nähere Betrachtungen zu LV-Remodeling .....	28
3.5 Unterschiede in den Patientenkollektiven mit und ohne Remodeling.....	30
3.6 Einflussfaktoren auf den CCN1-Spiegel .....	32
3.6.1 CCN1 und Laborparameter.....	35
3.6.2 Einordnung der gemessenen CCN1-Werte .....	37
3.7 Vorhersagewahrscheinlichkeit von CCN1 in Bezug auf kardiales Remodeling ...	38
3.8 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	40
4. Diskussion .....	41
4.1 Biomarker als Prädiktoren für kardiale Umbauprozesse.....	41
4.1.2 Troponin.....	41
4.1.3 Natriuretische Peptide .....	42
4.1.4 Lösliches Interleukin-1-Rezeptor-ähnliches Protein (sST2).....	42
4.1.5 Galectin-3 (Gal-3) und Herztyp-Fettsäurebindungsprotein (h-FABP) .....	43
4.2 Kardiales Remodeling in anderen Arbeiten – ein Überblick.....	43
4.3 Therapeutische Bedeutung .....	45
4.4 Limitationen und Stärken .....	47
5. Ausblick .....	48
6. Zusammenfassung .....	49
6.1. Hintergrund.....	49
6.2 Methoden.....	49
6.3 Ergebnisse.....	50
6.4 Schlussfolgerung .....	50
7. Summary .....	51
7.1 Background.....	51

7.2 Methods .....	51
7.3 Results .....	52
7.4 Conclusion .....	52
8. Literaturverzeichnis:.....	53
9. Publikationsverzeichnis.....	66
10. Ehrenwörtliche Erklärung .....	67
11. Danksagung .....	68

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Der HFA-PEFF-Diagnosealgorithmus für die HFpEF-Diagnosefindung nach Pieske et. al 2019 .....	5
Abbildung 2. Patientenflussdiagramm .....	25
Abbildung 3. Zusammensetzung der Kohorte nach Geschlecht .....	26
Abbildung 4. Gruppengrößen AMI, DCM und Kontrolle .....	27
Abbildung 5. Anzahl Individuen mit LV-Remodeling .....	29
Abbildung 6. Zusammensetzung der Individuen mit LV-Remodeling .....	29
Abbildung 7. CCN1 in Abhängigkeit von LV-Remodeling, Wilcoxon-Rangsummen- Test.....	36
Abbildung 8. ROC-Kurve zur Vorhersagegenauigkeit von CCN1 in Bezug auf LV- Remodeling .....	39

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Die 10 häufigsten Todesursachen 2020 .....	1
Tabelle 2. Stationäre Erkrankungshäufigkeit nach Geschlecht 2020.....	2
Tabelle 3. Definition der Herzinsuffizienz und Unterteilung in HFpEF, HFmrEF und HFrfEF nach ESC Guidelines 2021 .....	4
Tabelle 4. Einschlusskriterien für LV-Remodeling .....	19
Tabelle 5. Ausschlusskriterien für LV-Remodeling .....	20
Tabelle 6. Zusammensetzung der drei Untergruppen AMI, DCM und gesunde Kontrolle hinsichtlich Geschlecht und Alter .....	28
Tabelle 7. Unterschiede von Gruppengröße, Alter und Geschlecht der Patienten mit und ohne LV-Remodeling.....	30
Tabelle 8. Kardio-MRT-Werte im Vergleich zwischen Patienten mit und ohne LV- Remodeling .....	31
Tabelle 9. Übersicht - CCN1-Serumwerte in Abhängigkeit ausgewählter Parameter ....	32
Tabelle 10. Unterschiede hinsichtlich CCN1, CRP und eGFR bei Patienten mit und ohne LV-Remodeling.....	35
Tabelle 11. Erwartete CCN1-Werte .....	37
Tabelle 12. CRP und CCN1 im Vergleich der drei Untergruppen.....	38

## Abkürzungsverzeichnis

ACE-Inhibitor	Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitor
AMI	Akuter Myokardinfarkt
ANG	Angiotension
AP	Angina pectoris
ARNI	Angiotensin Rezeptor/Neprilysin-Inhibitor
AUC	Area Under the Curve
AUROC	Area Under the Receiver Operator Characteristic Curve
AVP	Arginin-Vasopressin
β-Blocker	Beta-Blocker
BNP	Brain-Type Natriuretic Peptide
CABG	Coronary Artery Bypass Grafting
CCN1	Cellular Communication Network Factor 1, neue Nomenklatur
CCS	Canadian Cardiovascular Society
CK	Kreatinkinase
CKD	Chronic Kidney Disease
CK-MB	Kreatinkinase Muscle-Brain Type
cMRT	Kardiale Magnetresonanztomographie
CRP	C-reaktives Protein
CRT	Kardiale Resynchronisationstherapie
Cyr61	Cysteine-rich Angiogenic Inducer 61, alte Nomenklatur
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DNA	Deoxyribonucleic Acid

ECM	Extracellular Matrix
EF	Ejektionsfraktion
eGFR	Estimated Glomerular Filtration Rate
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ESC	European Society of Cardiology
Gal-3	Galectin-3
GDF-15	Growth Differential Factor-15
GRACE-Risk-Score	Global Registry of Acute Coronary Events-Risk-Score
h-FABP	Heart-Type Fatty Acid-Binding Protein
HFmrEF	Heart Failure with Mid-Range Ejection Fraction
HFpEF	Heart Failure with Preserved Ejection Fraction
HFrEF	Heart Failure with Reduced Ejection Fraction
HI	Herzinsuffizienz
H-ISDN	Hydralazinisosorbiddinatrium
hsTnT	High-Sensitive Troponin-T
IQR	Interquartile Range
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAE	Left Atrial Enlargement
LGE	Late Gadolinium Enhancement
LVAD	Left Ventricular Assist Device
LVEDV	Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVEDVI	Linksventrikulärer enddiastolischer Volumen-Index
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion

LVESV	Linksventrikuläres endsystolisches Volumen
LVESVI	Linksventrikulärer endsystolischer Volumen-Index
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
LV-MM	Linksventrikuläre Muskelmasse
LV-MMI	Linksventrikulärer Muskelmasse-Index
LV-Remodeling	Linksventrikuläres Remodeling
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MMP	Matrixmetalloproteinasen
MRA	Mineralocorticoidrezeptor-Antagonisten
MRI	Magnetic Resonance Imaging
NP	Natriuretisches Peptid
NSTEMI	Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction
NT-proBNP	N-terminal Pro-Brain-Type Natriuretic Peptide
NYHA	New York Heart Association
PCI	Percutaneous Coronary Intervention
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PINP	N-terminales Prokollagen-I-Propeptid
PIIINP	N-terminales Prokollagen-III-Propeptid
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROC	Receiver Operating Characteristic
SGLT-2-Inhibitor	Sodium Dependent Glucose Co-Transporter-2-Inhibitor
sST2	Soluble Suppression of Tumorigenesis-2
STEMI	ST-Segment Elevation Myocardial Infarction
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor- $\beta$

TIMP

Tissue Inhibitor of Metalloproteinase

TNF- $\alpha$

Tumornekrosefaktor- $\alpha$

## 1. Einleitung

### 1.1 Herzerkrankungen – Epidemiologie

Im Jahr 2020 sind Erkrankungen des Herzens laut Deutschem Herzbericht 2021 bei Frauen und Männern für insgesamt fünf der zehn häufigsten Todesursachen in Deutschland verantwortlich (Tabelle 1) (Deutsche Herzstiftung, 2022).

**TABELLE 1. DIE 10 HÄUFIGSTEN TODESURSACHEN 2020**

ICD-10 Pos.-Nr.	Todesursachen Sterbefälle insgesamt 2020 nach den 10 häufigsten Todesursachen der ICD-10	Gestorbene*	
		Anzahl	Anteil in %
I25	Chronische ischämische Herzkrankheit	75.482	7,7
F03	Nicht näher bezeichnete Demenz	45.492	4,6
C34	Bösartige Neubildung der Bronchien und der Lunge (Lungen- und Bronchialkrebs)	44.786	4,5
I21	akuter Myokardinfarkt (Herzinfarkt)	44.529	4,5
U07	Krankheiten mit unklarer Ätiologie, belegte und nicht belegte Schlüsselnummern: U07.1: COVID-19, Virus nachgewiesen bzw Virus ist klinisch-epidemiologisch bestätigt, U07.2: COVID-19, nicht durch einen Labortest nachgewiesen	39.758	4,0
I50	Herzinsuffizienz (Herzschwäche, Herzmuskelschwäche)	34.855	3,5
J44	Sonstige chronische obstruktive Lungenkrankheit	29.443	3,0
I11	Hypertensive Herzkrankheit	23.549	2,4
R99	Sonstige ungenau oder nicht näher bezeichnete Todesursachen	22.208	2,3
I48	Vorhofflimmern und Vorhofflattern	21.070	2,1

\*Ohne Totgeborene und ohne gerichtliche Todeserklärungen  
Darstellung auf Grundlage von Daten des Statistischen Bundesamtes 2022

Aus Deutsche Herzstiftung (Hg.), Deutscher Herzbericht 2021, Frankfurt am Main, Sept. 2022

Hierbei sind insbesondere die chronische ischämische Herzkrankheit (7,7 %), der akute Myokardinfarkt (4,5 %) und die Herzinsuffizienz (3,5 %) anzuführen. Ischämische Herzkrankheiten stellen einen bedeutenden Anteil aller vollstationären Krankenhausaufenthalte mit einer Häufung auf Seiten der Männer dar (Tabelle 2) (Deutsche Herzstiftung, 2022).

**TABELLE 2. STATIONÄRE ERKRANKUNGSHÄUFIGKEIT NACH GESCHLECHT 2020**

ICD	Bezeichnung	Fälle			davon männlich			davon weiblich		
		absolut	auf 100.000 Einw.	auf 100.000 Einw. (standardisiert)	absolut	auf 100.000 Einw.	auf 100.000 Einw. (standardisiert)	absolut	auf 100.000 Einw.	auf 100.000 Einw. (standardisiert)
I20-I25	Ischämische Herzkrankheiten	564.059	678,3	613,0	385.789	940,3	886,0	178.270	423,2	340,0
I21	Akuter Myokardinfarkt	197.644	237,7	213,0	133.152	324,6	307,4	64.492	153,1	118,7
I05 - I09, I34 - I39	Herzklappenkrankheiten	94.272	113,4	98,0	52.748	128,6	122,6	41.524	98,6	73,3
I44 - I49	Herzrhythmusstörungen	438.921	527,8	469,1	235.423	573,8	548,0	203.498	483,0	390,1
I50	Herzinsuffizienz	429.104	516,0	441,7	215.882	526,2	526,8	213.222	506,1	356,5
Q20 - Q28	Angeborene Fehlbildungen	25.274	30,4	30,9	13.747	33,5	33,0	11.527	27,4	28,9
<b>Summe</b>	<b>Ausgewählte Diagnosen</b>	<b>1.551.630</b>	<b>1.865,9</b>	<b>1.652,6</b>	<b>903.589</b>	<b>2.202,5</b>	<b>2.116,3</b>	<b>648.041</b>	<b>1.538,2</b>	<b>1.188,9</b>

Berechnung auf Grundlage von Daten des Statistischen Bundesamtes

Aus Deutsche Herzstiftung (Hg.), Deutscher Herzbericht 2021, Frankfurt am Main, Sept. 2022

### 1.1.1 Risikofaktoren für die Entstehung von Herzkrankheiten

Risikofaktoren, die das Auftreten von Herzkrankheiten begünstigen, können allgemein in beeinflussbare und nicht beeinflussbare Faktoren unterschieden werden.

Bei nicht beeinflussbaren Faktoren handelt es sich um männliches Geschlecht, Alter und erbliche Faktoren (Deutsche Herzstiftung, 2022).

Beeinflussbare Faktoren stellen das Rauchen, Adipositas, erhöhte Lipoproteinwerte, Diabetes mellitus, Bluthochdruck, körperliche Inaktivität und ein erhöhter Alkoholkonsum dar (Deutsche Herzstiftung, 2022).

Laut INTERHEART-Studie korrelieren dabei das Rauchen und Störungen des Fettstoffwechsels am stärksten mit der Erkrankungswahrscheinlichkeit, gefolgt von psychosozialen Faktoren, Adipositas, Diabetes mellitus und Bluthochdruck (Yusuf et al., 2004).

### 1.1.2 Diagnostische Möglichkeiten und Therapie

Erkrankungen des Herzens erfordern je nach Art und Ursache eine unterschiedliche Diagnostik. Zentral anzuführen ist hierbei die Anamnese, ergänzt durch die körperliche Untersuchung. Insbesondere die Auskultation kann wesentlich zur Diagnosestellung beitragen. Zusätzlich finden folgende Methoden häufigen Einsatz: Elektrokardiogramm, Echokardiographie und Labordiagnostik, sowie die Koronarangiographie und die kardiale Magnetresonanztomographie (cMRT). So lassen sich Rhythmusstörungen und Myokardinfarkte vom STEMI-Typ mithilfe eines Elektrokardiogramms detektieren. Das Labor gibt weitere Aufschlüsse über mögliche Pathologien. Bei einem Herzinfarkt kommt es dabei zu einem dynamischen Anstieg von herzspezifischem Troponin T und/oder Troponin I, Kreatinkinase (CK) oder Kreatinkinase vom Muscle-Brain-Typ (CK-MB), die als Marker den myokardialen Schaden aufzeigen.

Therapeutische Interventionen bei der Behandlung von Herzerkrankungen sind, soweit behandelbar, von der Ätiologie der jeweiligen Erkrankung und der Art der Einschränkung abhängig. Es gelten auch allgemeine Empfehlungen bei der Therapie, zum Beispiel die Minimierung individueller Risikofaktoren und moderate Bewegung.

Als zentrales Problem im Rahmen der Entwicklung einer Herzinsuffizienz gilt die verminderte Pumpleistung des Herzens. Dies kann sowohl die systolische als auch die diastolische Ventrikelfunktion betreffen. Ein akutes Auftreten, zum Beispiel im Rahmen eines Myokardinfarktes, ist möglich. Aber auch ein chronisches Geschehen, beispielsweise bei der Entwicklung einer Kardiomyopathie, kann ursächlich für eine Herzschwäche sein.

Die European Society of Cardiology (ESC) klassifizierte in ihren Richtlinien zur Diagnostik und Behandlung akuter und chronischer Herzinsuffizienz im Jahr 2016 die Herzinsuffizienz erstmalig anhand der linksventrikulären Ejektionsfraktion nochmals genauer, wie in Tabelle 3 zu entnehmen. In den aktuellen ESC-Leitlinien des Jahres 2021 wurde diese Einteilung leicht modifiziert beibehalten (McDonagh et al., 2021).

Bei einer systolischen Herzinsuffizienz liegt eine reduzierte Ejektionsfraktion durch muskuläre Insuffizienz, infolge eines Verlusts von Kardiomyozyten vor. Man spricht von einem Heart Failure With Reduced EF, kurz HFrEF. Bei einer diastolischen Insuffizienz

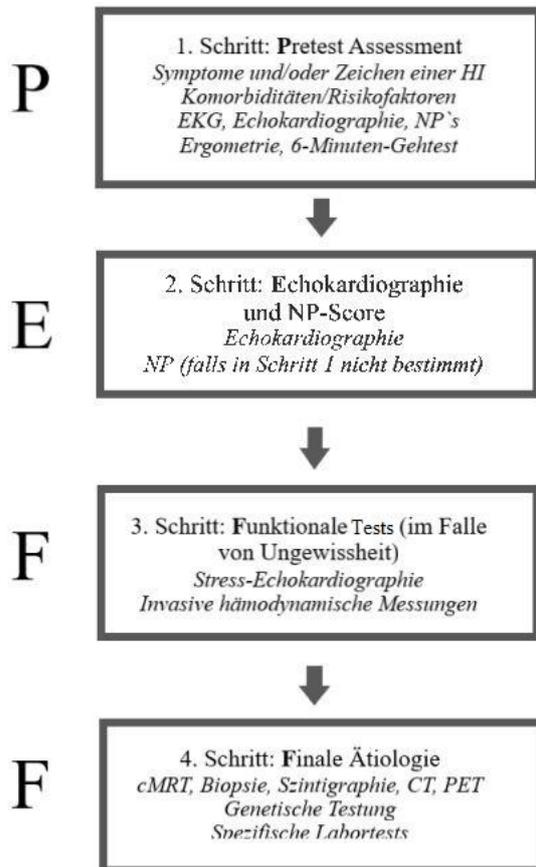
hingegen ist die verringerte Dehnbarkeit der Ventrikel während der Diastole verantwortlich. Dies wird als Heart Failure With Preserved EF, kurz HFpEF bezeichnet. Die Diagnose eines HFpEF ist dabei schwierig, da die linksventrikuläre Auswurfraction normwertig oder nur sehr geringfügig reduziert ist und die Symptome häufig unspezifisch sind.

**TABELLE 3. DEFINITION DER HERZINSUFFIZIENZ UND UNTERTEILUNG IN HFPEF, HFMR EF UND HFREF NACH ESC GUIDELINES 2021**

Typ Herzinsuffizienz	HFrEF	HFmrEF	HFpEF
	Symptome ± Beschwerden	Symptome ± Beschwerden	Symptome ± Beschwerden
	LV-EF <40%	LV-EF 40-49 %	LV-EF ≥ 50 %
			Evidenz für strukturelle und/oder funktionelle kardiale Anomalien, mit Vorliegen einer diastolischen LV- Dysfunktion/erhöhten LV-Füllungsdrücken, einschließlich erhöhter natriuretischer Peptide.

HFrEF=heart failure with reduced ejection fraction; HFmrEF=heart failure with mid-range ejection fraction; HFpEF=heart failure with preserved ejection fraction; LV-EF=linksventrikuläre Ejektionsfraktion; LVH=linksventrikuläre Hypertrophie; LAE=left atrial enlargement; NP=Natriuretisches Peptid

Die Europäische Gesellschaft für Kardiologie empfiehlt seit 2019 ein schrittweises Diagnoseverfahren, den sogenannten HFA-PEFF-Diagnosealgorithmus (siehe Abbildung 1). Dieser umfasst die Beurteilung von Herzinsuffizienzsymptomen, Risikofaktoren, Elektrokardiogramm, (Stress-)Echokardiographie, sowie verschiedene Laboruntersuchungen. Die weiterführende Diagnostik in Schritt vier soll eine möglicherweise spezifischere Ursache der HFpEF eruieren (Pieske et al., 2019).



**ABBILDUNG 1. DER HFA-PEFF-DIAGNOSEALGORITHMUS FÜR DIE HFPEF-DIAGNOSEFINDUNG NACH PIESKE ET. AL 2019**

HI=Herzinsuffizienz; NP=Natriuretische Peptide; EKG=Elektrokardiographie; cMRT=kardiale Magnetresonanztomographie; CT=Computertomographie; PET=Positionen-Emissions-Tomographie

Bleibt die Herzinsuffizienz, bezogen auf die Symptome mindestens einen Monat unverändert, wird sie als stabil bezeichnet.

Beim Syndrom der Herzinsuffizienz stellen die natriuretischen Peptide BNP und NT-proBNP gemäß Leitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie neben der Klinik und Echokardiographie einen zentralen Aspekt in der Diagnostik dar (McDonagh et al., 2021).

Die Messung natriuretischer Peptide (NP's) im Plasma, die als Reaktion auf eine vermehrte Ventrikeldehnung freigesetzt werden, ist gut geeignet für eine erste richtungsweisende Diagnostik. Sind die Vorgeschichte des Patienten, die aktuellen Symptome, die körperliche Untersuchung und das EKG unauffällig, ist die Diagnose einer Herzinsuffizienz nicht besonders wahrscheinlich und eine andere Diagnose muss bedacht werden. Ist jedoch einer dieser Parameter auffällig, wird die Messung

natriuretischer Peptide im Plasma empfohlen, um genauer differenzieren zu können, welche Patienten eine Echokardiographie als weiterführende kardiale Diagnostik benötigen (McDonagh et al., 2021).

Sind BNP und NT-proBNP nicht erhöht, lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Herzinsuffizienz ausschließen. Als obere Normgrenze gelten Konzentrationen von BNP  $>35$  pg/mL und NT-proBNP  $>125$  pg/mL (Gohar et al., 2019). Im akuten klinischen Setting sollten für HFrEF und HFpEF jedoch höhere Grenzwerte (BNP 100 pg/mL, NT-proBNP 300 pg/mL) verwendet werden (McDonagh et al., 2021). In der Regel fallen die Werte für HFpEF niedriger aus als für HFrEF (Ponikowski et al., 2016).

Bei der Behandlung einer Herzinsuffizienz steht die medikamentöse Stufentherapie je nach NYHA-Stadium im Vordergrund. Diese Einteilung stammt von der New York Heart Association und orientiert sich an der Einschränkung und Belastbarkeit eines Patienten im täglichen Leben. Medikamente mit Langzeitdaten in der Anwendung sind ACE-Inhibitoren und Beta-Blocker in Kombination mit Minerocorticoidrezeptor-Antagonisten (MRA). Bei Fortbestehen einer Symptomatik sollen ACE-Inhibitoren durch Angiotensin-Rezeptor-Neprilysin-Inhibitoren (ARNI) ersetzt werden. Inzwischen können ARNI auch als Erstlinientherapie in Einzelfällen eingesetzt werden. Als Ergänzung in der medikamentösen Herzinsuffizienzbehandlung sind die Sodium Dependent Glucose Co-Transporter-2 (SGLT-2)-Inhibitoren wie Dapagliflozin oder Empagliflozin mit überzeugenden Daten zur Verringerung klinischer Ereignisse bei Patienten mit eingeschränkter systolischer LV-Funktion (HFrEF) aber auch diastolischer Herzinsuffizienz (Anker et al., 2021; McMurray et al., 2019; Packer et al., 2020; Solomon et al., 2022) in den letzten Jahren hinzugekommen. Besonders jene Patienten mit NYHA Klasse II-IV und reduzierter linksventrikulärer Auswurfraction  $\leq 40$  % profitieren von einer Behandlung mit (SGLT-2)-Inhibitoren (McMurray et al., 2019; Packer et al., 2020). Schleifendiuretika eignen sich als ergänzende Therapie, um Symptome einer kardialen Überlastung, zum Beispiel Beinödeme und Nykturie zu behandeln (McDonagh et al., 2021).

Befindet sich der Patient in einem Sinusrhythmus, aber die Dauer der QRS-Komplexe ist verlängert ( $\geq 130$  ms), bei gleichzeitig bestehender linksschenkelblockartig veränderter QRS-Morphologie und reduzierter linksventrikulärer Funktion  $\leq 35$  %, trotz optimierter medikamentöser Therapie, soll der Einsatz einer kardialen Resynchronisationstherapie

(CRT) erwogen werden (McDonagh et al., 2021). Bei Sinusrhythmus und einer Herzfrequenz von mehr als 70 Schlägen pro Minute wird bei Patienten mit HFrEF und LV-EF  $\leq 35\%$ , welche innerhalb der letzten zwölf Monate aufgrund der Herzinsuffizienz hospitalisiert waren, die Gabe des  $I_f$ -Inhibitors Ivabradin empfohlen (McDonagh et al., 2021; Swedberg et al., 2010). Kommt es unter den genannten Therapiemöglichkeiten zu keiner Verbesserung der Symptome und einem Progress der Erkrankung, können der Einsatz von Digoxin (Ziff et al., 2015) und Hydralazinisosorbiddinatrium (H-ISDN) (Taylor et al., 2004) oder Vericiguat (Armstrong et al., 2020) in Betracht gezogen werden. Auch der Einsatz eines Left Ventricular Assist Device (LVAD) oder eine Herztransplantation können notwendig sein (McDonagh et al., 2021).

Am häufigsten wird im klinischen Alltag die Echokardiographie in der Diagnose und der Verlaufskontrolle unter Therapie genutzt. Die verbreitetste Art zur Ermittlung stattgehabter Umbauprozesse, findet sich in der Messung des linksventrikulären endsystolischen Volumens (LVESV). Es ermöglicht wichtige Informationen zu Geometrie und Funktion der linken Herzkammer. Eine gemessene Verringerung des LVESV besitzt große klinische Relevanz für die weitere Behandlung und das Outcome des Patienten (Lupón et al., 2015).

Die kardiale Magnetresonanztomographie stellt den Goldstandard dar für die Feststellung von Remodeling des Herzens. Verglichen mit der Echokardiographie ermöglicht die Kardio-MRT eine bessere Kontrastauflösung, eine höhere Reproduzierbarkeit und mittels Late-Gadolinium-Enhancement (LGE) Informationen zum Vorhandensein einer Myokardfibrose (Barison et al., 2015). Je ausgeprägter das Late-Gadolinium-Enhancement, desto größer ist das Ausmaß des Remodelings (Barison et al., 2018; Ishii et al., 2016). Vor allem das T1-Mapping ermöglicht eine nichtinvasive Quantifizierung des extrazellulären Volumens und einer Myokardfibrose und hat sich bei Patienten mit HFrEF als prognostisch bedeutsam erwiesen (Aimo et al., 2019).

Eine Bildgebung unter Belastung ist relativ unabhängig vom LV-Volumen und der Form des linken Ventrikels. Die kardiale Magnetresonanztomographie besitzt eine größere Sensitivität zur Detektion einer systolischen Dysfunktion, als die alleinige Messung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (Barison et al., 2018).

### 1.1.3 Kardiale Umbauprozesse als Reaktion auf Gewebeschädigung

Als Folge eines Myokardinfarktes, aber auch bei der Entstehung einer Dilatativen Kardiomyopathie, findet ein sogenanntes Remodeling statt. Damit bezeichnet man Umbauprozesse des Herzmuskels, die sich in Form von Inflammation, narbigem Umbau oder einer Hypertrophie durch zelluläre Migration äußern können. Durch diese Umbauprozesse kann der Herzmuskel an Kontraktilität in den betroffenen Bereichen verlieren, was eine verringerte Auswurfraction mit Symptomen einer Herzinsuffizienz zur Folge hat.

Besonders die übermäßige Gewebefibrosierung spielt dabei eine entscheidende Rolle, die zu Narbenbildung und damit zur Verringerung der Herzfunktion beiträgt. Durch die Freisetzung von  $\alpha$ -Aktin aus der glatten Muskulatur und der Vermehrung von extrazellulärer Matrix wird eine Transformation von Fibroblasten zu Myofibroblasten vermittelt (Leask, 2015). Diese Akkumulation der Myofibroblasten ist von p53/p21 und p16/Rb-Signalwegen abhängig. Dabei wird eine große Menge extrazellulärer Matrix von Myofibroblasten produziert, die sich ablagert und zu morphologischen Veränderungen des Herzens führt. Meyer et al. zeigte im Jahr 2016, dass die vorzeitige Alterung von Myofibroblasten die perivaskuläre und interstitielle Fibrose signifikant vermindert und damit die Herzfunktion in vivo verbessert (Meyer et al., 2016). Diese frühzeitige Zellalterung tritt nach aktuellen Annahmen im Rahmen einer Gewebereparatur auf, die in verschiedenen Organen (zum Beispiel in der Leber und Haut) unter anderem die Fibrose kontrolliert (Campisi, 2013). Dies lässt vermuten, dass seneszente Zellen entstehen können, um die Gewebsfibrose während Reparaturvorgängen zu begrenzen. Dabei wirken Wachstumsfaktoren und Zytokine als Induktoren für Herzfibroblasten, die wiederum die Expression von extrazellulärer Matrix und matrizellulären Proteinen regulieren (Frangogiannis, 2012). Neuere Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen vorzeitiger Zellalterung und fibrotischem Umbau (Muñoz-Espín & Serrano, 2014).

Ausgelöst wird dies durch zellulären Stress, zum Beispiel DNA-Schädigungen, freie Radikale und oxidativen Stress oder Onkogenaktivierung (Campisi, 2013). Gealterte Zellen können sich aufgrund des Stillstandes des Zellzyklus nicht weiter vermehren, bleiben aber lebensfähig und stoffwechselaktiv (Campisi & D'Adda Di Fagagna, 2007). Durch den Zellzyklusstopp wird die Vermehrung der ECM-produzierenden Zellen inhibiert, indem Gene, die für die Komponenten der extrazellulären Matrix kodieren,

herunterreguliert werden und matrixabbauende Enzyme (zum Beispiel Matrixmetalloproteinasen) hochreguliert werden (Campisi & D'Adda Di Fagagna, 2007; Krizhanovsky et al., 2008). Diese sogenannten seneszenten Zellen, in der Mehrzahl Myofibroblasten, fördern die Hochregulation von antifibrotischen Proteinen und Mikroumgebungsmodulatoren (Kuilman & Peeper, 2009). Es zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der Seneszenz und dem Fibrosegrad. Dieselben Zellen, die bei der Gewebereparatur und Wundheilung extrazelluläre Matrix (ECM) produzieren, werden bei der Zellalterung umgewandelt und begrenzen diese letztlich. Die Regulation von ECM-Homöostase und Fibrose ist komplex und umfasst einen regen Austausch verschiedener Faktoren innerhalb der Gewebemikroumgebung, wie Wachstumsfaktoren, Zytokine und Zell-Zell-Kommunikation (Frangogiannis, 2012).

Gesundes Herzgewebe nutzt zur Energiegewinnung vorrangig Quellen wie Glukose und Fettsäuren. Das Herz kann aber auch andere Substrate wie Laktat, Ketonkörper und Aminosäuren oxidieren. In geschädigtem Myokardgewebe ist die bevorzugte Energiequelle der Ketonkörperstoffwechsel, welcher zu einem Anstieg von Stoffen wie Acetoacetat und Acetoacetyl-CoA führt (Kodde et al., 2007).

Klinisch und histologisch ist das Remodeling vor allem durch eine Vergrößerung des linken Ventrikels, eine erhöhte Wandsteifigkeit, diastolische Dysfunktion und eine Veränderung der Myozyten gekennzeichnet (K. H. Kim et al., 2018; J. M. Pfeffer et al., 1991). Durch die stattgehabten Anpassungen der Myozytenlänge, Größe und Organisation wird das Verhältnis von enddiastolischem Druck und Volumen in pathologische Bereiche verschoben. Der Umbau des Gewebes nach einem Herzschaden, zum Beispiel nach einem Myokardinfarkt, umfasst also molekulare, zelluläre und extrazelluläre Veränderungen (Cohn et al., 2000).

Es existieren Beobachtungen, dass sich das Verhältnis aus enddiastolischem Druck und Volumen wieder normalisieren kann. Der Vorgang wird als Reverse Remodeling bezeichnet. Diese sogenannte umgekehrten Umbauprozesse beschreiben die Rückkehr zu einer normalen Zellgröße, Kammergeometrie und günstigen Veränderungen auf molekularer und transkriptionaler Ebene (Saraon & Katz, 2015). Reverse Remodeling kann als Antwort eines Herzschadens auftreten, ausgelöst durch mechanischen Stress und neurohormonale Aktivierung (G. H. Kim et al., 2018). Diese strukturellen und funktionellen Veränderungen des linken Ventrikels stehen in Zusammenhang mit neu exprimierten Genen und einem sich verändernden Transkriptom, wodurch sich die

Eigenschaften von extrazellulärer Matrix, Sarkomeren, Zytoskelett (Birks et al., 2005) und somit auch von Stoffwechsel und Kontraktilität des Herzmuskels verbessern (Topkara et al., 2016).

Die Prozesse im Rahmen des Reverse Remodelings sind mit einer Verringerung von Langzeitmorbidity und Mortalität (Saraon & Katz, 2015) assoziiert, sodass manche Studien die Reduktion der LV-Masse als Endpunkt für den Erfolg neuer Therapien setzen (G. H. Kim et al., 2018).

Die vorgenannten Abläufe bei Remodeling und Reverse Remodeling werden von den gleichen Parametern beeinflusst. Durch die Messung von Biomarkern im Blut lassen sich beide Prozesse gegeneinander abgrenzen und differenzieren. Eine Steigerung der linksventrikulären Auswurfraction, ein geringeres Late-Gadolinium-Enhancement und eine frühzeitige Behandlung der zugrunde liegenden Herzinsuffizienz begünstigen Prozesse des Reverse Remodelings (Aimo et al., 2019).

#### 1.1.4 Ursachen des Remodelings

Als Hauptauslöser für den Umbau von Herzgewebe gelten mechanischer und biochemischer Stress. Dieser entsteht unter anderem durch veränderte Fließeigenschaften des Blutes, Zytokine und lokale neurohormonale Faktoren (Takawale et al., 2015) und ist mit tiefgreifenden Wirkungen auf Genexpression, Signalwege, Stoffwechselfvorgänge, Proteinfunktion und auch elektrophysiologischen Eigenschaften verbunden. Vorgenannte Prozesse haben eine Hypertrophie der Kardiomyozyten, Apoptose und eine verringerte Festigkeit während der Kontraktion, ebenso wie Veränderungen der extrazellulären Matrix und Eigenschaften der Herzfibroblasten zur Folge. In einem gesunden Herzen fördert die extrazelluläre Matrix die Kommunikation zwischen Zellen, indem sie Transportwege für verschiedene Moleküle bereitstellt, strukturellen Halt (Spinale, 2007) gibt, Signalproteine beeinflusst und als Speicher für diverse Stoffe, unter anderem für Wachstumsfaktoren und Zytokine dient (G. H. Kim et al., 2018).

Dies funktioniert vor allem über matrizelluläre Proteine, zum Beispiel Osteopontin, Osteonectin und Periostin. Sie stellen eine Art Bindeglied zwischen Proteinen der extrazellulären Matrix dar und modulieren so das Zellverhalten (Valiente-Alandi et al., 2016). Ein weiteres Beispiel für matrizelluläre Proteine sind die

Matrixmetalloproteinasen (MMP's). Dies sind Enzyme, die Proteine, zum Beispiel Kollagen und andere Proteine der ECM und auf Zelloberflächen abbauen. Beim Umbau von Herzgewebe kommt es zu einer vermehrten Expression von MMP's. Sie werden durch sogenannte TIMP's (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase), endogene Gewebsinhibitoren reguliert, deren Konzentration in geschädigtem Myokard erniedrigt ist (Klotz et al., 2005).

Diese dynamische Expression der Matrixmetalloproteinasen ist unter anderem vom Ausmaß der Ischämie, eines Infarktes oder verschiedenen Hypertrophie-Stimuli abhängig und trägt damit direkt zu klinischen Veränderungen des linken Ventrikels bei (G. H. Kim et al., 2018).

### 1.1.5 Behandlungsmöglichkeiten und Begrenzung der Umbauprozesse

Bei der Entwicklung einer Herzinsuffizienz spielt das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) eine entscheidende Rolle. Die Abnahme von Schlag- und Herzzeitvolumen führt zu einer verminderten renalen Perfusion. Diese verringerte Durchblutung der Niere aktiviert wiederum das RAAS. Angiotensin II erhöht die Nachlast des Herzens, steigert so den Sauerstoffverbrauch und senkt gleichzeitig das Schlagvolumen. Aldosteron erhöht über Natriumresorption und Kaliumsekretion im Verbindungstubulus und kortikalem Sammelkanal die Wasserresorption in der Niere, was die Stauung in kleinem und großem Kreislauf verstärkt. Laborchemisch können im Rahmen der Herzinsuffizienzentwicklung BNP oder NT-proBNP (Brain Natriuretic Peptide bzw. N-terminales pro BNP) bestimmt werden, welche bei Dehnung der Ventrikel freigesetzt werden.

Verschiedene Studien zeigten eine Begrenzung des Remodelingausmaßes durch die Gabe spezifischer Medikamente. So wirkt sich die Einnahme von ACE-Inhibitoren (M. A. Pfeffer, 1994), Mineralocorticoid-Antagonisten (Zannad et al., 2012) und Betablockern (Groenning et al., 2000), sowie eine kardiale Resynchronisationstherapie (Clelant, JGF, 2005; Saraon & Katz, 2015) günstig auf die Hypertrophie des Gewebes und auf dessen Umbau aus (G. H. Kim et al., 2018). Insbesondere die Behandlung mit ACE-Hemmern hat einen großen Effekt auf die Kollagensynthese, da sie unter anderem das Verhältnis von MMP's/TIMP's positiv beeinflussen kann (G. H. Kim et al., 2018; Sakamuri et al.,

2016). Mit medikamentöser Unterstützung lassen sich Volumen und Masse des linken Ventrikels reduzieren, die Ventrikelgeometrie normalisieren und so letztlich auch die Auswurfraction des linken Ventrikels steigern (G. H. Kim et al., 2018).

Ein biologisch aktives Peptid des RAAS ist Angiotensin (1-7) (ANG- 1-7), welches im Gegensatz zu Angiotensin II (ANG II) vasodilatatorisch (Castro et al., 2005) und antiproliferativ wirkt (Grobe et al., 2007). In Studien an Ratten reduzierte die Infusion von ANG- (1-7) eine Herzhypertrophie und Fibrose. Es ließ sich außerdem zeigen, dass ANG- (1-7) im Myokard die profibrotische Signalübertragung über direkte Wirkung auf Herzfibroblasten abschwächt (Iwata et al., 2005). Dadurch wurden unter anderem das Gefäßwachstum gehemmt (Tallant & Clark, 2003), die kardiale Hypertrophie vermindert (Santos et al., 2004) und gleichzeitig die ANG II-Spiegel (Mendes et al., 2005) gesenkt. Durch weitere Wechselwirkungen von Angiotensin II (ANG II) mit dem ANG II Typ 1- Rezeptor (AT<sub>1</sub>- Rezeptor) wird die vermehrte Bildung von Fibroblasten und Kollagen gefördert, die Fibroblastendichte- und Proliferation erhöht und die Myozytenhypertrophie stimuliert (Kawano et al., 2000).

In Tiermodellen zeigten sogenannte Mineralocorticoidrezeptor-Antagonisten (MRA), beispielsweise Spironolacton oder Eplerenon eine Verbesserung des koronaren und renalen Blutflusses. Sie reduzierten die Überaktivierung von Mineralocorticoidrezeptoren und verminderten über einen Anstieg der endothelialen Stickstoffsynthese sowohl die Apoptose, als auch die endotheliale Dysfunktion (Fraccarollo et al., 2003; Kobayashi et al., 2005). Die aldosteroninduzierte Expression von Markern in Zusammenhang mit oxidativem Stress und Serumlevels von verschiedenen Prokollagenen kann durch MRA verringert werden. Des Weiteren hemmen sie elektrische Umbauprozesse und verhindern eine durch Aldosteron oder andere Erkrankungen ausgelöste arrhythmogene Aktivität in Tiermodellen. Gleichzeitig zeigte sich eine verringerte Podozytenverletzung bei an Hypertonie oder Diabetes mellitus erkrankten Ratten. Ihre antiinflammatorischen und antifibrotischen Wirkungen sind weitestgehend unabhängig von systemischen hämodynamischen Veränderungen, sodass von direkten Effekten der Mineralocorticoidrezeptor-Antagonisten auf Herz und Nieren ausgegangen wird (Bertocchio et al., 2011; Messaoudi et al., 2012).

Die Behandlung mit Mineralocorticoidrezeptor-Antagonisten kann eine bereits bestehende kardiale Hypertrophie verbessern und der Entwicklung einer Herzinsuffizienz vorbeugen, beziehungsweise deren Fortschreiten minimieren. In verschiedenen

Tiermodellen zeigten sich zudem positive Effekte hinsichtlich einer Glomerulosklerose, Proteinurie bei diabetischer Nephropathie und glomerulärer Hypertrophie (Bauersachs et al., 2015).

Ein weiteres bedeutsames Zytokin bei der Betrachtung von kardialen Umbauprozessen ist der Transforming growth factor- $\beta$ . TGF- $\beta$  trägt zur Entstehung einer Fibrose, Narbenbildung und Matrixablagerung bei, indem es die Kollagenproduktion- und Sekretion erhöht und die Transformation von Fibroblasten zu Myofibroblasten fördert (K. Chen et al., 2004; Deten et al., 2001; Yu et al., 2001). Antagonistisch wirkende Medikamente wie ACE-Inhibitoren und Angiotensinrezeptorblocker schwächen die profibrotische Wirkung von TGF- $\beta$  ab. Die Hemmung eines hyperaktiven RAAS mittels ACE-Inhibitoren und  $\beta$ -Blockern bietet so eine wirksame Behandlungsmöglichkeit des Remodelings und einer daraus resultierenden Herzinsuffizienz (Grobe et al., 2007).

## 1.2 Hintergrund der Dissertation

Vorarbeiten aus der Arbeitsgruppe des Betreuers zeigten erstmals einen signifikanten und unabhängigen Zusammenhang zwischen erhöhten Konzentrationen des matrizellulären Biomarkers CCN1 und Gesamtmortalität/Myokardinfarkt in den folgenden 30 Tagen nach dem Index-Ereignis und im Ein-Jahres Follow-Up bei Patienten nach einem akuten Koronarsyndrom (Klingenberg et al., 2017, 2021). In Verbindung mit dem als Referenz genutzten GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events)-Risiko-Score (Klingenberg et al., 2018), der sowohl klinische Parameter als auch kardiales Troponin beinhaltet, ermöglicht CCN1 eine unabhängige und verbesserte Vorhersage der Ein-Jahres-Gesamtmortalität bei Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom (Klingenberg et al., 2018).

CCN1 konnte mittels Genexpressionsanalyse bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom im Vergleich zu peripheren mononukleären Zellen im peripheren Blut in Koronarthromben als eines der am stärksten hochregulierten Gentranskripte identifiziert werden. Eine deutlich erhöhte Konzentration von CCN1 im Serum wurde bei Patienten mit einem ST-Hebungsinfarkt festgestellt. Hierbei zeigten sich auch signifikante Unterschiede im Vergleich von Patienten mit einem NSTEMI und instabiler Angina

pectoris gegenüber Patienten mit einem chronischen Koronarsyndrom (CCS), unabhängig vom Vorliegen von Koronarthromben (Klingenberg et al., 2017).

Biomarker sind, überwiegend im Blut bestimmbare Marker, die pathophysiologische Signale quantitativ und dynamisch widerspiegeln. So zeigt CCN1 eine akute myokardiale Schädigung auf und ermöglicht infolgedessen eine bessere Risikostratifizierung für Patienten mit akutem Koronarsyndrom, bezogen auf Kurzzeit- und Langzeit-Mortalität (Klingenberg et al., 2017, 2021). Hohe CCN1-Konzentrationen bei Patienten mit einem STEMI waren vergesellschaftet mit einem großen Infarktausmaß und linksventrikulärer Dysfunktion (Mahendiran et al., 2021).

### 1.3 Relevanz

Die strukturellen Umbauprozesse des Myokards, besonders des linken Ventrikels, sind oftmals von einer schlechten Prognose hinsichtlich der Lebenserwartung begleitet. Viele Therapieansätze versuchen primär das Fortschreiten des Herzversagens zu begrenzen. Insbesondere die frühzeitige Detektion des Ausmaßes eines myokardialen Schadens beim akuten Koronarsyndrom ist für den weiteren Verlauf der Patienten jedoch von entscheidender Bedeutung.

Biomarker lassen sich abhängig von ihrer Funktion in die Kategorien prognostisch und diagnostisch einteilen. Meist relativ kostengünstig und einfach im Blut bestimmbar haben sie mittlerweile eine große Bedeutung in der Bewertung medikamentöser Therapien hinsichtlich der Effektivität und finden ihren Einsatz unter anderem in der Entwicklung von Arzneimitteln. Zentral für die kardiale Diagnosefindung und Risikostratifizierung sind bislang die Messung kardialer Troponine in Kombination mit klinischen Befunden und dem Elektrokardiogramm (Keller & Hamm, 2019).

Der anhaltend hohe Anteil von Herz-Kreislauf-Erkrankungen im Hinblick auf Hospitalisierung und Todesfälle in Deutschland unterstreicht die Bedeutung einer frühzeitigen Detektion von Umbauprozessen im Myokard, der bislang im klinischen Setting kaum Relevanz besitzt. Die Messung von CCN1 könnte eine schnelle und mit geringem Aufwand und Kosten verbundene Diagnostik zur Detektion von linksventrikulärem Remodeling ermöglichen.

Dies könnte zukünftig klinische Abläufe optimieren angesichts der prognostischen Bedeutung des linksventrikulären Remodelings. So ließe sich zukünftig das Monitoring der Patienten weiter verbessern und damit eine personalisierte Therapie ermöglichen. Insbesondere die Überprüfung von Therapieerfolgen, beispielsweise bei der Herzinsuffizienzbehandlung wäre denkbar.

#### 1.4 Zielstellung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, zu evaluieren, inwiefern Cellular Communication Network Factor 1 (CCN1) als Biomarker im Serum zur Detektion des linksventrikulären Remodelings fungieren kann.

#### 1.5 Stand der Forschung

Der ergänzende diagnostische Einsatz von Biomarkern neben Anamnese und körperlicher Untersuchung hat sich in den vergangenen Jahren klinisch fest etabliert.

Bislang gibt es keinen Blutserum-basierten Biomarker, der das stattgehabte LV-Remodeling des Herzens zuverlässig reflektiert und quantifiziert. CCN1 könnte hier wertvolle neue Informationen liefern, da es zusätzlich zur Diagnostik einer akuten Myokardschädigung im Rahmen eines Akuten Koronarsyndroms auch prognostische Bedeutung hat (Klingenberg et al., 2017, 2021).

#### 1.6 CCN1 – ein matrizelluläres Protein mit vielfältigen Funktionen

Cellular Communication Network Factor 1 (CCN1), auch bekannt als Cysteine-rich Angiogenic Inducer 61 (Cyr61) gemäß alter Nomenklatur, ist ein matrizelluläres Protein. Für Säugetiere existieren derzeit insgesamt sechs verschiedene Mitglieder, die in CCN1-6 kategorisiert werden (Lau, 2011).

Der Begriff matrizelluläre Proteine umschreibt eine Gruppe von Proteinen der extrazellulären Matrix, die lediglich minimal an Integrität und Struktur der Matrix

beteiligt sind, aber eine Vielzahl zellulärer Funktionen besitzen und verschiedenste Reaktionen auslösen können. Sie interagieren unter anderem mit Rezeptoren auf Zelloberflächen, ECM-Proteinen und Wachstumsfaktoren. Des Weiteren wird Ihnen eine entscheidende Rolle bei der kardialen Entwicklung während der Embryogenese zugeschrieben (Lau, 2011).

CCN1 wird verstärkt als Reaktion auf eine Hypoxie exprimiert (Wolf et al., 2010) und hat eine zentrale Bedeutung bei der Angiogenese, Inflammation und im fibrotischen Gewebeumbau (Jun & Lau, 2010, 2013). Es fungiert als Ligand für aktivierte Thrombozyten, indem es an Integrin  $\alpha_{IIb}\beta_3$  bindet (Jedsadayanmata et al., 1999). Cellular Communication Network Factor 1 wird als Antwort auf variable Stimuli, beispielsweise mechanische Zug- oder Scherkräften (Thi et al., 2007), sowie als Reaktion auf Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (Moritani et al., 2005), Transforming Growth Factor- $\beta$  (Moritani et al., 2005) und den Wachstumsfaktor Platelet-derived Growth Factor exprimiert (Sawai et al., 2003).

CCN1 induziert durch Bindung an Integrin  $\alpha_6\beta_1$  (Jedsadayanmata et al., 1999) und Heparinsulfat-Proteoglykane auf der Zelloberfläche und der Aktivierung von p53- und p16<sup>INK4a</sup>-Wegen die Zellalterung von Fibroblasten (C. C. Chen & Lau, 2009). Dadurch erfolgt die RAC-1-abhängige Aktivierung der Nicotinamidadenindinukleotidphosphatase-1, welche für eine beständige und anhaltende Akkumulation reaktiver Sauerstoffspezies verantwortlich ist. Damit löst der Biomarker eine von reaktiven Sauerstoffspezies getriggerte Aktivierung von Proteinkinasen und extrazellulären Kinasen über DNA-Schäden aus, die die p16<sup>INK4a</sup>-/Rb-Signalwege aktivieren, um eine Seneszenz zu induzieren (Jun & Lau, 2010). Folglich wurde eine vermehrte Expression des matrizellulären Proteins in Kardiomyozyten bei Patienten nach stattgehabten Myokardinfarkt mit anschließendem LV-Remodeling festgestellt. Diese herzspezifische Induktion von CCN1 ist mit einer Verringerung der Fibrose, einer besseren Funktion des Herzmuskels und damit einer kardioprotektiven Wirkung verbunden (Meyer et al., 2016; Zhao et al., 2014). Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom wiesen signifikant höhere Konzentrationen von CCN1 im Serum gegenüber Patienten mit einem chronischem Koronarsyndrom (CCS) auf (Klingenberg et al., 2017). Hierbei waren erhöhte CCN1-Konzentration unabhängig mit Gesamt mortalität und dem zusammengesetzten Endpunkt aus Gesamt mortalität/Myokardinfarkt vergesellschaftet (Klingenberg et al., 2017, 2021).

In einem Mausmodell der Autoimmun-Myokarditis war CCN1 außerdem an der Adhäsion und Rekrutierung von Monozyten und Lymphozyten in das entzündete Myokard beteiligt, indem es die Rekrutierung von CD34<sup>+</sup>-Progenitorzellen zum Myokardendothel förderte (Rother et al., 2010). Die Hemmung des Biomarkers in experimentellen „Carotid Balloon Injury“ Maus-Modellen zeigte eine Verringerung der Proliferation von glatten Muskelzellen und im Gegenzug eine Verstärkung der Intimahyperplasie. Weiterhin ließ sich eine Neubildung des matrizellulären Proteins nachweisen (Matsumae et al., 2008).

Beim Menschen wurde eine verstärkte Expression von CCN1 in arteriosklerotischen Läsionen, die reich an vaskulären glatten Muskelzellen waren und in Kardiomyozyten von Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie detektiert. Hierbei trat es vor allem vermehrt in Gebieten verletzten Gewebes mit erhöhter CD68<sup>+</sup>-Zelldichte auf (Hilfiker-Kleiner et al., 2004).

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Patientenauswahl und Studiendurchführung

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden anhand von Datensätzen der kardialen Magnetresonanztomographie (Kardio-MRT) in der Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim drei Gruppen gebildet. Die Erste umfasste Individuen mit stattgehabtem akutem Myokardinfarkt. Die zweite Gruppe beinhaltete Individuen mit einer diagnostizierten Dilatativen Kardiomyopathie und die Kontrollgruppe bestand aus Individuen mit einem Normalbefund in der kardialen Magnetresonanztomographie (Kardio-MRT).

Klinische und demographische Parameter der Patienten aus allen drei Gruppen wurden assoziiert mit Kardio-MRT-Datensätzen und CCN1-Messwerten im Serum.

Für die Durchführung der Arbeit lag ein Ethikvotum der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen mit dem Aktenzeichen 199/15 vor.

## 2.1.1 Einschlusskriterien

TABELLE 4. EINSCHLUSSKRITERIEN FÜR LV-REMODELING

Akuter Myokardinfarkt	Dilatative Kardiomyopathie	Kontrollgruppe
<u>Allgemeine Kriterien:</u>		
Serumprobe musste vorliegen und messbar sein		
Sinusrhythmus im EKG zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme		
<u>Spezifische Kriterien:</u>		
cMRT maximal zehn Tage nach AMI-Ereignis	DCM als Hauptdiagnose im cMRT	Normalbefund als Hauptdiagnose im cMRT
Frischer Myokardinfarkt als Diagnose im cMRT	Ausschluss einer koronaren Herzkrankheit in der Koronarangiographie (maximal zulässige Diagnose: Koronarsklerose ohne höhergradige Stenose)	Normwertige Parameter für LVESV-Index, LVEDV-Index und T1-Spin-Zeit

cMRT=kardiale Magnetresonanztomographie; EKG=Elektrokardiogramm; AMI=akuter Myokardinfarkt; DCM=dilatative Kardiomyopathie; LVESV-Index=linksventrikulärer endsystolischer Volumen-Index; LVEDV-Index=linksventrikulärer enddiastolischer Volumen-Index

## 2.1.2 Ausschlusskriterien

**TABELLE 5. AUSSCHLUSSKRITERIEN FÜR LV-REMODELING**

<b>Akuter Myokardinfarkt</b>	<b>Dilatative Kardiomyopathie</b>	<b>Kontrollgruppe</b>
<u>Allgemeine Kriterien:</u>		
Serumprobe war hämolytisch, lipämisch oder ikterisch		
Tako-Tsubo-Kardiomyopathie		
Vorhofflimmern		
Klappenvitien > 2. Grades		
Hirnblutung in der Vergangenheit		
Akinesien der Herzwand		
Stattgehabte Kardioembolie		
Zum Einschlusszeitpunkt vorliegende akute Myokarditis		
Tachykard übergeleitetes Vorhofflimmern		
Kammertachykardie		
Instabile Angina Pectoris		
<u>Spezifische Kriterien:</u>		
	Perkutane koronare Intervention (PCI) am Tag der Kardio-MRT	Pathologische Werte für LVESV-Index, LVEDV-Index, T1-Spin-Zeit

PCI=perkutane koronare Intervention; LVESV-Index=linksventrikulärer endsystolischer Volumen-Index; LVEDV-Index=linksventrikulärer enddiastolischer Volumen-Index

## 2.2 Definition von LV-Remodeling

Linksventrikuläres Remodeling wurde definiert als das Vorliegen von dreifach pathologisch erhöhten Werten (Kawel-Boehm et al., 2015) im Kardio-MRT Datensatz für den LVESV-Index (Frauen 11,9-20,7 ml/m<sup>2</sup>, Männer 12,75-30 ml/m<sup>2</sup>), den LVEDV-Index (Frauen 41-81 ml/m<sup>2</sup>, Männer 47-92 ml/m<sup>2</sup>) und eine pathologisch erhöhte T1 Spin-Zeit (Cut-off Frauen >1200 ms, Männer >1180 ms). Somit ließen sich basierend auf dem Vorliegen, beziehungsweise der Abwesenheit von LV-Remodeling, zwei Gruppen bilden.

## 2.3 Probengewinnung und Messung von CCN1

Im Rahmen der Diagnostik wurde den Patienten Blut durch eine Venenpunktion entnommen und anschließend mittels Zentrifuge nach stattgehabter Gerinnung das Serum bei Raumtemperatur abgetrennt. Die Proben wurden circa zwei Stunden nach der Blutentnahme tiefgefroren und im Kühlschrank bei -80 °C aufbewahrt. Für die CCN1-Messung wurden die Proben auf Trockeneis in die Firma DRG Diagnostics Marburg gebracht und dort analysiert. Die Konzentration von CCN1 wurde verblindet in Doppelmessungen einzelner Serum-Aliquots bestimmt. Als Messverfahren erfolgte ein Enzym-gekoppeltes Festphase Immunosorbent Assay (EIA-5108), ein chromogener ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), von DRG Instruments in Marburg. Die Konzentration von routinemäßig bestimmtem C-reaktivem Protein (CRP) diente als interne Kontrolle und wurde im Franz-Groedel-Institut der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim gemessen.

## 2.4 Das Messverfahren

Der DRG CCN1 ELISA ist ein auf der Sandwichtechnik basierender Festphasen-Enzymimmunoassay. Das zu analysierende Molekül besitzt Bindungsstellen für zwei verschiedene Antikörper. Die Proben wurden in die mit monoklonalen Antikörpern beschichteten Wells der Mikrotiterplatten gegeben. Der monoklonale Antikörper ist dabei gegen eine spezifische Antikörper-Bindungsstelle des CCN1-Moleküls gerichtet. Anschließend wurden die Proben mit Hilfe eines Assaypulvers und einem Enzymkonjugats aus polyklonalem Kaninchen anti-CCN1 Antikörper 120 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Das Enzymkonjugat ist dabei nicht gebunden und wird durch Waschen der Mikrotiterplatten entfernt. Ein Enzymkomplex wurde den Wells beigesetzt. Durch die Zugabe einer Substratlösung wird eine Farbentwicklung nach definierten Zeitdauer bestimmt. Die enzymatische Reaktion, sprich die Zunahme der Farbintensität in der Probe ist linear proportional zur Höhe der CCN1-Konzentration. Ein Mikrotiterplatten-Lesegerät misst die Optische Dichte bei  $450 \pm 10$  nm innerhalb von zehn Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung. Mit Hilfe der durchschnittlichen Werte der Extinktion wurde eine Standardkurve ermittelt und eine mittlere Optische Dichte gemessen. Diese machte eine Bestimmung der Konzentration jeder Probe aus der Standardkurve möglich, indem sie von dieser abgelesen werden konnte. Bei der Berechnung einzelner Konzentrationen kann die Beachtung eines Verdünnungsfaktors notwendig sein, wenn Proben, deren Konzentration höher ist als die des höchsten Standards, verdünnt werden müssen (DRG Instruments, 2012).

Der Messbereich des Testverfahrens liegt zwischen 14,9-1000 pg/mL. Der Mittelwert plus die zweifache Standardabweichung des Standards 0 ( $n=20$ ), sprich analytische Sensitivität, beträgt 14,9 pg/mL. Dabei ist bislang kein Einfluss von Medikamenten, Bilirubin (bis zu 0,5 mg/mL), Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL) und Triglyceriden (bis zu 30 mg/mL) auf den CCN1-Gehalt der Probe und damit auf das Testergebnis bekannt (DRG Instruments, 2012).

Ein Hook Effekt, sprich sinkende Messwerte bei steigender Analyt-Konzentration, wurde bei Proben mit bis zu 40,500 pg/mL CCN1 bislang nicht beobachtet (DRG Instruments, 2012).

## 2.5 Statistik

Es wurde eine explorative Analyse anhand einer lokalen Kardio-MRT-Datenbank mit zugehörigen klinisch-demographischen Parametern bei den Patienten der drei Gruppen durchgeführt.

Untersucht wurde der Zusammenhang zwischen dem CCN1-Serumspiegel und dem Vorliegen von LV-Remodeling, sofern alle drei MR-Kriterien (Kawel-Boehm et al., 2015) erfüllt waren. Um die diagnostische Genauigkeit von CCN1 für LV-Remodeling bestimmen zu können, wurde mittels Receiver Operating Characteristic-Kurven (ROC-Kurven) die Area under the Receiver Operator Curve (AUROC) berechnet. Damit ließen sich mittels Youden-Index optimale Cut-off Werte für den Biomarker berechnen.

Des Weiteren wurden basierend auf einem p Wert von  $< 0,05$  Parameter identifiziert, die dann Eingang in eine univariate lineare Regression fanden.

Klinische Charakteristika wurden als Mittelwerte mit Standardabweichung und p-Werten aus t-Tests für unabhängige Stichproben und kontinuierliche Variablen ermittelt. Bei nicht normalverteilten Variablen und nicht gepaarten beziehungsweise unabhängigen Gruppen wurden der Median und ein Wilcoxon-Rangsummen-Test angewandt.

Kategorische Variablen wurden als Anzahlen mit Prozentsätzen und p Werten aus  $\chi^2$  oder Fisher`s exact Tests bestimmt.

Im Rahmen der Datenauswertung und Statistik wurde die Programmiersprache R, Version 3.5.1 (2018-07-02) mit der Entwicklungsumgebung RStudio für Microsoft Windows mit den Paketen Hmisc (4.1-1), gridExtra (2.3), epade (0.3.8) und lubridate (1.7.4) verwendet (R Foundation for Statistical Computing, 2022).

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Auswahl eines geeigneten Patientenkollektivs

Das untersuchte Kollektiv bestand aus 152 Individuen, die mittels Kardio-Magnetresonanztomographie-Datensätzen der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim den drei Gruppen Akuter Myokardinfarkt, Dilatative Kardiomyopathie und gesunder Kontrollgruppe zugeordnet wurden. Die klinischen und demographischen Parameter aller Patienten wurden mit den Kardio-MRT-Datensätzen und CCN1-Messwerten assoziiert.

Im Rahmen der Durchführung dieser Arbeit erfolgten zwei separate CCN1-Messungen in Serumproben von identifizierten Individuen aus der Datenbank in einem zeitlichen Abstand von sechs Monaten.

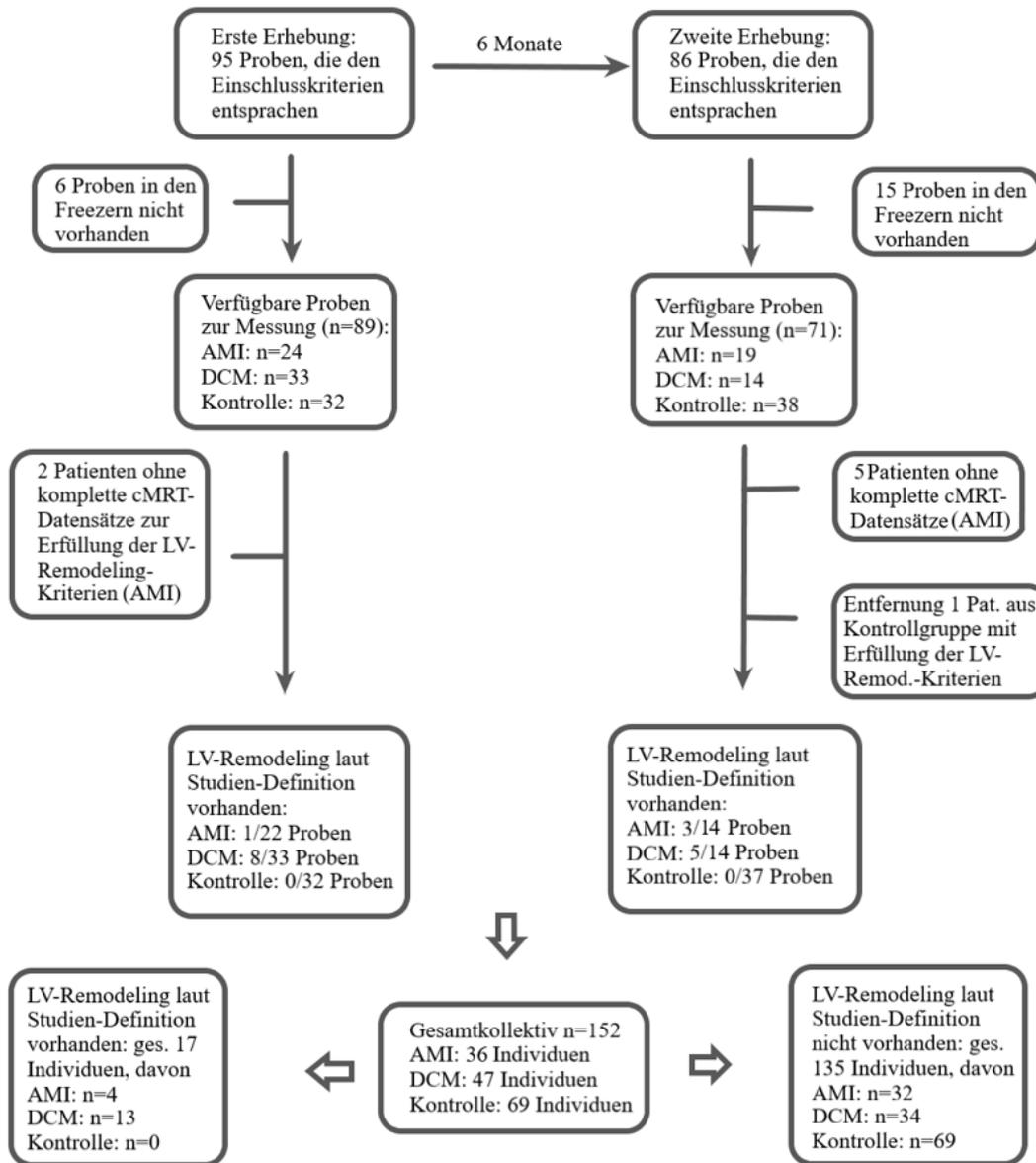
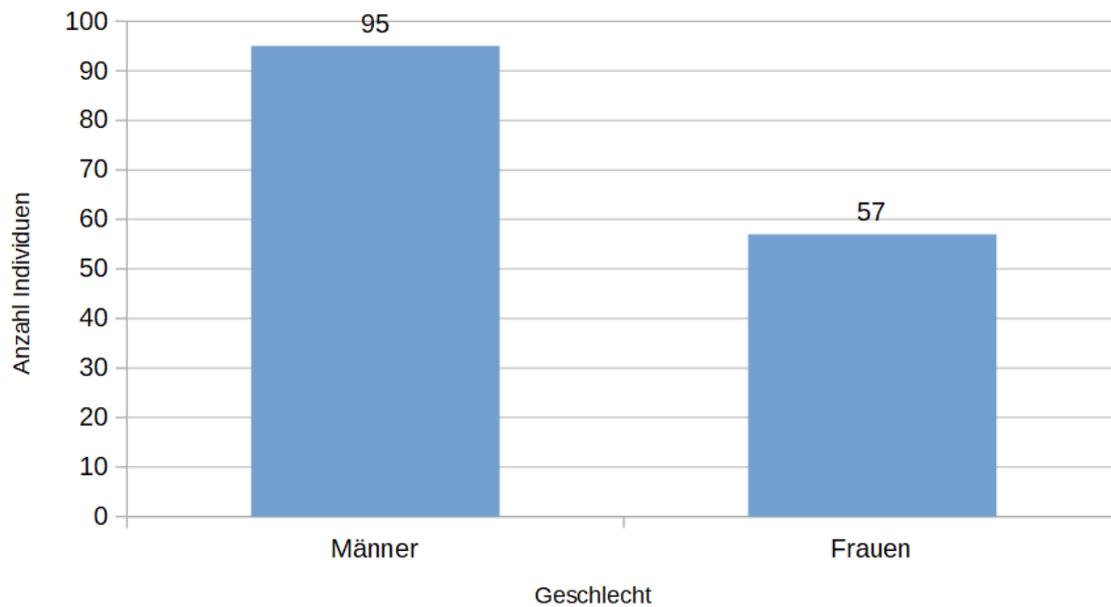
Patientenflussdiagramm:

ABBILDUNG 2. PATIENTENFLUSSDIAGRAMM

### 3.2 Beschreibung der Kohorte

Die Gesamtkohorte (n=152) hatte einen Altersdurchschnitt von 57,6 Jahren (48 Jahre bis 67,3 Jahre). Darunter befanden sich 57 Frauen und 95 Männer (62,5 %). Das durchschnittliche Alter der Frauen betrug 60,2 Jahre, das der Männer 55,2 Jahre.



**ABBILDUNG 3. ZUSAMMENSETZUNG DER KOHORTE NACH GESCHLECHT**

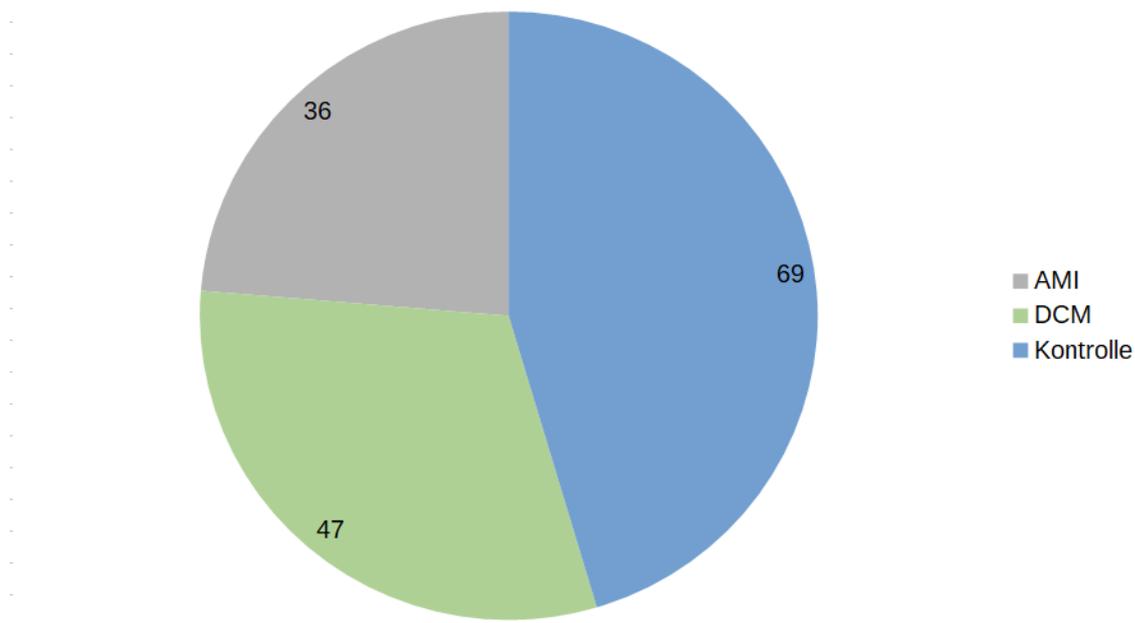
### 3.3 Unterschiede der drei Gruppen

Die kleinste Gruppe mit 36 Personen und dem höchsten Altersdurchschnitt von 63,3 Jahren (53,5 Jahre bis 71,6 Jahre) wurde von den Individuen mit einem akuten Myokardinfarkt gebildet. Diese Gruppe setzte sich aus 14 Frauen und 22 Männern zusammen.

Es wurden insgesamt 47 Individuen mit der Diagnose einer Dilatativen Kardiomyopathie eingeschlossen, darunter 16 Frauen und 31 Männer. Der Altersdurchschnitt in dieser Gruppe lag bei 59,4 Jahren (52,6 Jahre – 68,0 Jahre).

Die gesunde Kontrollgruppe bestand durchschnittlich aus den jüngsten Studienteilnehmenden mit einem Altersdurchschnitt von 54,8 Jahren (37,7 Jahre – 64,0 Jahre). Mit 27 Frauen und 42 Männern war dies die größte der drei Untergruppen.

In allen drei Untergruppen befanden sich mehr Männer als Frauen, wobei der Anteil an Männern in der Normalgruppe am größten war.



**ABBILDUNG 4. GRUPPENGROßEN AMI, DCM UND KONTROLLE**

AMI=akuter Myokardinfarkt; DCM=dilatative Kardiomyopathie

**TABELLE 6. ZUSAMMENSETZUNG DER DREI UNTERGRUPPEN AMI, DCM UND GESUNDE KONTROLLE HINSICHTLICH GESCHLECHT UND ALTER**

	Typ und Einheit	Datenverfügbarkeit	Gesamt n=152	AMI n=36	DCM n=47	Kontrolle n=69
Weibl. Geschlecht	n (%), [n]	152/152	57 (37,5)	14 (38,9)	16 (34,0)	27 (39,1)
Alter	Median (IQR), [Jahre]	152/152	57,59 (48-67,3)	63,3 (53,5-71,6)	59,4 (52,6-68,0)	54,8 (37,7-64,0)

N=Anzahl; IQR=Interquartilsabstand; AMI=akuter Myokardinfarkt; DCM=dilatative Kardiomyopathie

### 3.4 Nähere Betrachtungen zu LV-Remodeling

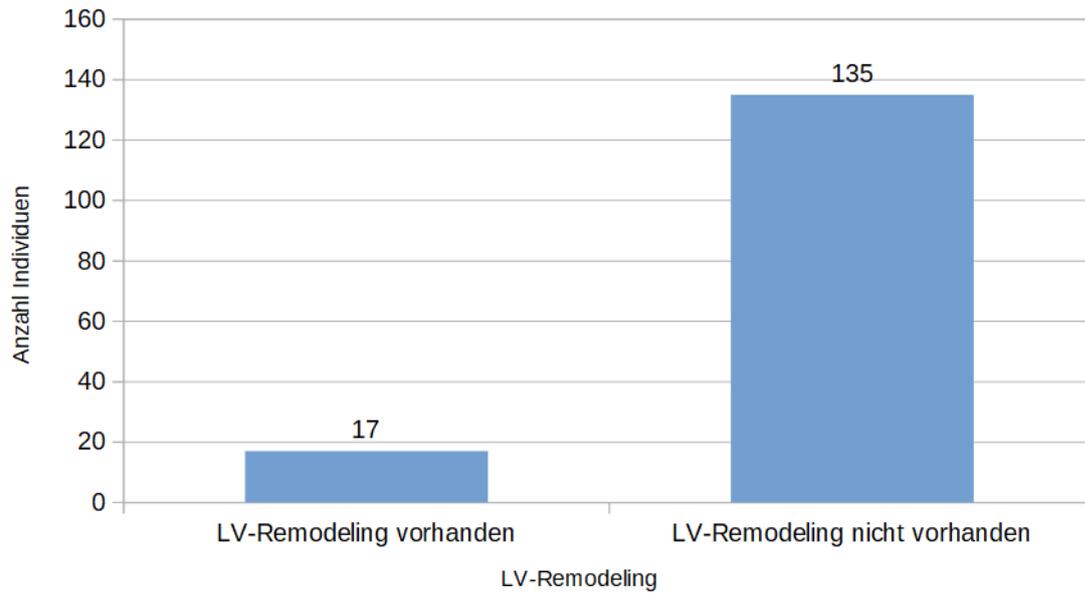
Für 152 Individuen lagen komplette Kardio-MRT Daten vor. Für diese Personen war mithilfe der gemessenen Werte aus der Kardio-Magnetresonanztomographie ermittelbar, ob ein LV-Remodeling bestand.

Insgesamt 17 Studienteilnehmende erfüllten mit dreifach pathologischen Werten für LVESV-Index, LVEDV-Index und T1-Spin-Zeit die Voraussetzungen für die Definition eines stattgehabten Remodelings.

Vier der 17 Individuen mit vorhandenem Remodeling gehörten zur Gruppe mit einem akutem Myokardinfarkt. 13 Individuen hatten als Hauptdiagnose eine Dilatative Kardiomyopathie im cMRT.

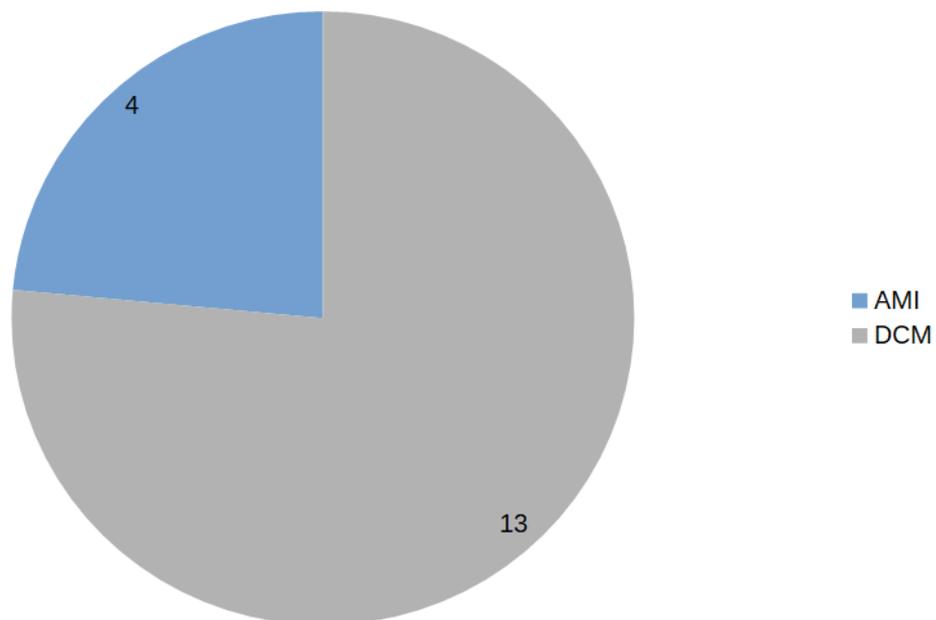
Anhand dieser Ergebnisse konnten zwei Gruppen gebildet werden, basierend auf dem Vorliegen beziehungsweise der Abwesenheit von LV-Remodeling.

Bei 135 Studienteilnehmenden wurde anhand der zuvor festgelegten Kriterien kein LV-Remodeling festgestellt. Darunter befanden sich alle Patienten aus der gesunden Kontrollgruppe.



**ABBILDUNG 5. ANZAHL INDIVIDUEN MIT LV-REMODELING**

LV-Remodeling=linksventrikuläres Remodeling



**ABBILDUNG 6. ZUSAMMENSETZUNG DER INDIVIDUEN MIT LV-REMODELING**

AMI=akuter Myokardinfarkt; DCM=dilatative Kardiomyopathie

### 3.5 Unterschiede in den Patientenkollektiven mit und ohne Remodeling

Zwei der 17 Individuen mit positivem Remodeling waren weiblich, 15 männlich. Unter den 135 Personen ohne Remodeling befanden sich 55 Frauen und 80 Männer (59,3 %).

Der Altersdurchschnitt der Individuen mit LV-Remodeling lag mit 62,8 Jahren (52,7 Jahre bis 69,3 Jahre) über dem Mittelwert der Gesamtkohorte und dem der Personen ohne Remodeling mit 57,4 Jahren (47,4 Jahre – 67,2 Jahre).

**TABELLE 7. UNTERSCHIEDE VON GRUPPENGROÖBE, ALTER UND GESCHLECHT DER PATIENTEN MIT UND OHNE LV-REMODELING**

			<b>Gesamt</b>	<b>LV-Remodeling vorhanden</b>	<b>LV-Remodeling nicht vorhanden</b>
	Typ und Einheit	Datenverfügbarkeit	n=152	n=17	n=135
Weibl. Geschlecht	n (%), [n]	152/152	57 (37,5)	2 (11,8)	55 (40,7)
Alter	Median (IQR), [Jahre]	152/152	57,6 (48-67,3)	62,8 (52,7-69,3)	57,4 (47,4-67,2)

N=Anzahl; IQR=Interquartilsabstand, LV-Remodeling=linksventrikuläres Remodeling

Alle ermittelten Kardio-MRT-Werte waren bei den Individuen mit vorhandenem LV-Remodeling pathologisch verändert.

Unter den betrachteten Parametern ließ sich außerdem eine Assoziation zwischen dem Vorhandensein, beziehungsweise der Abwesenheit von LV-Remodeling und LV-EF zeigen (35 (IQR 27-38 % versus 56 (IQR 47,3-62) %,  $p < 0,001$ ). Personen mit Veränderungen des Herzgewebes hatten eine signifikant verringerte LV-EF.

**TABELLE 8. KARDIO-MRT-WERTE IM VERGLEICH ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE LV-REMODELING**

			<b>Gesamt</b>	<b>LV-Remodeling vorhanden</b>	<b>LV-Remodeling nicht vorhanden</b>	<b>p-Wert</b>
	Typ und Einheit	Datenverfügbarkeit	n=152	n=17	n=135	
<b>Kardio-MRT-Datensätze</b>						
LV-EF	median (IQR), [%]	152/152	54 (38,5-61)	35 (27-38)	56 (47,3-62)	<0,001
LV-MM	median (IQR), [g]	152/152	101 (82-123)	129 (100-195)	100 (81-117,3)	0,002
LV-MMI	median (IQR), [g/m <sup>2</sup> ]	152/152	50 (44-59)	66 (47-90)	49,5 (44-57)	0,003
LV-EDV	median (IQR), [ml]	152/152	175 (146,5-212,5)	254 (209-297)	172,5 (144,3-202,8)	<0,001
LV-EDVI	median (IQR), [ml/m <sup>2</sup> ]	152/152	87 (75-103,5)	121 (106-137)	85,5 (72,3-98,8)	<0,001
LV-ESV	median (IQR), [ml]	152/152	79 (58-125,5)	159 (145-184)	73,5 (56-101,8)	<0,001
LV-ESVI	median (IQR), [ml/m <sup>2</sup> ]	152/152	40 (30,5-63)	79 (72-87)	37 (30-52)	<0,001
T1-spin Zeit	median (IQR), [ms]	152/152	1140 (1105-1173)	1209 (1193-1227)	1131 (1102,8-1162,3)	<0,001

N=Anzahl; IQR=Interquartilsabstand; LV-EF=linksventrikuläre Ejektionsfraktion; LV-MM=linksventrikuläre Muskelmasse; LV-MMI=linksventrikuläre Muskelmasse-Index; LV-EDV=linksventrikuläres Enddiastolisches Volumen; LV-EDVI=linksventrikulärer enddiastolischer Volumen-Index; LV-ESV=linksventrikuläres endsystolisches Volumen; LV-ESVI=linksventrikuläre endsystolischer Volumen-Index

### 3.6 Einflussfaktoren auf den CCN1-Spiegel

In dieser Studie wurden mittels einer multivariablen Analyse potenzielle Einflussfaktoren auf die CCN1 Konzentration im Serum untersucht.

Dazu zählten neben Alter und Geschlecht kardiale Risikofaktoren wie arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Rauchen, Dyslipidämie, Adipositas und familiäre Disposition.

Auch wurde ein möglicher Zusammenhang veränderter CCN1-Spiegel in Abhängigkeit vom NYHA-Stadium, vorhandenem Brustschmerz, bekannter kardiologischer Interventionen wie einer Perkutanen koronaren Intervention (PCI) oder einer Bypass-Operation betrachtet.

**TABELLE 9. ÜBERSICHT - CCN1-SERUMWERTE IN ABHÄNGIGKEIT AUSGEWÄHLTER PARAMETER**

	Typ und Einheit	Datenverfügbarkeit	Gesamt	Parameter vorhanden	Parameter nicht vorhanden	p-Wert
		152/152	n=152	n=57	n=95	
Weibl. Geschlecht	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	333,3 (257,6-423)	298,2 (247-387,2)	0,489
		152/152	n=152	n=17	n=135	
LV-Remodeling	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	383,4 (334,3-558,8)	300 (246,2-384,6)	0,023
		152/152	n=152	n=97	n=55	
Arterielle Hypertonie	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	324,4 (260,3-388,5)	283,4 (241,1-388,1)	0,502
		150/150	n=150	n=62	n=88	
Dyslipidämie	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (247,6-389,6)	332,2 (266,5-390,6)	288,9 (239,4-388,8)	0,1

			<b>Gesamt</b>	<b>Parameter vorhanden</b>	<b>Parameter nicht vorhanden</b>	<b>p- Wert</b>
		150/150	n=150	n=25	n=125	
Diabetes Mellitus	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,6-389,6)	319,1 (269,5-383,7)	306,7 (245,6-392,7)	0,65
		104/104	n=104	n=51	n=53	
Rauchen	median (IQR), [pg/mL]		298,6 (245,5-385,6)	291,4 (243-381)	311,5 (248,8-388,5)	0,455
		152/152	n=152	n=44	n=108	
Adipositas	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	287,8 (238,6-349,7)	329,3 (257,6-411,3)	0,045
		150/150	n=150	n=49	n=101	
Familiäre Vorbelastung	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,6-388,2)	300 (246,7-392,7)	315,9 (257,6-387,2)	0,917
		152/152	n=152	n=61	n=91	
Bekannte KHK	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	331,1 (257,6-384,2)	304,7 (247-392)	0,97
		152/152	n=152	n=30	n=122	
Bekannte PCI	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	322,3 (258,3-384,1)	307,8 (246,8-390,9)	0,98
		152/152	n=152	n=7	n=145	
Bekannte CABG	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	342,7 (294,7-394,2)	306,7 (247,3-388,5)	0,616
		152/152	n=152	n=40	n=112	
Myokardinfarkt	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	335,2 (272-385)	302,4 (244,3-391,6)	0,418
		152/152	n=152			
HI NYHA 0	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	321,3 (248,9-356,8)	335,1 (260,5-423)	0,264
		152/152	n=152			
HI NYHA 1	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	387,2 (284,8-434,9)	321,7 (251,6-389,3)	0,086
		152/152	n=152			
HI NYHA 2	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	358,9 (271,6-425,2)	315,7 (248,7-388,3)	0,349

			<b>Gesamt</b>	<b>Parameter vorhanden</b>	<b>Parameter nicht vorhanden</b>	<b>p-Wert</b>
		152/152	n=152			
HI NYHA 3	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	309,5 (240,7-384,8)	334,3 (260,5-423)	0,547
		152/152	n=152			
HI NYHA 4	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	319,1 (210,4-450,3)	334 (260,4-390,9)	0,867
		152/152	n=152			
AP: CCS mehrere Male/Tag	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	334,3 (308,7-454,2)	324,4 (265,1-392,3)	0,497
		152/152	n=152			
AP: CCS täglich	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	333,3 (274,4-390,9)	325 (265,1-392,3)	0,839
		152/152	n=152			
AP: CCS 3x/Woche	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	278,3 (245,6-391,3)	326,5 (271-401,3)	0,705
		152/152	n=152			
AP: CCS 1-2x/Woche	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	317,5 (265,4-390,6)	331,1 (272,9-427,1)	0,801
		152/152	n=152			
AP: <1x/Woche	median (IQR), [pg/mL]		310,2 (248,2-388,8)	319,1 (268,8-414,9)	325,5 (265,6-392,7)	0,801

N=Anzahl; IQR=Interquartilsabstand; LV-Remodeling=linksventrikuläres Remodeling; KHK=koronare Herzkrankheit; PCI= Percutaneous Coronary Intervention; CABG= Coronary Artery Bypass Grafting; HI=Herzinsuffizienz; NYHA=New York Heart Association, AP=Angina Pectoris, CCS=Canadian Cardiovascular Society, CKD= Chronic Kidney Disease; MDRD= Modification of Diet in Renal Disease

Für alle 152 Individuen wurde CCN1 im Serum gemessen. Die Konzentration von CCN1 war bei Probanden mit LV-Remodeling signifikant erhöht (383,4 [334,3-558,8] pg/mL) im Vergleich zur Gruppe ohne Remodeling (300 [246,2-384,6] pg/mL, p=0,02).

Für Personen ohne Adipositas bestand ebenfalls ein signifikanter Unterschied (329,3 [257,6-411,3] pg/mL) hinsichtlich der CCN1-Konzentration im Vergleich zu Personen mit Adipositas (287,8 [238,6-349,7] pg/mL, p=0,045).

### 3.6.1 CCN1 und Laborparameter

Als untersuchte Laborparameter wurden die geschätzte Glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) und das C-reaktive Protein (CRP) näher betrachtet.

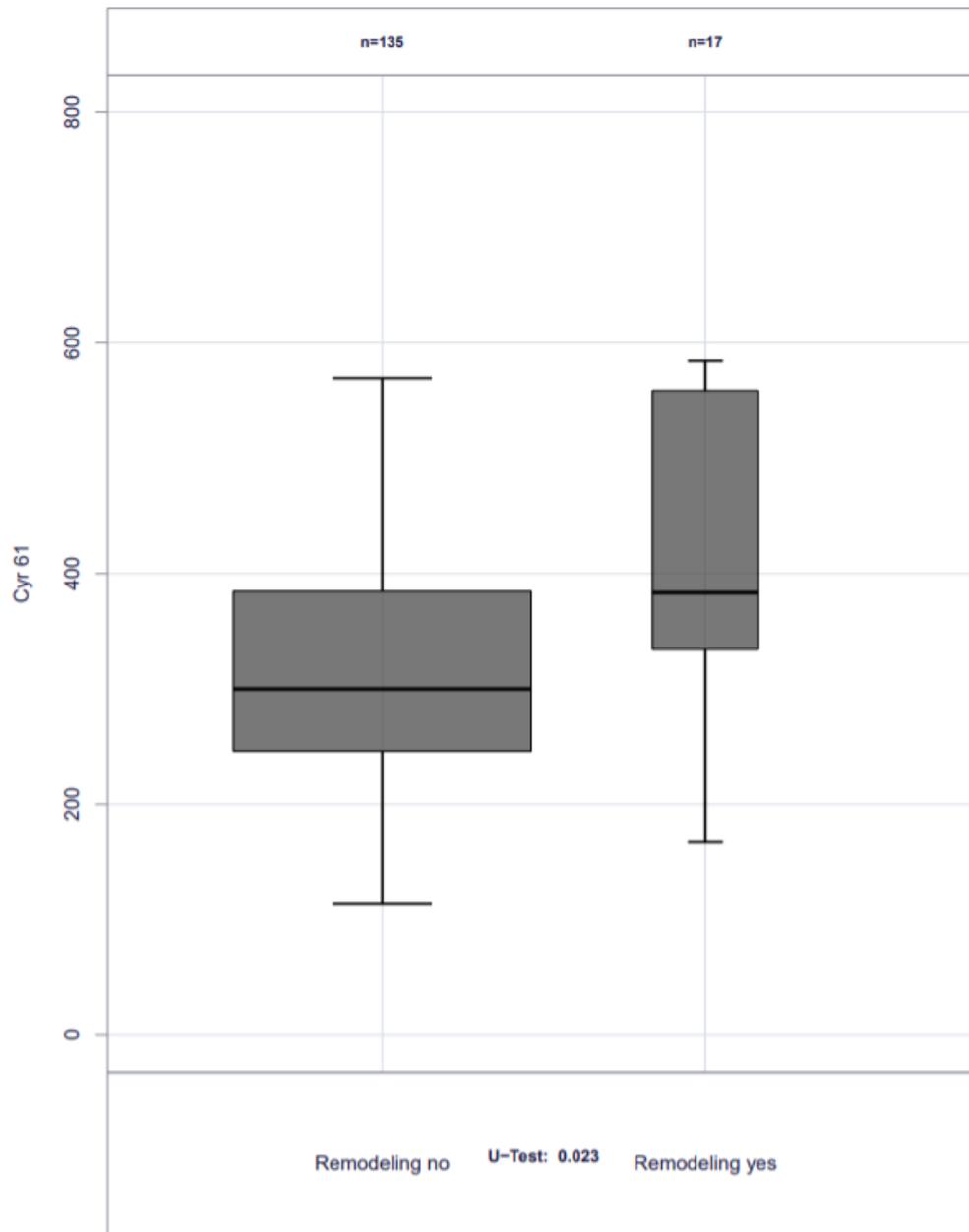
Bei 146 der insgesamt 152 Studienteilnehmenden wurde das C-reaktive-Protein (CRP) bestimmt. Das CRP war bei Individuen mit LV-Remodeling gegenüber Personen ohne LV-Remodeling erhöht ( $p=0,035$ ).

**TABELLE 10. UNTERSCHIEDE HINSICHTLICH CCN1, CRP UND eGFR BEI PATIENTEN MIT UND OHNE LV-REMODELING**

			<b>Gesamt</b>	<b>LV-Remodeling vorhanden</b>	<b>LV-Remodeling nicht vorhanden</b>	<b>p-Wert</b>
	Typ und Einheit	Datenverfügbarkeit	n=152	n=17	n=135	
CCN1	median (IQR), [pg/mL]	152/152	310,2 (248,2-388,8)	383,4 (334,3-558,8)	300 (246,2-384,6)	0,023
CRP	median (IQR), [mg/l]	146/152	0,3 (0,1-0,8)	0,5 (0,2-2)	0,2 (0,1-0,7)	0,035
eGFR	median (IQR), [ml/min]	146/152	97,6 (85,4-117)	96,2 (84,8-111,7)	98,2 (85,4-118,8)	0,388

N=Anzahl, IQR=Interquartilsabstand; LV-Remodeling=linksventrikuläres Remodeling; CCN1=Cellular Communication Network Factor 1; CRP=C-reaktives Protein; eGFR=Estimated Glomerular Filtration Rate

Der Wilcoxon-Rangsummen-Test für nicht normalverteilte Variablen ergab eine Wahrscheinlichkeit von  $p=0,023$  für CCN1 und LV-Remodeling.



**ABBILDUNG 7. CCN1 IN ABHÄNGIGKEIT VON LV-REMODELING, WILCOXON-RANGSUMMEN-TEST**

### 3.6.2 Einordnung der gemessenen CCN1-Werte

Die Gesamtkohorte hatte einen durchschnittlichen CCN1-Serumwert von 310,2 pg/mL (248,2 pg/mL bis 388,8 pg/mL).

Individuen ohne ein LV-Remodeling wiesen im Schnitt geringere Messwerte des Biomarkers auf (300 pg/mL [246,2 pg/mL bis 384,6 pg/mL]) als Individuen, bei denen ein Umbau von Herzgewebe infolge einer Schädigung stattgefunden hatte (383,4 pg/mL [334,3 pg/mL bis 558,8 pg/mL]),  $p=0,02$ ).

Der mittlere CCN1-Serumwert lag bei Studienteilnehmenden mit nachgewiesenem LV-Remodeling leicht über der vom Hersteller bestimmten Norm. Einzelne Individuen wiesen deutlich höhere Messwerte auf. Einschränkend ist hierbei zu sagen, dass bislang kein Konsens zu normalen Konzentrationen besteht. So betrug der Mittelwert 477,7 pg/mL bei gesunden Individuen aus der CoLaus Kohorte in Vorarbeiten des Betreuers (Klingenberg et al., 2017).

**TABELLE 11. ERWARTETE CCN1-WERTE**

<b>Population</b>	<b>n</b>	<b>Median (pg/mL)</b>	<b>Mean (pg/mL)</b>	<b>Range (pg/mL)</b>
Adult Male	16	251.9	262.4	165.1 – 382.1
Adult Female	8	212.3	211.7	199.4 – 241.5
Adolescent	16	305.5	317.1	210.4 – 510.4

Aus Users Manual DRG Marburg Cyr 61 ELISA

Die Probanden aus der gesunden Kontrollgruppe wiesen die niedrigsten CRP- und CCN1-Werte im Vergleich der drei Gruppen auf.

Bei Personen mit der Diagnose einer Dilatativen Kardiomyopathie wurden im Schnitt die höchsten Serumspiegel des Biomarkers gemessen.

Schließlich erfolgte eine Gegenüberstellung der Konzentrationen für den systemischen Inflammationsmarker CRP und das matrizelluläre Protein CCN1.

**TABELLE 12. CRP UND CCN1 IM VERGLEICH DER DREI UNTERGRUPPEN**

	Typ und Einheit	Datenverfügbarkeit	Gesamt n=152	AMI n=36	DCM n=47	Kontrolle n=69
CCN1	median (IQR), [pg/ml]	152/152	310,2 (248,2-388,8)	322,3 (268,1-385)	366,2 (268,2-431)	283,4 (239,9-357,7)
CRP	median (IQR), [mg/l]	146/152	0,3 (0,1-0,8)	0,8 (0,3-2,1)	0,3 (0,2-0,7)	0,1 (0,03-0,4)

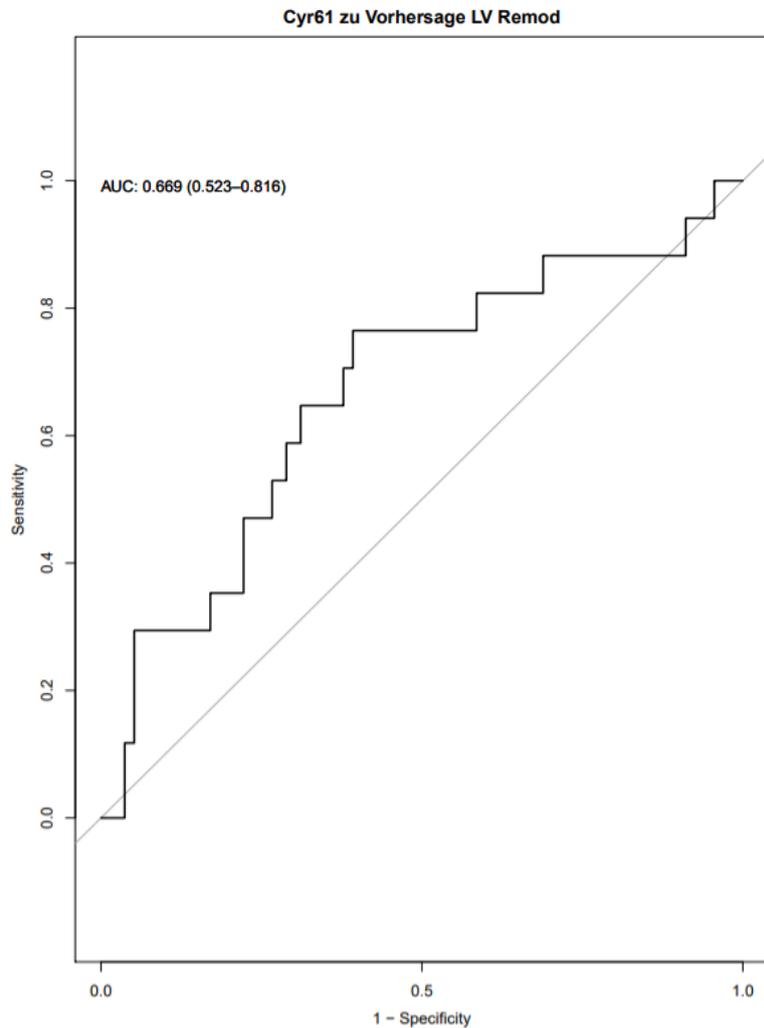
N=Anzahl; IQR=Interquartilsabstand; AMI=akuter Myokardinfarkt; DCM=dilatative Kardiomyopathie; CCN1=CCN1=Cellular Communication Network Factor 1; CRP=C-reaktives Protein

### 3.7 Vorhersagewahrscheinlichkeit von CCN1 in Bezug auf kardiales Remodeling

Untersucht wurde der Zusammenhang zwischen gemessener CCN1-Serumkonzentration und dem Ausmaß des Umbaus von Herzgewebe infolge einer Myokardschädigung.

Um die diagnostische Genauigkeit von CCN1 für stattgehabtes LV-Remodeling bestimmen zu können, wurde mittels ROC-Kurve die Area Under the Curve (AUC) berechnet.

Es zeigte sich, dass CCN1 in der Lage war, LV-Remodeling mit einer Area Under the Curve von 0,67 (0,52-0,82) vorherzusagen.



**ABBILDUNG 8. ROC-KURVE ZUR VORHERSAGEGENAUIGKEIT VON CCN1 IN BEZUG AUF LV-REMODELING**

Mit Hilfe der Area Under the Curve ließ sich ein optimaler Cut-off für den Biomarker von 334,3 pg/mL mittels unadjustierter Odds Ratio berechnen.

Bei Verwendung dieses Cut-offs ermöglicht CCN1, LV-Remodeling mit einer Odds Ratio von 3,7 (95% CI 1,07; 12,86) und  $p=0,039$  zu prognostizieren, angepasst an die LV-EF des Individuums.

### 3.8 Zusammenfassung der Ergebnisse

Studienteilnehmende mit der Hauptdiagnose der Dilatativen Kardiomyopathie wiesen die höchsten CCN1-Konzentrationen auf.

Die niedrigsten gemessenen Werte des Biomarkers fanden sich bei den gesunden Kontrollprobanden.

In dieser Arbeit konnte zudem gezeigt werden, dass erhöhte CCN1-Serumspiegel signifikant mit vermehrtem LV-Remodeling einhergingen.

## 4. Diskussion

### 4.1 Biomarker als Prädiktoren für kardiale Umbauprozesse

Veränderungen des Herzgewebes infolge einer Schädigung, sind nachweislich mit Verlust von funktionellem Myokard, zugunsten eines fibrotischen Umbaus verbunden. Deshalb spielt der Nachweis eines kardialen Remodelings und dessen zielgerichtete Behandlung eine große Rolle für das Outcome der Patienten. Schon länger ist bekannt, dass im Blut befindliche Biomarker unterschiedlichste Informationen, zum Beispiel über die Entstehung, den Umbau und den Abbau von Kollagen oder die Größe von Myokardschäden geben können.

Ein genaues Monitoring mittels Biomarkern und eine daraus abgeleitete individualisierte Therapie stellen einen innovativen Ansatz dar.

#### 4.1.2 Troponin

Der am Häufigsten verwendete diagnostische Marker im Zusammenhang mit einem akuten Myokardinfarkt ist derzeit das Troponin. Sogenanntes kardiales Troponin (cTnT, cTnI), sind Proteine, die spezifisch bei Verletzungen des Herzmuskels Veränderungen zeigen.

Im Rahmen einer Herzinsuffizienz mit einhergehendem linksventrikulärem Remodeling kommt es zu einem Untergang von Herzmuskelgewebe. Perna et al. wiesen bereits 2004 bei 15 % aller Patienten mit Herzinsuffizienz erhöhte Troponin T-Levels nach. Diese wiederum waren assoziiert mit einer deutlich schlechteren Prognose. Eine wesentliche Rolle bei der Entstehung myokardialer Schäden spielten dabei die echokardiographisch nachgewiesenen linksventrikulären Umbauprozesse (Perna et al., 2004).

Myhre et al. verwiesen im Jahr 2018 ebenfalls auf eine gewisse Kohärenz zwischen erhöhten Troponinlevels in Bezug auf myokardiale Ischämie und LV-Masse und den entsprechenden Befunden in der Magnetresonanztomographie (Myhre et al., 2018). Ein

Zusammenhang zwischen pathologischen Serumwerten und der Prognoseabschätzung bei Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung ist inzwischen gut belegt (Omland & White, 2017).

#### 4.1.3 Natriuretische Peptide

Die Ausschüttung natriuretischer Peptide, die durch mechanischen Stress auf die Herzwand exprimiert werden, ist abhängig von Kammergröße und Volumen der Ventrikel und der linksventrikulären Auswurfraction. Eine Reduktion des NT-proBNP-Spiegels ging einher mit Verbesserungen der Parameter LV-EF, LVESV und LVEDV. NT-proBNP-Spiegel  $\leq 1.000$  ng/L sind außerdem signifikant assoziiert mit diastolischer Dysfunktion, gestörter rechtsventrikulärer systolischer Funktion, erhöhtem rechtsventrikulärem Druck und einem geringeren Schweregrad einer Mitralinsuffizienz. Bei Patienten mit konstant niedrigen Konzentrationen der natriuretischen Peptide (BNP  $< 100$  ng/l und NT-proBNP  $< 1.000$  ng/l), ist die Wahrscheinlichkeit von LV-Remodeling niedrig. Die Prognose ist damit günstig und eine Kontrolle mittels Bildgebung kann reduziert werden (Bhardwaj et al., 2010; Januzzi et al., 2011). Jedoch war eine Therapiesteuerung nach NT-proBNP Werten bei Patienten mit HFrEF nicht besser als die Kontrollgruppe (Felker et al., 2017).

#### 4.1.4 Lösliches Interleukin-1-Rezeptor-ähnliches Protein (sST2)

Das Glykoprotein Soluble Suppression of Tumorigenesis-2 (sST2), auch bekannt als Interleukin-1-Rezeptor-ähnliches Protein 1, wird als Reaktion auf einen Dehnungsreiz von kardialen Fibroblasten ausgeschüttet und reduziert die antifibrotischen Effekte von Interleukin-33. Es liegt in zwei Formen als membrangebundener Rezeptor und als löslicher extrazellulärer Rezeptor vor (Sanada et al., 2007). Erhöhte Serumspiegel von ST2 sind mit einem negativem prognostischem Wert assoziiert (Puelacher et al., 2015; Rehman et al., 2008; Weir et al., 2010).

Bei Patienten mit einer HFrEF scheint sST2 zuverlässig assoziiert zu sein mit Umbauprozessen des linken Ventrikels (Aimo et al., 2019; Gaggin et al., 2014). Eine

geringe sST2-Konzentration war ein unabhängiger Prädiktor von umgekehrtem Remodeling zusammen mit klinischen Variablen (Aimo et al., 2019; Lupón et al., 2018).

#### 4.1.5 Galectin-3 (Gal-3) und Herztyp-Fettsäurebindungsprotein (h-FABP)

Galectin-3 ist ein lösliches Beta-Galactosidase bindendes Lektin, welches sowohl bei der Entwicklung von kardialer Fibrose und Remodeling nach einem Myokardinfarkt, als auch bei Patienten mit einer klassischen Herzinsuffizienz (Sanchez-Mas et al., 2014) aufgrund einer Stimulation der Myofibroblastenproliferation, sowie Förderung der Ablagerung von Prokollagen-1 eine wesentliche Rolle spielt (Sharma et al., 2004). Es ist derzeit noch unklar, inwiefern sich Gal-3 für das Monitoring von Remodeling eignet (Aimo et al., 2019).

Ein weiteres herzspezifisches, im peripheren Blut bestimmbares zytoplasmatisches Transportprotein ist das Herztyp-Fettsäurebindungsprotein (h-FABP). Seit dem Bestehen der hochsensitiven Troponin-Tests verlor die Bestimmung von h-FABP allerdings an Bedeutung (Kagawa et al., 2013; Reiter et al., 2013). Die Untersuchung der wichtigsten Subgruppe ist Gegenstand aktuellerer Arbeiten (Puelacher et al., 2015).

## 4.2 Kardiales Remodeling in anderen Arbeiten – ein Überblick

Es existieren viele unterschiedliche Definitionen für Remodeling und umgekehrtes Remodeling. Dies findet seine Ursache in den sich unterscheidenden Studiendesigns. Beispielsweise sind gewählte Patientenpopulationen nicht identisch oder genutzte bildgebende Verfahren zur Detektion von Umbauprozessen, zum Beispiel eine Kardio-Magnetresonanztomographie oder eine Echokardiographie. Auch die verwendeten Parameter zur Definition unterscheiden sich. Einige Studien definieren kardiales Remodeling über die Masse des linken Ventrikels, andere nutzen gemessene Werte für LV-EF, LVESV oder eine Kombination aus diesen (Aimo et al., 2019).

Vor allem Patienten mit einer HFrEF werden für gewöhnlich einer Bildgebung unterzogen, um ein LV-Remodeling festzustellen. Dies geschieht häufig durch wiederholte Echokardiographien. Es bestehen derzeit keine Leitlinien, wie oft diese

Untersuchungen durchgeführt werden müssen und wie man das Fortschreiten des negativen Umbaus des linken Ventrikels vorhersagen kann. Zuverlässige Prädiktoren für LV-Remodeling und umgekehrtes Remodeling würden die Möglichkeit bieten, Patienten in individualisierter Form mit maßgeschneiderter Nachsorge, sowie rascher Therapieeskalation behandeln zu können. Insbesondere jene Personen mit höherem Risiko für progressive linksventrikuläre Dilatation und LV-EF-Rückgang würden davon profitieren (Aimo et al., 2019).

Durch die direkte Assoziation mit dem Outcome der Patienten ist ein besseres Verständnis von kardialen Umbauprozessen notwendig. Es ermöglicht unter Umständen eine Nutzung als Endpunkt für klinische Studien einer neuen Herzinsuffizienztherapie. Es lohnt sich möglicherweise auch im Hinblick auf den Endpunkt von Medikamenten- oder Gerätestudien, sich anstelle der üblichen klinischen Endpunkte wie Mortalität und Morbidität am Remodeling zu orientieren und so eine schnellere Entwicklung neuer Therapien für Patienten mit Herzinsuffizienz zu entwickeln.

Eine größere Studie mit einer Dauer von 24 Monaten von Wilcox et al. schloss im Jahr 2013 knapp 4000 Individuen mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion kleiner 35 % in der transthorakalen Echokardiographie ein und definierte Reverse Remodeling als eine Steigerung der LV-EF ab zehn Prozent unter begonnener Herzinsuffizienztherapie (Wilcox et al., 2012).

Chung et al. untersuchte knapp 500 Individuen mit Herzinsuffizienz, die mittels kardialer Resynchronisationstherapie behandelt wurden. Ein Reverse Remodeling lag bei Reduktion des LV-ESV-Index um mindestens 15 % binnen sechs Monaten vor (Chung et al., 2008).

2017 untersuchte Fouquet et al. 62 Individuen mit einer Aortenklappenstenose ohne Vorliegen einer koronaren Herzkrankheit sechs Monate nach Aortenklappenimplantation bezüglich einer Verringerung der linksventrikulären Muskelmasse in der kardialen Magnetresonanztomographie als Definition von umgekehrtem Remodeling (Fouquet et al., 2017).

### 4.3 Therapeutische Bedeutung

Die bei Umbauprozessen entstehende Fibrose des Myokards stellt einen zentralen Aspekt in der Entwicklung einer Herzinsuffizienz dar (Villarreal, 2005; Zile et al., 2015). Die Ausbreitung und Verteilung der Fibrose ist dabei hauptsächlich abhängig vom Kollagenstoffwechsel. Die Kollagensynthese durch Fibroblasten wird dabei durch verschiedene Faktoren, wie Aldosteron, lösliches Interleukin-1-Rezeptor-ähnliches Protein (sST-2), Galectin-3 oder TIMP-1 gefördert. Eine Erhöhung der sST-2, PINP und PIIINP erhöhen die Kollagensynthese und eine gesteigerte Produktion von MMP-2, MMP-9 und erniedrigte TIMP-1 Spiegel senken den Kollagenabbau. Beides trägt zur Entstehung einer Fibrose bei. TIMP's, vor allem TIMP-1 inhibiert die MMP's (Zile et al., 2015). Zile et. al zeigten in einer 2019 erschienen Studie, den Einfluss von Biomarkern bei Mechanismen der ECM-Homöostase. Diese ließen sich vor allem bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz nachweisen und spiegelten eine Verstärkung von profibrotischen Signalen wider. Sie ermöglichen damit, angepasst an klinische und demographische Parameter und andere Biomarker wie natriuretische Peptide und Troponin, einen guten Vorhersagewert zu liefern (Zile et al., 2019).

Es zeigte sich, dass Patienten mit HFrEF erhöhte Spiegel von Aldosteron, sST-2, Gal-3, Metalloproteinase-Inhibitor-1 (TIMP-1), N-terminales Prokollagen-I-Propeptid (PINP), sowie N-terminales N-terminales Prokollagen-III-Propeptid (PIIINP) aufwiesen. Die Werte für Matrixmetalloproteinase-2 und -9, die an der Kollagenprozessierung und am Abbau beteiligt sind, waren dagegen erniedrigt (Zile et al., 2019).

Mittels medikamentöser Therapie mit Sacubitril/Valsartan ließen sich die Werte für Aldosteron, sST-2, Matrixmetalloproteinase-9 (MMP-9), TIMP-1 und PINP und so auch letztlich die profibrotische Signalgebung verglichen mit einer Behandlung mit Enalapril signifikant senken. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede für MMP-2, Galectin-3 und PIIINP. Durch die medikamentöse Verringerung des profibrotischen Signalweges in Kombination mit der Bestimmung von Biomarkern, die die ECM-Homöostase und die Kollagensynthese widerspiegeln, könnte dies die Prognose eines Patienten maßgeblich verbessern. Bislang ist es nicht möglich, das Kollagenvolumen über im Blut zirkulierende Biomarker zu bestimmen, aber es lassen sich Veränderungen in der Zusammensetzung der Homöostase der ECM reflektieren (Zile et al., 2019).

Grundsätzlich zeigt sich, je dysfunktionaler oder dilatierter ein Ventrikel ist, desto leichter kann eine Änderung im Sinne eines umgekehrten Remodelings durch eine adäquate Therapie erfolgen (Aimo et al., 2019; Lupón et al., 2015).

Eine umfassende Betrachtung des Zusammenwirkens verschiedener Biomarker ist notwendig um ein Verständnis für die Entstehung und Beeinflussung von Fibrose zu gewinnen. Viele der Prognosemodelle von Biomarkern wurden bei Patienten mit einer HFrEF entwickelt. Die Behandlung mit Sacubitril/Valsartan senkte die NT-proBNP und hsTnT-Spiegel, aber hatte keinen Einfluss auf den Growth/Differentiation-Factor (GDF-15). Diese Effekte waren unabhängig von Änderungen der Parameter BNP, NT-proBNP, und hsTnT. Einzig die Gabe von Spironolacton und Eplerenon senkte PIIINP-Spiegel und veränderte damit die profibrotischen Biomarker (Zile et al., 2019).

Matrixmetalloproteinase-1 (MMP-1) und N-terminales Propeptid von Kollagen III (PIIINP) wurden als Biomarker identifiziert, die die Homöostase der extrazellulären Matrix (ECM) bei Patienten mit Herzinsuffizienz und reduzierter linksventrikulärer Auswurfraction reflektierten und mit der Prognose und dem Therapieansprechen auf Mineralocorticoid-Rezeptor-Antagonisten (MRA) und einer kardialen Resynchronisationstherapie korreliert waren (Zile et al., 2019).

Patienten mit einer nicht ischämisch bedingten Kardiomyopathie weisen in der Regel eine geringere Ausbreitung der myokardialen Fibrose auf, als Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie. Auch das Therapieansprechen ist bei der nichtischämischen Form günstiger (Koitabashi & Kass, 2012) vor allem bei Beseitigung der zugrunde liegenden Ursache (Merlo et al., 2018). Hauptsächlich Patienten mit genetisch bedingter Dilatativer Kardiomyopathie und Mutationen im Titin-Gen haben eine höhere Wahrscheinlichkeit unter optimaler medikamentöser Therapie ein umgekehrtes Remodeling zu erreichen (Dal Ferro et al., 2017).

Ob die medikamentöse Therapie erfolgreich ist, kann neben der Kontrolle klinischer Parameter auch über Messungen der Größe und Funktion des linken Ventrikels erfolgen. Verbessern diese sich, spricht dies für ein Fortführen der Behandlung. Die Therapie mit Beta-Blockern ist assoziiert mit einem Dosis-abhängigen Effekt auf das umgekehrte Remodeling (Lupón et al., 2015). Derzeit fehlen allerdings noch Daten über den Zusammenhang zwischen umgekehrtem Remodeling und Angiotensin

Rezeptor/Nepriylisin-Inhibitoren (ARNI). Auch Patienten, die mittels kardialer Resynchronisationstherapie behandelt wurden, erlebten teilweise eine Erholung des linken Ventrikels, teils mit einer Steigerung der linksventrikulären Auswurffraktion von mehr als 14,5 % (Aimo et al., 2019).

Die Ergebnisse der oben aufgeführten Studien waren gut vergleichbar mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Erhöhte Messwerte von CCN1 im Serum der Patienten waren signifikant mit Umbauprozessen des linken Ventrikels assoziiert.

#### 4.4 Limitationen und Stärken

Nicht alle für die Messung ausgewählten Proben waren in den Freezern vorhanden und konnten bestimmt werden. Es lagen lediglich für 152 Patienten alle Kardio-MRT Parameter vor. Alle Probanden ohne vollständigen Kardio-MRT-Datensatz wurden exkludiert. Die Gruppengröße der drei Untergruppen war unterschiedlich, wobei die gesunde Kontrolle die größte und gleichzeitig die Gruppe mit dem kleinsten Altersdurchschnitt darstellte. Des Weiteren befanden sich in allen drei Untergruppen Akuter Myokardinfarkt, Dilatative Kardiomyopathie und gesunder Kontrolle insgesamt mehr Männer als Frauen.

Als weitere mögliche Fehlerquelle dieser Arbeit ist neben Alters- und Geschlechterverteilung auch die Gesamtgröße der Kohorte zu nennen. Hierbei handelt es sich allerdings um ein Pilotprojekt, das weitere Untersuchungen zu dem Biomarker CCN1 mit größeren Patientenzahlen anstoßen soll.

Eine Stärke der Arbeit waren die strengen Kriterien, die für die Bestimmung von LV-Remodeling angesetzt wurden. Die Serumproben der Patienten wurden unter standardisierten Bedingungen entnommen und unter kurzer Transportzeit ohne Unterbrechung der Kühlkette gelagert.

Anhand der oben aufgeführten Fülle an Definition für Umbauprozesse des linken Ventrikels und der Breite von verwendeten Parametern wäre eine Standardisierung der Beschreibung für LV-Remodeling günstig. Auch eine Klassifizierung in beispielsweise Stadien könnte den klinischen Umgang erleichtern.

## 5. Ausblick

Die Untersuchungen dieser Arbeit haben erstmals eine Assoziation des neuen Biomarkers CCN1 in der Diagnostik des LV-Remodelings gezeigt. Zunächst sind Validierungsstudien mit größeren Fallzahlen in einer homogenen Patientenpopulation mit dem neuen Biomarker CCN1 nötig. Eine prospektiv angelegte Studie mit seriellen MRT-Messdaten und Blutabnahmen zur Biomarkerbestimmung nach einem akuten Myokardinfarkt könnte eine geeignete Kohorte darstellen.

Weitere Untersuchungen, die das Verständnis für Prozesse der extrazellulären Matrix, deren Proteine und Signalgebung fördern, könnten mehr Einblicke auf Zellebene ermöglichen. Auch anschließende Studien, die das Wissen über Ursachen und Entstehung von Umbauprozessen im Herzen erweitern, liefern nützliche Erkenntnisse. Ein möglicher Einfluss der linksventrikulären Auswurffraktion auf gemessene CCN1-Werte sollte genauer untersucht werden.

Damit ließen sich die Diagnostik und möglicherweise auch die Behandlung individueller gestalten und das Outcome von Patienten mit einer Herzerkrankung verbessern. Hierzu sind Proteomics-Studien zu CCN1 und zugehörigen Signalkaskaden aus Serum von Patienten mit Dilatativer Kardiomyopathie geplant.

## 6. Zusammenfassung

### 6.1. Hintergrund

LV-Remodeling ist durch matrizellulären Umsatz, Entzündung und Fibrose gekennzeichnet und lässt sich mittels kardialer Magnetresonanztomographie (cMRT) nachweisen. Ein zirkulierender Biomarker, der das LV-Remodeling widerspiegelt, stellt einen bisher ungedeckten medizinischen Bedarf dar mit dem Ziel, das Monitoring der Patienten zu verbessern und die Therapien individueller gestalten zu können. Cellular Communication Network Factor 1 (CCN1) ist ein sezerniertes matrizelluläres Protein. Kürzlich wurde gezeigt, dass die herzspezifische Expression von CCN1 eine vorzeitige Seneszenz in Myofibroblasten auslöst, was zu einer deutlichen Verringerung der Fibrose führt. Eine erhöhte Expression von CCN1 in Kardiomyozyten wurde bei Patienten nach einem Myokardinfarkt mit kardialem Remodeling festgestellt. Wir haben Cellular Communication Network Factor 1 bereits als zirkulierenden Biomarker für akute Myokardschäden identifiziert, der eine bessere Risikostratifizierung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom ermöglicht.

### 6.2 Methoden

Klinische und demografische Parameter von Patienten mit akutem Myokardinfarkt, Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie und gesunden Kontrollpersonen wurden mit MRT-Datensätzen und CCN1-Serumspiegel assoziiert. LV-Remodeling wurde definiert als das Vorhandensein von dreifach pathologisch erhöhten Werten für 1) LVESV-Index (Frauen 11,9-20,7 ml/m<sup>2</sup>, Männer 12,75-30 ml/m<sup>2</sup>), 2) LVEDV-Index (Frauen 41-81 ml/m<sup>2</sup>, Männer 47-92 ml/m<sup>2</sup>) und 3) pathologisch erhöhte T1-Spin-Zeit (Cut-off Frauen >1200 ms, Männer >1180 ms). Die klinischen Merkmale wurden als Mittelwerte mit Standardabweichung und p-Werten für kontinuierliche Variablen bestimmt. Die CCN1-Konzentration wurde verblindet aus Doppelmessungen von Serumaliquots und mittels ELISA bestimmt.

### 6.3 Ergebnisse

Für 152 Personen (62,5 % männlich, Median 57,6 Jahre) lagen umfassende MRT-Datensätze und CCN1-Werte vor. Insgesamt wurden 36 Individuen mit akutem Myokardinfarkt (AMI), 47 mit dilatativer Kardiomyopathie (DCM) und 69 gesunde Personen in die Studie aufgenommen, sodass 17 von 152 Patienten die MRT-Kriterien für ein stattgehabtes LV-Remodeling aufwiesen. Die CCN1-Konzentration war bei Personen mit LV-Remodeling 383,4 [334,3-558,8] pg/mL im Vergleich zu Personen ohne LV-Remodeling 300,0 [246,2-384,6] pg/mL erhöht ( $p=0,02$ ). Unter den Kovariablen mit potenziellem Einfluss auf LV-Remodeling (ja versus nein), war die linksventrikuläre Auswurffraktion (35 (IQR 27-38) % versus 56 (IQR 47,3-62) %,  $p<0,001$ ) der einzige Parameter mit einem signifikanten Unterschied. CCN1 war in der Lage, LV-Remodeling mit einer Area Under the Receiver Operator Characteristic Curve (AUROC) von 0,67 (0,52-0,82) zu unterscheiden. Basierend auf einem Cut-off-Wert von 334,3 pg/mL, sagte CCN1 das LV-Remodeling mit einer Odds Ratio (95 % Konfidenzintervall) von 3,7 (1,07; 12,86) ( $p=0,039$ ) pro Standardabweichung voraus, bereinigt um die linksventrikuläre Ejektionsfraktion.

### 6.4 Schlussfolgerung

In dieser Pilotstudie konnte erstmals ein Zusammenhang zwischen dem CCN1-Serumspiegel und den linksventrikulären Umbauprozessen gezeigt werden, der weitere Untersuchungen rechtfertigt.

Zukünftige Studien werden das Potential des neuen Biomarkers CCN1 in der Diagnose des LV-Remodelings anhand größerer Validierungskohorten untersuchen.

## 7. Summary

### 7.1 Background

Left ventricular (LV) remodeling is characterized by matricellular turnover, inflammation and fibrosis and is detected using cardiac magnetic resonance imaging (MRI). A circulating biomarker that reflects LV remodeling constitutes an unmet medical need with the aim to improve monitoring of patients and customize therapies. Cellular Communication Network Factor 1 (CCN1) is a secreted matricellular protein. Cardiac-specific expression of CCN1 was recently shown to induce premature senescence in myofibroblasts resulting in marked reduction of fibrosis. Increased CCN1 expression in cardiomyocytes was detected in patients after myocardial infarction with cardiac remodeling. We previously identified CCN1 as a circulating biomarker of acute myocardial injury enabling better risk stratification of patients with acute coronary syndromes.

### 7.2 Methods

Clinical and demographic parameters of patients with acute myocardial infarction, patients with dilated cardiomyopathy, and healthy controls were associated with MRI datasets and serum CCN1 levels. LV remodeling was defined as the presence of three-fold pathologically increased values for 1) LVESV index (women 11,9-20,7 ml/m<sup>2</sup>, men 12,75-30 ml/m<sup>2</sup>), 2) LVEDV index (women 41-81 ml/m<sup>2</sup>, men 47-92 ml/m<sup>2</sup>), and 3) pathologically increased T1 spin time (cut-off women >1200 ms, men >1180 ms). Clinical characteristics were determined as means with standard deviation and p-values for continuous variables. The concentration of CCN1 was determined in a blinded manner from duplicate measurements of serum aliquots by ELISA.

### 7.3 Results

Comprehensive MRI results and CCN levels were available for 152 individuals (62,5% male, median 57,6 years). A total of 36 patients with acute myocardial infarction (AMI), 47 with dilated cardiomyopathy (DCM), and 69 healthy individuals were included in the study yielding 17 of 152 patients with MRI criteria of LV remodeling. The concentration of CCN was elevated in individuals with LV remodeling 383,4 [334,3–558,8] pg/mL versus those without 300,0 [246,2–384,6] pg/mL ( $p=0,02$ ). Among covariates with potential associations with LV remodeling (yes versus no), left ventricular ejection fraction (35 (IQR 27–38) % versus 56 (IQR 47,3–62) %,  $p<0,001$ ) was the only parameter with a significant difference. CCN1 was able to discriminate LV remodeling with an Area under the Receiver Operator Characteristic Curve (AUROC) of 0,67 (0,52-0,82). Based on a cut-off of 334,3 pg/mL, CCN1 predicted LV remodeling with an odds ratio (95% Confidence Interval) of 3,7 (1,07; 12,86) ( $p=0,039$ ) per standard deviation increase adjusted for left ventricular ejection fraction.

### 7.4 Conclusion

In this pilot study serum CCN1 levels associate with left ventricular remodeling, warranting further study.

Future studies will investigate the potential of the new biomarker CCN1 in the diagnosis of LV remodeling using larger validation cohorts.

## 8. Literaturverzeichnis:

- Aimo, A., Gaggin, H. K., Barison, A., Emdin, M., & Januzzi, J. L. (2019). Imaging, Biomarker, and Clinical Predictors of Cardiac Remodeling in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. *JACC: Heart Failure*, 7(9), 782–794.
- Anker, S. D., Butler, J., Filippatos, G., Ferreira, J. P., Bocchi, E., Böhm, M., Brunner–La Rocca, H.-P., Choi, D.-J., Chopra, V., Chuquiure-Valenzuela, E., Giannetti, N., Gomez-Mesa, J. E., Janssens, S., Januzzi, J. L., Gonzalez-Juanatey, J. R., Merkely, B., Nicholls, S. J., Perrone, S. V., Piña, I. L., Packer, M. (2021). Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine*, 385(16), 1451–1461.
- Armstrong, P., Pieske, B., & Anstrom, K. et al. (2020). Vericiguat in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine*, 382(20), 1883–1893.
- Barison, A., Aimo, A., Ortalda, A., Todiere, G., Grigoratos, C., Passino, C., Camici, P. G., Aquaro, G. D., & Emdin, M. (2018). Late gadolinium enhancement as a predictor of functional recovery, need for defibrillator implantation and prognosis in non-ischemic dilated cardiomyopathy. *International Journal of Cardiology*, 250, 195–200.
- Barison, A., Grigoratos, C., Todiere, G., & Aquaro, G. D. (2015). Myocardial interstitial remodelling in non-ischaeemic dilated cardiomyopathy: insights from cardiovascular magnetic resonance. *Heart Failure Reviews*, 20(6), 731–749.
- Bauersachs, J., Jaisser, F., & Toto, R. (2015). Mineralocorticoid receptor activation and mineralocorticoid receptor antagonist treatment in cardiac and renal diseases. *Hypertension*, 65(2), 257–263.
- Bertocchio, J. P., Warnock, D. G., & Jaisser, F. (2011). Mineralocorticoid receptor activation and blockade: An emerging paradigm in chronic kidney disease. *Kidney International*, 79(10), 1051–1060.
- Bhardwaj, A., Rehman, S. U., Mohammed, A., Baggish, A. L., Moore, S. A., & Januzzi, J. L. (2010). Design and methods of the Pro-B Type Natriuretic Peptide Outpatient

- Tailored Chronic Heart Failure Therapy (PROTECT) Study. *American Heart Journal*, 159(4), 532–538.
- Birks, E. J., Hall, J. L., Barton, P. J. R., Grindle, S., Latif, N., Hardy, J. P., Rider, J. E., Banner, N. R., Khaghani, A., Miller, L. W., & Yacoub, M. H. (2005). Gene profiling changes in cytoskeletal proteins during clinical recovery after left ventricular-assist device support. *Circulation*, 112, I57–I64.
- Campisi, J. (2013). Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annu Rev Physiol.*, 75, 685–705.
- Campisi, J., & D’Adda Di Fagagna, F. (2007). Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(9), 729–740.
- Castro, C. H. de, Santos, R. A. S. dos, Ferreira, A. J., Bader, M., Alenina, N., & Almeida, A. P. de. (2005). Evidence for a functional interaction of the angiotensin-(1-7) receptor Mas with AT1 and AT2 receptors in the mouse heart. *Hypertension*, 46(4), 937–942.
- Chen, C. C., & Lau, L. F. (2009). Functions and Mechanisms of Action of CCN Matricellular Proteins. *Int J Biochem Cell Biol.*, 41(4), 771–783.
- Chen, K., Mehta, J. L., Li, D., Joseph, L., & Joseph, J. (2004). Transforming growth factor  $\beta$  receptor endoglin is expressed in cardiac fibroblasts and modulates profibrogenic actions of angiotensin II. *Circulation Research*, 95(12), 1167–1173.
- Chung, E. S., Leon, A. R., Tavazzi, L., Sun, J. P., Nihoyannopoulos, P., Merlino, J., Abraham, W. T., Ghio, S., Leclercq, C., Bax, J. J., Yu, C. M., Gorcsan, J., Sutton, M. S. J., Sutter, J. De, & Murillo, J. (2008). Results of the Predictors of Response to CRT (PROSPECT) Trial. *Circulation*, 117(20), 2608–2616.
- Clelant, JGF, E. et al. (2005). The Effect of Cardiac Resynchronization on Morbidity and Mortality in Heart Failure. *New England Journal of Medicine*, 352(15), 1539–49.
- Cohn, J. N., Ferrari, R., & Sharpe, N. (2000). Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: A consensus paper from an International Forum on Cardiac Remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(3), 569–582.
- Dal Ferro, M., Stolfo, D., Altinier, A., Gigli, M., Perrieri, M., Ramani, F., Barbati, G., Pivetta, A., Brun, F., Monserrat, L., Giacca, M., Mestroni, L., Merlo, M., & Sinagra,

- G. (2017). Association between mutation status and left ventricular reverse remodelling in dilated cardiomyopathy. *Heart*, *103*(21), 1704–1710.
- Deten, A., Hölzl, A., Leicht, M., Barth, W., & Zimmer, H. G. (2001). Changes in extracellular matrix and in transforming growth factor beta isoforms after coronary artery ligation in rats. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *33*(6), 1191–1207.
- Deutsche Herzstiftung (Hg.), *Deutscher Herzbericht 2021*, Frankfurt am Main, Sept. 2022.
- DRG Instruments. (2012). *Users Manual Cyr61 ELISA EIA-5108* (Vol. 3, Issue 0).
- Felker, G. M., Anstrom, K. J., Adams, K. F., Ezekowitz, J. A., Fiuzat, M., Houston-Miller, N., Januzzi, J. L., Mark, D. B., Piña, I. L., Passmore, G., Whellan, D. J., Yang, H., Cooper, L. S., Leifer, E. S., Desvigne-Nickens, P., & O'Connor, C. M. (2017). Effect of natriuretic peptide-guided therapy on hospitalization or cardiovascular mortality in high-risk patients with heart failure and reduced ejection fraction: A randomized clinical trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *318*(8), 713–720.
- Fouquet, O., Baufreton, C., Tassin, A., Pinaud, F., Binuani, J. P., DangVan, S., Prunier, F., Rouleau, F., Willoteaux, S., De Brux, J. L., & Furber, A. (2017). Influence of stentless versus stented valves on ventricular remodeling assessed at 6 months by magnetic resonance imaging and long-term follow-up. *Journal of Cardiology*, *69*(1), 264–271.
- Fraccarollo, D., Galuppo, P., Hildemann, S., Christ, M., Ertl, G., & Bauersachs, J. (2003). Additive Improvement of Left Ventricular Remodeling and Neurohormonal Activation by Aldosterone Receptor Blockade with Eplerenone and ACE Inhibition in Rats with Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, *42*(9), 1666–1673.
- Frangogiannis, N. (2012). Matricellular Proteins in Cardiac Adaptation and Disease. *Physiol Rev.*, *92*(2), 635–688.
- Gaggin, H. K., Szymonifka, J., Bhardwaj, A., Belcher, A., De Berardinis, B., Motiwala, S., Wang, T. J., & Januzzi, J. L. (2014). Head-to-Head Comparison of Serial Soluble ST2, Growth Differentiation Factor-15, and Highly-Sensitive Troponin T

- Measurements in Patients With Chronic Heart Failure. *JACC: Heart Failure*, 2(1), 65–72.
- Gohar, A., Rutten, F. H., den Ruijter, H., Kelder, J. C., von Haehling, S., Anker, S. D., Möckel, M., & Hoes, A. W. (2019). Mid-regional pro-atrial natriuretic peptide for the early detection of non-acute heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 21(10), 1219–1227.
- Grobe, J. L., Mecca, A. P., Lingis, M., Shenoy, V., Bolton, T. A., Machado, J. M., Speth, R. C., Raizada, M. K., & Katovich, M. J. (2007). Prevention of angiotensin II-induced cardiac remodeling by angiotensin-(1-7). *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 292(2), 736–742.
- Groenning, B. A., Nilsson, J. C., & Sondergaard, L. (2000). Antiremodeling effects on the left ventricle during beta-blockage with metoprolol in the treatment of chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 36(7), 2072–2080.
- Hilfiker-Kleiner, D., Kaminski, K., Kaminska, A., Fuchs, M., Klein, G., Podewski, E., Grote, K., Kiian, I., Wollert, K. C., Hilfiker, A., & Drexler, H. (2004). Regulation of Proangiogenic Factor CCN1 in Cardiac Muscle: Impact of Ischemia, Pressure Overload, an Neurohumoral Activation. *Circulation*, 109(18), 2227–2233.
- Ishii, S., Inomata, T., Fujita, T., Iida, Y., Ikeda, Y., Nabeta, T., Yanagisawa, T., Naruke, T., Mizutani, T., Koitabashi, T., Takeuchi, I., & Ako, J. (2016). Clinical significance of endomyocardial biopsy in conjunction with cardiac magnetic resonance imaging to predict left ventricular reverse remodeling in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Heart Vessels*, 31(12), 1960–1968.
- Iwata, M., Cowling, R. T., Gurantz, D., Moore, C., Zhang, S., Yuan, J. X. J., & Greenberg, B. H. (2005). Angiotensin-(1-7) binds to specific receptors on cardiac fibroblasts to initiate antifibrotic and antitrophic effects. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 289(6 58-6), 2356–2364.
- Januzzi, J. L., Rehman, S. U., Mohammed, A. A., Bhardwaj, A., Barajas, L., Barajas, J., Kim, H. N., Baggish, A. L., Weiner, R. B., Chen-Tournoux, A., Marshall, J. E., Moore, S. A., Carlson, W. D., Lewis, G. D., Shin, J., Sullivan, D., Parks, K., Wang, T. J., Gregory, S. A., Semigran, M. J. (2011). Use of amino-terminal ProB-type natriuretic peptide to guide outpatient therapy of patients with chronic left

- ventricular systolic dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*, 58(18), 1881–1889.
- Jedsadayamata, A., Chen, C. C., Kireeva, M. L., Lau, L. F., & Lam, S. C. T. (1999). Activation-dependent adhesion of human platelets to Cyr61 and Fisp12/mouse connective tissue growth factor is mediated through integrin  $\alpha(\text{IIb})\beta 3$ . *Journal of Biological Chemistry*, 274(34), 24321–24327.
- Jun, J. Il, & Lau, L. F. (2010). The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing. *Nature Cell Biology*, 12(7), 676–685.
- Jun, J. Il, & Lau, L. F. (2013). Taking Aim at the Extracellular Matrix: CCN Proteins as Emerging Therapeutic Targets. In *Nat Rev Drug Discov.* (Vol. 10, Issue 12).
- Kagawa, Y., Toyofuku, M., Masaoka, Y., Muraoka, Y., Okimoto, T., Otsuka, M., Tamekiyo, H., Mito, S., Kawase, T., Yamane, K., Senoo, A., Amioka, M., Shiode, N., & Hayashi, Y. (2013). Comparison of heart-type fatty acid binding protein and sensitive troponin for the diagnosis of early acute myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*, 166(2), 347–351.
- Kawano, H., Do, Y. S., Kawano, Y., Starnes, V., Barr, M., Law, R. E., & Hsueh, W. A. (2000). Angiotensin II has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblasts. *Circulation*, 101(10), 1130–1137.
- Kawel-Boehm, N., Maceira, A., Valsangiacomo-Buechel, E. R., Vogel-Claussen, J., Turkbey, E. B., Williams, R., Plein, S., Tee, M., Eng, J., & Bluemke, D. A. (2015). Normal values for cardiovascular magnetic resonance in adults and children. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, 17(1), 1–33.
- Keller, T., & Hamm, C. W. (2019). High-sensitivity cardiac troponin assays: finally ready for prime time? *Nature Reviews Cardiology*, 16(3), 135–136.
- Kim, G. H., Uriel, N., & Burkhoff, D. (2018). Reverse remodelling and myocardial recovery in heart failure. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 15, Issue 2, pp. 83–96). Nature Publishing Group.
- Kim, K. H., Won, J. H., Cheng, N., & Lau, L. F. (2018). The matricellular protein CCN1 in tissue injury repair. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 12(1), 273–

279.

- Klingenberg, R., Aghlmandi, S., Liebetrau, C., Räber, L., Gencer, B., Nanchen, D., Carballo, D., Akhmedov, A., Montecucco, F., Zoller, S., Brokopp, C., Heg, D., Jüni, P., Marti Soler, H., Marques-Vidal, P. M., Vollenweider, P., Dörr, O., Rodondi, N., Mach, F., Lüscher, T. F. (2017). Cysteine-rich angiogenic inducer 61 (Cyr61): A novel soluble biomarker of acute myocardial injury improves risk stratification after acute coronary syndromes. *European Heart Journal*, *38*(47), 3493–3501.
- Klingenberg, R., Aghlmandi, S., Raber, L., Akhmedov, A., Gencer, B., Carballo, D., Nanchen, D., Bucher, H. C., Rodondi, N., Mach, F., Windecker, S., Landmesser, U., Von Eckardstein, A., Hamm, C. W., Luscher, T. F., & Matter, C. M. (2021). Cysteine-rich angiogenic inducer 61 improves prognostic accuracy of grace (Global registry of acute coronary events) 2.0 risk score in patients with acute coronary syndromes. *Journal of the American Heart Association*, *10*(20).
- Klingenberg, R., Aghlmandi, S., Räber, L., Gencer, B., Nanchen, D., Heg, D., Carballo, S., Rodondi, N., Mach, F., Windecker, S., Jüni, P., von Eckardstein, A., Matter, C. M., & Lüscher, T. F. (2018). Improved risk stratification of patients with acute coronary syndromes using a combination of hsTnT, NT-proBNP and hsCRP with the GRACE score. *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care*, *7*(2), 129–138.
- Klotz, S., Foronjy, R. F., Dickstein, M. L., Gu, A., Garrelds, I. M., Danser, J., Oz, M. C., D'Armiento, J., & Burkhoff, D. (2005). Mechanical unloading during left ventricular assist device support increases left ventricular collagen cross-linking and myocardial stiffness. *Circulation*, *112*(3), 364–374.
- Kobayashi, N., Hara, K., Tojo, A., Onozato, M. L., Honda, T., Yoshida, K., Mita, S. I., Nakano, S., Tsubokou, Y., & Matsuoka, H. (2005). Eplerenone shows renoprotective effect by reducing LOX-1-mediated adhesion molecule, PKC $\epsilon$ -MAPK-p90RSK, and Rho-kinase pathway. *Hypertension*, *45*(4), 538–544.
- Kodde, I. F., van der Stok, J., Smolenski, R. T., & de Jong, J. W. (2007). Metabolic and genetic regulation of cardiac energy substrate preference. *Comparative Biochemistry and Physiology*, *146*(1), 26–39.
- Koitaishi, N., & Kass, D. A. (2012). Reverse remodeling in heart failure-mechanisms

- and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Cardiology*, 9(3), 147–157.
- Krizhanovsky, V., Yon, M., Dickins, R. A., Hearn, S., Simon, J., Miething, C., Yee, H., Zender, L., & Lowe, S. W. (2008). Senescence of Activated Stellate Cells Limits Liver Fibrosis. *Cell*, 134(4), 657–667.
- Kuilman, T., & Peeper, D. S. (2009). Senescence-messaging secretome: SMS-ing cellular stress. *Nature Reviews Cancer*, 9(2), 81–94.
- Lau, L. F. (2011). CCN1/CYR61: The Very Model of a Modern Matricellular Protein. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(19), 3149–3163.
- Leask, A. (2015). Getting to the heart of the matter: New insights into cardiac fibrosis. *Circulation Research*, 116(7), 1269–1276.
- Lupón, J., Gaggin, H. K., De Antonio, M., Domingo, M., Galán, A., Zamora, E., Vila, J., Peñafiel, J., Urrutia, A., Ferrer, E., Vallejo, N., Januzzi, J. L., & Bayes-Genis, A. (2015). Biomarker-assist score for reverse remodeling prediction in heart failure: The ST2-R2 score. *International Journal of Cardiology*, 184(1), 337–343.
- Lupón, J., Gavidia-Bovadilla, G., Ferrer, E., de Antonio, M., Perera-Lluna, A., López-Ayerbe, J., Domingo, M., Núñez, J., Zamora, E., Moliner, P., Díaz-Ruata, P., Santesmases, J., & Bayés-Genís, A. (2018). Dynamic Trajectories of Left Ventricular Ejection Fraction in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(6), 591–601.
- Mahendiran, T., Klingenberg, R., Nanchen, D., Gencer, B., Meier, D., Räber, L., Carballo, D., Matter, C. M., Lüscher, T. F., Mach, F., Rodondi, N., Muller, O., & Fournier, S. (2021). CCN family member 1 (CCN1) is an early marker of infarct size and left ventricular dysfunction in STEMI patients. *Atherosclerosis*, 335(August), 77–83.
- Matsumae, H., Yoshida, Y., Ono, K., Togi, K., Inoue, K., Furukawa, Y., Nakashima, Y., Kojima, Y., Nobuyoshi, M., Kita, T., & Tanaka, M. (2008). CCN1 knockdown suppresses neointimal hyperplasia in a rat artery balloon injury model. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(6), 1077–1083.
- McDonagh, T. A., Metra, M., Adamo, M., Gardner, R. S., Baumbach, A., Böhm, M., Burri, H., Butler, J., Celutkiene, J., Chioncel, O., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., Crespo-Leiro, M. G., Farmakis, D., Gilard, M., & Heymans, S. (2021). 2021 ESC

- Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*, 42(36), 3599–3726.
- McMurray, J. J. V., Solomon, S. D., & Inzucchi, S. E. et al. (2019). Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine*, 381(21), 1995–2008.
- Mendes, A. C. R., Ferreira, A. J., Pinheiro, S. V. B., & Santos, R. A. S. (2005). Chronic infusion of angiotensin-(1-7) reduces heart angiotensin II levels in rats. *Regulatory Peptides*, 125(1–3), 29–34.
- Merlo, M., Caiffa, T., Gobbo, M., Adamo, L., & Sinagra, G. (2018). Reverse remodeling in Dilated Cardiomyopathy: Insights and future perspectives. *IJC Heart and Vasculature*, 18, 52–57.
- Messaoudi, S., Azibani, F., Delcayre, C., & Jaisser, F. (2012). Aldosterone, mineralocorticoid receptor, and heart failure. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 350(2), 266–272.
- Meyer, K., Hodwin, B., Ramanujam, D., Engelhardt, S., & Sarikas, A. (2016). Essential Role for Premature Senescence of Myofibroblasts in Myocardial Fibrosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 67(17), 2018–2028.
- Moritani, N. H., Kubota, S., Sugahara, T., & Takigawa, M. (2005). Comparable response of *ccn1* with *ccn2* genes upon arthritis: An in vitro evaluation with a human chondrocytic cell line stimulated by a set of cytokines. *Cell Communication and Signaling*, 3(1), 1–8.
- Muñoz-Espín, D., & Serrano, M. (2014). Cellular senescence: From physiology to pathology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(7), 482–496.
- Myhre, P. L., Omland, T., Sarvari, S. I., Ukkonen, H., Rademakers, F., Engvall, J. E., Hagve, T. A., Nagel, E., Sicari, R., Zamorano, J. L., Monaghan, M., D'hooge, J., Edvardsen, T., & Røsjø, H. (2018). Cardiac troponin T concentrations, reversible myocardial ischemia, and indices of left ventricular remodeling in patients with suspected stable angina pectoris: A DOPPLER-CIP substudy. *Clinical Chemistry*, 64(9), 1371–1379.
- Omland, T., & White, H. D. (2017). State of the art: Blood biomarkers for risk

- stratification in patients with stable ischemic heart disease. *Clinical Chemistry*, 63(1), 165–176.
- Packer, M., Anker, S. D., Butler, J., Filippatos, G., Pocock, S. J., Carson, P., Januzzi, J., Verma, S., Tsutsui, H., Brueckmann, M., Jamal, W., Kimura, K., Schnee, J., Zeller, C., Cotton, D., Bocchi, E., Böhm, M., Choi, D.-J., Chopra, V., Zannad, F. (2020). Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *New England Journal of Medicine*, 383(15), 1413–1424.
- Perna, E. R., Macín, S. M., Canella, J. P. C., Alvarenga, P. M., Pantich, R. E., Ríos, N. G., Cialzeta, J. R., Farías, E. F., Badaracco, J. R., Brizuela, M., Jantus, E., & Missov, E. D. (2004). High levels of troponin T are associated with ventricular remodeling and adverse in-hospital outcome in heart failure. *Medical Science Monitor*, 10(3), 90–95.
- Pfeffer, J. M., Pfeffer, M. A., Fletcher, P. J., & Braunwald, E. (1991). Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *American Journal of Physiology*, 260(5 Pt 2), 1406–1414.
- Pfeffer, M. A. (1994). Mechanistic lessons from the save study. *American Journal of Hypertension*, 7(9), 106S-111S.
- Pieske, B., Tschöpe, C., De Boer, R. A., Fraser, A. G., Anker, S. D., Donal, E., Edelmann, F., Fu, M., Guazzi, M., Lam, C. S. P., Lancellotti, P., Melenovsky, V., Morris, D. A., Nagel, E., Pieske-Kraigher, E., Ponikowski, P., Solomon, S. D., Vasan, R. S., Rutten, F. H., Filippatos, G. (2019). How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: The HFA-PEFF diagnostic algorithm: A consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 40(40), 3297–3317.
- Ponikowski, P., Voors, A. A., Anker, S. D., Bueno, H., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., Falk, V., González-Juanatey, J. R., Harjola, V. P., Jankowska, E. A., Jessup, M., Linde, C., Nihoyannopoulos, P., Parissis, J. T., Pieske, B., Riley, J. P., Rosano, G. M. C., Ruilope, L. M., Ruschitzka, F., Davies, C. (2016). 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*, 37(27), 2129–2200.
- Puelacher, C., Hillinger, P., Wagener, M., & Mueller, C. (2015). Kardiale Biomarker bei

- Myokardinfarkt und Herzinsuffizienz. *Journal Für Kardiologie*, 22(5–6), 124–128.
- R Foundation for Statistical Computing. (2022). (Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing.
- Rehman, S. U., Martinez-Rumayor, A., Mueller, T., & Januzzi, J. L. (2008). Independent and incremental prognostic value of multimarker testing in acute dyspnea: Results from the ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) study. *Clinica Chimica Acta*, 392(1–2), 41–45.
- Reiter, M., Twerenbold, R., Reichlin, T., Mueller, M., Hoeller, R., Moehring, B., Haaf, P., Wildi, K., Merk, S., Bernhard, D., Mueller, C. Z., Freese, M., Freidank, H., Botet, I. C., & Mueller, C. (2013). Heart-type fatty acid-binding protein in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Heart*, 99(10), 708–714.
- Rother, M., Krohn, S., Kania, G., Vanhoutte, D., Eisenreich, A., Wang, X., Westermann, D., Savvatis, K., Dannemann, N., Skurk, C., Hilfiker-Kleiner, D., Cathomen, T., Fechner, H., Rauch, U., Schultheiss, H. P., Heymans, S., Eriksson, U., Scheibebogen, C., & Poller, W. (2010). Matricellular signaling molecule CCN1 attenuates experimental autoimmune myocarditis by acting as a novel immune cell migration modulator. *Circulation*, 122(25), 2688–2698.
- Sakamuri, S. S. V. P., Takawale, A., Basu, R., Fedak, P. W. M., Freed, D., Sergi, C., Oudit, G. Y., & Kassiri, Z. (2016). Differential impact of mechanical unloading on structural and nonstructural components of the extracellular matrix in advanced human heart failure. *Translational Research*, 172(March), 30–44.
- Sanada, S., Hakuno, D., Higgins, L. J., Schreiter, E. R., McKenzie, A. N. J., & Lee, R. T. (2007). IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *Journal of Clinical Investigation*, 117(6), 1538–1549.
- Sanchez-Mas, J., Lax, A., Asensio-Lopez, M. C., Fernandez-Del Palacio, M. J., Caballero, L., Garrido, I. P., Pastor, F., Januzzi, J. L., & Pascual-Figal, D. A. (2014). Galectin-3 expression in cardiac remodeling after myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*, 172.
- Santos, R. A. S., Ferreira, A. J., Nadu, A. P., Braga, A. N. G., De Almeida, A. P., Campagnole-Santos, M. J., Baltatu, O., Iliescu, R., Reudelhuber, T. L., & Bader, M.

- (2004). Expression of an angiotensin-(1-7)-producing fusion protein produces cardioprotective effects in rats. *Physiological Genomics*, *17*, 292–299.
- Saraon, T., & Katz, S. D. (2015). Reverse Remodeling in Systolic Heart Failure. *Cardiology in Review*, *23*(4), 173–181.
- Sawai, K., Mori, K., Mukoyama, M., Sugawara, A., Suganami, T., Koshikawa, M., Yahata, K., Makino, H., Nagae, T., Fujinaga, Y., Yokoi, H., Yoshioka, T., Yoshimoto, A., Tanaka, I., & Nakao, K. (2003). Angiogenic protein Cyr61 is expressed by podocytes in anti-Thy-1 glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology*, *14*(5), 1154–1163.
- Sharma, U. C., Pokharel, S., Van Brakel, T. J., Van Berlo, J. H., Cleutjens, J. P. M., Schroen, B., André, S., Crijns, H. J. G. M., Gabius, H. J., Maessen, J., & Pinto, Y. M. (2004). Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*, *110*(19), 3121–3128.
- Solomon, S. D., McMurray, J. J. V., Claggett, B., de Boer, R. A., DeMets, D., Hernandez, A. F., Inzucchi, S. E., Kosiborod, M. N., Lam, C. S. P., Martinez, F., Shah, S. J., Desai, A. S., Jhund, P. S., Belohlavek, J., Chiang, C.-E., Borleffs, C. J. W., Comin-Colet, J., Dobreanu, D., Drozdz, J., Langkilde, A. M. (2022). Dapagliflozin in Heart Failure with Mildly Reduced or Preserved Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine*, *387*(12), 1089–1098.
- Spinale, F. G. (2007). Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: Influence on cardiac form and function. *Physiological Reviews*, *87*(4), 1285–1342.
- Swedberg, K., Komajda, M., Böhm, M., Borer, J. S., Ford, I., Dubost-Brama, A., Lerebours, G., & Tavazzi, L. (2010). Ivabradine and outcomes in chronic heart failure (SHIFT): A randomised placebo-controlled study. *The Lancet*, *376*(9744), 875–885.
- Takawale, A., Sakamuri, S. S. V. P., & Kassiri, Z. (2015). Extracellular matrix communication and turnover in cardiac physiology and pathology. *Comprehensive Physiology*, *5*(2), 687–719.
- Tallant, E. A., & Clark, M. A. (2003). Molecular mechanisms of inhibition of vascular growth by angiotensin-(1-7). *Hypertension*, *42*(4), 574–579.

- Taylor, A., Ziesche, S., & Yancy, C. et al. (2004). Combination of Isosorbide Dinitrate and Hydralazine in Blacks with Heart Failure. *New England Journal of Medicine*, 351(20), 2049–2057.
- Thi, M. M., Jacobas, D. A., Jacobas, S., & Spray, D. C. (2007). Fluid shear stress upregulates vascular endothelial growth factor gene expression in osteoblasts. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1117, 73–81.
- Topkara, V. K., Chambers, K. T., Yang, K. C., Tzeng, H. P., Evans, S., Weinheimer, C., Kovacs, A., Robbins, J., Barger, P., & Mann, D. L. (2016). Functional significance of the discordance between transcriptional profile and left ventricular structure/function during reverse remodeling. *JCI Insight*, 1(4).
- Valiente-Alandi, I., Schafer, A. E., & Blaxall, B. C. (2016). Extracellular matrix-mediated cellular communication in the heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 91, 228–237.
- Villarreal, F. (2005). Interstitial Fibrosis in Heart Failure. In *Springer Science*.
- Weir, R. A. P., Miller, A. M., Murphy, G. E. J., Clements, S., Steedman, T., Connell, J. M. C., McInnes, I. B., Dargie, H. J., & McMurray, J. J. V. (2010). Serum Soluble ST2. A Potential Novel Mediator in Left Ventricular and Infarct Remodeling After Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(3), 243–250.
- Wilcox, J. E., Fonarow, G. C., Yancy, C. W., Albert, N. M., Curtis, A. B., Heywood, J. T., Inge, P. J., McBride, M. L., Mehra, M. R., O'Connor, C. M., Reynolds, D., Walsh, M. N., & Gheorghide, M. (2012). Factors associated with improvement in ejection fraction in clinical practice among patients with heart failure: Findings from IMPROVE HF. *American Heart Journal*, 163(1), 49-56.e2.
- Wolf, N., Yang, W., Dunk, C. E., Gashaw, I., Lye, S. J., Ring, T., Schmidt, M., Winterhager, E., & Gellhaus, A. (2010). Regulation of the matricellular proteins CYR61 (CCN1) and NOV (CCN3) by hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and transforming-growth factor- $\beta$ 3 in the human trophoblast. *Endocrinology*, 151(6), 2835–2845.
- Yu, C. M., Tipoe, G. L., Wing-Hon Lai, K., & Lau, C. P. (2001). Effects of combination of angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin receptor antagonist on

- inflammatory cellular infiltration and myocardial interstitial fibrosis after acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 38(4), 1207–1215.
- Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., McQueen, M., Budaj, A., Pais, P., Varigos, J., Lisheng, L., & INTERHEART Study Investigators. (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*, 364(9438), 937–952.
- Zannad, F., Gattis Stough, W., Rossignol, P., Bauersachs, J., McMurray, J. J. V., Swedberg, K., Struthers, A. D., Voors, A. A., Ruilope, L. M., Bakris, G. L., O'Connor, C. M., Gheorghiade, M., Mentz, R. J., Cohen-Solal, A., Maggioni, A. P., Beygui, F., Filippatos, G. S., Massy, Z. A., Pathak, A., Pitt, B. (2012). Mineralocorticoid receptor antagonists for heart failure with reduced ejection fraction: Integrating evidence into clinical practice. *European Heart Journal*, 33(22), 2782–2795.
- Zhao, X., Ding, E., & Yu, O. et al. (2014). Induction of the matricellular protein CCN1 through RhoA and MRTF-A contributes to ischemic cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol.*, 75, 152–161.
- Ziff, O. J., Lane, D. A., Samra, M., Griffith, M., Kirchhof, P., Lip, G. Y. H., Steeds, R. P., Townend, J., & Kotecha, D. (2015). Safety and efficacy of digoxin: systematic review and meta-analysis of observational and controlled trial data. *BMJ*, 351, h4451.
- Zile, M. R., Baicu, C. F., Ikonomidis, J. S., Stroud, R. E., Nietert, P. J., Bradshaw, A. D., Slater, R., Palmer, B. M., Van Buren, P., Meyer, M., Redfield, M. M., Bull, D. A., Granzier, H. L., & LeWinter, M. M. (2015). Myocardial stiffness in patients with heart failure and a preserved ejection fraction contributions of collagen and titin. In *Circulation* (Vol. 131, Issue 14).
- Zile, M. R., O'Meara, E., Claggett, B., Prescott, M. F., Solomon, S. D., Swedberg, K., Packer, M., McMurray, J. J. V., Shi, V., Lefkowitz, M., & Rouleau, J. (2019). Effects of Sacubitril/Valsartan on Biomarkers of Extracellular Matrix Regulation in Patients With HFrEF. *Journal of the American College of Cardiology*, 73(7), 795–806.

## 9. Publikationsverzeichnis

DKG Abstract (2019)

Klingenberg R, Hupach L, Gruen D, Elsner L, Bormann J, Vietheer J, Unbehaun C, Troidl C, Liebetrau C, Hamm CW, Rolf A, Keller T (2019). Cysteine-rich angiogenic inducer 61 (Cyr61, CCN1) in serum is associated with left ventricular remodeling.

## 10. Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig 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 und datenschutzrechtliche 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

## 11. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. med. Roland Klingenberg, meinem Betreuer, der mir in allen Phasen dieser Dissertation mit Rat und Tat zur Seite stand. Er hat mit seiner fachlichen Expertise und mentalen Unterstützung manche Schreibkrise überbrückt und wesentlich zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen. Der konstruktive Austausch und die ermutigenden Gespräche werden mir in Erinnerung bleiben.

Tief verbunden und dankbar bin ich meinen Eltern Ralph und Kerstin Hupach, sowie meinen Großeltern Karl-Friedrich und Sabine Ludwig für den bedingungslosen Rückhalt von Anfang an. Ihre ehrlichen Worte möchte ich nicht missen.