

Aus der Klinik für Innere Medizin V  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Robert Bals

# **Die Bedeutung zirkulierender Biomarker bei pulmonaler Hypertonie**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES  
2024**

vorgelegt von Katarzyna Urszula Rososinska  
geboren am 11.02.1976 in Tychy / Polen

Tag der Promotion: 07. Oktober 2024

Dekan: Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Heinrike Wilkens

Prof. Dr. med. Gloria Färber

## **I Inhaltsverzeichnis**

<b>I Inhaltsverzeichnis</b> .....	2
<b>II Abbildungsverzeichnis</b> .....	6
<b>III Tabellenverzeichnis</b> .....	7
<b>IV Formelverzeichnis</b> .....	7
<b>V Abkürzungsverzeichnis</b> .....	8
<b>1 Zusammenfassung</b> .....	10
<b>1.1 Summary</b> .....	11
<b>2 Einleitung</b> .....	12
2.1 Definition der pulmonalen Hypertonie.....	12
2.2 Klassifikation der pulmonalen Hypertonie .....	14
2.3 Epidemiologie der pulmonalen Hypertonie.....	15
2.4 Pathogenese der pulmonalen Hypertonie .....	16
2.5 Diagnostik der pulmonalen Hypertonie .....	18
2.5.1 Symptome und klinische Befunde.....	18
2.5.2 Bildgebende Verfahren.....	19
2.5.2.1 Echokardiographie.....	19
2.5.2.2 Computertomographie.....	20
2.5.2.3 Ventilations-Perfusionsszintigraphie.....	20
2.5.3 Rechtsherzkatheter .....	20
2.5.4 Belastungsuntersuchungen .....	22
2.5.4.1 6-Minuten-Gehtest .....	22
2.5.4.2 Spiroergometrie .....	22
2.5.5 Serologische Untersuchungen .....	23
2.5.6 NT-proBNP und BNP.....	23
2.6 Beurteilung des Schweregrades der pulmonalen Hypertonie.....	24
2.7 Allgemeine und supportive Therapie der pulmonalen Hypertonie.....	25
2.8 Spezifische Therapie der pulmonalen Hypertonie.....	25

2.8.1 Spezifische Therapie der pulmonal arteriellen Hypertonie.....	25
2.8.2 Spezifische Therapie der chronisch thrombembolischen pulmonalen Hypertonie.....	26
2.9 Zirkulierende Biomarker.....	27
2.9.1 Natriuretische Peptide.....	27
2.9.1.1 Natriuretisches Peptid vom Typ A.....	29
2.9.1.2 Natriuretisches Peptid vom Typ B.....	30
2.9.1.3 Natriuretisches Peptid vom Typ C.....	31
2.9.1.4 <i>Dendroaspis</i> natriuretisches Peptid.....	33
2.9.2 sST2 .....	33
2.9.3 sVEGFR-1.....	35
2.10 Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit.....	36
<b>3 Material und Methodik</b> .....	<b>37</b>
3.1 Studienteilnehmer.....	37
3.2 Versuchsordnung.....	37
3.3 Erhebung der hämodynamischen Parameter mittels Rechtherzkatheter.....	38
3.4 Oxyhem.....	38
3.5 Bestimmung des Funktionsstatus.....	39
3.6 Messung der Konzentrationen der Biomarker.....	39
3.6.1 MR-proANP.....	39
3.6.2 NT-proBNP.....	40
3.6.3 NT-proCNP.....	41
3.6.4 DNP.....	41
3.6.5 sST2 .....	42
3.6.6 sVEGFR-1.....	42
3.7 Bestimmung der Nierenfunktion nach K/DOQI.....	43
3.8 Statistische Auswertung.....	45
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>46</b>

4.1	Charakterisierung der Studienteilnehmer.....	46
4.2	Hämodynamik der Studienteilnehmer.....	48
4.3	Einfluss der pulmonalen Hypertonie auf die Konzentration der Biomarker.....	49
4.4	Konzentration der Biomarker in Abhängigkeit von den PH-Gruppen.....	50
4.5	Korrelation der Biomarker mit hämodynamischen Parametern.....	52
4.5.1	MR-proANP.....	52
4.5.2	NT-proBNP.....	54
4.5.3	NT-proCNP.....	55
4.5.4	DNP.....	57
4.5.5	sST2.....	58
4.5.6	sVEGFR-1.....	59
4.6	Zusammenhang der Biomarker mit dem funktionellen Status der Probanden.....	61
4.6.1	Zusammenhang mit dem 6-Minuten Gehstest.....	61
4.6.2	Zusammenhang mit der WHO Funktionsklasse.....	62
4.7	Abhängigkeit von der Nierenfunktion.....	64
4.8	Besitzen die Biomarker eine diagnostische Aussage bei der PH?.....	65
4.9	Tragen die Biomarker eine Aussage zum Überleben bei der PH hinzu bei?.....	68
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>71</b>
5.1	Natriuretische Peptide.....	72
5.1.1	MR-proANP.....	72
5.1.2	NT-proBNP.....	74
5.1.3	NT-proCNP.....	75
5.1.4	DNP.....	76
5.2	sST2.....	77
5.3	sVEGFR-1.....	79
5.4	Oxyhem .....	80
5.5	Limitationen und Einschränkungen.....	82

5.6	Schlussfolgerungen.....	82
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>84</b>
<b>7</b>	<b>Publikationen.....</b>	<b>104</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>105</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>106</b>

## II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Diagram zur echokardiographischen Abschätzung der PH-Wahrscheinlichkeit (Galie et al., 2015).....	20
Abbildung 2: Schematische Aminosäurestruktur der natriuretischen Peptide modifiziert nach Schirger et al., 1999.....	28
Abbildung 3: Konzentration der Biomarker in der Kontrollgruppe und der Patientengruppe als Box-Plot-Diagramm.....	49
Abbildung 4: Konzentrationen der Biomarker in der Kontrollgruppe und den Patientenuntergruppen als Box-Plot-Diagramm.....	51
Abbildung 5: Lineare Korrelation nach Pearson MR-proANP mit den hämodynamischen Parametern.....	52
Abbildung 6: Lineare Korrelation nach Pearson NT-proBNP mit den hämodynamischen Parametern.....	54
Abbildung 7: Lineare Korrelation nach Pearson NT-proCNP mit den hämodynamischen Parametern.....	55
Abbildung 8: Lineare Korrelation nach Pearson DNP mit den hämodynamischen Parametern.....	57
Abbildung 9: Lineare Korrelation nach Pearson sST2 mit den hämodynamischen Parametern.....	58
Abbildung 10: Lineare Korrelation nach Pearson sVEGFR-1 mit den hämodynamischen Parametern.....	59
Abbildung 11: Korrelation zwischen 6 Minuten Gehstest [m] und Biomarkerspiegel .....	61
Abbildung 12: Konzentration der Biomarker in Korrelation nach Kendalls ( $\tau$ ) mit der WHO Funktionsklassen als Box-Diagramm.....	63
Abbildung 13: Konzentration der Biomarker in Korrelation nach Kendalls ( $\tau$ ) mit der Nierenfunktion als Box-Diagramm.....	64
Abbildung 14: Receiver Operator Charakteristik (ROC) für die Biomarker .....	66
Abbildung 15: Bestimmung des medianen Überlebens aus einer Kaplan-Meier-Kurve.....	68
Abbildung 16: Bestimmung des kumulativen Überlebens aus einer Kaplan-Meier Kurve für die jeweiligen Biomarkerkonzentration über den Medianwert (rot) und unter dem Medianwert (blau).....	69

### III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Hämodynamische Definition der PH mit Zuordnung der PH Gruppen, nach ESC-ERS-Leitlinien von 2022 (Humbert et al., 2022).....	13
Tabelle 2: Klinische Klassifikation nach den ESC-ERS- Leitlinien von 2022 (Humbert et al., 2022).....	14
Tabelle 3: Echokardiographische indirekte Zeichen einer pulmonalen Hypertonie in 3 verschiedenen Kategorien (nach Augustine et al., 2018).....	19
Tabelle 4: WHO Funktionklassen bei Patienten mit PH (Barst et al., 2004).....	24
Tabelle 5: Einteilung der chronischen Niereninsuffizienz in fünf Stadien K/DOQI (nach der National Kidney Foundation 2002).....	44
Tabelle 6: Grundlegende Patientendaten, Bewegungstoleranz und medikamentöse Behandlung der Studienteilnehmer .....	47
Tabelle 7: Hämodynamische Parameter der Patienten mit PH und der Kontrollgruppe..	48
Tabelle 8: Diagnostische Leistungsfähigkeit der Biomarker für PH.....	67
Tabelle 9: Mediane für Überlebenszeit und Gesamtvergleiche.....	70

### IV Formelverzeichnis

Formel 1: Berechnung des pulmonalen Gefäßwiderstandes.....	21
Formel 2: Berechnung des Herzindex.....	21
Formel 3: Berechnung des Herzzeitvolumens.....	22
Formel 4: Kreatininclearance nach Cockcroft & Gault.....	43



## V Abkürzungsverzeichnis

ANP	atriales natriuretisches Peptid
AUC	Fläche unter der Kurve (area under the curve)
BNP	natriuretisches Peptid Typ B (brain natriuretic peptide)
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CI	Herzindex (cardiac index)
CNP	natriuretisches Peptid vom Typ C
CTEPH	chronisch- thromboembolische pulmonale Hypertonie
DNP	<i>Dendroaspis</i> natriuretisches Peptid
EKG	Elektrokardiographie
FC	Funktionsklasse (functional class)
HPAH	hereditäre pulmonal-arterielle Hypertonie
HZV	Herzzeitvolumen
IPAH	idiopathische pulmonal- arterielle Hypertonie
K/DOQI	Kidney Disease Outcome Quality Initiative
KOF	Körperoberfläche
MR-proANP	mittlere Region des ANP Prohormons
MW	Mittelwert
NO	Stickstoffmonoxid
NP	natriuretisches Peptid
NPR	Rezeptor für natriuretisches Peptid
NT-proBNP	N-terminale Region des BNP Prohormons
NT-proCNP	N-terminale Region des CNP Prohormons
NYHA	New York Heart Association
PAH	pulmonal-arterielle Hypertonie
PAP	pulmonal-arterieller Druck
PAPm	pulmonal-arterieller Mitteldruck

PAWP	pulmonal-arterieller Verschlussdruck (wedge-pressure)
PCWP	pulmonal kapillärer Verschlussdruck
PDE-5	Phosphodiesterase-5
PGI <sub>2</sub>	Prostacyclin (Prostaglandin 2)
PH	pulmonale Hypertonie
PVOD	pulmonale veno-okklusive Erkrankung
PVR	pulmonal-vaskulärer Widerstand
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron System
RAP	rechtsatrialer Druck
ROC	Receiver Operator Charakteristik
RVP	rechtsventrikulärer Druck
SD	Standardabweichung
sST2	soluble suppression of tumorigenicity 2
SR	Geschlechterverhältnis (sex ratio)
sVEGFR-1	löslicher vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor Rezeptor -1
TPG	transpulmonaler Gradient
TRV	tricuspid regurgitation velocity – Geschwindigkeit des Regurgitationsjets über die Trikuspidalklappe
WHO	World Health Organization
WSPH	Weltsymposium für Pulmonale Hypertonie
6minGT	6-Minuten-Gehtest

## 1 Zusammenfassung

Die pulmonale Hypertonie ist ein Begriff für Erkrankungen verschiedener Genese, definiert durch eine Druckerhöhung mit Anstieg des Gefäßwiderstands im pulmonalen Kreislauf. Unbehandelt kommt es zum Rechtsherzversagen und letztendlich zum Tod. Bei rechtzeitiger Diagnosestellung kann eine Therapie das Fortschreiten der Krankheit hinauszögern und damit das Leben der Patienten erheblich verlängern. Zur Diagnosestellung, Therapiekontrolle und Nachsorge werden nichtinvasive Methoden benötigt, die den hämodynamischen Status des Patienten gut widerspiegeln. Derzeit findet im klinischen Alltag nur das natriuretische Peptid vom Typ B (BNP/NT-proBNP) Anwendung in der Diagnostik und Verlaufskontrolle der pulmonalen Hypertonie.

In dieser Arbeit wurden die natriuretischen Peptide (MR-proANP, NT-proBNP, NT-proCNP, DNP) sowie sST2 und sVEGFR-1 untersucht. Dazu wurden die Konzentrationen dieser Substanzen im Blut von 58 Patienten mit pulmonaler Hypertonie und 21 gesunden Probanden bestimmt und in Relation zu den hämodynamischen Parametern, mittlerer pulmonal arterieller Druck, pulmonal kapillärer Verschlussdruck, pulmonal vaskulärer Widerstand, rechtsatrialer Druck, transpulmonaler Gradient, Herzindex, gemischtvenöse Sauerstoffsättigung, Oxyhem sowie dem klinischen Funktionsstatus und der Nierenfunktion gestellt. Zudem wurde die diagnostische und prognostische Aussagekraft von Biomarkern geprüft.

Dabei zeigte sich, dass MR-proANP und sST2 ähnliche Ergebnisse liefern, wie das bereits in der Diagnostik etablierte NT-proBNP. MR-proANP und sST2 korrelieren mit den diagnostischen hämodynamischen Parametern des Lungenkreislaufs und reflektieren die Leistungsfähigkeit der Patienten. Mit abnehmender Nierenfunktion steigen die Spiegel von MR-proANP und sST2, ähnlich wie NT-proBNP.

In unserer Studie lebte die Hälfte der Patienten mit pulmonaler Hypertonie länger als 10,88 Jahre, ohne eine signifikante Korrelation zu den Biomarkerspiegeln.

In dieser Studie konnte kein relevanter Zusammenhang von NT-proCNP und DNP mit hämodynamischen oder klinischen Parametern bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie festgestellt werden. Auch sVEGFR-1 zeigte sich nicht als guter PH-Biomarker.

Diese Studie zeigt, dass MR-proANP und sST2 zusätzlich zu dem etablierten NT-proBNP potentielle Marker für Diagnostik und Schweregrad der pulmonalen Hypertonie sein können.

## 1.1 Summary

The importance of circulating biomarkers in pulmonary hypertension.

Pulmonary hypertension is a term for diseases of various etiologies that result from an increase in vascular resistance in the pulmonary circulation and, as a consequence, an increase in pressure in the right heart cavities. If left untreated, right heart failure and ultimately death will result. If diagnosed in time, therapy can delay the progression of the disease and thus significantly extend the patient's life. For diagnosis, therapy monitoring and follow-up, non-invasive methods are needed that reflect well the hemodynamic status of the patient. Currently, only type B natriuretic peptide (BNP/NT-proBNP) is used in the diagnosis and follow-up of pulmonary hypertension.

In this work natriuretic peptides (MR-proANP, NT-proBNP, NT-proCNP, DNP) as well as sST2 and sVEGFR-1 were investigated. The concentrations of these substances in the blood of 58 patients with pulmonary hypertension and 21 healthy volunteers were determined and related to the hemodynamic parameters: mean pulmonary arterial pressure, pulmonary arterial occlusion pressure, pulmonary vascular resistance, right atrial pressure, transpulmonary gradient, cardiac index, mixed venous oxygen saturation, to oxyhem, and clinical functional status and renal function. In addition, the diagnostic and prognostic value of the biomarkers was assessed.

MR-proANP and sST2 were shown to provide similar results as NT-proBNP, which is already well established in diagnostics. MR-proANP and sST2 correlate with diagnostic hemodynamic parameters of the pulmonary circulation and reflect patient performance. With decreasing renal function, the levels of MR-proANP, and sST2 increase, similar to NT-proBNP.

In our study, half of the patients with pulmonary hypertension lived longer than 10.88 years, with no significant correlation to biomarker levels.

In this study, no relevant correlation of NT-proCNP and DNP with hemodynamic or clinical parameters in patients with pulmonary hypertonia was detected. Also, sVEGFR-1 is not shown to be a suitable PH biomarker.

This study shows that MR-proANP and sST2 can be potential markers for diagnosis and severity of pulmonary hypertension in addition to the established NT-proBNP.

## 2 Einleitung

Die pulmonale Hypertonie (PH) ist ein Begriff für Erkrankungen multifaktorieller Genese und zeichnet sich durch einen zunehmenden Anstieg des Gefäßwiderstands und eine damit einhergehende Hypertonie im pulmonalen Kreislauf aus. Diese führt im weiteren Verlauf zum Rechtsherzversagen und Tod (Hoeper et al., 2017).

Die Erstbeschreibung der PH wurde 1865 durch den Wiener Prosector Julius Klob mit der Bezeichnung „Endarteriitis pulmonalis deformans“ im Wochenblatt der königlich-kaiserlichen Gesellschaft der Ärzte in Wien veröffentlicht (Klob, 1865). Ernst von Romberg beschrieb sie als „Sklerose der Lungenarterien“ wegen der morphologischen Charakteristik der Lungenarterien (Romberg 1891). 1901 wurden von Ayerza erstmals Zusammenhänge zwischen der klinischen Symptomatik wie Dyspnoe, chronische Zyanose und Polyzythämie sowie den autoptischen Pathologien in den Pulmonalgefäßen publiziert (Mazzei & Mazzei 2011). 1935 entdeckte Brenner die kleinen muskulären Arterien und Arteriolen als wesentliches anatomisches Substrat dieser Krankheit (Hughes & Rubin 1986), allerdings wurde der kausale Zusammenhang zwischen Läsionen in den pulmonalen Gefäßen und der Hypertrophie des rechten Herzens bisdahin nicht bekannt.

Erst in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts rückte die PH in den Fokus der Wissenschaft, nachdem es zu einer Häufung der Krankheitsfälle nach der Einnahme des Appetitzüglers Aminorex-Fumarat kam (Handelsname in Deutschland: Menocil; Follath et al., 1971). Bedingt durch verschiedene Neuerungen in der Diagnostik, insbesondere die Echokardiographie, sowie die Etablierung neuer therapeutischer Strategien, gelangte diese Krankheitsentität in den letzten drei Dekaden in zunehmendem Maße in den Fokus des wissenschaftlichen wie auch öffentlichen Interesses.

### 2.1 Definition der pulmonalen Hypertonie

Nach den aktuell geltenden Leitlinien liegt eine PH vor, wenn der pulmonal-arterielle Mitteldruck (mean pulmonary arterial pressure; PAPm) invasiv mittels Rechtherzkatheter in Ruhe über 20mmHg gemessen wird. Zudem ist für die hämodynamische Definition die Ermittlung des pulmonalen vaskulären Widerstands (PVR) in Wood Einheiten (WE) obligatorisch (Humbert et al., 2022). Die Bestimmung des pulmonal-kapillären Verschlussdrucks (PCWP) unterscheidet zwischen prä- und postkapillärer PH (Simonneau et al.,

2009). Mithilfe von PAPm, PVR und PCWP erfolgt eine hämodynamische Untergruppierung der PH (Tabelle 1, Seite 13 und 14).

In den ESC-/ERS-Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der PH von 2022 wurde ein PAPm von über 20mmHg als Diagnosekriterium für PH definiert. Der zuvor geltende PAPm über 25mmHg wurde empirisch und arbiträr bei dem WHO Symposium 1973 in Genf als Determinante der pulmonalen Hypertonie festgelegt. Der Normwert des PAPm beträgt  $14,0 \pm 3,3$ mmHg (Kovacs et al., 2009). Die Werte zwischen 21 und 24mmHg sind mit einem Risiko für Krankheitsprogression verbunden (Simmoneau et al., 2019). Patienten mit systemischer Sklerose und PAPm Werte zwischen 21 und 24 mmHg entwickeln meist in ca. 3-4 Jahre eine PH mit Werten über PAPm 25mmHg (Valerio et al., 2013, Coghlan et al., 2018). Die Mortalität der Patienten mit PAPm >25mmHg sowie PAPm zwischen PAPm 21-24mmHg war höher im Vergleich zu Patienten mit PAPm unter 20mmHg (Douschan et al., 2018). Patienten mit chronisch thromboembolischer Lungengefäßkrankung ohne pulmonale Hypertonie mit PAPm zwischen 15 und 24mmHg, profitieren von einer Pulmonalen Endarteriektomie (PEA) mit signifikanter Verbesserung der Belastbarkeit, Lebensqualität und Prognose (Taboada et al., 2014).

**Tabelle 1: Hämodynamische Definition der PH mit Zuordnung der PH Gruppen, nach ESC-ERS-Leitlinien von 2022 (Humbert et al., 2022)**

Definition	Hämodynamische Parameter	Klinische Klassifikation nach ESC-ERS-Leitlinien von 2022
PH	PAPm > 20mmHg	alle Gruppen
Präkapilläre PH	PAPm > 20mmHg PCWP ≤ 15mmHg PVR > 2WE	Gruppe 1,3,4 und 5
Postkapilläre PH	PAPm > 20mmHg PCWP > 15mmHg	Gruppe 2,5
Isolierte postkapilläre PH	PAPm > 20mmHg PCWP > 15mmHg PVR ≤ 2WE	Gruppe 2
Kombinierte prä- und postkapilläre PH	PAPm > 20mmHg PCWP > 15mmHg	Gruppe 2

	PVR > 2WU	
Undefinierte PH	PAPm > 20mmHg PCWP ≤ 15mmHg PVR ≤ 2WE	-

Abkürzungen: PH: pulmonale Hypertonie, PAPm: pulmonal arterieller Mitteldruck, PVR: pulmonal-vaskulärer Widerstand, PCWP: pulmonal kapillärer Verschlussdruck, WE: Wood Einheiten

## 2.2 Klassifikation der pulmonalen Hypertonie

Die erste klinische Klassifikation der PH wurde während des Weltsymposiums für Pulmonale Hypertonie (WSPH) 1973 in Genf entwickelt. Die PH wurde damals lediglich in eine primäre und eine sekundäre Form eingeteilt (Hatano & Strasser 1975).

Eine weitere Differenzierung in fünf Gruppen erfolgte auf der WSPH in Evian 1998, die sich in ihrer Pathogenese unterscheiden (Fishman 2001). Weitere Modifikationen führten zur aktuell gültigen Einteilung von 2022 (Tabelle 2, Seite 14 und 15). Innerhalb dieser Gruppen sind Pathogenese, klinische Präsentation und hämodynamische Parameter, damit auch die therapeutischen Möglichkeiten ähnlich (Simonneau et al., 2019).

**Tabelle 2: Klinische Klassifikation nach den ESC-ERS- Leitlinien von 2022 (Humbert et al., 2022)**

1	Pulmonal arterielle Hypertonie (PAH)
1.1	Idiopathische PAH
1.1.1	Nicht-Responder in der Vasoreagibilitätstestung
1.1.2	Akute Responder in der Vasoreagibilitätstestung
1.2	Hereditäre PAH (können auch akute Responder sein)
1.3	Durch Medikamente oder Toxine verursacht (können auch Akute Responder sein)
1.4	Assoziiert mit
1.4.1	Bindegewebserkrankungen
1.4.2	HIV-Infektion
1.4.3	portaler Hypertonie
1.4.4	angeboren Herzfehlern
1.4.5	Schistosomiasis
1.5	PAH mit Beteiligung der Venolen/Kapillaren (PVOD/PCH)
1.6	Persistierende PH der Neugeborenen

---

2	PH assoziiert mit einer Linksherzerkrankung
2.1	PH aufgrund einer Herzinsuffizienz
2.1.1	mit erhaltener linksventrikulärer Ejektionsfraktion
2.1.2	mit reduzierter/mäßig reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion
2.2	Valvuläre Erkrankungen
2.3	Angeborene/erworbene kardiovaskuläre Erkrankungen mit postkapillärer PH
3	PH assoziiert mit einer Lungenerkrankung und/oder Hypoxie
3.1	Obstruktive Lungenerkrankungen oder Emphysem
3.2	Restriktive Lungenkrankheiten
3.3	Lungenerkrankungen mit gemischt restriktiv/obstruktivem Muster
3.4	Hypoxie ohne Lungenerkrankung
3.5	Fehlentwicklungen der Lunge
4	PH aufgrund von pulmonal arteriellen Obstruktionen
4.1	Chronisch thromboembolische PH
4.2	Andere pulmonal arterielle Obstruktionen
5	PH mit unklarem oder multifaktoriellem Mechanismus
5.1	Hämatogische Erkrankungen
5.2	Systemische Erkrankungen
5.3	Metabolische Erkrankungen
5.4	Chronische Niereninsuffizienz mit oder ohne Hämodialyse
5.5	Pulmonale tumoröse thrombotische Mikroangiopathie
5.6	Fibrosierende Mediastinitis

---

Abkürzungen: PAH: pulmonal arterielle Hypertonie; HIV: humanes Immunschwächevirus; PVOD: pulmonale venookklusive Erkrankung (pulmonary veno-occlusive disease); PCH: pulmonale kapillare Hämangiomatose

### **2.3 Epidemiologie der pulmonalen Hypertonie**

Ein Prozent der Weltbevölkerung ist von einer pulmonalen Hypertonie betroffen, bei Menschen über 65 Jahren sind es sogar 10% (Hoeper et al., 2016). Innerhalb der PH-Formen ist die PH bei Linksherzkrankheiten die häufigste Form. Die Prävalenz bei Patienten mit schwerer linksventrikulärer Dysfunktion beträgt 60%, bei Patienten mit Herzinsuffizienz mit erhaltener Pumpfunktion bis zu 70%. Bei fast allen Patienten, die an einer schweren Mitralklappenerkrankung leiden, sowie bei 65% derjenigen mit symptomatischer Aortenklappenstenose, liegt eine pulmonale Hypertonie vor. (Galie et al., 2015). Auch Patienten mit Lungenerkrankung, vor allem im fortgeschrittenen Stadium der



Lungenerkrankung, weisen häufig eine milde pulmonale Hypertonie auf. Eine schwere PH kommt selten vor (Seeger et al., 2013). Bis zu 90% der Patienten mit COPD GOLD IV weisen eine PH auf. Eine schwere PH betrifft jedoch weniger als 5 % der COPD-Patienten (Chaouat et al., 2005). Bei 30-50% der Patienten mit idiopathischer Lungenfibrose im fortgeschrittenen Stadium und bei über 60% im terminalen Stadium der Erkrankung liegt eine PH vor (Raghu et al., 2015, Kimura et al., 2013). Schätzungen zufolge liegt die Prävalenz der PH bei Pat. mit CPFE (kombinierte Lungenfibrose und Emphysem, combined pulmonary fibrosis and emphysem) bei 30-50% (Cottin et al., 2010). Die Prävalenz der PAH wird auf 15 bis 50 pro eine Million in USA und Europa gerechnet (Beshay et al., 2020). Gut die Hälfte unter der PAH ist einer IPAH zuzuschreiben, gefolgt von HPAH und Appetitzügler-assoziiierter PAH, zusammen machen diese drei Formen 52,6% aller PAH-Fälle aus (Levine 2021). Frauen sind von allen Varianten der PAH 1,9-mal häufiger betroffen als Männer (sex ratio, SR 1,9). Insbesondere gilt dies für die IPAH (SR 1,6), hereditäre PAH (SR 2,2) und die Appetitzügler-assoziierte PAH (SR 14,9) (Montani et al., 2013). Die Inzidenz der CTEPH als ernsthafte Spätkomplikation einer symptomatischen akuten Lungenembolie beträgt zwischen 0,4% und 6,2% (Kim et al., 2019). Bei Patienten mit chronischer Schistosomiasis beläuft sich die Prävalenz einer PH auf 7,7% und einer PAH auf 4,6% (Lapa et al., 2009).

#### **2.4 Pathogenese der pulmonalen Hypertonie**

Die Pathogenese der PH ist multifaktoriell und unterscheidet sich in verschiedenen Gruppen der PH (Galie et al., 2009).

Die pulmonal arterielle Hypertonie ist eine primäre Erkrankung der kleinen pulmonalen, präkapillären Arterien und betrifft alle drei Schichten der Gefäßwand bzw. die drei Zelltypen – Intima, Media und Adventitia, Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Fibroblasten. Durch chronische Einwirkung unterschiedlicher Reize wie Hypoxie, Entzündungen, Scherkräfte, Toxine, virale Infektionen und eine genetische Prädisposition kommt es zur Endotheldysfunktion. In diesem Zustand tritt ein Ungleichgewicht in Produktion von vasoaktiven Faktoren zugunsten von vasokonstriktiven Substanzen (Endothelin-1, ET-1 und 5-Hydroxytryptamin) und gleichzeitig eine Senkung des Spiegels der vasodilatativ wirkenden Faktoren Stickstoffmonoxid (NO) und Prostacyclin (Prostaglandin I<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) auf. Zudem steigt die Expression von proinflammatorischen Zytokinen und von prothrombotischen Faktoren (Humbert et al., 2019). Auch die glatten Muskelzellen und Fibroblasten weisen eine Proliferation und Konstriktion als Antwort auf die unterschiedlichen o.g.

Störfaktoren auf. Gemeinsam für alle hier beteiligten Zellen ist der veränderte Metabolismus, mit Ähnlichkeit zu den Krebszellen. Dieser zeichnet sich durch glykolytische Energiegewinnung trotz Anwesenheit von Sauerstoff aus, dem sog. Warburg Metabolismus, genannt nach einem deutschen Biochemiker, Arzt und Physiologe Otto Warburg, der diesen Prozess in den 30er Jahren des XX Jh. beschrieben hat. Dieser Effekt führt zum Überlebensvorteil und stetigen Wachstum. Das Zusammenspiel dieser Prozesse äußert sich histopathologisch in einer Vasokonstriktion, einem chronischen Gefäßumbau, Verlust und Obliteration der präkapillären Arteriolen und Thrombosen in situ. In Konsequenz dessen kommt es zur Erhöhung des pulmonalen Gefäßwiderstands, des pulmonal arteriellen Druckes und letztendlich einer erhöhten Nachlast für den rechten Ventrikel (Humbert et al., 2019, Kurakula et al., 2021).

Die pulmonale Hypertonie bei Linksherzerkrankungen entsteht durch pulmonal venösen Rückstau und dadurch zu passiver Druckerhöhung in der präkapillären Komponente, was in Folge zur Vasokonstriktion und Gefäßumbau führt (Humbert et al., 2019). Auch in dieser Form der PH wird eine endotheliale Dysfunktion in den Experimentmodellen beschrieben (Fernandez et al., 2019). Es wurde eine reduzierte Aktivität von NO und verminderte Antwort der kleinen Lungenarterien auf NO gezeigt (Ontkean et al., 1991). Erhöhte Endothelin-1 (ET-1) Spiegel sind bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz festzustellen (Meoli et al., 2018).

Die PH bei Lungenerkrankungen wird unter anderem durch hypoxisch induzierte Vasokonstriktion hervorgerufen. Eine chronische Inflammation durch Zigarettenrauch bei Patienten mit COPD ist ein Triggerfaktor für endotheliale Dysfunktion. Aufgrund des Zigarettenrauchs wird die Expression der endothelialen NO-Synthetase und Prostacyclin in den Endothelzellen der pulmonalen Arterien verringert. Gleichzeitig kommt es zu einer Überexpression von vaskulärem endothelialeem Wachstumsfaktor (VEGF) und ET-1 (Kurakula et al., 2021). Dies führt zur Imbalance zwischen vasodilatativen und vasokonstriktiven Substanzen.

Die Pathogenese der CTEPH ist noch teilweise ungeklärt. Es bestehen Ähnlichkeiten zum Gefäßumbau bei PAH Patienten. Organisierte Thromben in den Lungenarterien, die durch die Lunge nach einer akuten Lungenembolie nicht aufgelöst worden sind, sind mit einem Remodeling der distalen nicht okkludierten Gefäße verbunden (Simonneau et al., 2017). Pathobiologisch liegt hier eine fehlerhafte Angiogenese, gestörte Fibrinolyse und endotheliale Dysfunktion vor (Lang et al., 2013).

## **2.5 Diagnostik der pulmonalen Hypertonie**

Infolge der unspezifischen Symptome wie Belastungsdyspnoe misslingt eine Diagnosestellung im frühen Krankheitsstadium der pulmonalen Hypertonie (Hoeper et al., 2010). In Deutschland vergehen durchschnittlich 2,3 Jahre bis zur Diagnosestellung (Wilkins et al., 2010). Die aktuellen Leitlinien empfehlen eine strukturierte 3-Schritt-Vorgehensweise, um die Diagnose der pulmonalen Hypertonie zu stellen. Diese beinhaltet den Verdacht, die Detektion und die Bestätigung (Humbert et al., 2022). Im ersten Schritt ist bei Verdacht auf pulmonale Hypertonie oder bei unklarer Dyspnoe eine Basisdiagnostik beim Hausarzt durchzuführen, die Anamnese, körperliche Untersuchung, EKG, Labor (einschließlich NT-proBNP) und Sauerstoffsättigungsmessung beinhaltet. Im weiteren Schritt sind Fachärzte für Kardiologie und/oder Pneumologie gefordert, eine kardiologische und/oder pneumologische Erkrankung zu detektieren, indem sie diagnostische Verfahren wie Echokardiographie, Spiroergometrie, Lungenfunktion, Röntgen-Thorax oder ggf. CT-Thorax durchführen. Dadurch kann entweder die unklare Dyspnoe erklärt werden oder es kann eine Ursache für pulmonale Hypertonie infolge von Linksherzerkrankungen oder Lungenerkrankungen detektiert werden. Falls die Fachärzte einen Verdacht auf pulmonale Hypertonie äußern, erfolgt im letzten Schritt eine Vorstellung im PH-Zentrum, um die Verdachtsdiagnose durch weitere diagnostische Verfahren inklusive Rechtsherzkatheter zu evaluieren (Humbert et al., 2022).

### **2.5.1 Symptome und klinische Befunde**

Die Mehrzahl der Patienten mit einer PH klagt vor allem unter Luftnot bei Belastung, bei Diagnosestellung liegt dies in 98% der Fälle vor (Rich et al., 1987). Müdigkeit, Fatigue, thorakale Schmerzen, Husten, Benommenheit, Atemnot beim Bücken, Synkopen und Beinödeme gehören ebenso zu den Symptomen, die von den PH-Patienten berichtet werden können. Auch Angina abdominalis, Hämoptyse und Arrhythmien können Ausdruck einer PH sein (Frost et al., 2019). Eine genaue Erfragung von Risikofaktoren wie z.B. Einnahme von Appetitzüglern und Begleiterkrankungen sowie die Familienanamnese sind von großer Relevanz. In der klinischen Untersuchung sind pathologische Befunde oft erst im fortgeschrittenen Stadium zu erheben. Zu den häufigsten physikalischen Zeichen der PH gehört der betonte zweite Herzton, oft mit fixierter Spaltung (Olschewski 2006).

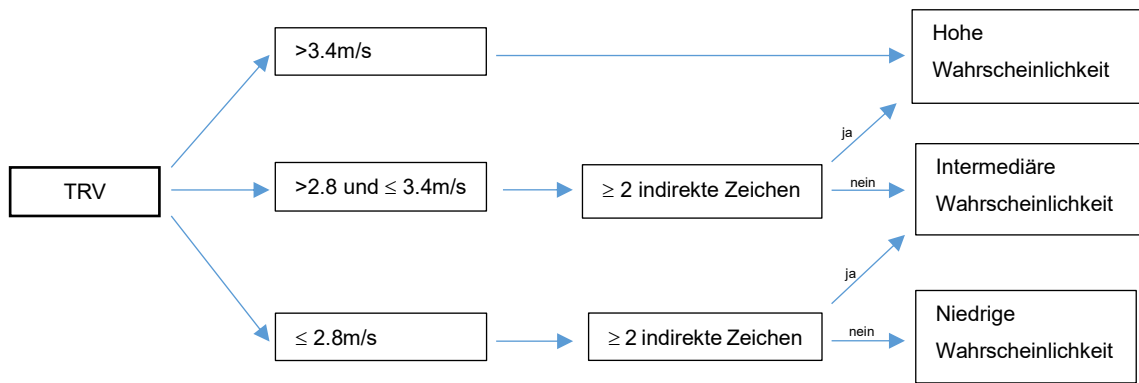
## 2.5.2 Bildgebende Verfahren

### 2.5.2.1 Echokardiographie

Die wichtigste nichtinvasive Untersuchung stellt die Echokardiographie dar. Sie kann im Falle von möglichen linksventrikulären Ursachen einer PH eine Zuordnung zur Klasse 2 möglich machen. Auch zur Verlaufskontrolle unter der Therapie hat diese Untersuchung eine wichtige Bedeutung (Galie et al., 2015). In der Abklärungsdiagnostik ist die Echokardiographie eine Schlüsselmethode zur Wahrscheinlichkeitsabschätzung für das Vorliegen einer PH als hoch, intermediär oder niedrig zu schätzen (Abbildung 1, Seite 20) (Galie et al., 2015). Das Hauptkriterium ist die TRV-Geschwindigkeit des Regurgitationsjets über die Trikuspidalklappe. Darüber hinaus werden indirekte Zeichen für pulmonale Hypertonie (PH) herangezogen (Tabelle 3, Seite 19) (Augustine et al., 2018; Humbert et al., 2022).

**Tabelle 3: Echokardiographische indirekte Zeichen einer pulmonalen Hypertonie in 3 verschiedenen Kategorien (nach Augustine et al., 2018; Humbert et al., 2022)**

<b>Ventrikel</b>	<b>Arteria pulmonalis (PA)</b>	<b>Vena cava inferior (IVC) und rechter Vorhof (RA)</b>
Quotient des basalen Diameters des RV und des linken Ventrikels (LV): RV/LV >1.0	Akzelerationszeit im rechtventrikulären Ausflusstrakt <105ms	IVC-Diameter >21mm und reduzierter inspiratorischer Kollaps (<50% mit sniff, <20% mit ruhiger Inspiration)
Exzentrizitätsindex des linken Ventrikels >1.1  (in parasternaler kurzer Achse in Höhe des LV wird der Quotient aus dem LV-Diameter parallel zum Septum und dem LV-Diameter senkrecht zum Septum gemessen)	Frühdiastolische Refluxgeschwindigkeit an der Pulmonalklappen > 2,2m/s	RA-Fläche>18cm <sup>2</sup>
TAPSE/sPAP<0,55mm/mmHg	PA-Diameter >25mm	



**Abbildung 1: Diagramm zur echokardiographischen Abschätzung der PH-Wahrscheinlichkeit. Die indirekten Zeichen werden aus den verschiedenen Kategorien gezählt (Tabelle 3, Seite 18) (Galie et al., 2015).**

Abkürzungen: TRV: tricuspid regurgitation velocity – Geschwindigkeit des Regurgitationsjets über die Trikuspidalklappe

### 2.5.2.2 Computertomographie

Eine hochauflösende Computertomographie des Thorax kann eine Lungenerkrankung aufdecken, Hinweise auf der zugehörigen Gruppe der PH ergeben und somit erste Zeichen auf PH Gruppe 3 liefern (Frost et al., 2019). Dilatation des rechten Vorhofs und Ventrikels, ein Durchmesser der *Arteria pulmonalis* von 29 mm oder mehr sowie ein Verhältnis des Durchmessers *Arteria pulmonalis* zu *Aorta ascendens* über 1 können auf das Vorliegen einer PH hindeuten (Shen et al., 2014).

### 2.5.2.3 Ventilations-Perfusionsszintigraphie

Die sensitivste Methode zum Screening einer CTEPH ist eine Ventilations-Perfusionsszintigraphie. Mit einer Sensitivität von 90-100% und einer Spezifität von 94-100% kann eine CTEPH im Falle eines normalen Befundes in dieser nuklearmedizinischen Untersuchung ausgeschlossen werden (Tunariu et al., 2007; He et al., 2012).

### 2.5.3 Rechtsherzkatheter

Der Goldstandard in der Diagnosestellung der pulmonalen Hypertonie ist der Rechtsherzkatheter. Die Untersuchung sollte in PH-Expertenzentren durchgeführt werden, damit wird sowohl die Fehlerquote bei Messungen aber auch die Komplikationsrate niedrig

gehalten (Hoeper et al., 2006). Es werden folgende Parameter bestimmt: Rechtsatrialer und rechtsventrikulärer Druck (RAP, RVP), pulmonal-arterieller Druck (PAP), pulmonal-arterieller Verschlussdruck (PAWP, PCWP) oder pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (PCWP), Herzzeitvolumen (HZV) sowie die gemischt-venöse Sauerstoffsättigung.

Der pulmonale Gefäßwiderstand (PVR) wird nach der folgenden Formel berechnet:

**Formel 1: Berechnung des pulmonalen Gefäßwiderstandes**

$$\text{PVR [WE]} = (\text{PAPm [mmHg]} - \text{PAWP [mmHg]}) / \text{HZV [l/min]}$$

und in Wood Einheiten (WE) angegeben. Dieser Parameter hat an Bedeutung gewonnen, da es in die hämodynamische Definition bzw. Klassenzuordnung der pulmonalen Hypertonie fließt. Zeigt sich gemischt-venöse Sauerstoffsättigung pathologisch erhöht, sollte durch eine Stufenoxymetrie ein Shuntvitium ausgeschlossen werden (Kovacs et al., 2016). Die aktuellen Leitlinien empfehlen eine Vasoreagibilitätstestung nur bei Patienten mit IPAH, HPAH und medikamenteninduzierter PAH. Diese Testung ist ein Hinweis auf das Ansprechen auf eine Therapie mit Kalziumantagonisten. Als Standardtestsubstanz wird ein inhalatives Stickstoffmonoxid, alternativ inhalatives Iloprost, intravenös Epoprostenol oder Adenosin verwendet (Jing et al., 2009; 2009; Galie et al., 2016). Ein positives Ansprechen liegt vor, wenn nach Verabreichung einer der Testsubstanzen der mittlere pulmonal-arterielle Druck um mehr als 10 mmHg vom Ausgangswert auf Werte unter 40 mmHg sinkt. Weitere Kriterien sind ein normales Herzzeitvolumen und ein normaler Herzindex. Patienten, die auf diesen Vasoreagibilitätstest positiv ansprechen, werden als akute Responder bezeichnet. (Sitbon et al., 2005).

Der Herzindex (cardiac index, CI) dient der Beurteilung der Herzleistung und berechnet sich aus dem Herzzeitvolumen (HZV) und der BSA nach Formel 2 (Seite 21).

**Formel 2: Berechnung des Herzindex**

$$\text{CI [l/min / m}^2\text{]} = \text{HZV [l/min]} / \text{BSA [m}^2\text{]}$$

CI: Herzindex, HZV: Herzzeitvolumen, BSA: Körperoberfläche.

Dazu wird das HZV mittels Thermodilution ermittelt. Hierbei wird eine gekühlte physiologische Kochsalzlösung über einen Pulmonalkatheter (Swan-Ganz-Katheter) injiziert. Dieses Injektat wird über den Katheter in den rechten Vorhof gespritzt und in der Pulmonalarterie über den Temperaturfühler am Ende des Katheters wird der Temperaturabfall registriert. Über die Stewart-Hamilton Gleichung (Formel 3, Seite 22) wird aus der gemessenen Zeit und der Temperaturerniedrigung das HZV berechnet (Ganz & Swan 1972).

### Formel 3: Berechnung des Herzzeitvolumens

$$\text{HZV} = \frac{V_{\text{Injektat}} \times (T_{\text{Blut}} - T_{\text{Injektat}}) \times K_1 \times K}{\int_0^{\infty} \Delta T_{\text{Blut}}(t) dt}$$

HZV: Herzzeitvolumen, V: Volumen, T: Temperatur, K1: Dichtefaktor (Injektat/Blut), K: Berechnungskonstante, t: Zeit.

## 2.5.4 Belastungsuntersuchungen

### 2.5.4.1 6-Minuten-Gehtest

Der Test wurde in den 60er Jahren des 20. Jh. von Balke entwickelt. Das funktionelle Leistungspotenzial wird durch die Messung der in 6 Minuten zurückgelegten Strecke bewertet (ATS 2002). Der Proband geht wiederholt über eine gerade Wegstrecke von 30 Metern innerhalb von 6 Minuten, und die insgesamt zurückgelegte Strecke wird als absoluter Wert angegeben. Bei gesunden Personen wurde eine Gehstrecke von etwa 500 Metern gemessen (576 m für Männer und 494 m für Frauen) (Enright & Sherrill, 1998). Bei Patienten mit pulmonaler Hypertonie weist eine Gehstrecke von weniger als 332 Metern auf eine erhöhte Mortalität hin (Miyamoto et al., 2000). Der Test ist einfach durchführbar, kostengünstig und erfordert keinen speziellen technischen Aufwand.

### 2.5.4.2 Spiroergometrie

Spiroergometrie ist eine nichtinvasive Untersuchung zur Beurteilung der kardiopulmonalen Leistungsfähigkeit. Dabei werden in Ruhe und während einer festgelegten Belastungssteigerung auf einem Laufband oder einem Fahrradergometer verschiedene Parameter gemessen. Dazu gehören die Herzfrequenz, der Blutdruck, die Sauerstoffsättigung, das EKG, das Atemzugvolumen, das Atemminutenvolumen, die Sauerstoffaufnahme, die Kohlendioxidabgabe sowie die endexpiratorische Partialdrücke für Sauerstoff und Kohlendioxid. Aus diesen Werten werden weitere klinisch relevante Größen abgeleitet, wie zum Beispiel der Sauerstoffpuls, die ventilatorischen Äquivalente für Sauerstoff und Kohlendioxid sowie die ventilatorische anaerobe Schwelle (Dumitrescu & Rosenkranz 2017). In der Befundung lassen sich charakteristische Muster für pulmonale Hypertonie, speziell für chronisch thromboembolischer pulmonaler Hypertonie erkennen und damit die Diagnostik gut

ergänzen. Die Spiroergometrie ist daher ein fester Bestandteil einer Abklärungsdiagnostik (Humbert et al., 2022). Zusätzlich kann diese Untersuchung Befunde zur Risikostratifizierung der Erkrankung beitragen (Dumitrescu & Rosenkranz 2008).

### **2.5.5 Serologische Untersuchungen**

Mithilfe gängiger Blutuntersuchungen können chronische virale Infektionen wie HIV, Hepatitis B und C erkannt werden, die als mögliche Ursachen der pulmonalen Hypertonie (PH) in Betracht gezogen werden können. Eine Messung der Schilddrüsenhormone kann eine Schilddrüsenerkrankung diagnostizieren, die ebenfalls als Auslöser der PH betrachtet werden kann (Montani et al., 2013).

Der Nachweis der antinukleären Antikörpern kann eine Kollagenose aufdecken. Das hat eine prognostische und eine therapeutische Bedeutung in Bezug auf die pulmonale Hypertonie. Bis zu 40% der Patienten mit idiopathischer pulmonal arterieller Hypertonie (IPAH) haben erhöhte antinukleäre Antikörper mit Titern von mindestens 1:80 (Rich et al., 1986).

Die Thrombophiliediagnostik bei Patienten mit chronisch thromboembolischer pulmonaler Hypertonie (CTEPH) zeigt erhöhte Werte für Faktor VIII (Bonderman et al., 2003) und Phospholipid Antikörper/Lupus-Antikoagulans (Bonderman et al., 2009). Die Blutgruppen A, B und AB sind bei Patienten mit CTEPH signifikant häufiger vertreten als bei Patienten mit PAH (Bonderman et al., 2009). Erhöhte Werte von Lipoprotein(a) werden ebenfalls bei Patienten mit CTEPH gemessen (Ignatescu et al., 1998).

### **2.5.6 NT-proBNP und BNP**

In den letzten Jahren hat sich die Bestimmung des „brain natriuretic Peptides“ (BNP) und seines N-terminalen Vorläuferfragments (NT-proBNP) als Verlaufsparemeter für die kardiale Belastung bewährt. Bei PAH Patienten können die BNP- und NT-proBNP-Werte erhöht sein (Daniels & Maisel 2007). Welcher der Biomarker in der Diagnose oder Verlaufskontrollen der PH geeigneter ist, ist nicht festgelegt. Es wurde gezeigt, dass BNP eine etwas stärkere Korrelation mit hämodynamischen Parametern aufweist und seine Konzentration weniger durch eine Nierenfunktionseinschränkung beeinflusst wird. Hingegen hat sich NT-proBNP als stärkerer Prognoseprädiktor erwiesen (Leuchte et al.,



2007). BNP und NT-proBNP sind als etablierte Determinanten der 1-Jahres Mortalität Abschätzung und fließen in die regelmäßige Verlaufskontrollen der Erkrankung ein (Galie et al., 2015; Humbert et al., 2019).

## 2.6 Beurteilung des Schweregrades der pulmonalen Hypertonie

Das Risikostratifizierungskonzept für die pulmonale Hypertonie wurde das erste Mal in die ESC/ERS Leitlinien 2015 eingeführt. Durch die Bewertung verschiedener Parameter kann das Risiko in niedrig, intermediär und hoch eingestuft werden. Mittlerweile wird die intermediäre Risikostufe in intermediär niedrig und intermediär hoch eingeteilt (Hoepfer et al., 2022). Der Einstufung ist auch die geschätzte 1-Jahres-Sterblichkeit zugeordnet. Die Risikoabschätzung ist in die Therapieeinleitung und -anpassung herangezogen (Galie et al., 2015). Bei der Diagnosestellung sind die 6-Minuten-Gehstrecke, WHO Funktionsklasse, BNP/NT-proBNP und gemischte venöse Sauerstoffsättigung prognostisch relevant. Im Verlauf der Erkrankung sind die 6-Minuten-Gehstrecke, funktionelle Klasse und BNP/NT-proBNP von Bedeutung (Hoepfer et al., 2018).

Die Bestimmung der WHO Funktionsklasse erfolgt, analog der NYHA Klassifizierung für Herzinsuffizienz, durch die Angaben zur Einschränkung der Belastbarkeit. Die Einteilung erfolgt in vier Klassen (WHO-FC) (Tabelle 4, Seite 24 und 25; Barst et al., 2004).

**Tabelle 4: WHO Funktionsklassen bei Patienten mit PH (Barst et al., 2004)**

WHO Klasse I	Keine Einschränkung der normalen körperlichen Belastbarkeit. Eine normale körperliche Aktivität führt nicht zu zunehmender Dyspnoe, Müdigkeit, thorakalen Schmerzen oder Synkopen.
WHO Klasse II	Leichte Einschränkungen in der körperlichen Aktivität. Keine Beschwerden unter Ruhebedingungen. Eine normale körperliche Belastung führt zu der Zunahme von Dyspnoe, Müdigkeit sowie thorakalen Beschwerden und Synkopen.
WHO Klasse III	Deutliche Einschränkungen in der körperlichen Belastbarkeit. Keine Beschwerden unter Ruhebedingungen. Bereits leichtere Aktivitäten führen zu der Zunahme von Dyspnoe, Müdigkeit, thorakalen Beschwerden sowie Synkopen.
WHO Klasse IV	Keine körperlichen Aktivitäten möglich, Beschwerden bereits in Ruhe. Es können Zeichen einer manifesten Rechtsherzinsuffizienz vorliegen.

	Müdigkeit und/oder Dyspnoe können bereits in Ruhe auftreten. Es kommt bei nahezu jeder körperlichen Belastung zu einer Zunahme der Beschwerden.
--	---

Abkürzungen: WHO – World Health Organization

## 2.7 Allgemeine und supportive Therapie der pulmonalen Hypertonie

Die allgemeinen und unterstützenden Ansätze in der Therapie der pulmonalen Hypertonie umfassen: ein gezieltes Training in geschulten Einrichtungen, der Einsatz von Diuretika zur Behandlung von Flüssigkeitsretention, die Langzeitsauerstofftherapie bei Patienten mit niedrigem arteriellem Sauerstoffpartialdruck (Indikation bei Partialsauerstoffdruck unter 60mmHg), die Antikoagulation, insbesondere bei CTEPH, IPAH, HPAH und PAH aufgrund von Appetitzüglereinnahme, Eisensubstitution bei Mangelnachweis sowie Vakzinierung gegen Influenza, Pneumokokken und COVID-19 (Humbert et al., 2022). Die ESC/ERS-Leitlinien raten von einer Schwangerschaft bei Patientinnen mit PAH ab, denn diese ist mit erhöhter Mortalität der Patientinnen verbunden. Flugreisen und Aufenthalte in Höhen über 1500-2000 Metern ohne zusätzliche Sauerstoffgabe sollten vermieden werden, wenn die Patienten in Ruhe Sauerstoff benötigen (Humbert et al., 2022).

## 2.8 Spezifische Therapie der pulmonalen Hypertonie

Derzeit bestehen spezifische medikamentöse Therapien für Gruppe 1 (PAH) sowie operative und medikamentöse Therapien für Gruppe 4 (CTEPH).

### 2.8.1 Spezifische Therapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie

Die spezifische Therapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie wurde in den letzten 30 Jahren stark weiterentwickelt, heute stehen viele Medikamente zur Verfügung, die die Symptome, die Leistungsfähigkeit und die Lebensqualität der Patienten verbessern.

Eine Therapie mit Kalziumantagonisten ist für sog. Responder indiziert und sollte in den PH-Zentren eingeleitet bzw. kontrolliert werden (Humbert et al., 2022). In Deutschland wird häufig Amlodipin dafür angewendet (Hoeper et al., 2016). Die bisher zugelassenen spezifischen medikamentösen Therapien zielen auf drei Signalwege der Pathogenese der PAH ab. Hierzu gehören Substanzgruppen der Prostacyclinanaloga und ein

Prostacyclin-Rezeptor-Agonist, der Endothelinrezeptor-Antagonisten, der Phosphodiesterase-5-Inhibitoren und ein löslicher Guanylatzyklasestimulator.

Die Therapiestrategie bei PAH richtet sich nach der Risikostratifizierung, um ein niedriges oder intermediäres Risiko zu erreichen oder beizubehalten. Bei Patienten ohne kardiopulmonale Komorbiditäten, mit niedrigem oder intermediärem Risiko wird eine direkte oder frühzeitige Kombinationstherapie mit einem Endothelinrezeptorantagonisten (ERA) und einem Phosphodiesterase-5-Hemmer (PDE5-Hemmer) empfohlen (Galie, et al., 2015; Humbert et al., 2022). Für Patienten mit hohem Risiko wird eine initiale Dreifachtherapie empfohlen (Humbert 2022). Bei älteren Patienten mit PAH und signifikanten kardiopulmonalen Begleiterkrankungen wird eine initiale Monotherapie angeraten (Humbert et al., 2022).

### **2.8.2 Spezifische Therapie der chronisch thromboembolischen pulmonalen Hypertonie**

Mit der operativen pulmonalen Endarteriektomie (PEA) steht eine kurative Therapie für viele Patienten mit chronisch thromboembolischer pulmonaler Hypertonie (CTEPH) zur Verfügung und sollte bei jedem Patienten mit CTEPH evaluiert werden (Kim et al., 2019; Humbert et al., 2022). Etwa 40% der Patienten mit CTEPH gelten als nicht operabel (Pepke-Zaba et al., 2011). Für die Patienten, die nicht operabel sind oder bei denen trotz der operativen Behandlung weiterhin eine pulmonale Hypertonie besteht, ist seit 2014 das Medikament Riociguat (Stimulator der löslichen Guanylatzyklase) als Therapeutikum zugelassen (Ghofrani et al., 2013). In den ESC/ERS Leitlinien wird bei nichtoperablen Patienten nach einer initialen medikamentösen Therapie empfohlen, eine Option einer pulmonalen Ballonangioplastie (BPA) zu überprüfen (Humbert et al., 2022). Bei dieser Therapie wird die Perfusion von thromboembolischen Läsionen in den peripheren Lungengefäßen mit feinen Ballonkathetern verbessert.

## **2.9 Zirkulierende Biomarker**

Ein Biomarker wird definiert als ein „objektiv messbarer Parameter, der als Indikator für normale biologische Prozesse, pathologische Prozesse oder das pharmakologische Ansprechen auf eine therapeutische Intervention dient.“ (Biomarkers Definitions Working Group 2001). In der Medizin werden Biomarker eingesetzt, um eine Krankheit frühzeitig zu erkennen und den Verlauf einer Erkrankung zu überwachen, Therapieeffekte zu beurteilen oder individuelle Behandlungsstrategien zu entwickeln. Biomarker können in verschiedenen Geweben, im Urin, Speichel oder Blut nachgewiesen werden. Ein idealer Biomarker sollte gründlich getestet werden, kostengünstig sein, leicht zu messen und zu interpretieren, einen pathophysiologischen Mechanismus widerspiegeln, zusätzliche Informationen zu den verfügbaren Daten liefern, eine bessere Diagnostik ermöglichen, Prognose abschätzen und Behandlung überwachen (Ibrahim & Januzzi, 2017). The Human Peptide Atlas hat über 3500 zirkulierende Proteine identifiziert (Wilkins et al., 2020). Einige dieser Proteine können vielversprechende Biomarker zur Erkennung und Überwachung der pulmonalen Hypertonie (PH) sein. Diese Biomarker lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen, darunter Marker für vaskuläre Dysfunktion, Entzündung, kardiale Funktion, oxidativen Stress, sowie sekundäre Funktionseinschränkung anderer Organe wie Leber oder Niere (Galie et al., 2015).

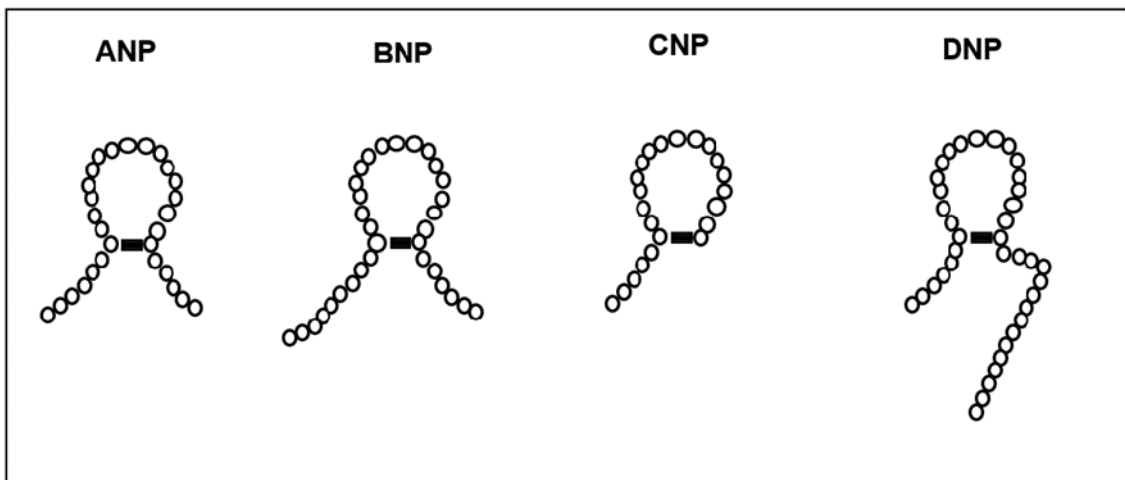
### **2.9.1 Natriuretische Peptide**

Natriuretische Peptide sind Peptide mit hormonähnlicher Wirkung und kommen sowohl im pflanzlichen als auch in der tierischen Welt vor. Diese Hormone regulieren den Wasser-Natrium-Haushalt (Takei 2001).

Im Jahre 1981 gelang es de Bold und seiner Forschungsgruppe nachzuweisen, dass die Verabreichung von Extrakten aus atrialen Myozyten bei Ratten zu einer Steigerung der Natriuresis und Diuresis führt (de Bold et al., 1981). Zwei Jahre später wurde hier als auslösender Faktor das atriale natriuretische Peptid (ANP, Atriopeptin) identifiziert. Damit wurde ein Grundstein zur weiteren Forschung und Charakterisierung von natriuretischen Peptiden gelegt. In den Jahren 1988 und 1992 wurden weitere Mitglieder der Familie natriuretische Peptide entdeckt. Ein vorwiegend in den Herzkammern produziertes und als erstes entdecktes im Gehirn des Schweines - natriuretisches Peptid vom B-Typ wird auch brain natriuretic peptide (BNP) genannt. Ein natriuretisches Peptid vom Typ-C (CNP) wurde initial im Gehirn und im Endothel entdeckt. Aus dem Urin wurde Urodilatin

(URO) isoliert, für dieses NP wurde lediglich eine lokal renale Wirkung beschrieben. Der jüngste Vertreter ist das *Dendroaspis* natriuretische Peptid vom Typ D (DNP), das ursprünglich aus dem Gift der Grünen Mamba (*Dendroaspis angusticeps*) isoliert wurde. Beim Menschen wurde es nur im Plasma und Herzgewebe nachgewiesen, die Funktion von DNP ist noch unklar (Schirger et al., 1999; Pandit et al., 2011). ANP, BNP, CNP und DNP bilden eine Familie kardiovaskulärer Hormone, die eine relevante Rolle in der kardiovaskulären Homöostase spielen.

Allen NPs ist die natriuretische, diuretische und auf glatte Muskelzellen relaxierende Wirkung gemeinsam. Die bioaktiven Formen dieser Peptide umfassen eine charakteristische Ringstruktur aus 17 Aminosäuren, wobei zwischen zwei Cysteinresten eine Disulfidbrücke besteht. (de Bold et al., 2001; Ogawa et al., 1995, Abbildung 2, Seite 28). Diese Ringstruktur ist essentiell für die Bindung an die Rezeptoren und damit für die biologische Funktion der Peptide und ist in der phylogenetischen Evolution ohne Änderungen in ihrer Form erhalten (Misono et al., 1984). Im Gegensatz dazu zeigen die zwei terminalen Fragmente ein großes Maß an Variabilität in der Länge und der Aminosäuresequenz (Inoue et al., 2003).



**Abbildung 2: Schematische Aminosäurestruktur der natriuretischen Peptide modifiziert nach Schirger et al., 1999.**

Abkürzungen: ANP – atriales natriuretisches Peptid mit 28 Aminosäuren, BNP – natriuretisches Peptid vom Typ B mit 32 Aminosäuren, CNP – natriuretisches Peptid vom Typ C mit 22 Aminosäuren und DNP - *Dendroaspis* natriuretisches Peptid mit 38 Aminosäuren. Alle besitzen eine ähnliche 17 Aminosäuren lange Ringstruktur mit einer Disulfidbrücke (Schirger et al., 1999).

Die Wirkung der NP's entfaltet sich über die Anbindung an membranständige Rezeptoren, es sind die NPR-A, NPR-B und NPR-C. Die Buchstaben in der Terminologie der Rezeptoren sind nicht als Zugehörigkeit zu denen der NP's zu verstehen, auch die Affinität der NP's zu den Rezeptoren ist unterschiedlich. Durch die Bindung der NP's an die extrazelluläre Domäne der NPR-A und NPR-B wird ein intrazelluläres „second messenger“ gebildet. Hingegen entsteht durch die Bindung der NP's an den NPR-C kein „second messenger“, was für Inaktivierung und Abbau der NP's spricht. Zusätzlich geschieht der Abbau der NP's durch Endoproteasen während der Lungen- und Leberpassage (Michels & Tarnow 2001)

### **2.9.1.1 Atriales natriuretisches Peptid**

Das Gen für ANP (*Nppa*) liegt beim Menschen auf Chromosom 1. Es besitzt drei Exons und kodiert für das 151 Aminosäuren (AS) lange präproANP. Nach Abspaltung des N-terminalen Signalpeptids wird daraus proANP mit 126 AS gebildet, welches in sekretorischen Vesikeln der Kardiomyozyten des Vorhofs gespeichert wird. Die Kardiomyozyten des Vorhofs ist die Hauptquelle für Expression und Speichern von ANP, in geringeren Mengen wird es auch in Kardiomyozyten des Herzventrikels und in der Niere identifiziert (Potter et al., 2006). Als Antwort auf Sekretionsreize wird proANP durch Exozytose freigesetzt und durch transmembrane Serinprotease - Corin gespalten in eine biologisch aktive C-terminale ANP-Form. Das biologisch aktive ANP weist eine sehr kurze Halbwertszeit von 2 Minuten auf, deswegen ist seine Nützlichkeit für den klinischen Gebrauch limitiert. Sein Vorläufer Midregional-proANP (MR-proANP) erweist sich als stabiler, ohne Proteinwechselwirkungen und Bindung an Rezeptor, zudem weist er eine längere Halbwertszeit von 60 – 120 Minuten auf. Durch eine längere Halbwertszeit (60 -120 Minuten, ANP weniger als 5 Minuten), eine höhere analytische Stabilität, keine Rezeptorbindung und Interaktionen mit anderen Proteinen erscheint MR-proANP als besserer analytischer Marker im Vergleich zu ANP (Morgenthaler et al., 2004).

Die ANP-Sekretion wird durch verschiedene Stimuli ausgelöst. Hierzu zählt die mechanische Vorhofwanddehnung durch Zunahme des intravasalen Volumens, chronische Hypoxie aber auch Hormone wie Endothelin, Angiotensin, Vasopressin, Noradrenalin und Schilddrüsenhormone (Levin et al., 1998). ANP wird überwiegend in den Herzvorhöfen synthetisiert und in Granula gespeichert (Daniels et al., 2007).

ANP bindet an den Natriuretischen Peptidrezeptor A (NPR-A), eine transmembrane Guanylylzyklase, und führt so zur Bildung von cGMP (Chinkers et al., 1989). Dies wiederum löst eine physiologische Antwort durch cGMP-regulierte Ionenkanäle, Phosphodiesterasen und andere Effektorproteine aus (Misono et al., 2011). Ein weiterer Natriuretischer Peptidrezeptor B (NPR-B) ist ebenfalls eine transmembrane Guanylatzyklase, die allerdings eine niedrigere Affinität für ANP hat, als NPR-A (Nakao et al., 1992; Suga et al., 1992).

Der Abbau von ANP erfolgt auf zwei verschiedenen Wegen. Zum einen durch die Bindung an NPR-C und darauf folgt die Endozytose und der lysosomale Abbau. Zum anderen kann der ANP durch die Neutrale Endopeptidase 24.11 (NEP) abgebaut werden, die die Ringstruktur öffnet (Casserly & Klinger 2009).

### **2.9.1.2 Natriuretisches Peptid vom Typ B**

Das Gen für BNP (*Nppb*) liegt ebenfalls auf Chromosom 1 und besitzt drei Exons. BNP wird als 134 AS langes Präprohormon synthetisiert, aus dem durch Abspaltung der C-terminalen 26 AS das Prohormon proBNP1-108 hervorgeht. Dieses wird weiter gespalten in ein inaktives N-terminales Fragment (NT-proBNP) und das 32 AS lange eigentliche BNP, das biologisch aktiv ist (Casserly & Klinger 2009). Die Expression erfolgt im Myokard und zum überwiegenden Teil in den Ventrikelkardiomyozyten. Sie wird innerhalb einer Stunde gestartet, nachdem eine Dehnung des Myokards durch eine Erhöhung des venösen Volumens oder des arteriellen Drucks stattgefunden hat (Hama et al., 1995; Nakagawa et al., 1995). Die Myozyten des Atriums speichern BNP, ebenso wie ANP in sekretorischen Vesikeln und setzen sie über einen regulierten Weg frei (Potter et al., 2006).

BNP bindet wie ANP an den membranständigen NPR-A, der im kardiovaskulären System weit verbreitet ist. Allerdings ist die Wirkung von BNP etwa zehnmal schwächer als die von ANP. NPR-A und NPR-B arbeiten als spezielle Guanylatzyklasen, unabhängig von der zytoplasmatischen Guanylatzyklase, die durch NO stimuliert wird. cGMP bindet daraufhin an drei unterschiedliche Proteinkinasen: cGMP abhängige Proteinkinase, cGMP bindende Phosphodiesterase und Ionenkanäle, die durch zyklische Nukleotide aktiviert werden. Diese übersetzen das extrazelluläre Signal in eine biologische Funktion.

Der Abbau von BNP erfolgt wie der von ANP über die Bindung an NPR-C, dessen Affinität allerdings für BNP weit geringer ist als für ANP (und auch CNP) oder über die Öffnung

der Ringstruktur durch NEP. Diese geringere Abbaurate von BNP führt zu einer Halbwertszeit von 20min im Plasma (ANP 4min), sodass bei gesunden Probanden immer eine Plasmakonzentration von etwa 1fmol/ml (3,5pg/ml) messbar ist. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz werden allerdings bis zu 300-fach höhere Werte gemessen. Diese Bandbreite zusammen mit der Tatsache, dass die BNP Expression bei einer extremen Belastung des Herzens sehr schnell induziert wird, prädestiniert dieses Peptid als Indikator für eine Überlastung des Herzes (Cassery & Klinger 2009). Das aminoterminalen Fragment von proBNP (NT-proBNP) hat eine noch geringere Abbaurate als BNP und ist damit ein noch verlässlicherer Indikator der BNP Expression und Sekretion als zirkulierendes BNP (Seino et al., 2004). BNP und NT-proBNP werden nach Myokardwanddehnung unter anderem infolge Volumenüberlastung überwiegend de novo aus dem Myokardventrikel ausgeschüttet (Yasue et al., 1994). NT-proBNP hat im Vergleich zu BNP eine längere Halbwertszeit (NT-proBNP:70 Minuten, BNP: 22 Minuten) und eine bessere Stabilität bei der Lagerung, was diese Form des BNP als potential Bessere für die diagnostische Zwecke ausmacht (Fu et al., 2018, Cauliez et al., 2008). Als Vertreter der NPs weisen diese eine natriuretische und diuretische Wirkung auf, sowie durch Wirkung auf die glatte Gefäßmuskeln eine Vasodilatation (de Lemos et al., 2003). Dabei muss allerdings berücksichtigt werden, dass BNP und NT-proBNP im Alter unabhängig vom Herzstatus erhöht sind und Frauen einen höheren Wert als Männer haben (Redfield et al., 2002; Wang et al., 2002). BNP ist bei erwachsenen PH Patienten ein etablierter Marker für die ventrikuläre Dysfunktion (Nagaya et al. 1998), seine Konzentration korreliert mit den hämodynamischen Parametern (Leuchte et al. 2004 und 2005) und kann zur Prognose herangezogen werden (Nagaya et al., 2000; Fijalkowska et al., 2006).

BNP/NT-proBNP ist ein gut etablierter Marker für Diagnostik und Monitoring der Herzinsuffizienz (ESC Leitlinien für die Diagnose und Therapie der akuten und chronischen Herzinsuffizienz 2021) (McDonagh et al., 2021). Auch bei der pulmonalen Hypertonie hat sich NT-proBNP/BNP eine wichtige Rolle in der Abklärungsdiagnostik bei Verdacht auf PH sowie bei PAH als einer der Parameter zur Risikostratifizierung, und so wird das auch in den ESC/ERS Leitlinien zu Pulmonale Hypertonie gewertet (Humbert et al., 2022).

### **2.9.1.3 Natriuretisches Peptid vom Typ C**

Das CNP Gen (*Nppc*) liegt auf Chromosom 2 und hat zwei Exons. Es codiert das 126 AS lange präpro-CNP, aus dem nach Abspaltung des Signalpeptids das pro-CNP



hervorgeht. Durch zwei weitere Spaltungen entsteht schließlich das 22AS lange CNP (Ogawa et al., 1994).

Das Natriuretische Peptid vom Typ C zeigt eine starke AS-Sequenzhomologie in der Ringstruktur mit den natriuretischen Peptiden vom Typ A und B (Sudoh et al., 1990). Die AS Sequenz innerhalb der Säugetiere ist stark bewahrt (Tawaragi et al., 1991).

CNP wird in vielen Geweben produziert, insbesondere vermehrt im Gehirn, in der Hypophyse, in der Niere, im weiblichen Fortpflanzungstrakt sowie von vaskulärem Endothel und kardialen Gewebe. Dadurch spielt es eine Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen, indem es die neointimale Restenose hemmt und den gefäßkonstriktiven Umbau sowie die kardiale Ischämie-Reperfusionverletzung reduziert (Kuehnl et al., 2013).

Anders als ANP und BNP wird CNP nicht sekretorischen Vesikeln gespeichert, aber es bleibt unklar, ob die Präpropeptidprozessierung auf ein Signal hin geschieht. Für die Sekretion aus dem Endothel hingegen gibt es eindeutige Auslöser, wie z.B. Zytokine, TGF- $\beta$  oder mechanische Reize (Potter et al., 2009)

Auch die Wirkungsdauer des CNP wird von den beiden Hauptabbauwegen der NPs beschränkt. CNP hat eine sehr hohe Affinität zu NPR-C und wird schnell von NEP hydrolysiert. Das führt zu einer sehr kurzen Halbwertszeit im Plasma von nur 3min (Lumsden et al. 2010). Da es sehr schnell abgebaut wird, wirkt es vornehmlich lokal, seine Konzentration im Plasma ist sehr niedrig. NT-proCNP zirkuliert in höheren Konzentrationen, zudem zeigte der NT-proCNP in den Messungen mehr zuverlässige Daten als CNP, so dass manche Autoren den Einsatz von NT-proCNP in der klinischen Anwendung vorziehen (Del Ry et al., 2011, Kuehnl et al., 2013). Es hat eine weit weniger starke diuretische Wirkung als ANP oder BNP (Kalra et al. 2001). Allerdings besitzt es eine starke vasodilatierende Eigenschaft und senkt den Blutdruck, wenn es in Form einer Infusion verabreicht wird (Lumsden et al., 2010). CNP wirkt auch direkt auf das Herz, wo es in Tierversuchen inotrop und chronotrop wirkt (Su et al., 2005). In der Literatur sind einige Studien zu CNP bei Herzinsuffizienz publiziert, es ist gezeigt, dass CNP bei Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion höhere Spiegelwerte aufweisen (Del Ry et al., 2007), CNP Erhöhung korreliert mit dem Schweregrad bei chronischer Herzinsuffizienz (Del Ry et al., 2005). NT-proCNP weist bei Patienten mit Herzinsuffizienz mit erhaltener Pumpfunktion (HFpEF) einen Zusammenhang mit dem Schweregrad der Erkrankung und dem prognostischen Wert für die Gesamtmortalität und den Krankenhausaufenthalt (Lok et al., 2014). Weiterhin hat CNP weitreichende Effekte außerhalb des kardiovaskulären

Systems, vor allem scheint es eine wichtige Rolle in der Regulation der endochondralen Ossifikation zu haben (Kake et al., 2009).

#### **2.9.1.4 *Dendroaspis* natriuretisches Peptid**

Das *Dendroaspis* natriuretische Protein (DNP) wurde 1992 aus dem Gift der Grünen Mamba (*Dendroaspis angusticeps*) isoliert und ist der jüngste Vertreter der natriuretischen Peptide. Das humane Gen wurde bis jetzt noch nicht gefunden (Stand Mai 2022). DNP besteht aus 38 Aminosäuren und zeigt Strukturähnlichkeiten mit den anderen drei NPs endothelialen Ursprungs, ANP, BNP und CNP (Schweitz et al., 1992). Auch die physiologischen Eigenschaften ähneln denen der anderen NPs (Lisy et al., 2001; Lee & Kim 2002). Synthetisches DNP hat eine vasodilatierende Wirkung in einem ähnlichen Ausmaß wie ANP und verdrängt dieses sogar an den Rezeptoren (Wennberg & Burnett 1997; Collins et al., 2000). Immunologisch kann DNP im Plasma und im atrialen Myokard nachgewiesen werden und sein Spiegel ist bei Patienten mit Herzinsuffizienz erhöht (Schirger et al., 1999, Lisy et al., 2001). Studien an Tiermodellen und menschlichem Gewebe haben gezeigt, dass DNP gefäßerweiternde, natriuretische und diuretische Eigenschaften ähnlich wie ANP, BNP und CNP besitzt (Johns et al., 2007). Es wurde eine Resistenz von DNP gegenüber dem Abbau durch neutrale Endopeptidasen festgestellt (Chen et al., 2002). Johns et al. postulieren, dass der wahrscheinliche Hauptweg zur Entfernung von DNP aus dem Kreislauf über den NPR-C-Clearance-Rezeptor erfolgt (Johns et al., 2007).

#### **2.9.2 sST2**

ST2 (suppression of tumorigenicity 2, Suppression der Tumorigenität 2) ist ein Protein, das zur Interleukin-1 -Rezeptor Familie gehört. Der ST2 wurde erstmals im Jahr 1989 von Tominaga beschrieben (Tominaga 1989), und 16 Jahre später wurde sein Ligand IL-33 identifiziert (Schmitz et al., 2005). Das Gen ST2 auf dem menschlichen Chromosom 2q12 kodiert die zwei Isoformen des ST2. Interleukin 33 (IL-33) ist ein Ligand für die beiden Formen des Rezeptors und ein Mitglied der Interleukin-1-Familie. Die IL-33 wird von verschiedenen Zelltypen exprimiert, darunter Fibroblasten, Mastzellen, Dendritische Zellen, Makrophagen, Osteoblasten, Endothelzellen und Epithelzellen (Yagami et al., 2010; Mirchandani et al., 2012). Es sind mehrere Isoformen des ST2 beschrieben. Eine davon ist eine transmembrane oder zelluläre Form des Rezeptors (ST2L), und die

andere ist eine lösliche bzw. zirkulierende Form (sST2) (Pascual-Figal & Januzzi 2015). Die lösliche bzw. zirkulierende Isoform des Rezeptors hat keine transmembrane und zelluläre Domäne. ST2L hingegen besteht aus einer extrazellulären, einer transmembranösen und einer zytoplasmatischen Domäne, während sST2 besitzt nur die extrazelluläre Domäne und daher als lösliches Protein existiert. In Bezug auf ihre Funktion sind die beiden Rezeptoren unterschiedlich. Obwohl beide an IL-33 binden, haben sie unterschiedliche Auswirkungen. Die Bindung von IL-33 an ST2L hat eine kardioprotektive Wirkung, indem die Anzahl der myokardialen Fibroblasten reduziert, die Apoptose gehemmt, die kardiale Hypertrophie verhindert und die myokardiale Funktion verbessert wird. Dies geschieht als Reaktion auf mechanische Belastung der Myozyten und Fibroblasten des Herzens. sST2 bindet stärker an IL-33 und verhindert somit deren Bindung an ST2L (sST2 wirkt als "Täuschungsrezeptor" oder Decoy-Rezeptor), wodurch die kardioprotektive Wirkung von ST2L/IL-33 unterbunden wird (Kakkar & Lee, 2008).

Erhöhte Spiegel von sST2 werden bei entzündlichen Prozessen gemessen wie Asthma, rheumatoide Arthritis, systemische Sklerose, akute Exazerbation idiopathischer Lungenfibrose, bei Patienten mit Sepsis oder nach Traumata (Kakkar et al., 2008, Mueller & Jaffe 2015). Eine große Metaanalyse von Ip et al aus dem Jahr 2021 zeigt eine Rolle des sST2 bei kardiovaskulären Erkrankungen, erhöhte sST2 Spiegel tragen die Aussage zu dem Schweregrad der chronischen Herzinsuffizienz sowie das Mortalitätsrisiko bei chronischer Herzinsuffizienz und stabiler koronarer Herzerkrankung (Ip et al., 2021). Bei chronischer Herzinsuffizienz wurde eine Verbindung erhöhter sST2 Spiegel mit diastolischer linksventrikulärer Dysfunktion, mit einem erhöhten rechtsventrikulären systolischen Druck und Hypokinesie belegt (Aimo et al., 2019). Es gibt auch Studien, die die Bedeutung von sST2 bei pulmonaler Hypertonie untersucht haben. Die Kombination aus sST2 und NT-proBNP erwies sich als guter Prädiktor für den klinischen Zustand und den Verlauf bei Kindern mit idiopathischer pulmonaler arterieller Hypertonie (IPAH) und hereditärer pulmonaler arterieller Hypertonie (HPAH) (Chida et al., 2014). Bei Patienten mit präkapillärer pulmonaler Hypertonie (PH) scheint sST2 neben NT-proBNP und Troponin T ein vielversprechender Biomarker für das rechtsventrikuläre Versagen zu sein. Darüber hinaus korreliert sST2 mit hämodynamischen Parametern der PH und dient als Marker für eine ungünstige Prognose bei PH-Patienten (Banaszkiewicz et al., 2020).

### 2.9.3 sVEGFR-1

Der lösliche vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor Rezeptor -1 (auch sFlt-1) ist ein Protein, welches zu den Tyrosinkinase gehört. Er wurde in menschlichen Endothelzellen der Nabelschnurvene identifiziert (Kendall et al., 1996). Die lösliche Form des VEGFR ist eine „verkürzte“ Form des transmembranösen VEGFR. Beide besitzen eine identische extrazelluläre Domäne, dem löslichen Rezeptor fehlen die transmembrane und intrazelluläre Domänen (Kendall & Thomas 1993). Der sVEGFR-1 wirkt antiangiogen, indem er den freien angiogenen vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) und den Plazenta-Wachstumsfaktor (PlGF) bindet. sVEGFR-1 wird hauptsächlich in Endothelzellen, Trophoblasten und Makrophagen gebildet (Ataga et al., 2011). Eine Studie von Onoue et al. hat gezeigt, dass ein Anstieg von sVEGFR-1 ein unabhängiger Prädiktor für die Entwicklung einer akuten schweren Herzinsuffizienz bei Patienten mit einem akuten Herzinfarkt ist (Onoue et al., 2009). Malhotra et al. haben erhöhte Spiegel von sVEGFR-1 bei Patienten mit pulmonal arterieller Hypertonie (PAH) nachgewiesen (Malhotra et al., 2013). Tiede et al. zeigten, dass sVEGFR-1 bei Patienten mit PAH zum Zeitpunkt der Diagnosestellung erhöht war, jedoch keinen Zusammenhang zu hämodynamischen Parametern, dem 6 – Minuten-Gehtest oder dem Überleben aufwies (Tiede et al., 2015). Da sVEGFR-1 an einer Vielzahl von Krankheiten eine Rolle spielt, ist es ein wichtiges Ziel bei der Entwicklung neuer Therapien (Shibuya 2006).

## 2.10 Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit

Die pulmonale Hypertonie ist eine Krankheit mit unspezifischen Krankheitssymptomen, in der Regel wird die Diagnose daher sehr spät gestellt. Unbehandelt führt die pulmonale Hypertonie zum Tod oder verkompliziert deutlich den Verlauf und verschlechtert die Prognose von Erkrankungen, mit denen diese assoziiert ist wie z.B. COPD. Daher ist es von entscheidender Wichtigkeit, dass durch einfache Bluttests, die vielleicht routinemäßig bei Kontrolluntersuchungen eingeführt werden können. Das kann das Vorliegen einer PH rechtzeitig erkennen, damit die lebensverlängernde Therapie frühzeitig begonnen wird. BNP und NT-proBNP sind zwar etablierte Marker, kommen aber für eine frühe Diagnosestellung nicht infrage, da ihre Erhöhung erst nachweisbar ist, wenn das Herz bereits in Mitleidenschaft gezogen ist. Daher wäre es sinnvoll, weitere Marker zu finden und deren Relation zu den bekannten Parametern der PH zu testen.

Die vorliegende Arbeit beinhaltet folgende Fragestellungen und Zielsetzungen:

1. Unterscheiden sich bei PH Patienten und Gesunden die Konzentrationen diagnostisch etablierter Biomarker wie MR-proANP, NT-proBNP und der noch nicht routinemäßig verwendeten natriuretischen Peptide NT-proCNP und DNP, sowie der Biomarker sST2 und sVEGFR-1?
2. Liegen zwischen den einzelnen Formen der PH Unterschiede in den Konzentrationen der Biomarker MR-proANP, NT-proBNP, NT-proCNP, DNP, sST2, sVEGFR-1 vor?
3. Korrelieren die untersuchten Biomarkerkonzentrationen mit den hämodynamischen Befunden der Patienten?
4. Bestehen Korrelationen der Biomarkerkonzentrationen mit der klinischen Symptomatik der Patienten?
5. Besitzen MR-proANP, NT-proBNP, NT-proCNP, DNP, sST2 und sVEGFR-1 eine diagnostische und prognostische Bedeutung bei der PH?

### **3 Material und Methodik**

#### **3.1 Studienteilnehmer**

Alle Daten wurden an 21 Probanden der Kontrollgruppe und 58 Patienten mit pulmonaler Hypertonie (PH) in einem Zeitraum von 2007 bis 2021 erhoben (Tabelle 6, Seite 47). Die Studie stimmt mit der Erklärung von Helsinki überein und wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes genehmigt (Kenn-Nr. 84/11 und 153/11). Von jedem Versuchsteilnehmer liegt eine schriftliche Einverständniserklärung vor.

Die Kontrollgruppe bestand einerseits aus elf Teilnehmern, deren Anamnese keinerlei kardiovaskuläre Krankheiten aufwies und zehn Probanden bei denen eine pulmonale Hypertonie durch invasive Diagnostik ausgeschlossen wurde. Bei den Letzteren handelte es sich um Personen, bei denen ursprünglich der Verdacht auf PH vorlag, die also bereits Symptome wie Kurzatmigkeit aufwiesen. Dieser Verdacht wurde erst im Zuge der Rechtsherzkatheteruntersuchung widerlegt.

Die Gruppe der pulmonalen Hypertoniker umfasste 58 Patienten aus drei verschiedenen PH Gruppen (Kapitel 2.2, Seite 14). 38 Patienten litten an pulmonal-arterieller Hypertonie (PAH, Gruppe 1), 14 an einer mit einer Lungenerkrankung assoziierten PH (LE, Gruppe 3) und 6 an einer chronisch thromboembolischen PH (CTEPH, Gruppe 4). Die Patientengruppe mit PAH teilte sich weiter auf in 24 Personen mit idiopathischer PAH (IPAH, Gruppe 1.1), acht mit einer PAH, die mit Bindegewebserkrankungen assoziiert ist (Gruppe 1.4.1), zwei mit Eisenmenger Syndrom (Gruppe 1.4.4) und je einen Patienten mit HIV-assoziiertes PAH (Gruppe 1.4.2), porto-pulmonaler Hypertonie (Gruppe 1.4.3), Morbus Osler (Gruppe 1.2) und einem weiteren Patienten mit einer erblichen PAH (HPAH, Gruppe 1.2). Alle Patienten waren mindestens zwei Monate vor Beginn der Studienteilnahme hämodynamisch stabil.

#### **3.2 Versuchsordnung**

Für die vorliegende Arbeit wurde eine retrospektive Analyse durchgeführt. Dazu wurden folgende Parameter herangezogen:

- hämodynamische Daten aus der durchgeführten Rechtsherzkatheteruntersuchung

- funktioneller Status der Patienten nach WHO Funktionsklassen und Länge der Gehstrecke im 6-Minuten-Gehtest
- Bestimmung der Konzentrationen der mittleren Region des Prohormons des atrialen natriuretischen Peptids (MR-proANP), des N-terminalen Bereichs des Prohormons des natriuretischen Peptids vom Typ B (NT-pro BNP), des N-terminalen Bereichs des Prohormons des natriuretischen Peptids vom Typ C (NT-pro-CNP), des *Dendroaspis* natriuretischen Peptids (DNP), sST2 (soluble suppression of tumorigenicity 2, lösliche Suppression der Tumorigenität 2), löslicher Rezeptor für vascular endothelial growth factor (sVEGFR-1) und von Kreatinin im Blut der PH Patienten und einer Kontrollgruppe.

Die Kontrollgruppe der Probanden bestand aus gesunden Freiwilligen und aus Patienten, bei denen die Verdachtsdiagnose PH mittels Rechtsherzkatheter ausgeschlossen werden konnte. Dies führt aber dazu, dass nicht von allen Individuen der Kontrollgruppe hämodynamische Parameter durch den Rechtsherzkatheter erhoben wurden.

Während der Rechtsherzkatheteruntersuchung wurde natives Blut selektiv aus der *Arteria pulmonalis* entnommen, aliquotiert und sofort in Ethylendiamintetraacetat (EDTA) Monovetten bei -80°C bis zur Analyse aufbewahrt. EDTA verhindert ein Gerinnen des Blutes. Bei den gesunden Freiwilligen wurde peripheres venöses Blut für die Untersuchungen entnommen und ebenfalls in EDTA Monovetten bis zur Durchführung der Analyse bei -80°C gelagert.

### **3.3 Erhebung der hämodynamischen Parameter mittels Rechtsherzkatheter**

Mittels der Rechtsherzkatheteruntersuchung, die bei der Diagnose der PH eine entscheidende Rolle spielt (Kapitel 2.5.3, Seite 20), wurden bei den Patienten und dem Teil der Kontrollgruppe folgende hämodynamischen Daten analysiert: mittlerer pulmonal-arterieller Druck (PAPm), pulmonal-kapillärer Verschlussdruck (PCWP), pulmonal-vaskulärer Widerstand (PVR) rechtsatrialer Druck (RAP), transpulmonaler Gradient (TPG), Herzindex (CI) und die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung.

### **3.4 Oxyhem**

Oxyhem ist ein 2020 erstmals beschriebener Marker und berechnet sich aus dem Produkt des Hämoglobingehalts und der fraktionierten Sauerstoffsättigung in

arterialisiertem Kapillarblut. Es entspricht dem Sauerstoffgehalt (CaO<sub>2</sub>) mit der Formel:  $CaO_2 = 1,34 \times Hb \times SO_2 + 0,0031 \times PaO_2$ , wobei Hb für Hämoglobin, SO<sub>2</sub> für Sauerstoffsättigung des arterialisierten Kapillarbluts und PaO<sub>2</sub> für Sauerstoffpartialdruck steht (Trudzinski et.al., 2020). CaO<sub>2</sub> setzt sich zusammen aus dem an das Hämoglobin (Hb) gebundenen Sauerstoff und dem im Blut physikalisch gelösten Sauerstoff. Der gelöste Sauerstoff beträgt weniger als 1% und kann damit vernachlässigt werden. Der Oxyhem wurde bei Probanden mit Rechtsherzkatheter zum Untersuchungszeitpunkt berechnet, bei den anderen Probanden am Tag des Einschlusses in diese Studie.

### **3.5 Bestimmung des Funktionsstatus**

Die Einteilung der Patienten in die Funktionsklassen (FC I - IV) (Tabelle 4, Seite 24 und 25) erfolgte durch den behandelnden Arzt anhand der Anamnese und der klinischen Präsentation.

Zudem wurde ein 6-Minuten-Gehtest gemäß den Richtlinien des American Thorax Society vom 2002 durchgeführt. In Rahmen dieser Studie wurde der Test unter Anleitung und Aufsicht der Physiotherapeuten ausgeführt.

### **3.6 Messungen der Konzentrationen der Biomarker**

#### **3.6.1 MRproANP**

Die Bestimmung der MR-proANP Konzentration im Blutserum erfolgte mittels einer automatisierten „Kryptor Plattform“ (BRAHMS, Henningsdorf, Deutschland).

Das Prinzip der Messung basiert auf der TRACE Technologie (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission). Es handelt sich hierbei um einen nicht strahlenden Energietransfer von einem Donator, einer käfigähnlichen Struktur mit einem Europium-Ion im Zentrum (Kryptat), zu einem Akzeptor, der Teil eines chemisch modifizierten, lichtsammelnden Algal-Proteins ist. Durch Anregung der Probe mit Donator und Akzeptor mit einem Stickstofflaser bei 337nm wird vom Donator ein Fluoreszenzsignal bei 620nm von längerer Dauer (Millisekunden) abgegeben. Der Akzeptor emittiert parallel dazu ein Signal bei 665nm von kurzer Dauer (Nanosekunden). Bilden Donator und Akzeptor einen Immunkomplex, so wird einerseits das Fluoreszenzsignal des Donators (Kryptat) intensiviert und andererseits die Lebensdauer des Akzeptorsignals verlängert (665nm im



Mikrosekundenbereich), diese Fluoreszenz wird gemessen. Das langlebige Signal ist proportional zur Konzentration der zu bestimmenden Substanz.

Dazu wurde die Probe auf Raumtemperatur gebracht und 14µl für die Analyse eingesetzt, die nach den Vorschriften für „BRAHMS MR-proANP KRYPTOR“ erfolgte. Diese Messung basiert auf einem immunoluminometrischen Assay, der gegen die mittlere Region des NT-proANP gerichtet ist (Morgenthaler et al. 2004; Bergmann & Struck 2003). Als Donator fungiert ein Antikörper, der gegen die Positionen 53-72 des humanen NT-proANP gerichtet ist. Der Akzeptorantikörper ist gegen die Positionen 73-83 des humanen NT-proANP gerichtet.

- Positionen 53-72: CPEVPPWTGEVSPAQRDGGAL
- Positionen 73-83: CGRGPWDSSDRS

Der Messbereich des liegt zwischen 2,1 und 1000nmol/l NT-proANP.

### **3.6.2 NTproBNP**

Die Bestimmung des NTproBNP-Spiegels im Blutserum erfolgte durch einen validierten E-CLIA (Elektrochemilumineszenz Immunoassay; Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Dabei wird die Probe mit zwei unterschiedlichen Antikörpern gegen AS (Aminosäurerest) 1-21 bzw. AS 39-51 des NT-proBNP inkubiert. Einer dieser Antikörper ist mit Biotin markiert, der andere mit Ruthenium. Daraus resultiert ein Sandwichkomplex, der über den biotinylierten Antikörper an Streptavidin-beschichtete Mikropartikel gekoppelt wird. Dieser Komplex wird wiederum magnetisch an eine Platinelektrode gebunden und emittiert beim Anlegen einer elektrischen Spannung eine Chemilumineszenz, deren Intensität direkt proportional zur NT-proBNP Konzentration ist.

- Positionen 1-21: HPLGSPGSASDLETSGLQEQR
- Positionen 39-51: EPLQESPRPTGVW

Der Messbereich dieses Assays liegt zwischen 5,0pg/ml und 53 000pg/ml (Roche Diagnostics, 2002). Die Durchführung der Messung erfolgte nach den Vorschriften des Herstellers.

### 3.6.3 NTproCNP

Die Bestimmung des NT-proCNP-Spiegels erfolgte im Blutserum durch den „Enzym Immunoassay für die quantitative Bestimmung von Human NT-proCNP in Plasma und Serum“ (Biomedica, Wien, Österreich). Dabei handelt es sich um einen Sandwich Immunoassay mit polyklonalen Antikörpern gegen die Epitope 1-19 und 30-50 von humanem NT-proCNP. Der erste Antikörper ist an die Wand des Reagenzgefäßes gebunden. An diesen koppelt NT-proCNP an. Danach wird ein zweiter anti-proCNP Antikörper zugesetzt, der mit der Peroxidase aus Meerrettich (HRPO) gekoppelt ist. Bei Zugabe von Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid führen die Enzymreaktion und die darauffolgende Abbruchreaktion mit Schwefelsäure zu einer spezifischen Absorption bei 450nm, die photometrisch gemessen werden kann und die im Eichbereich direkt proportional zur Konzentration des NT-proCNP in der Probe ist.

- Positionen 1-19: MHLSQLLACALLLTLLSLR
- Positionen 30-50: VPRTPPAEELAEPQAAGGGQK

Der Messbereich dieses Tests liegt zwischen 0 und 40pmol/l. Die Durchführung der Messung erfolgte nach den Vorschriften des Herstellers.

### 3.6.4 DNP

Die Bestimmung der DNP-Konzentration im Blutserum erfolgte mit dem „DNP (Green Mamba) - EIA Kit“ (Phoenix Pharmaceuticals, USA). Dieses Kit bestimmt die Konzentration von DNP durch einen kompetitiven Enzymimmunoassay. Das Prinzip basiert auf der kompetitiven Bindung des biotinylierten *Peptid DNPs in der Probe* an eine begrenzte Anzahl von spezifischen Antikörpern (sog. primärer Antikörper), der wiederum an den sekundären Antikörper der an die Immunplate immobilisiert ist, gebunden ist. Bei steigender Konzentration des zu messenden DNPs kann weniger biotinyliertes Peptid an die primären Antikörper binden. Das biotinylierte Peptid wird durch eine Farbreaktion nachgewiesen, hierfür wird Streptavidin mit Meerrettichperoxidase genutzt. Je geringer die Intensität der Färbung desto höher die Konzentration des zu messenden DNP und niedriger des biotinylierten Peptids (kompetitive Bindung der beiden Peptide an den primären Antikörper). Durch die Messung des gebundenen biotinylierten Peptids in Abhängigkeit von der bekannten Konzentration nicht markierten DNPs kann eine Eichkurve erstellt werden, anhand derer die Menge an DNP in der Probe ablesbar ist.

Der Messbereich dieses Tests liegt zwischen 0 und 100 ng/ml. Die Durchführung der Messung erfolgte nach den Vorschriften des Herstellers.

### **3.6.5 sST2**

Die Bestimmung der sST2 Konzentration im Blutserum erfolgte durch „Human ST2/IL-33R Quantikine ELISA Kit“ (R&D Systems, Inc.). Dieses Kit bestimmt die Konzentration von human ST2 durch Sandwich -Enzym Linked ImmunoSorbent Assay Technik. Ein monoklonaler Antikörper spezifisch für human ST2 ist an eine Mikroplatte festgebunden. Durch Zugabe von Standard oder Blutserumprobe kommt zu Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplex. So werden die in Blutserum vorhandene ST2 an die Antikörper gebunden. Nach Abwaschung überschüssiger Reagenzien wird ein polyklonaler spezifischer gegen ST2 Antikörper mit gekoppeltem Enzym (Meerrettichperoxydase) dazugegeben. Nach abgeschlossener Inkubation und anschließender Abwaschung überschüssiger Reagenzien erfolgt Zugabe von Substrat/Chromogen (Hydrogenperoxidase und Tetramethylbenzidine), was zu Entstehung eines farbigen Endproduktes führt, dessen Menge proportional zur initial gebundenen Menge des ST2 ist. Im letzten Schritt wird zur Abbruchreaktion verdünnte Salzsäure zugegeben. Durch spezifische Absorption bei 450nm, die photometrisch gemessen wird und Vergleich mit der Standardkurve kann die Konzentration des ST2 bestimmt werden. Die Durchführung der Messung erfolgte nach den Vorschriften des Herstellers.

### **3.6.6 sVEGFR-1**

Die Bestimmung des sVEGFR-1 Spiegels erfolgte durch „Human sVEGFR-1 Platinum ELISA“ von Enzo Life Sciences, Inc. Es handelt sich hier um ein Enzym Linked ImmunoSorbent Assay, ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren. Hier wurde die indirekte Sandwich ELISA Variante angewendet. Auf der Mikroplatte sind spezifische anti-human sVEGFR1 (Fang-)Antikörper gebunden. Es folgt die Zugabe von Standard oder Blutserumprobe. So kommt es zu Bildung eines Antigen-(Fang)Antikörper-Komplex. Hierzu wird ein weiterer anti-sVEGFR-Antikörper konjugiert mit Biotin gegeben. Es entsteht ein Komplex: (Fang)Antikörper-sVEGFR-anti-VEGFR-Antikörper mit Biotin. Nach Abwaschung überschüssiger Reagenzien wird ein mit Streptavidin und Meerrettichperoxydase konjugierter Antikörper, der sich an den Biotin-konjugierten Antikörper bindet. Im nächsten Schritt, nach erneutem Abwaschen überschüssiger

Reagenzien wird ein Substrat (Tetramethylbenzidin) zugefügt, der mit dem Enzym Meerrettichperoxidase reagiert. Es entsteht ein farbiges Produkt. Die Reaktion wird nach einer definierten Zeit durch Zugabe von einer Phosphorsäure. Durch spezifische Absorption bei 450nm, die photometrisch gemessen wird und Vergleich mit der Standardkurve kann die Konzentration des sVEGFR-1 bestimmt werden. Die Durchführung der Messung erfolgte nach den Vorschriften des Herstellers.

### 3.7 Bestimmung der Nierenfunktion nach K/DOQI

Die chronische Niereninsuffizienz wird gemäß der „National Kidney Foundation“ (NKF) nach der „Kidney Disease Quality Outcome Initiative“ (National Kidney Foundation 2002) mit Hilfe der glomerulären Filtration (GFR) in fünf Stadien eingeteilt. Dies ist in Tabelle 5 (Seite 44) dargestellt. Stadium 1 kennzeichnet eine normale Nierenfunktion und Stadium 5 chronisches Nierenversagen. Eine direkte Messung der GFR ist nicht möglich. Näherungsweise wird die Eliminierung von Kreatinin (Kreatininclearance,  $Cl_{Krea}$ , Cockcroft & Gault 1976) herangezogen. Kreatinin wird ohne Hindernisse mit dem Primärharn filtriert und nicht mehr reabsorbiert oder sezerniert. Einen Schätzwert für die Kreatininclearance in Abhängigkeit von der Serumkonzentration ( $S_{Krea}$  in mg/dl), dem Geschlecht (Faktor  $F=72$  für Männer und  $F=85$  für Frauen), dem Körpergewicht (kgKG in kg) und dem Alter (in Jahren) liefert Formel 4.

#### Formel 4: Kreatininclearance nach Cockcroft & Gault

$$Cl_{Krea} [\text{ml/min}] = \frac{(140 - \text{Alter}) \times \text{kgKG}}{F \times S_{Krea}}$$

$Cl_{Krea}$ : Kreatininclearance, kgKG: Körpergewicht, F: Faktor ( $\text{♂}=72$ ,  $\text{♀}=85$ ),  $S_{Krea}$ : Kreatininkonzentration im Serum.

Die GFR wird auf die Körperoberfläche in  $\text{m}^2$  bezogen. Die durchschnittliche Körperoberfläche eines Erwachsenen beträgt  $1,73\text{m}^2$ . Die Bestimmung der Kreatininkonzentration im Blutserum erfolgte nach den üblich verwendeten Labormethoden.

**Tabelle 5: Einteilung der chronischen Niereninsuffizienz in fünf Stadien K/DOQI (nach der National Kidney Foundation 2002)**

<b>Stadium</b>	<b>GFR (Cl<sub>Krea</sub>/1,73m<sup>2</sup>)</b>	<b>Stadienbeschreibung</b>
1	über 89	Nierenerkrankung mit normaler Nierenfunktion (mit Proteinurie), sonst als Normalbefund zu werten (ohne Proteinurie).
2	60–89	Nierenerkrankung mit milder Funktionseinschränkung (mit Proteinurie), ohne Proteinurie nur milde Nierenfunktionsstörung.
3	30–59	Nierenerkrankung mit moderater Funktionseinschränkung
4	15–29	Nierenerkrankung mit schwerer Funktionseinschränkung
5	unter 15	chronisches Nierenversagen

GFR: glomeruläre Filtrationsrate berechnet aus der Kreatinin-Clearance (Cl<sub>Krea</sub>) und der Körperoberfläche.

### 3.8 Statistische Auswertung

Die Messgrößen werden als Mittelwert mit Standardabweichungen, sowie Median mit Interquartilbereichen angegeben, die Angaben sind entsprechend vermerkt. Anteilige Parameter werden in Prozent ausgeführt. Die Überprüfung der Normalverteilung der Patientendaten erfolgt durch den Shapiro-Wilk Test. Die Varianzhomogenität der gemessenen Parameter wird anhand von Levene Test überprüft. Die Mittelwerte der metrisch skalierten Variablen werden mittels T-Test verglichen, die nominal-oder ordinalskalierten durch den Chi-Quadrat-Test.

Da die Messwerte für Biomarkerspiegel sehr schief verteilt sind, wird ein Median mit Interquartilbereich angegeben. Zudem werden die Messwerte logarithmiert um eine Normalverteilung zu erreichen.

Die lineare Korrelation der metrischen Variablen wird durch den Pearson-Korrelationskoeffizient überprüft. Für die ordinalen Variablen wird der Kendall-Tau-Korrelationskoeffizient angewendet.

Zur Bestimmung der diagnostischen Aussagekraft werden Grenzwertoptimierungskurven berechnet (Receiver Operating Characteristic, ROC-Kurve) und die Fläche unter der Kurve abgeleitet. Die Grenzwerte (cut-off) werden aus den Koordinaten der ROC-Kurve (höchste Sensitivität, höchste Spezifität) festgelegt.

Zur Ermittlung der Überlebensraten werden die PH-Patienten in 2 Gruppen aufgeteilt, mit Werten oberhalb und unterhalb eines Biomarkerspiegelsmedians. Eine graphische Darstellung wird anhand der Kaplan-Meier-Kurve abgebildet. Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen werden mit dem Log-Rank Test untersucht.

Die Daten wurden mit Hilfe des Standardprogrammes Microsoft Excel<sup>TM</sup> verarbeitet. Statistische Berechnungen erfolgten mit IBM SPSS Statistics (Version 28/27/26 Netzwerk Lizenz via Universität des Saarlandes).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung der Studienteilnehmer

Tabelle 6 (Seite 47) zeigt die Charakterisierung aller Studienteilnehmer. Das mittlere Alter der Kontrollgruppe betrug 47,1 Jahre, die PH-Patienten waren mit 61,6 Jahren älter als die Nicht-PH-Gruppe ( $p < 0,001$ ). In den PH-Klassen waren die ältesten Patienten in der PH-Gruppe assoziiert mit Lungenerkrankungen (LE), gefolgt von CTEPH-Patienten. Patienten jeder PH-Klasse waren signifikant älter als die der Kontrollgruppe. Insgesamt war das weibliche Geschlecht stärker vertreten, in der Gruppe PH assoziiert mit LE waren Männer in Mehrzahl. In der Kontrollgruppe waren 57,1% weiblich, in der PH-Gruppe waren es 60,3%. Beim 6 min-Gehtest (Kapitel 2.5.4.1, Seite 22) zeigte die Kontrollgruppe eine signifikant bessere körperliche Belastbarkeit als die PH-Gruppe ( $441,0 \pm 68,4\text{m}$  vs.  $326,0 \pm 134,5\text{m}$ ,  $p = 0,023$ ). In den einzelnen PH-Gruppen war nur die 6-Minuten- Gehstrecke der LE-Patienten ( $242,0 \pm 150,7\text{m}$  vs.  $441,0 \pm 68,4\text{m}$ ,  $p < 0,001$ ) signifikant kürzer als die der Kontrollgruppe. Die 6-min Gehstrecken der PAH und CTEPH Patienten waren zwar kürzer als die der Kontrollgruppe, eine statistische Signifikanz lag jedoch nicht vor. In der Kontrollgruppe war etwas mehr als die Hälfte der Teilnehmer der WHO Funktionsklasse (FC) I zugeteilt, der FC IV keiner (Kapitel 2.6 Seite 24, Tabelle 4 Seite 24 und 25). In der PH-Gruppe wurde die Mehrheit der Patienten in die FC III (47,3%) eingestuft, in die FC IV gehörten 10,9% der PH-Patienten. Unter den einzelnen PH-Gruppe war die LE im fortgeschrittensten Krankheitsstadium mit einer Häufigkeit von 21,4% in der FC IV.

Ein Teil der Kontrollgruppe litt unter Komorbiditäten, am häufigsten war die arterielle Hypertonie (27,8%) vertreten, gefolgt von koronarer Herzerkrankung (KHK, 16,7%). Weniger Patienten hatten Diabetes mellitus Typ 2 und leicht eingeschränkte Niereninsuffizienz. In der PH-Gruppe waren mehr Probanden von den Komorbiditäten betroffen, die PH Probanden hatten eine Niereninsuffizienz in fortgeschrittenen Stadien.

Alle Patienten der PH-Gruppe waren mit PH-spezifischen Medikamenten behandelt, die meisten Patienten erhielten Phosphodiesterase-5-Inhibitor (PDEI). Etwa 25% Patienten der PH-Gruppe waren zum Zeitpunkt der Untersuchung unter Kombinationstherapie zweier oder dreier PH-spezifischer Arzneien. Patienten mit PH assoziiert mit LE standen unter Monotherapie mit PDEI.

**Tabelle 6: Grundlegende Patientendaten, Bewegungstoleranz und medikamentöse Behandlung der Studienteilnehmer**

	Kontrolle N=21	PH -Alle N=58	PAH N=38	LE N=14	CTEPH N=6
Alter (Jahre)	47,1 ± 17,1	61,6±15,6*	57,9 ± 17,0*	69,4 ± 10,2*	67,0 ± 7,1*
Geschlecht (m/w) (%)	9/12 (42,9/57,1)	23/35 (39,7/60,3)	12/26 (31,6/68,4)	11/3 (78,6/21,4)	0/6 (0,0/100)
Größe (cm)	170,6 ± 12,0	166,3 ± 9,1	165,5 ± 8,6	170,2 ± 9,7	162,5 ± 8,5
Gewicht (kg)	75,7 ± 22,2	86,0 ± 21,0	88,1± 20,3*	85,7 ± 23,4	73,1 ± 17,2
KOF (m <sup>2</sup> )	1,86 ± 0,3	1,93 ± 0,2	1,94 ± 0,2	1,96 ± 0,3	1,78 ± 0,2
6-Minuten-Gehtest (m)	441,0 ± 68,4	326,4 ± 126,9*	358,9± 110,7	235,1±133,5*	360,8±102,0
WHO FC (%)					
- I	55,6	9,1	11,4	0,0	16,7
- II	27,8	32,7	37,1	21,4	33,3
- III	11,1	47,3	42,9	57,1	50,0
- IV	0,0	10,9	8,6	21,4	0,0
Komorbiditäten (%)					
- Art.HT	27,8	52,7	54,3	35,7	83,3
- KHK.	16,7	25,5	22,9	28,6	33,3
- DM	5,9	21,8	14,3	28,6	50,0
- CNI	5,6	9,3	11,8	7,1	0,0
- - 1	0,0	14,8	5,9	35,7	16,7
- - 2	0,0	14,8	5,9	35,7	16,7
- - 3	0,0	20,4	17,6	28,6	16,7
PH-spezifische Medikation: (%)					
- PDEI	0,0	65,5	71,4	50,0	66,7
- ERA	0,0	41,8	51,4	0,0	83,3
- PC	0,0	5,5	8,6	0,0	0,0
Kombinationstherapie					
- Dual	0,0	22,4	26,3	0,0	50,0
- Triple	0,0	3,4	5,3	0,0	0,0

Abkürzungen: \*: p<0,05 ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe  
KOF- Körperoberfläche, PH-pulmonale Hypertonie, PAH- pulmonal arterielle Hypertonie, LE



Lungenerkrankungen (PH assoziiert mit LE), CTEPH- chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie, WHO FC – WHO Funktionsklassen, Art. HT – arterielle Hypertonie, KHK –koronare Herzerkrankung, DM-Diabetes mellitus Typ 2, CNI- chronische Niereninsuffizienz, PDEI- Phosphodiesterase-5-Inhibitoren, ERA- Endothelinrezeptor Antagonisten, PC – Prostacycline

## 4.2 Hämodynamik der Studienteilnehmer

Die Tabelle 7 (Seite 48 und 49) beinhaltet die hämodynamischen Parameter der Teilnehmer. Diese wurden bis auf Oxyhem im Rahmen der Rechtsherzkatheter erhoben. In der Kontrollgruppe sind es 10 Probanden, da nur diese einen Rechtsherzkatheter bekommen haben, in dem die Diagnose pulmonale Hypertonie ausgeschlossen wurde.

Bei den PH-Patienten zeigten sich signifikant höhere Werte für den PAPm im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $42,93 \pm 10,64 \text{ mmHg}$  vs.  $15,9 \pm 2,42 \text{ mmHg}$ ,  $p < 0,001$ ). Auch die einzelnen PH-Gruppen im Vergleich zur Kontrolle hatten einen signifikanten höheren PAPm Wert (Tabelle 7, Seite 48 und 49). Ähnlich verhielten sich die Werte für PVR ( $7,58 \pm 4,00 \text{ WE}$  vs.  $1,83 \pm 0,70 \text{ WE}$ ,  $p < 0,001$ ), auch waren die Werte für die einzelnen PH Klassen signifikant höher gemessen im Vergleich zu Kontrolle. Für TPG fand sich ebenso signifikant höhere Werte bei der PH-Gruppe als bei der Kontrolle ( $33,50 \pm 11,34 \text{ mmHg}$  vs.  $7,67 \pm 2,06 \text{ mmHg}$ ,  $p < 0,001$ ) und auch in jeder PH Klasse waren die Werte höher als in der in der Kontrolle. Dies galt auch für RAP ( $9,98 \pm 4,75 \text{ mmHg}$  vs.  $5,80 \pm 1,62 \text{ mmHg}$ ,  $p < 0,001$ ).

**Tabelle 7: Hämodynamische Parameter der Patienten mit PH und der Kontrollgruppe**

	Kontrolle N=10	PH N=58	PAH N=38	LE N=14	CTEPH N=6
PAPm [mmHg]	$15,90 \pm 2,42$	$42,93 \pm 10,64^*$	$45,26 \pm 11,27^*$	$36,71 \pm 6,56^*$	$42,67 \pm 9,35^*$
PCWP [mmHg]	$8,80 \pm 3,89$	$10,33 \pm 2,79$	$10,42 \pm 3,11$	$10,71 \pm 2,05$	$8,83 \pm 1,83$
PVR [WE]	$1,83 \pm 0,70$	$7,58 \pm 4,00^*$	$8,02 \pm 4,15^*$	$5,77 \pm 3,24^*$	$8,68 \pm 3,91^*$
RAP [mmHg]	$5,80 \pm 1,62$	$9,98 \pm 4,75^*$	$10,41 \pm 4,21^*$	$9,86 \pm 6,38^*$	$7,40 \pm 2,19$
TPG [mmHg]	$7,67 \pm 2,06$	$33,50 \pm 11,34^*$	$35,76 \pm 2,06^*$	$26,92 \pm 8,67^*$	$35,20 \pm 10,85^*$
CI [l/min/m <sup>2</sup> ]	$2,67 \pm 0,59$	$2,47 \pm 0,63$	$2,44 \pm 0,70$	$2,55 \pm 0,41$	$2,49 \pm 0,63$
ven SO <sub>2</sub> [%]	$64,44 \pm 24,51$	$63,26 \pm 11,65$	$64,61 \pm 24,51$	$59,50 \pm 18,89$	$65,00 \pm 7,39$

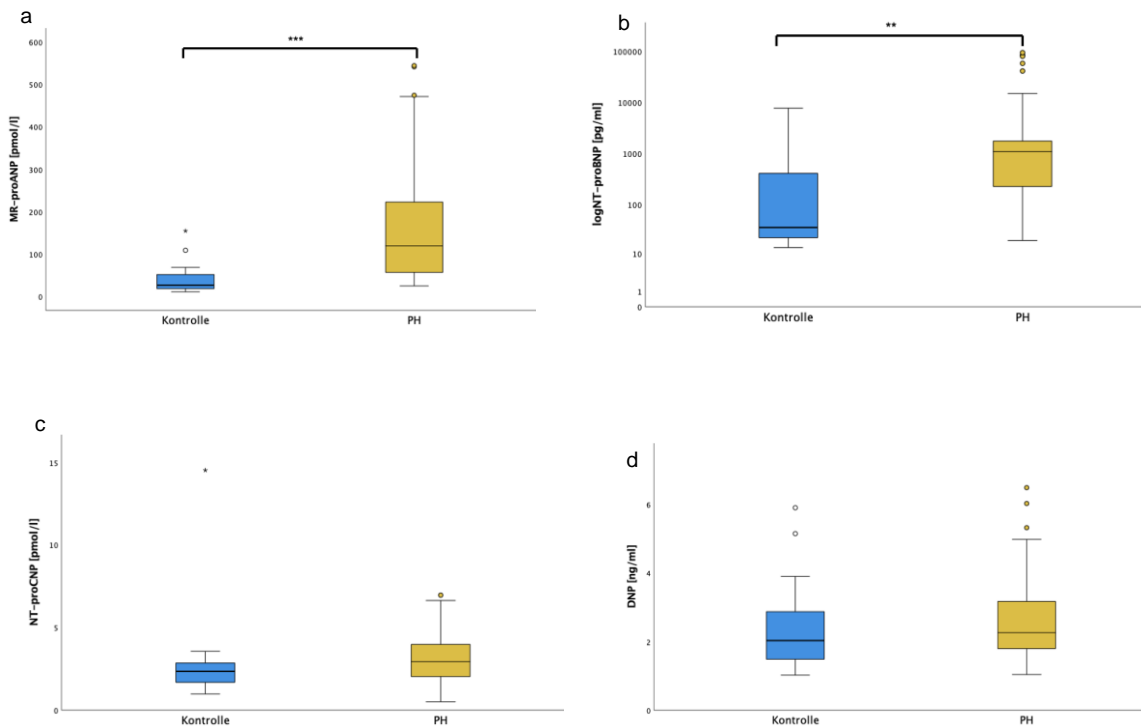
Oxyhem [g/dl]	12,56 ± 1,75	13,13 ± 1,59	13,17 ± 1,74	12,91 ± 1,26	13,40 ± 1,43
---------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

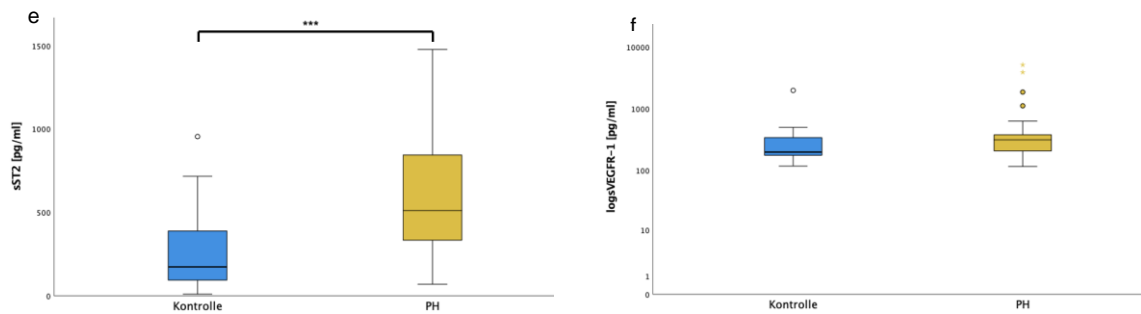
Abkürzungen: \* p<0.05 vs. Kontrolle; PH: Pulmonale Hypertonie, PAH: pulmonal arterielle Hypertonie, LE: PH assoziiert mit einer Lungenerkrankung, CTEPH: chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie, PAPm: mittlerer pulmonal arterieller Druck, PCWP: pulmonal-arterieller Verschlussdruck, RAP: rechtsatrialer Druck, TPG transpulmonaler Gradient, CI: Herzindex, PVRI: pulmonal-vaskulärer Widerstandsindex, venSO2: gemischtvenöse Sauerstoffsättigung.

### 4.3 Einfluss der pulmonalen Hypertonie auf die Konzentration der Biomarker

Bei der Rechtsherzkatheteruntersuchung wurden Blutproben von den Patienten (58 mit bestätigter PH und 10 ohne PH) direkt aus der *Arteria pulmonalis* entnommen. Weiterhin wurden für die Untersuchung der Biomarker elf gesunde Personen in die Kontrollgruppe integriert, von denen aber keine invasiven Daten vorlagen, das Blut wurde aus der peripheren Vene entnommen. Für die Kontrollgruppe konnte das Blut von 21 Individuen analysiert werden. Die Konzentrationsbestimmung der Biomarker erfolgte wie in Kapitel 3.5 (Seiten 39 bis 42).

Der Vergleich der Kontrollgruppe und der Patientengruppe ist in Abbildung 3 (Seite 49 und 50) als Box-Plot dargestellt.





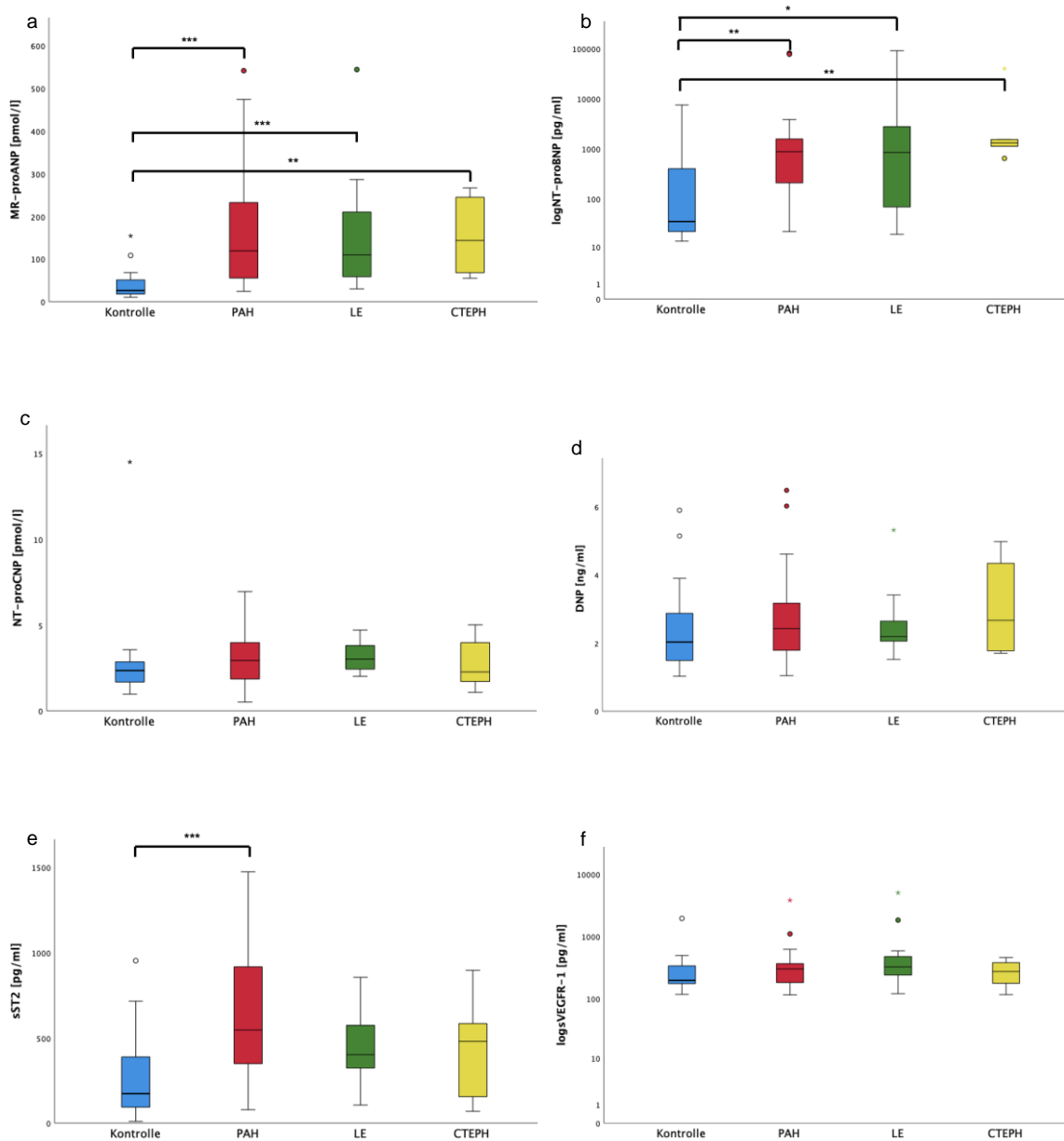
**Abbildung 3: Konzentration der Biomarker in der Kontrollgruppe und der Patientengruppe als Box-Plot-Diagramm**

Auf der Abszisse sind die Gruppen aufgetragen, auf der Ordinate die jeweils gemessenen Konzentrationen der Biomarker. Für NTproBNP und sVEGFR wurden die Konzentrationswerte logarithmiert. a: MR-proANP [pmol/l], b: log NT-proBNP [pg/ml], c: NT-proCNP [pmol/l], d: DNP [ng/ml], e: sST2 [pg/ml], f: log sVEGFR-1 [pg/ml]. \* bedeutet  $p < 0,05$  statistische Signifikanz, \*\* bedeutet  $p < 0,01$  hochsignifikant, \*\*\* bedeutet  $p < 0,001$  sehr hochsignifikant. Die einzelnen Punkte oder Sternchen über den jeweiligen Boxplot sind Ausreißer.

Die Konzentrationen von MR-proANP [pmol/l] der PH-Patienten lagen deutlich über denen der Kontrollgruppe (118,9 [55,54-222,4] vs. 26,1 [17,54-54,23],  $p < 0,001$ ) und die Werte für NT-proBNP [pg/ml] waren in der PH-Gruppe höher als in der Kontrollgruppe (1082,23 [219,77-1749,68] vs. 34,5 [21,33-462,27],  $p = 0,001$ ). Dies galt auch für sST2 [pg/ml] (510,32 [327,9-845,3] vs. 173,12 [92,3-388,7],  $p < 0,001$ ). Für NT-proCNP, DNP und sVEGFR-1 zeigt sich hingegen keine statistisch signifikante Trennung in der Konzentration der Biomarker bei der Kontroll- und PH-Gruppe.

#### 4.4 Konzentration der Biomarker in Abhängigkeit von der PH-Gruppe

Da die Biomarker als diagnostisches Instrument verwendet werden können, wurde überprüft, ob Unterschiede in der Pathogenese der PH auch zu einer unterschiedlichen Expression der Biomarker führen. Der Vergleich der Kontrollgruppe und der 3 untersuchten PH-Gruppen ist in Abbildung 4 (Seite 51) als Box-Plot-Diagramm vorgestellt.



**Abbildung 4: Konzentrationen der Biomarker in der Kontrollgruppe und den Patientenuntergruppen als Box-Plot-Diagramm**

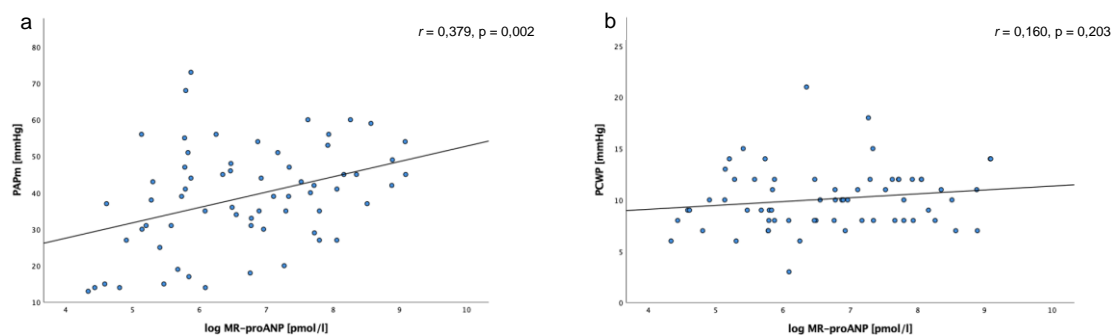
Auf der Abszisse sind die Gruppen aufgetragen, auf der Ordinate die jeweils gemessenen Konzentrationen der Biomarker. PAH: pulmonal-arterielle Hypertonie, LE: mit einer Lungenerkrankung assoziierte pulmonale Hypertonie, CTEPH: chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie Für NTproBNP und und sVEGFR wurden die Konzentrationswerte logarithmiert. a: MR-proANP [pmol/l], b: log NT-proBNP [pg/ml], c: NT-proCNP [pmol/l], d: DNP [ng/ml], e: sST2 [pg/ml], f: log sVEGFR-1 [pg/ml]. \* bedeutet  $p < 0,05$  statistische Signifikanz, \*\* bedeutet  $p < 0,01$  hochsignifikant, \*\*\* bedeutet  $p < 0,001$  sehr hochsignifikant. Die einzelnen Punkte oder Sternchen über den jeweiligen Boxplot sind Ausreißer.

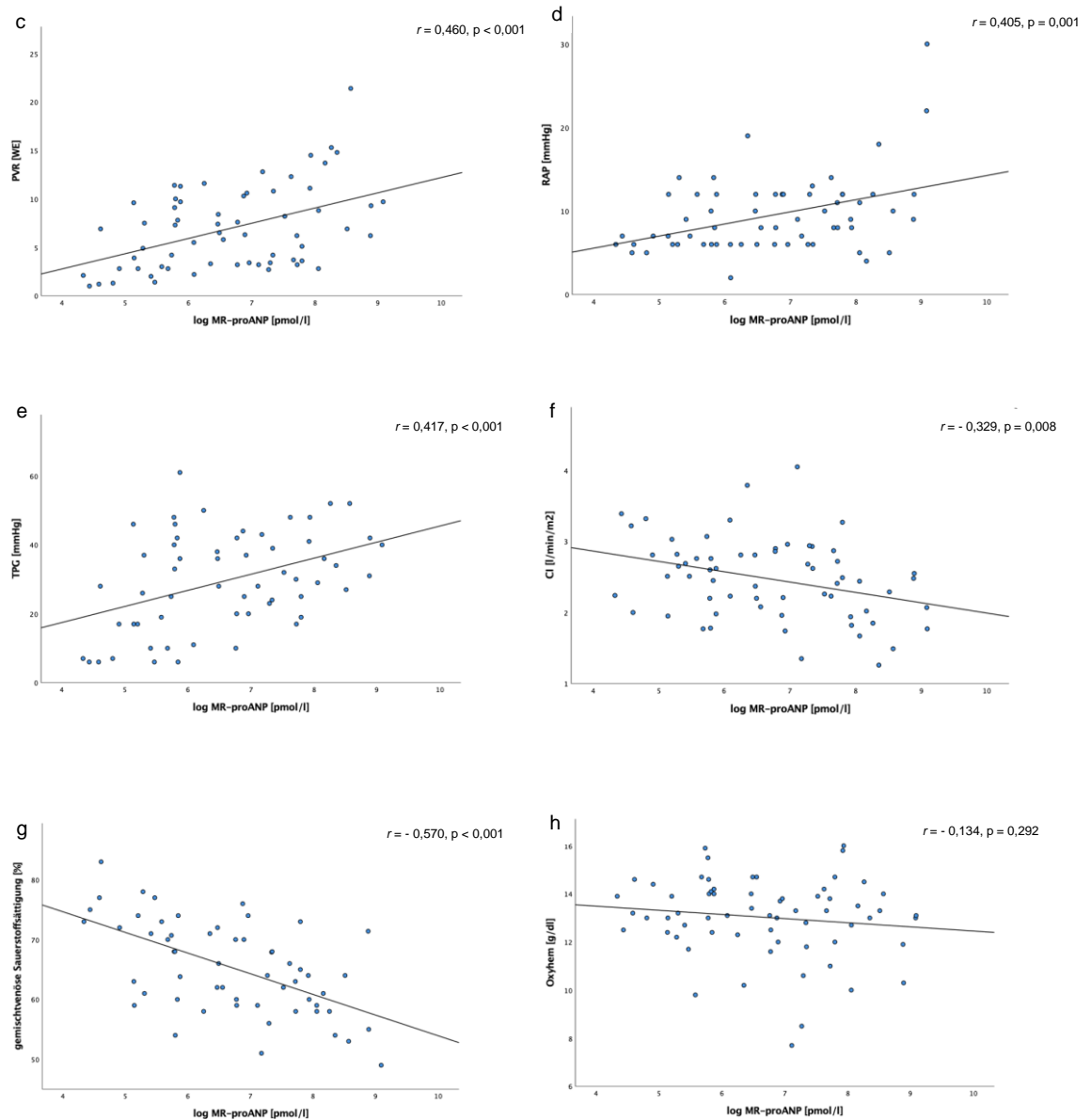
Eine Unterteilung der Resultate und die Betrachtung der Biomarker in Abhängigkeit von der PH-Gruppe zeigte eine signifikante Erhöhung des MR-proANP-Spiegels[pmol/l] unabhängig von der zugrunde liegenden PH Gruppe im Vergleich zur Kontrolle: PAH (119,4 [55,34-237,62] vs. 26,1 [17,54-54,24],  $p < 0,001$ ), bei LE (109,7 [48,7-210,8] vs. 26,1 [17,54-54,24],  $p < 0,001$ ) und CTEPH (143,6 [64,64-250,45] vs. 26,1 [17,54-54,24],  $p < 0,01$ ). Auch der NTproBNP-Spiegel[pg/ml] steigt in allen der 3 PH-Gruppen im Vergleich zu der der Kontrollgruppe signifikant an: PAH (889,98 [204,97-1605,64] vs. 34,5 [21,33-462,27],  $p = 0,005$ ) bei LE ( 894,61 [57,88-5791,50] vs. 34,5 [21,33-462,27],  $p = 0,020$ ) und CTEPH (1329,37 [1008,59-11317,72] vs. 34,5 [21,33-462,27],  $p = 0,006$ ). Für sST2-Konzentration[pg/ml] ist ein hochsignifikanter Unterschied lediglich zwischen Kontrolle und PAH gemessen (546,53 [345,15-919,79] vs. 173,12 [92,30-388,72],  $p < 0,001$ ). Zwischen den übrigen zwei PH-Gruppen und den Kontrollen ist kein relevanter Unterschied zu verzeichnen. In den Messreihen für NT-proCNP, DNP und sVEGFR-1 sind keine statistisch bedeutende Abgrenzungen festzustellen.

#### 4.5 Korrelation der untersuchten Biomarker mit den hämodynamischen Parametern

Im Folgenden wurde ein linearer Zusammenhang der 6 Biomarker mit den hämodynamischen Parametern (Tabelle 7 Seite 48) untersucht. Da die Biomarker rechtsschief verteilt sind, wurden deren Werte in Logarithmen transformiert, um damit eine Normalverteilung zu erreichen.

##### 4.5.1 MR-proANP





**Abbildung 5: Lineare Korrelation nach Pearson MR-proANP mit den hämodynamischen Parametern.** a: PAPm [mmHg], b: PCWP [mmHg], c: PVR [WE], d: RAP [mmHg], e: TPG [mmHg], f: CI [l/min/m<sup>2</sup>], g: gemischtvenöse Sauerstoffsättigung [%], h: Oxyhem [g/dl].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz

Die MR-proANP Konzentration im Serum steigt mit den steigenden Werten für PAPm ( $r = 0,379, p = 0,002$ ), PVR ( $r = 0,460, p < 0,001$ ), RAP ( $r = 0,405, p = 0,001$ ) und TPG ( $r = 0,417, p < 0,001$ ). Die MR-proANP Konzentration steigt mit fallenden Werten für CI ( $r = -0,329, p = 0,008$ ) und gemischtvenöse Sauerstoffsättigung ( $r = -0,570, p < 0,001$ ). MR-proANP zeigt keinen Zusammenhang mit PCWP und Oxyhem.

## 4.5.2 NT-proBNP

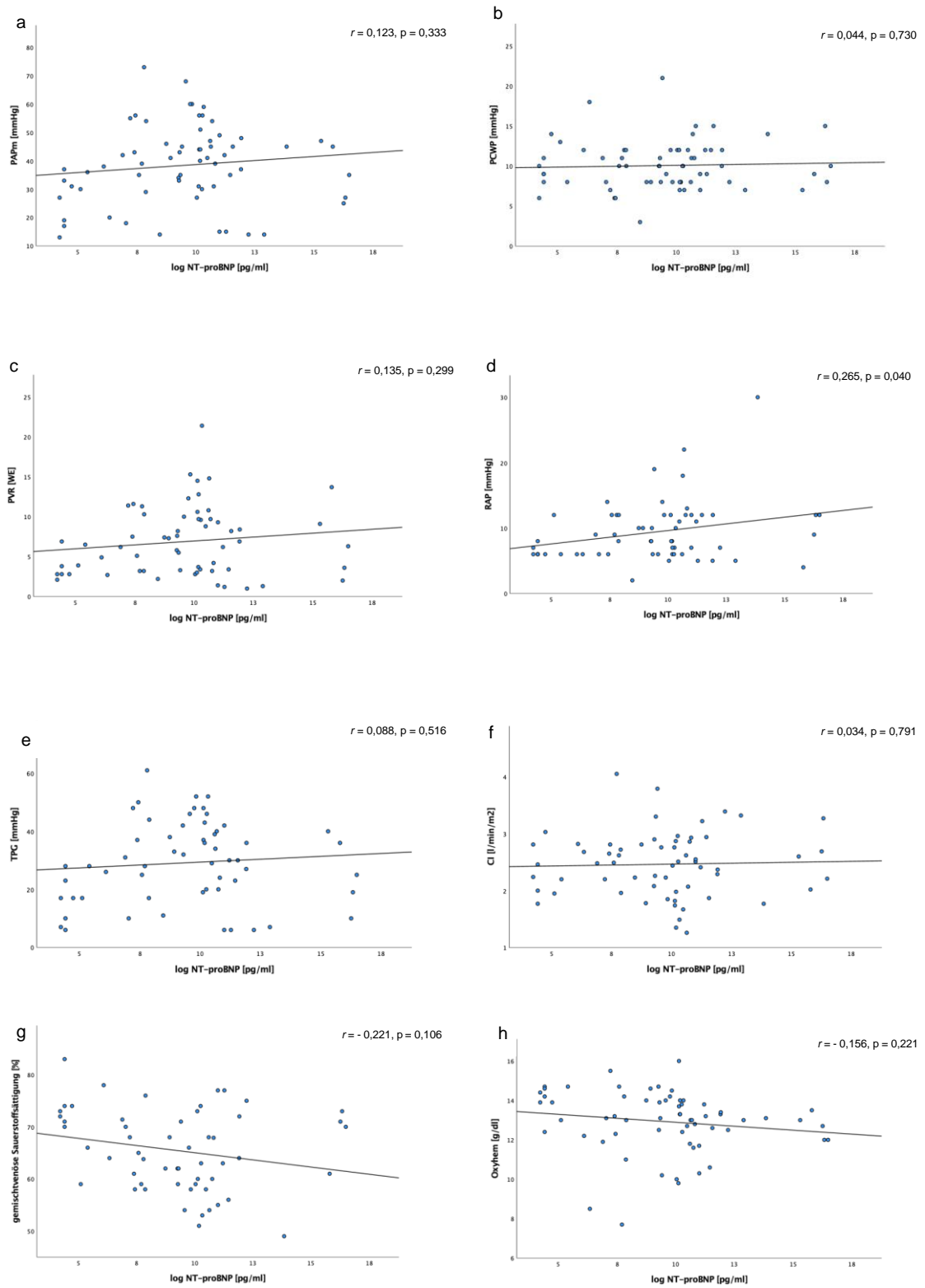
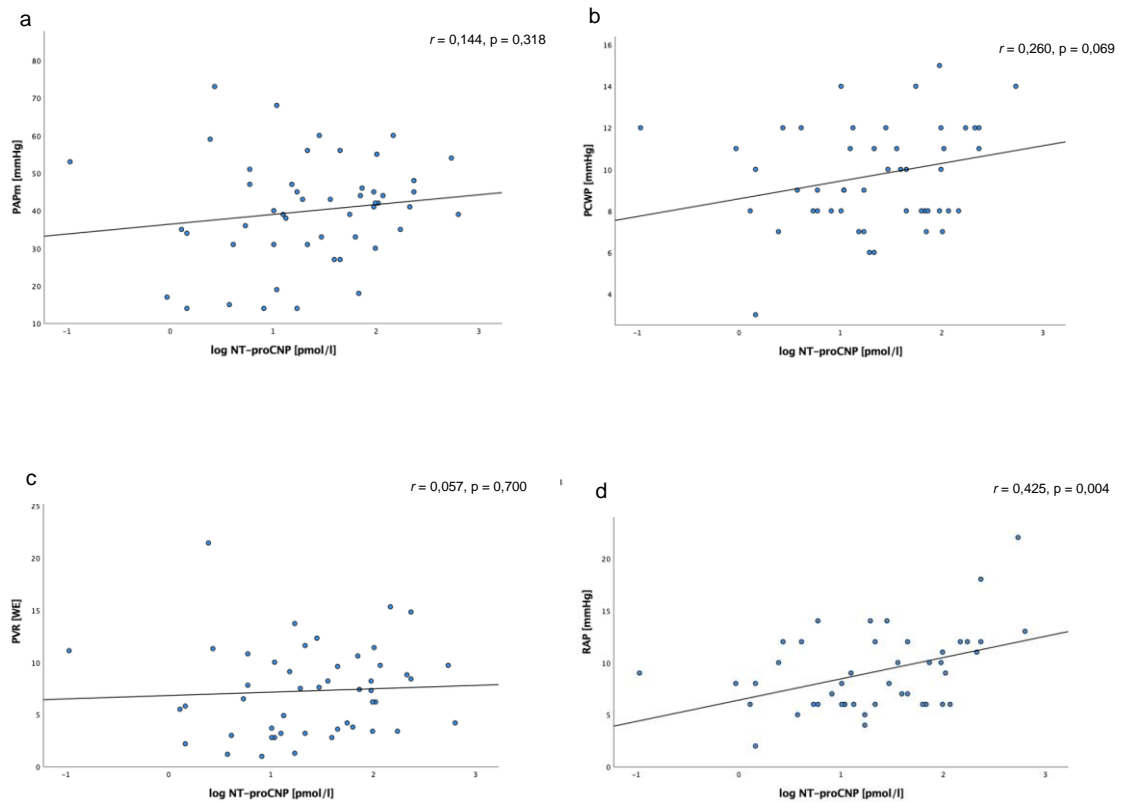


Abbildung 6: Lineare Korrelation nach Pearson NT-proBNP mit den hämodynamischen Parametern.

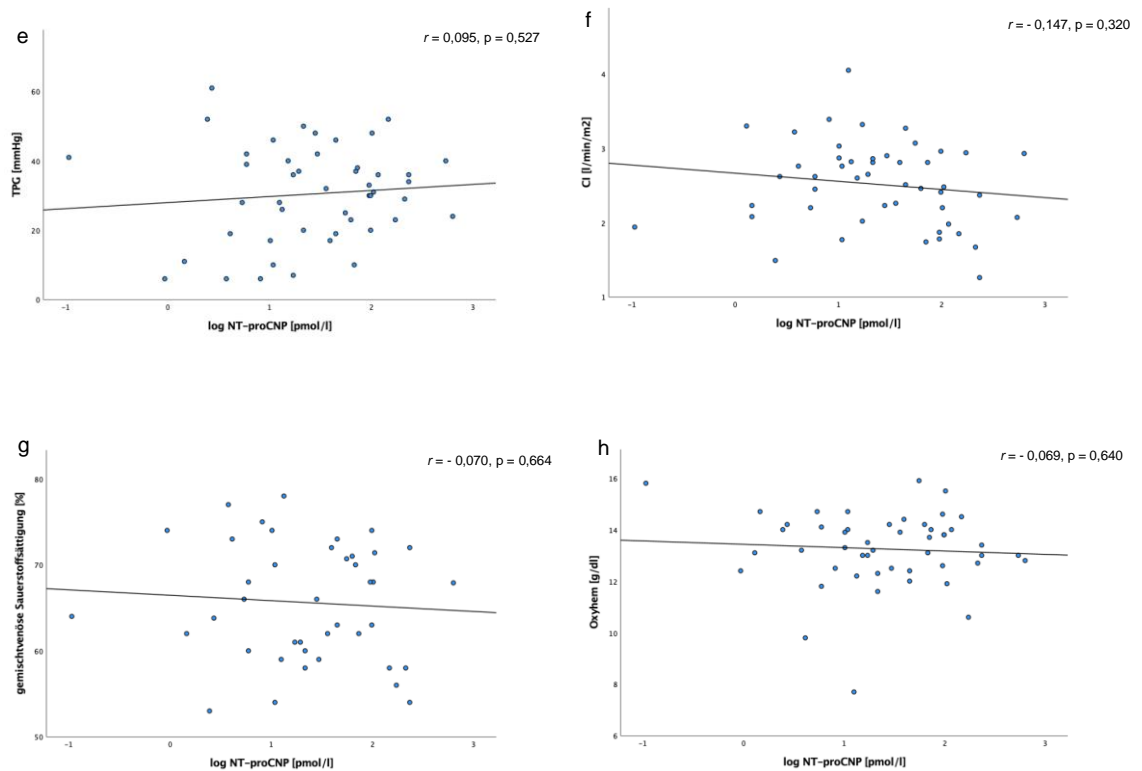
a: PAPm [mmHg], b: PCWP [mmHg], c: PVR [WE], d: RAP [mmHg], e: TPG [mmHg], f: CI [l/min/m<sup>2</sup>], g: gemischtenvenöse Sauerstoffsättigung [%], h: Oxyhem [g/dl].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz.

Für NT-proBNP wurde eine schwache positive Korrelation mit RAP ( $r = 0,265$ ,  $p = 0,040$ ) gemessen. Mit den übrigen hämodynamischen Parametern konnte in dieser Messreihe kein statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.

### 4.5.3 NT-proCNP



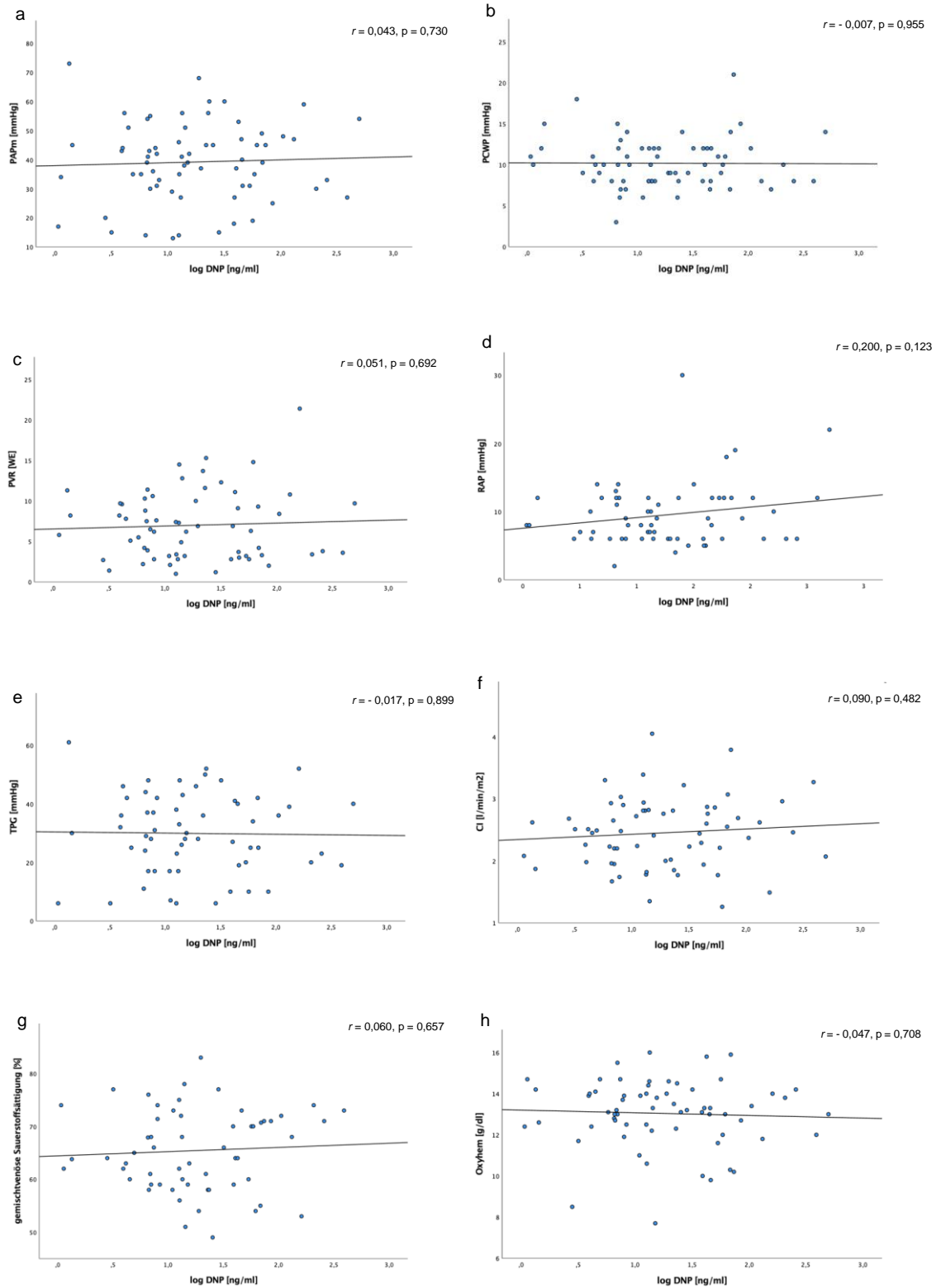




**Abbildung 7: Lineare Korrelation nach Pearson NT-proCNP mit den hämodynamischen Parametern.** a: PAPm [mmHg], b: PCWP [mmHg], c: PVR [WE], d: RAP [mmHg], e: TPG [mmHg], f: CI [l/min/m<sup>2</sup>], g: gemischtenvenöse Sauerstoffsättigung [%], h: Oxyhem [g/dl].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz.

NT-proCNP korreliert moderat positiv mit RAP ( $r = 0,425$ ,  $p = 0,004$ ). Die anderen untersuchten Parameter weisen keinen linearen Zusammenhang mit dem Biomarker auf.

## 4.5.4 DNP

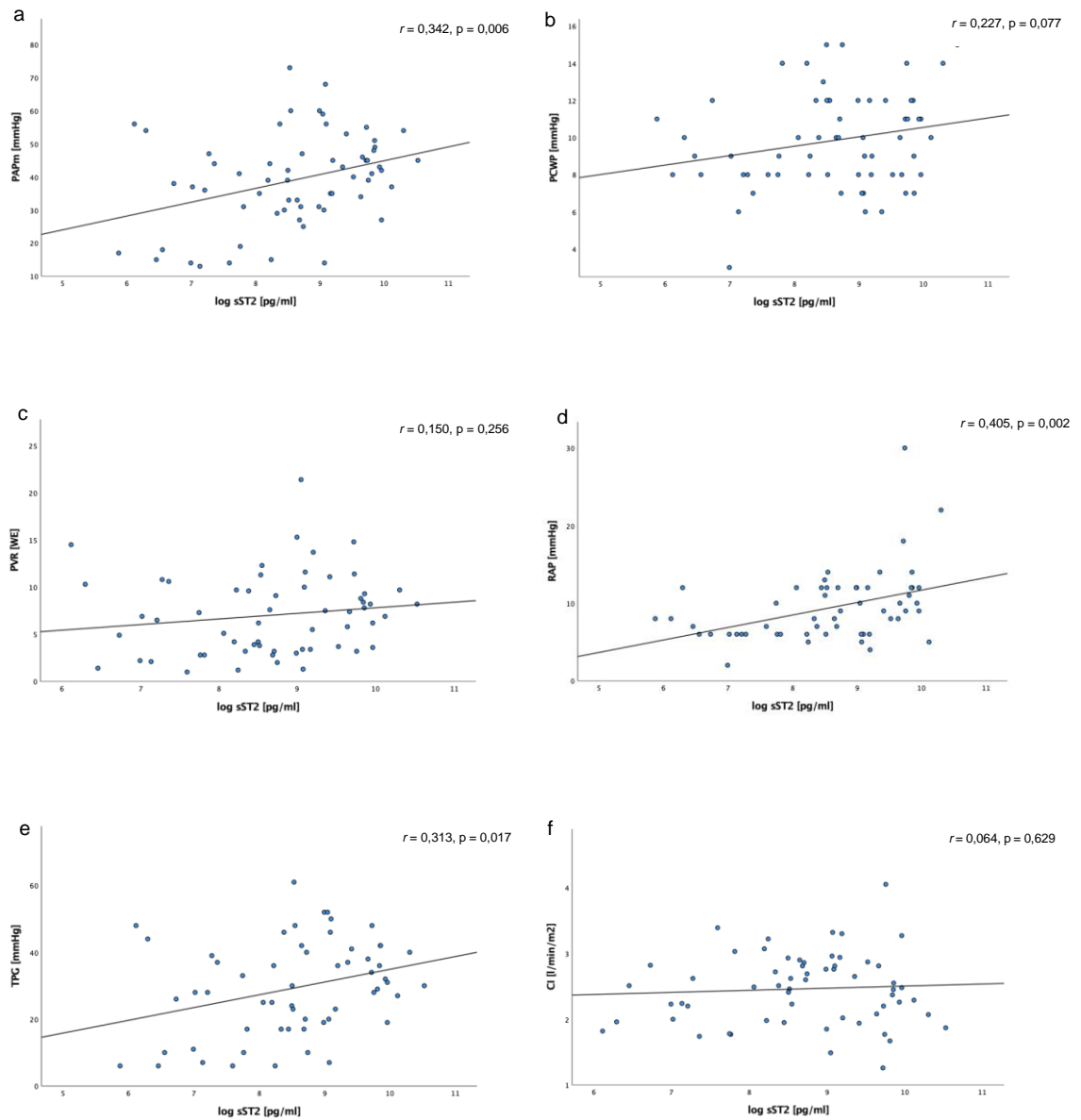


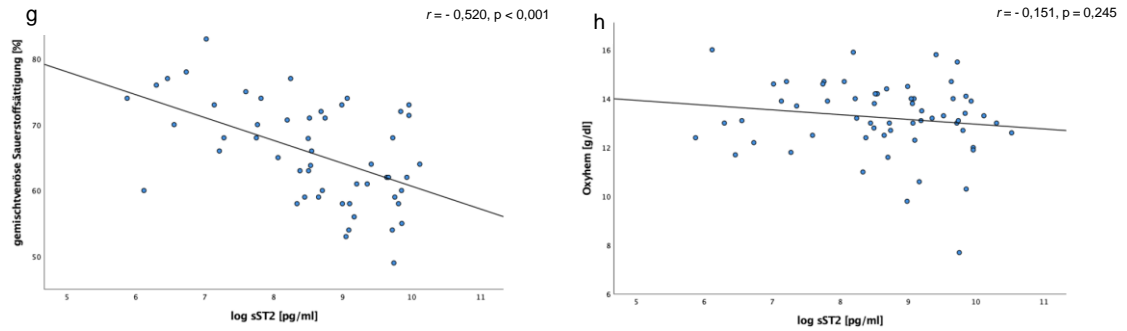
**Abbildung 8: Lineare Korrelation nach Pearson DNP mit den hämodynamischen Parametern. a: PAPm [mmHg], b: PCWP [mmHg], c: PVR [WE], d: RAP [mmHg], e: TPG [mmHg],**

f: CI [l/min/m<sup>2</sup>], g: gemischtvenöse Sauerstoffsättigung [%], h: Oxyhem [g/dl].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz.

Mit dem Biomarker DNP korreliert linear keiner der hämodynamischen Parameter.

#### 4.5.5 sST2

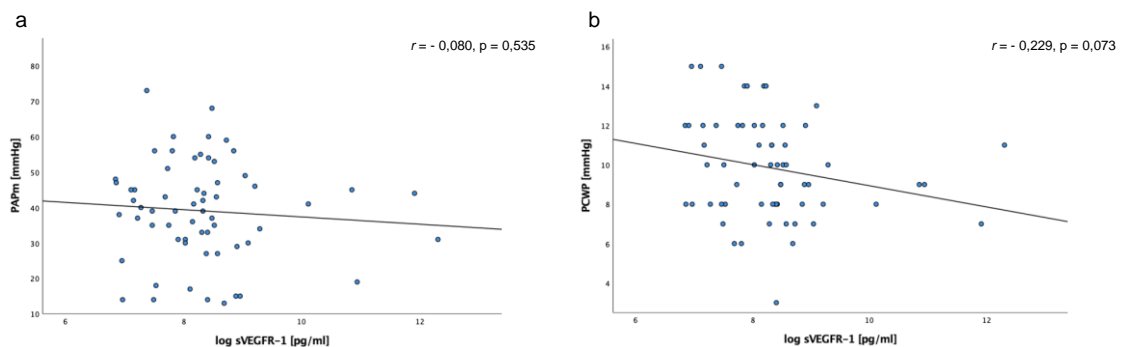


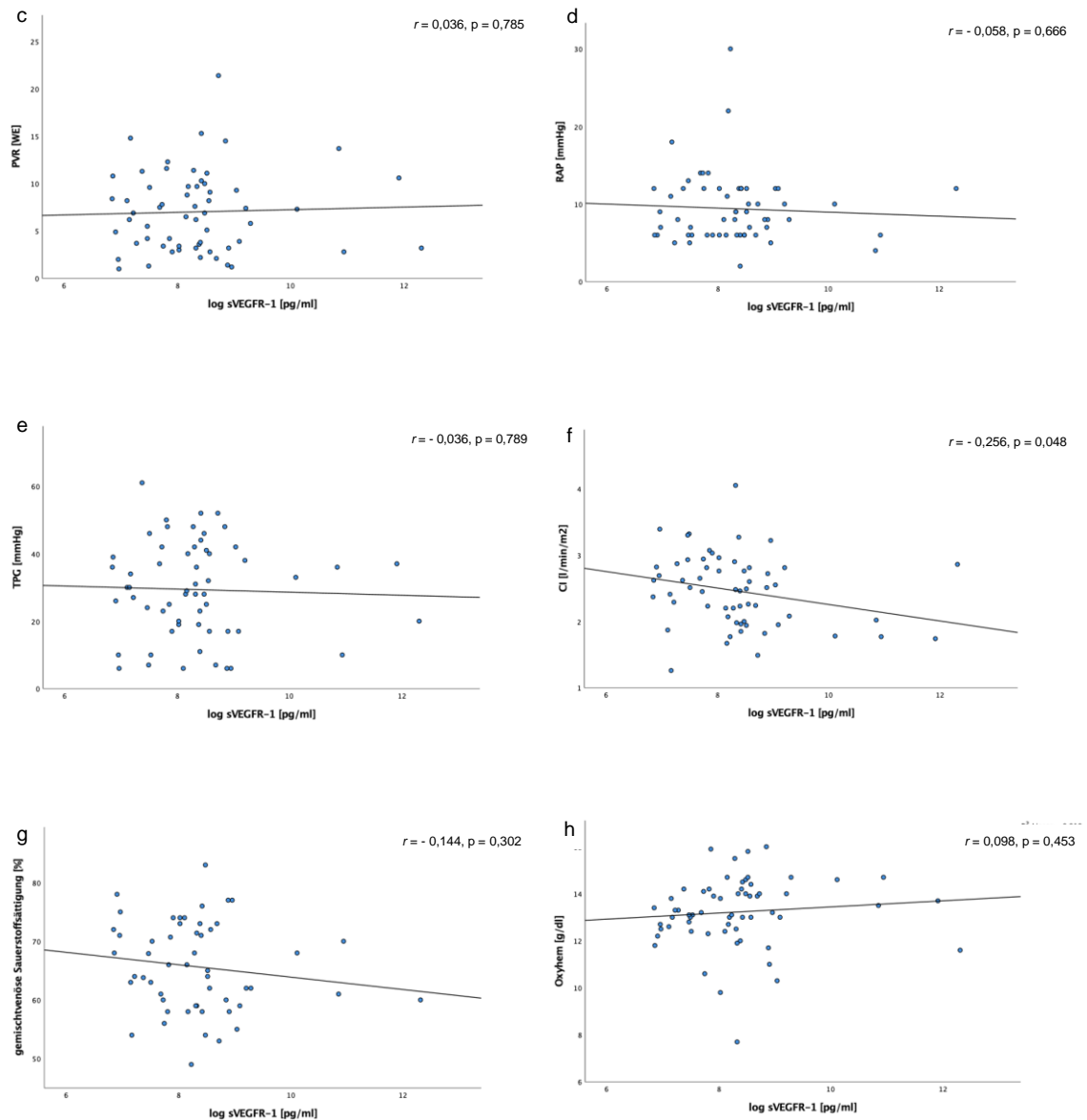


**Abbildung 9: Lineare Korrelation nach Pearson sST2 mit den hämodynamischen Parametern.** a: PAPm [mmHg], b: PCWP [mmHg], c: PVR [WE], d: RAP [mmHg], e: TPG [mmHg], f: CI [l/min/m<sup>2</sup>], g: gemischtvenöse Sauerstoffsättigung [%], h: Oxyhem [g/dl].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz.

Eine moderate positive Korrelation des Biomarkers sST2 konnte mit folgenden der hämodynamischen Parameter nachgewiesen werden: RAP ( $r = 0,405, p = 0,002$ ), PAPm ( $r = 0,342, p = 0,006$ ) und TPG ( $r = 0,313, p = 0,017$ ). Ein starker negativer Zusammenhang wurde für den Biomarker mit der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung ( $r = -0,520, p < 0,001$ ) gefunden. Mit den übrigen Parametern ist kein linearer Zusammenhang gemessen worden.

#### 4.5.6 sVEGFR-1





**Abbildung 10: Lineare Korrelation nach Pearson sVEGFR-1 mit den hämodynamischen Parametern.** a: PAPm [mmHg], b: PCWP [mmHg], c: PVR [WE], d: RAP [mmHg], e: TPG [mmHg], f: CI [l/min/m<sup>2</sup>], g: gemischtenöse Sauerstoffsättigung [%], h: Oxyhem [g/dl].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz.

Es besteht eine schwache negative Korrelation zwischen sVEGFR-1 und CI ( $r = -0,256$ ,  $p = 0,048$ ). Mit den anderen hämodynamischen Parametern besteht kein statistisch signifikanter linearer Zusammenhang des Biomarkers.

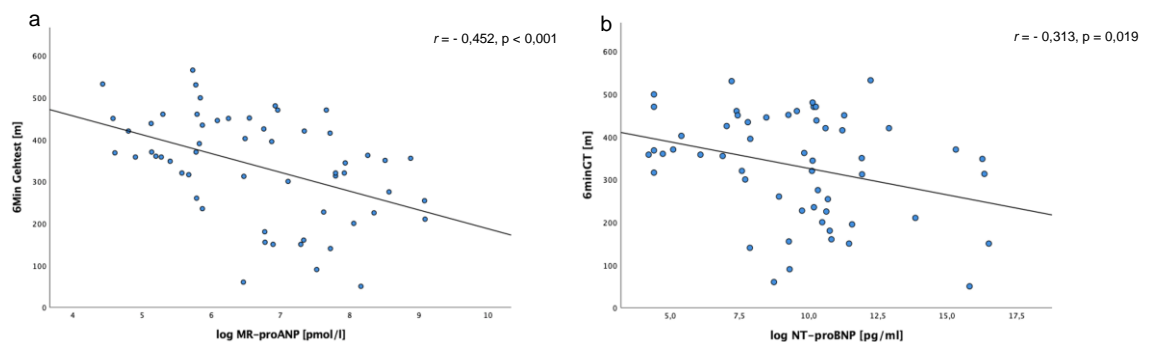
Zusammenfassend weist der Biomarker MR-proANP die meisten Korrelationen mit den hämodynamischen Werten auf, gefolgt von sST2. NT-proCNP, NT-proBNP und sVEGFR-1 zeigen lediglich einen Zusammenhang mit jeweils einem der hämodynamischen Parameter. Für DNP wurde keine Korrelation gemessen.

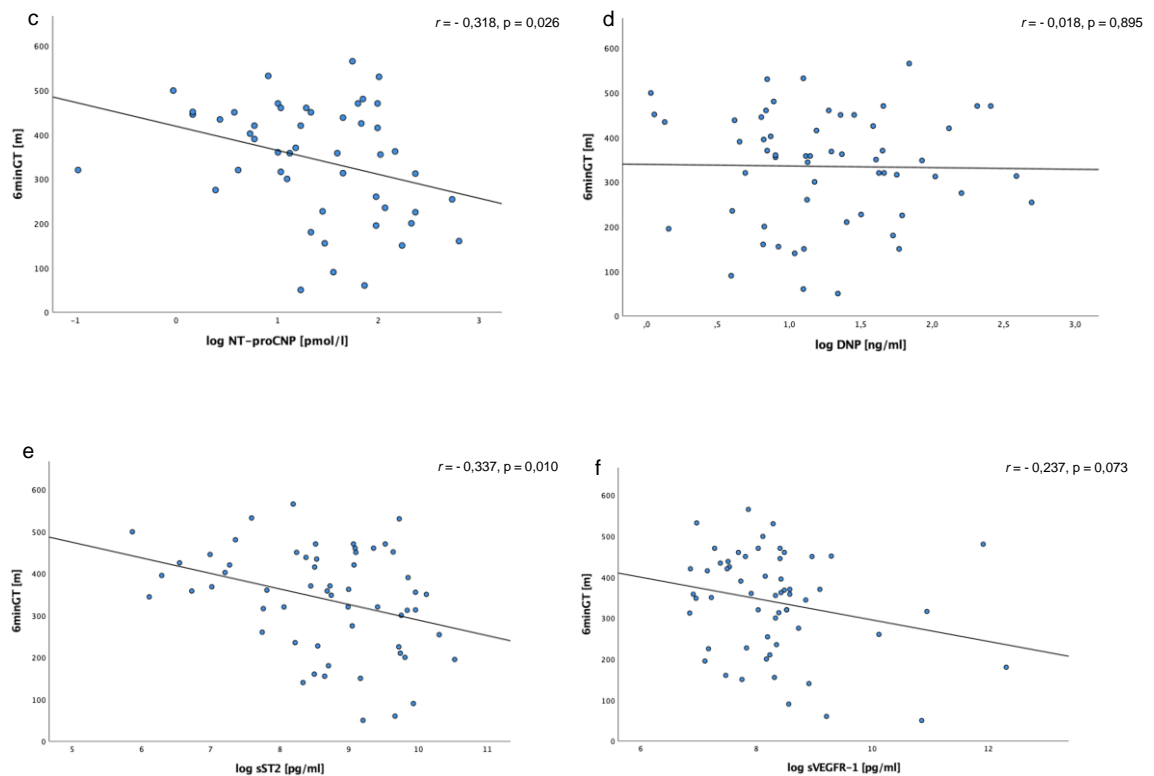
#### 4.6 Zusammenhang der Biomarker mit dem funktionellen Status der Probanden

Um bestimmen zu können, ob mit Hilfe der Biomarker alleine eine Aussage über die Schwere der PH Erkrankung getroffen werden kann, wurde ein Zusammenhang der Biomarker mit dem Belastungstest – 6 Minuten Gehstest und der WHO Funktionsklasse (Kapitel 2.5.4.1 Seite 22 und Tabelle 4 Seite 24 und 25) geprüft.

##### 4.6.1 Zusammenhang mit dem 6-Minuten-Gehtest

Der einfache Test zur Beurteilung der Leistungskapazität wurde bei allen Probanden durchgeführt. Die Gehstrecke war in der PH Gruppe signifikant kürzer als in der Kontrollgruppe ( $326 \pm 126,9$  vs.  $441,0 \pm 68,4$ ,  $p < 0,05$ ; Tabelle 6 Seite 47). Anhand der Pearson-Analyse wurde der Zusammenhang der Biomarker mit diesem Belastungstest untersucht. In Abbildung 11 (Seite 61 und 62) wurden die Befunde veranschaulicht.



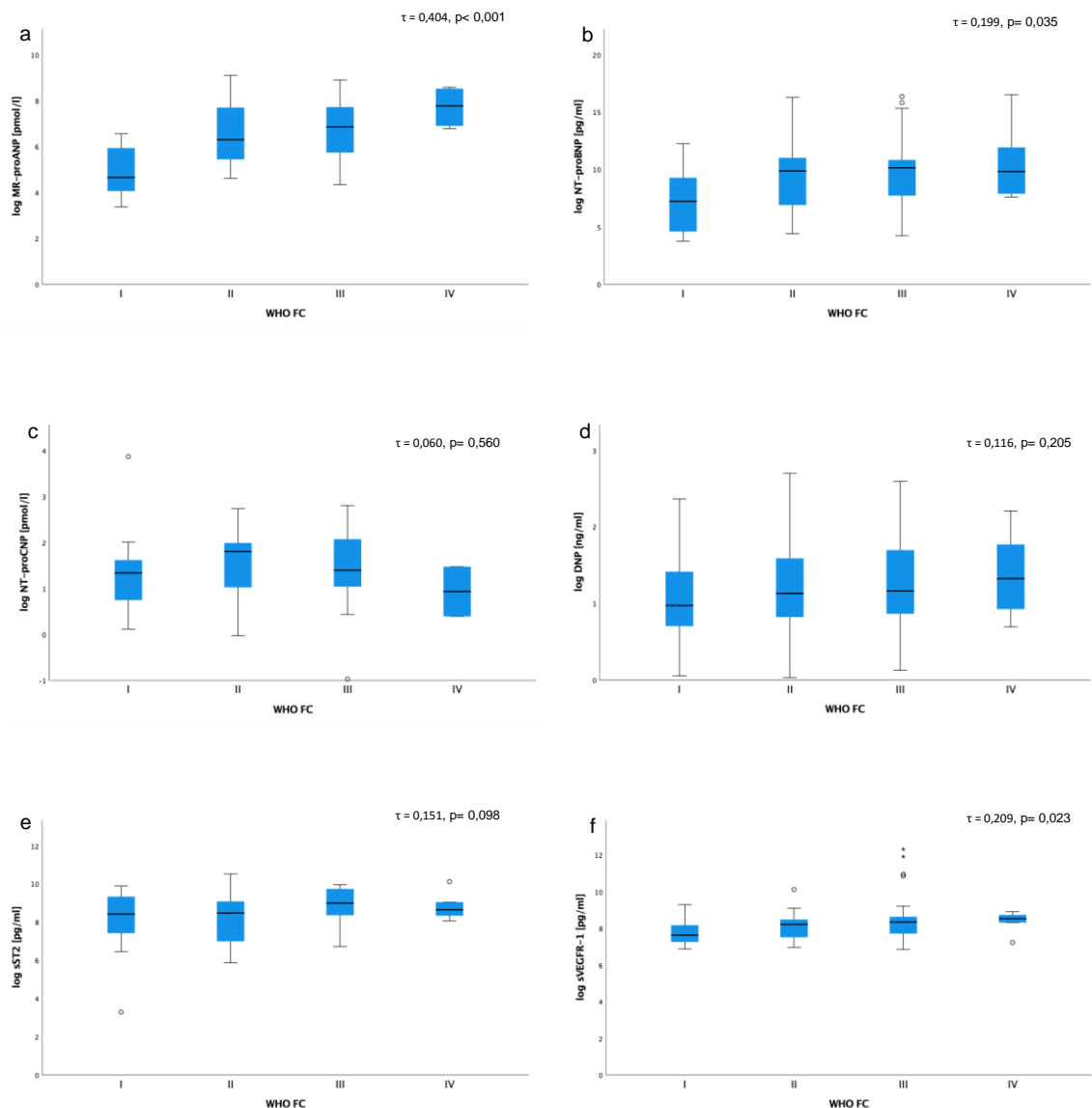


**Abbildung 11: Korrelation zwischen 6-Minuten-Gehtest [m] und Biomarkerspiegel** (logarithmiert); Ermittlung des Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) nach Pearson. a: log MR-proANP [pmol/l], b: log NT-proBNP [pg/ml], c: log NT-proCNP [pmol/l], d: log DNP [ng/ml], e: log sST2 [pg/ml], f: log sVEGFR-1 [pg/ml].  $r$  – Korrelationskoeffizient nach Pearson,  $r < 0,3$ : geringe Korrelation,  $r = 0,3-0,5$ : moderate Korrelation,  $r > 0,5$ : hohe Korrelation.  $p < 0,05$  statistische Signifikanz.

Die abnehmende Gehstrecke korreliert mit den steigenden Spiegeln für MR-proANP ( $r = -0,452$ ,  $p < 0,001$ ), NT-proBNP ( $r = -0,313$ ,  $p = 0,019$ ), NT-proCNP ( $r = -0,318$ ,  $p = 0,026$ ) und sST2 ( $r = -0,337$ ,  $p = 0,010$ ).

#### 4.6.2 Zusammenhang mit der WHO Funktionsklasse

Fast die Hälfte der PH-Patienten wurde in die WHO FC III zugeordnet (47,3%), in der Kontrollgruppe waren knapp über die Hälfte der Patienten in die WHO FC I eingruppiert (55,6%) (Tabelle 4, Seite 24 und 25) Inwiefern die Biomarkerspiegel mit der WHO-Funktionsklasse in Zusammenhang stehen, wurde mit Rangkorrelationskoeffizienten Kendalls ( $\tau$ ) quantifiziert. Die Resultate sind in Abbildung 12 (Seite 63) dargestellt.



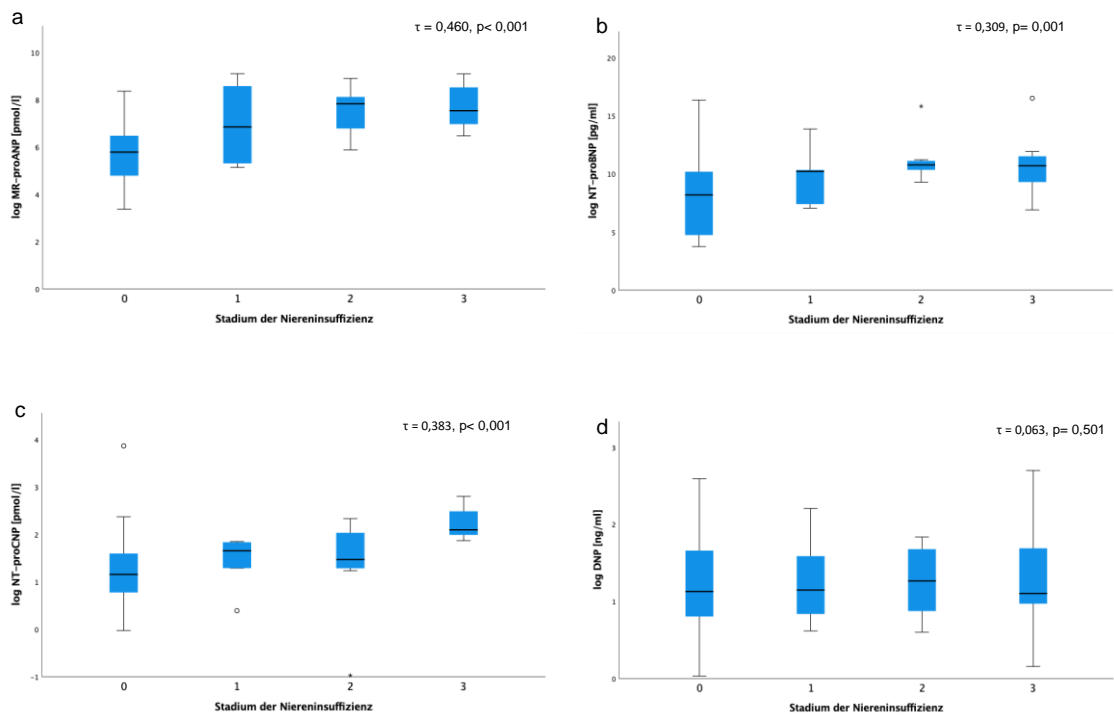
**Abbildung 12: Konzentration der Biomarker in Korrelation nach Kendalls ( $\tau$ ) mit der WHO Funktionsklassen als Box- Diagramm.** WHO Funktionsklassen I-IV, die jeweils gemessenen Konzentrationen (logarithmiert) der Biomarker. a: log MR-proANP [pmol/l], b: log NT-proBNP [pg/ml], c: log NT-proCNP [pmol/l], d: log DNP [ng/ml], e: log sST2 [pg/ml], f: log sVEGFR-1 [pg/ml].  $p < 0,05$  statistische Signifikanz

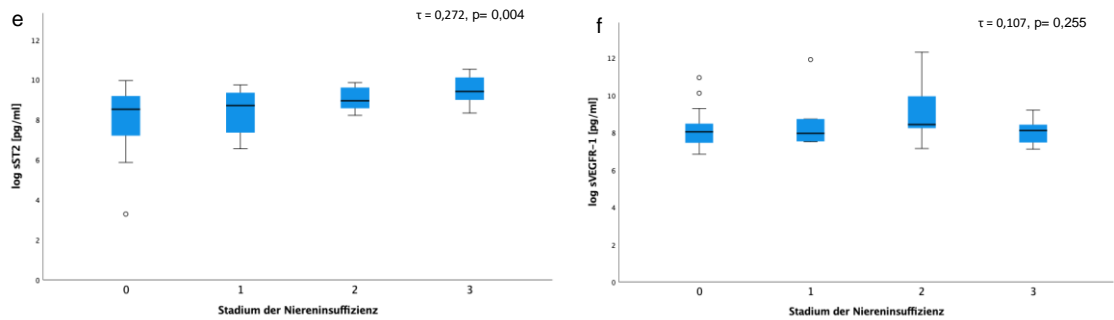
Ein Zusammenhang zwischen Biomarkerspiegel und WHO FC wurde für MR-proANP ( $\tau = 0,404$ ,  $p < 0,001$ ), NT-proBNP ( $\tau = 0,199$ ,  $p = 0,035$ ) und sVEGFR-1 ( $\tau = 0,209$ ,  $p < 0,023$ ). Die Spiegel dieser Biomarker sind höher und stehen in Abhängigkeit von der höheren Klasse der Funktionseinschränkung.



## 4.7 Abhängigkeit von der Nierenfunktion

Es wurde getestet, ob sich das Stadium der Nierenfunktionseinschränkung auf die Konzentrationen der Biomarker auswirkt. In der PH-Gruppe litten 20.4% der Patienten an einer moderaten chronischen Niereninsuffizienz (Stadium 3 nach K/DOQI, Kapitel 3.7, Seite 43), in der Kontrollgruppe war eine höhergradig eingeschränkte Nierenfunktion nicht vorhanden; 5,6 % dieser Probanden hatten eine leichte Niereninsuffizienz (Stadium 1 nach K/DOQI, Kapitel 3.7, Seite 43). Die Abhängigkeit der Biomarkerspiegel von der Nierenfunktion wurde mithilfe Rangkorrelationskoeffizient Kendalls ( $\tau$ ) berechnet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 13 (Seite 64 und 65) dargestellt.





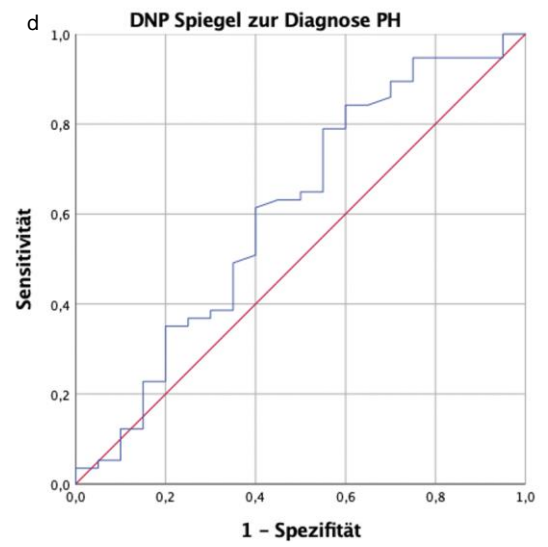
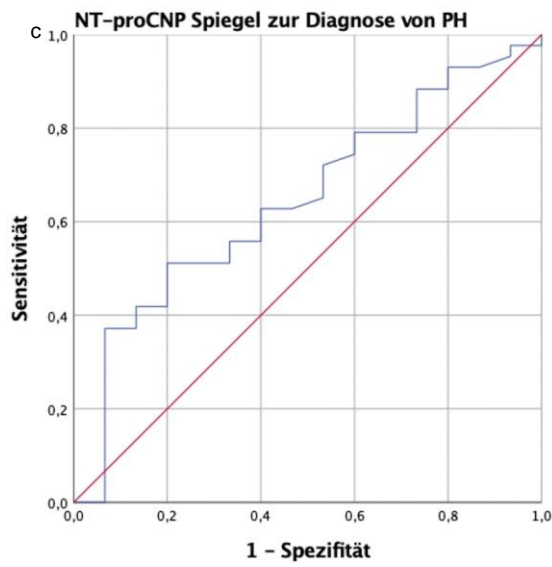
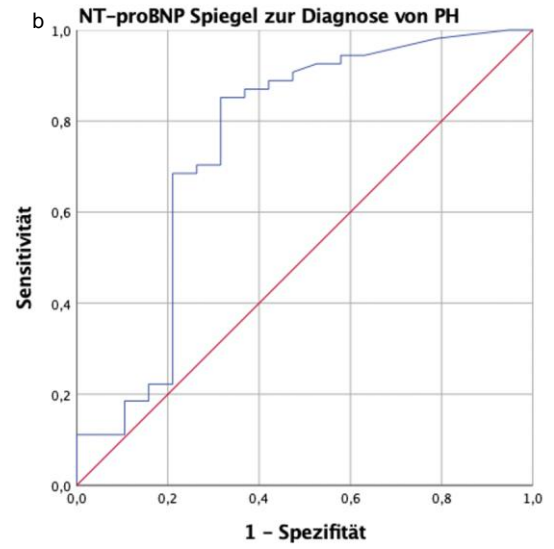
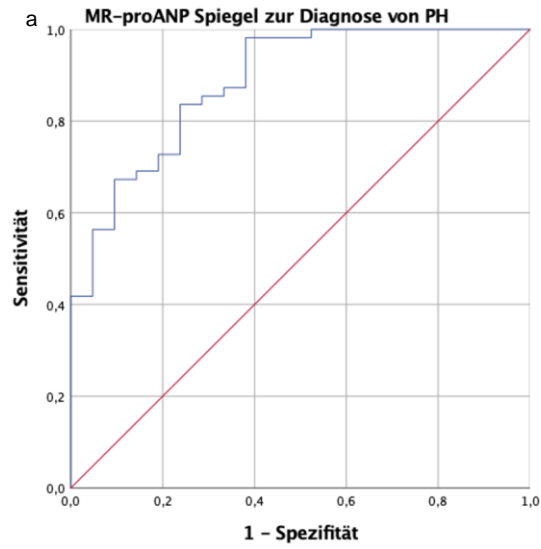
**Abbildung 13: Konzentration der Biomarker in Korrelation nach Kendalls ( $\tau$ ) mit der Nierenfunktion als Box- Diagramm.** Nierenfunktion: 0= keine Einschränkung der Nierenfunktion, 1-3= Stadien der Niereninsuffizienz (K/DOQI Stadium) die jeweils gemessenen Konzentrationen (logarithmiert) der Biomarker. a: log MR-proANP [pmol/l], b: log NT-proBNP [pg/ml], c: log NT-proCNP [pmol/l], d: log DNP [ng/ml], e: log sST2 [pg/ml], f: log sVEGFR-1 [pg/ml].  $p < 0,05$  statistische Signifikanz

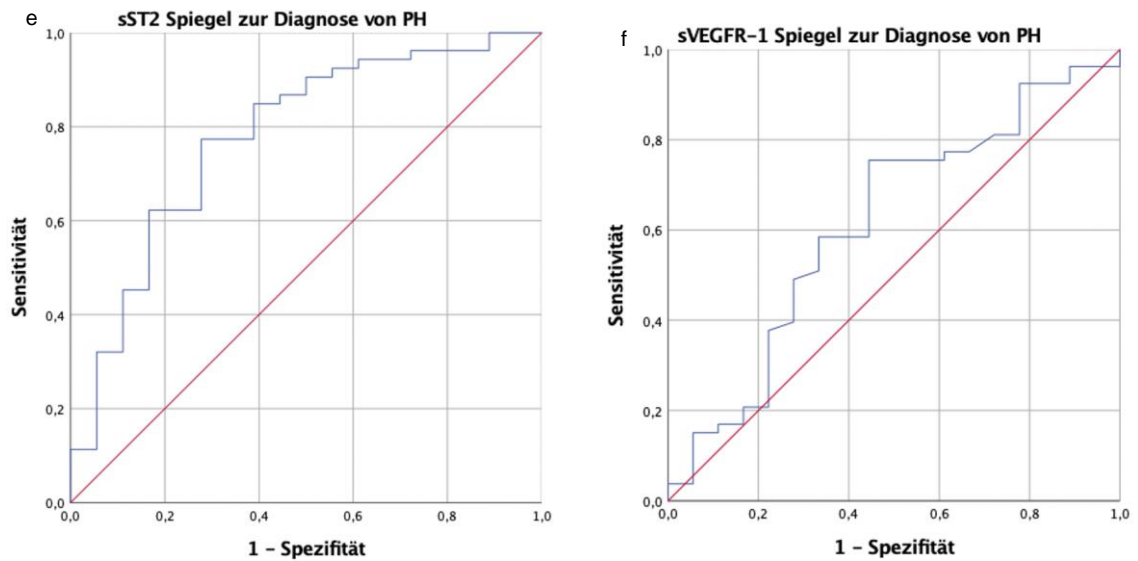
Die Menge des MR-proANP nahm mit steigendem Verlust an Nierenfunktion zu ( $\tau = 0,460, p < 0,001$ ). Die NT-proBNP Konzentration war ebenfalls mit der Einschränkung der Nierenfunktion steigend und auch hier zeigte sich der Zusammenhang als statistisch signifikant ( $\tau = 0,309, p = 0,001$ ). Die gleichen Zusammenhänge konnten noch für NT-proCNP ( $\tau = 0,383, p < 0,001$ ) und sST2 ( $\tau = 0,272, p = 0,004$ ) gemessen werden. Im Gegensatz dazu wiesen die DNP- und sVEGFR-1-Werte keinerlei Abhängigkeit von der Nierenfunktion auf.

#### 4.8 Besitzen die Biomarker eine diagnostische Bedeutung bei der PH?

Die Qualität eines diagnostischen Tests liegt vor allem in seinem Vermögen, richtige positive Klassifizierungen zu treffen, wobei möglichst wenige falsch positive Ereignisse angezeigt werden sollen. Um dies für die Konzentration der Biomarker zu bestimmen, wurde die Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) der Receiver Operator Charakteristik (ROC) bestimmt. Dazu wurden die Wertepaare von Spezifität und Sensitivität für alle möglichen cut-off-Punkte innerhalb der Messung für jeden Biomarker getrennt aufgetragen. Im Weiteren wurde der beste cut-off Punkt mit möglichst hoher Sensitivität und Spezifität bestimmt. Die Messwerte, die gleich oder höher als der beste Schwellenwert sind, haben eine positive Aussage zur Diagnose von PH. Die Ergebnisse

der Messung sind in der Abbildung 14 (Seite 66 und 67) und Tabelle 8 (Seite 67) dargestellt.





**Abbildung 14: Receiver Operator Charakteristik (ROC) für die Biomarker:** a: MR-proANP, b: NT-proBNP, c: NT-proCNP, d: DNP, e: sST2, f: sVEGFR-1. Abszisse: Spezifität, Ordinate: Sensitivität.

**Tabelle 8: Diagnostische Leistungsfähigkeit der Biomarker für PH**

	AUC	Cut-off	Sensitivität	Spezifität	p
MRproANP[pmol/l]	0,885	28,94	0,98	0,62	p<0,0001
NTproBNP [pg/ml]	0,751	140,14	0,85	0,68	p=0,001
NTproCNP [pmol/l]	0,646	2,41	0,63	0,60	p=0,095
DNP[ng/ml]	0,606	2,10	0,63	0,55	p=0,162
sST2 [pg/ml]	0,778	203,88	0,87	0,56	p<0,0001
sVEGFR-1 [pg/ml]	0,613	204,1	0,75	0,56	p=0,153

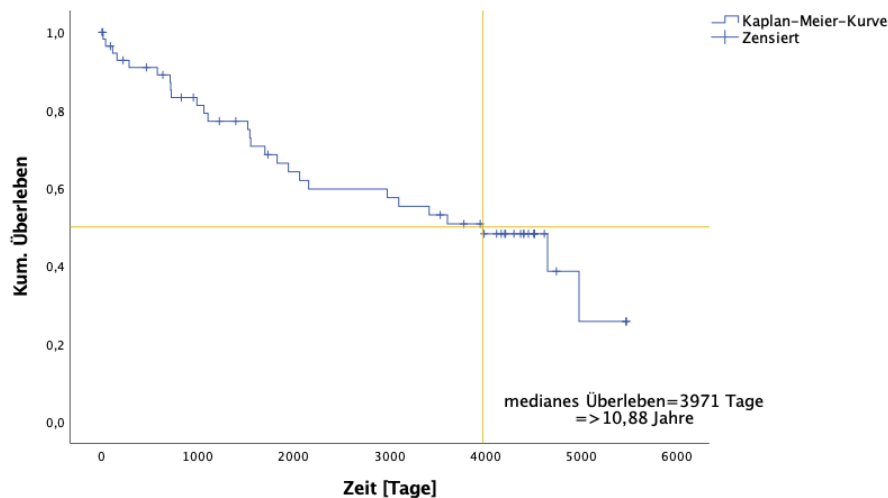
AUC: area under the curve, p<0,05 statistische Signifikanz.

Die ROC für MR-proANP (AUC 0,885), NT-proBNP (AUC 0,751) und sST2 (AUC 0,778) zeigt einen Kurvenverlauf, der weit von der Diagonalen entfernt liegt, dies besagt damit eine gute diagnostische Aussagekraft. Diese drei Biomarker weisen eine hohe Sensitivität auf: MR-proANP 98%, NT-proBNP 85%, sST2 87% jedoch eine geringe Spezifität: MR-proANP 62%, NT-proBNP 68%, sST2 56%. Demnach bedeutet, dass MR-proANP, NT-proBNP und sST2 gute diagnostische Tests für die Erkennung der Diagnose von PH sind, jedoch wegen geringer Spezifität nicht zwischen PH und Nicht-PH-Kranken

unterscheiden. Für NT-proCNP (AUC 0,646), DNP (AUC 0,606) und sVEGFR-1(AUC 0,613) ergab sich keine diagnostische Güte für PH.

#### 4.9 Tragen die Biomarker eine Aussage zum Überleben bei der PH hinzu bei?

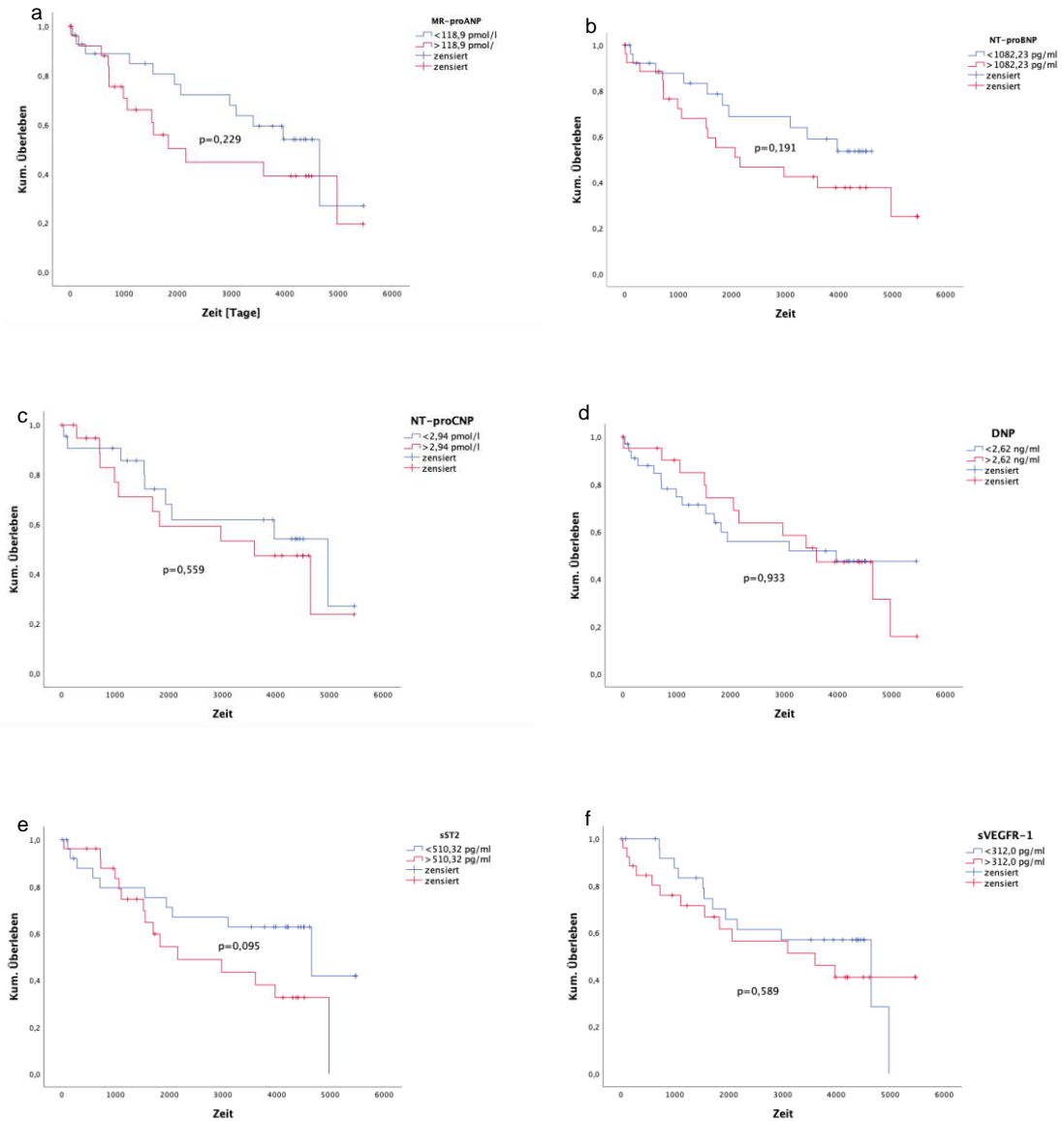
Im Weiteren wurde geprüft, ob die Biomarker eine Aussage bezüglich des Überlebens unterstützen können. In die Auswertung wurden lediglich die Probanden der PH-Gruppe (n=58) hinzugezogen. In einem Beobachtungszeitraum von 2007 bis Mai 2021 sind 27 Patienten verstorben. 17 Patienten haben die Studie vorzeitig verlassen, die Gründe hierfür waren unabhängig von der Studie, zum Beispiel weite Entfernung zu unserem Zentrum. Es handelt sich somit um sogenannte nicht-informative Zensierung. Die Überlebensfunktion, Zeit vom Studieneinschluss bis zum Tode, wurde als Kaplan-Meier-Kurve separat für alle 6 Biomarker graphisch in der Abbildung 16 (Seite 69) dargestellt. Zunächst wurde das mediane Gesamtüberleben für die PH-Gruppe berechnet und in der Abbildung 15 (Seite 68) abgebildet.



**Abbildung 15: Bestimmung des medianen Überlebens aus einer Kaplan-Meier-Kurve**

Aus der Kaplan-Meier Kurve kann abgelesen werden, dass das mediane Überleben der PH-Patienten in dieser Studie 3971 Tage beträgt, entsprechend 10,88 Jahre. Das bedeutet, dass nach 10,88 Jahren noch 50% der Patienten am Leben waren. Das 95% Konfidenzintervall für den Median ergibt folgende Werte: [2632,785; 5309,215]. Die

durchschnittliche Überlebenszeit in der PH-Gruppe mit 95% Sicherheit im Bereich 2632,785 Tage bzw. 7,21 Jahre bis 5309,215 Tage bzw. 14,54 Jahre liegt.



**Abbildung 16: Bestimmung des kumulativen Überlebens aus einer Kaplan-Meier Kurve für die jeweiligen Biomarkerkonzentration über den Medianwert (rot) und unter dem Medianwert (blau).** a: MR-proANP [pmol/l], b: NT-proBNP [pg/ml], c: NT-proCNP [pmol/l], d: DNP [ng/ml], e: sST2 [pg/ml], f: sVEGFR-1 [pg/ml].  $p < 0,05$  statistische Signifikanz

In Abbildung 16 (Seite 69) und Tabelle 9 (Seite 70) wurden Ergebnisse zum Überleben in Bezug auf die jeweiligen Biomarkerkonzentrationen. Es konnte gezeigt werden, dass das Überleben in der Gruppen mit Werten unter dem Median der jeweiligen Biomarkerkonzentration länger ist, als in der Gruppe mit Biomarkerkonzentration über den Medianwert. Eine statistische Signifikanz zwischen den Konzentrationsgruppen ergibt sich für keinen der Biomarker (keine Signifikanz in Log-Rank Test).

**Tabelle 9: Mediane für Überlebenszeit und Gesamtvergleiche.**

Biomarker – Mediangruppen		Schätzer fürs mediane Gesamtü- berleben [Tage]	95%-Konfidenzintervall		Gesamtvergleiche (Log Rank)		
			Untergrenze	Obergrenze	Chi- Quadra- t	Freiheits- grade	Sig.
MR- proANP	0,00	4648,00	3168,13	6127,87	1,450	1	p=0,229
	1,00	2156,00	981,58	3330,42			
NT- proBNP	0,00	.	.	.	1,706	1	p=0,191
	1,00	2156,00	156,41	4155,59			
NT- proCNP	0,00	4976,00	1671,91	8280,09	0,342	1	p=0,559
	1,00	3603,00	1717,33	5488,67			
DNP	0,00	3971,00	.	.	0,007	1	p=0,933
	1,00	3603,00	2191,59	5014,41			
sST2	0,00	4648,00	1984,95	7311,05	2,787	1	p=0,095
	1,00	2156,00	455,45	3856,55			
sVEGFR-1	0,00	4648,00	2254,89	7041,11	0,293	1	p=0,589
	1,00	3603,00	960,46	6245,54			

0,00 – Werte unter den Median des jeweiligen Biomarkers, 1,00 – Werte über den Median des jeweiligen Biomarkers. Für NT-proBNP und DNP in der Gruppe mit Werten unter den Median ist kein 95%-Konfidenzintervall wegen zu starker Streuung der Werte berechnet. Sig. – Signifikanz  $p < 0,05$ . Gruppenvergleich nach Log Rank Test.

## 5 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wertigkeit zirkulierender Biomarker bei der Diagnosestellung und Prognoseabschätzung bei Patienten mit präkapillärer pulmonaler Hypertonie zu untersuchen. Es wurden 58 Patienten mit pulmonaler Hypertonie der Klasse 1, 3 und 4 und 21 Probanden einer Kontrollgruppe eingeschlossen. Neben dem bereits etablierten Biomarker der pulmonalen Hypertonie NT-proBNP wurden MR-proANP und sST2 sowie die bisher kaum untersuchten Biomarker NT-proCNP, DNP und sVEGFR-1 für diese Studie gewählt. Zudem wurde die Verwendbarkeit des Oxyhems – als Surrogat für den Sauerstoffgehalt des Blutes - in Zusammenhang mit den Biomarkern untersucht.

Anhand der Untersuchungsergebnisse konnte folgendes festgestellt werden: Zum einen könnten MR-proANP sowie sST2 neben dem bereits in der Diagnostik und Risikostratifizierung etablierten Biomarker NT-proBNP einen ähnlichen potentiellen Nutzen aufweisen, um die pulmonale Hypertonie zu diagnostizieren und um die Schwere der Erkrankung zu kontrollieren. Zum anderen scheinen NT-proCNP, DNP und sVEGFR-1 bei der pulmonalen Hypertonie keine wesentliche Rolle zu spielen. Nebenbefundlich zeigte sich, dass für Oxyhem kein relevanter Zusammenhang mit den untersuchten Biomarkern angenommen werden kann.

Die pulmonale Hypertonie (PH) in all ihren Ausprägungen ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, die die Patienten erheblich einschränkt. Daher wird an einer rechtzeitigen Diagnosestellung der PH gearbeitet, um die lebensverlängernde Therapie so früh wie möglich zu beginnen. Eine sichere Möglichkeit ist die Rechtsherzkatheteruntersuchung, bei der alle für die Diagnosestellung relevanten hämodynamischen Daten direkt erhoben werden können. Allerdings ist diese Untersuchung invasiv, aufwändig und eine Belastung für den Patienten. Darum wird ein leicht durchführbarer nicht invasiver Test benötigt, dessen Werte direkt mit der Hämodynamik des Herzens korrelieren. Vielversprechende Substanzen sind zirkulierenden Biomarker. In der Literatur finden sich Studien zur Rolle zirkulierender Biomarker bei pulmonaler Hypertonie (PH). Hierbei handelt es sich um Substanzen, die mit verschiedenen pathophysiologischen Prozessen in Verbindung stehen, die bei der Entwicklung von PH auftreten. In der vorliegenden Arbeit wurden Biomarker untersucht, die mit der endothelialen Dysfunktion assoziiert sind und die, die rechtsventrikuläre Insuffizienz, Myokardstress und Remodeling abbilden.



Im Folgenden werden die Resultate für alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Biomarker kommentiert und mit den Daten aus der Literatur in Beziehung gesetzt. Anschließend erfolgt eine Diskussion des Oxyhems unter Berücksichtigung unserer und der in der Literatur beschriebenen Ergebnisse.

## **5.1 Natriuretische Peptide**

Die natriuretischen Peptide bilden eine Peptidfamilie mit Hormonfunktion auf das kardiovaskuläre System und haben eine ähnliche Struktur. Deren Wirkung umfasst eine Steigerung der Diurese und Natriurese sowie eine Gefäßdilatation. Darüber hinaus wird eine hemmende Wirkung auf Umbau und Entzündungsprozesse des Myokards und der glatten Muskelzellen beschrieben. Die Hauptsyntheseorte für ANP und DNP sind Herzvorhöfe, für BNP Herzventrikel und für CNP neben Nervensystem, der vorderen Hypophyse, den Nieren, die Endothelzellen.

### **5.1.1 MR-proANP**

In der vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass die Konzentration von MR-proANP signifikant höher in der gesamten Patientengruppe mit präkapillärer pulmonaler Hypertonie im Vergleich zur Kontrollgruppe war. Zudem wiesen auch Teilnehmer aus den einzelnen Klassen der pulmonalen Hypertonie signifikant höhere Konzentrationen auf als die in der Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Bestimmung von MR-proANP dazu dienen könnte, Patienten mit und ohne pulmonale Hypertonie erfolgreich zu unterscheiden, ähnlich wie es bei NT-proBNP der Fall ist.

Es zeigte sich eine positive Korrelation des MR-proANP mit hämodynamischen Parametern wie PAPm, PVR, RAP, TPG sowie eine negative Korrelation mit CI und gemischtvenöser Sauerstoffsättigung. Diese Messungen könnten darauf hinweisen, dass MR-proANP die hämodynamischen Veränderungen im Lungenkreislauf bei PH-Kranken abbildet, wie erhöhte Nachlast (PVR, PAPm), erhöhten rechtsventrikulären Füllungsdruck (RAP), erhöhte Belastung des rechten Ventrikels (TPG) und rechtsventrikuläre Dysfunktion (CI, gemischtvenöse Sauerstoffsättigung).

In unserer Studie wurde ein Zusammenhang zwischen der WHO-Funktionsklasse und dem 6-Minuten-Gehtest festgestellt. Hieraus lässt sich ableiten, dass MR-proANP als ein möglicher Indikator für den Schweregrad der Erkrankung betrachtet werden könnte.

In unseren Messungen wurde festgestellt, dass die Beeinträchtigung der Nierenfunktion den MR-proANP-Spiegel beeinflusst. Mit abnehmender Nierenfunktion stieg der MR-proANP-Spiegel an. Dies lässt darauf schließen, dass bei der Interpretation des MR-proANP-Spiegels die Einschränkung der Nierenfunktion berücksichtigt werden sollte.

Für den untersuchten Biomarker konnten wir eine sehr hohe Sensitivität von 98% feststellen, jedoch war die Spezifität gering. Es lässt sich annehmen, dass eine hohe Empfindlichkeit für die Diagnose vorliegt, jedoch eine deutliche Abgrenzung zu anderen pathologischen Zuständen, die eine Erhöhung des MR-proANP aufweisen, nicht möglich ist. Dies ähnelt der Situation bei NT-proBNP, dem bereits etablierten Biomarker bei der pulmonalen Hypertonie (PH).

Den prognostischen Wert des MR-proANP konnten wir in unseren Berechnungen nicht nachweisen.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass MR-proANP möglicherweise eine unterstützende Rolle bei der Diagnose sowie dem Verlaufsmonitoring präkapillärer pulmonaler Hypertonie spielen könnte.

Eine umfangreiche Literaturrecherche aus dem Jahr 2018 von Idzikowska und Zielinska zu MR-proANP zeigt eine breite Bedeutung dieser Biomarker bei kardialen Erkrankungen wie Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, arterielle Hypertonie und bei nicht kardialen Erkrankungen ischämischer Schlaganfall, Diabetes mellitus Typ 2, chronische Niereninsuffizienz und Adipositas (Idzikowska & Zielinska 2018). Zur Rolle bei der pulmonalen Hypertonie ist die Datenlage spärlich. 2015 veröffentlichten Kollegen aus unserer Arbeitsgruppe, dass ein Zusammenhang zwischen MR-proANP und hämodynamischen Parametern bei Patienten mit präkapillärer pulmonaler Hypertonie vorliegt (Kaiser et al., 2015). Im Weiteren wurde eine Studie publiziert, die belegt hat, dass MR-proANP ein Surrogat für den Schweregrad der CTEPH sein könnte und dass nach einer Therapie (BPA-pulmonaler Ballonangioplastie) der MR-proANP Spiegel rückläufig war und er korrelierte mit der Besserung der hämodynamischen Parameter (Kriechbaum et al., 2020).

### 5.1.2 NT-proBNP

NT-proBNP ist ein etablierter Biomarker in der Diagnostik und Krankheitsmonitoring der PH.

Bei unseren Patienten mit präkapillärer PH waren die NT-proBNP-Konzentrationen signifikant höher als bei der Kontrollgruppe. Jede einzelne PH-Klasse (1, 3 und 4) zeigte signifikant höhere Werte im Vergleich mit der Kontrollgruppe. So ist anzunehmen, dass in der heterogenen Gruppe der (chronischen) präkapillären PH mit unterschiedlichen Pathomechanismen die Erhöhung des NT-proBNP Ausdruck einer Rechtsherzbelastung bzw. Rechtsherzinsuffizienz bei pulmonaler Hypertonie und Folge eines anhaltenden erhöhten pulmonalen Drucks ist. Diese Ergebnisse stimmen mit denen in der Literatur weitgehend überein. 1998 hat Nagaya et al. einen Anstieg des BNP-Spiegel mit dem Ausmaß der RV-Funktionsstörung bei Patienten mit PH gemessen (Nagaya et al., 1998). 2000 hat Nagaya gezeigt, dass Patienten mit chronischer präkapillärer pulmonalen Hypertonie (IPAH, APAH, PVOD, CTEPH) höher Konzentrationen des NT-proBNP als die Kontrollgruppe ohne PH aufweisen, zudem hat er beweisen können, dass dieser Biomarker zur Bestimmung des Schweregrades der PH anwendbar ist (Nagaya et al., 2000).

In der vorliegenden Studie konnte lediglich eine positive Korrelation des NT-proBNP mit einem der hämodynamischen Parameter, dem RAP, ermittelt werden.

Des Weiteren konnten wir zeigen, dass es einen Zusammenhang zwischen steigenden NT-proBNP Werten und einer schlechteren WHO FC gibt. Auch die abnehmende Leistungsfähigkeit (gemessen anhand des 6-Minuten-Gehtests) korrelierte mit den steigenden NT-proBNP Konzentrationen.

Diese Ergebnisse decken sich weitgehend mit denen aus der Literatur, in der die Korrelation des NT-proBNP mit den hämodynamischen Parametern, dem 6-Minuten-Gehtest und mit der WHO FC bei pulmonaler Hypertonie beschrieben wurde (Nagaya et al., 2000, Warwick et al., 2008, McCrory et al., 2013).

In Übereinstimmung mit bereits vorliegenden Literaturbefunden (wie in der Arbeit von Schaub et al., 2015) steigen bei unseren Patienten die NT-proBNP-Konzentrationen mit fortschreitendem Stadium der Niereninsuffizienz an. Der NT-proBNP ist nicht als absoluter Wert ohne klinischen Hintergrund hinzunehmen, vielmehr ist ein intraindividueller Verlauf der Werte unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren, einschließlich der Nierenfunktion, zu beachten (Rieth et al., 2013).

Für NT-proBNP konnten wir, wie auch in der Literatur beschrieben, eine hohe Sensitivität und geringe Spezifität feststellen (Sensitivität 85%, Spezifität 68%, AUC 0,751). Die alleinige Verwendung dieses Markers ermöglicht keine klare Unterscheidung zwischen präkapillärer pulmonaler Hypertonie und anderen (linksventrikulären) Herzerkrankungen, die ebenfalls zu einer Erhöhung des NT-proBNP-Spiegels führen können. Dies ähnelt den Ergebnissen der Studien von Wang et al. (Sensitivität 88,9%, Spezifität 77,8%, AUC 0,869) und Malhotra et al. (AUC 0,714) (Wang et al., 2015; Malhotra et al., 2013, Smits et al., 2022).

Wir konnten feststellen, dass Probanden mit Spiegelwerten unterhalb des Medians tendenziell ein längeres Überleben aufwiesen. Allerdings konnten wir keine statistische Signifikanz zwischen den Konzentrationsgruppen nachweisen. Im Gegensatz dazu zeigten Hendriks et al., dass erhöhte NT-proBNP-Werte mit einem höheren Risiko für Mortalität oder der Indikation zur Lungentransplantation bei Patienten mit PAH verbunden sind (Hendriks et al., 2022). Die Unterschiede in der Aussage zur Prognose im Vergleich zu unseren Ergebnissen könnten möglicherweise darauf zurückzuführen sein, dass wir einen Medianwert anstelle eines Grenzwerts für pathologische Werte gewählt haben.

Wir haben uns für die Verwendung des Medianwerts entschieden, da die Grenzwerte für NT-proBNP von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden, wie Alter, Geschlecht, Übergewicht, Komorbiditäten und nicht zuletzt die Nierenfunktion (Hendriks et al., 2022). Obwohl in der Literatur ein Vorschlag für einen altersabhängigen Grenzbereich bekannt ist (Mueller et al., 2019), existiert keine allgemeine Korrekturformel für die Anpassung der Werte in Bezug auf die anderen Einflussfaktoren.

Um eine einheitliche Vorgehensweise zu gewährleisten, haben wir für die Prognose bei allen anderen untersuchten Biomarkern den Medianwert gewählt.

### **5.1.3 NT-proCNP**

In der vorliegenden Arbeit zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den NT-proCNP-Spiegeln bei Patienten mit präkapillärer pulmonaler Hypertonie (pPH) im Vergleich zu Probanden der Kontrollgruppe. Auch der Vergleich der NT-proCNP-Spiegel der einzelnen Klassen (1, 3 und 4) der pPH mit der Kontrollgruppe ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Wir konnten lediglich eine positive Korrelation zwischen den NT-proCNP-Spiegeln und dem rechtsatrialen Druck (RAP) feststellen, ohne einen Zusammenhang mit anderen hämodynamischen Parametern.

Zudem konnten wir eine negative Korrelation zwischen den NT-proCNP-Spiegeln und der Leistungsfähigkeit, gemessen anhand des 6-Minuten-Gehtests, feststellen.

In unseren Messungen stiegen die NT-proCNP-Spiegel signifikant mit fortschreitender Verschlechterung der Nierenfunktion an

Wir konnten in der vorliegenden Studie weder einen diagnostischen noch einen prognostischen Wert für NT-proCNP nachweisen.

In Zusammenschau unserer Ergebnisse zu NT-proCNP lässt sich ableiten, dass dieser Biomarker möglicherweise keine wesentliche Bedeutung bei der pulmonalen Hypertonie spielt.

In Bezug auf die Rolle von NT-proCNP bei pulmonaler Hypertonie sind die verfügbaren Daten begrenzt. Casserly et al. postulieren, dass CNP möglicherweise keine bedeutende Rolle bei Menschen mit pulmonaler Hypertonie spielt (Casserly et al., 2011). Im Gegensatz dazu zeigten Avdeev et al., dass erhöhte Spiegel von NT-proCNP und NT-proBNP bei Patienten mit COPD (chronisch obstruktive Lungenerkrankung) und pulmonaler Hypertonie auf eine erhöhte Krankenhaussterblichkeit hinweisen könnten (Avdeev et al., 2018). Kaiser et al. konnten keine signifikante Korrelation zwischen NT-proCNP und hämodynamischen Parametern feststellen (Kaiser et al., 2015).

#### **5.1.4 DNP**

In der vorliegenden Arbeit konnte in allen Messreihen kein signifikanter Stellenwert des DNP bei pulmonaler Hypertonie festgestellt werden. Dies lässt darauf schließen, dass DNP kein Potenzial als Biomarker in der Diagnostik und Überwachung der pulmonalen Hypertonie aufweist.

In den wenigen Studien, die zu DNP existieren, wurde gezeigt, dass die DNP-Spiegel bei Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz erhöht sind (Lisy et al., 2001). Darüber hinaus soll synthetisches DNP die diastolische Funktion verbessern und die systolische Leistungsfähigkeit steigern (Lainchbury et al., 2002). Bei pulmonaler Hypertonie wurde DNP bisher nicht ausreichend untersucht.

## 5.2 sST2

ST2 gehört zur Interleukin-1-Rezeptorfamilie. Es sind 2 Hauptformen bekannt: eine transmembrane-oder zelluläre ST2L und eine lösliche oder zirkulierende sST2. Als Ligand für den Rezeptor wurde Interleukin 33 (IL-33) identifiziert. sST2 ist ein decoy-Rezeptor für IL-33 und hemmt damit die Signalwege der IL-33/ST2L Bindung (Kakkar et al., 2008). Die Bindung IL-33/ST2L wirkt kardioprotektiv indem es die Myokardfibrose reduziert, die Kardiomyozythenhypertrophie verhindert, die Apoptose reduziert und die Myokardfunktion verbessert, bindet sST2 an IL-33 wird die kardioprotektive Wirkung beseitigt. (Pascual-Figal & Januzzi 2015).

In der vorgelegten Arbeit konnte demonstriert werden, dass die sST2 Konzentration bei den Patienten mit präkapillärer PH (pPH) hochsignifikant höher als bei der Kontrollgruppe war. In der Analyse der verschiedenen 3 pPH Klassen mit der Kontrolle, zeigte sich lediglich für die PAH (Klasse 1) ein statistisch signifikanter Unterschied zu Kontrollgruppe, Patienten mit LE (Klasse 3) und CTEPH (Klasse 4) zeigten zwar höhere sST2-Konzentrationswerte, jedoch konnte hier keine statistische Signifikanz belegt werden. Mirna et al. untersuchten Patienten mit PH aller 5 Klassen und jede PH-Klasse zeigte einen höheren sST2 Spiegel als die Kontrollgruppe (Mirna et al., 2020). Sun et al hat eine ähnliche Probandengruppe untersucht und zwar präkapilläre PH mit Vertreter aus der Klasse 1- IPAH (N=106), Klasse 3 COPD-PH (N=64) und Klasse 4 CTEPH (N=14), über die Hälfte der Probanden wurde in WHO FC III und IV eingruppiert. Hier wurde gezeigt, dass sowohl die gesamte PH Gruppe höhere Werte als die Kontrolle aufweist, aber auch jede der PH-Klassen im Vergleich zu Kontrollgruppe höhere Werte zeigen (Sun et al., 2021). Somit ist davon auszugehen, dass sST2 bei PH Patienten und damit bei rechtsventrikulärer Funktionsstörung erhöht ist. Wie oben erwähnt, zeigte die vorliegende Arbeit lediglich den statistisch relevanten Unterschied zwischen 1 PH-Klasse (PAH) und Kontrollgruppe. Dies könnte mit der geringen Probandenzahl der 3 und 4 PH-Klasse erklärt werden. Womöglich spielt aber auch eine Pathogenese der PH-Klassen eine Rolle, denn Shao et al. konnten zeigen, dass bei Patienten mit IPAH deutlich höhere Werte für sST2 nachgewiesen wurden, da die Expression von IL-33 (Ligand für transmembrane ST2, die Verbindung weist eine kardioprotektive Wirkung auf) in den Endothelzellen von Patienten mit PAH deutlich verringert ist (Shao et al., 2014).

Im Weiteren konnte in der vorgelegten Studie eine positive Korrelation sST2 mit hämodynamischen Parametern wie RAP, PAPm und TPG sowie einen negativen Zusammenhang mit gemischtvenöser Sauerstoffsättigung gezeigt werden. Diese Ergebnisse lassen

darauf schließen, dass sST2 eine Rolle in Aussage zur rechtsventrikulären Dysfunktion liefern könnte.

Eine Korrelation zwischen sST2 und PAPm, RAP sowie PVR wurde von Geenen et al. nachgewiesen (Geenen et al., 2019). Sun et al. wiesen eine negative Korrelation mit der gemischtvenösen Sauerstoffsättigung auf (Sun et al., 2021). Zheng hat eine Korrelation mit PVR und CI gezeigt (Zheng et al., 2014).

In unserer Messreihe konnte kein Zusammenhang sST2 mit WHO FC belegt werden, hingegen ein negativer mit dem 6-Minuten-Gehtest sowie ein moderater Zusammenhang der steigenden sST2 Werte mit der Abnahme der Nierenfunktion. Sun et al zeigte eine schwache negative Korrelation mit dem 6-Minuten-Gehtest, sowie eine positive Korrelation mit WHO-FC. Geenen zeigte auch eine schwache positive Korrelation mit WHO FC und eine negative mit dem 6-Minuten-Gehtest (Geenen et al., 2019). Es könnte bedeuten, dass sST2 eine Aussage über die Schwere der Erkrankung bzw. Einschränkung der Leistungsfähigkeit infolge der Erkrankung abbildet. Die Konzentration von sST2 scheint vom Alter und BMI (body mass index) unabhängig zu sein, anders als dies bei NT-proBNP der Fall ist (Wojtczak-Soska et al., 2013). Bayes-Genis et al. beschreiben eine schwache statistisch signifikante Korrelation mit der GFR (glomeruläre Filtrationsrate), postulieren jedoch, dass der prognostische Wert sST2 bei Patienten mit Herzinsuffizienz von der Nierenfunktion nicht beeinflusst wird (Bayes-Genis et al., 2013).

In unserer Versuchsreihe zeigte sST2 eine hohe Sensitivität aber geringe Spezifität. Ähnlich wie hier für MR-proANP und NT-proBNP veranschaulicht werden konnte, zeigt auch sST2 hohe Empfindlichkeit für die PH, jedoch unterscheidet diese nicht von anderen Krankheiten, die mit erhöhtem sST2 einhergehen.

Wir konnten zeigen, dass Patienten mit höheren sST2-Werten als dem Median tendenziell ein kürzeres Gesamtüberleben hatten, jedoch ohne statistische Signifikanz.

Zheng et al. untersuchten Patienten mit PAH, (PH Klasse 1) und konnten einen Zusammenhang der sST2 Konzentration mit klinischer Verschlechterung zeigen. Placido und Kollegen untersuchten wiederum PH Patienten verschiedener Klassen 1, 3, 4 und 5 und fanden einen Zusammenhang zwischen höheren sST2 Spiegel und Einweisung ins Krankenhaus wegen Herzinsuffizienz, die dann in der Nachbeobachtung starben (Placido et al., 2017). Geenen und Kollegen untersuchten ebenso PH Patienten mit verschiedenen PH Klassen 1, 3, 4 und 5 und zeigten, dass erhöhte sST2 Spiegel signifikant mit einem erhöhten Risiko für Gesamtmortalität, Lungentransplantation oder

Herzinsuffizienz waren. Der von uns berechnete Medianwert für sST2 war selbst nach der Anpassung der Messeinheiten deutlich niedriger im Vergleich zu den Werten in den Studien von Geenen (510,32 pg/ml vs. 27900 pg/ml) oder von Zheng (510,32 pg/ml vs. 31400 pg/ml). Möglicherweise ist die von uns angewandte Messmethode, die niedrigere Werte lieferte, der Grund für die Diskrepanz zwischen unseren Ergebnissen und denen aus der Literatur. Es ist anzumerken, dass auch die geringe Anzahl an Patienten in unserer Studie eine Rolle spielen könnte.

In Anbetracht unserer Ergebnisse deutet sich an, dass sST2 ein vielversprechender Marker für die Diagnose und Überwachung des Schweregrads der pulmonalen Hypertonie sein könnte.

### **5.3 sVEGFR-1**

sVEGFR-1, der lösliche Rezeptor eines vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors ist an Angiogenese und entzündlichen Prozessen beteiligt und damit an einer Vielzahl von physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen und nicht zuletzt an der Pathogenese vieler Krankheiten wie z.B. Krebs, Atherosklerose, Arthritis, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nephropathie oder Präeklampsie (Shibuya 2006, Wu et al., 2010). sVEGFR-1 induziert eine endotheliale Dysfunktion (Wu et al., 2010), diese ist eine der Pathomechanismen bei der pulmonal arteriellen Hypertonie (Tuder et al., 2001) und auch bei CTEPH (Banaszkiewicz et al., 2022).

Einige Autoren haben eine diagnostische und prognostische Rolle des sVEGFR-1 sowie seine Bedeutung als ein Marker für Ansprechen auf die Therapie für bei PAH, insbesondere IPAH oder PAH assoziiert mit Kollagenosen, belegt (Scand et al., 2018, Malhotra et al., 2013, Hirsch et al., 2023).

In der vorgelegten Studie fanden sich keine signifikanten Unterschiede sVEGFR-1 Spiegel zwischen der PH und der Kontrollgruppe. Ebenso zeigten sich keine Unterschiede in der Konzentration des Biomarkers zwischen den einzelnen Klassen, insbesondere PAH oder CTEPH im Vergleich zu Kontrollgruppe.

In der Literatur wird allerdings sVEGFR-1 als nichtinvasives Screening für eine Untergruppe der PAH und zwar die assoziiert mit systemischer Sklerodermie plädiert (Tiede et al., 2015).



In unserer Studie wurde lediglich für den Cardiac Index (CI) ein negativer Zusammenhang unter den hämodynamischen Parametern festgestellt.

In der vorliegenden Arbeit korrelierte der sVEGFR-1-Spiegel weder mit dem 6-Minuten-Gehtest noch mit dem Stadium der Niereninsuffizienz, zeigte jedoch eine Korrelation mit den WHO-Funktionsklassen. Diese Korrelation mit den Funktionsklassen wurde auch von Malhotra et al. bestätigt (Malhotra et al., 2013).

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass sVEGFR-1 möglicherweise kein geeigneter Marker für die pulmonale Hypertonie (PH) ist, insbesondere wenn es um die Diagnose und Prognose der Erkrankung geht. Dies steht im Widerspruch zu den Literaturdaten, in denen sVEGFR-1 sogar als Screeningparameter für Patienten mit Sklerodermie zur Identifizierung einer sich entwickelnden pulmonalen arteriellen Hypertonie (Klasse 1) betrachtet wird. Eine mögliche Ursache für diese Diskrepanz könnte darin liegen, dass sowohl die Patienten als auch die Kontrollgruppe von anderen Erkrankungen wie Diabetes mellitus oder arterieller Hypertonie betroffen waren, bei denen sVEGFR-1 ebenfalls eine Rolle spielt und somit die Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf pulmonale Hypertonie nicht eindeutig herausgestellt werden.

#### **5.4 Oxyhem**

Trudzinski et al. haben eine prognostische Aussagekraft von Oxyhem bei Patienten mit COPD aufgezeigt. Patienten mit Oxyhem  $\leq 12,5$ g/dl hatten ein signifikant schlechteres Überleben im Vergleich zu Patienten mit höheren Oxyhem Werten. (Trudzinski et al., 2020). In einer anderen Arbeit wurde ein Vorhersagewert dieses Parameters bei Patienten mit systemischer Sklerose dokumentiert, die auf pulmonale Hypertonie untersucht wurden (Xanthouli et al., 2023).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen den Biomarkern und Oxyhämoglobin untersucht. Wir konnten keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den einzelnen Biomarkern und Oxyhem nachweisen.

Der Mittelwert für Oxyhem lag bei unserer Patientengruppe mit pulmonaler Hypertonie bei 13,13 g/dl und war höher als in der Kontrollgruppe (12,56 g/dl). Diese o.g. Werte überstiegen die Grenzwerte, wie sie in den Arbeiten von Xanthouli (12,5 g/dl) und Trudzinski (12,5 g/dl) genannt wurden. Die fehlende Aussagekraft dieses Parameters in der vorliegenden Arbeit lässt sich darauf zurückführen, dass viele der Patienten mit pulmonaler Hypertonie eine Langzeitsauerstofftherapie erhielten und einige eine

Polyglobulie aufwiesen. Dadurch erreichten unsere PH Patienten höhere Oxyhemwerte, die über den definierten prognostisch relevanten Wert in den genannten Fremdstudien lagen.

## **5.5 Limitationen und Einschränkungen:**

Die vorliegende Arbeit weist einige Limitationen und Einschränkungen auf, die potenziell zu Verzerrungen der Ergebnisse führen könnten.

Ein wesentlicher Aspekt ist die geringere Anzahl von Kontrollprobanden im Vergleich zur PH-Gruppe.

Die Kontrollgruppe war zudem heterogen. Einige Probanden dieser Gruppe erhielten zunächst einen Rechtsherzkatheter aufgrund eines Verdachts auf PH, jedoch wurde die Diagnose letztendlich nicht bestätigt. Dabei handelte es sich um Patienten mit Beschwerden, die auf pulmonale Hypertonie hinwiesen mit einer schlechteren WHO FC und kürzeren Strecken im 6-Minuten-Gehtest. Die übrigen Kontrollprobanden waren junge, gesunde Freiwillige, bei denen jedoch kein Rechtsherzkatheter durchgeführt wurde, da klinisch keine Anzeichen für PH vorlagen.

Die Patienten in der PH Gruppe waren signifikant älter als die in der Kontrolle. In der PH Gruppe war die Untergruppe mit CTEPH mit der geringsten Patientenzahl vertreten.

Eine weitere Limitation war das Vorhandensein von Komorbiditäten, die ebenso zur Erhöhung der Spiegel der Biomarker führen.

Nicht zuletzt stellen die Messanalysen wegen fehlender Standardisierung bezüglich Blutentnahme (zentral vs. peripher), Methode zur Bestimmung des Spiegels, Korrekturformel für den Biomarkerspiegel in Bezug auf Alter, Gewicht, Geschlecht oder Nierenfunktion mit Einschränkungen behaftet.

All diese Faktoren tragen dazu bei, dass die Ergebnisse in der vorliegenden Arbeit mit bestimmten Einschränkungen belastet sind und einige Ergebnisse von denen abweichen können, die in der vorhandenen Literatur beschrieben sind.

## **5.6 Schlussfolgerungen:**

PH ist eine lebensbedrohliche Erkrankung mit unspezifischer Symptomatik und die dadurch verspäteter Diagnosestellung. Die Diagnose wird durch invasive Untersuchung (Rechtsherzkatheter) gesichert. In den letzten Jahren sind viele Biomarker auf Nützlichkeit bei PH untersucht. Es wird nach nichtinvasiven kosten- und zeitgünstigen Parametern gesucht, die die Diagnose, den Therapieverlauf und die Prognose abbilden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die natriuretischen Peptide sowie sST2 und sVEGFR-1 bei der präkapillären PH (pPH) verschiedener Klassen (Klasse 1, 3 und 4) hinsichtlich

Hämodynamik, klinischem Zustand, Nierenfunktion sowie Wertigkeit der Diagnose und Prognose untersucht. Der bereits etablierte Biomarker NT-proBNP aber auch MR-pro-ANP und sST2 zeigen sich als potentielle anwendbare und aussagekräftige Parameter bei der präkapillären pulmonalen Hypertonie. NT-proCNP, DNP und sVEGFR1 scheinen bei der pPH keine Rolle zu spielen.

Die Ergebnisse der hier vorgestellten Studie deuten darauf hin, dass MR-proANP und sST2 neben dem bereits etablierten NT-proBNP als zusätzliche potenzielle Biomarker in der Diagnostik, der Einschätzung des Schweregrads der Erkrankungen sowie im Monitoring des Verlaufs und des Therapieansprechens bei pulmonaler Hypertonie (PH) nützlich sein könnten. Keiner der untersuchten Biomarker erwies sich als idealer und allein ausreichender.

Die Rechtsherzkatheteruntersuchung bleibt ein Goldstandard in der Diagnostik der pulmonalen Hypertonie (PH), und die Bestimmung zusätzlicher Parameter wie WHO-FC oder dem 6-Minuten-Gehtest sind unersetzlich.

Die Einbeziehung der Biomarker MR-proANP und sST2 in Kombination mit dem etablierten NT-proBNP könnte in der Diagnostik und Verlaufskontrolle der pulmonalen Hypertonie (PH) sinnvoll und ergänzend sein.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Aimo A, Januzzi JL Jr, Bayes-Genis A, Vergaro G, Sciarrone P, Passino C, Emdin M (2019) Clinical and Prognostic Significance of sST2 in Heart Failure: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 74(17):2193-2203
2. Ataga KI, Brittain JE, Jones SK, May R, Delaney J, Strayhorn D, Desai P, Redding-Lallinger R, Key NS, Orringer EP (2011) Association of soluble fms-like tyrosine kinase-1 with pulmonary hypertension and haemolysis in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 152(4):485-91
3. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories (2002) ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med.* 1;166 (1):111-7.
4. Augustine DX, Coates-Bradshaw LD, Willis J, Harkness A, Ring L, Grapsa J, Coghlan G, Kaye N, Oxborough D, Robinson S, Sandoval J, Rana BS, Siva A, Nihoyannopoulos P, Howard LS, Fox K, Bhattacharyya S, Sharma V, Steeds RP, Mathew T (2018) Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension: a guideline protocol from the British Society of Echocardiography. *Echo Res Pract.* 5 (3): G11-G24.
5. Avdeev SN, Gaynitdinova VV, Tsareva NA, Merzhoeva ZM (2018) [Natriuretic peptides as markers of development and prognosis of pulmonary hypertension severity in patients with chronic obstructive disease.]. *Klin Lab Diagn.* 63(6):333-337. Russian
6. Banaszkiwicz M, Pietrasik A, Darocha S, Piłka M, Florczyk M, Dobosiewicz A, Kurzyna M (2020). Soluble ST2 protein as a new biomarker in patients with pre-capillary pulmonary hypertension. *Archives of Medical Science*
7. Banaszkiwicz M, Gąsecka A, Darocha S, Florczyk M, Pietrasik A, Kędzierski P, Piłka M, Torbicki A, Kurzyna M (2022) Circulating Blood-Based Biomarkers in Pulmonary Hypertension. *J Clin Med.* 11(2):383
8. Barst RJ, McGoon M, Torbicki A, Sitbon O, Krowka MJ, Olschewski H, Gaine S (2004) Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 43:40-47

9. Bayes-Genis A, Zamora E, de Antonio M, Galán A, Vila J, Urrutia A, Díez C, Coll R, Altimir S, Lupón J (2013) Soluble ST2 serum concentration and renal function in heart failure. *J Card Fail.* 19(11):768-75
10. Bergmann A, Struck J (2003) Sandwich-Immunoassay zur Bestimmung von pro-ANP-Teilpeptiden. Europäische Patentschrift; Europäisches Patentamt EP1 562 984 B1
11. Beshay S, Sahay S, Humbert M. (2020) Evaluation and management of pulmonary arterial hypertension. *Respir Med.* 171:106099.
12. Biomarkers Definitions Working Group (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 69(3):89-95.
13. Bonderman D, Turecek PL, Jakowitsch J, Weltermann A, Adlbrecht C, Schneider B, Kneussl M, Rubin LJ, Kyrle PA, Klepetko W, Maurer G, Lang IM. (2003) High prevalence of elevated clotting factor VIII in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Haemost.* Sep;90(3):372-6.
14. Bonderman D, Wilkens H, Wakounig S, Schäfers HJ, Jansa P, Lindner J, Simkova I, Martischnig AM, Dudczak J, Sadushi R, Skoro-Sajer N, Klepetko W, Lang IM (2009) Risk factors for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 33(2):325-31.
15. Casserly B, Klinger JR (2009) Brain natriuretic peptide in pulmonary arterial hypertension: biomarker and potential therapeutic agent. *Drug Des Devel and Ther* 3:269-278
16. Casserly B, Mazer JM, Vang A, Harrington EO, Klinger JR, Rounds S, Choudhary G (2011) C-type natriuretic peptide does not attenuate the development of pulmonary hypertension caused by hypoxia and VEGF receptor blockade. *Life Sci.* 89(13-14):460-6
17. Cauliez B, Guignery J, Marinier S, Mariau I, Lavoinne A (2008) Two-year stability of NT-proBNP in frozen samples using the Roche Elecsys system. *Ann Clin Biochem.* 45(Pt 3):318-9
18. Chaouat A, Bugnet AS, Kadaoui N, Schott R, Enache I, Ducoloné A, Ehrhart M, Kessler R, Weitzenblum E. Severe pulmonary hypertension and chronic

- obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Jul 15;172(2):189-94.
19. Chen H, Lainchbury J, Burnett J (2002). Natriuretic peptide receptors and neutral endopeptidase in mediating the renal actions of a new therapeutic synthetic natriuretic peptide dendroaspis natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol.* 40 (6) 1186–1191.
  20. Chida A, Sato H, Shintani M, Nakayama T, Kawamura Y, Furutani Y, Inai K, Saji T, Matsuoka R, Nonoyama S, Nakanishi T (2014) Soluble ST2 and N-terminal pro-brain natriuretic peptide combination. Useful biomarker for predicting outcome of childhood pulmonary arterial hypertension. *Circ J.* 78(2):436-42.
  21. Chinkers M, Garbers DL, Chang MS, Lowe DG, Chin HM, Goeddel DV, Schulz S (1989) A membrane form of guanylate cyclase is an atrial natriuretic peptide receptor. *Nature* 338:78-83
  22. Cockcroft DW, Gault MH (1976) Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 16(1):31-41
  23. Coghlan JG, Wolf M, Distler O, Denton CP, Doelberg M, Harutyunova S, Marra AM, Benjamin N, Fischer C, Grünig E (2018) Incidence of pulmonary hypertension and determining factors in patients with systemic sclerosis. *Eur Respir J* 51(4):1701197
  24. Collins E, Bracamonte MP, Burnett JC Jr, Miller VM (2000) Mechanism of relaxations to *Dendroaspis* natriuretic peptide in canine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 35:614-618
  25. Cottin V, Le Pavec J, Prévot G, Mal H, Humbert M, Simonneau G, Cordier JF; GERM"O"P (2010). Pulmonary hypertension in patients with combined pulmonary fibrosis and emphysema syndrome. *Eur Respir J.* Jan;35(1):105-11
  26. Daniels LB, Maisel AS (2007) Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 50:2357-2368
  27. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H (1981) A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sciences* 28:89-94

28. de Bold AJ, Ma KK, Zhang Y, de Bold ML, Bensimon M, Khoshbaten A (2001) The physiological and pathophysiological modulation of the endocrine function of the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 79:705-714
29. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH (2003) B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet* 362:316-322
30. Del Ry S, Passino C, Maltinti M, Emdin M, Giannessi D (2005) C-type natriuretic peptide plasma levels increase in patients with chronic heart failure as a function of clinical severity. *Eur J Heart Fail.* 7(7):1145-8
31. Del Ry S, Giannessi D, Maltinti M, Prontera C, Iervasi A, Colotti C, Emdin M, L'Abbate A, Neglia D (2007) Increased levels of C-type natriuretic peptide in patients with idiopathic left ventricular dysfunction. *Peptides.* (5):1068-73
32. Del Ry S, Cabiati M, Stefano T, Catapano G, Caselli C, Prescimone T, Passino C, Emdin M, Giannessi D (2011) Comparison of NT-proCNP and CNP plasma levels in heart failure, diabetes and cirrhosis patients. *Regul Pept.* 166(1-3):15-20
33. Douschan P, Kovacs G, Avian A, Foris V, Gruber F, Olschewski A, Olschewski H (2018) Mild Elevation of Pulmonary Arterial Pressure as a Predictor of Mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 197(4):509-516
34. Dumitrescu D, Rosenkranz S (2008) Bedeutung der Spiroergometrie in der Diagnostik der pulmonalen Hypertonie *Dtsch Med Wochenschr* 2008; 133: S176–S179
35. Dumitrescu D, Rosenkranz S (2017) Atlas Spiroergometrie und Pulmonale Hypertonie, 4. überarbeitete Auflage, Actelion Pharmaceuticals Deutschland
36. Dzikowska-Diduch O, Kurnicka K, Lichodziejewska B, Dudzik-Niewiadomska I, Machowski M, Roik M, Wiśniewska M, Siwiec J, Staniszevska IM, Pruszczyk P (2022) Electrocardiogram, Echocardiogram and NT-proBNP in Screening for Thromboembolism Pulmonary Hypertension in Patients after Pulmonary Embolism. *J Clin Med.* 11(24):7369
37. Enright PL, Sherrill DL (1998). Reference equations for the six-minute walk in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Nov;158(5 Pt 1):1384-7. doi: 10.1164/ajrccm.158.5.9710086. Erratum in: *Am J Respir Crit Care Med.* 2020 Feb 1;201(3):393. PMID: 9817683.



38. Fernández AI, Yotti R, González-Mansilla A, Mombiela T, Gutiérrez-Ibanes E, Pérez Del Villar C, Navas-Tejedor P, Chazo C, Martínez-Legazpi P, Fernández-Avilés F, Bermejo J (2019) The Biological Bases of Group 2 Pulmonary Hypertension. *Int J Mol Sci.* 23;20(23):5884.
39. Fijalkowska A, Kurzyna M, Torbicki A, Szewczyk G, Florczyk M, Pruszczyk P, Szturmowicz M (2006) Serum N-terminal brain natriuretic peptide as a prognostic parameter in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 129:1313-1321
40. Fishman AP (2001) Clinical classification of pulmonary hypertension. *Clin Chest Med* 22:385-391
41. Follath F, Burkart F, Schweizer W (1971) Drug-induced pulmonary hypertension? *Br Med J* 1:265-266
42. Frost A, Badesch D, Gibbs JSR, Gopalan D, Khanna D, Manes A, Oudiz R, Satoh T, Torres F, Torbicki A. (2019) Diagnosis of pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* Jan 24; 53(1):1801904
43. Fu S, Ping P, Zhu Q, Ye P, Luo L (2018) Brain Natriuretic Peptide and Its Biochemical, Analytical, and Clinical Issues in Heart Failure: A Narrative Review. *Front Physiol.* 5; 9:692
44. Galié N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, Beghetti M, Corris P, Gaine S, Gibbs JS, Gomez-Sanchez MA, Jordeau G, Klepetko W, Opitz C, Peacock CA, Rubin, Zellweger LM, Simonneau G (2009) Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 34:1219-1263
45. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Hansmann G, Klepetko W, Lancellotti P, Matucci M, McDonagh T, Pierard LA, Trindade PT, Zompatori M, Hoeper M.(2015) 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J.* 46(4):903-75

46. Ganz W, Swan HJC (1972) Measurement of bloodflow by thermodilution. *Am J Cardiol* 29:241-246
47. Geenen LW, Baggen VJM, Kauling RM, Koudstaal T, Boomars KA, Boersma E, Roos-Hesselink JW, van den Bosch AE (2019) The Prognostic Value of Soluble ST2 in Adults with Pulmonary Hypertension. *J Clin Med*. 8(10):1517
48. Ghofrani HA, D'Armini AM, Grimminger F, Hoeper MM, Jansa P, Kim NH, Mayer E, Simonneau G, Wilkins MR, Fritsch A, Neuser D, Weimann G, Wang C; CHEST-1 Study Group (2013) Riociguat for the treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med*. 25;369(4):319-29.
49. Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, Masuda I, Nakanishi K, Yoshimasa T, Hashimoto Y, Yamaguchi M, Hori R, Yasue H, Nakao K (1995) Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 92:1558-1564
50. Hatano S, Strasser T (1975) Primary pulmonary hypertension. Report vom WHO Meeting. 15. bis 17. Oktober 1973. Geneva: WHO
51. He J, Fang W, Lv B, He JG, Xiong CM, Liu ZH, He ZX (2012) Diagnosis of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: comparison of ventilation/perfusion scanning and multidetector computed tomography pulmonary angiography with pulmonary angiography. *Nucl Med Commun*. 33(5):459-63.
52. Hendriks PM, van de Groep LD, Veen KM, van Thor MCJ, Meertens S, Boersma E, Boomars KA, Post MC, van den Bosch AE (2022) Prognostic value of brain natriuretic peptides in patients with pulmonary arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Am Heart J*. 250:34-44
53. Hirsch K, Nolley S, Ralph DD, Zheng Y, Altemeier WA, Rhodes CJ, Morrell NW, Wilkins MR, Leary PJ, Rayner SG (2023) Circulating markers of inflammation and angiogenesis and clinical outcomes across subtypes of pulmonary arterial hypertension. *J Heart Lung Transplant*. 42(2):173-182
54. Hoeper MM, Lee SH, Voswinckel R, Palazzini M, Jais X, Marinelli A, et al. (2006) Complications of right heart catheterization procedures in patients with pulmonary hypertension in experienced centers. *J Am Coll Cardiol*. 48:2546–2552

55. Hoeper MM, Ghofrani HA, Gorenflo M, Grünig E, Schranz D, Rosenkranz S (2010) Diagnostik und Therapie der pulmonalen Hypertonie: Europäische Leitlinien 2009. *Pneumologie* 64:401-414
56. Hoeper MM, Humbert M, Souza R, Idrees M, Kawut SM, Sliwa-Hahnle K, Jing ZC, Gibbs JS (2016) A global view of pulmonary hypertension. *Lancet Respir Med.* 4(4):306-22.
57. Hoeper MM, Ghofrani HA, Grünig E, Klose H, Olschewski H, Rosenkranz S (2017) Pulmonary hypertension. *Dtsch Arztebl Int* 114:73-84
58. Hoeper MM, Pittrow D, Opitz C, Gibbs JSR, Rosenkranz S, Grünig E, Olsson KM, Huscher D (2018) Risk assessment in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 29;51(3):1702606.
59. Hoeper MM, Pausch C, Olsson KM, Huscher D, Pittrow D, Grünig E, Staehler G, Vizza CD, Gall H, Distler O, Opitz C, Gibbs JSR, Delcroix M, Ghofrani HA, Park DH, Ewert R, Kaemmerer H, Kabitz HJ, Skowasch D, Behr J, Milger K, Halank M, Wilkens H, Seyfarth HJ, Held M, Dumitrescu D, Tsangaris I, Vonk-Noordegraaf A, Ulrich S, Klose H, Claussen M, Lange TJ, Rosenkranz S (2022) COMPERA 2.0: a refined four-stratum risk assessment model for pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 7;60(1):2102311.
60. Hughes JD, Rubin LJ (1986) Primary pulmonary hypertension. An analysis of 28 cases and a review of the literature. *Medicine* 65:56-72
61. Humbert M, Farber HW, Ghofrani HA, Benza RL, Busse D, Meier C, Hoeper MM (2019) Risk assessment in pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 53(6):1802004
62. Humbert M, Kovacs G, Hoeper MM, Badagliacca R, Berger RMF, Brida M, Carlsson J, Coats AJS, Escribano-Subias P, Ferrari P, Ferreira DS, Ghofrani HA, Giannakoulas G, Kiely DG, Mayer E, Meszaros G, Nagavci B, Olsson KM, Pepke-Zaba J, Quint JK, Rådegran G, Simonneau G, Sitbon O, Tonia T, Toshner M, Vachiery JL, Vonk-Noordegraaf A, Delcroix M, Rosenkranz S ESC/ERS Scientific Document Group (2022) 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur Heart J.* 43(38):3618-3731

63. Ibrahim NE, Januzzi JL Jr. (2017) Beyond Natriuretic Peptides for Diagnosis and Management of Heart Failure. *Clin Chem.* Jan;63(1):211-222.
64. Idzikowska K, Zielińska M (2018) Midregional pro-atrial natriuretic peptide, an important member of the natriuretic peptide family: potential role in diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. *J Int Med Res.* 46(8):3017-3029
65. Ignatescu M, Kostner K, Zorn G, Kneussl M, Maurer G, Lang IM, Huber K. (1998) Plasma Lp(a) levels are increased in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Haemost.* 80(2):231-2
66. Inoue K, Naruse K, Yamagami S, Mitani H, Suzuki N, Takei Y (2003) Four functionally distinct C-type natriuretic peptides found in fish reveal evolutionary history of the natriuretic peptide system. *PNAS* 100:10079-10084
67. Ip C, Luk KS, Yuen VLC, Chiang L, Chan CK, Ho K, Gong M, Lee TTL, Leung KSK, Roever L, Bazoukis G, Lampropoulos K, Li KHC, Tse G, Liu T; International Health Informatics Study (IHIS) Network (2021) Soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2) for predicting disease severity or mortality outcomes in cardiovascular diseases: A systematic review and *meta*-analysis. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 18; 37:100887
68. Jing ZC, Jiang X, Han ZY, Xu XQ, Wang Y, Wu Y, Lv H, Ma CR, Yang YJ, Pu JL (2009) Iloprost for pulmonary vasodilator testing in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 33:1354-1360
69. Johns DG, Ao Z, Heidrich BJ, Hunsberger GE, Graham T, Payne L, Elshourbagy N, Lu Q, Aiyar N, Douglas SA (2007) Dendroaspis natriuretic peptide binds to the natriuretic peptide clearance receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 358(1):145-9
70. Kaiser R, Grottemeyer K, Lepper P, Stokes C, Bals R, Wilkens H (2015) Associations of circulating natriuretic peptides with haemodynamics in precapillary pulmonary hypertension. *Respir Med.* 109(9):1213-23
71. Kakkar R, Lee RT (2008) The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov.* 7(10):827-40.
72. Kake T, Kitamura H, Adachi Y, Yoshioka T, Watanabe T, Matsushita H, Fujii T, Kondo E, Tachibe T, Kawase Y, Jishage K, Yasoda A, Mukoyama M, Nakao K (2009) Chronically elevated plasma C-type natriuretic peptide level stimulates

- skeletal growth in transgenic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 297:1339-1348
73. Kalra PR, Anker SD, Struthers AD, Coats AJ (2001) The role of C-type natriuretic peptide in cardiovascular medicine. *Eur Heart J* 22:997-1007
  74. Kendall RL, Thomas KA (1993) Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(22):10705-9.
  75. Kendall RL, Wang G, Thomas KA (1996) Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun.* 13;226(2):324-8
  76. Kim NH, Delcroix M, Jais X, Madani MM, Matsubara H, Mayer E, Ogo T, Tapson VF, Ghofrani HA, Jenkins DP (2019) Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 24;53(1):1801915.
  77. Kimura M, Taniguchi H, Kondoh Y, Kimura T, Kataoka K, Nishiyama O, Aso H, Sakamoto K, Hasegawa Y (2013) Pulmonary hypertension as a prognostic indicator at the initial evaluation in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiration.* 85(6):456-63
  78. Klob J 1865 Endocarditis pulmonalis deformans. *Wochenblatt der kk Gesellschaft der. Ärzte in Wien* 21:357-361.
  79. Kovacs G, Berghold A, Scheidl S, Olschewski H (2009) Pulmonary arterial pressure during rest and exercise in healthy subjects: a systematic review. *Eur respir J* 34(4):888-94
  80. Kovacs G, Dumitrescu D, Barner A, Greiner S, Grünig E, Hager A, Köhler T, Kozlik-Feldmann, Kruck I, Lammers A, Mereles D, Meyer A, Meyer FJ, Pabst S, Deyfarth H-J, Sinnig C, Sorichter S, Stähler G, Wilkens H, Held M (2016) Klassifikation der pulmonalen Hypertonie und initiale Diagnostik. *Dtsch Med Wochenschr* 141:10-18
  81. Kriechbaum SD, Scherwitz L, Wiedenroth CB, Rudolph F, Wolter JS, Haas M, Fischer-Rasokat U, Rolf A, Hamm CW, Mayer E, Guth S, Keller T, Konstantinides SV, Lankeit M, Liebetrau C (2020) Mid-regional pro-atrial natriuretic peptide and copeptin as indicators of disease severity and therapy response in CTEPH. *ERJ Open Res.* 6(4):00356-2020

82. Kuehnl A, Pelisek J, Bruckmeier M, Safi W, Eckstein HH (2013) Comparative measurement of CNP and NT-proCNP in human blood samples: a methodological evaluation. *J Negat Results Biomed.* 12:7
83. Kurakula K, Smolders VFED, Tura-Ceide O, Jukema JW, Quax PHA, Goumans MJ (2021) Endothelial Dysfunction in Pulmonary Hypertension: Cause or Consequence? *Biomedicines.* 9;9(1):57
84. Lainchbury JG, Lisy O, Burnett JC Jr, Meyer DM, Redfield MM (2002) Actions of a novel synthetic natriuretic peptide on hemodynamics and ventricular function in the dog. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 282(4): R993-8
85. Lang IM, Pesavento R, Bonderman D, Yuan JX. (2013) Risk factors and basic mechanisms of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a current understanding. *Eur Respir J.*; 41:462-468
86. Lapa M, Dias B, Jardim C, Fernandes CJ, Dourado PM, Figueiredo M, Farias A, Tsutsui J, Terra-Filho M, Humbert M, Souza R (2009) Cardiopulmonary manifestations of hepatosplenic schistosomiasis. *Circulation* 119(11):1518-23
87. Lee J, Kim SW (2002) *Dendroaspis* natriuretic peptide administered intracerebroventricularly increases renal water excretion. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 29:195-197
88. Leuchte HH, Neurohr C, Baumgartner R, Holzapfel M, Giehl W, Vogeser M, Behr J (2004) Brain natriuretic peptide and exercise capacity in lung fibrosis and pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 170:360-365
89. Leuchte HH, Holzapfel M, Baumgartner RA, Neurohr C, Vogeser M, Behr J (2005) Characterization of brain natriuretic peptide in long-term follow-up of pulmonary arterial hypertension. *Chest* 128:2368-2374
90. Leuchte HH, El Nounou M, Tuerpe JC, Hartmann B, Baumgartner RA, Vogeser M, Muehling O, Behr J. (2007) N-terminal pro-brain natriuretic peptide and renal insufficiency as predictors of mortality in pulmonary hypertension. *Chest.* 131:402-9.
91. Levin ER, Gardner DG, Samson WK (1998) Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 339:321-328
92. Levine DJ. (2021) Pulmonary arterial hypertension: updates in epidemiology and evaluation of patients. *Am J Manag Care.* 27 (3 Suppl):S35-S41.

93. Lisy O, Lainchbury JG, Leskinen H, Burnett JC Jr (2001) Therapeutic actions of a new synthetic vasoactive and natriuretic peptide, *Dendroaspis* natriuretic peptide, in experimental severe congestive heart failure. *Hypertension* 37:1089-1094
94. Lok DJ, Klip IT, Voors AA, Lok SI, Bruggink-André de la Porte PW, Hillege HL, Jaarsma T, van Veldhuisen DJ, van der Meer P (2014) Prognostic value of N-terminal pro C-type natriuretic peptide in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail.* 16(9):958-66
95. Lumsden NG, Khambata RS, Hobbs AJ (2010) C-type natriuretic peptide: cardiovascular roles and a potential as a therapeutic target. *Curr Pharm Des* 16:4080-4088
96. Malhotra R, Paskin-Flerlage S, Zamanian RT, Zimmerman P, Schmidt JW, Deng DY, Southwood M, Spencer R, Lai CS, Parker W, Channick RN, Morrell NW, Elliott CG, Yu PB (2013) Circulating angiogenic modulatory factors predict survival and functional class in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ.* 3(2):369-80.
97. Mazzei JA, Mazzei ME (2011) A tribute: Abel Ayerza and pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev* 20:220-221
98. McCrory DC, Coeytaux RR, Schmit KM, Kraft B, Kosinski AS, Mingo AM, Vann LM, Gilstrap DL, Hargett CW, Lugogo NL, Heidenfelder BL, Posey R, Irvine RJ, Wing L, Pendergast K, Dolor RJ (2013) Pulmonary arterial hypertension: screening, management, and treatment [internet]. Rockville (MD) Agency for Healthcare Research and Quality (US); Report No.: 13-EHC087-EF
99. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A, ESC Scientific Document Group. (2021) ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 42(36):3599-3726.

100. Meoli DF, Su YR, Brittain EL, Robbins IM, Hemnes AR, Monahan K (2018) The transpulmonary ratio of endothelin 1 is elevated in patients with preserved left ventricular ejection fraction and combined pre- and post-capillary pulmonary hypertension. *Pulm Circ.* 8(1):2045893217745019.
101. Michels P, Tarnow J (2001) Natriuretische Peptide: Physiologische, pathophysiologische und klinische Aspekte. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 36(7):406-416
102. Mirchandani AS, Salmond RJ, Liew FY (2012) Interleukin-33 and the function of innate lymphoid cells. *Trends Immunol.* 33(8):389-96.
103. Mirna M, Rohm I, Jirak P, Wernly B, Bäß L, Paar V, Kretzschmar D, Hoppe UC, Schulze PC, Lichtenauer M, Jung C, Franz M (2020) Analysis of Novel Cardiovascular Biomarkers in Patients with Pulmonary Hypertension (PH). *Heart Lung Circ.* 29(3):337-344
104. Misono KS, Philo JS, Arakawa T, Ogata CM, Qiu Y, Ogawa H, Young HS (2011) Structure, signaling mechanism and regulation of natriuretic peptide receptor-guanylate cyclase. *FEBS J* 278:1818-1829.
105. Miyamoto S, Nagaya N, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Fujita M, Nakanishi N, Miyatake K. (2000) Clinical correlates and prognostic significance of six-minute walk test in patients with primary pulmonary hypertension. Comparison with cardiopulmonary exercise testing. *Am J Respir Crit Care Med.* 161(2 Pt 1):487-92
106. Montani D, Günther S, Dorfmueller P, Perros F, Girerd B, Garcia G, Jaïs X, Savale L, Artaud-Macari E, Price LC, Humbert M, Simonneau G, Sitbon O (2013) Pulmonary arterial hypertension. *Orphanet J Rare Dis* 8:97-124
107. Morgenthaler NG, Struck J, Thomas B, Bergmann A (2004) Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma. *Clin Chem* 50:234-236
108. Mueller C, McDonald K, de Boer RA, Maisel A, Cleland JGF, Kozhuharov N, Coats AJS, Metra M, Mebazaa A, Ruschitzka F, Lainscak M, Filippatos G, Seferovic PM, Meijers WC, Bayes-Genis A, Mueller T, Richards M, Januzzi JL Jr, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology (2019) Heart Failure Association of the European Society of Cardiology practical



- guidance on the use of natriuretic peptide concentrations. *Eur J Heart Fail.* 21(6):715-731
109. Mueller T, Jaffe AS (2015) Soluble ST2--analytical considerations. *Am J Cardiol.* 115(7 Suppl):8B-21B
  110. National Kidney Foundation (2002). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 39(2 Suppl 1): S1-266
  111. Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Kuribayashi S, Hamada S, Kakishita M, Nakanishi N, Takamiya M, Kunieda T, Matsuo H, Kangawa K (1998) Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 31:202-208
  112. Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Kakishita M, Fukushima K, Okano Y, Nakanishi N, Miyatake K, Kangawa K (2000) Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 102:865-870
  113. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga S, Komatsu Y, Kishimoto I, Nishino K, Yoshimasa T, Nakao K (1995) Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an „emergency“ cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* 96:1280-1287
  114. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H (1992) Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertens* 10:907-912
  115. Ogawa Y, Itoh H, Yoshitake Y, Inoue M, Yoshimasa T, Serikawa T, Nakao K (1994) Molecular cloning and chromosomal assignment of the mouse C-type natriuretic peptide (CNP) gene (Nppc): comparison with the human CNP gene (NPPC). *Genomics.*24(2):383-7
  116. Ogawa Y, Itoh H, Nakao K (1995) Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 22:49-53
  117. Olschewski H (2006) Diagnose und Behandlung der pulmonalen Hypertonie. *Dtsch Med Wochenschr* 131:635-658

118. Olschewski H, Olschewski A (2011) Pulmonale Hypertonie. UNI MED Science, 2. neubearb. Auflage
119. Onoue K, Uemura S, Takeda Y, Somekawa S, Iwama H, Nishida T, Morikawa Y, Nakagawa H, Tsutsumi T, Sung JH, Takemoto Y, Soeda T, Okayama S, Ishigami K, Kawata H, Horii M, Nakajima T, Saito Y (2009) Usefulness of soluble Fms-like tyrosine kinase-1 as a biomarker of acute severe heart failure in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 104(11):1478-83
120. Ontkean M, Gay R, Greenberg B (1991) Diminished endothelium-derived relaxing factor activity in an experimental model of chronic heart failure. *Circ Res.* 69(4):1088-96.
121. Pandit K, Mukhopadhyay P, Ghosh S, S Chowdhury S (2011) Natriuretic peptides: Diagnostic and therapeutic use. *Indian J Endocrinol Metab* 15:345-353
122. Pascual-Figal DA, Januzzi JL (2015) The biology of ST2: the International ST2 Consensus Panel. *Am J Cardiol.* 115(7 Suppl):3B-7B
123. Pepke-Zaba J, Delcroix M, Lang I, Mayer E, Jansa P, Ambroz D, Treacy C, D'Armini AM, Morsolini M, Snijder R, Bresser P, Torbicki A, Kristensen B, Lewczuk J, Simkova I, Barberà JA, de Perrot M, Hoeper MM, Gaine S, Speich R, Gomez-Sanchez MA, Kovacs G, Hamid AM, Jaïs X, Simonneau G (2011) Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH): results from an international prospective registry. *Circulation.* 124(18):1973-81
124. Plácido R, Cortez-Dias N, Robalo Martins S, Gomes Almeida A, Calisto C, Gonçalves S, Sadoune M, Nunes Diogo A, Mebazaa A, Pinto FJ (2017) Prognostic stratification in pulmonary hypertension: A multi-biomarker approach. *Rev Port Cardiol.* 36(2):111-125. English, Portuguese
125. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM (2006) Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev* 27:47-72
126. Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM (2009) Natriuretic peptides: their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications. *Handb Exp Pharmacol.* (191):341-66
127. Raghu G, Rochweg B, Zhang Y, Garcia CA, Azuma A, Behr J, Brozek JL, Col-lard HR, Cunningham W, Homma S, Johkoh T, Martinez FJ, Myers J,

- Protzko SL, Richeldi L, Rind D, Selman M, Theodore A, Wells AU, Hoogsteden H, Schünemann HJ; American Thoracic Society; European Respiratory society; Japanese Respiratory Society; Latin American Thoracic Association (2015). An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline: Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Update of the 2011 Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 192(2): e3-19
128. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC Jr. (2002) Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol* 40:976-982
129. Rich S, Kieras K, Hart K, Groves BM, Stobo JD, Brundage BH (1986) Antinuclear antibodies in primary pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 8:1307-1311
130. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, Fishman AP, Goldring RM, Groves BM, Koerner SK, *et al.* (1987) Primary pulmonary hypertension. A national prospective study. *Ann Intern Med* 107:216-223
131. Rich S, Rubin L, Walker AM, Schneeweiss S, Abenheim L (2000) Anorexigens and pulmonary hypertension in the United States: results from the surveillance of North American pulmonary hypertension. *Chest* 117:870-874
132. Rieth A et al (2013) Einfluss einer Niereninsuffizienz auf die Korrelation von NT-proBNP mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz. 79. Jahrestagung der DGK, Pressemitteilung
133. Romberg E (1891) Über die Sklerose der Lungenarterie. *Dtsch Archiv Klin Med* 48:197-206
134. Schaub JA, Coca SG, Moledina DG, Gentry M, Testani JM, Parikh CR (2015) Amino-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide for Diagnosis and Prognosis in Patients with Renal Dysfunction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JACC Heart Fail.* 3(12):977-89
135. Schirger JA, Heublein DM, Chen HH, Lisy O, Jougasaki M, Wennberg PW, Burnett JC Jr (1999) Presence of *Dendrosaspis* natriuretic peptide-like immunoreactivity in human plasma and its increase during human heart failure. *Mayo Clin Proc* 74:126-130

136. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA (2005) IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 23(5):479-90.
137. Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M (1992) A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*) *J Biol Chem* 267:13928-13932
138. Seeger W, Adir Y, Barberà JA, Champion H, Coghlan JG, Cottin V, De Marco T, Galiè N, Ghio S, Gibbs S, Martinez FJ, Semigran MJ, Simonneau G, Wells AU, Vachiéry JL (2013) Pulmonary hypertension in chronic lung diseases. *J Am Coll Cardiol*. 62(25 Suppl): D109-16.
139. Seino Y, Ogawa A, Yamashita T, Fukushima M, Ogata K, Fukumoto H, Takano T (2004) Application of NT-proBNP and BNP measurements in cardiac care: a more discerning marker for the detection and evaluation of heart failure. *Eur J Heart Fail* 6:295-300
140. Shao D, Perros F, Caramori G, Meng C, Dormuller P, Chou PC, Church C, Papi A, Casolari P, Welsh D, Peacock A, Humbert M, Adcock IM, Wort SJ (2014) Nuclear IL-33 regulates soluble ST2 receptor and IL-6 expression in primary human arterial endothelial cells and is decreased in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Biochem Biophys Res Commun*. 451(1):8-14
141. Shen Y, Wan C, Tian P, Wu Y, Li X, Yang T, An J, Wang T, Chen L, Wen F. (2014) CT-base pulmonary artery measurement in the detection of pulmonary hypertension: a meta-analysis and systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 93(27): e256
142. Shibuya M (2006) Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis*. 9(4):225-30
143. Simonneau G, Robbins IM, Beghetti M, Channick RN, Delcroix M, Denton CP, Elliott CG, Gaine SP, Gladwin MT, Jing ZC, Krowka MJ, Langleben D, Nakanishi N, Souza R (2009) Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 54:43-54

144. Simonneau G, Torbicki A, Dorfmüller P, Kim N. (2017) The pathophysiology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev.* Mar 29;26 (143):160112.
145. Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, Denton CP, Gatzoulis MA, Krowka M, Williams PG, Souza R (2019) Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 53(1):1801913
146. Sitbon O, Humbert M, Jais X, loos V, Hamid AM, Provencher S, Garcia G, Parent F, Hervé P, Simonneau G (2005) Long term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 111:3105-3111
147. Smits AJ, Botros L, Mol MAE, Ziesemer KA, Wilkins MR, Vonk Noordegraaf A, Bogaard HJ, Aman J (2022) A systematic review with meta-analysis of biomarkers for detection of pulmonary arterial hypertension. *ERJ Open Res.* 8(2):00009-2022
148. Su J, Scholz PM, Weiss HR (2005) Differential effects of cGMP produced by soluble and particulate guanylyl cyclase on mouse ventricular myocytes. *Exp Biol Med* 230:242-250
149. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990 Apr 30;168(2):863-70
150. Suga S, Nakao K, Hosoda K, Mukoyama M, Ogawa Y, Shirakami G, Arai H, Saito Y, Kambayashi Y, Inouye K (1992) Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 130:229-239
151. Sun Y, Wang L, Meng X, Gong S, Zhao Q, Shi L, Jiang R, He J, Wu W, Li Y, Luo C, Qiu H, Li J, Yuan P, Liu J (2021) Soluble ST2 and mixed venous oxygen saturation for prediction of mortality in patients with pulmonary hypertension. *J Thorac Dis.* 13(6):3478-3488
152. Taboada D, Pepke-Zaba J, Jenkins DP, Berman M Traacy CM, Cannon JE, Toshner M, Dunning JJ, Ng C, Tsui SS, Sheares KK (2014) Outcome of pulmonary endarterectomy in symptomatic chronic thromboembolic disease. *Eur Respir J* 44: 1635-1645

153. Takei Y (2001) Does the natriuretic peptide system exist throughout the animal and plant kingdom? *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 129(2-3):559-73.
154. Tawaragi Y, Fuchimura K, Tanaka S, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Gene and precursor structures of human C-type natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991 Mar 15;175(2):645-51
155. Tian F, Song W, Wang L, Zeng Q, Zhao Z, Feng N, Fan J, Wang Y, Wang J, Ma X (2021) NT-pro BNP in AECOPD-PH: old biomarker, new insights-based on a large retrospective case-controlled study. *Respir Res.* 22(1):321
156. Tiede SL, Gall H, Dörr O, dos Santos Guilherme M, Troidl C, Liebetrau C, Voss S, Voswinckel R, Schermuly RT, Seeger W, Grimminger F, Zeiher AM, Dimmeler S, Möllmann H, Hamm CW, Ghofrani HA, Nef HM (2015) New potential diagnostic biomarkers for pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 46(5):1390-6.
157. Tominaga S (1989) A putative protein of a growth specific cDNA from BALB/c-3T3 cells is highly similar to the extracellular portion of mouse interleukin 1 receptor. *FEBS Lett.* 258(2):301-4
158. Tudor RM, Cool CD, Yeager M, Taraseviciene-Stewart I, Bull TM, Voelkel NF (2001) The pathobiology of pulmonary hypertension. *Endothelium Clin Chest Med* 22:405-418
159. Tunariu N, Gibbs SJ, Win Z, Gin-Sing W, Graham A, Gishen P, Al-Nahhas A (2007) Ventilation-perfusion scintigraphy is more sensitive than multidetector CTPA in detecting chronic thromboembolic pulmonary disease as a treatable cause of pulmonary hypertension. *J Nucl Med* 48:680-684
160. Valerio CJ, Schreiber BE, Handler CE, Denton CP, Coghlan JG (2013) Borderline mean pulmonary artery pressure in patients with systemic sclerosis: transpulmonary gradient predicts risk of developing pulmonary hypertension. *Arthritis Rheum* 65(4):1074-84
161. Wang KY, Lee MF, Ho HC, Liang KW, Liu CC, Tsai WJ, Lin WW (2015) Serum Caveolin-1 as a Novel Biomarker in Idiopathic Pulmonary Artery Hypertension. *Biomed Res Int.* 2015:173970.

162. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PW, Sutherland P, Omland T, Vasani RS (2002) Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol* 90:254-258
163. Warwick G, Thomas PS, Yates DH (2008) Biomarkers in pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 32(2):503-12
164. Wennberg PW, Burnett JC Jr (1997) *Dendroaspis* natriuretic peptide (DNP) is a potent relaxing agent in isolated canine epicardial coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 29:305
165. Wilkens H, Grimminger F, Hoeper M, Stähler G, Ehlken B, Plesnila-Frank C, Berger K, Resch A, Ghofrani A (2010) Burden of pulmonary arterial hypertension in Germany. *Respir Med* 104:902-910
166. Wilkins M. (2020) Pulmonary hypertension: Proteins in the blood. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2020(1): e202007.
167. Wojtczak-Soska K, Pietrucha T, Sakowicz A, Lelonek M (2013) Soluble ST2 protein in chronic heart failure is independent of traditional factors. *Arch Med Sci*. 9(1):21-6
168. Wu FT, Stefanini MO, Mac Gabhann F, Kontos CD, Annex BH, Popel AS (2010) A systems biology perspective on sVEGFR1: its biological function, pathogenic role and therapeutic use. *J Cell Mol Med*. 14(3):528-52
169. Xanthouli P, Gordjani O, Benjamin N, Trudzinski FC, Egenlauf B, Harutyunova S, Marra AM, Milde N, Nagel C, Blank N, Lorenz HM, Grünig E, Eichstaedt CA (2023) Oxygenated hemoglobin as prognostic marker among patients with systemic sclerosis screened for pulmonary hypertension. *Sci Rep*. 13(1):1839
170. Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, Saito H, Matsuda A (2010) IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol*. 185(10):5743-50
171. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, Kikuta K, Kugiyama K, Jougasaki M, Ogawa H, Okumura K, Mukoyama M, Nakao K (1994) Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 90:195-203
172. Zheng YG, Yang T, He JG, Chen G, Liu ZH, Xiong CM, Gu Q, Ni XH, Zhao

ZH (2014) Plasma soluble ST2 levels correlate with disease severity and predict clinical worsening in patients with pulmonary arterial hypertension. Clin Cardiol. 37(6):365-70



## 7 Publikationen:

Kongressbeiträge

2023

Biomarkers for diagnosis and disease severity in precapillary pulmonary hypertension. **K. Rososinska**, P. Markwirth, R. Kaiser, F. Trudzinski, B. Weingard, R. Bals, H. Wilkens. PS-19. European Respiratory Society (ERS) Annual Congress 2023, Milan, Italy, 09.09-13.09.2023

2024

Biomarker für die Diagnose und die Beurteilung des Schweregrads der Erkrankung bei präkapillärer pulmonaler Hypertonie: **K. Rososinska**, P. Markwirth, R. Kaiser, F. Trudzinski, B. Weingard, R. Bals, H. Wilkens. P 424. Kongress der deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V. (DGP), Mannheim, Deutschland, 20.03-23.03.2024

## 8 Danksagung

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat Robert Bals gebührt mein aufrichtiger Dank dafür, dass ich meine Dissertation an seiner Klinik durchführen durfte.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. med. Heinrike Wilkens, für die Zurverfügungstellung des interessanten Themas sowie ihre herausragende Betreuung und Unterstützung mit unermüdlicher Geduld und vollem Verständnis.

Ebenso möchte ich Philipp Markwith meinen großen Dank aussprechen für die sehr verständliche Einführung in die Welt der Statistik.

Meinen Freundinnen Dr. rer. med. Bettina Weingard und Prof. Dr. med. Franziska Trudzinski möchte ich herzlich danken für ihre wertvollen Ratschläge und ihre Unterstützung bei Fragen zur Organisation sowie den formalen Aspekten im Zusammenhang mit meiner Dissertation.

Ein herzlicher Dank geht an meine Eltern, die mir seit meinen frühen Jahren ermöglicht haben, meinen eigenen Weg zu gehen, und die mich stets unterstützt haben.

Zum Schluss möchte ich meiner liebsten Tochter Lena-Marie, der ich diese Arbeit widmen möchte, von Herzen danken. Ihre bedingungslose Liebe verdient besondere Anerkennung. Ich schätze ihre Geduld und Kompromissbereitschaft, die sie nicht selten aufgrund meines Berufs gezeigt hat. Mit ihren liebevollen und ermutigenden Worten hat sie mir oft Hoffnung und Kraft geschenkt.

## **9 Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.