

**Untersuchung zur diagnostischen Akkuratheit
neuer Biomarker in der Kombination
für die Pulmonale Hypertonie**

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

vorgelegt von Roger Quirino Eichert
aus Wiesbaden

Gießen 2020

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
Medizinische Klinik II

Gutachter: Prof. Dr. Dr. Henning Gall

Gutachter: Prof. Dr. Till Keller

Tag der Disputation: 04.11.2021

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Pulmonale Hypertonie.....	1
1.2	Klassifikation	2
1.3	Diagnostik	2
1.3.1	Rechtsherzechokardiografie	4
1.3.2	Lungenfunktionsuntersuchungen	5
1.3.3	Sechs-Minuten-Gehtest	6
1.3.4	Spiroergometrie	6
1.3.5	Computertomografie	7
1.3.6	Kardio-Magnetresonanztomografie (cMRT).....	7
1.3.7	Blutgasanalyse.....	8
1.3.8	DETECT Algorithmus.....	8
1.4	Vorstellung der neuen Biomarker	9
1.4.1	Angiopoietin 2.....	10
1.4.2	Thrombomodulin.....	11
1.4.3	Growth Differentiation Factor 15.....	12
1.4.4	Monocyte Chemoattractant Protein 1	14
1.4.5	Matrixmetalloproteinasen 2 & 9, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases 1 & 4 .	14
1.4.6	Brain-type Natriuretic Peptide	16
1.4.7	Activin A	17
1.4.8	Endoglin	17
1.4.9	YKL40.....	19
1.4.10	Harnsäure	20
2	Fragestellung	21
3	Methodik	22
4	Ergebnisse	25

4.1	Charakteristik der untersuchten Proben	25
4.1.1	Vergleich PH-Gruppen und Exklusion	26
4.2	Verteilung der Biomarker	28
4.2.1	Vergleich Biomarker-Konzentrationen Exklusion – Pulmonale Hypertonie	28
4.3	Vergleich Pulmonale Hypertonie-Gruppen und Exklusion	30
4.4	Bestimmung der optimalen Cut-off Werte	32
4.5	Kombination der Biomarker.....	33
5	Diskussion	35
5.1	Zusammenhang Biomarker – Pulmonale Hypertonie	36
5.1.1	Angiopoietin 2.....	36
5.1.2	Activin A	40
5.1.3	Angiopoietin 2 und Activin A	41
5.1.4	Bezug zur Pathophysiologie der Pulmonalen Hypertonie.....	42
5.2	Interpretation der Ergebnisse.....	45
5.2.1	„Hausarzt-Setting“	47
5.2.2	Setting „Risikostratifizierung“	49
5.3	Limitation	51
5.4	Ausblick	56
6	Zusammenfassung	62
7	Abstract	63
8	Abkürzungsverzeichnis	64
9	Quellenverzeichnis	65
10	Ehrenwörtliche Erklärung	83
11	Danksagung.....	84
12	Lebenslauf.....	85

1 Einleitung

1.1 Pulmonale Hypertonie

Die Pulmonale Hypertonie ist eine aus unterschiedlichen Ätiologien hervorgehende Erkrankung mit entsprechend facettenreicher Pathogenese⁴³ und unter Umständen auch bei adäquater Behandlung schlechter Prognose.¹¹¹ Die Diagnose wird durch einen pulmonalarteriellen Mitteldruck von mindestens 25 mmHg invasiv mittels Rechtsherzkatheter gestellt.⁴³ Kennzeichnend für diese Erkrankung ist ein Remodeling der Pulmonalgefäße, bei der aufgrund der entstehenden endothelialen Dysfunktion die Sensibilität für vasodilatative Stoffe wie Stickstoffmonoxid abnimmt.¹⁹ Zusätzlich tritt eine durch Proliferation der Zellen in der Tunica Media und Adventitia bedingte Vasokonstriktion auf, welche zusammen mit gehäuft entstehenden thrombotischen Ereignissen verantwortlich für die Erhöhung des pulmonalvaskulären Widerstandes ist.⁶⁵ Letzten Endes resultiert auf Grund der gesteigerten Nachlast eine zunehmende Belastung des rechten Ventrikels, welcher im Vergleich zur linken Seite als muskelschwächeres Organ nicht in der Lage der langfristigen angemessenen Kompensation ist.¹⁵⁹ Zu Beginn offenbart sich die Erkrankung mit unauffälligen unspezifischen klinischen Anzeichen der Rechtsherzinsuffizienz wie Dyspnoe, periphere Ödeme und Synkopen.⁴³ In ihrem progredientem Verlauf kommt es mit Hypertrophie des rechten Ventrikels zur Ausprägung des chronischen Cor pulmonale, die mit der Gefahr eines Herzversagens die schlechte Prognose bestimmt.¹⁵⁹

Daten aus Großbritannien als Beispiel für einen westlichen Industriestaat weisen für die Pulmonale Hypertonie eine Prävalenz von 97 pro 1000000 Einwohner auf, wobei der größte Anteil von der durch Linksherzerkrankung hervorgerufenen Form gestellt wird.⁴³ Für die pulmonalarterielle Hypertonie und dessen idiopathischer Form liegen die kleinsten erfassten Prävalenzen bei 15 beziehungsweise 5,9 Erkrankten pro Millionen.⁴³ Außer den unspezifischen klinischen Symptomen konnte sich bis heute noch kein nicht-invasiver diagnostischer Test mit ausreichender Spezifität zur Früherkennung der Pulmonalen Hypertonie etablieren.⁴³ Diverse neu erkannte Biomarker werden noch auf ihre Aussagekraft hinsichtlich dieser Erkrankung überprüft.⁴¹ Deswegen gilt es, die diagnostische Akkuratheit dieser neuen diagnostischen Biomarker und bekannter klinischer Parameter in ihrer Kombination zu untersuchen.

1.2 Klassifikation

Tabelle 1 stellt die Einteilung der Pulmonalen Hypertonie anhand ihrer Ähnlichkeiten in ihrem klinischen Erscheinen, den Behandlungsmöglichkeiten und ihrer Pathologie in 5 Gruppen dar. Unterschieden werden diese Gruppen zusätzlich in eine prä- oder postkapilläre (Gruppe 2) Form.⁴³

Tabelle 1 Einteilung der Pulmonalen Hypertonie anhand ihrer pathogenetischen Genese

1. Pulmonal Arterielle Hypertonie
1'. Pulmonal-veno-okklusive Erkrankung oder Pulmonale kapilläre Hämangiomatose
2. Pulmonale Hypertonie durch Linksherzerkrankungen
3. Pulmonale Hypertonie durch Lungenerkrankungen
4. CTEPH und andere Gefäßverengende Erkrankungen der Pulmonalarterien
5. PH mit unklarem oder multifaktoriellem Mechanismus

1.3 Diagnostik

Aufgrund der unspezifischen klinischen Symptome wird die Pulmonale Hypertonie oft erst spät erkannt.⁴ Das Elektrokardiogramm als Beispiel einer standardmäßigen klinischen Untersuchung weist Veränderungen erst mit höherer Wahrscheinlichkeit im schwerwiegenden Stadium der Erkrankung auf, zudem sind erkennbare Zeichen der rechtsventrikulären Hypertrophie im EKG mit einer Sensitivität von 55% und einer Spezifität von 70% unzuverlässig.⁴³ Bei 90% der Erstdiagnostizierten bestehen Veränderungen im Röntgenbild des Thorax wie beispielsweise die Dilatation der zentralen Pulmonalarterien mit einem Abbruch der peripheren Blutgefäße.^{43,76} Normalbefunde in diesen beiden routinemäßig durchgeführten Untersuchungen schließen eine PH jedoch nicht aus.⁴³ Sind andere für die Symptome verantwortlichen Lungenerkrankungen ausgeschlossen, können bei entstehendem Verdacht folgende weiterführende Untersuchungen absolviert werden.

Tabelle 2 zeigt die hierfür gängigen Untersuchungen mit ihrer jeweiligen Aussagekraft. Die Untersuchungen werden in ihrer jeweiligen Publikation mit einem anderen diagnostischen Verfahren verglichen.

Tabelle 2 Untersuchungen mit Sensitivität und Spezifität, jeweils in % und im Vergleich zu einer anderen diagnostischen Untersuchung.

Untersuchung	Wert	Sens.	Spez.	PPV	NPV	AUC	n	Quelle	Vgl
EKG	RVH	55	70					43,12	RHK
EKG + NT-proBNP + SO ₂ >95% + WHO Class I-II	RAD			93	97		394	77	RHK
Rechtsherz- echokardiografie	PASP >36 mmHg	87	79	91	70	0,91	1695	50	RHK
Tissue Doppler	TTP	68	68	79	56	0,746	60	110	RHK
Imaging (TDI)	RV IVRT	94,7	86,4	92,3	90,5	0,95	60	110	RHK
TTE + EKG + pro-NT-BNP	PASP (>36 mmHg), RVSP	100	19,3				121	12	RHK
Ventilations- Perfusions-Scan (bei CTEPH)		96- 97,4	90- 95				78	154	CTPA
LuFu (bei SSc)	DLCO+ SpO ₂	90,9	35,0			0,75	386	135	RHK
CPET	AT+ VE/VCO ₂ Slope	92,6	95			0,98	88	169	TTE
	P(c-ET)CO ₂ (bei CTEPH)	85,7	88,2				93	56	TTE
	Vd/Vt >45%	92	83			0,88	30	91	RHK
	AADO ₂ >32 mmHG	92	67			0,76	30	91	RHK
CT	MPAD>2,9 cm	93,9	62,1	82,9	83,7	0,93	172	32	RHK
	MPAD/AA >1	63,2	93,1	94,7	56,3	0,88	172	32	RHK
Kardio-MRT	VMI > 0,4	81	88	97	50	0,91	233	146	RHK
	IVSA+ VMI	87	90			0,96	64	145	RHK

DETECT	Abschnitt 1.3.8	85	72	47	94	0,881	319	²⁵	RHK
ESC Guideline	sPAP	71	69	40	89			^{43,25}	RHK

Tabelle 2 Sensitivitäten und Spezifitäten gängiger diagnostische Verfahren und Vergleich zur DETECT-Studie und der aktuellen europäischen Leitlinie.

RVH – Rechtsventrikuläre Hypertrophie, RAD – right axis deviation, PASP – Pulmonal arterial systolic pressure, TTP – time to peak, RV IVRT - right ventricular isovolumetric contraction time, DLCO – Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenstoffmonoxid, SO₂ – Sauerstoffsättigung, LuFu – Lungenfunktionsuntersuchung, CPET – Cardiopulmonary exercise testing, AT – aerobic capacity, VE/VCO₂ - ventilation/carbon dioxide output, Vd/Vt – Totraumvolumen, AaDO₂ - alveolo-arterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz, MPAD – main pulmonary artery diameter, VMI – ventricular mass index, IVSA – interventricular septal angle, CTPA - Computertomografie der Pulmonalarterien

1.3.1 Rechtsherzechokardiografie

Mit Hilfe der transthorakalen Echokardiografie kann der systolische pulmonalarterielle Druck durch den kontinuierlichen Doppler-Schall geschätzt werden. Hierbei wird der höchste Ausschlag der trikuspidalen Rückflussgeschwindigkeit gemessen. Zusätzlich muss der rechtsatriale Druck hinzugezogen werden, der sich aus dem Durchmesser der Vena Cava Inferior und dessen Vergrößerungsgradienten während der Atmung zusammensetzt.⁴³

Mit steigender “peak tricuspid regurgitation velocity“ nimmt auch die Wahrscheinlichkeit einer möglichen Pulmonalen Hypertonie zu. Zusätzlich werden weitere typische echokardiografische Anzeichen der Pulmonalen Hypertonie hinzugezogen. So kann auch im Rahmen der Feststellung der Wahrscheinlichkeit einer Pulmonalen Hypertonie trotz einer unauffälligen Rückflussgeschwindigkeit von unter 2,8 m/s die Einteilung in den intermediären Risikobereich erfolgen. Neben der trikuspidalen Rückflussgeschwindigkeit werden hierzu die Ventrikel, die Pulmonalarterie und die Vena Cava mit dem rechten Vorhof auf weitere Anzeichen einer Pulmonalen Hypertonie untersucht. Die echokardiografischen Anzeichen einer PH werden in drei Kategorien unterteilt. Diese sind in Tabelle 3 dargestellt. Treffen mindestens zwei Punkte aus zwei unterschiedlichen Kategorien zu, so ist die Wahrscheinlichkeit einer PH erhöht.⁴³

Tabelle 3 Echokardiografische Anzeichen einer Pulmonalen Hypertonie. Eingeteilt werden sie in den drei oben genannten Kategorien. Mindestens zwei Punkte aus unterschiedlichen Kategorien erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer PH

A) Ventrikel	B) Pulmonalarterie	C) Vena cava + rechtes Atrium
Basaler Durchmesser rechter/linker Ventrikel >1,0	Rechtsventrikuläre Ausfluss Doppler Beschleunigungszeit <105ms oder mittelsystolisches Notching	Durchmesser V cava inferior >21mm mit verringertem inspiratorischem Kollaps
Abflachung des interventrikularen Septums	Frühdiaastolische pulmonale Rückflussgeschwindigkeit >2,2m/s	(End-Systolische) Fläche des rechten Atriums > 18 cm ²
	Durchmesser >25mm	

Fehleinschätzungen können unter anderem durch eine Trikuspidalinsuffizienz entstehen. Bereits eine milde TI senkt die Akkuratheit auf 62,5%, eine schwere TI auf 37,5%.¹⁰⁵ Unter dem hohen Fehlerpotential dieser Schätzvorgängen leidet die Aussagekraft des Befundes, weshalb dieser lediglich als weiteres Entscheidungskriterium zur weiteren Abklärung bis hin zur direkten invasiven Messung des pulmonalarteriellen Druckes mit dem Rechtsherzkatheter dient und somit auch nicht zur Therapieeinleitung empfohlen wird.⁴³

1.3.2 Lungenfunktionsuntersuchungen

Patienten mit Pulmonaler Hypertonie zeigen in 20-50% eine Verringerung der Totalen Lungenkapazität,⁸³ ein mäßig vermindertes Lungenvolumen und in 75% der Fälle eine verminderte Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenstoffmonoxid kleiner als 80% des zu erwartenden Wertes.¹⁴² Trip et al. fanden bei Untersuchungen mit Patienten mit idiopathischer Pulmonalarterieller Hypertonie bei einer DLCO kleiner als 45% des Normalwertes eine reduzierte Lebenserwartung.¹⁵¹ Außerdem können durch diese Untersuchung mögliche Lungenerkrankungen als Auslöser der Pulmonalen Hypertonie eingegrenzt werden.⁴³

1.3.3 Sechs-Minuten-Gehtest

Als unaufwändigen Belastungstest eignet sich der Sechs-Minuten-Gehtest, um die körperliche Leistungsfähigkeit einzuschätzen und den Therapieerfolg bei kardiopulmonalen Erkrankungen zu begutachten.^{43,172} Der subjektive Zustand des Patienten bezogen auf Dyspnoe und Erschöpfung wird anhand der Borg-Skala in Ruhe und zum Ende festgehalten. Aufgrund der Individualität des Patienten beispielsweise hinsichtlich der körperlichen Konstitution muss zur Stellung einer Prognose die zurückgelegte Strecke im Kontext zu dessen klinischen Status betrachtet werden.⁴³

Bei Patienten mit interstitieller Lungenerkrankung war der 6MGT bei vorhandener PH im Schnitt um 58m verringert. Signifikant wurde der Unterschied erst im Vergleich zwischen der non-PH mit der hochgradigen PH-Gruppe ($89\text{m} \pm 31\text{m}$ $p=0,005$), womit die diagnostische Aussagekraft vor allem bei der milden Form gering ist.¹ Bis dato wurde eine formelle Untersuchung des diagnostischen Nutzens nicht untersucht und hierfür in der aktuellen europäischen Leitlinien nicht konkret aufgeführt.^{43,76}

1.3.4 Spiroergometrie

Die Spiroergometrie bzw. Cardio-Pulmonary Exercise Testing (CPET) ist eine erweiterte Form der ergometrischen Untersuchung, bei der für weiterführende Messungen die Atmung des Patienten überwacht wird und so neben der kardialen auch die pulmonale Leistungsfähigkeit unter Belastung überprüft wird. Neben der Überprüfung der Belastbarkeit des Patienten kann die CPET darüber hinaus als diagnostische Untersuchung beispielsweise vor einer Operation, zur Abklärung der eingeschränkten Leistungsfähigkeit durch kardiovaskuläre und respiratorische Erkrankungen als mögliche Ursache, als Verlaufskontrolle einer progredienten Erkrankung oder zur Überprüfung des Erfolges einer neu eingesetzten Therapie genutzt werden.¹⁷³

Auffällig bei PH-Patienten ist die Abnahme der PetCO_2 und ein Anstieg des VE/VCO_2 Slope.¹⁶⁴ Zhao et al. untersuchten Patienten mit geschätztem PASP zwischen 36-50 mmHg mit der CPET. Bei den im Nachhinein durch den Rechtsherzkatheter diagnostizierten PH-Patienten waren die maximale Sauerstoffaufnahme und die anaerobe Schwelle im Vergleich erniedrigt, umgekehrt der VE/VCO_2 Slope erhöht.¹⁶⁹ Des Weiteren ist ein erniedrigter maximaler Sauerstoffpuls beschrieben. Hierbei ist ein

Zusammenhang der Messwerte zur jeweiligen Klassifikation des Zustandes des Patienten nach der NYHA Einteilung ersichtlich.¹⁴¹ In einer kleinen Studie zur Untersuchung der Wahrscheinlichkeit einer CTEPH bei vorangegangener Lungenembolie erwiesen sich als mögliche diagnostische Parameter die erhöhten Werte des Totraumvolumens und des alveolar-arteriellen Gradienten bei einem Cut-off von jeweils 45% und 32 mmHg mit hohen Sensitivitäten.⁹¹ Dennoch reicht ein einzelner pathologischer Parameter nicht zur Verdachtsbegründung, vielmehr hilft die Kombination der unterschiedlichen auffälligen Werte.⁷⁶

1.3.5 Computertomografie

Durch die CT als bildgebendes Verfahren kann bei vergrößerten rechten Ventrikel oder Atrium mit vorhandener Klinik der Verdacht einer PH gestellt werden.⁴³

Eine bei der Computertomografie aufgefallene Vergrößerung des Durchmessers der Pulmonalarterie über 29 mm und einem Verhältnis der Durchmesser der Pulmonalarterie und der Aorta ascendens von über 1,0 erhärten den Verdacht einer Pulmonalen Hypertonie.⁴³ Hoch spezifisch soll eine Erhöhung des Verhältnisses zwischen Segmentarterie und Bronchus über 1,0 in mindestens drei Abschnitten sein.⁴³ Des Weiteren besteht die Möglichkeit der ätiologischen Einteilung bei CTEPH oder einer anderen Lungenerkrankung und die weitere Klassifizierung der Form, beispielsweise bei der pulmonal veno-okklusiven Erkrankung.^{43,76} Mit der CT-Angiografie wird zudem die Operationsfähigkeit bei CTEPH überprüft.⁴³

1.3.6 Kardio-Magnetresonanztomografie (cMRT)

Das cMRT als weiteres bildgebendes und strahlungsfreies Verfahren hilft bei der Beurteilung der Größe, Morphologie, Masse, Schlagvolumen und Funktion des rechten Ventrikels, die Dehnbarkeit der Pulmonalarterie und bei der noninvasiven Messung des Herzzeitvolumens.⁴³ Während die CT vor allem Strukturen darstellt, kann die cMRT-Untersuchung Informationen über die funktionelle Fähigkeit des Herzens wiedergeben.¹¹⁹ Für fragliche echokardiografische Befunde bei eventueller kongenitaler Herzerkrankung kann die cMRT-Untersuchung die Diagnostik ergänzen.⁴³ Swift et al. konnten mit Hilfe der Parameter „Interventricular septal angel“ und „Ventricel Mass Index“ (Verhältnis der

Massen des rechten und linken Ventrikels) eine gute Korrelation zwischen den zu erwartendem und im RHK gemessenem mPAP feststellen.¹⁴⁵ Dennoch ist mit dieser Methode der Ausschluss einer PH nicht möglich.¹⁴⁶

1.3.7 Blutgasanalyse

In einem Kollektiv aus PH Patienten mit normalen Lungenfunktionswerten (Vitalkapazität >70% des zu erwartenden Wertes und FEV1/VC >50%) fielen in Ruhe normale bis leichtgradig verringerte Werte für die Partialdrücke für Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid auf, ohne erkennbaren Zusammenhang zum mPAP und PVR. Interessanterweise scheint der pCO₂-Wert mit einem Cut-off von 4,25kPa eine prognostische Aussagekraft inne zu haben.⁵⁸ Des Weiteren scheint der pCO₂-Wert als Unterscheidungsmerkmal zwischen einer IPAH und einer PH auf dem Boden einer Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion nutzbar zu sein. Hierbei unterscheiden sich der im Schnitt auf 33 mmHg niedrigere pCO₂-Wert der IPAH Gruppe vom normalen Wert von durchschnittlich 40 mmHg der anderen Gruppe. Für den Cut-off Wert von 36 mmHg besteht eine AUC von 0,868.¹⁰³

1.3.8 DETECT Algorithmus

Eine auf Grund der Bindegewebserkrankung Systemische Sklerodermie entstehende Pulmonale Hypertonie, der größte Vertreter der mit einer Bindegewebserkrankung assoziierten Pulmonalarteriellen Hypertonie,⁴³ ist eine häufig zum Tode führende Ursache dieses Patientenkollektivs.¹¹² Im Rahmen der DETECT-Studie wurde ein Algorithmus entwickelt, um frühzeitig potentiell gefährdete Sklerodermie-Patienten zu identifizieren. Im Vergleich zur europäischen Leitlinie für Pulmonale Hypertonie konnte dieser neue Algorithmus die Anzahl an fehlenden Diagnosen bei dieser Kohorte von 29% auf 4% reduzieren.²⁵ Das Screening asymptomatischer Patienten wird ebenfalls Verwandten ersten Grades mit genetischer Disposition empfohlen.⁷⁶

In zwei Phasen werden Patienten zur weiteren Abklärung einer möglichen PH evaluiert: Im ersten Schritt wird ein Score mit den Parametern FVC%/DLCO%, Teleangiektasien, Serum-Anticentromer-Antikörper, serum-NT-pro-BNP, Harnsäure im Serum und Rechtslagetyp im EKG erstellt. Bei ausreichender Punktzahl wird im zweiten Schritt eine

transthorakale Echokardiografie veranlasst, wobei zusätzlich die gemessene Fläche des rechten Atriums und die trikuspidale Rückflussgeschwindigkeit in das Risikoprofil einfließen. Die neu gebildete Punktzahl entscheidet über die weiterführende Diagnostik mit Hilfe eines Rechtsherzkatheters.²⁵

1.4 Vorstellung der neuen Biomarker

Biomarker sind im Organismus entstehende natürliche Substanzen. Vom National Institute of Health werden sie als objektiv mess- und beurteilbare Eigenschaft im Kontext eines physiologischen oder pathologischen Prozesses beschrieben, deren Veränderung auch zur Begutachtung eines Therapieerfolges herangezogen werden kann.¹⁷⁴ Aus ihrem Verhalten heraus sollte sich eine Aussage im diagnostischen, prognostischen oder prädiktiven Sinne herleiten können.¹⁷⁵ Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt konnte sich noch kein Biomarker mit ausreichender Spezifität für die PH durchsetzen.^{41,43} In der aktuellen europäischen Leitlinie wird dennoch die Verwendung des für die Pulmonale Hypertonie unspezifischen BNP ab dem Zeitpunkt der Diagnose zur Verlaufskontrolle oder in Kombination mit anderen Parametern zur Diagnostik genutzt.^{12,77} Die für die PH bisher untersuchten Biomarker lassen sich in folgende Bereiche einteilen: Vaskuläre Dysfunktion, Entzündungsmarker, Myokardiale Belastung, geringes Herzzeitvolumen mit oder ohne Gewebshypoxie und sekundäre Organschäden.⁴³

In Tabelle 4 werden auf der folgenden Seite die für die Pulmonale Hypertonie untersuchten neuen Biomarker mit aktuellen Referenzwerten vorgestellt.

Tabelle 4 Biomarker mit ihren Referenzwerten für die Pulmonale Hypertonie

Biomarker	Wert	n	Kontrolle	n	p-Value	Quelle	Jahr
Ang 2 ng/ml	6,5 (5,1-7,7)	81	1,6 (0,8-2,3)	10	<0,001	⁷⁸	2010
TM ng/ml	26 ± 2	22	44 ± 2	38	0,0001	²⁰	1996
GDF15 ng/L (bei CTEPH)	1580 (1058-2751)	82	1200 (813-1789)	160	<0,001	⁷⁴	2011
MCP1/CCL2 pg/ml	504 ± 36	44	317 ± 22	17	0,002	¹³³	2007
MMP9 pg/ml	6,7 (5,5-8,17)	20	1,29 (0,49-3,38)	20	0,0009	¹¹⁷	2015
MMP2 ng/ml	265,8 ± 12,8	36	199,2 ± 6,7	44	<0,0001	¹³⁷	2010
TIMP 4 ng/ml	2,32 ± 0,18	36	1,35 ± 0,07	44	<0,001	¹⁶²	2010
BNP pg/ml	206	34	18	75	<0,005	¹⁰⁶	2015
Activin A pg/ml	>600	47	<600	14	<0,05	¹⁶⁵	2009
Endoglin ng/dl (bei SSc)	6,89	20	5,42	20	0,0006	²⁶	2010
YKL40 ng/ml	24,90 (17,68-38,78)	82	16,58 (14,20-19,64)	54	<0,001	²²	2014
Harnsäure mg/dl	8 ± 0,71	9	5,29 ± 0,2	105	0,001	⁷²	2015

1.4.1 Angiopoietin 2

Ang2 gehört mit Ang1, 3 und 4 zur Gruppe der Wachstumsfaktoren der Angiopoietin-Familie. Ang1 ist in der Lage, über die Interaktion als Ligand des Tyrosinkinase-Rezeptor Tie2 antiapoptotische, antiinflammatorische und zur Migration von Endothelzellen förderliche Effekte hervorzurufen und hat somit Einfluss sowohl bei der Entwicklung und Reifung von neuen als auch bei der Stabilisierung und Aufrechterhaltung der Funktion von bestehenden ruhenden Gefäßen.¹⁷ Als Antagonist dieses Prozesses fungiert Ang2, welches in Weibel-Palade-Körperchen in Endothelzellen gespeichert ist und durch Aktivierung des Endothels beispielsweise durch Hypoxie, Thrombin, Histamin oder Calcium autokrin ausgeschüttet wird.³⁹ Hierbei hängt die Wirkung von der Anwesenheit des Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A) ab. In Anwesenheit von VEGF-A werden Auswirkungen auf die Größenzunahme des Kapillardurchmessers, dem Remodeling der Basallamina, die Proliferation und Migration von Endothelzellen und das

Wachsen weiterer Gefäße beobachtet, ansonsten wird die Apoptose des Endothels eingeleitet.⁸¹

Kümpers et al. untersuchten die Plasma-Spiegel der Angiopoietin-Familie in prospektiven und retrospektiven Kohorten und fanden diese für Patienten mit idiopathischer PAH insgesamt erhöht vor. Aus dieser Gruppe war lediglich für Ang2 eine Korrelation hinsichtlich des Herzindex, des pulmonalvaskulären Widerstandes und der gemischt-venösen Sauerstoffsättigung ersichtlich. Des Weiteren scheint der Ang2-Serumspiegel ein unabhängiger Faktor zur Beschreibung des Mortalitätsrisikos zu sein. Darüber hinaus konnte in der prospektiven Kohorte im Verlauf der Behandlung ein Zusammenhang in den Veränderungen des Ang2-Serumspiegels, dem mittleren rechten Vorhofdruck und der gemischt-venösen Sauerstoffsättigung erfasst werden. Eine höhere Konzentration des Proteins und dessen mRNA-Expression wurde vor allem in histologischen Gewebeproben mit plexiformen Läsionen gefunden.⁷⁸

Schmidt untersuchte die Aussagekraft zur Diagnostik, Prognose und zur Einteilung des Schweregrades von Ang1 und Ang2 für die Pulmonale Hypertonie. Während Ang1 keine signifikanten Unterschiede aufzeigte, war Ang2 für Patienten aus den Gruppen CVH und PVH signifikant erhöht. Des Weiteren korrelierten die hämodynamischen Parameter PVR, mPAP, Cardiac Index, HZV, PAWP sowie der 6MGT vor allem für die PH auf Grund einer kollagen-vaskulären Erkrankung, aber auch für IPAH und CTEPH, wodurch eine Abschätzung des Schweregrades und die Kontrolle des Therapieerfolges mit diesem Biomarker möglich sein könnte.¹³⁴

Richter et al. untersuchte den Einfluss einer ergänzenden Therapie mit dem Prostazyklin-Analogen Trepostinil auf den Ang2-Spiegel bei PH-Patienten. Hierbei zeigte sich jedoch keine signifikante Veränderung des Serumspiegels, womit sich eine Verlaufskontrolle der Therapie durch Ang2 nicht rentiert.^{150,125}

1.4.2 Thrombomodulin

Thrombomodulin ist ein am intakten Endothel exprimierter membranständiger Rezeptor zur Bindung von bei der sekundären Hämostase entstehendem freiem Thrombin als Liganden. Dieser Mechanismus der Deaktivierung des Thrombins ist für die Regulierung und systemischen Eingrenzung der Hämostase auf einen lokalen und vom Schaden betroffenen Bereich des Endothels essentiell. Zusätzlich aktiviert der gebildete Komplex

durch proteolytische Spaltung das Protein C, welches in Komplexbildung mit Protein S in Form einer negativen Rückkoppelung die Faktoren VIIIa und Va spaltet, womit ein fließender Übergang von der Gerinnung zur Fibrinolyse erfolgt.⁸²

In ersten Studien zu Thrombomodulin im Bezug zur Pulmonalen Hypertonie fanden Cacoub et al. bei der präkapillären Erkrankungsform erniedrigte, umgekehrt bei der postkapillären Form erhöhte Werte im Blut vor. Die Forscher vermuten als Erklärung dieses Unterschiedes den schon eingangs bestehenden höhergradigen Krankheitsstatus des Patientenkollektives der präkapillären Gruppe als verursachenden Faktor. Im Schnitt waren die Werte in der männlichen Gruppe niedriger als bei den weiblichen Patienten (20ng/ml zu 27ng/ml).²⁰

In Tierversuchen untersuchten Yamada et al. in der durch Monocrotalin verursachten Form der Pulmonalen Hypertonie bei Ratten die Auswirkung einer Injektion von Thrombomodulin. Hierbei zeigten sich im Vergleich zur nicht behandelten Kontrollgruppe signifikante Unterschiede in der geringeren Zunahme des mittleren pulmonalarteriellen Druckes, der verstärkten Muskularisierung und der Dickenzunahme in einigen Bereichen der Tunica Media mit bestimmten Kapillardurchmesser. Die Behandlung führte zwar eine Verzögerung des Krankheitsverlaufes herbei, jedoch hatte dies keinen Einfluss auf die Mortalitätsrate.¹⁶³

Randaxhe untersuchte diesen Biomarker auf seine diagnostische und prognostische Aussagekraft sowie einer möglichen Korrelation zum Schweregrad der Pulmonalen Hypertonie. Niedrige Werte korrelierten mit einer verkürzten Zeit bis zur klinischen Verschlechterung. Es bestand weiterhin ein Zusammenhang zwischen erniedrigten Thrombomodulin-Werten und höheren PVR-Werten. Für die IPAH wurden weitere Korrelationen mit HZV, mPAP und 6MGT gefunden. Zu diagnostischen Zwecken konnte dieser Biomarker jedoch weder zwischen PH-Erkrankten und der Ausschlussgruppe noch zwischen den einzelnen PH-Gruppen signifikante Unterschiede feststellen.¹²⁰

1.4.3 Growth Differentiation Factor 15

Growth Differentiation Factor 15, unter anderem auch bekannt als Macrophage Inhibiting Cytokine 1, ist ein Mitglied der Transforming Growth Factor beta-Familie und wird vor allem vom Epithel und aktivierten Makrophagen exprimiert.^{15,16} Während es unter physiologischen Bedingungen in niedriger Menge vorhanden ist, steigt seine

Konzentration im Rahmen von Zellschäden wie unter anderem bei Hypoxie und inflammatorischen Prozessen, wie das in Tierversuchen gezeigte verstärkte Vorkommen bei Organschäden der Niere und der Lunge beispielhaft darstellt.¹⁷⁰

Nickel et al. haben höhere GDF-15-Spiegel bei Patienten mit idiopathischer Pulmonalarterieller Hypertonie gemessen.¹⁰⁰ Vor allen zeigte sich dies in Bereichen der umstrukturierten, plexiformen Läsionen des Endothels im Vergleich zu von dieser Form des Remodelings nicht betroffenen Gefäßen.⁹⁹ Zwar korrelierte der GDF15-Spiegel mit dem gemessenen mittleren rechtsatrialen Druck, der venösen Sauerstoffsättigung und dem NT-pro-BNP-Spiegel, die Verwendung als diagnostischer Marker für die Pulmonale Hypertonie konnte jedoch auf Grund der fehlenden Korrelation der Konzentration mit den Parametern „mittlerer pulmonalarterieller Druck“, „Herzzeitvolumen“ und „Herzindex“ in dieser Studie nicht festgestellt werden. Andererseits sehen die Autoren eine potenzielle Aussagekraft als Biomarker für einen ungünstigen Ausgang bei Patienten dieser Erkrankungsform. Weitere Nachforschungen erfassten zudem eine Verminderung der Apoptoserate. Konzentrationsabhängig zeigte sich einerseits bei geringer Dosis von rekombinantem GDF-15 eine stimulierende und umgekehrt bei höherer Dosis eine hemmende Wirkung auf die Proliferation von menschlichen pulmonalen mikrovaskulären Endothelzellen. Hierfür wird eine wesentliche Rolle des GDF-15 in Bezug auf die Entwicklung und Homöostase plexiformer Läsionen der Endothelzellen bei PAH-Patienten vermutet.⁹⁹

Klok et al. verglichen eine Kohorte mit einer in der Vorgeschichte stattgefundenen akuten Lungenembolie und im Anschluss ausgeschlossenen CTEPH mit einer CTEPH-Gruppe und fanden hierbei signifikant erhöhte Werte unter anderem für GDF15. Die berechneten Werte für die Sensitivität und Spezifität von 63% und 50% bei einer AUC von 0,62 zeigen eine geringe diagnostische Aussagekraft als einzelnen Parameter.⁷⁴

Bei einem Vergleich zwischen „Systemische Sklerodermie“-Patienten mit und ohne PAH hatte die PAH-Gruppe im Schnitt deutlich höhere GDF15 Werte (422,3 zu 108,1 pg/ml, p-Value=0,0004), selbst im Vergleich zu einer Vergleichskohorte aus IPAH-Patienten ohne Sklerodermie (173 pg/ml, p-Value=0,0004). Im Falle der SSc-PAH zeigte die ROC mit einer AUC von 0,91 bei einem Cut-off Wert von 125pg/ml eine Sensitivität und Spezifität von 93% und 88%.⁹³

Kempf untersuchte GDF-15 in seiner Aussagekraft bezüglich der Diagnostik, Prognose und möglichen Einteilung des Schweregrades der PH. Hierbei war dieser Biomarker im

Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant erhöht und hatte dementsprechend keinen diagnostischen Nutzen. Ebenso konnte er nicht zur Beurteilung des Schweregrades genutzt werden. GDF-15 korrelierte mit dem 6MGT und dem PAWP. Ebenso konnte eine mögliche Verwendung des Biomarkers als signifikanter prognostischer Parameter für das Überleben gezeigt werden.⁶⁹

1.4.4 Monocyte Chemoattractant Protein 1

Monocyte Chemoattractant Protein 1, auch als CC-chemokine ligand 2 bekannt, ist ein Mitglied der Klasse der CC-Chemokine.⁸² Es wird im Rahmen einer Immunreaktion von unterschiedlichen Zellen wie beispielsweise Epithelzellen, Endothelzellen und Fibroblasten produziert und dient der Rekrutierung und Migration von Monozyten, Lymphozyten und basophilen Granulozyten.¹²⁸ Park et al. untersuchten die Auswirkung von wiederholter mechanischer Belastung auf menschliche Endothelzellen der Lunge. Hierbei zeigte sich eine gesteigerte Expression dieses Zytokins mit einer darauf folgenden Proliferation der glatten Muskelzellen in den Pulmonalarterien. Die Autoren schlossen daraus auf einen Zusammenhang zur Entwicklung der Umgestaltung der Gefäße, welcher ebenfalls bei der sich aus einem chronischen Herzversagen durch einen vorangegangenen Myokardinfarkt entwickelnden Pulmonal Venösen Hypertonie zu beobachten ist.¹⁰⁹

Sanchez et al. konnten bei IPAH Patienten deutlich höhere Werte für CCL2 feststellen. Es bestand jedoch keine Korrelation zu Parametern wie dem PVR, dem Cardiac Index oder eine Veränderung des Wertes nach einer Prostazyklin-Behandlung.¹³³

Randaxhe hat parallel zum Biomarker Thrombomodulin die Aussagekraft hinsichtlich der Diagnose, Prognose sowie des Schweregrades von MCP-1 untersucht. Hierbei konnte gezeigt werden, dass höhere Werte mit einer signifikant schlechteren Überlebensrate korrelierten.¹²⁰

1.4.5 Matrixmetalloproteinasen 2 & 9, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases 1 & 4

Die auch als Gelatinase A und B bekannten zinkabhängigen Matrixmetalloproteinasen 2 und 9 werden vor allem von Tumorzellen sezerniert und verhelfen mittels Abbau der Bestandteile der Extrazellulärmatrix wie Kollagenen bei der Tumorzellinvasion. Einerseits wurde eine inhibitorische Wirkung auf die Angiogenese durch die von beiden

Enzymen verursachte Spaltung von Plasminogen und Kollagen XVIII entstehenden Produkte Angiostatin und Endostatin beobachtet, andererseits scheint als gegensätzlicher Effekt bei Melanomen die Angiogenese durch MMP 9 stimuliert zu werden. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases sind mit ihrer regulatorischen Wirkung auf das enzymatische Zentrum der Metalloproteinase als Antagonisten für die Inhibition zuständig, demgegenüber ebenfalls über Zwischenschritte an der Aktivierung der MMP2 beteiligt. In diesem Zusammenspiel wird die Homöostase zwischen Auf- und Abbau der Extrazellulärmatrix gewährleistet, welche anderenfalls in eine Fibrose oder Arthrose ausarten könnte.⁸² In einer Studie zeigten Ratten, die einer linkseitigen Lungenresektion und einer Monocrotalin-Therapie zur Provokation einer schwerwiegenden Pulmonalarteriellen Hypertonie unterzogen wurden, im Vergleich zur Kontrollgruppe eine erheblich höhere Expressionsrate der Gelatinasen und TIMP1 mit den begleitenden klinischen Veränderungen des mittleren pulmonalarteriellen Druckes. Hieraus schloss die Forschergruppe um Wang einen relevanten Anteil dieser Biomarker an der vaskulären Umgestaltung vor allem bezüglich der Verdickung der Tunica Media durch Proliferation der glatten Muskelzellen und der Tunica Adventitia.¹⁶¹ Im ähnlichen Kontext fanden Schumann et al. signifikant erhöhte MMP2 (AUC=0,77) und vor allem TIMP-4 (AUC=0,83) Werte in Abhängigkeit des NYHA-Status der Patienten und dem Schweregrad der rechtsventrikulären Hypertrophie und der Trikuspidalinsuffizienz. Hieraus schlossen die Forscher, dass dieser Biomarker zum einen die Progression der Erkrankung als Marker für das Remodeling, andererseits auch den Nutzen der Therapie widerspiegeln könnte.¹³⁷

Quark et al. fanden erhöhte MMP9-Spiegel bei CTEPH-Patienten. Hierbei war eine Korrelation zwischen dem MMP9-Spiegel und der Makrophagen-Akkumulation in Proben von CTEPH Patienten nach pulmonaler Endarteriektomie ersichtlich.¹¹⁷

In den Untersuchungen von Tiede et al. zu den oben genannten Biomarkern konnte zwar kein diagnostischer Nutzen gezeigt werden, dennoch korrelierten MMP2, TIMP1 und 4 mit einigen hämodynamischen Parametern wie beispielsweise dem HZV, PAWP, mPAP sowie dem 6MGT zur Beurteilung des Schweregrades der Erkrankung. Zusätzlich fiel die 5-Jahres Überlebensrate für erhöhte Werte von MMP2 und TIMP1 signifikant schlechter aus.¹⁴⁸

Wetzel et al. untersuchten die prognostischen Fähigkeiten dieser Biomarker bei Patienten mit IPAH. Hierbei sind sie ebenso auf die Verhältnisse zwischen den einzelnen

Gelatinasen und jeweils einem Inhibitor eingegangen. Für die Kombination aus MMP2 und TIMP4 konnte eine Korrelation mit den Parametern mPAP, PVR, der geschätzten Glomerulären Filtrationsrate und TAPSE gezeigt werden, womit diese Konstellation zur Beurteilung des Schweregrades und der rechtsventrikulären Funktion genutzt werden könnte. Weiterhin stieg mit diesem Quotienten die Wahrscheinlichkeit des Versterbens oder einer klinischen Verschlechterung. Somit habe die Kombination aus diesen Biomarkern einen unterstützenden Nutzen zur Verlaufskontrolle.¹⁶²

1.4.6 Brain-type Natriuretic Peptide

Das Brain-type Natriuretic Peptide gehört zur Gruppe der natriuretischen Hormone. Es wird hauptsächlich in den Ventrikeln produziert⁶² und vor allem durch erhöhte Dehnung zur Sekretion stimuliert.⁷⁹ Wie beim Atrialen Natriuretischen Hormon wird über die extrazelluläre Bindung an der membranständigen Guanylatcyclase A mit Formierung eines Homodimeres eine erhöhte Synthese des cyclischen GMP vermittelt, wodurch über seinen Einfluss auf die Natriuresis und der Vasodilatation eine mögliche Regulierung der Vor- und Nachlast des Herzens besteht.^{138,82} Zusätzlich wird durch Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems die Blutdrucksteigerung verhindert.⁸² In der klinischen Diagnostik sind das BNP und sein inaktives Spaltprodukt „non terminales pro BNP“ unter anderem als Biomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen bereits in der Routinediagnostik etabliert.^{6,29} Für die Pulmonale Hypertonie scheint kein Vorteil zwischen beiden Peptide zu bestehen, wobei das BNP eine geringfügig bessere pulmonale hämodynamische Korrelation bei gleichzeitig geringerem Einfluss durch den renalen Status besitzt und das NT-proBNP einen Vorteil bezüglich der prognostischen Vorhersagekraft aufweist.⁴³

Zur Verbesserung des noninvasiven Screenings als Auswahlkriterium für die Durchführung eines Rechtsherzkatheters bei Patienten mit interstitieller Lungenerkrankung untersuchten Palazzuoli et al. die bereits angewendete transthorakale Echokardiografie im Kontext zum BNP-Spiegel auf ihre Aussagekraft. Bei einem Cut-off Wert von 50pg/ml zeigte sich zur Erkennung einer Pulmonalen Hypertonie eine Sensitivität von 77% und eine Spezifität von 81% bei einer AUC von 0,87.¹⁰⁶

1.4.7 Activin A

Activine gehören zur Transforming Growth Factor beta-Familie, welche als Liganden für Rezeptor Serin/Threonin Kinasen fungieren. Sie sind mitverantwortlich für die Erythropoese und Neuralentwicklung während der Embryogenese.⁸² Abhängig von seiner dimeren Zusammenstellung aus den unterschiedlichen beta-Untereinheiten des Inhibins sind unter anderem die Formen A, B und AB bekannt.⁸⁰ Der bekannteste Signalweg des pleiotropen Activins verläuft über die Interaktion mit seinen beiden strukturähnlichen, oberflächlichen, transmembranären Rezeptoren „activin receptor-like kinase 4“-Rezeptor Typ I und II. Hierbei werden die intrazellulären Proteine Smad 2 und 3 phosphoryliert und in Verbindung mit Smad 4 als Komplex mit Bindung auf Promoterregionen innerhalb des Zellkerns wirkortabhängig die Regulierung diverser Transkriptionen gesteuert. Somit kommen unterschiedliche Prozesse wie die Proliferierung, Differenzierung und Apoptose zustande. Das extrazellulär vorhandene Follistatin ist mit seiner Bindungsfähigkeit an das Activin in der Lage, diesen Signalweg zu unterbinden.²⁴

Yndestadt et al. fanden in ihren Untersuchungen erhöhte Activin A-Spiegel in Proben aus der Pulmonal- und Femoralarterie bei Patienten mit Pulmonaler Hypertonie. Es konnten Epithelzellen der Bronchien und Alveolarmakrophagen mit erhöhten mRNA-Expressionsraten als potenzielle Produzenten nachgewiesen werden. Zusätzlich zeigte sich eine mögliche Korrelation erhöhter Spiegel mit der Mortalitätsrate.¹⁶⁵

Neben dem bereits genannten Biomarker GDF-15 untersuchte Kempf auch die diagnostische und prognostische Aussagekraft von ActA sowie die mögliche Beurteilung des Schweregrades. Hier erwies sich dieser Biomarker als stärkerer prognostischer Parameter im Vergleich zu GDF-15. Die in Quartilen eingeteilten Messwerte zeigen signifikante Unterschiede bezüglich des Überlebens, wobei dies für die Gruppe der höchsten Werte ausgeprägter ist. Demzufolge könne ein Anstieg des ActA um 100pg/ml mit einem Anstieg des relativen Risikos des Versterbens von 10% einhergehen.⁶⁹

1.4.8 Endoglin

Endoglin ist ein vor allem in Blutgefäßen und proliferierenden Endothelzellen exprimierter akzessorischer, transmembranärer Rezeptor für den Transforming Growth Factor beta Signalweg.⁴⁹ Durch proteolytische Abspaltung der extrazellulären Region des

Rezeptor entsteht das lösliche Endoglin „soluble Endoglin“, welches einen negativen Einfluss auf für die Angiogenese relevante Proteine ausübt und beispielsweise in erhöhter Form bei einer Präeklampsie nachweisbar ist.^{155,45}

Eine entscheidende Rolle spielt Endoglin für das Gleichgewicht zwischen den Activin-Rezeptor Like Kinasen 1 und 5, welche gegensätzliche Funktionen für die Proliferation und Migration von Endothelzellen ausüben.^{48,49} Weiterhin scheint eine Verbindung zur Erkrankung der hereditären hämorrhagischen Teleangiektasie als genetische Komponente zu bestehen,^{21 90 84} bei der die Ausbildung einer Pulmonalen Hypertonie als Komplikation in ihrer Bekanntheit zunimmt.¹⁶⁰

Gore et al. fanden in Untersuchungen von Patienten mit idiopathischer PAH im Vergleich zur Kontrollgruppe höhere Expressionsraten des Endoglins in pulmonalen Gewebe und Endothelzellen, sowie des Proteins im Serum, jedoch nicht in glatten Muskelzellen der Pulmonalarterien. Darüber hinaus konnte der Anstieg von für das Remodeling der Gefäße relevanter Faktoren wie Endothelin1, PDGFb und FGF2 durch TGF beta auf kultivierte pulmonale Endothelzellen durch zusätzliche Gabe von Anti-ENG-Antikörper verhindert werden. In Tierversuchen erforschte diese Gruppe zusätzlich die Entwicklung von unter Hypoxie entstandener PH bei Mäusen mit auf einem Allel ausgeschaltetem ENG-Gen. Diese hatten bereits initial eine geringere Dichte der Pulmonalgefäße. Sie zeigten aber auch hierunter einen Vorteil gegenüber der Kontrollgruppe hinsichtlich der abgeschwächten Ausbildung charakteristischer Anzeichen der PH bezogen auf den rechtsventrikulären systolischen Druck, dem Größenverhältnis zwischen dem rechtem Ventrikel und dem linkem Ventrikel mit Septum und den Muskelzuwachs der distalen Pulmonalarterien. Daneben fiel der eigentlich durch Hypoxie getriggerte Anstieg der Makrophagen aus.⁴⁸

Coral-Alvarado verglich Systemische Sklerodermie (SSc) Patienten mit und ohne erhöhtem echokardiografischen sPAP mit einer gesunden Kontrollgruppe. Es konnte zwar eine signifikante Erhöhung des Endoglin-Spiegels in der SSc-Kohorte im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden (6,89 ng/dl zu 5,42 ng/dl, p=0,0006), der Vergleich zwischen SSc-Patienten mit oder ohne sPAP Erhöhung fiel jedoch nicht signifikant aus (6,89 ng/dl zu 6,20 ng/dl, p=0,2447).²⁶

Für die hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie (HHT) ist durch Ausbildung von arteriovenösen Malformationen die Entstehung einer Pulmonale Hypertonie als seltene Komplikation bekannt.²⁸ Reichenberg et al. führten ein echokardiografisches Screening

in einem kleinen Klientel aus HHT-Patienten auf eine pulmonale Beteiligung der Erkrankung in Form einer Pulmonalen Hypertonie oder pulmonalen arteriovenösen Malformation durch. Unter der kleinen Kohorte aus 20 Patienten wurden immerhin vier mit erhöhtem sPAP und eingeschränkter rechtsventrikulärer Funktion erkannt, woraufhin bei Ihnen im Rechtsherzkatheter die Diagnose einer Pulmonalen Hypertonie bestätigt werden konnte. Bei zwei von ihnen wurde eine CTEPH diagnostiziert mit zusätzlichem Nachweis einer Endoglin-Mutation in der genetischen Untersuchung.¹²³

1.4.9 YKL40

Das aus dem Kreis der Glykosyl-Hydrolasen Familie 18 stammende Glykoprotein YKL40, unter anderem auch bekannt als Chitinase-3-Like Protein 1 oder human cartilage glykoprotein 39, wird von Chondrozyten, Synovialzellen, Neutrophilen und in ihrem Differenzierungsprozess fortgeschrittenen Makrophagen ausgeschüttet.^{14,73} Der physiologische Nutzen ist noch nicht näher bekannt.³³ Veränderungen des aktiven Zentrums führten zum Verlust der enzymatischen Aktivität als Chitinase.¹⁰ Ein stimulierender Einfluss auf das Wachstum der Fibroblasten von der Haut und fetalem Lungengewebe wird beschrieben. Zusätzlich scheint auch die Proliferation der Zellen des Bindegewebes in eine übergehende Fibrose betroffen zu sein.¹²² Höhere Werte dieses Biomarkers wurden bei Patienten mit Asthma und anderen gewebeverändernden Erkrankungen oder in Gewebe mit Entzündungsprozessen wie beispielsweise bei Rheumatoider Arthritis beobachtet.^{73,122} Ebenfalls ist es im Sputum und Serum von Patienten mit COPD, Asthma und Cystischer Fibrose als Beispiele für Erkrankungen mit Beteiligung von neutrophilen Granulozyten nachweisbar.⁵⁴

Es fielen erhöhte Werte dieses Proteins bei 27% der Patienten mit Systemischer Sklerodermie auf. Ein unabhängiger Zusammenhang zu verringerten Werten in der Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenstoffmonoxid und dem Verhältnis der Einsekundenkapazität zur Vitalkapazität wurden beobachtet. Weiterhin zeigt sich altersabhängig eine Korrelation zur Obstruktion der Lungenfunktion und Verminderung der Vital- und Diffusionskapazität.^{95,101}

Während der Nutzen der prognostischen Aussagekraft dieses Biomarkers bereits für Erkrankungen mit Herzversagen postuliert wurde,⁵³ untersuchten Chen et al. den Zusammenhang zwischen den bereits bekannten ablaufenden inflammatorischen

Prozessen der idiopathischen Pulmonalarteriellen Hypertonie hinsichtlich der Messbarkeit des YKL40 im Serum. Hierbei zeigten sich erhöhte Plasmawerte bei Erkrankten, welche darüber hinaus neben dem Alter ebenfalls mit dem Herzindex und NT-pro-BNP-Werten korrelierten. Höhere Werte des Pulmonalvaskulären Widerstandes und der Harnsäure wurden innerhalb des Patientenkreises mit einem festgesetzten Cut-off von 24,5 ng/ml für YKL40 beobachtet. Als prognostischer Marker im Bezug zu Ereignissen der klinischen Verschlechterung (Cut-off: 24,5ng/ml, Sensitivität 82,6%, Spezifität 62%, AUC 0,681) und des Todes (Cut-off: 24,5ng/ml, Sensitivität 90%, Spezifität 54,2%, AUC 0,717) schnitt das YKL40 im Vergleich zur bereits etablierten Leistungskontrolle durch den Sechs-Minuten-Gehtest und der Messung des NT-pro-BNP ebenso wie der Harnsäure besser ab.²²

1.4.10 Harnsäure

Als Beispiel für einen Biomarker, der bereits in der primärärztlichen Routineuntersuchung genutzt wird, beispielsweise im Rahmen der Vorsorge, und ebenfalls für die Pulmonale Hypertonie bekannt ist, wird im Folgenden die Harnsäure vorgestellt.

Harnsäure wird als Abbauprodukt der Purine, unter anderem vermehrt bei Hypoxie, produziert³⁵ und erhöht die Adhäsivität der Thrombozyten als möglichen Risikofaktor für Thrombosen und Atherosklerose.^{156,98} Im Gegensatz zu den meisten anderen Biomarkern für die PH wird die Harnsäure bereits in der Routinediagnostik verwendet. In der 2015 aktualisierten gemeinsamen Leitlinie der European Society of Cardiology und der European Respiratory Society für die Diagnose und Behandlung der Pulmonalen Hypertonie wird dieser Biomarker unter der Gruppe „geringes Herzzeitvolumen und/oder Gewebshypoxie“ aufgeführt. Im Gegensatz zu den anderen vergleichsweise neuen Biomarkern wird bereits die regelmäßige Messung zur Kontrolle oder bei klinischer Verschlechterung des Patienten empfohlen.⁴³ Bei PH Patienten sind die Harnsäurewerte im Schnitt auf 8 mg/dl erhöht mit bestehender Korrelation zum mPAP ($r=0,41$) und RAP ($r=0,486$).¹⁵⁶

Kim et al. untersuchten in einer Studie 114 „Systemische Lupus erythematodes“-Patienten, welche anhand eines echokardiografisch geschätzten sPAP >40mmHg und somit vermutlicher PH in zwei Gruppen unterteilt wurden. Diese sogenannte PH-Gruppe

(n=9) fiel mit deutlich höheren Harnsäurewerten (8 zu 5,29 mg/dl, $p < 0,001$) und einer Korrelation zum sPAP ($\gamma = 0,305$, $P = 0,003$) auf. Verglichen wurden die Werte weiterhin mit Kontrollgruppen mit bekannter PH durch COPD, interstitielle Lungenerkrankung oder eines idiopathischen Ursprunges. Interessanterweise waren hierbei die Werte der IPAH-Gruppe vergleichbar, jedoch traf dies nicht auf das Klientel bestehend aus COPD- oder anderen interstitiellen Lungenerkrankungen zu. Bei einem Cut-off-Wert von 6,5mg/dl für Harnsäure wurde in dieser Studie eine Sensitivität und Spezifität von 66,7% und 96,2% mit einem PPV von 28,0% ermittelt. Die Kombination aus Harnsäure und NT-pro-BNP steigerte die Spezifität und PPV auf 98,1% und 71,4%.⁷²

Da die Harnsäure bereits in der aktuellen europäischen Leitlinie aufgeführt wird, wurde vorerst zugunsten der neuen Biomarker auf eine weitere Untersuchung in der Kombination verzichtet.

2 Fragestellung

Ziel dieser Dissertation ist die retrospektive Untersuchung der diagnostischen Akkuratheit der neuen Biomarker im Einzelnen und in der Kombination oder in Form eines Algorithmus für symptomatische Patienten als Hilfe zur Indikationsstellung vor der Durchführung eines Rechtsherzkatheters.

3 Methodik

Es wurden die retrospektiven Daten von 231 Patienten aus den Jahren 1995 bis 2012 nach einem Rechtsherzkatheter untersucht. Die Werte wurden bereits im Rahmen anderer wissenschaftlicher Arbeiten individuell untersucht, aber nicht wie in dieser Dissertation zur Diagnostik in der Kombination betrachtet.

In diesem Kollektiv wurde bei 180 Patienten eine pulmonale Hypertonie diagnostiziert, die weiterhin in ihre Subgruppen IPAH (48), CTD-APAH (46), PVH (39) und CTEPH (47) untergliedert werden. Bei den anderen 51 Patienten konnte eine PH mit einem mPAP von unter 25 mmHg ausgeschlossen werden. Diese Exklusions-Gruppe wurde wegen klinischer Symptomatik mit dem Verdacht einer PH untersucht und dienen somit nicht als gesunde Kontrollgruppe. Viel mehr wird dieses Kollektiv als Kontrollgruppe genutzt, um zwischen klinisch auffälligen Patienten ohne PH und mit der Diagnose PH spezifische Unterschiede zu verdeutlichen.

Sogenannte „Borderline-PH“-Patienten mit einem gemessenem mPAP zwischen 20-24 mmHg können im Verlauf mit Anstieg dieses Parameters eine definitive PH entwickeln.³ Um eine Verfälschung zwischen der Exklusions- und der PH-Gruppe zu vermeiden wurden diese Patienten aus der Studie ausgeschlossen.

Die Parameter mittlerer pulmonalarterieller Druck, Pulmonal-Arterieller Verschlussdruck, das Herz-Zeit-Volumen mit dem daraus resultierenden Herzindex (HZV/Körperoberfläche) und der Pulmonal-Vaskuläre Widerstand wurden bei der Untersuchung mit dem Rechtsherzkatheter von 219 Patienten erfasst.

Mit dem Statistik-Programm SPSS Version 23 wurden die Daten auf ihre Verteilung und Unterschiede analysiert. Hierbei waren die gemessenen Werte bei allen Biomarkern und den meisten Charakteristika der Patientenkohorte linksgipflig, bei dem Merkmal „Alter“ rechtsgipflig verteilt. Zur besseren Beschreibung dieser nicht normal verteilten Daten wurde statt des Mittelwertes mit Standardabweichung der Median und Interquartilsabstand verwendet.

Außer der Varianzanalyse wurden alle Tests zweiseitig durchgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen der Exklusions-Gruppe und der PH-Gruppe wurden mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney-U Test untersucht. Bei diesem auch als Wilcoxon-Rangsummen-Test bezeichneten Verfahren handelt es sich um einen Rangsummentest, der für nicht-normal verteilte Mengen genutzt wird und eine bessere Quantifizierung der zum Teil durch Ausreißer weit verteilten Ergebnisse ermöglicht.¹³⁶ Für die Betrachtung von mehr als zwei Mengen wurde als Pendant der Kruskal-Wallis-H Test verwendet. Für beide Tests wurde ein Signifikanzniveau von 0,05 festgelegt.

Neben den signifikanten Unterschieden wurde die Aussagekraft der jeweiligen Biomarker mit Hilfe des Receiver Operating Characteristics untersucht.⁵² Hierbei werden anhand unterschiedlicher Cut-off Werten auf der Ordinate die Sensitivität bzw. Richtig-Positiv getesteten Patienten und auf der Abszisse die Falsch-Positiv getesteten Patienten, welche rechnerisch dem Term 1-Spezifität entspricht, gegenübergestellt. Der Cut-off Wert definiert die Unterscheidung eines Testverfahrens zwischen gesund oder erkrankt.

Weiterhin kann mit der Berechnung der sogenannten „Area Under the Curve“ die Akkuratheit des Markers unabhängig all seiner Cut-off Werte ermittelt und somit die Aussagekraft der Biomarker untereinander verglichen werden. Die AUC beschreibt dabei die Wahrscheinlichkeit, dass ein willkürlich ausgesuchtes Paar bestehend aus Gesundem und Erkranktem richtig diagnostiziert wird.¹³⁶

Mit Hilfe des Youden-Index mit der Formel Sensitivität + Spezifität -1 wurde aus den unterschiedlichen Cut-off Werten der beste Kompromiss aus optimaler Sensitivität und Spezifität ermittelt. Hierbei wird der maximale Unterschied zwischen Sensitivität und Falsch-Positiven Anteil genutzt. Grafisch gesehen entspricht dies dem geringsten Abstand der ROC-Kurve zur Koordinate 0 (100% Spezifität) und 1 (100% Sensitivität).⁵²

Die Aussagekraft der Testergebnisse der Marker mit der höchsten Sensitivität und Spezifität werden mit den positiven bzw. negativen prädiktiven Werten dargestellt, welche jeweils das Verhältnis zwischen richtig erkrankt bzw. gesund zur Gesamtheit der Erkrankten oder Gesunden darstellt.

Die Kombinationsmöglichkeiten der signifikanten Biomarker wurden als kontinuierliche Variablen mit der multiplen linearen Regression untersucht. Der Grenzwert für das übliche Signifikanzniveau von 0,05 ist in diesem Modell auf 0,154 angehoben.¹³⁹ Darüber hinaus wurden die Biomarker anhand ihres als optimal bestimmten Cut-off Wertes als dichotome Parameter mit der binären logistischen Regression verglichen.

4 Ergebnisse

4.1 Charakteristik der untersuchten Proben

Es wurden die gemischt-venöse Proben von 231 Patienten nach einem Rechtsherzkatheter bei dem Verdacht einer Pulmonalen Hypertonie untersucht. Hierbei konnte bei 51 Patienten eine PH ausgeschlossen werden. Diese Gruppe dient als vergleichende Exklusions-Gruppe.

Die Werte für PVR, CI und PAWP waren links-, die Alterswerte rechtsverteilt. Statt des Mittelwertes und Standardabweichung werden die Mediane mit dazugehörigen Interquartilsabstand angegeben. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die im Rechtsherzkatheter ermittelten Parameter der Gesamtkohorte.

Tabelle 5 Charakteristik der Gesamtkohorte

Name	6MGT (Meter)	mPAP (mmHg)	PAWP (mmHg)	HZV (l/min)	CI (l/min)/ m ²	PVR (dyn x sec x cm ⁻⁵)	Alter (Jahre)
N	184	219	219	219	219	219	221
MW (SD)	318,0 (118,4)	38,3 (14,9)		4,5 (1,26)			
Median (IR)			9,0 (6,0)		2,33 (0,9)	487,0 (580,0)	66,6 (19,9)

N-Anzahl, MW-Mittelwert, SD-Standardabweichung, IR-Interquartilsabstand, Rest siehe Abkürzungsverzeichnis

4.1.1 Vergleich PH-Gruppen und Exklusion

Zu Beginn werden die oben genannten Parameter aus der RHK-Untersuchung sowie der Sechs-Minuten-Gehtest verglichen. Wie in Tabelle 6 ersichtlich zeigen sich zwischen den PH-Gruppen und Exklusion die erwartungsgemäßen deutlichen Unterschiede der Parameter mPAP (z.B. PAH 47,0 zu Exklusion 19,0 mmHg) und PVR (z.B. PAH 790,5 zu Exklusion 153,5 dyn x sec x cm⁻⁵), welche als Goldstandard im RHK zur endgültigen Diagnosestellung gemessen werden. Der PAWP fällt in der PVH-Gruppe höher (z.B. PVH 18,0 zu Exklusion 8,0 mmHg) aus, die anderen PH-Gruppen ähneln der Exklusions-Gruppe. Klinische Untersuchungen hingegen wie beispielsweise der in Abbildung 1 dargestellte 6MGT fallen im Vergleich weitgehend identisch aus und sind demnach kaum aussagekräftig zur Diagnose oder Unterscheidung einer PH bei symptomatischen Patienten. Ähnlich verhält es sich mit den auch mit anderen Methoden messbaren Parametern HZV und dem daraus resultierende CI. Tabelle 6 stellt die einzelnen PH-Gruppen mit der Exklusionsgruppe gegenüber.

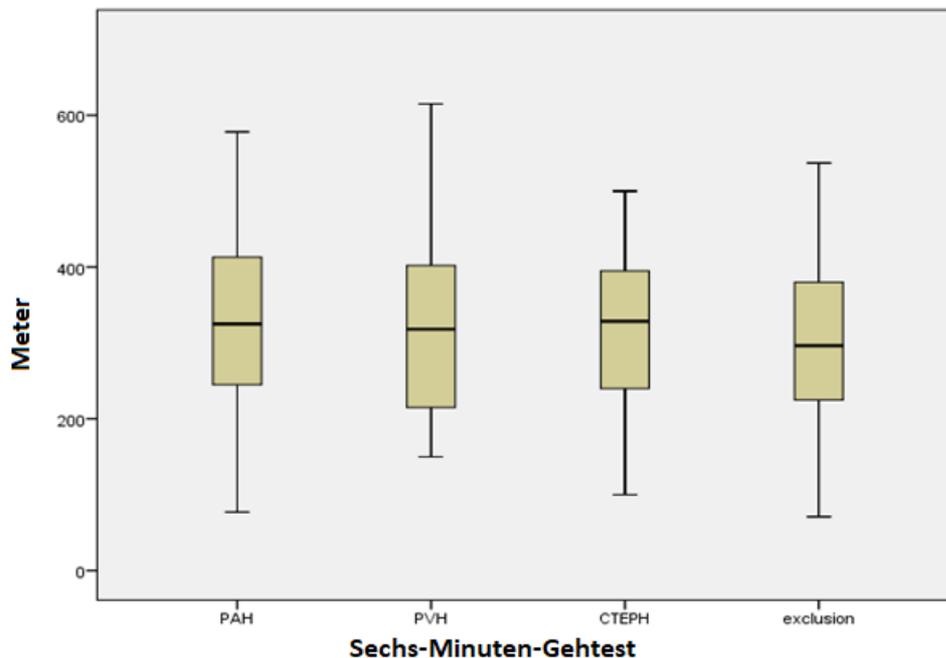


Abbildung 1 Sechs Minuten Gehstest: Vergleich Exklusion und einzelne PH-Gruppen

Tabelle 6 Vergleich der PH-Gruppen und der Exklusionsgruppe hinsichtlich hämodynamischer Parameter und dem 6MGT, Abkürzungen siehe Tab.5

		PAH	PVH	CTEPH	Exklusion
mPAP (mmHg)	MW (SD)	47,0 (17)	38,0 (15)	40,50 (16)	19,0 (6)
	Min-Max	25-85	26-64	26-71	9-24
PAWP (mmHg)	Median (IR)	8,0 (5)	18,0 (9)	9,0 (5)	8,0 (5)
	Min-Max	2-17	7-35	3-22	1-19
HZV (l/min)	MW (IR)	3,960 (1,43)	4,70 (1,80)	4,0 (1,56)	5,095 (1,57)
	Min-Max	1,99-6,82	2,80-9,50	2,88-8,40	2,35-8,46
CI ((l/min)/ m ²)	Median (IR)	2,19 (0,92)	2,37 (0,97)	2,10 (0,74)	2,73 (0,85)
	Min-Max	1,27-3,64	1,81-4,30	1,36-4,63	1,36-4,63
PVR (dyn x sec x cm ⁻⁵)	Median (IR)	790,50 (580)	306,0 (304)	549,0 (437)	153,50 (98)
	Min-Max	226-2492	93-1029	156-1239	69-319
6MGT (Meter)	MW (SD)	325,0 (175)	318,0 (196)	328,50 (166)	296,50 (165)
	Min-Max	77-578	150-615	100-500	71-537

4.2 Verteilung der Biomarker

Es wurde die Verteilung der einzelnen Biomarker in der Gesamtkohorte untersucht. Hierbei zeigt sich eine Verteilung der Messwerte vor allem in linksgipflig verlaufende Kurven, welche Beispielhaft in Abbildung 2 für Ang2 dargestellt wird.

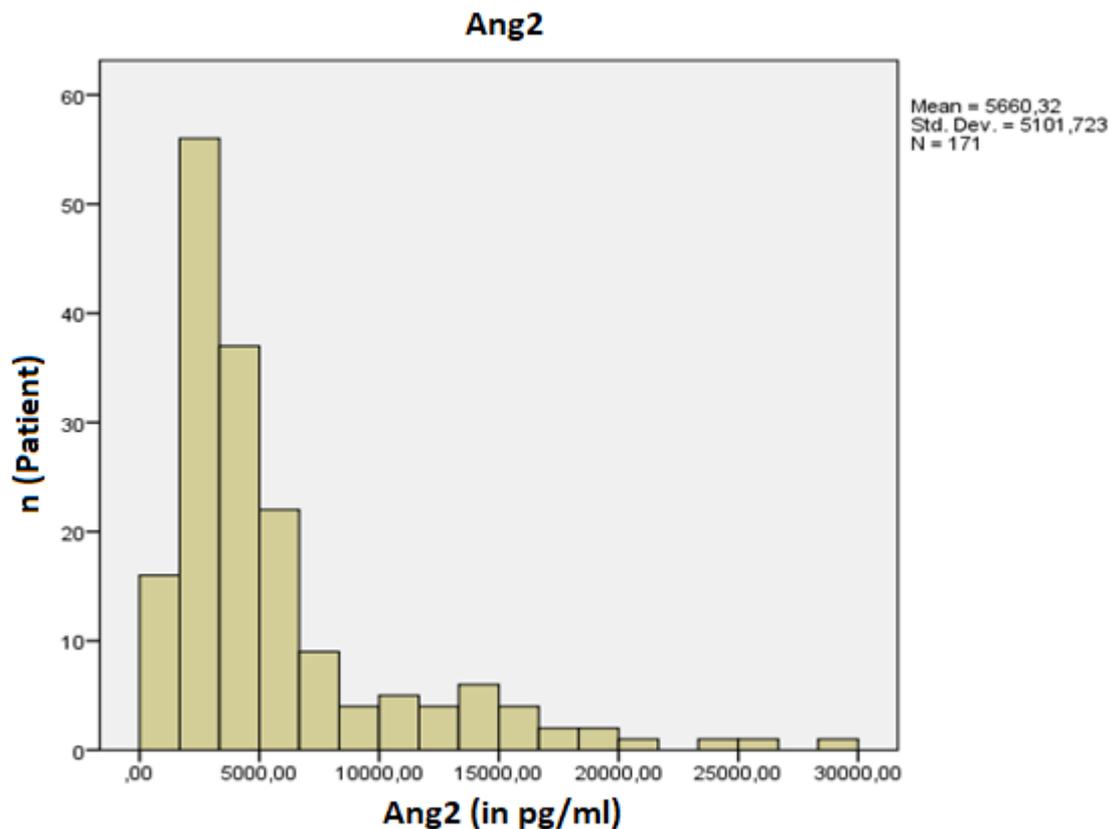


Abbildung 2 Verteilung der Messwerte für Ang2 als Beispiel der linksgipfligen Verteilung

4.2.1 Vergleich Biomarker-Konzentrationen Exklusion – Pulmonale Hypertonie

Die diagnostische Aussagekraft der Biomarker wurde mittels „Area Under the Curve“ aus der „Receiver Operating Characteristic“ untersucht. Nur bei 6 der 13 Biomarker waren signifikante Ergebnisse als Hinweis auf eine diagnostische Aussagekraft zur Unterscheidung zwischen PH und Exklusion sowie den PH-Gruppen und Exklusion ersichtlich. Hierbei wurden AUC-Werte zwischen 0,617-0,743 erzielt. Die Mediane der PH-Gruppe waren bei diesen Biomarkern im Vergleich zur Exklusion erhöht.

Mit diesen in Tabelle 7 aufgeführten Biomarkern wurden die weiteren Untersuchungen durchgeführt. Als Beispiele sind die ermittelten ROC-Kurven für TIMP1 und Ang2 in Abbildung 3 und 4 dargestellt.

Tabelle 7 zeigt die nach der ROC Analyse verbliebenen signifikanten Biomarker

Name	Median (IR) Exklusion in pg/ml	Median (IR) PH in pg/ml	U-Test	AUC
ActA	2189,05 (1556,6)	2698,80 (1472,58)	0,013	0,635
Ang2	2615,0 (1586,70)	4272,1 (4860,25)	<0,001	0,743
BNP	66,5 (157)	241,50 (335)	<0,001	0,712
sENG	3,5550 (1,02)	4,03 (1,53)	<0,001	0,702
MMP2	193,119 (49,93) ng/ml	220,560 (104,62) ng/ml	<0,001	0,677
Timp1	87,670 (23,119)	97,80 (37,645)	0,025	0,617

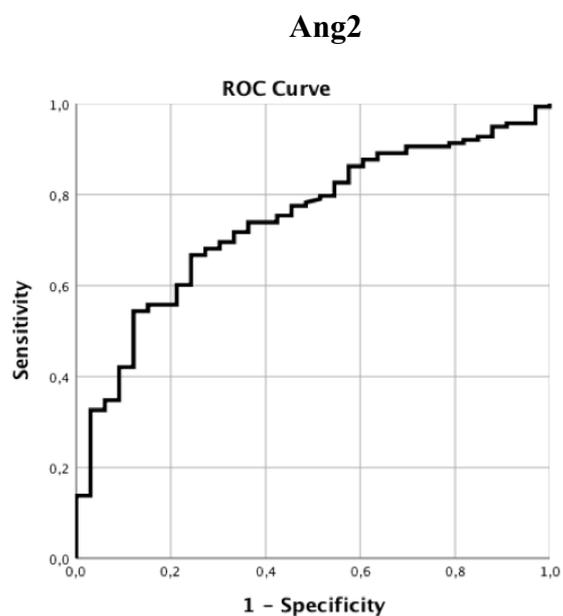
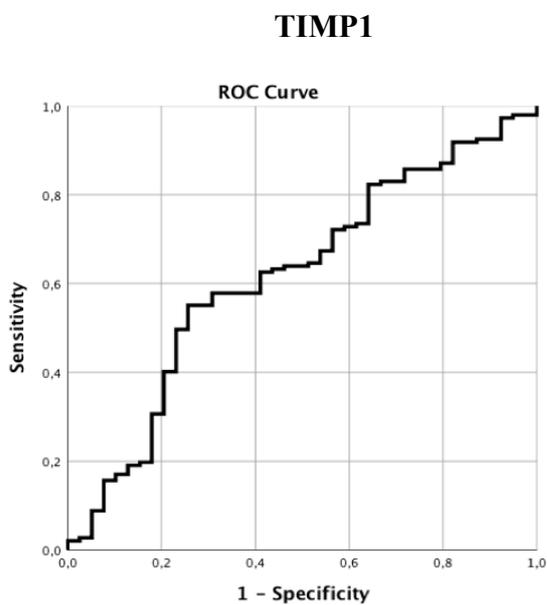


Abbildung 3 ROC TIMP1 AUC=0,617

Abbildung 4 ROC Kurve Ang2 AUC=0,743

4.3 Vergleich Pulmonale Hypertonie-Gruppen und Exklusion

In diesem Abschnitt werden die im vorherigen Abschnitt bereits erwähnten signifikanten Biomarker weiter in den einzelnen Gruppen PAH, PVH, CTEPH im Vergleich zur Exklusions-Gruppe untersucht.

Zusätzlich zeigte sich in dieser Untersuchung der einzelnen PH-Gruppen für den Biomarker TIMP4 ein signifikanter Unterschied, welcher aber wie in Tabelle 8 dargestellt nicht im allgemeinen Vergleich zwischen der Exklusion- und PH-Gruppe ersichtlich war.

Tabelle 8 zeigt im H-Test einen signifikanten Unterschied von TIMP4 zwischen den einzelnen PH-Gruppen und der Exklusionsgruppe. Im U-Test zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen der gesamten PH- und der Exklusions-Gruppe

Biomarker	Median (IR) PH in pg/ml	Median (IR) Exklusion in pg/ml	U-Test	H-Test	AUC
TIMP4	1618,50 (696,10)	1500,20 (947,60)	0,177	0,029	0,427

Tabelle 9 unterteilt auf der folgenden Seite nun die einzelnen PH-Gruppen und vergleicht die Messwerte der in der ROC-Analyse signifikanten Biomarker.

Tabelle 9 Auflistung der Mediane und IR der Biomarker für die einzelnen PH-Gruppen im Vergleich zur Exklusionsgruppe

Name	PAH pg/ml	PVH pg/ml	CTEPH pg/ml	Exklusion pg/ml	Signifikanz (H-Test)
ActA	2866,6 (1300,2)	3046,6 (1310,2)	2453,5 (1211,2)	2189,0 (1556,6)	0,013
Ang2	4229,6 (5161,8)	5337,9 (7570,1)	3790,9 (3193,8)	2615,0 (1586,7)	<0,001
BNP	259,5 (377)	249,0 (348)	210,5 (197)	66,5 (157)	<0,001
sENG	4,09 (1,57)	4,205 (1,62)	3,61 (1,52)	3,555 (1,02)	<0,001
MMP2 (ng/ml)	224,5 (67,0)	230,3 (67,8)	200,5 (63,2)	184,4 (49,9)	<0,001
TIMP1	102,120 (39,9)	104,8 (44,2)	85,60 (30,3)	87,7 (23,1)	0,002
TIMP4	1297,9 (850,7)	1587,0 (1366,6)	1725,3 (1180,7)	1618,5 (696,1)	0,029

Es fällt auf, dass für TIMP4 ein im Vergleich zu den anderen Gruppen wesentlich niedrigerer Wert bei PAH im Vergleich zu den übrigen Gruppen besteht. Bei allen anderen Biomarkern sind die jeweiligen Werte für PAH und PVH höher als in der Exklusions-Gruppe. Ebenso fällt bei Ang2 der Wert für die PVH-Gruppe im Vergleich zu den anderen PH-Gruppen und der Exklusion deutlich höher aus.

Nur bei Ang2 und BNP unterscheiden sich die Werte für CTEPH wesentlich von der Exklusion-Gruppe.

4.4 Bestimmung der optimalen Cut-off Werte

Mit dem Youden-Index werden für die einzelnen signifikanten Biomarker die optimalen Cut-off-Werte mit hieraus resultierender Sensitivität, Spezifität, Falsch-Positiven und Falsch-Negativen Werten ermittelt. Die Biomarker mit ihrem jeweiligen Cut-off-Wert (Beispiel Ang2 mit 3988 pg/ml) werden in Form einer Übersicht in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10 Biomarker mit Cut-off-Wert, Anzahl (Patient), Sensitivität, Spezifität, FP, FN

Act_1698	NEG	POS	Total	Ang2_3988	NEG	POS	Total
Ex	13	23	36	Ex	29	4	33
	36,1% (Spez)	63,9% (FP)	100,0%		87,9% (Spez)	12,1% (FP)	100,0%
PH	16	118	134	PH	63	75	138
	11,9% (FN)	88,1% (Sens)	100,0%		45,7% (FN)	54,3% (Sens)	100,0%
Total	29	141	170	Total	92	79	171
BNP_187	NEG	POS	Total	TIMP1_95	NEG	POS	Total
Ex	26	6	32	Ex	28	11	39
	81,3% (Spez)	18,8% (FP)	100,0%		71,8% (Spez)	28,2% (FP)	100,0%
PH	51	65	116	PH	66	81	147
	44,0% (FN)	56,0% (Sens)	100,0%		44,9% (FN)	55,1% (Sens)	100,0%
Total	77	71	148	Total	94	92	186
MMP2_193	NEG	POS	Total	sENG_3,7	NEG	POS	Total
Ex	26	16	42	Ex	27	13	40
	61,9% (Spez)	38,1% (FP)	100,0%		67,5% (Spez)	32,5% (FP)	100,0%
PH	45	116	161	PH	50	89	139
	28,0% (FN)	72,0% (Sens)	100,0%		36,0% (FN)	64,0% (Sens)	100,0%
Total	71	132	203	Total	77	102	179

Activin A zeigt bei einem Cut-off von 1698 pg/ml in dieser Gruppe die höchste Sensitivität mit 88,1% und damit auch die niedrigste Falsch-Negativ-Rate von 11,9%. Andererseits werden fälschlicherweise 63,9% aus der Exklusions-Gruppe Falsch-Positiv getestet. Das bedeutet, dass etwa 2 von 3 klinisch auffälligen Patienten fälschlicherweise zur weiteren Abklärung einer PH zur RHK-Untersuchung in Betracht gezogen werden, umgekehrt aber auch, dass fast einem Drittel der Exklusions-Gruppe diese Untersuchung ausgelassen werden konnte. Des Weiteren würde etwa einer von 10 PH-Patienten im Rahmen einer Risikostratifizierung übersehen werden.

Ang2 besitzt mit 87,9 % die höchste Spezifität und mit 12,1% die niedrigste Falsch-Positiv-Rate. Andererseits werden 45,7% Falsch-Negativ klassifiziert, wodurch die Diagnostik hin zur Aufdeckung einer PH verzögert wird.

Beide Werte glänzen mit hohen positiv-prädiktiven Werten von 83,8% und 94,9% innerhalb dieser symptomatischen Kohorte. Andererseits fallen die negativ prädiktiven Werte mit 44,8% und 31,5% schwach aus.

4.5 Kombination der Biomarker

Die oben genannten Biomarker wurden als kontinuierliche Variablen in Form einer multivariaten Regression zur Detektion der besten Kombination verglichen.

Dabei kristallisierten sich die beiden oben genannten Biomarker ActA und Ang2 mit der höchsten Trennschärfe mit einem grenzwertigen Signifikanzwert von 0,165. Zusätzliche Kombinationen zeigen keine Verbesserung.

Bei der binären logistischen Regression wurden nun die Cut-off Werte der Biomarker in der Kombination untersucht. Weiterhin zeigen sich die beiden Biomarker ActA und Ang2 mit Signifikanzwerten von 0,001 und 0,005 als bestes Kombinationspaar.

Abbildung 5 stellt in Form einer Vier-Felder Tafel die aus den beiden genannten Biomarkern bestehenden Kombinationspaare dar. Anhand des ermittelten Cut-off Wertes werden die Biomarker als positiv oder negativ befundet.

		ActA (1698 pg/ml)		Total
		negativ	positiv	
Ang2 (3988 pg/ml)	Negativ	17	70	87
	Positiv	10	63	73
Total		27	133	160

Abbildung 5 Vier-Felder Tafel aus ActA und Ang2 mit positiver oder negativer Aussage

Aus den ursprünglichen 231 Patientenproben sind 160 Werte sowohl für Ang2 als auch für ActA vorhanden.

Hierbei liegen bei 63 Patienten beide Biomarker-Konzentrationen über den jeweils bestimmten Cut-off Wert und sind damit als positiv befundet. Des Weiteren haben 17 Patienten jeweils Konzentrationen unter den cut-off- Werten und sind somit negativ.

Für die andere Hälfte dieser Kohorte fielen die Ergebnisse nicht einstimmig für beide Biomarker aus. Unter den insgesamt 87 Ang2-Negativen waren 70 Act-Positiv. Umgekehrt waren von den 73 Ang2-Positiven 10 Act-Negativ.

5 Diskussion

Die Pulmonale Hypertonie ist eine seltene Erkrankung mit schlechter Prognose und oftmals später Diagnose.^{18,43} Goldstandard zur Feststellung der Erkrankung ist die invasive Messung des pulmonalarteriellen Druckes mittels Rechtsherzkatheters. Bis heute konnte sich kein Verfahren zur früheren oder nicht-invasiven Befunderhebung etablieren. Den bisher untersuchten Biomarkern mangelt es an ausreichender Sensitivität und Spezifität, andere klinische Untersuchungen unterstützen bisher lediglich die rechtfertigende Indikation zur weiterführenden Rechtsherzkatheteruntersuchung.

Unter diesem Hintergrund ist die Zielsetzung dieser Dissertation die Untersuchung der diagnostischen Akkuratheit neuer Biomarker und klinischer Parameter in der Kombination.

Mit Hilfe der Receiver Operating Characteristics wurden in dieser Dissertation dreizehn bereits für die Pulmonale Hypertonie beschriebene Biomarker auf ihre Akkuratheit untersucht. Hierfür diente eine Studienkohorte aus Patienten, bei denen anhand ihrer Symptomatik die Abklärung einer PH mittels RHK durchgeführt wurde. Für die Unterscheidung dieser klinisch auffälligen Patienten zeigte sich retrospektiv sechs Biomarker mit signifikanten Unterschieden zwischen den tatsächlich PH-erkrankten Patienten und der sogenannten Exklusions-Gruppe. Im weiteren Verlauf wurden diese verbliebenen Biomarker durch die multivariate Regression zur Überprüfung ihrer diagnostischen Aussagekraft in Kombination getestet.

Hierbei zeigten die Biomarker Angiopoietin 2 und Activin A nach diesem mehrstufigen Auswahlverfahren die vielversprechendsten Ergebnisse. Unter Bestimmung des Youden-Index zur Ermittlung eines optimalen Cut-off Wertes zeigte sich wie in Tabelle 10 dargestellt für ActA die höchste Sensitivität mit 88,1% und für Ang2 die höchste Spezifität von 87,9%. Umgekehrt fallen die jeweilige Spezifität und Sensitivität für die beiden Biomarker mit respektiv 36,1% und 54,3% eher niedrig aus. Während Ang2 unter den Biomarkern die höchste AUC von 0,743 besitzt, schneidet ActA unter den signifikanten Markern mit einer AUC von 0,635 im unteren Drittel ab. Ang2 gehört nach der 2015 aktualisierten gemeinsamen Leitlinie der European Society of Cardiology und der European Respiratory Society für die Diagnose und Behandlung der Pulmonalen Hypertonie zu den Biomarkern der Gruppe der vaskulären Dysfunktion.⁴³ ActA wird in

der aktuellen europäischen Leitlinie und in einer Biomarker-Übersicht von Rosenthal nicht erwähnt.¹²⁹ Foris et al. ordnen ActA zu einer Biomarker-Gruppe zu, welche im Zusammenhang mit einer Interaktion zwischen Endothel und glatten Muskelzellen steht.⁴¹ Zwar sei bei PH-Patienten der Serumspiegel erhöht, es besäße dennoch keinen prognostischen Wert.¹⁶⁵

Ansonsten werden bis dato ActA und Ang2 nicht in der Routine-Diagnostik wie beispielsweise das BNP bestimmt.⁴³

Zu einem besseren Verständnis dieser beiden Biomarker hilft ein Einblick über deren Wirkungsweise sowie der zum Teil mit der Pulmonalen Hypertonie überschneidenden Pathophysiologie.

5.1 Zusammenhang Biomarker – Pulmonale Hypertonie

5.1.1 Angiotensin 2

Die Wachstumsfaktoren aus der Angiotensin-Familie sind zusammen mit den endothelialen Tie-Rezeptoren neben einer regulierten Entwicklung der Lymph- und Blutgefäße vor allem für die endotheliale Homöostase mit Einhaltung der Gefäßpermeabilität zuständig und spielen dementsprechend eine wichtige Rolle im Rahmen der Inflammation und der Tumervaskularisierung sowie für das Remodeling der Gefäße.³⁴ Ang2 bildet zusammen mit Ang1 und deren gemeinsamen im Endothel enthaltenen Rezeptoren Tie2 ein endothelspezifisches Signalsystem. Zur Aktivierung des Rezeptors mit ligandenspezifischer Wirkung müssen sich die jeweiligen Angiotensine mindestens in homomere Tetramere zusammensetzen.³¹ Ang2 wirkt vor allem als kompetitiver Antagonist zu Ang1. Zum besseren Verständnis wird im Folgenden zuerst die physiologische Funktion von Ang1 näher beschrieben.

Ang1 wird aus den die Gefäße umgebenden Perizyten sezerniert¹⁴⁴ und bildet zusammen mit Tie2-Rezeptor transmembranäre homomere Zellverknüpfungen zwischen den Endothelzellen.¹³⁰ Das Zusammenspiel dieses Liganden-Rezeptor-Komplexes ist wichtig für das Überleben, die Stabilisierung und die antiinflammatorische Funktion des Endothels.⁴²

Bereits in der embryonalen Entwicklung sowie postnatal wirken die Ang-Tie Komplexe am Remodeling und der Reifung der Gefäße mit. Deutlich wird dies durch Dysplasien des Lymph- und Blutgefäßsystems, welche durch Ausschalten der Gene für Ang1 oder Tie2 verursacht werden.³⁴ Umgekehrt kann eine gezielte Überexpression von Ang2 zu ähnlichen Fehlbildungen wie beim Ausfall der Gene für Ang1 und Tie2 führen, wodurch dessen gegensätzlicher Charakter zum Vorschein kommt.⁸⁶

Weiterhin relevant für die Gefäßbeschaffenheit ist der Ang1-Tie2 Komplex als Unterstützung für die Verbindung der Endothelzellen zur Extrazellulärmatrix.⁶⁷ Die Expression des für die Basalmembran benötigte Kollagen IV wird durch Ang1 stimuliert.¹⁶⁸ Als möglicher Gegenspieler des inflammatorischen TGF-beta Signalwegs scheint Ang1 einer perivaskulären Fibrose entgegenzuwirken.⁶⁷

Die Wirkung diverser permeabilitätsverstärkender Mediatoren wie unter anderem VEGF wird durch Ang1 unterdrückt, indem es beispielsweise die über hierüber verursachte Leckage der Gefäße reduziert und die Barrierefunktion des Endothels verbessert.⁴⁷

Ang1 schränkt die über den Vaskulären Endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) vermittelte Transmigration und Adhäsion von Leukozyten ein,⁴⁶ indem es zu einer Verringerung der Expression hierfür benötigter Proteine wie das Interzelluläre Adhäsionsmolekül 1 (ICAM1), Vaskuläre Zelladhäsionsmolekül 1 (VCAM1) und E-Selectin führt.⁷¹ Zusätzlich hemmt der Ang1-Tie2 Komplex in Zusammenarbeit mit dem Krüppel-like-Factor 2 weitere über VEGF gesteuerte Entzündungsmechanismen.¹³²

Insgesamt stellt sich die Funktion von Ang1 in den unterschiedlichen Aspekten eines intakten Gefäßsystems dar und verdeutlicht damit die zumeist konträre Wirkung zu Ang2.

Erhöhte Ang2- mit meist umgekehrt erniedrigten Ang1- und Tie2-Werten finden sich sowohl bei Tumorerkrankungen als auch bei Erkrankungen mit charakteristischer Endothelzellen-Aktivierung, erhöhter Permeabilität, Gewebsödem, verminderte Gewebsdurchblutung und Hypoperfusion wie beispielsweise der Sepsis.³⁴

Als kompetitiver Antagonist führt Ang 2 zu einer wesentlichen Abschwächung der Wirkung des Tie2-Rezeptors durch Einschränkung der für die Reaktion benötigten Phosphorylierung.⁸⁵

Ang2 ist in den Weidel-Palade-Körperchen in den Endothelzellen gespeichert⁴⁰ und wird durch Aktivierung der Endothelzellen, beispielsweise im Rahmen entzündlicher Prozesse durch Zytokine wie VEGF, oder bei Hypoxie ausgeschüttet.⁸⁷ Ebenso wird es bei der

Gefäßneubildung an den vorderen Zellen von sprießenden Gefäßen verstärkt exprimiert.¹⁴⁹

Die über den Ang1-Tie2 Komplex vermittelte Stabilisierung des Endothels wird demnach durch erhöhte Ang2 Expression abgeschwächt.³⁴

Steigende Ang2 Werte während der Embryogenese und in Tumoren stehen in Verbindung zu Behinderungen der Kontakte der Endothelzellen untereinander und mit der Basalmembran.⁶¹

Ang2 wird in inflammatorischen Prozessen für die über TNF-alpha getriggerte Adhäsion von Leukozyten auf dem Endothel benötigt.³⁸ Des Weiteren kommt es bei Hypoxie durch Leukozytenmigration in der Lunge zur Leckage der pulmonalen Gefäße mit Entwicklung eines Lungenödems sowie zu Inflammation und Nekrose.⁹ Das bei Entzündung provozierte Remodeling der in der Mukosa befindlichen Kapillaren zu Venolen scheint durch Ang2 wesentlich beeinflusst zu werden.¹⁴⁷

Ebenso sind erhöhte Werte neben der Inflammation auch bei der Angiogenese und Metastasierung einiger Tumore bekannt.¹³¹ In diesem Fall fungiert Ang 2 in Tumorgefäßen als direkter Agonist für Tie2 als Ersatz für den in diesem Milieu nur unzureichend verfügbaren Ang1, um damit Bestehen und die Proliferation des Tumorendothels zu gewährleisten.³⁰ Die gezielte Blockade von Ang2 zeigt einen inhibitorischen Einfluss auf das Wachstum und die Ausbreitung von Gefäßen bei Tumoren. Neben der Normalisierung der Gefäße wird zusätzlich die Anzahl der für die Sekretion von Ang1 zuständigen Perizyten erhöht und zugleich die Bindung zwischen den Endothelzellen verstärkt.³⁶

Kümpers et al. wiesen passend zu den in dieser Arbeit gezeigten Messungen erhöhte Ang2-Werte bei Patienten mit IPAH nach. Hierbei bestand einerseits eine Korrelation mit der nach der WHO-Klassifikation orientierten Schwere der Erkrankung sowie eine im Vergleich zum nt-pro-BNP-Wert stärkerer Zusammenhang mit hämodynamischen Parametern wie mPAP, PVR, HZV, Cardiac index und venöser Sauerstoffsättigung. Zusätzlich besitzt Ang 2 eine potenzielle unabhängige Aussagekraft bezogen auf die Mortalität. Der pathophysiologische Zusammenhang zur PH wird in der Aktivierung des Tie2 Rezeptors vermutet. Dieser führe zur Abschwächung des Bone Morphogenic Protein-Signalweges mit gleichzeitiger Serotonin-Stimulierung und konsekutiver Proliferation der glatten Muskulatur in Endothelzellen der Pulmonalarterien. Außerdem

war die Expression von Ang2 nachweislich in plexiformen Läsionen im Vergleich zu unveränderten Arteriolen der Lunge erhöht.⁷⁸

Die Tabellen 11 und 12 stellen einen Auszug aus Tabelle 7 und 9 dar und zeigen die ermittelten Werte für Ang2.

Tabelle 11 Auszug aus Tabelle 7 mit den ermittelten Ang2 Durchschnittswerten unserer Studienkohorte mit Diagnose bzw. Ausschluss einer PH

Biomarker	Exklusion in pg/ml	PH allgemein in pg/ml
Ang2	2615,0 (1586,7)	4272,1 (4860,3)

Tabelle 12 Auszug aus Tabelle 9 mit den für Ang 2 ermittelten Werte, hierbei auf die einzelnen PH-Gruppen und der Exklusionsgruppe getrennt

Name	PAH pg/ml	PVH pg/ml	CTEPH pg/ml	Exklusion pg/ml
Ang2	4229,6 (5161,8)	5337,9 (7570,1)	3790,9 (3193,8)	2615,0 (1586,7)

In der von Kämpers geleiteten Untersuchung waren die Ergebnisse für Ang2 bei IPAH um mehr als das Vierfache zur Kontrollgruppe erhöht (6.5 (5.1–7.7) vs. 1.6 (0.8–2.3) ng/ml).⁷⁸ Im Gegensatz hierzu werden die in dieser Arbeit ermittelten Werte in pg/ml angegeben. Im Vergleich waren die Werte unserer Exklusionsgruppe erhöht, was darauf zurückzuführen ist, dass das Kollektiv aufgrund von passenden klinischen Symptomen einer möglichen PH von vornherein nicht als gesunde Kontrollgruppe zu Debatte stand. Umgekehrt sind die Werte des PH-Gesamtkollektivs im Median niedriger als der Durchschnitt der Kämpers-Studie.

Auch in der Betrachtung der einzelnen PH-Gruppen unserer Messungen ist der Durchschnitt der IPAH Gruppe aus der Kämpers-Messung weiterhin höher. Der direkte Vergleich mit unserer PAH Gruppe zeigt auch hier einen größeren Messwert (6,5ng/ml zu 4229,65 pg/ml). Beiden Studien gemeinsam ist die Schlussfolgerung eines signifikanten Unterschiedes zwischen einer PH und der Vergleichsgruppe.⁷⁸

5.1.2 Activin A

Activin A spielt eine wichtige Rolle in der Entwicklung des Herzkreislaufsystems und der Herzmuskulatur¹¹ sowie in der Synthese von Surfactant, in der Hämostase, Fibrosierung und Sklerosierung.^{2,89} Als Mitglied der TGF-beta Familie ist es an Prozessen des Gewebsumbaus und der Entzündung beteiligt.¹⁶⁵ Die mRNA des Activin Typ IIB Rezeptors ist in Endothelzellen nachweisbar.¹²⁶ Des Weiteren scheint ActA unter anderem für die Induktion von ANP, BNP und MMP9 während des Heilungsprozesses nach einem Herzinfarkt relevant zu sein und spielt dementsprechend eine Rolle in der Entwicklung einer Herzinsuffizienz und des myokardialen Remodeling.¹⁶⁶ Weiterhin besitzt es eine kardioprotektive Wirkung durch seinen hemmenden Einfluss auf die Apoptose von Myokardzellen.¹⁰⁴

ActA kann die Proliferation von Fibroblasten stimulieren und lässt sich in bronchialen Epithelzellen und den glatten Muskelzellen der Pulmonalgefäße nachweisen.^{88,102} Eine erhöhte Expression führt ähnlich dem bei der akuten Lungenverletzung bekannten pathologischen Muster zu einer entzündlichen Reaktion mit Zelltod der Alveolarzellen, verminderter Surfactant-Produktion, Verminderung der Lungencompliance, die Induktion eines systemischen prokoagulatorischen Zustandes und irreversible Fibrose.²

Yndestad et al. untersuchten Activin A bei PH-Patienten. Für die PH wurde hierbei unter anderem eine Korrelation zur Mortalität festgestellt. Immunhistochemisch lässt sich ActA vor allem in Alveolarmakrophagen und bronchialen Epithelzellen sowie eine erhöhte mRNA Expression im Lungengewebe bei PH nachweisen. Im Tierversuch zeigte sich nach zweiwöchiger Hypoxie ein signifikanter Anstieg der Expression der ActA-beta-Untereinheit sowie dessen Rezeptor ActA II in der Lunge. Mit dem Nachweis von ActA in Alveolarmakrophagen wird die inflammatorische Komponente der PH ersichtlich.¹⁶⁵ Die Behandlung von glatten Muskelzellen der Pulmonalarterie mit ActA provoziert deren Proliferation, mit Anstieg des für das vaskuläre Remodeling mitverantwortliche Plasminogen-Activator Inhibitor Typ 1.^{165,59,23} Der ActA-PAI1 Signalweg könnte unter anderem für die Thrombenbildung verantwortlich sein,¹⁶⁵ dessen Pathomechanismus in Form der Chronisch-Thromboembolischen Variante eine eigenständige Entität innerhalb der PH darstellt.⁴³ Des Weiteren wurde die Zunahme der Endothelin 1 Expression beobachtet, welcher ebenfalls für seine Mitwirkung an der Pathogenese der PH bekannt

ist.⁴⁴ Endothelin 1 verursacht über seinen ETa Rezeptor eine Vasokonstriktion, welche für die Pathophysiologie der PH eine maßgebliche Rolle spielt. Die bestehende Korrelation zwischen ActA und Endothelin 1 konnte hierbei aufgezeigt werden.¹⁶⁵

Tabelle 13 zeigt den Ausschnitt aus bereits in Tabelle 7 bekannten von uns ermittelten Werte von ActA für die Gruppen PH bzw. Ausschluss. Tabelle 14 geht als Ausschnitt aus Tabelle 9 auf die einzelnen Gruppen ein.

Tabelle 13 Auszug aus Tabelle 7 mit den ermittelten ActA Durchschnittswerten der Studienkohorte mit Diagnose bzw. Ausschluss einer PH

Biomarker	Exklusion in pg/ml	PH allgemein in pg/ml
ActA	2189,05 (1556,6)	2698,80 (1472,58)

Tabelle 14 Auszug aus Tabelle 9 mit den für ActA ermittelten Werte, hierbei auf die einzelnen PH-Gruppen und der Exklusionsgruppe getrennt

Name	PAH pg/ml	PVH pg/ml	CTEPH pg/ml	Exklusion pg/ml
ActA	2866,60 (1300,3)	3046,60 (1310,2)	2453,5 (1211,3)	2189,05 (1556,6)

Die Studie von Yndestad setzt einen Grenzwert zwischen der Kontrollgruppe und den PH-Erkrankten von etwa 600 pg/ml.¹⁶⁵ Die in Tabelle 13 und 14 dargestellten Werte sind im Vergleich mit mehr als dem dreifachen Faktor wesentlich höher. Auch hier lässt sich der immense Unterschied der Kontrollgruppen beider Studien wieder auf den Vergleich zwischen der gesunden Kontrollgruppe aus der Yndestad-Studie und der symptomatischen PH-Exklusionsgruppe aus dieser Arbeit zurückführen.

5.1.3 Angiopoietin 2 und Activin A

Ein gemeinsamer Zusammenhang dieser beiden Biomarker wurde von Nagamine et al. erforscht. In Tierversuchen zur hämatopoetischen und vaskulären Grundlagenforschung konnte unter der Behandlung mit Activin und Ang2 in der Kombination, nicht jedoch unter alleiniger Activin-Gabe, die Differenzierung von Gewebeproben zu Endothelzellen mit verstärkter Expression vaskulärer Gene wie beispielsweise von VEGF beobachtet

werden. Die Autoren diskutieren hierbei das nötige Zusammenspiel beider Biomarker, wobei wohl initial durch Activin die Gewebeprobe in einen mesodermalen Zustand versetzt werden mussten, damit im nächsten Schritt mit Hilfe von Ang2 eine weitere Differenzierung zu Endothelzellen erfolgen kann.⁹⁷

Leider ist in dieser Untersuchung lediglich die Rede von Activin, ohne konkret auf eine der drei Formen (Activin A, B, AB) einzugehen.

Greulich et al. untersuchten die Auswirkung von durch epikardiales Fettgewebe sezernierten Faktoren auf die Entwicklung einer Dysfunktion der Kardiomyozyten mit Insulinresistenz im Rahmen einer diabetischen Vorerkrankung. Es zeigte sich hierbei eine Akkumulation unter anderem von ActA und Ang2 mit reduzierter Kontraktilität der Kardiomyozyten. Gaben von rekombinanten ActA und Ang2 führten zu einer reduzierten Expression von SERCA2a und einen damit einhergehenden verringerten Kalzium-Einstrom in Kardiomyozyten, welche durch Antagonisierung von ActA reversibel war.⁵¹

Ein Zusammenhang zwischen einer bei der Erstdiagnose einer Pulmonalen Hypertonie bestehenden Glukoseintoleranz ohne vorher bekannten Diabetes mellitus wurde bereits beobachtet.¹¹⁶ Der HbA1c-Wert zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einer Pulmonalen Hypertonie bewährte sich als unabhängiger prognostischer Marker der Fünf-Jahres-Mortalitätsrate mit Korrelation zum Herzinsuffizienzmarker BNP.⁷

Ansonsten wurde ein gemeinsamer Zusammenhang der beiden Biomarker mit der Pulmonalen Hypertonie nach unserem Kenntnisstand bis dato nicht erforscht.

5.1.4 Bezug zur Pathophysiologie der Pulmonalen Hypertonie

Die pathophysiologischen Aspekte der beiden Biomarker in den Bereichen der Inflammation, des Remodellings der Gefäße und der Proliferation spiegeln sich auch bei der Pulmonalen Hypertonie wider.¹⁵⁸

Für die Pulmonale Hypertonie kennzeichnend ist eine Reduktion der Pulmonalgefäße mit Verlust präkapillärer Arterien sowie obstruktive Veränderungen und eine damit einhergehende konsekutive Erhöhung des pulmonalarteriellen Druckes und Gefäßwiderstandes, wodurch es im Verlauf zur Abnahme der rechtsventrikulären Funktion bis hin zum Rechtsherzversagen kommt.⁶⁴

Zu dieser ursprünglichen Vorstellung der Genese der Pulmonalen Hypertonie auf Grund einer hypoxischen Vasokonstriktion und eine durch Scherkräfte verursachte

Endothelschädigung wurde das pathophysiologische Verständnis um die Aspekte „cell phenotype switch“, „apoptosis resistance“ und „angiogenic niche“ erweitert.^{118,158}

In den pulmonalen Gefäßwänden sammeln sich diverse Zellen wie glatte Muskelzellen, Endothelzellen, Fibroblasten und die Ang1 sezernierenden Perizyten an. Zusätzlich besteht eine verstärkte perivaskuläre Migration bestehend aus Entzündungszellen wie unter anderem Lymphozyten, Mastzellen, dendritische Zellen und Makrophagen.

Im Rahmen der endothelialen Dysfunktion nimmt die Fähigkeit zur endothelabhängigen Vasodilatation ab.⁶⁴ Neben einer verstärkten Vasokonstriktion besteht hierbei zudem einerseits eine Verminderung der antikoagulatorischen Wirkung und zusätzlich eine verstärkte Expression von Adhäsionsmolekülen wie E-Selectin, ICAM1 und VCAM1, welche im Zusammenhang mit dem inflammatorischen Zustand des Endothels stehen.^{64,57}

An dieser Stelle sei erneut auf die kompensatorische Wirkung des von Perizyten sezernierten Ang1 durch Hemmung dieser Adhäsionsmoleküle hingewiesen, welche bei einem Überschuss an Ang2 als kompetitiven Antagonisten nicht mehr vollends zum Tragen kommt.⁷¹ Interessanterweise wurde zwar eine verstärkte Ummantelung der distalen Pulmonalarterien mit Perizyten im Zusammenhang mit dem vaskulären Remodelling bei PAH beschrieben,¹²⁴ hierbei scheint jedoch eine eingeschränkte Interaktion zwischen den Perizyten und dem Endothel diesem eigentlich protektiven Effekt der Gefäßstabilisierung zuvor zu kommen.¹⁶⁷ Stattdessen üben die Perizyten eine Wirkung auf die Endothelproliferation, Kontraktion der glatten Muskulatur der Gefäßwände und auf die Funktion der Immunzellen aus. Zusätzlich scheinen sie als Progenitorzelle sogar in der Lage zu sein, sich selbst in eine Art glatte Muskelzelle oder dendritische Zelle zu differenzieren.⁶³

Als pathologisches Korrelat sind für die Pulmonale Hypertonie die sogenannten plexiformen Läsionen der Pulmonalarterien bekannt,⁶⁸ welche unabhängig von einer idiopathischen oder sekundären Genese einen ähnlichen Aufbau haben.¹¹⁸

In Analogie zu neoplastischen Veränderungen bei onkologischen Erkrankungen beschreiben Rai et al. diesen Zustand auf Grund der aktiven und unkontrollierten Proliferation der Endothelzellen mit ausbleibender Apoptose bei schwerer Pulmonaler Hypertonie als „quasi-maligne“ mit Neoplasie-artigen Veränderungen. Hierbei werden unter anderem neben dem Ausfall von Tumorsuppressorgenen auch Infektionen und Entzündungen als mögliche Auslöser in Betracht gezogen. Zwar zeigt sich in der Behandlung der hypoxisch bedingten vasokonstriktiven Komponente der PAH meistens

ein gutes Ansprechen auf die Therapie, bei hochgradigen Krankheitsverläufen wird eine durch Zellkonglomerate verursachte Obliteration der Gefäße als möglicher Grund therapieresistenter Progression vermutet.¹¹⁸ Eine „Neointima“ unter anderem bestehend aus proliferierenden glatten Muskelzellen, apoptoseresistenten Endothelzellen und Immunzellen wie Dendritische Zellen^{113,114} scheint für die zunehmende Gefäßokklusion verantwortlich zu sein.^{153,158,66}

Sowohl für die entzündlich bedingte als auch im Rahmen eines tumorösen Wachstums bestehende Angiogenese spielt der Vaskuläre Endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) eine relevante Rolle.^{143,92} VEGF lässt sich ebenfalls in plexiformen Läsionen nachweisen. Die in den plexiformen Läsionen beherbergten Mastzellen sind auch für ihr Potenzial zur Produktion von Wachstumsfaktoren bekannt, weshalb die plexiformen Läsionen als eine Art „Stammzell-Nische“ beschrieben werden.¹⁵²

Es besteht ein bekannter Zusammenhang zwischen der Transforming Growth Factor beta Superfamilie und der Pulmonalen Hypertonie.^{43,65} Unter anderem haben Vertreter dieser Gruppe einen Einfluss auf die Chemotaxis, Hemmung der Apoptose und die Regulierung vasoaktiver Peptide und Wachstumsfaktoren. Mutationen des „Bone Morphogenetic Proteins Rezeptor Typ 2“ sind bei 60% der familiären PAH und bis zu 30% der idiopathischen PAH zu finden.⁶⁵

Als Trigger für mehrere pathologische Schritte der Pulmonalen Hypertonie wirkt zudem der zu dieser Familie zugehörige ActA. Dieser Biomarker selbst führt zu einer Proliferation der glatten Muskelzellen der Pulmonalarterien sowie zu einer über Alveolarmakrophagen vermittelten Entzündungsreaktion. Weiterhin scheint ActA über die Aktivierung von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1 Thrombosen zu begünstigen.¹⁶⁵ Über Endothelin 1 wird zudem eine charakteristische Vasokonstriktion herbeigeführt,^{44,165} dessen Wirkmechanismus bereits in der pharmakologischen Therapie etabliert ist.^{43,27}

5.2 Interpretation der Ergebnisse

Von den ursprünglichen 231 Patienten waren von 160 Patienten die gemessenen Werte für ActA und Ang2 verfügbar. Anhand des Cut-off Wertes zeigen sich für 80 Patienten eindeutige Zuordnungen: Hiervon wurden 63 Patienten durch beide Biomarker als eindeutig erkrankt und umgekehrt 17 Patienten eindeutig negativ eingeteilt. Die Ergebnisse der anderen Hälfte der untersuchten Kohorte fallen nicht eindeutig aus, d.h. das jeweils einer von beiden Biomarker negativ oder positiv war.

Anhand dieses Ergebnisses kommt die Überlegung auf, in welcher Form diese Biomarker interpretiert werden sollen bzw. welche Konsequenzen gezogen werden. Folgende Szenarien ergeben sich hieraus:

- 1) Beide Merkmale werden zusammen bestimmt und müssen eindeutig sein. In diesem Fall würden die positiven Ergebnisse sowohl von ActA als auch von Ang2 für die Durchführung eines Rechtsherzkatheters sprechen, anderenfalls sollten weitere diagnostische Schritte vorangestellt werden.
- 2) Die Merkmale werden stufenweise herangezogen. Anhand eines Algorithmus sollte zuerst einer der beiden Biomarker bestimmt werden. Bei einem auffälligen Ergebnis, oder als Kontrolle, wird anschließend der nächste Wert gemessen.
- 3) Beide Biomarker werden bestimmt mit der Bedingung, dass mindestens einer positiv ausfällt und somit ein RHK indiziert wäre.

Für das zweite Szenario müssen unterschiedliche Situationen in Betracht gezogen werden:

- 2.1) Im Rahmen eines einfachen Screening-Verfahrens, beispielsweise in der primärärztlichen Versorgung bei der Abklärung einer Dyspnoe, welcher ein häufiger Vorstellungsgrund bei mannigfaltiger Genese ist,⁸ sollte der Marker mit der höchsten Spezifität zum Screening genutzt werden mit einer weiteren Kontrollbestimmung bei auffälligem Befund, um möglichst viele Gesunde richtig zu erkennen.
- 2.2) Für eine Risikostratifizierung, zum Beispiel bei Hoch-Risiko-Patienten unter intensiv-medizinischer Versorgung sollte der Biomarker mit der höchsten Sensitivität genutzt werden, um möglichst viele Erkrankte richtig zu erkennen.

Ein Test mit hoher Sensitivität wird genutzt, um eine Erkrankung mit hoher Wahrscheinlichkeit auszuschließen.⁵⁵ Dieser würde zwar die meisten Richtig-Erkrankten erfassen, dafür aber bei einer niedrigen Spezifität die Nicht-PH-Erkrankten zu falschen weiteren Untersuchungsschritten bis hin zur unnötigen Durchführung eines Rechtsherzkatheters und damit möglicherweise Verzögerung der Diagnostik und Behandlung führen. Grundsätzlich eignet sich dieses Setting einerseits für Untersuchungen, bei denen ein nicht notwendiges medizinisches Verfahren bei einem Patienten zu vertreten ist, andererseits auch für ein Patientenkollektiv, bei dem alle Erkrankten zur rechtzeitigen Diagnose und Therapieeinleitung erfasst werden müssen und hierfür in Kauf genommen wird, einen Nicht-Erkrankten fälschlicherweise zu therapieren.

Ähnlich verhält es sich zum Pendant mit einer hohen Spezifität, welcher eine Krankheit mit hoher Wahrscheinlichkeit bestätigen soll.⁵⁵ Dieser Test würde die meisten Nicht-PH-Patienten erkennen, aber bei einer niedrigen Sensitivität tatsächlich Erkrankte falsch negativ bewerten und somit die Diagnostik und den Beginn einer Therapie verzögern. Entsprechend fungiert diese Variante für Diagnostik- und Therapieentscheidungen, zu denen Patienten nur gewissenhaft geraten werden sollten oder wenn der Zustand des Patienten eine vorausgehende anderweitige diagnostische Abklärung zulässt.

In diesem Sinne eignet sich Setting Nr. 2.1 im Rahmen eines erstmaligen Screenings bei klinisch weitgehend gesunden Patienten mit anfänglicher Symptomatik und etwaiger Risikofaktoren, beispielsweise in der primärärztlichen Versorgung. Vor allem sollten die betroffenen Patienten in der klinischen Verfassung sein, eine verspätete Diagnose und Therapie zu verkraften.

Umgekehrt sollte Setting Nr. 2.2 angewendet werden, um bei schwer erkrankten Patienten, beispielsweise unter intensivmedizinischer Betreuung, ein Argument zur weiteren Diagnostik mit daraus schließender Therapieumstellung zu gewährleisten.

Die Auswertung der eindeutigen Zuordnungen zeigt, dass aus den 160 Patienten 10,6% und 39,4% eindeutig als PH-negativ oder PH-positiv zu interpretieren sind. Ausgehend von den 51 bekannten Patienten der Exklusionsgruppe mit der ursprünglichen Kohortengröße von 231 Patienten sollte ein Anteil von etwa 22% an PH-negativen

Patienten zu erwarten sein. Umgekehrt betrifft dies auch den Anteil an PH-bekanntem Patienten, der ebenso etwa dem doppelten der aus dem eindeutigen Ergebnis erzielten Quote entspricht.

Interessant bleiben die übrigen 80 Patienten, bei denen das Ergebnis nicht eindeutig war. Im Folgenden werden mit Hilfe der Abbildungen Nr. 6 und 7 die eben erwähnten Modelle dargestellt, welche als Stufenverfahren unter bestimmten Umständen in Frage kommen könnten.

5.2.1 „Hausarzt-Setting“

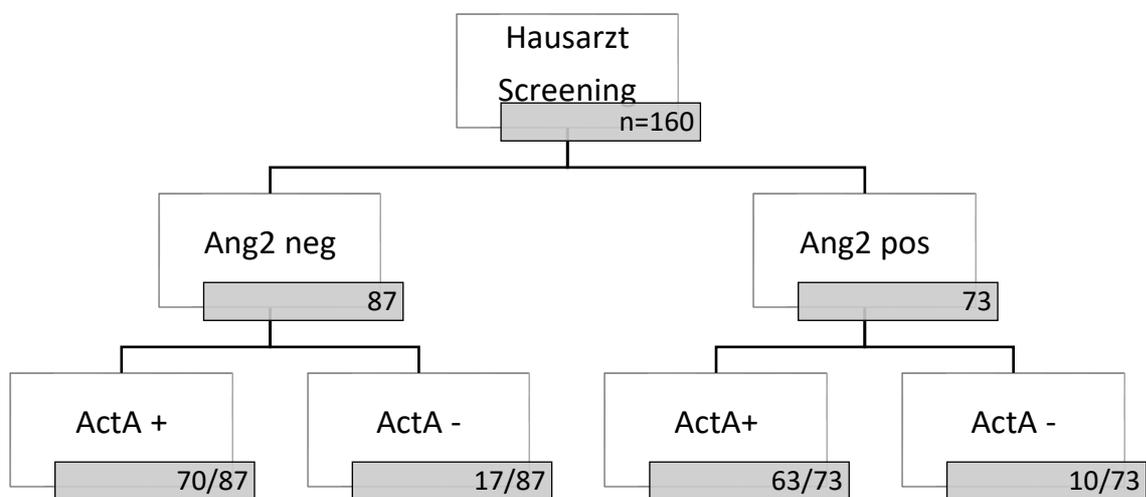


Abbildung 6 Hausarzt-Screening unter initialer Verwendung des Biomarkers Ang2 mit der höchsten Spezifität

Im Szenario des Hausarzt-Screenings (Abbildung 6) soll bei Patienten mit entsprechender Klinik eine PH ausgeschlossen werden.

Zu Beginn wurde der Biomarker Ang2 mit der höchsten Spezifität bestimmt. Hierbei sollte bei positiver Messung ein weiterführender Ausschluss mit dem nun hochgradigen Verdacht auf eine PH weiterverfolgt werden. In der ersten Runde wurden 87 von 160 Patienten bzw. etwa 54% negativ bewertet. Der Anteil der Nicht-PH-Erkrankten in der Gesamtkohorte liegt etwa bei 22%, womit diese erste Testung den tatsächlichen Anteil erheblich übersteigt. Der ermittelte negativ-prädiktive Vorhersagewert (NPV) von Ang2

liegt bei 31,5%, d.h. dass umgekehrt knapp 70% der Testungen falsch negativ ausfallen sollten.

In der zweiten Messrunde werden aus den 87 Negativen nur 17 Patienten durch die Bestimmung des ActA-Wertes zusätzlich als negativ bewertet. Diese 19,54% aus der zweiten Untersuchung kommen dem Anteil der Gesamtverteilung an Exklusion-Patienten von 22% nahe.

Mit dem Ziel, dass ein hoch spezifischer Test eine Erkrankung bestätigen soll, wäre ein positives Ergebnis eine Empfehlung zur weiteren Abklärung einer möglichen PH. Falls dieser Screening-Test positiv ausfallen sollte, wie es in dieser Konstellation bei 73 von 160 Patienten eintritt, würde das Ergebnis weitgehend durch die Testung mit ActA bestätigt werden. Aus den 73 Positiven der ersten Runde wurden 86,3% zusätzlich von ActA als positiv bewertet. Dieser Wert liegt unter dem positiv-prädiktivem Vorhersagewert (PPV) von Ang2 mit 94,9% und zeigt somit, dass weiterführende laborchemische Bestimmungen der Biomarker in diesem Fall nicht zielführend sind und nun eine weiterführende apparative Diagnostik angezeigt ist.

Ein großzügiges Screening nach PH bei den anfänglichen unspezifischen Symptomen schlägt sich bei der niedrigen Prävalenz in den Kosten der Diagnostik nieder, beispielsweise durch Bestimmung dieser nicht routinemäßigen Biomarker. Sie käme aber andererseits einer frühen Diagnostik mit Reduktion einer möglicherweise langjährigen Diagnosedauer und damit verspäteter Therapieeinleitung entgegen.¹⁴⁰ Bei asymptomatischen Patienten aus Erkrankungsgruppen mit höherer Prävalenz für PH könnte diese Form des Screenings mit Hilfe dieser Biomarker ergänzt werden.

5.2.2 Setting „Risikostratifizierung“

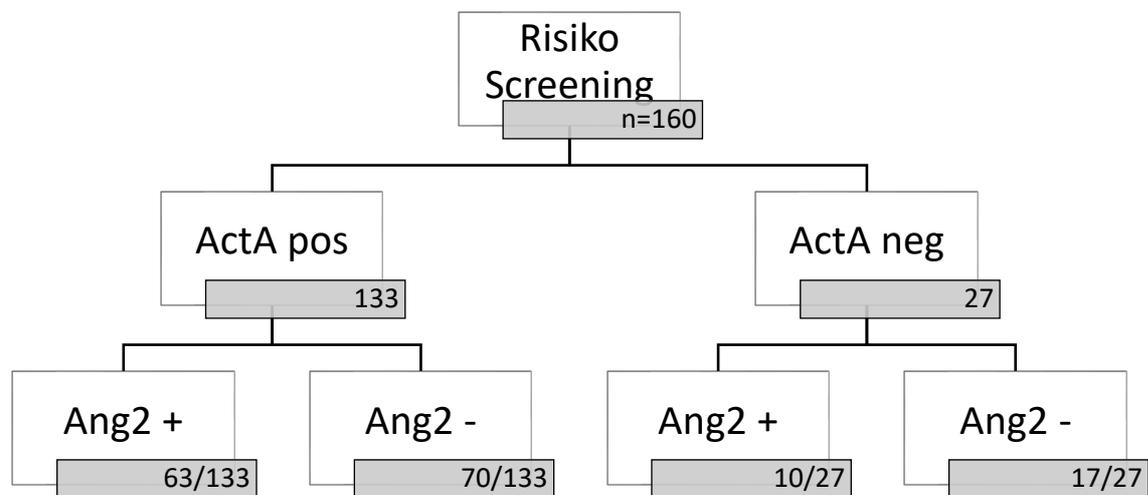


Abbildung 7 Risiko-Screening unter initialer Verwendung von ActA als Biomarker mit der höchsten Sensitivität

In Szenario der Risikostratifizierung (Abbildung 7) wurde zuerst mit ActA mit einer Sensitivität von 88,1% getestet.

Der Anteil der PH erkrankten unter den ursprünglichen 231 Patienten liegt in etwa bei 78%.

In der ersten Runde wurden 83,125% positiv getestet. Dieser Wert liegt der bekannten Prävalenz von etwa 78% für PH in dieser Kohorte nahe.

Der PPV von ActA liegt bei 83,7%, auch hier ist der NPV mit 44,8% niedrig.

Die weitere Untersuchung mit Ang2 fällt zwiespältig aus: aus den 133 Positiven sind nur etwa 47,4% weiterhin positiv, die anderen 52,6% fallen negativ aus.

Ziel dieser Stufendiagnostik mit ActA als höchsten sensitiven Biomarker sollte es sein, innerhalb einer Risikogruppe möglichst alle PH-Erkrankten zu erfassen und umgekehrt eine Erkrankung auszuschließen. Wichtig ist es nun, aus der Gruppe der negativ getesteten die Falsch-Negativen zu extrahieren. Eine Sicherheitsüberprüfung mit Ang2 fällt bei weiteren 10 der 27 Negativ getesteten positiv aus.

Als Dritte Möglichkeit verbleibt die Variante, dass bei gleichzeitiger Testung beider Biomarker mindestens einer positiv ausfallen soll. Hierbei trifft dies auf 143 der 160 getesteten Patienten zu. Mit 89,4% übersteigt dieser Wert dem Anteil an PH-Patienten

von 78% aus den ursprünglichen 231 Patienten und weist somit einen hohen Anteil an falsch positiven Testungen auf.

Unklar ist, wie hoch tatsächlich der Anteil der Erkrankten innerhalb der einzelnen Testungen ist. Somit lassen sich für diese Modelle vorerst keine näheren Angaben zu Sensitivität, Spezifität, positiven und negativen prädiktiven Wert machen. Die Frage bleibt offen, ob die beiden eindeutigen Ergebnisse, jeweils doppelt positiv oder negativ, auch einen sicheren Rückschluss auf die Diagnose zulassen.

Eine Herausforderung in dieser Dissertation ist die Optimierung bzw. Verbesserung der Aussagekraft der beiden Biomarker hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität. Zou et al. untersuchten im ähnlichen Kontext bei radiologischen Untersuchungen dieses Phänomen bei wiederholten Testungen und zeigten, dass bei der Kombination „beide Tests positiv“ im Vergleich zur Einzeltestung die Spezifität zunahm, aber umgekehrt die Sensitivität abnahm. In der Kombination „Testung 1 oder 2 ist positiv“ nahm im Vergleich zur Einzeltestung umgekehrt die Sensitivität zu mit einer Abnahme der Spezifität.¹⁷¹

Interessant ist, dass bei einer Mehrfachtestung mit mehr als zwei Wiederholungen für das Mehrheits-Prinzip die Sensitivität und Spezifität zunahmen. Laut der multivariaten und binären logistischen Regression würde jedoch in dem hier genutzten Modell die Nutzung eines weiteren von uns untersuchten Biomarkers keinen Benefit bringen.

5.3 Limitation

Die in dieser Studie untersuchte Kohorte besteht aus Patienten, bei denen der klinische Zustand eine Indikation zur Abklärung einer PH mit Hilfe eines Rechtsherzkatheters rechtfertigte. Folglich beschränken sich die durchgeführten Untersuchungen allein auf die Aussagekraft der Biomarker zur Unterscheidung einer Pulmonalen Hypertonie von anderen symptomatischen Patienten. Die signifikanten Erhöhungen der Biomarker im Vergleich zu gesunden Probanden wurden im Einleitungsteil dieser Dissertation mit ihren jeweiligen Publikationen dargestellt. Somit besteht die hier genutzte Kontrollgruppe „Exklusion“ nicht aus gesunden Patienten. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, dass die erhobenen Werte der Biomarker im Rahmen anderer Ursachen erhöht sind. Dafür ermöglicht dieser Vergleich jedoch die Unterscheidung bei Patienten mit den unspezifischen Leitsymptomen einer PH zu anderen Erkrankungen, die zu respiratorischen und kardiovaskulären Problemen führen. Das Potential für das vorsorgliche Screening, beispielsweise bei Risikogruppen wie etwa Angehörige von PH-Erkrankten oder Patienten mit anderen Grunderkrankungen sollte in weiteren Studien untersucht werden.

Die schwer zu interpretierenden, nicht eindeutigen Ergebnisse, die immerhin bei der Hälfte der Kohorte zu finden sind, könnten unter Zuhilfenahme von weiteren Untersuchungen ergänzt werden. Beispielsweise kam in der multivariaten Analyse als dritter Biomarker TIMP1 in Betracht. In dieser dreifachen Kombination bestand jedoch ein Signifikanzwert von 0,62, wodurch diese Möglichkeit keinen weiteren Vorteil erbrachte und somit nicht weiterverfolgt wurde.

Die Untersuchungen in dieser Studie haben sich nur auf die Aussagekraft und Kombination der hier neu vorgestellten Biomarker beschränkt. Kombinationsmöglichkeiten mit anderen bekannten klinischen Parametern wurden nicht weiter untersucht. Beispielsweise haben Bonderman et al. für einen noninvasiven Algorithmus die Kombination der für die Diagnostik essentiellen Echokardiografie und dem bereits etablierten BNP⁴³ sowie im darauffolgenden Schritt Anzeichen einer Rechtsherzbelastung im EKG untersucht und hierbei eine Spezifität von immerhin 19,3% generiert.¹³

Der Vergleich des Sechs-Minuten-Gehtests zwischen PH und Exklusion zeigte in der Kohorte keinen Unterschied zwischen diesen Gruppen, weshalb das Heranziehen dieser Untersuchung nicht weiter zielführend ist. Weitere Möglichkeiten beispielsweise mit lungenspezifischeren und ebenso problemlos verfügbaren Untersuchungen wie der Lungenfunktion oder der Spiroergometrie könnten nach diesem Vorbild durchgeführt werden.

Ein weiteres Problem besteht bei der Übertragung des Ergebnisses dieser Studie auf die Gesamtbevölkerung. Zu bemängeln ist demnach der vergleichsweise kleine Anteil der Exklusionsgruppe, womit die Prävalenz, welche letztendlich die Parameter Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert stark beeinflusst, in dieser Studienkonstellation für die PH sehr hoch ausfällt. In dieser Studienkohorte lag die Prävalenz für PH bei etwa 78%, wobei die eigentliche Prävalenz auf etwa 97 pro Millionen geschätzt wird.⁴³ In weiteren Studien muss deshalb die externe Validität dieser Ergebnisse überprüft werden.

Die positiven prädiktiven Werte für ActA und Ang2 fallen mit jeweils 83,7% und 94,9% hoch aus. Umgekehrt sind die negativ prädiktiven Werte mit 44,8% und 31,5% nicht praktikabel.

Eine Zunahme der Prävalenz erhöht den PPV und senkt den NPV. Mit Abnahme der Prävalenz kehren sich diese Effekte um.¹⁰⁸ Mit diesem Verständnis lassen sich die hohen PPV und niedrigen NPV für diese Kohorte mit hoher Prävalenz für PH herleiten.

Die in dieser Studie ermittelten hohen PPV bei einer künstlich erzeugten hohen Prävalenz legen nahe, dass eine Testung mit diesen Biomarkern bei Patienten mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung einer PH sinnvoll erscheint. Die Verwendung als Screening-Verfahren zum sicheren Ausschluss einer PH sollte in weiteren Studien mit einer realitätsnäheren Kohorte mit niedrigerer Prävalenz untersucht werden.

Beispielhaft für die aktuell praktizierte Verwendung dieser statistischen Überlegungen sei die Messung des D-Dimeres genannt. Dieser wird zum sicheren Ausschluss einer tiefen Beinvenenthrombose für die Abklärung einer möglichen Lungenembolie mit einem NPV von 95% genutzt.⁷⁰ Hierdurch lassen sich weitere Untersuchungen für diese Differentialdiagnose mit dem damit verbundenen Zeitaufwand und Kosten reduzieren.

Unter diesem Aspekt können in weiteren Studien von Kohorten mit realistischerer Prävalenz für die PH die Aussagekraft der Biomarker zum sicheren Ausschluss einer PH und damit der Vermeidung von nicht notwendigen Untersuchungen wie beispielsweise des Rechtsherzkatheters überprüft werden.

Der Kruskal-Wallis-H Test zeigte bei dem in dem Vergleich zwischen PH und Exklusion nicht signifikanten Biomarker TIMP4 innerhalb der einzelnen Ätiologien einen erkennbaren Unterschied. Hierbei fällt für die PAH-Gruppe mit einem Median von 1297,9 pg/ml deutlich niedriger aus als für die anderen Gruppen (1587,0-1725,3 pg/ml). Dieser Biomarker könnte zur weiteren diagnostischen Abklärung der Ätiologie hilfreich sein, welche für eine adäquate Behandlung unerlässlich ist. Beispielsweise wird die seltene Pulmonal Venen-ökklusive Form der Pulmonalen Hypertonie oft fälschlicherweise als PAH eingeordnet und kann bei falscher Behandlung unter anderem ein medikamenteninduziertes Lungenödem verursachen.⁴³

Bei näherer Betrachtung von Tabelle 8 fällt eine nur geringe Differenz der erhobenen Werte der Biomarker für die CTEPH-Gruppe im Vergleich zur Exklusion auf. Lediglich bei Ang2 und BNP fallen die Werte wie bei den anderen Entitäten wesentlich höher aus, bei TIMP1 ist dieser sogar dezent niedriger. Ansonsten sind die Werte der anderen Biomarker nur an der oberen Grenze des Interquartilsabstandes zur Exklusionsgruppe. Eine nicht signifikante Elevation dieser Biomarker nach Diagnosestellung einer PH könnte demnach einen Impuls zur weiteren Abklärung einer möglichen chronisch-thromboembolischen Genese der Erkrankung führen.

Des Öfteren wird eine Diskrepanz zwischen den in dieser Studie erhobenen Messungen der Biomarker mit denen in der Einleitung erwähnten Werten aus vorangegangenen Publikationen ersichtlich. Zusätzlich erschwerend unterscheiden sich in einigen Fällen die genutzten Maßeinheiten unserer Werte mit denen aus den Publikationen, wie der Vergleich zwischen Tabelle 4 und 7 bzw. 9 verdeutlicht. Wahrscheinlich lässt sich dies durch das verwendete Material erklären. Unsere erhobenen Messwerte stammen aus gemischt-venösen Proben, welche durch einen Pulmonalkatheter in einer Rechtsherzkatheteruntersuchung gewonnen wurden. Möglicherweise wurden die Vergleichswerte der Publikationen aus peripher-venösen Blutentnahmen bestimmt.

Deswegen sind weitere Untersuchungen nötig, um einerseits die Konzentrationsunterschiede zwischen beiden Abnahmemethoden festzuhalten, um darüber hinaus auch klarzustellen, ob allein die gemischt-venösen Abnahmen signifikante Veränderungen aufweisen, oder auch peripher-venös ermittelte Befunde ausreichen. Ansonsten wäre ein Screening vor der Durchführung eines Rechtsherzkatheters zwecklos.

Die im Ergebnis-Teil aufgeführten Charakteristika passen in einigen Fällen nicht konkret zur gestellten Diagnose für den einzelnen Probanden. Möglicherweise wurden die Werte beim ersten Katheter erhoben, in weiteren Verlaufskontrollen konnte die Diagnose gestellt und nachträglich korrigiert werden. Beispielsweise hätte durch die Senkung des initial erhöhten PAWP mit Hilfe einer antidiuretischen Therapie die korrekte Zuordnung der Diagnose außerhalb einer Gruppe 2-PH erfolgen können, oder die Klassifizierung von CTEPH-Patienten mit bekannten falsch-hohen PAWP-Werten nach einem Ventilations-Perfusions-Scan korrigiert werden. Demzufolge entstehen durch diesen Bias große Überschneidungen der Gruppen bis zur definiten Diagnosestellung und damit eine Verschleierung der wahren Charakteristika der einzelnen Entitäten.

Die optimalen Cut-off Werte mit maximaler Sensitivität oder Spezifität bei möglichst hohem Gegenwert wurden mit Hilfe des Youden-Index bestimmt. Für die beiden Biomarker ActA und Ang2 wurden nicht die maximalen Youden-Indizes genutzt, da bei annähernd gleichem Index jeweils die Sensitivität oder Spezifität unter leichter Verschlechterung des anderen Wertes wesentlich verbessert wurde. An folgendem Beispiel soll dies verdeutlicht werden:

Beispiel Sensitivität und Spezifität für ActA:

Maximaler Youden-Index: 0,244 bei 2231 pg/ml
Sensitivität 0,716 Spezifität 0,428

Optimaler Youden-Index: 0,242 bei 1698,30 pg/ml
Sensitivität 0,881 Spezifität 0,361

Alternativ bestehen weitere Methoden zur Bestimmung eines optimalen Verhältnisses zwischen Sensitivität und Spezifität:

Schuhmacher ermittelt den Cut-off Wert mit der maximalen Akkuratheit aus der Hälfte der Summe der Mittelwerte der Gesunden und Kranken ($=1/2(MW_{\text{Gesund}}+MW_{\text{Krank}})$).¹³⁶ Als Bedingung stellt er hierbei eine Normalverteilung mit gleicher Varianz und gleicher Gewichtung von Fehlklassifikationen. In dieser Arbeit besteht das Problem einerseits bei den linksgipfligen Verteilungen der Biomarkerkonzentrationen und andererseits bei der Interpretation möglicher Fehlklassifikationen als Ausgangssituation diverser Test-Szenarien wie oben beschrieben.

Hajian-Tilaki beschreibt neben dem Youden-Index eine weitere Methode zur Bestimmung des optimalen Cut-off Wertes:⁵²

Durch den Satz des Pythagoras wird auf der ROC-Kurve die kürzeste Distanz d zwischen Sensitivität und Falsch-Positiv auf der ROC ermittelt ($d^2 = (1-\text{Sensitivität})^2 + (1-\text{Spezifität})^2$). Mit dieser Methode wurden zwar in unseren Untersuchungen dieselben Cut-off Werte wie durch den maximalen Youden-Index ermittelt, die optimalen Wertepaare lagen jedoch weiter auseinander.

Bei den bis hierhin beschriebenen Methoden werden die Sensitivität und Spezifität nicht von anderen Punkten wie den Kosten oder der Prävalenz abhängig gemacht.

Als dritte nicht rechnerische Methode liegt die Orientierung bei der Prävalenz der Erkrankung. Bei niedriger Prävalenz sollte die Spezifität durch einen höheren Cut-off Wert maximiert werden, um die durch Falsch-Positive Befunde entstehenden Kosten zu reduzieren. Umgekehrt wird ein niedriger Cut-off Wert genutzt, um Konsequenzen bei Falsch-Negativen Befunden zu vermeiden.

Die von uns bestimmten optimalen Cut-off Werte zur Diagnose einer PH wurden anhand der Messwerte von symptomatischen Patienten mit dem Verdacht auf eine PH bestimmt. Außer Acht gelassen wurde in dieser Dissertation die Adaption der Cut-off Werte an charakteristischen Eigenschaften des Patienten wie beispielsweise dem Alter oder anderer klinischer Parameter.

5.4 Ausblick

Neben der Messung neuer Biomarker sollte auch deren praktischer Nutzen in Frage gestellt werden. Morrow et al. haben im vergleichbaren Rahmen eine Studie ausgewertet und auf drei wesentliche Punkte zusammengefasst:⁹⁶

- 1) Ist die Messung für den Arzt möglich?
- 2) Ergeben sich aus der Messung des Biomarkers neue Erkenntnisse?
- 3) Unterstützt die Messung das weitere Procedere im Umgang mit dem Patienten?

Die hier untersuchten Biomarker sind zwar für die Pulmonale Hypertonie weitgehend neu, wurden aber bereits in anderen Studien untersucht. Trotzdem werden beispielsweise ActA und Ang2 nicht in einem Routine-Labor bestimmt oder gar in der aktuellen europäischen Leitlinie zur Behandlung der PH empfohlen.⁴³

Die Messung der Biomarker kann dem behandelnden Arzt bei der Priorisierung helfen, ob ein Patient sofort von einer PH-spezifischen Diagnostik profitiert oder andere differentialdiagnostische Schritte zuvor eingeleitet werden sollen.

Vor allem an dem zweiten Punkt orientierend können weitere Studien zu diesen Biomarkern potenzielle zusätzliche Nutzen aufzeigen und somit deren Bestimmung attraktiver gestalten.

Pezzuto et al. haben 2015 bekannte Biomarker der Pulmonalen Hypertonie verglichen und weiterhin festgestellt, dass diese bis dato nicht die gewünschten Anforderungen an einen optimalen Biomarker erfüllen und sogar nicht spezifisch genug für die PH sind.¹¹⁵ Bereits hier wird die Empfehlung zum Vorgehen eines Ansatzes mit der Bestimmung mehrerer Parameter gegeben. Die in der Einleitung ebenso erwähnte Studie über Ang2 von Kümpers et al. wird in diesem Überblick genannt.⁷⁸ Zwar punkte dieser Biomarker in den Bereichen der Verfügbarkeit, Kosten und prognostischer Aussagekraft, er sei dennoch nicht spezifisch genug für die PH.

Die Autoren kommen zu dem Entschluss, dass wegen der geringen Prävalenz der Erkrankung ein idealer Biomarker weniger für die frühe Diagnostik, sondern vor allem in der Überprüfung der Krankheitsaktivität genutzt werden sollte.

In dieser Dissertation lag der Hauptfokus in der Untersuchung der diagnostischen Akkuratheit der neuen Biomarker in der Kombination. Die in der Einleitung erwähnten Studien zu den einzelnen Biomarkern untersuchten unter anderem auch deren prognostische Aussagekraft. Aus unseren Ergebnissen ist nicht ersichtlich, welchen Einfluss der Verlauf der Erkrankung auf die Entwicklung der Biomarker ausübt. Die Daten lassen keinen Rückschluss zu, ob die Konzentrationen der Biomarker vor oder nach dem Beginn der Symptome der Erkrankung gestiegen sind, womit eine prognostische Aussagekraft für eine mögliche Entwicklung einer PH ausbleibt. Von Interesse wäre dieser Aspekt beispielsweise für bis dahin asymptomatische Patienten aus Gruppen mit erhöhtem Risiko für die Ausbildung einer PH. Als Pendant zu dem aus der Infektiologie bekannten diagnostischen Fenster könnte dieses Wissen mit potenziell früher serologischer Diagnosestellung eine rechtzeitig eingeleitete medikamentöse Intervention begünstigen. Zum Vergleich ist die Messung von Antikörper gegen cyclische citrullinierte Peptide schon vor Symptombeginn einer rheumatoiden Arthritis bekannt.¹²¹ Zusätzlich bleibt die Frage offen, ob mit Aggravation der Symptome die Konzentrationen steigen und sich womöglich die initial Falsch-Negativen Befunde im weiteren Verlauf als PH demaskieren. Die therapeutisch relevanten Aspekte wie beispielsweise der prognostische Aussagewert, der Schweregrad der Erkrankung oder der Erfolg der Therapie sollten für die Biomarker in der Kombination in weiteren Studien näher untersucht werden.

Bei Ang2 beispielsweise zeigte sich im Verlauf der Behandlung ein Zusammenhang in den Veränderungen des Serumspiegels und dem mittleren rechten Vorhofdruck und der gemischt-venösen Sauerstoffsättigung.⁷⁸

Für ActA wird eine Abnahme der Konzentration im Verlauf der experimentellen Messung beschrieben.¹⁶⁵ Interessant wäre eine Bestimmung der Dynamik dieses Parameters in der Langzeitbeobachtung, ähnlich wie die Messung der Herzenzyme beim akuten Koronarsyndrom.¹²⁷ Eventuell lassen sich hierdurch die oben beschriebenen Konstellationen erklären, bei denen in der Messung der beiden Biomarker ActA und Ang2 zwar Ang2 erhöht gewesen ist, jedoch ActA nicht. Demzufolge könnte theoretisch ActA anfangs erhöht gewesen sein und in der Zwischenzeit von der Konzentration abgenommen haben. Passend hierzu wird von Nagamine die Theorie aufgestellt, dass initial durch Activin ein mesodermaler Zustand herbeigeführt werden muss, um mit der additiven Wirkung von Ang2 letztendlich die vollständige Differenzierung zu

Endothelzellen zu ermöglichen.⁹⁷ Unser Hausarzt-Szenario-Beispiel zeigte, dass bei einem positiven Test auf Ang2, ein weiterer Test von ActA nicht sinnvoll ist. Unter dieser Konstellation wird deutlich, dass die weiterführende Kontroll-Messung mit ActA nach negativem Ang2-Befund durchaus noch PH-erkrankte Patienten erkennen könnte.

Während der Literaturrecherche fielen weitere klinische Parameter auf, die in der Kombination zur verbesserten Diagnostik, unter anderem mit den Biomarkern, überprüft werden sollten. Beispielsweise zeigte sich in einer Untersuchung von Kardiomyozyten von Diabetes mellitus-Erkrankten eine reduzierte Kontraktilität mit erhöhten ActA und Ang2 Werten mit potenzieller Reversibilität des Befundes unter ActA-Antagonisierung.⁵¹ Passenderweise ist eine Glukoseintoleranz mit erhöhten HbA1c Werten bei der Stellung der Erstdiagnose einer Pulmonalen Hypertonie bekannt.¹¹⁶

Außerdem fielen andere Biomarker auf, deren pathophysiologisches Zusammenspiel bezogen auf die beiden Biomarker Ang2 und ActA ebenso für weitere Kombinationsuntersuchungen von Interesse sein könnten. Im Folgenden wird exemplarisch auf zwei mögliche Biomarker näher eingegangen:

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) ist ein relevanter Bestandteil der Angiogenese, unter anderem während der physiologischen Embryonalentwicklung sowie in der pathologischen Gefäßausbildung von Tumoren.³⁷ Hierbei wird wieder der oben beschriebene „quasi-maligne“ Charakter der Pulmonalen Hypertonie unterstrichen.¹¹⁸ Im Zusammenspiel mit dem VEGF-A führt Angiopoietin 2 zu einer Größenzunahme des Kapillardurchmessers, dem Remodeling der Basallamina, die Proliferation und Migration von Endothelzellen und das Wachsen weiterer Gefäße, ansonsten wird bei dessen Fehlen die Apoptose des Endothels eingeleitet.⁸¹ Bei Patienten mit Systemischer Sklerose zeigten sich für VEGF erhöhte Werte (352 pg/ml) in der Gruppe der Erkrankten mit einem echokardiografisch ermittelten sPAP über 35 mmHg im Vergleich zu Erkrankten mit einem geringeren sPAP (240 pg/ml) sowie einer gesunden Kontrollgruppe (192 pg/ml).¹⁰⁷ Kumpers et al. haben in ihren Untersuchungen zu Angiopoietin 2 auch für das VEGF signifikant höhere Werte (232,4 ng/ml) im Vergleich zur Kontrollgruppe (53,7 ng/ml) nachgewiesen, jedoch zeigte sich nur für Ang2 eine Korrelation zur Schwere der Erkrankung.⁷⁸ Interessant ist zudem, dass paradoxerweise eine gezielte Blockade eines

VEGF-Rezeptors im Tierversuch eine angio-obliterative Form der PAH verursachen kann.¹⁵⁷

Plasminogen-Activator Inhibitor Typ 1 ist ein relevanter Bestandteil der Hämostase und wirkt als Antagonist der Bildung von Plasmin zur Fibrinolyse entgegen.⁹⁴ Für die idiopathische PAH zeigte sich eine verminderte Bildung des PAI1 in den glatten Muskelzellen der Pulmonalarterien.⁷⁵ Die hierbei beobachtete Proliferation der glatten Muskelzellen konnte durch Gabe von rekombinantem PAI1 unterbunden werden, wodurch der Einfluss auf das für die PH bekannte Gefäßremodeling ersichtlich wird. Dem gegenüber stellte Yndestad eine durch ActA induzierte Zunahme der PAI1 Genexpression und damit verbundener Zunahme der Proliferation fest.¹⁶⁵ Hieraus ergeben sich erneut zusätzliche Felder zur Untersuchung möglicher Zusammenhänge und Kombinationsmöglichkeiten, in diesem Fall beispielsweise von ActA mit PAI1. Vor allem unter dem bekannten Aspekt der hämostatischen Regulation durch PAI1 wäre ein Bezug zur CTEPH vorstellbar.

Vorselaars beschreibt die Zunahme der Bedeutung einer PH als Komplikation bei Patienten mit hereditärer hämorrhagischer Teleangiektasie.¹⁶⁰ In unseren Untersuchungen fiel das Endoglin mit einem signifikanten Unterschied auf ($p < 0,001$, AUC=0,702). Jedoch fielen die Sensitivität und Spezifität nach der Ermittlung des Cut-off-Wertes von 3,7350 pg/ml anhand des Youden-Index niedrig aus. Analog zum DETECT-Algorithmus als Screening für eine PH bei Systemische Sklerose-Patienten²⁵ könnte die Messung des Endoglin eine Rolle zum Screening für Patienten mit dieser Erkrankung spielen. Für Endoglin ist zudem eine Interaktion mit Activin A und seinen Rezeptoren bekannt.⁵ Die multivariate Analyse unserer Studie zeigte keinen Vorteil der Kombination von ActA und Endoglin. Dennoch könnten weitere Untersuchungen zum Zusammenhang dieser beiden Biomarker bei PH-Patienten, Gesunden und anderen Lungenerkrankten mit PH-Symptomen von Interesse sein.

Die Einteilung der Biomarker in unterschiedliche Gruppen, beispielsweise Ang2 als Vertreter der Gruppe für Gefäßdysfunktion,⁴³ verdeutlicht die komplexe Pathophysiologie der Biomarker. Weitere Biomarker aus deren Bereichen wie unter anderem das asymmetrische Dimethylarginin oder Plasma-Adrenomedullin^{41,43} sollten ebenso in ihrer einzelnen und kombinierten Aussagekraft für die PH im Vergleich zu

Gesunden und wie in dieser Arbeit mit anderen Lungenerkrankten mit PH-typischen, jedoch unspezifischen Symptomen untersucht werden. Dieses pathophysiologische Verständnis könnte den pharmakologischen Weg ebnen für weitere Therapie-Ansätze, so wie beispielhaft der Therapieversuch der PH mit dem für die chronisch myeloische Leukämie zugelassene Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib untersucht wurde.⁶⁰

In einigen Untersuchungen konnte bereits eine Verbesserung der Diagnostik für die Pulmonale Hypertonie durch Kombination diverser Parameter dargestellt werden:

Für die Kombination aus MMP2 und TIMP4 als Quotient konnte eine Korrelation mit den Parametern mPAP, PVR, der geschätzten Glomerulären Filtrationsrate und TAPSE gezeigt werden, womit diese Konstellation zur Beurteilung des Schweregrades und der rechtsventrikulären Funktion genutzt werden könnte. Weiterhin stieg mit diesem Quotienten die Wahrscheinlichkeit des Versterbens oder einer klinischen Verschlechterung, womit durch diese Biomarker-Kombination ein unterstützender Nutzen zur Verlaufskontrolle deutlich wird.¹⁶²

Kim et al. untersuchten Patienten mit Systemischem Lupus erythematodes auf eine mögliche Pulmonale Hypertonie. Hierbei zeigten sich bei Patienten mit einer vermeintlichen PH bei erhöhtem sPAP über 40 mmHg signifikant erhöhte Harnsäure-Werte mit Korrelation zum sPAP und NT-pro-BNP. Die Kombination beider Biomarker ergab mit einer Spezifität von 98,1% sowie eine PPV von 71,4% jeweils höhere Werte als in den einzelnen Messungen.⁷² Leider wurde in diesem Studiensetting auf eine weiterführende Untersuchung mittels Rechtsherzkatheter verzichtet.

Ebenso lassen sich Biomarker mit bereits etablierten apparativen Untersuchungen kombinieren: Zur Vermeidung unnötiger RHK-Untersuchungen wurde zur Unterscheidung zwischen einer prä- und postkapillären PH ein Algorithmus für klinisch auffällige Patienten mit echokardiografisch gemessenem sPAP über 36 mmHg entwickelt, worin der Befund des Elektrokardiograms (EKG) sowie die Messung des NT-proBNP berücksichtigt wurden. Fehlende Zeichen einer Rechtsherzbelastung im EKG sowie NT-proBNP Werte unter 80 pg/ml erreichte immerhin eine Spezifität von 19,3% bei erhaltener Sensitivität von 100%.¹² Somit könnte einer von fünf Patienten vom Auslassen einer unnötigen RHK-Untersuchung profitieren, ohne dabei Gefahr zu laufen, einen

wirklich Erkrankten zu übersehen. Hierfür ergänzend könnte der zusätzliche Einbezug apparativer Diagnostiken in den oben dargestellten Szenarien zur Anwendung der Biomarker Ang2 und ActA die diagnostische Akkuratheit wesentlich beeinflussen und sollte in weiterführenden Studien überprüft werden.

In der aktuellen gemeinsamen Leitlinie der European Society of Cardiology und der European Respiratory Society für die Diagnose und Behandlung der Pulmonalen Hypertonie wird ein Flussdiagramm zur Abklärung einer Pulmonalen Hypertonie bei entsprechender klinischer Symptomatik vorgestellt, welcher nach Ausschluss anderer potenzieller Ursachen oder bereits bei Anzeichen einer hochgradigen PH zur Überweisung in ein Expertenzentrum rät.⁴³ Konkret wird in diesem Leitfaden nicht auf die Bestimmung der neuen Biomarker hingewiesen. Zudem ist die oft über Jahre verzögerte Diagnosestellung der PH bekannt.⁴

Insgesamt wird deutlich, dass bei weiterhin fehlendem optimalen Biomarker mit suffizienter Sensitivität und Spezifität die Etablierung eines diagnostischen Kombinationskonzeptes mit unterschiedlichen Biomarkern und nicht invasiver apparativer Untersuchungen weiterhin lohnenswert ist, um gegebenenfalls als Entscheidungshilfe vor der invasiven Messung mittels Rechtsherzkatheters zu dienen oder sogar dessen Ablösung als diagnostischer Goldstandard zu erreichen.

6 Zusammenfassung

Die Pulmonale Hypertonie (PH) ist eine seltene Erkrankung mit schlechter Prognose, die auf Grund unspezifischer Symptomatik und fehlender Screeningmöglichkeit vor Diagnosestellung mittels Rechtsherzkatheters (RHK) oft erst spät diagnostiziert wird. Ziel dieser Dissertation war die Untersuchung der diagnostischen Akkuratheit neuer Biomarker in der Kombination, welche bereits im Einzelnen in diversen vorangegangenen Publikationen für die PH untersucht wurden. Retrospektiv wurden die Daten von 231 Patienten nach RHK bei Verdacht auf eine PH ausgewertet, worunter 51 Patienten nach Ausschluss als sogenannte Exklusionsgruppe zum Vergleich dienten.

Unter den ursprünglich 13 untersuchten Biomarkern zeigen Activin A (ActA) und Angiopoietin 2 (Ang2) einen signifikanten Unterschied sowie die höchste Trennschärfe in der Kombination. Durch den Youden-Index wurden die optimalen Cut-off-Werte für ActA mit der höchsten Sensitivität von 88,1% und für Ang2 mit der höchsten Spezifität von 87,9% bestimmt. Während die positiven prädiktiven Werte der beiden Biomarker mit jeweils 83,7% und 94,9% hoch waren, fielen jedoch ihre negativen prädiktiven Werte mit 44,8% und 31,5% zu diagnostischen Zwecken unbefriedigend aus. Bei gemeinsamer Messung der Biomarker in dieser Studienkohorte zeigen sich nur in 50% der Fälle eindeutig positiv oder negativ Befunde. Demzufolge würde die jeweilige Hälfte entweder einer nicht notwendigen Diagnostik unterzogen werden oder andernfalls von dieser zu spät profitieren. In unterschiedlichen Modellen wurden diese nicht eindeutigen Befunde in Form eines stufenweisen Verfahrens als primäre nichtinvasive Screening-Methode weiter diskutiert. Zur Beurteilung von Risiko-Patienten würde hierbei initial mit ActA als Biomarker mit der höchsten Sensitivität, umgekehrt bei symptomatischen Patienten im ambulanten Bereich mit Ang2 mit der höchsten Spezifität getestet werden. Negative Befunde könnten zur Sicherheit mit dem jeweils anderen Biomarker überprüft werden. Hierdurch ließ sich eine mögliche Reduzierung der vorher hohen falsch negativen Rate veranschaulichen. Die in dieser Dissertation untersuchten Kombinationsmöglichkeiten der Biomarker zeigen zwar potenzielle Ansätze als nichtinvasives Screening und Entscheidungshilfe für weitere PH-spezifische Untersuchungen bis hin zur Durchführung eines RHK, bei jedoch geringer Spezifität und niedriger Prävalenz der PH müssen weitere ausreichend spezifische Biomarker, auch in der Kombination mit anderen klinischen Parametern, untersucht werden.

7 Abstract

Pulmonary Hypertension (PH) is a rare disease with poor prognosis. Due to vague symptoms and a lack of screening methods diagnosis is often delayed. The gold standard of diagnosis is the measurement of the mean pulmonary arterial pressure via right heart catheterization (RHC).

The aim of this dissertation was to investigate the diagnostic accuracy of novel biomarker in combination, which have already independently been studied in recent studies. This study analyzed 231 suspected cases of PH, in 51 of those patients PH could be excluded and therefore are used as a control group for comparison.

Starting with 13 novel biomarkers, Activin A (ActA) and Angiotensin 2 (Ang2) were significant and had the highest discriminatory power in combination. Using the Youden-Index for assessment of the optimal cut-off, ActA scored the highest sensitivity and Ang2 the highest specificity with 88,1% and 87,9% respectively. Both biomarkers had high positive predictive values with 83,7% and 94,9% each, but insufficient negative predictive values with 44,8% and 31,5% for diagnostic purpose.

Measurement of both biomarkers simultaneously only showed a concrete outcome with double positive or negative result in 50% of the cases. Therefore, half of the patients would have an unnecessary further examination for PH with RHC or conversely would miss it in the first place. This work tried to interpret these ambiguous results with different models of multi-step assessments for a primary noninvasive screening:

High-risk patients would be tested initially with ActA as the biomarker with the highest sensitivity. For the assessment of symptomatic patients in the outpatient sector the assessment starts with Ang2 with the highest specificity. As a precaution, negative results could be checked with the other biomarker. In this way a possible reduction of the high rate of false negative results can be illustrated.

In this study, the combination of a panel of biomarkers is a basic approach for a non-invasive screening and decision support before further diagnostics up to a RHC. Due to the low specificity of these novel biomarkers, as well as the low prevalence of PH, further research of more specific biomarkers, also in combination with other clinical parameters, is still required.

8 Abkürzungsverzeichnis

6MGT	Sechs Minuten Gehstest
ActA	Activin A
Ang2	Angiopoietin 2
AUC	Area under the curve
CI	Cardiac Index
CTD-APAH	Connective Tissue Disease-assoziierte PAH
CTEPH	Chronisch thromboembolische PH
EKG	Elektrokardiogramm
FN	Falsch-Negativ
FP	Falsch-Positiv
HZV	Herzzeitvolumen
(I)PAH	(Idiopathische) Pulmonal arterielle Hypertonie
mPAP	mittlerer Pulmonalarterieller Druck
NPV	Negativ-prädiktiver Vorhersagewert
Nt-pro-BNP	n-terminale pro-Brain-Natriuretic Peptide
NYHA	New York Health Association
PAWP	Pulmonalarterieller Wedge-Druck
PH	Pulmonale Hypertonie
PPV	Positiv-prädiktiver Vorhersagewert
PVH	Pulmonal-venookklusive Hypertonie
PVR	Pulmonalvaskulärer Widerstand
RHK	Rechtsherzkatheter
ROC	Receiver Operating Characteristics
sO ₂	Sauerstoffsättigung
TAPSE	Tricuspid annular plane systolic excursion
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

9 Quellenverzeichnis

1. Andersen CU, Mellemkjær S, Hilberg O, Nielsen-Kudsk JE, Simonsen U, Bendstrup E. Pulmonary hypertension in interstitial lung disease: Prevalence, prognosis and 6 min walk test. *Respir Med.* 2012;106(6):875-882. doi:10.1016/j.rmed.2012.02.015
2. Apostolou E, Stavropoulos A, Sountoulidis A, et al. Activin-A overexpression in the murine lung causes pathology that simulates acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(4):382-391. doi:10.1164/rccm.201105-0784OC
3. Assad TR, Maron BA, Robbins IM, et al. Prognostic effect and longitudinal hemodynamic assessment of borderline pulmonary hypertension. *JAMA Cardiol.* 2017;2(12):1361-1368. doi:10.1001/jamacardio.2017.3882
4. Badesch DB, Raskob GE, Elliott CG, et al. Pulmonary arterial hypertension: baseline characteristics from the REVEAL Registry. *Chest.* 2010;137(2):376-387. doi:10.1378/chest.09-1140
5. Barbara NP, Wrana JL, Letarte M. Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem.* 1999;274(2):584-594. doi:10.1074/JBC.274.2.584
6. Battistoni A, Rubattu S, Volpe M, Lin SJ, Young S, Roger VL. Circulating biomarkers with preventive, diagnostic and prognostic implications in cardiovascular diseases. *Int J Cardiol.* 2012;157(2):160-168. doi:10.1016/j.ijcard.2011.06.066
7. Belly MJ, Tiede H, Morty RE, et al. HbA 1c in pulmonary arterial hypertension: A marker of prognostic relevance? *J Hear Lung Transplant.* 2012;31(10):1109-1114. doi:10.1016/j.healun.2012.08.014
8. Berliner D, Schneider N, Welte T, Bauersachs J. Differenzialdiagnose bei Luftnot. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(49):834-844. doi:10.3238/arztebl.2016.0834
9. Bhandari V, Choo-Wing R, Lee CG, et al. Hyperoxia causes angiopoietin 2-mediated acute lung injury and necrotic cell death. *Nat Med.* 2006;12(11):1286-1293. doi:10.1038/nm1494
10. Bleau G, Massicotte F, Merlen Y, Boisvert C. Mammalian chitinase-like proteins. *EXS.* 1999;87:211-221. Accessed September 10, 2017.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10906962>
11. Bloise E, Ciarmela P, Dela Cruz C, Luisi S, Petraglia F, Reis FM. Activin A in Mammalian Physiology. *Physiol Rev.* 2019;99(1):739-780.
doi:10.1152/physrev.00002.2018
 12. Bonderman D, Wexberg P, Martischnig AM, et al. A noninvasive algorithm to exclude pre-capillary pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2011;37(5).
 13. Bonderman D, Wexberg P, Martischnig AM, et al. A noninvasive algorithm to exclude pre-capillary pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2011;37(5).
Accessed April 5, 2017. <http://erj.ersjournals.com/content/37/5/1096>
 14. Bonne-Barkay D, Bissel SJ, Wang G, et al. YKL-40, a marker of simian immunodeficiency virus encephalitis, modulates the biological activity of basic fibroblast growth factor. *Am J Pathol.* 2008;173(1):130-143.
doi:10.2353/ajpath.2008.080045
 15. Böttner M, Suter-Crazzolaro C, Schober A, Unsicker K. Expression of a novel member of the TGF-beta superfamily, growth/differentiation factor-15/macrophage-inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in adult rat tissues. *Cell Tissue Res.* 1999;297(1):103-110. Accessed November 12, 2015.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10398887>
 16. Böttner M, Laaff M, Schechinger B, Rappold G, Unsicker K, Suter-Crazzolaro C. Characterization of the rat, mouse, and human genes of growth/differentiation factor-15/macrophage inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1). *Gene.* 1999;237(1):105-111. doi:10.1016/S0378-1119(99)00309-1
 17. Brindle NPJ, Saharinen P, Alitalo K. Signaling and functions of angiopoietin-1 in vascular protection. *Circ Res.* 2006;98(8):1014-1023.
doi:10.1161/01.RES.0000218275.54089.12
 18. Brown LM, Chen H, Halpern S, et al. Delay in recognition of pulmonary arterial hypertension: Factors identified from the REVEAL registry. *Chest.* 2011;140(1):19-26. doi:10.1378/chest.10-1166
 19. Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension. *Circulation.* 2004;109(2):159-165.
doi:10.1161/01.CIR.0000102381.57477.50
 20. Cacoub P, Karmochkine M, Dorent R, et al. Plasma levels of thrombomodulin in pulmonary hypertension. *Am J Med.* 1996;101(2):160-164. doi:10.1016/S0002-

9343(96)80070-2

21. Chaouat A, Coulet F, Favre C, et al. Endoglin germline mutation in a patient with hereditary haemorrhagic telangiectasia and dexfenfluramine associated pulmonary arterial hypertension. *Thorax*. 2004;59(5):446-448. doi:10.1136/thx.2003.11890
22. Chen G, Yang T, Gu Q, et al. Elevated plasma YKL-40 as a prognostic indicator in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Respirology*. 2014;19(4):608-615. doi:10.1111/resp.12283
23. Chen Y, Budd RC, Kelm RJ, Sobel BE, Schneider DJ. Augmentation of proliferation of vascular smooth muscle cells by plasminogen activator inhibitor type 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(8):1777-1783. doi:10.1161/01.ATV.0000227514.50065.2a
24. Chen Y-G, Wang Q, Lin S-L, et al. Activin signaling and its role in regulation of cell proliferation, apoptosis, and carcinogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2006;231(5):534-544. Accessed November 21, 2015. <http://ebm.sagepub.com/content/231/5/534.full>
25. Coghlan JG, Denton CP, Grünig E, et al. Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(7):1340-1349. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203301
26. Coral-Alvarado PX, Garces MF, Caminos JE, et al. Serum endoglin levels in patients suffering from systemic sclerosis and elevated systolic pulmonary arterial pressure. *Int J Rheumatol*. 2010;2010. doi:10.1155/2010/969383
27. Correale M, Ferraretti A, Monaco I, Grazioli D, Di Biase M, Brunetti ND. Endothelin-receptor antagonists in the management of pulmonary arterial hypertension: Where do we stand? *Vasc Health Risk Manag*. 2018;14:253-264. doi:10.2147/VHRM.S133921
28. Cottin V, Dupuis-Girod S, Lesca G, Cordier J-F. Pulmonary Vascular Manifestations of Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (Rendu-Osler Disease). *Respiration*. 2007;74:361-378. doi:10.1159/000103205
29. Cowie MR, Struthers AD, Wood DA, et al. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care. *Lancet (London, England)*. 1997;350(9088):1349-1353. doi:10.1016/S0140-6736(97)06031-5

30. Daly C, Eichten A, Castanaro C, et al. Angiopoietin-2 Functions as a Tie2 Agonist in Tumor Models, Where It Limits the Effects of VEGF Inhibition. *Cancer Res.* 2013;73(1):108-118. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-2064
31. Davis S, Papadopoulos N, Aldrich TH, et al. Angiopoietins have distinct modular domains essential for receptor binding, dimerization and superclustering. *Nat Struct Biol.* 2003;10(1):38-44. doi:10.1038/nsb880
32. Dornia C, Lange TJ, Behrens G, et al. Multidetector Computed Tomography for Detection and Characterization of Pulmonary Hypertension in Consideration of WHO Classification. *J Comput Assist Tomogr.* 2012;36(2):175-180. doi:10.1097/RCT.0b013e31824afbfd
33. Vom Dorp F, Tschirdewahn S, Niedworok C, et al. Circulating and tissue expression levels of YKL-40 in renal cell cancer. *J Urol.* Published online October 7, 2015. doi:10.1016/j.juro.2015.09.084
34. Eklund L, Saharinen P. Angiopoietin signaling in the vasculature. *Exp Cell Res.* 2013;319:1271-1280. doi:10.1016/j.yexcr.2013.03.011
35. Elsayed NM, Nakashima JM, Postlethwait EM. Measurement of Uric Acid as a Marker of Oxygen Tension in the Lung. *Arch Biochem Biophys.* 1993;302(1):228-232. doi:10.1006/abbi.1993.1204
36. Falcón BL, Hashizume H, Koumoutsakos P, et al. Contrasting actions of selective inhibitors of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 on the normalization of tumor blood vessels. *Am J Pathol.* 2009;175(5):2159-2170. doi:10.2353/ajpath.2009.090391
37. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003;9(6):669-676. doi:10.1038/nm0603-669
38. Fiedler U, Reiss Y, Scharpfenecker M, et al. Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF- α and has a crucial role in the induction of inflammation. *Nat Med.* 2006;12(2):235-239. doi:10.1038/nm1351
39. Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, et al. The Tie-2 ligand Angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *Blood.* 2004;103(11). Accessed September 9, 2017. <http://www.bloodjournal.org/content/103/11/4150.long?sso-checked=true>
40. Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, et al. The Tie-2 ligand Angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-

- Palade bodies. Published online 2004. doi:10.1182/blood-2003-10-3685
41. Foris V, Kovacs G, Tscherner M, Olschewski A, Olschewski H. Biomarkers in Pulmonary Hypertension: What Do We Know? *Chest*. 2013;144(1):274-283. doi:10.1378/chest.12-1246
 42. Fukuhara S, Sako K, Minami T, et al. Differential function of Tie2 at cell–cell contacts and cell–substratum contacts regulated by angiopoietin-1. *Nat Cell Biol*. 2008;10(5):513-526. doi:10.1038/ncb1714
 43. Galiè N, Humbert M, Vachiery J-L, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Heart J*. 2015;37(1):67-119. doi:10.1093/eurheartj/ehv317
 44. Galiè N, Manes A, Branzi A. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Res*. 2004;61(2):227-237. doi:10.1016/j.cardiores.2003.11.026
 45. Gallardo-Vara E, Tual-Chalot S, Botella LM, Arthur HM, Bernabeu C. Soluble endoglin regulates expression of angiogenesis-related proteins and induction of arteriovenous malformations in a mouse model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *DMM Dis Model Mech*. 2018;11(9). doi:10.1242/dmm.034397
 46. Gamble JR, Drew J, Trezise L, et al. Angiopoietin-1 Is an Antipermeability and Anti-Inflammatory Agent In Vitro and Targets Cell Junctions. *Circ Res*. 2000;87(7):603-607. doi:10.1161/01.RES.87.7.603
 47. Gavard J, Patel V, Gutkind JS. Angiopoietin-1 Prevents VEGF-Induced Endothelial Permeability by Sequestering Src through mDia. *Dev Cell*. 2008;14(1):25-36. doi:10.1016/j.devcel.2007.10.019
 48. Gore B, Izikki M, Mercier O, et al. Key role of the endothelial TGF- β /ALK1/endoglin signaling pathway in humans and rodents pulmonary hypertension. *PLoS One*. 2014;9(6):e100310. doi:10.1371/journal.pone.0100310
 49. Goumans M-J, Lebrin F, Valdimarsdottir G, et al. Controlling the angiogenic switch: a balance between two distinct TGF- β receptor signaling pathways. *Trends Cardiovasc Med*. 2003;13(7):301-307. doi:10.1016/S1050-1738(03)00142-7
 50. Greiner S, Jud A, Aurich M, et al. Reliability of noninvasive assessment of systolic pulmonary artery pressure by Doppler echocardiography compared to right heart catheterization: analysis in a large patient population. *J Am Heart*

- Assoc.* 2014;3(4). doi:10.1161/JAHA.114.001103
51. Greulich S, Maxhera B, Vandenplas G, et al. Secretory products from epicardial adipose tissue of patients with type 2 diabetes mellitus induce cardiomyocyte dysfunction. *Circulation.* 2012;126(19):2324-2334.
doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.039586
 52. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Casp J Intern Med.* 2013;4(2):627-635.
Accessed September 16, 2017. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24009950>
 53. Harutyunyan M, Christiansen M, Johansen JS, Køber L, Torp-Petersen C, Kastrup J. The inflammatory biomarker YKL-40 as a new prognostic marker for all-cause mortality in patients with heart failure. *Immunobiology.* 2012;217(6):652-656. doi:10.1016/j.imbio.2011.11.003
 54. Hector A, Kormann MSD, Mack I, et al. The chitinase-like protein YKL-40 modulates cystic fibrosis lung disease. *PLoS One.* 2011;6(9):e24399.
doi:10.1371/journal.pone.0024399
 55. Hegedus EJ, Stern B. Beyond SpPIN and SnNOUT: Considerations with Dichotomous Tests During Assessment of Diagnostic Accuracy. *J Man Manip Ther.* 2009;17(1):1E-5E. doi:10.1179/jmt.2009.17.1.1e
 56. Held M, Grün M, Holl R, et al. Cardiopulmonary exercise testing to detect chronic thromboembolic pulmonary hypertension in patients with normal echocardiography. *Respiration.* 2014;87(5):379-387. doi:10.1159/000358565
 57. Le Hiress M, Tu L, Ricard N, et al. Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192(8):983-997. doi:10.1164/rccm.201402-0322OC
 58. Hoepfer MM, Pletz MW, Golpon H, Welte T. Prognostic value of blood gas analyses in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2007;29(5). Accessed April 11, 2017.
<http://erj.ersjournals.com/content/29/5/944.long>
 59. Hoepfer MM, Sosada M, Fabel H. Plasma coagulation profiles in patients with severe primary pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 1998;12(6):1446-1449.
doi:10.1183/09031936.98.12061446
 60. Hoepfer M, Opitz C, Olschewski H, et al. Einsatz von Imatinib bei Patienten mit

- Pulmonal Arterieller Hypertonie. *DMW - Dtsch Medizinische Wochenschrift*. 2014;139(S 04):S151-S154. doi:10.1055/s-0034-1387457
61. Holopainen T, Saharinen P, D'Amico G, et al. Effects of angiotensin-2-blocking antibody on endothelial cell-cell junctions and lung metastasis. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(6):461-475. doi:10.1093/jnci/djs009
 62. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension*. 1991;17(6 Pt 2). Accessed September 10, 2017. http://hyper.ahajournals.org/content/17/6_Pt_2/1152.long
 63. Huertas A, Guignabert C, Barberà JA, et al. Pulmonary vascular endothelium: The orchestra conductor in respiratory diseases. *Eur Respir J*. 2018;51(4). doi:10.1183/13993003.00745-2017
 64. Humbert M, Guignabert C, Bonnet S, et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *Eur Respir J*. 2019;53(1). doi:10.1183/13993003.01887-2018
 65. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, et al. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(12 Suppl S):13S-24S. doi:10.1016/j.jacc.2004.02.029
 66. Ivy DD, McMurtry IF, Colvin K, et al. Development of occlusive neointimal lesions in distal pulmonary arteries of endothelin B receptor-deficient rats: A new model of severe pulmonary arterial hypertension. *Circulation*. 2005;111(22):2988-2996. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.491456
 67. Jeansson M, Gawlik A, Anderson G, et al. Angiotensin-1 is essential in mouse vasculature during development and in response to injury. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2278-2289. doi:10.1172/JCI46322
 68. Jonigk D, Golpon H, Bockmeyer CL, et al. Plexiform lesions in pulmonary arterial hypertension: Composition, architecture, and microenvironment. *Am J Pathol*. 2011;179(1):167-179. doi:10.1016/j.ajpath.2011.03.040
 69. Kempf C. *Growth-Differentiation-Factor 15 Und Activin A Als Biomarker Für Die Pulmonale Hypertonie*. Accessed April 3, 2019. http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2017/13020/pdf/KempfChristoph_2017_07_24.pdf
 70. Khaira HS, Mann J. Plasma D-Dimer Measurement in Patients with Suspected DVT - a Means of Avoiding Unnecessary Venography. *Eur J Vasc Endovasc*

- Surg.* 1998;15:235-238. Accessed October 12, 2017. https://ac.els-cdn.com/S1078588498801822/1-s2.0-S1078588498801822-main.pdf?_tid=0df593da-af4b-11e7-b3f5-0000aacb35e&acdnat=1507812435_c7f4a7f79ee5a18ee0ccb0d3bf6167ee
71. Kim I, Moon S-O, Park SK, Chae SW, Koh GY. Angiopoietin-1 Reduces VEGF-Stimulated Leukocyte Adhesion to Endothelial Cells by Reducing ICAM-1, VCAM-1, and E-Selectin Expression. *Circ Res.* 2001;89(6):477-479. doi:10.1161/hh1801.097034
 72. Kim K-J, Baek I-W, Park Y-J, Yoon C-H, Kim W-U, Cho C-S. High levels of uric acid in systemic lupus erythematosus is associated with pulmonary hypertension. *Int J Rheum Dis.* 2015;18(5):524-532. doi:10.1111/1756-185X.12262
 73. Kirkpatrick RB, Emery JG, Connor JR, Dodds R, Lysko PG, Rosenberg M. Induction and expression of human cartilage glycoprotein 39 in rheumatoid inflammatory and peripheral blood monocyte-derived macrophages. *Exp Cell Res.* 1997;237(1):46-54. doi:10.1006/excr.1997.3764
 74. Klok FA, Surie S, Kempf T, et al. A simple non-invasive diagnostic algorithm for ruling out chronic thromboembolic pulmonary hypertension in patients after acute pulmonary embolism. *Thromb Res.* 2011;128(1):21-26. doi:10.1016/j.thromres.2011.03.004
 75. Kouri FM, Queisser MA, Königshoff M, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 inhibits smooth muscle cell proliferation in pulmonary arterial hypertension. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(9):1872-1882. doi:10.1016/j.biocel.2008.01.028
 76. Kovacs G, Dumitrescu D, Barner A, et al. Klinische Klassifikation der pulmonalen Hypertonie und initiale Diagnostik: Empfehlungen der Kölner Konsensus Konferenz 2016. *DMW - Dtsch Medizinische Wochenschrift.* 2016;141(S 01):S10-S18. doi:10.1055/s-0042-114523
 77. Kovacs G, Avian A, Foris V, et al. Use of ECG and Other Simple Non-Invasive Tools to Assess Pulmonary Hypertension. *PLoS One.* 2016;11(12):e0168706. doi:10.1371/journal.pone.0168706
 78. Kümpers P, Nickel N, Lukasz A, et al. Circulating angiopoietins in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J.* 2010;31(18):2291-2300. doi:10.1093/eurheartj/ehq226

79. Liang F, Wu J, Garami M, Gardner DG. Mechanical strain increases expression of the brain natriuretic peptide gene in rat cardiac myocytes. *J Biol Chem.* 1997;272(44):28050-28056. doi:10.1074/JBC.272.44.28050
80. Ling N, Ying SY, Ueno N, et al. Pituitary FSH is released by a heterodimer of the beta-subunits from the two forms of inhibin. *Nature.* 321(6072):779-782. doi:10.1038/321779a0
81. Lobov IB, Brooks PC, Lang RA. Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(17):11205-11210. doi:10.1073/pnas.172161899
82. Löffler G, Pedrides PE, Müller M, Heinrich PC, Graeve L. *Biochemie & Pathobiochemie.* Vol 9. Auflage. Springer Medizin; 2014. doi:10.1007/978-3-642-17972-3
83. Low AT, Medford ARL, Millar AB, Tulloh RMR. Lung function in pulmonary hypertension. *Respir Med.* 2015;109(10):1244-1249. doi:10.1016/j.rmed.2015.05.022
84. Machado RD, Eickelberg O, Elliott CG, et al. Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(1 Suppl):S32-42. doi:10.1016/j.jacc.2009.04.015
85. Maisonpierre PC. Angiopoietin-2, a Natural Antagonist for Tie2 That Disrupts in vivo Angiogenesis. *Science (80-).* 1997;277(5322):55-60. doi:10.1126/science.277.5322.55
86. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science.* 1997;277(5322):55-60. doi:10.1126/science.277.5322.55
87. Mandriota SJ, Pepper MS. Regulation of Angiopoietin-2 mRNA Levels in Bovine Microvascular Endothelial Cells by Cytokines and Hypoxia. *Circ Res.* 1998;83(8):852-859. doi:10.1161/01.RES.83.8.852
88. Matsuse T, Fukuchi Y, Eto Y, et al. Expression of immunoreactive and bioactive activin A protein in adult murine lung after bleomycin treatment. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995;13(1):17-24. doi:10.1165/ajrcmb.13.1.7541220
89. Mayer K, Buchbinder A, Morty RE. Activin A: A mediator governing inflammation, immunity, and repair. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(4):350-352. doi:10.1164/rccm.201112-2210ED

90. McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW, et al. Endoglin, a TGF- β binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet.* 1994;8(4):345-351. doi:10.1038/ng1294-345
91. McCabe C, Deboeck G, Harvey I, et al. Inefficient exercise gas exchange identifies pulmonary hypertension in chronic thromboembolic obstruction following pulmonary embolism. *Thromb Res.* 2013;132(6):659-665. doi:10.1016/j.thromres.2013.09.032
92. McDonald DM, Baluk P. Imaging of angiogenesis in inflamed airways and tumors: Newly formed blood vessels are not alike and may be wildly abnormal. Parker B. Francis lecture. In: *Chest.* Vol 128. American College of Chest Physicians; 2005:602S-608S. doi:10.1378/chest.128.6_suppl.602S-a
93. Meadows CA, Risbano MG, Zhang L, et al. Increased expression of growth differentiation factor-15 in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension. *Chest.* 2011;139(5):994-1002. doi:10.1378/chest.10-0302
94. Mimuro J. [Type 1 plasminogen activator inhibitor: its role in biological reactions]. *Rinsho Ketsueki.* 1991;32(5):487-489.
95. La Montagna G, D'Angelo S, Valentini G. Cross-sectional evaluation of YKL-40 serum concentrations in patients with systemic sclerosis. Relationship with clinical and serological aspects of disease. *J Rheumatol.* 2003;30(10). Accessed September 10, 2017. <http://www.jrheum.org/content/30/10/2147.long>
96. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the Assessment of Novel Cardiovascular Biomarkers. *Circulation.* 2007;115(8):949-952. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.683110
97. Nagamine K, Furue M, Fukui A, Asashima M. Induction of Cells Expressing Vascular Endothelium Markers from Undifferentiated *Xenopus* Presumptive Ectoderm by Co-treatment with Activin and Angiopoietin-2. *Zoolog Sci.* 2005;22(7):755-761. doi:10.2108/zsj.22.755
98. Newland H, Schwartz D, Pickard S, Pilkington T, Davies B, Love F. Hyperuricemia in coronary, cerebral and peripheral arterial disease: an explanation. *Med Hypotheses.* 1967;1(4):152-155. doi:10.1016/0306-9877(75)90011-0
99. Nickel N, Jonigk D, Kempf T, et al. GDF-15 is abundantly expressed in plexiform lesions in patients with pulmonary arterial hypertension and affects

- proliferation and apoptosis of pulmonary endothelial cells. *Respir Res.* 2011;12(1):62. doi:10.1186/1465-9921-12-62
100. Nickel N, Kempf T, Tapken H, et al. Growth Differentiation Factor-15 in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* Published online December 20, 2012. Accessed November 12, 2015. <http://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.200802-235OC#.VkRrfmQvcxc>
 101. Nordenbæk C, Johansen JS, Halberg P, et al. High serum levels of YKL-40 in patients with systemic sclerosis are associated with pulmonary involvement. *Scand J Rheumatol.* Published online July 12, 2009. Accessed October 31, 2015. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03009740510018598>
 102. Ohga E, Matsuse T, Teramoto S, et al. Effects of activin A on proliferation and differentiation of human lung fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;228(2):391-396. doi:10.1006/bbrc.1996.1672
 103. Olsson KM, Sommer L, Fuge J, Welte T, Hoeper MM. Capillary pCO₂ helps distinguishing idiopathic pulmonary arterial hypertension from pulmonary hypertension due to heart failure with preserved ejection fraction. *Respir Res.* 2015;16(1):34. doi:10.1186/s12931-015-0194-6
 104. Oshima Y, Ouchi N, Shimano M, et al. Activin a and follistatin-like 3 determine the susceptibility of heart to ischemic injury. *Circulation.* 2009;120(16):1606-1615. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.872200
 105. Özpelit E, Akdeniz B, Özpelit EM, et al. Impact of Severe Tricuspid Regurgitation on Accuracy of Echocardiographic Pulmonary Artery Systolic Pressure Estimation. *Echocardiography.* 2015;32(10):1483-1490. doi:10.1111/echo.12912
 106. Palazzuoli A, Ruocco G, Cekorja B, Pellegrini M, Del Castillo G, Nuti R. Combined BNP and Echocardiographic assessment in interstitial lung disease for pulmonary hypertension detection. *Int J Cardiol.* 2015;178:34-36. doi:10.1016/j.ijcard.2014.10.120
 107. Papaioannou AI, Zakynthinos E, Kostikas K, et al. Serum VEGF levels are related to the presence of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *BMC Pulm Med.* 2009;9:18. doi:10.1186/1471-2466-9-18
 108. Parikh R, Mathai A, Parikh S, Chandra Sekhar G, Thomas R. Understanding and

- using sensitivity, specificity and predictive values. *Indian J Ophthalmol.* 2008;56(1):45-50. Accessed October 11, 2017.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18158403>
109. Park JES, Lyon AR, Shao D, et al. Pulmonary venous hypertension and mechanical strain stimulate monocyte chemoattractant protein-1 release and structural remodelling of the lung in human and rodent chronic heart failure models. *Thorax.* 2014;69(12):1120-1127. doi:10.1136/thoraxjnl-2013-204190
 110. Parsaee M, Ghaderi F, Alizadehasl A, Bakhshandeh H. Time From the Beginning of the Right Ventricle Isovolumetric Contraction to the Peak of the S Wave: A New TDI Indicator for the Non-Invasive Estimation of Pulmonary Hypertension. *Res Cardiovasc Med.* 2016;5(3):e26494. doi:10.5812/cardiovascmed.26494
 111. Le Pavec J, Girgis RE, Lechtzin N, et al. Systemic sclerosis–related pulmonary hypertension associated with interstitial lung disease: Impact of pulmonary arterial hypertension therapies. *Arthritis & Rheumatol.* 2011;63(8):2456-2464. doi:10.1002/ART.30423
 112. Le Pavec J, Humbert M, Mouthon L, Hassoun PM. Systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181(12):1285-1293. doi:10.1164/rccm.200909-1331PP
 113. Perros F, Dorfmueller P, Souza R, et al. Dendritic cell recruitment in lesions of human and experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2007;29(3):462-468. doi:10.1183/09031936.00094706
 114. Perros F, Dorfmueller P, Montani D, et al. Pulmonary lymphoid neogenesis in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(3):311-321. doi:10.1164/rccm.201105-0927OC
 115. Pezzuto B, Badagliacca R, Poscia R, et al. Circulating biomarkers in pulmonary arterial hypertension: Update and future direction. *J Hear Lung Transplant.* 2015;34(3):282-305. doi:10.1016/j.healun.2014.12.005
 116. Pugh ME, Robbins IM, Rice TW, West J, Newman JH, Hemnes AR. Unrecognized glucose intolerance is common in pulmonary arterial hypertension. *J Hear Lung Transplant.* 2011;30(8):904-911. doi:10.1016/j.healun.2011.02.016
 117. Quarck R, Wynants M, Verbeken E, Meyns B, Delcroix M. Contribution of inflammation and impaired angiogenesis to the pathobiology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2015;46(2). Accessed

- April 13, 2017. <http://erj.ersjournals.com/content/46/2/431.figures-only>
118. Rai PR, Cool CD, King JAC, et al. The cancer paradigm of severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(6):558-564. doi:10.1164/rccm.200709-1369PP
 119. Rajaram S, Swift AJ, Condliffe R, et al. CT features of pulmonary arterial hypertension and its major subtypes: a systematic CT evaluation of 292 patients from the ASPIRE Registry. *Thorax*. 2015;70(4):382-387. doi:10.1136/thoraxjnl-2014-206088
 120. Randaxhe, Insa. *Monozyten-Chemotaktisches Protein-1 Und Thrombomodulin Als Biomarker Bei Pulmonaler Hypertonie.*; 2016. Accessed April 3, 2019. http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2017/12919/pdf/RandaxheInsa_2017_06_01.pdf
 121. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(10):2741-2749. doi:10.1002/art.11223
 122. Recklies AD, White C, Ling H. The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 (HC-gp39) stimulates proliferation of human connective-tissue cells and activates both extracellular signal-regulated kinase- and protein kinase B-mediated signalling pathways. *Biochem J*. 2002;365(Pt 1):119-126. doi:10.1042/BJ20020075
 123. Reichenberger F, Wehner L-E, Breithecker A, et al. Pulmonalvaskuläre Beteiligung bei Morbus Osler. *Pneumologie*. 2009;63(11):669-674. doi:10.1055/s-0029-1215111
 124. Ricard N, Tu L, Le Hiress M, et al. Increased pericyte coverage mediated by endothelial-derived fibroblast growth factor-2 and interleukin-6 is a source of smooth muscle-like cells in pulmonary hypertension. *Circulation*. 2014;129(15):1586-1597. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007469
 125. Richter MJ, Schermuly R, Seeger W, Rao Y, Ghofrani HA, Gall H. Relevance of angiopoietin-2 and soluble P-selectin levels in patients with pulmonary arterial hypertension receiving combination therapy with oral treprostinil: a FREEDOM-C2 biomarker substudy. *Pulm Circ*. 2016;6(4):516-523. doi:10.1086/688671
 126. Roberts VJ, Barth SL. Expression of messenger ribonucleic acids encoding the

- inhibin/activin system during mid-and late-gestation rat embryogenesis. *Endocrinology*. 1994;134(2):914-923. doi:10.1210/endo.134.2.8299586
127. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of. *Eur Heart J*. 2016;37(3):267-315. doi:10.1093/eurheartj/ehv320
 128. Rose CE, Sung S-SJ, Fu SM. Significant involvement of CCL2 (MCP-1) in inflammatory disorders of the lung. *Microcirculation*. 2003;10(3-4):273-288. doi:10.1038/sj.mn.7800193
 129. Rosenthal JL, Jacob MS. Biomarkers in Pulmonary Arterial Hypertension. *Curr Heart Fail Rep*. 2014;11(4):477-484. doi:10.1007/s11897-014-0225-5
 130. Saharinen P, Eklund L, Miettinen J, et al. Angiopoietins assemble distinct Tie2 signalling complexes in endothelial cell–cell and cell–matrix contacts. *Nat Cell Biol*. 2008;10(5):527-537. doi:10.1038/ncb1715
 131. Saharinen P, Eklund L, Pulkki K, Bono P, Alitalo K. VEGF and angiopoietin signaling in tumor angiogenesis and metastasis. *Trends Mol Med*. 2011;17(7):347-362. doi:10.1016/j.molmed.2011.01.015
 132. Sako K, Fukuhara S, Minami T, et al. Angiopoietin-1 induces Kruppel-like factor 2 expression through a phosphoinositide 3-kinase/AKT-dependent activation of myocyte enhancer factor 2. *J Biol Chem*. 2009;284(9):5592-5601. doi:10.1074/jbc.M806928200
 133. Sanchez O, Marcos E, Perros F, et al. Role of Endothelium-derived CC Chemokine Ligand 2 in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(10):1041-1047. doi:10.1164/rccm.200610-1559OC
 134. Schmidt T. *Angiopoietin 1 Und 2 Als Biomarker Bei Patienten Mit Pulmonaler Hypertonie.*; 2016. Accessed April 24, 2019. http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2017/13047/pdf/SchmidtThomas_2017_01_16.pdf
 135. Schreiber BE, Valerio CJ, Keir GJ, et al. Improving the detection of pulmonary hypertension in systemic sclerosis using pulmonary function tests. *Arthritis Rheum*. 2011;63(11):3531-3539. doi:10.1002/art.30535
 136. Schumacher M, Schulgen G. *Methodik Klinischer Studien Methodische*

- Grundlagen Der Planung, Durchführung Und Auswertung*. 3. Aufl. Springer-Verlag; 2009. Accessed September 16, 2017. <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:1111-2014040339>
137. Schumann C, Lepper PM, Frank H, et al. Circulating biomarkers of tissue remodelling in pulmonary hypertension. *Biomarkers*. 2010;15(6):523-532. doi:10.3109/1354750X.2010.492431
 138. Song D-L, Kohse KP, Murad F. Brain natriuretic factor Augmentation of cellular cyclic GMP, activation of particulate guanylate cyclase and receptor binding. *FEBS Lett*. 1988;232(1):125-129. doi:10.1016/0014-5793(88)80400-9
 139. Steyerberg E. *Clinical Prediction Models - A Practical Approach to Development, Validation, and Updating* | Ewout Steyerberg | Springer.; 2009 sowie in mündlicher Kommunikation zwischen Ewout Steyerberg und Henning Gall in Rotterdam 2010.
 140. Strange G, Gabbay E, Kermeen F, et al. Time from symptoms to definitive diagnosis of idiopathic pulmonary arterial hypertension: The delay study. *Pulm Circ*. 2013;3(1):89-94. doi:10.4103/2045-8932.109919
 141. Sun X-G, Hansen JE, Oudiz RJ, Wasserman K. Exercise Pathophysiology in Patients With Primary Pulmonary Hypertension. *Circulation*. 2001;104(4):429-435. doi:10.1161/hc2901.093198
 142. Sun X-G, Hansen JE, Oudiz RJ, Wasserman K. Pulmonary function in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(6):1028-1035. doi:10.1016/S0735-1097(02)02964-9
 143. Sundberg C, Nagy JA, Brown LF, et al. Animal Model: Glomeruloid microvascular proliferation follows adenoviral vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-164 gene delivery. *Am J Pathol*. 2001;158(3):1145-1160. doi:10.1016/S0002-9440(10)64062-X
 144. Suri C, Jones PF, Patan S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell*. 1996;87(7):1171-1180. Accessed July 4, 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8980224>
 145. Swift AJ, Rajaram S, Hurdman J, et al. Noninvasive Estimation of PA Pressure, Flow, and Resistance With CMR Imaging: Derivation and Prospective Validation Study From the ASPIRE Registry. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(10):1036-1047. doi:10.1016/j.jcmg.2013.01.013

146. Swift AJ, Rajaram S, Condliffe R, et al. Diagnostic accuracy of cardiovascular magnetic resonance imaging of right ventricular morphology and function in the assessment of suspected pulmonary hypertension results from the ASPIRE registry. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2012;14(1):40. doi:10.1186/1532-429X-14-40
147. Tabruyn SP, Colton K, Morisada T, et al. Angiotensin-2-driven vascular remodeling in airway inflammation. *Am J Pathol*. 2010;177(6):3233-3243. doi:10.2353/ajpath.2010.100059
148. Tiede SL, Wassenberg M, Christ K, et al. Biomarkers of tissue remodeling predict survival in patients with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol*. 2016;223:821-826. doi:10.1016/j.ijcard.2016.08.240
149. Del Toro R, Prahst C, Mathivet T, et al. Identification and functional analysis of endothelial tip cell-enriched genes. *Blood*. 2010;116:4025-4033. doi:10.1182/blood-2010-02-270819
150. Torres F, Rubin LJ. Treprostinil for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2013;11(1):13-25. doi:10.1586/erc.12.160
151. Trip P, Nossent EJ, de Man FS, et al. Severely reduced diffusion capacity in idiopathic pulmonary arterial hypertension: patient characteristics and treatment responses. *Eur Respir J*. 2013;42(6). Accessed September 9, 2017. <http://erj.ersjournals.com/content/42/6/1575.long>
152. Tuder RM, Chacon M, Alger L, et al. Expression of angiogenesis-related molecules in plexiform lesions in severe pulmonary hypertension: Evidence for a process of disordered angiogenesis. *J Pathol*. 2001;195(3):367-374. doi:10.1002/path.953
153. Tuder RM, Groves B, Badesch DB, Voelkel NF. Exuberant endothelial cell growth and elements of inflammation are present in plexiform lesions of pulmonary hypertension. *Am J Pathol*. 1994;144(2):275-285.
154. Tunariu N, Gibbs SJR, Win Z, et al. Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic thromboembolic pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. *J Nucl Med*. 2007;48(5):680-684. doi:10.2967/jnumed.106.039438
155. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the

- pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006;12(6):642-649.
doi:10.1038/nm1429
156. Voelkel MA, Wynne KM, Badesch DB, Groves BM, Voelkel NF. Hyperuricemia in Severe Pulmonary Hypertension. *Chest*. 2000;117(1):19-24.
doi:10.1378/chest.117.1.19
 157. Voelkel NF, Gomez-Arroyo J. The role of vascular endothelial growth factor in pulmonary arterial hypertension: The angiogenesis paradox. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;51(4):474-484. doi:10.1165/rcmb.2014-0045TR
 158. Voelkel NF, Gomez-Arroyo J, Abbate A, Bogaard HJ, Nicolls MR. Pathobiology of pulmonary arterial hypertension and right ventricular failure. *Eur Respir J*. 2012;40(6):1555-1565. doi:10.1183/09031936.00046612
 159. Voelkel NF, Quaife RA, Leinwand LA, et al. Right Ventricular Function and Failure. *Circulation*. 2006;114(17). Accessed September 9, 2017.
<http://circ.ahajournals.org/content/114/17/1883.long>
 160. Vorselaars VM, Velthuis S, Snijder RJ, Vos JA, Mager JJ, Post MC. Pulmonary hypertension in hereditary haemorrhagic telangiectasia. *World J Cardiol*. 2015;7(5):230-237. doi:10.4330/wjc.v7.i5.230
 161. Wang XM, Shi K, Li JJ, et al. Effects of angiotensin II intervention on MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and collagen expression in rats with pulmonary hypertension. *Genet Mol Res*. 2015;14(1):1707-1717. doi:10.4238/2015.March.6.17
 162. Wetzl V, Svenja •, Tiede L, et al. Plasma MMP2/TIMP4 Ratio at Follow-up Assessment Predicts Disease Progression of Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. doi:10.1007/s00408-017-0014-5
 163. Yamada Y, Maruyama J, Zhang E, et al. Effect of thrombomodulin on the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Anesth*. 2014;28(1):26-33. doi:10.1007/s00540-013-1663-z
 164. Yasunobu Y, Oudiz RJ, Sun X-G, Hansen JE, Wasserman K. End-tidal Pco2 Abnormality and Exercise Limitation in Patients With Primary Pulmonary Hypertension. *Chest*. 2005;127(5):1637-1646. doi:10.1378/chest.127.5.1637
 165. Yndestad A, Larsen K-O, Oie E, et al. Elevated levels of activin A in clinical and experimental pulmonary hypertension. *J Appl Physiol*. 2009;106(4):1356-1364. doi:10.1152/jappphysiol.90719.2008
 166. Yndestad A, Ueland T, Øie E, et al. Elevated Levels of Activin A in Heart

- Failure: Potential Role in Myocardial Remodeling. *Circulation*. 2004;109(11):1379-1385. doi:10.1161/01.CIR.0000120704.97934.41
167. Yuan K, Orcholski ME, Panaroni C, et al. Activation of the wnt/planar cell polarity pathway is required for pericyte recruitment during pulmonary angiogenesis. *Am J Pathol*. 2015;185(1):69-84. doi:10.1016/j.ajpath.2014.09.013
168. Zhang J, Fukuhara S, Sako K, et al. Angiopoietin-1/Tie2 signal augments basal Notch signal controlling vascular quiescence by inducing delta-like 4 expression through AKT-mediated activation of beta-catenin. *J Biol Chem*. 2011;286(10):8055-8066. doi:10.1074/jbc.M110.192641
169. Zhao Q-H, Wang L, Pudasaini B, et al. Cardiopulmonary exercise testing improves diagnostic specificity in patients with echocardiography-suspected pulmonary hypertension. *Clin Cardiol*. 2017;40(2):95-101. doi:10.1002/clc.22635
170. Zimmers TA, Jin X, Hsiao EC, McGrath SA, Esquela AF, Koniaris LG. Growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 induction after kidney and lung injury. *Shock*. 2005;23(6):543-548. Accessed November 12, 2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15897808>
171. Zou KH, Bhagwat JG, Carrino JA. Statistical combination schemes of repeated diagnostic test data. *Acad Radiol*. 2006;13(5):566-572. doi:10.1016/j.acra.2006.01.052
172. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(1):111-117. doi:10.1164/ajrccm.166.1.at1102
173. ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(2):211-277. doi:10.1164/rccm.167.2.211
174. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89-95. doi:10.1067/mcp.2001.113989
175. Pharmazeutische Zeitung online: Biomarker: Indikatoren für Diagnose und Therapie. Accessed December 13, 2015. <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/?id=29346>

10 Ehrenwörtliche Erklärung

Erklärung zur Dissertation

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

Koblenz, 15.06.2020

Ort, Datum

Unterschrift

11 Danksagung

Den langen und unübersichtlichen Weg der Promotion geht man zwar die meiste Zeit allein, dennoch gibt es eine Vielzahl an Menschen, an die man sich dankenswerter Weise zurückerinnern sollte. Im Folgenden versuche ich diesem gerecht zu werden und niemanden dabei zu vergessen.

Danke an meine Eltern, die mich stets in allen Belangen unterstützt haben.

Danke an meine Freundin Franciska, die zur selben Zeit parallel ihre Master-Thesis erstellt und verteidigt hat.

Ein besonderer Dank geht an meine Kommilitonen Julian, Götz, Max und Stefan, mit denen das Studium auch in den schweren Phasen trotzdem noch Freude bereitet hat. Vor allem durch Götz, der mich oft mit seiner Akkuratheit zur Weißglut gebracht hat, konnte ich letztendlich sogar fachlich profitieren.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich meinem Doktorvater Henning, der immer für Fragen bereitstand und sich auf kollegiale Art und Weise vorbildlich um die Betreuung seiner Doktorranden gekümmert hat.

Danke an das Team der Ambulanz für Pulmonale Hypertonie für die sehr angenehme und freundschaftliche Zusammenarbeit, allen voran Susanne und Hans-Martin.

Danke an meine studentischen Kollegen, mit denen ich im Rechtsherzkatheter und in der Spiroergometrie zusammenarbeiten und meine organisatorischen Fähigkeiten als Doktorandensprecher erproben durfte.

Danke an Tillmann Grus, M.Sc., und Dominik Periša, B.Sc., die sich die Zeit genommen haben, meine Dissertation fachmännisch aus der Sicht „waschechter“ Naturwissenschaftler Korrektur zu lesen und mir mit wirklich konstruktiver Kritik zur Seite standen.

Mein größter Dank gilt nach wie vor meinen Patienten, an denen ich in meinem ärztlichen Werdegang lernen durfte und die uns weiterhin deutlich machen, wie kostbar und vor allem keineswegs selbstverständlich unsere Gesundheit ist.

12 Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen Version der Arbeit entfernt.

The curriculum vitae was removed from the electronic version of the paper.