

**Aus der Abteilung Kardiologie und Pneumologie
(Prof. Dr. med. G. Hasenfuß)
im Zentrum Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen**

**Neue Biomarker und Multimarkerstrategien
für eine optimierte Risikostratifizierung
von Patienten mit Lungenembolie**

**INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen**

**vorgelegt von
Mareike Katharina Lankeit
aus Köln**

Göttingen 2009

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. S. Konstantinides

II. Berichterstatter / in:

III. Berichterstatter / in:

Tag der mündlichen Prüfung:

Die Inhalte der vorliegenden Arbeit wurden publiziert:

- 1.) Puls M, Dellas C, Lankeit M, Olschewski M, Binder L, Geibel A, Reiner C, Schaefer K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2007): "Heart-type fatty acid-binding protein permits early risk stratification of pulmonary embolism." *Eur Heart J* 28(2): 224-229.
- 2.) Lankeit M, Dellas C, Panzenboeck A, Skoro-Sajer N, Bonderman D, Olschewski M, Schaefer K, Puls M, Konstantinides S, Lang IM (2008): "Heart-type fatty acid-binding protein for risk assessment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Eur Respir J* 31(5): 1024-1029.
- 3.) Lankeit M, Kempf T, Dellas C, Cuny M, Tapken H, Peter T, Olschewski M, Konstantinides S, Wollert KC (2008): "Growth differentiation factor-15 for prognostic assessment of patients with acute pulmonary embolism." *Am J Respir Crit Care Med* 177(9): 1018-1025.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Akute Lungenembolie	1
1.1.1	Symptomatik und Inzidenz	1
1.1.2	Pathophysiologie und hämodynamische Konsequenzen	2
1.1.3	Initiale, klinische Risikostratifizierung der akuten Lungenembolie	5
1.1.4	Risikoadaptierte Diagnostik	6
1.1.5	Risikoadaptierte Therapie	9
1.1.6	Chronisch-Thromboembolische Pulmonale Hypertension – eine chronische Komplikation der Lungenembolie?	10
1.2	Erweiterte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie und CTEPH - bildgebende Verfahren	12
1.3	Erweiterte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie und CTEPH - kardiale Biomarker?	14
1.3.1	N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid	16
1.3.2	Troponin T	18
1.3.3	Heart-type fatty acid-binding protein	20
1.3.4	Growth-differentiation factor-15	23
1.4	Unbeantwortete Fragen und Zielsetzung der Arbeit	27
2	Material und Methoden	29
2.1	Kollektiv der Patienten mit akuter Lungenembolie	29
2.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien	29
2.1.2	Diagnosestellung und Studienablauf	29
2.1.3	Definition des klinischen Schweregrades	30
2.1.4	Echokardiographie und Nachweis einer RV Dysfunktion	30
2.1.5	Klinischer Verlauf und Definition klinischer Endpunkte	31
2.1.6	Patienteneinwilligung und Sicherheit	31
2.2	Kollektiv der Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension	32
2.2.1	Ein- und Ausschlusskriterien	32
2.2.2	Diagnosestellung und Studienablauf	32

2.2.3 Klinischer Verlauf und Definition des klinischen Endpunktes _____	33
2.2.4 Patienteneinwilligung und Sicherheit _____	33
2.3 Bestimmung der Biomarker _____	34
2.3.1 N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid _____	35
2.3.2 Troponin T _____	36
2.3.3 Heart-type fatty acid-binding protein _____	37
2.3.4 Growth-differentiation factor-15 _____	38
2.4 Statistik _____	40
2.4.1 H-FABP bei Patienten mit akuter Lungenembolie _____	41
2.4.2 H-FABP bei Patienten mit CTEPH _____	42
2.4.3 GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie _____	43
3 Ergebnisse _____	44
3.1 Heart-type fatty acid-binding protein bei Patienten mit akuter Lungenembolie _	44
3.1.1 H-FABP korreliert mit Troponin T und NT-proBNP _____	46
3.1.2 Patienten mit einem komplizierten Hospitalverlauf haben erhöhte H-FABP-Konzentrationen _____	47
3.1.3 Prognostischer Stellenwert von H-FABP im Vergleich zu den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP _____	49
3.1.4 Unabhängiger prognostischer Stellenwert von H-FABP _____	50
3.1.5 Additiver prognostischer Wert von H-FABP in Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion _____	51
3.2 Heart-type fatty acid-binding protein bei Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension _____	53
3.2.1 Klinische und hämodynamische Prädiktoren für einen ungünstigen Langzeitverlauf von Patienten mit CTEPH _____	54
3.2.2 Prognostische Bedeutung von H-FABP-Konzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung _____	55
3.2.3 Bedeutung von H-FABP für die Risikostratifizierung von Patienten mit pulmonaler Thrombendarterektomie _____	57
3.3 Growth-differentiation factor-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie _____	59
3.3.1 GDF-15-Spiegel sind erhöht bei Patienten mit akuter Lungenembolie _____	59

3.3.2 GDF-15-Spiegel können einen komplizierten Verlauf während des Krankenhausaufenthaltes voraussagen _____	61
3.3.3 Additive prognostische Information durch GDF-15 in Kombination mit Troponin T und NT-proBNP _____	64
3.3.4 Additive prognostische Information durch GDF-15 in Kombination mit der Echokardiographie _____	65
3.3.5 GDF-15-Spiegel bei Aufnahme können einen komplizierten Langzeitverlauf voraussagen _____	66
4 Diskussion _____	69
4.1 Die Bedeutung von heart-type fatty acid-binding protein für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie und Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonalen Hypertension _____	69
4.1.1 Vor- und Nachteile von H-FABP im Vergleich zu etablierten Biomarkern einer myokardialen Ischämie _____	69
4.1.2 Prognostischer Stellenwert von H-FABP im Vergleich zu etablierten kardialen Biomarkern _____	72
4.1.3 Stellenwert von H-FABP in Multimarkermodellen _____	74
4.1.4 Ein neuer Biomarker bei Patienten mit CTEPH _____	76
4.1.5 H-FABP: Chancen, Limitationen und Ausblick _____	79
4.2 Die Bedeutung von growth-differentiation factor-15 für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie _____	81
4.2.1 Ein neuer Biomarker bei Patienten mit akuter Lungenembolie _____	82
4.2.2 Prädiktiver Wert von GDF-15 _____	83
4.2.3 Additiver prognostischer Wert von GDF-15 _____	85
4.2.4 Voraussage von Langzeitmortalität _____	86
4.2.5 GDF-15: Chancen, Limitationen und Ausblick _____	87
5 Zusammenfassung _____	88
6 Literaturverzeichnis _____	91
7 Anhang _____	108
7.1 Abkürzungsverzeichnis _____	108
7.2 Datenerfassungsbogen Lungenembolie _____	111

1 Einleitung

1.1 Akute Lungenembolie

Die Lungenembolie (LE) ist definiert als ein thromboembolischer Verschluss der arteriellen Lungenstrombahn durch das Einschweben eines Thrombus aus der Peripherie. Zu über 90% entstammt dieser Embolus dem Einzugsgebiet der Vena cava inferior als Folge einer tiefen Beinvenenthrombose (TVT) (Sevitt und Gallagher 1961), auch wenn diese nicht bei allen Patienten nachgewiesen werden kann. Umgekehrt entwickeln bis zu 50% aller Patienten mit proximaler TVT eine szintigraphisch nachweisbare (überwiegend asymptomatische) Lungenembolie (Moser et al. 1994). Embolien aus dem Einflussgebiet der oberen Hohlvene (ZVK, maligne Tumoren) und dem rechten Herzen (Schrittmacherkabel) sind selten.

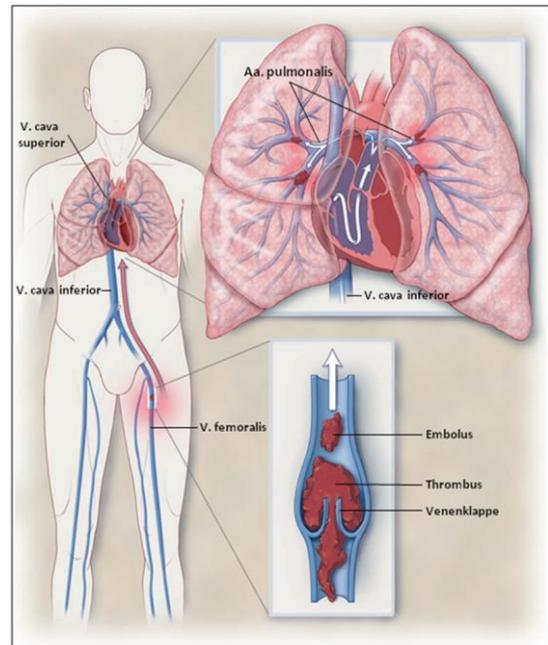


Abbildung 1. Pathophysiologie der Lungenembolie; modifiziert nach Tapson (2008, S. 1038).

1.1.1 Symptomatik und Inzidenz

Die Symptomatik der Patienten ist häufig unspezifisch und variiert in ihrer Ausprägung vom asymptomatischen Verlauf bis hin zum kardiogenen Schock. Häufige Symptome und klinische Zeichen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die Vielzahl an möglichen klinischen Präsentationen und die uncharakteristische Symptomatik erschweren die Diagnosestellung und differentialdiagnostische Abgrenzung. Nicht selten, insbesondere bei hämodynamischer Instabilität, wird daher eine Lungenembolie nicht erkannt und die Diagnose erst autoptisch gestellt (Baglin et al. 1997; Bergqvist und Lindblad 1985; Nordstrom und Lindblad 1998; Sandler und Martin 1989). Aufgrund dieser Daten kann davon ausgegangen werden, dass die tatsächliche Inzidenz einer Lungenembolie etwa doppelt so hoch liegt, wie derzeit in der

Literatur angegeben. Die Angaben variieren zwischen 23 / 100.000 und 107 / 100.000 Einwohner / Jahr weltweit (Benard et al. 2005; Silverstein et al. 1998) – für Deutschland kann derzeit eine Inzidenz von ca. 70 / 100.000 Einwohner / Jahr angenommen werden.

Symptome	Prävalenz	Klinische Zeichen	Prävalenz
Dyspnoe	80%	Tachypnoe (>20 /min)	70%
pleuritischer Thoraxschmerz	52%	Tachykardie (>100 /min)	26%
substernaler Thoraxschmerz	12%	Zeichen einer TVT	15%
Husten	20%	Halsvenenstauung	12%
Synkope	19%	Zyanose	11%
Hämoptysen	11%	Fieber >38,5°C	7%

Tabelle 1. Symptome und klinische Zeichen; modifiziert nach Miniati et al. (1999, S. 866), Stein et al. (1991) und Torbicki et al. (2008, S. 2282).

1.1.2 Pathophysiologie und hämodynamische Konsequenzen

Die von Rudolf Virchow 1856 beschriebene Trias zur Entstehung einer Thrombose – venöse Stase, erhöhte Blutviskosität und Gefäßwandschädigung – ist auch heute noch ein gültiges pathophysiologisches Modell. Sie wird ergänzt durch neue Erkenntnisse über zahlreiche erworbene (Situations-bedingte) und hereditäre (Patienten-bedingte) Störungen, die zu der Entstehung einer Lungenembolie beitragen (siehe Tabelle 2). Abhängig vom Patientenkollektiv kommt es bei ca. 1-2% aller stationären Patienten zu einer Lungenembolie – insgesamt gilt die Hospitalisierung als einer der wichtigsten Risikofaktoren für die Entstehung einer Lungenembolie (Cushman 2007; Heit et al. 2002).

Starke prädisponierende Faktoren (Odds Ratio ≥ 10)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Frakturen ▪ Hüft- / Knie-Gelenkersatz ▪ große Operation, (Poly-)Trauma, Verbrennung ▪ Rückenmarksverletzungen ▪ Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ 2 ▪ Thrombophilie (homozygote Faktor-V-Leiden-Mutation, homozygote Faktor-II-(Prothrombin)-Mutation, kombinierte Thrombophilien)
Moderate prädisponierende Faktoren (Odds Ratio 2-9)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ arthroskopische Knieoperation ▪ Zentraler Venenkatheter (ZVK) ▪ maligne Grunderkrankung, Chemotherapie (Prandoni et al. 1999) ▪ Herzinsuffizienz, respiratorische Insuffizienz ▪ Hormontherapie (Ersatztherapie, Antikonzeptiva) ▪ Schwangerschaft / postpartal ▪ Z.n. tiefer Beinvenenthrombose / Lungenembolie ▪ Thrombophilie (Antithrombin-III-Mangel, Protein-C-Mangel, Protein-S-Mangel, Faktor-V-Leiden-Mutation (G1691→A), Faktor-II-Mutation (G20210→A), MTHFR (C677T) mit Hyperhomocysteinämie) ▪ paralytischer Apoplex ▪ Infektionen / Sepsis
Schwache prädisponierende Faktoren (Odds Ratio < 2)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bettruhe > 3 Tage ▪ Immobilisierung (z.B. längere Flugreisen: „Economy Class Syndrome“) (Lapostolle et al. 2001; Perez-Rodriguez et al. 2003) ▪ Alter > 40 Jahre ▪ laparoskopische Operationen ▪ Adipositas ▪ Varicosis ▪ Rauchen

Tabelle 2. Risikofaktoren für eine Lungenembolie; modifiziert nach Anderson und Spencer (2003) und der Leitlinie der European Society of Cardiology (Torbicki et al. 2008, S. 2280).

Dyspnoe als Ausdruck einer respiratorischen Insuffizienz ist häufig das führende klinische Symptom einer Lungenembolie (siehe Tabelle 1). Pathophysiologisch erklärt wird dies durch ein Perfusions-Ventilations-Missverhältnis, das zum einen im Rahmen des Euler-Liljestrand-Mechanismus zu intrapulmonalen rechts-links-Shunts und zum anderen zu einer Erhöhung des funktionellen Totraumes und so insgesamt zu Gasaustauschstörungen und Hypoxämie führt. Die Ausdehnung der anatomischen Obstruktion des arteriellen Lungengefäßbettes korreliert grundsätzlich mit der Erhöhung des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) und der daraus resultierenden rechtsventrikulären Funktionsstörung. Ab einer Obstruktion von 30-50% ist mit hämodynamischen Konsequenzen zu rechnen und ab einem mittleren pulmonalarteriellen Druck (mPAP) von ca. 40 mmHg ist die Kompensationsfähigkeit des rechten Ventrikels erschöpft (McIntyre und Sasahara 1971).

Darüber hinaus ist jedoch das Ausmaß der hämodynamischen Auswirkungen der Lungenembolie auf den Kreislauf von dem individuellen Kompensationsvermögen des jeweiligen Patienten abhängig, nämlich 1.) von einer Vorschädigung des rechten Ventrikels (z.B. durch chronisches Cor pulmonale, abgelaufenen rechtsventrikulären Infarkt), 2.) vom Vorliegen von Komorbiditäten und 3.) vom Allgemeinzustand des Patienten (Wood 2002). Der klinische Schweregrad einer Lungenembolie korreliert daher nur indirekt (und allenfalls grob) mit der Größe, Form oder anatomischen Verteilung des Thrombus in den Pulmonalarterien, sondern vielmehr mit dem Ausmaß der rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion (Alpert et al. 1976; Ghaye et al. 2006). In jedem Fall kann ein abrupter Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes und der rechtsventrikulären Nachlast zu einer rechtsventrikulären Dilatation und Hypokinesie führen. Diese initiiert einen Circulus virtuosus aus erhöhtem myokardialen Sauerstoffbedarf, Myokardischämie bis hin zur Infarzierung, Reduktion der linksventrikulären Vorlast und schließlich Abfall des Herzzeitvolumens. Klinisch imponiert dieses als Synkope, Blutdruckabfall bis hin zum kardiogenen Schock und plötzlichen Herztod aufgrund akuten Rechtsherzversagens (Konstantinides 2005).

1.1.3 Initiale, klinische Risikostratifizierung der akuten Lungenembolie

Die Risikostratifizierung dient der Abschätzung des individuellen Risikos eines Patienten, an der Lungenembolie zu versterben oder schwere Komplikationen zu entwickeln, mit dem Ziel einer individuellen risikoadaptierten Therapie. Die Notwendigkeit einer Risikostratifizierung besteht aufgrund der prognostischen Heterogenität von Patienten mit Lungenembolie: Während hämodynamisch instabile Patienten eine Mortalitätsrate von über 15% - in einigen Studien bis zu 65% (Kasper et al. 1997b; Kucher et al. 2006; Wood 2002) - haben, liegt die Letalität bei hämodynamisch stabilen Patienten ohne rechtsventrikuläre Dysfunktion bei weniger als 1% (Grifoni et al. 2000; Kasper et al. 1997a; Ribeiro et al. 1997).

Diese Erkenntnisse haben kürzlich zur Etablierung einer risikoadaptierten Einteilung von Patienten mit akuter Lungenembolie durch die European Society of Cardiology (ESC) (Torbicki et al. 2008) geführt (siehe Abbildung 2). Als Grundlage für diese Einteilung dient der klinische Nachweis (oder Ausschluss) einer hämodynamischen Instabilität (persistierende arterielle Hypertonie, definiert als systolischen Blutdruck <90 mmHg oder Abfall des systolischen Blutdrucks um >40 mmHg für >15 Minuten, oder kardiogener Schock), denn dieser Befund bestimmt, inwiefern es sich um eine akut lebensbedrohliche Situation handelt.

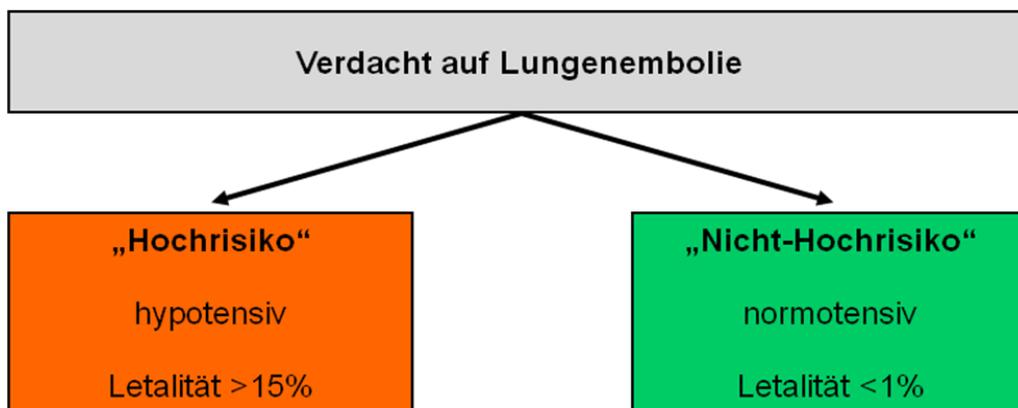


Abbildung 2. Risikoadaptierte Einteilung von Patienten mit akuter Lungenembolie; modifiziert nach der Leitlinie der European Society of Cardiology (Torbicki et al. 2008).

Die Einteilung in „Hochrisiko“-Patienten und „Nicht-Hochrisiko“-Patienten ermöglicht eine an die Dringlichkeit der Situation angepasste diagnostische Strategie und entscheidet über das therapeutische Vorgehen nach definitiver Bestätigung der akuten Lungenembolie.

1.1.4 Risikoadaptierte Diagnostik

Angesichts der unspezifischen Symptome und klinischen Zeichen besteht die Herausforderung in der Diagnostik der Lungenembolie darin, durch die Entwicklung geeigneter diagnostischer Algorithmen unnötige kosten- und zeitaufwändige Untersuchungen zu vermeiden. Andererseits muss sichergestellt werden, dass kein Patient mit Lungenembolie unerkannt und somit unbehandelt bleibt, da das Risiko eines potentiell lebensbedrohlichen Rezidivs ohne effektive Antikoagulation besonders hoch ist (Konstantinides 2008b).

Die von der European Society of Cardiology (ESC) im August 2008 veröffentlichten Leitlinien zu Diagnose und Management der Lungenembolie (Torbicki et al. 2008) berücksichtigen diese Anforderungen und empfehlen abhängig von der hämodynamischen Stabilität des Patienten, und somit der Prognose, ein differenziertes Vorgehen:

- a) Bei hämodynamisch instabilen „Hochrisiko“-Patienten steht die rasche Diagnosefindung und schnelle Therapieeinleitung im Vordergrund (siehe Abbildung 3).

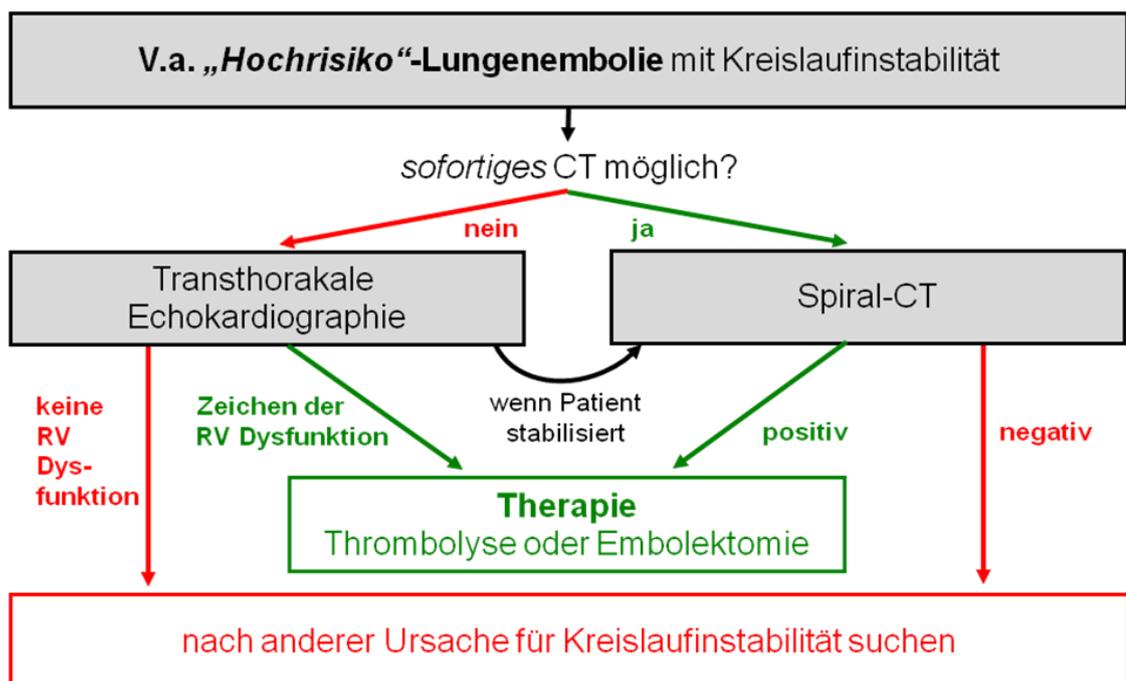


Abbildung 3. Diagnostischer Algorithmus für hämodynamisch instabile Patienten mit vermuteter „Hochrisiko“-Lungenembolie; modifiziert nach der Leitlinie der European Society of Cardiology (Torbicki et al. 2008).

Dabei ist auf die Durchführung einer Spiral-Computertomographie (CT) zu verzichten, wenn diese nicht unverzüglich verfügbar ist. In diesem Fall wird eine transthorakale Echokardiographie durchgeführt – wenn keine Zeichen einer rechtsventrikulären (RV)

Dysfunktion nachweisbar sind, kann eine Lungenembolie als Ursache für die hämodynamische Instabilität ausgeschlossen werden (die Echokardiographie gilt jedoch nicht als diagnostische Untersuchung).

- b) Bei hämodynamisch stabilen „Nicht-Hochrisiko“-Patienten steht eine hohe diagnostische Sicherheit (Sensitivität und Spezifität) im Vordergrund. Eine genaue Anamnese (insbesondere der Risikofaktoren und klinischen Symptome) sowie die Basisdiagnostik, bestehend aus EKG, Thorax-Röntgenaufnahme, laborchemischen Parametern und der Erfassung der Vitalparameter (Bewusstsein, Atmung, Herzfrequenz, Blutdruck und Sauerstoffsättigung), können lediglich den klinischen Verdacht verstärken oder schwächen. Zur genauen Abschätzung der klinischen Wahrscheinlichkeit wurde von Wells et al. ein klinischer Score (Wells et al. 2000) entwickelt (Tabelle 3), der auch Anwendung im diagnostischen Algorithmus der ESC für hämodynamisch stabile Patienten findet (siehe Abbildung 4). Alternativ findet der kürzlich überarbeitete und validierte Genfer Score (Le Gal et al. 2006) verbreitete Anwendung. Mittels D-Dimer-Test kann bei negativem Testergebnis ($<0,5 \mu\text{g/l}$) und dem Vorliegen einer niedrigen klinischen Wahrscheinlichkeit eine Lungenembolie ausgeschlossen werden (Wells et al. 2003) (siehe Abbildung 4).

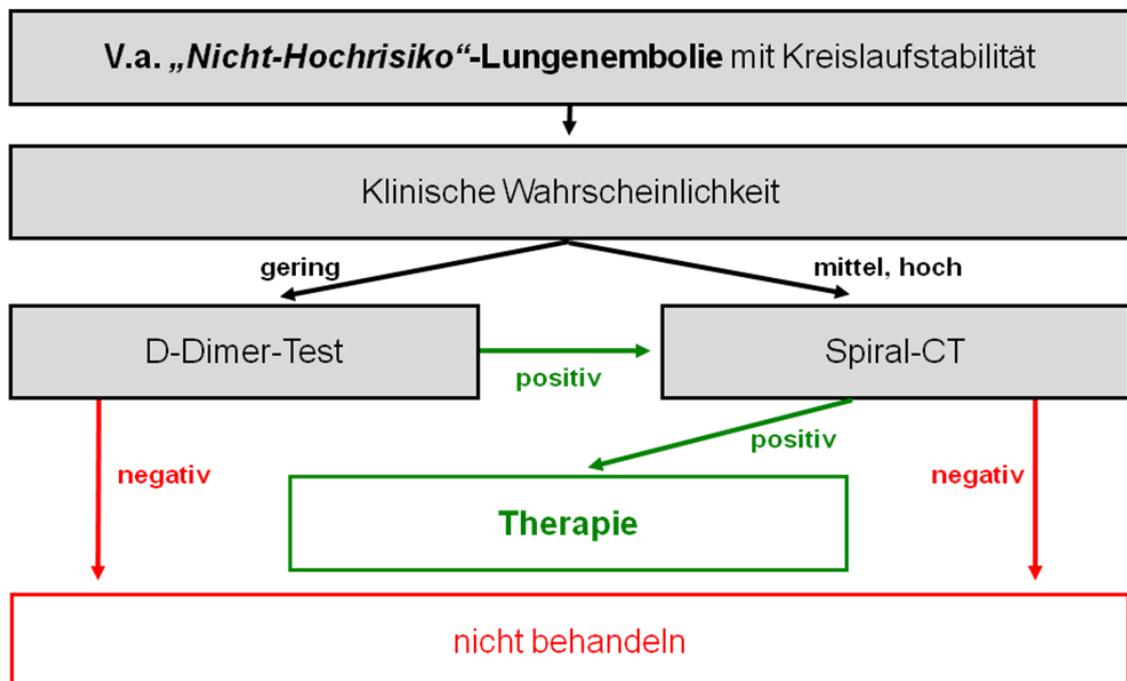


Abbildung 4. Diagnostischer Algorithmus für hämodynamisch stabile Patienten mit vermuteter „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie; modifiziert nach der Leitlinie der European Society of Cardiology (Torbicki et al. 2008).

	Punkte
Klinische Zeichen und Symptome einer tiefen Beinvenenthrombose	3
Andere Diagnose als Lungenembolie unwahrscheinlich	3
Frühere tiefe Beinvenenthrombose oder Lungenembolie	1,5
Immobilisierung oder Operation <4 Wochen	1,5
Herzfrequenz >100 /min	1,5
Hämoptysen	1
Maligner Tumor	1
Niedrig	<2
Mittel	2-6
Hoch	>6

Tabelle 3. Wells' Score zur Abschätzung der klinischen Wahrscheinlichkeit; modifiziert nach Wells et al. (2000, S. 418). Bei Dichotomisierung: Lungenembolie unwahrscheinlich bei 0-4 Punkten, Lungenembolie wahrscheinlich bei >4 Punkten.

Die Spiral-Computertomographie (CT) hat seit der Einführung von Mehrzeilendetektoren mit verkürzter Aufnahmezeit und reduzierter Strahlenbelastung die invasive Pulmonalisangiographie als Goldstandard in der Lungenemboliediagnostik abgelöst (Perrier et al. 2005). Vorteile liegen insbesondere in der gleichzeitigen Beurteilbarkeit des thorakalen Raumes und so dem Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen sowie der Beurteilung des rechten Ventrikels zur Risikostratifizierung (siehe Kapitel 1.2). Bei Kontrastmittelallergie, Niereninsuffizienz oder sonstigen Kontraindikationen gegen die Durchführung einer CT-Untersuchung steht die kombinierte Ventilations- / Perfusions-Szintigraphie zur Verfügung – ein seit langem etabliertes Verfahren mit geringer Invasivität und niedriger Strahlenbelastung, jedoch mit einer niedrigen Spezifität und einem hohen Anteil nicht-diagnostischer Befunde (The PIOPED Investigators 1990).

1.1.5 Risikoadaptierte Therapie

- a) Patienten mit „Hochrisiko“-Lungenembolie sind gefährdet durch eine hohe und frühe Mortalität (Stein und Henry 1995; Wood 2002) und benötigen daher – abgesehen von der sofortigen Antikoagulation mit unfraktioniertem Heparin als Bolus mit anschließender Dauerinfusion – eine rekanalisierende Therapie in Form einer Thrombolyse, chirurgischen Embolektomie oder kathetertechnischen Thrombusaspiration / -fragmentation (Brady et al. 1991; Konstantinides 2008a; Kucher und Goldhaber 2005). Eine Thrombolyse führt bei 92% der Patienten (Meneveau et al. 2006) zur schnellen Auflösung der pulmonalen Obstruktion und einer Verbesserung der hämodynamischen Parameter (Dalla-Volta et al. 1992; Fam und Verma 2002; Goldhaber et al. 1993) und reduziert die Letalität (Wan et al. 2004). Abhängig vom klinischen Zustand des Patienten ist der Einsatz von vasopressiven Substanzen wie Noradrenalin und von positiv inotropen Substanzen wie Dobutamin zu erwägen.
- b) Bei Patienten mit „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie wird dagegen eine Thrombolyse nicht routinemäßig empfohlen. Diese Patienten werden mit subkutan injizierten niedermolekularen Heparinen oder Fondaparinux in gewichtsadaptierter Dosierung behandelt.

Ohne effektive Sekundärprophylaxe kann die Rezidivrate symptomatischer venöser Thromboembolien bis zu 30% in einem Zeitraum von 10 Jahren betragen (Heit et al. 2000). Daher werden alle Patienten (unabhängig von der hämodynamischen Stabilität bei Aufnahme) über mindestens 5 Tage mit Heparin und überlappend mit Vitamin-K-Antagonisten behandelt. Die Heparin-gabe wird erst dann beendet, wenn die INR (International Normalized Ratio) im therapeutischen Bereich liegt (Ziel-INR 2,0-3,0). Die Dauer der oralen Antikoagulation richtet sich nach dem individuellen Risikoprofil – nach „idiopathischer“ Lungenembolie wird empfohlen, bei stabiler Antikoagulation und niedrigem Blutungsrisiko eine unbefristete Weiterführung der Therapie zu erwägen (Agnelli et al. 2003).

1.1.6 Chronisch-Thromboembolische Pulmonale Hypertension – eine chronische Komplikation der Lungenembolie?

Die Chronisch-Thromboembolische Pulmonale Hypertension (CTEPH) ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, die zunehmend als eine der führenden Ursachen für eine Pulmonalarterielle Hypertension (PAH) anerkannt wird (Galie et al. 2009; Hoeper et al. 2006; Lang 2004; Simonneau et al. 2004).

Die Pathogenese der Erkrankung ist nach wie vor unzureichend bekannt, jedoch wird gemeinhin angenommen, dass einzelne oder wiederholte Thromboembolien in der Lunge einen aberranten Prozess der Thrombusformation, gefolgt von sekundärem progressiven pulmonalvaskulären Remodeling und Obliteration initiieren. Die physiologische Fibrinolyse und Resorption des embolisierten thrombotischen Materials unterbleibt aus bislang ungeklärter Ursache. Stattdessen wird der Embolus über Monate bis Jahre durch fibröses Gewebe ersetzt und in die Intima und Media der proximalen Pulmonalarterien eingebaut mit Okklusion des nachfolgenden Lungengefäßabschnittes. Die weiterhin perfundierten peripheren Gefäßabschnitte sind einem erhöhten intravasalen Druck und Scherstress ausgesetzt, der neben Entzündungsreaktionen und dem Ungleichgewicht vasoaktiver Mediatoren zu einem vaskulären Remodeling und der Entwicklung einer sekundären „small-vessel“ Arteriopathie mit progressiver Obliteration und Obstruktion der peripheren pulmonalarteriellen Strombahn führt. Beide Prozesse gemeinsam tragen zum Anstieg des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) und des pulmonalarteriellen Druckes (PAP) mit resultierender Pulmonalarteriellen Hypertension und progressivem rechtsventrikulären Versagen bei (Dartevelle et al. 2004; Hoeper et al. 2006; Moser et al. 1990).

Ältere Studien suggerierten, dass nur 0,1-0,5% aller Patienten, die eine akute Lungenembolie überlebt haben, eine CTEPH entwickeln (Moser et al. 1990; Tapson und Humbert 2006). Neuere Daten deuten jedoch darauf hin, dass ihre Inzidenz nach einer symptomatischen Lungenembolie zwischen 1% im 3-Jahres-Follow-up (Becattini et al. 2006) und 3,8% im 2-Jahres-Follow-up (Pengo et al. 2004) beträgt. Bei einer jährlichen Inzidenz von ca. 50 Lungenemboliefällen pro 100.000 Einwohner (Stein et al. 2004a) würde sich rechnerisch eine Inzidenz von ca. 10 CTEPH-Fällen pro 1 Million Einwohner ergeben – mit relevanter Bedeutung und Belastung für Patienten und Gesundheitssystem. Kürzlich publizierte retrospektiv erfasste Daten geben eine Inzidenz von 2 Fällen pro 1 Million Einwohner in Großbritannien an (Condliffe et al. 2008).

Wie auch bei anderen Formen der akuten und chronischen pulmonalen Hypertension sind der natürliche Verlauf und die Prognose von Patienten mit CTEPH weitestgehend bestimmt durch die progressive Entwicklung einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion und schließlich RV Versagen. Im Frühstadium wird die Erkrankung aufgrund des erhaltenen RV Adaptationsvermögens und so mangelnder Symptomatik meist nicht erkannt (sog. „honeymoon“ Periode (Moser et al. 1990)). Symptome manifestieren sich erst ab einem funktionellen Verlust von >60% des pulmonalen Gefäßbettes und sind häufig unspezifisch (Zeichen der Rechtsherzinsuffizienz) und die Herausforderung besteht daher in einer möglichst frühzeitigen Diagnosestellung.

Die Abschätzung der Schwere der Erkrankung und so der Prognose von Patienten mit PAH ist für Therapieentscheidungen (Wahl der initialen Therapie, Therapieerfolgskontrolle und ggf. Eskalation der Therapie) von entscheidender Bedeutung. Die Ätiologie der PAH (McLaughlin et al. 2004) sowie klinische (WHO-Funktionsklasse, NYHA-Funktionsklasse, 6-Minuten-Gehtest, kardiopulmonale Belastungstests zur Evaluation der funktionellen Kapazität), echokardiographische (Perikarderguss, RA Dilatation, RV Doppler Index, LV Exzentrizitäts-Index, TAPSE) und hämodynamische Parameter (pulmonalarterielle O₂ Sättigung, mittlerer pulmonalarterieller Druck (mPAP), mittlerer rechtsatrialer Druck (mRAP), Cardiac Output (CO), Cardiac Index (CI), pulmonaler Gefäßwiderstand (PVR), Vasoreagibilität) sind dabei von etabliertem Wert (Galie et al. 2009; Hoeper et al. 2006). Die wichtigsten Parameter mit etablierter prognostischer Bedeutung sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Gute Prognose	Parameter	Ungünstige Prognose
Nein	RV Versagen	ja
Langsam	Progress von Symptomen	schnell
Nein	Synkope	ja
I, II	WHO-Funktionsklasse	IV
>500 m	6-Minuten-Gehtest	<300 m
peak VO ₂ >15 ml/min/kg	Belastungstest	peak VO ₂ <12 ml/min/kg
Normal	(NT-pro)BNP	erhöht oder steigend
kein Perikarderguss, TAPSE >2,0 cm	Echokardiographie	Perikarderguss, TAPSE <1,5 cm
RAP <8 mmHg, CI ≥2,5 l/min/m ²	Hämodynamik	RAP >15 mmHg, CI ≤2,0 l/min/m ²

Tabelle 4. Etablierte Parameter für die Abschätzung von Schwere, Stabilität und Progress der Erkrankung bei Patienten mit PAH; modifiziert nach Galie et al. (2009, S. 2509).

1.2 Erweiterte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie und CTEPH - bildgebende Verfahren

Das Vorhandensein und Ausmaß einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion ist der entscheidende Faktor für die individuelle Prognose von Patienten mit akuter Lungenembolie (Konstantinides 2008c; McIntyre und Sasahara 1974) (siehe Kapitel 1.1.2). Daher erfolgt auf der Grundlage der hämodynamischen Stabilität bei Aufnahme die Einteilung in „Hochrisiko“- und „Nicht-Hochrisiko“-Patienten (siehe Kapitel 1.1.3). Darüberhinaus sehen die Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) eine weiterführende risikoadaptierte Einteilung in „niedriges“, „mittleres“ und „hohes“ Risiko vor (Torbicki et al. 2008) (siehe Abbildung 5).

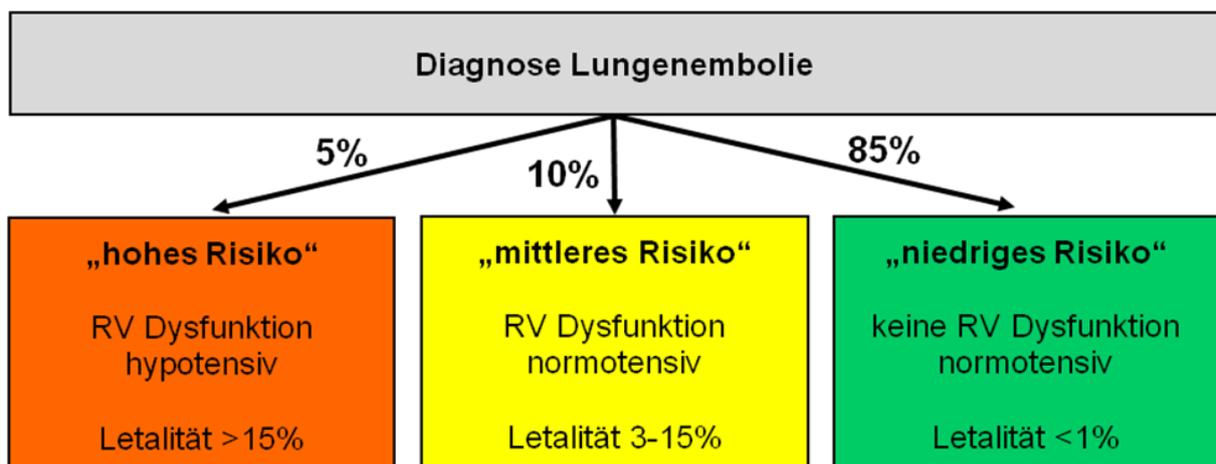


Abbildung 5. Erweiterte risikoadaptierte Einteilung von Patienten mit akuter Lungenembolie; modifiziert nach der Leitlinie der European Society of Cardiology (Torbicki et al. 2008).

Nach (klinischem) Ausschluss einer hämodynamischen Instabilität wird anhand biochemischer Marker wie der Troponine, als Marker für eine Myokardischämie, oder der natriuretischen Peptide, als Marker für eine Ventrikeldehnung und Volumenüberlastung (siehe Kapitel 1.3), und / oder des visuellen Nachweises einer RV Dysfunktion mittels bildgebender Verfahren zwischen Patienten mit „mittlerem“ und „niedrigem“ Risiko differenziert (Torbicki et al. 2008).

Als bildgebendes Verfahren der Wahl gilt derzeit die bettseitige transthorakale Echokardiographie (Konstantinides 2005). Echokardiographische Zeichen der RV Dysfunktion (definiert als $RV > LV$ oder $RVEDD > 30\text{mm}$, paradoxe Septumbewegungen, Verlust des inspiratorischen Kollapses der Vena cava inferior (Kasper et al. 1997b)) werden bei 40-70% der Patienten gefunden. In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass das seit

mehr als 20 Jahren angewandte Verfahren nützliche Informationen zur Prognoseabschätzung von hämodynamisch stabilen Patienten liefern kann. In einer kürzlich publizierten Metaanalyse wurden diese Studien zusammengefasst und gezeigt, dass der echokardiographische Nachweis einer RV Dysfunktion bei normotensiven Patienten mit einem signifikant erhöhten Risiko (Odds Ratio 2,5; Konfidenzintervall 1,2 – 5,5) zu versterben assoziiert war (Sanchez et al. 2008). Außerdem erhält man neben prognostischen Informationen und Aussagen über die Dimensionen und Funktion des rechten (und linken) Ventrikels Informationen über in ca. 4% der Fälle vorhandene rechtsatriale Thromben ((Ferrari et al. 2005) (5,2%), (Torbicki et al. 2003a) (3,9%)) und ermöglicht den Ausschluss verschiedener Differentialdiagnosen wie Perikardtampnade, akute Klappendysfunktionen, akuter Myokardinfarkt oder Hypovolämie. Limitationen für die Anwendung der transthorakalen Echokardiographie zur Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie beinhalten:

- 1.) Fehlende Standardisierung des Verfahrens. Auch wenn der prognostische Stellenwert der Echokardiographie von verschiedenen Studien übereinstimmend bestätigt worden ist, sind die echokardiographischen Kriterien für den Nachweis einer RV Dysfunktion nicht standardisiert und variieren teilweise stark in diesen Studien (ten Wolde et al. 2004).
- 2.) Untersuchungsbedingte Confounder. Bei Patienten mit vorbestehender linksventrikulärer Pumpfunktionseinschränkung oder Mitralvitien hat die Echokardiographie eine eingeschränkte prognostische Aussagekraft und bei chronischem Cor pulmonale ist die echokardiographische Diagnose einer akuten RV Dysfunktion zwar unter Umständen möglich, oft jedoch unzuverlässig (Kasper et al. 1993). Des Weiteren kann die Darstellungsqualität durch Patienten-bedingte (Adipositas, Lungenemphysem, maschinelle Beatmung, Compliance) und Untersucher-bedingte Faktoren (mangelnde Erfahrung, Müdigkeit) limitiert sein.
- 3.) Mangelnde Verfügbarkeit. Die Durchführung einer Echokardiographie ist abhängig von dem Vorhandensein eines geeigneten Gerätes und der Anwesenheit eines befähigten Untersuchers. Insbesondere Letzteres kann in kleineren Krankenhäusern nicht immer rund um die Uhr gewährleistet werden (Konstantinides 2005; Logeart et al. 2007).

Die Computertomographie (CT) erlaubt seit der Einführung von Mehrzeilendetektoren die Beurteilung der Dimensionen des rechten Ventrikels. In retrospektiven Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass ein RV / LV Dimensionenverhältnis von $\geq 0,9$ bzw. $\geq 1,0$ im Vierkammerblick eine ungünstige Prognose voraussagt (Ghaye et al. 2006; Schoepf et al. 2004; van der Meer et al. 2005).

1.3 Erweiterte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie und CTEPH - kardiale Biomarker?

Kardiale Biomarker werden seit vielen Jahren erfolgreich in der Diagnostik und Risikostratifizierung von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen eingesetzt. Sie stellen eine kostengünstige, zeitsparende und ubiquitär verfügbare Alternative zu sonstigen diagnostischen Verfahren dar und sind daher im klinischen Alltag – sowohl im stationären als auch im ambulanten Bereich – weit verbreitet. Natriuretische Peptide und kardiale Troponine sind von etabliertem Stellenwert in der Diagnose, Risikostratifizierung und Therapiekontrolle von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Braunwald 2008; Dickstein et al. 2008) und Patienten mit Akutem Koronarsyndrom (Bassand et al. 2007), aber auch bei einer Reihe von weiteren kardialen Erkrankungen, die mit einer myokardialen Dysfunktion respektive Schädigung einhergehen, von prognostischer Bedeutung (Burke und Cotts 2007; Daniels und Maisel 2007; Howie-Esquivel und White 2008; Korff et al. 2006). So sind kardiale Biomarker heutzutage auch in das Management von Patienten mit akuter Lungenembolie involviert (Konstantinides 2005; Kucher und Goldhaber 2003) und dienen seit der Veröffentlichung der aktuellen Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) im August 2008 zur Einteilung normotensiver Patienten in „niedriges“ und „mittleres“ Risiko (Torbicki et al. 2008) (siehe Kapitel 1.2).

Natriuretische Peptide, als Marker der neurohumoralen Aktivierung infolge einer ventrikulären Volumenbelastung und Dilatation, dienen bei Patienten mit akuter Lungenembolie als Indikator für das Vorliegen einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion. Erstmals wurde 1997 von Kurose et al. in einem Case Report beschrieben, dass BNP-Plasmakonzentrationen bei einer Patientin mit akuter Lungenembolie erhöht sind (Kurose et al. 1997). Seither ist eine Vielzahl von Publikationen erschienen, die den prognostischen Stellenwert von natriuretischen Peptiden untersucht haben und zeigen konnten, dass erhöhte Plasmalevel mit einem erhöhten Risiko für einen komplizierten klinischen Verlauf und Mortalität assoziiert sind. Diese wurden kürzlich in zwei Metaanalysen zusammengefasst (Cavallazzi et al. 2008; Klok et al. 2008).

Kardiale Troponine, als Marker einer myokardialen Zellnekrose nach Ischämie, dienen bei Patienten mit akuter Lungenembolie als Indikator für eine myokardiale RV Schädigung. In den vergangenen Jahren haben sich kardiale Troponine in zahlreichen Studien als vielversprechende Biomarker für die Risikostratifizierung bewährt, und der Nachweis erhöhter

Plasmaspiegel ist assoziiert mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion sowie einem komplizierteren Verlauf und Kurzzeitmortalität. Auch diese Studien wurden kürzlich in einer Metaanalyse zusammengefasst (Becattini et al. 2007).

Weiterhin finden Biomarker im Bereich der Diagnostik Anwendung: Ein negativer D-Dimer-Test ($<0,5 \mu\text{g/ml}$) kann eine akute Lungenembolie mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen (hohe Sensitivität und negativer prädiktiver Wert) (Stein et al. 2004b).

Für Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonalen Hypertension (CTEPH) stehen für die Abschätzung der Schwere der Erkrankung und der Prognose vorzugsweise invasiv ermittelte hämodynamische Parameter, die auch für Therapieentscheidungen (z.B. Indikationsstellung zur pulmonalen Thrombendarterektomie) von großer Bedeutung sind, zur Verfügung. Wie aus der Tabelle 4 (Kapitel 1.1.6) ersichtlich wird, fehlen derzeit für die meisten Parameter geeignete Cutoff-Werte, um zwischen Patienten mit vorteilhafter und ungünstiger Prognose differenzieren zu können. Neben der Etablierung von Cutoff-Werten besteht die Herausforderung in der Etablierung (neuer) geeigneter Biomarker, um Patienten mit einer ungünstigen Prognose zu identifizieren, die von einer frühzeitigen aggressiveren Therapie profitieren würden. Die Vorteile von Biomarkern werden insbesondere in der geringeren Invasivität, verglichen mit dem Rechtsherzkatheter, und in einer größeren Objektivität, verglichen mit dem 6-Minuten-Gehtest und der WHO-Funktionsklasse, gesehen. Bislang ist die Bedeutung von kardialen Biomarkern für die Diagnose und das nicht-invasive Monitoring einer chronischen RV Dysfunktion sowie für die Prognoseabschätzung von Patienten mit Pulmonalarterieller Hypertension unzureichend untersucht. Insbesondere liegen derzeit nur eine kleine Anzahl von Studien vor, die den prognostischen Stellenwert von Troponin T und (NT-pro)BNP bei Patienten mit CTEPH untersucht haben (Andreassen et al. 2006; Blyth et al. 2007; Nagaya et al. 1998; Reesink et al. 2007; Suntharalingam et al. 2007). Dennoch lassen diese Studien die Annahme zu, dass kardiale Biomarker hilfreiche Tools für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit CTEPH sein könnten.

In diesem Abschnitt der Arbeit werden die beiden etablierten Biomarker N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid (NT-proBNP) und Troponin T sowie die beiden neuen Biomarker heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) und growth-differentiation factor-15 (GDF-15) vorgestellt.

1.3.1 N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid

Die strukturell und funktionell verwandte Gruppe der natriuretischen Peptide besteht aus dem als erstes entdeckten (de Bold et al. 1981) atrialen natriuretischen Peptid (ANP), dem 1988 erstmals beschriebenen brain-natriuretischen Peptid (BNP) (Sudoh et al. 1988), C-type natriuretischen Peptid (CNP), dendroaspis natriuretischen Peptid (DNP) und Urodilatin (Piechota et al. 2008). Nach Volumenüberlastung und mechanischer Dehnung des Myokards (Yasue et al. 1994) sowie durch neurohormonale Aktivierung (Endothelin-1, Angiotensin II) (Liang und Gardner 1998) wird das prä-proBNP (134 Aminosäuren) von ventrikulären Kardiomyozyten synthetisiert. Nach proteolytischer Abspaltung des C-terminalen Peptides (26 Aminosäuren) wird das entstandene Vorläufermolekül proBNP (108 Aminosäuren) durch die Serinprotease Corin im Verhältnis 1:1 in das hormonell aktive BNP (32 Aminosäuren; 77-108) und das inaktive N-terminale proBNP (76 Aminosäuren, 1-76) gespalten und beide Peptide in die Zirkulation freigesetzt (Levin et al. 1998; Mair et al. 2001; Piechota et al. 2008). Für den klinischen Einsatz als Biomarker bietet sich NT-proBNP an, da es im Vergleich zu BNP über eine längere Plasmahalbwertszeit (60-120 Minuten vs. 20 Minuten) und bessere Plasmastabilität verfügt (Daniels und Maisel 2007; Omland et al. 1996). Die physiologischen Hauptfunktionen der natriuretischen Peptide bestehen in einer Steigerung der Natriurese und Diurese, der peripheren Vasodilatation (arteriell und venös), der Inhibierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und des sympathischen Nervensystems sowie in der Reduktion der myokardialen Proliferation. Durch die resultierende Blutdrucksenkung und Vor- und Nachlast-Senkung wird das Herz entlastet (de Lemos et al. 2003; Levin et al. 1998).

Aufgrund der guten Korrelation von Plasmakonzentrationen und dem Ausmaß der ventrikulären Dysfunktion (Maisel et al. 2001) haben natriuretische Peptide einen hohen Stellenwert in der Diagnose, Risikostratifizierung und Therapiekontrolle von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Braunwald 2008; Dickstein et al. 2008; Rodeheffer 2004). Insbesondere im Rahmen der differentialdiagnostischen Abgrenzung der Ätiologie des Leitsymptoms Dyspnoe (respiratorisch vs. kardial) haben sich natriuretische Peptide bewährt (Daniels und Maisel 2007; Mueller et al. 2004). Erhöhte (NT-pro)BNP-Konzentrationen sind Prädiktoren für kardiovaskuläre Ereignisse und ein erhöhtes Mortalitätsrisiko (Wang et al. 2004) und bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit und Akutem Koronarsyndrom assoziiert mit einer erhöhten Mortalität und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz (de Lemos et al. 2001; Jernberg et al. 2004; Sabatine et al. 2004). Aber auch

bei weiteren kardialen Erkrankungen wie Kardiomyopathie, Herzklappenerkrankungen, Rhythmusstörungen und arterieller Hypertonie (Baggish et al. 2008; Burke und Cotts 2007), bei eingeschränkter Nierenfunktion (Tsutamoto et al. 2006) sowie im fortgeschrittenen Alter (Wang et al. 2002) und bei Frauen können (NT-pro)BNP-Spiegel erhöht sein.

Bei Patienten mit Pulmonalarterieller Hypertension (PAH) steigen BNP-Spiegel proportional zum Ausmaß der rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion (Nagaya et al. 1998) und korrelieren mit hämodynamischen Parametern und so mit der Schwere der Erkrankung (Leuchte et al. 2004). (NT-pro)BNP konnte als Prädiktor für Langzeitmortalität bei Patienten mit PAH (meist unterschiedlicher Ätiologie) (Andreassen et al. 2006; Blyth et al. 2007; Fijalkowska et al. 2006; Nagaya et al. 2000) und bei Patienten mit CTEPH (Suntharalingam et al. 2007) identifiziert werden. Bislang fehlen etablierte Cutoff-Werte sowohl für NT-proBNP als auch für BNP und die verfügbaren Studienkollektiv-optimierten Cutoff-Werte variieren stark. Erhöhte (NT-pro)BNP-Spiegel sind ein Indikator für das Vorliegen einer akuten RV Dysfunktion bei Patienten mit akuter Lungenembolie und assoziiert mit einem erhöhten Risiko für einen komplizierten klinischen Verlauf und Mortalität (Kucher et al. 2003c; Kucher et al. 2003a; Pieralli et al. 2006; Pruszczyk et al. 2003b; ten Wolde et al. 2003). Darüberhinaus liefern sie in der Kombination mit der Echokardiographie additive prognostische Informationen (Binder et al. 2005; Kostrubiec et al. 2005) und dienen zur Einteilung normotensiver Patienten in „niedriges“ und „mittleres Risiko“ (Torbicki et al. 2008).

Limitationen für die Verwendung von NT-proBNP zur Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie ergeben sich zum einen aus dem verzögerten Anstieg von (NT-pro)BNP Plasmaspiegeln nach myokardialer Dehnung (Hama et al. 1995) und der resultierenden Häufung von falsch-negativen Testergebnissen. Zum anderen wird aufgrund der Vielzahl von Einflussgrößen auf die Höhe von NT-proBNP Plasmaspiegeln die Etablierung geeigneter Cutoff-Werte und Interpretation erhöhter Plasmaspiegel erschwert - als Referenzlevel für junge gesunde Individuen gelten 70 pg/ml (Daniels et al. 2008) und bei Patienten mit Dyspnoe 300 pg/ml (Januzzi et al. 2005), um eine Herzinsuffizienz auszuschließen. Für Patienten mit Lungenembolie gibt es derzeit keinen etablierten Cutoff-Wert (Giannitsis und Katus 2005), und in der Literatur werden unterschiedliche Werte zwischen 500 und 1000 pg/ml angegeben, die in den meisten Studien anhand receiver operating characteristics (ROC) Analyse in dem vorliegenden Patientenkollektiv generiert worden sind (Klok et al. 2008). Erhöhte (NT-pro)BNP-Spiegel sind somit gekennzeichnet durch eine geringe Spezifität und einen niedrigen positiven prädiktiven Wert für Kurzzeitmortalität (Sohne et al. 2004).

1.3.2 Troponin T

Troponine sind Komponenten des kontraktiven Apparates der quergestreiften Muskulatur. Der ternäre Troponinkomplex besteht aus den Subtypen Troponin T (Tropomyosin-bindend), Troponin I (inhibitorisch) und Troponin C (Kalzium-bindend). Durch kalziumabhängige Konformationsänderung des Troponinkomplexes wird eine Verschiebung der dünnen Aktinfilamente gegen die dickeren Myosinfilamente ermöglicht und so der Kontraktionsablauf reguliert (Farah und Reinach 1995; Maytum et al. 2002). Bereits seit 1975 ist bekannt, dass es sich bei Troponinen des Skelettmuskels und Herzmuskels um unterschiedlich Isoformen handelt (Drabikowski et al. 1975). Bei identischer Funktion unterscheiden sie sich hinsichtlich ihrer Aminosäurestruktur und ihres Molekulargewichtes. So sind auch für Troponin T verschiedene Isoformen beschrieben – in schnell und langsam kontrahierenden Muskeln sowie im Herzmuskel (Katus et al. 1992). Humanes kardiales Troponin T (cTnT) hat eine Molekulargewicht von 37 kDa und besteht aus 288 Aminosäuren.

Aufgrund ihrer hohen Gewebespezifität sind die kardialen Troponine T und I herzspezifische und sehr sensitive Marker für eine myokardiale Schädigung. Ihre heutige klinische Bedeutung liegt vor allem in der Diagnostik, Risikostratifizierung und Therapieoptimierung von Patienten mit Akutem Koronarsyndrom. Die umfangreichen klinischen und experimentellen Erkenntnisse über kardiale Troponine im Kontext einer myokardialen Ischämie führten im Jahr 2000 zur Redefinition des akuten Myokardinfarktes in einem Consensus-Papier der European Society of Cardiology (ESC) und des American College of Cardiology (ACC) (Alpert et al. 2000) und ersetzte die WHO Definition aus dem Jahre 1979 (The Joint International Society and Federation of Cardiology / World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature 1979). Troponine gelten als die geeignetsten (unabhängigen) Biomarker, um einen komplizierten Verlauf bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom vorherzusagen (Antman et al. 1996; Bassand et al. 2007; Hamm et al. 1992; Lindahl et al. 2001), und die Identifizierung von Patienten mit erhöhten Troponin beeinflusst das therapeutische Vorgehen (Hamm et al. 1999; Heeschen et al. 1999). Troponine können jedoch auch bei anderen Erkrankungen, die mit einer myokardialen Schädigung einhergehen, erhöht sein – dieser Tatsache muss bei differentialdiagnostischen Abgrenzungen von Patienten mit akuter Dyspnoe Rechnung getragen werden. Insgesamt ist eine Erhöhung von Troponin T – unabhängig der zugrunde liegenden Ätiologie – assoziiert mit einem erhöhten Risiko für einen komplizierten Verlauf. Erhöhte Troponin Plasmaspiegel wurden u.a. bei Patienten mit

Herzinsuffizienz (Potluri et al. 2004), Myokarditis (Lauer et al. 1997), Herzkontusion (Swaanenburg et al. 1998), Rhythmusstörungen (Liu Z et al. 2006), Aortendissektion (Bonney et al. 2005) und hypertensiver Krise (Mahajan et al. 2006) gefunden. Aufgrund ihrer renalen Clearance wird eine Erhöhung von Troponin T auch bei Patienten mit Niereninsuffizienz beobachtet (Freda et al. 2002). Jedoch zeigen Studien, zumindest bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom, dass eine Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) nicht die prognostische Aussagekraft von Troponin T reduziert (Aviles et al. 2002).

In den vergangenen Jahren haben sich kardiale Troponine in zahlreichen Studien als vielversprechende Biomarker für die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie herausgestellt (Becattini et al. 2007). Darüberhinaus dienen sie nach den Leitlinien der ESC zur Einteilung normotensiver Patienten in „niedriges“ und „mittleres“ Risiko (Torbicki et al. 2008). Der Nachweis erhöhter Plasmaspiegel ist assoziiert mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion sowie einem komplizierteren Verlauf und Kurzzeitmortalität (Giannitsis et al. 2000; Janata et al. 2003; Konstantinides et al. 2002b; Kucher et al. 2003b; Meyer et al. 2000; Pruszczyk et al. 2003a). Von Torbicki et al. konnte 2003 gezeigt werden, dass erhöhte Troponin-T-Plasmakonzentrationen mit einer schlechten Prognose bei Patienten mit idiopathischer Pulmonalerterieller Hypertension assoziiert sind (Torbicki et al. 2003b). Studien, die den prognostischen Stellenwert von Troponin T bei Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonalen Hypertension (CTEPH) untersucht haben, liegen derzeit nicht vor.

Troponin T und I sind spezifischere und sensitivere Biomarker für eine myokardiale Schädigung als traditionelle Biomarker wie Myoglobin, Laktatdehydrogenase oder Kreatininkinase (CK) sowie ihr Isoenzym MB (CK-MB). Während ein Anstieg von CK und CK-MB aufgrund ihres größeren Molekulargewichtes erst nach 4-6 Stunden zu beobachten ist (Christenson und Azzazy 1998), steigen Troponin-T-Plasmaspiegel innerhalb von 3-4 Stunden nach myokardialer Ischämie an und bleiben für ca. 2 Wochen erhöht (Katus et al. 1989). Bei Patienten mit geringer myokardialer Schädigung sind Troponin-T-Erhöhung jedoch erst nach 24-48 Stunden messbar. Ein negatives Testergebnis schließt daher eine myokardiale Schädigung nicht aus, sondern erfordert repetitive Messungen in den ersten 6-12 Stunden nach Aufnahme (Bassand et al. 2007). Bei Patienten mit akuter Lungenembolie kann ein negativer Troponin-T-Test aufgrund seines hohen negativ prädiktiven Wertes von über 95% einen komplizierten Verlauf ausschließen, jedoch liegt der positiv prädiktive Wert nur bei 12-44% und ist daher für die Voraussage einer ungünstigen Prognose nicht ausreichend.

1.3.3 Heart-type fatty acid-binding protein

Die erstmals 1972 beschriebenen fatty acid-binding proteins (FABPs) (Ockner et al. 1972) gehören mit den Retinoid-bindenden Proteinen zur Familie der intrazellulären Lipid-bindenden Proteinen und bestehen aus neun unterschiedlichen Proteintypen: L-type FABP (Leber), I-type FABP (Intestinum), H-type FABP (Herz und Muskel), A-type FABP (Adipozyten), E-type FABP (Epidermis), II-type FABP (Ileum), B-type FABP (Gehirn), M-type FABP (MP2) (Myelin) und T-type FABP (Testis) (Chmurzynska 2006). Die Benennung erfolgte nach ihrer charakteristischen Gewebeverteilung, jedoch können die meisten FABP-Typen auch in anderen Geweben nachgewiesen werden (Gordon et al. 1985). Obwohl heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) auch in geringem Umfang von Skelettmuskulatur, und in noch geringerem Umfang von Gehirn, Niere, Magen, Hoden und der laktierenden Mamma / Plazenta exprimiert wird (Pelsers et al. 2005), wird der quantitative größte Anteil (ca. 80-90%) vom Herz exprimiert (Van Nieuwenhoven et al. 1995). Mit einem Anteil von 5-15% ist H-FABP eines der häufigsten zytoplasmatischen Proteine in Kardiomyozyten (Alhadi und Fox 2004).

H-FABP ist das Produkt des FABP3 Gens, welches aus 4 Exons und 3 Introns besteht und auf Chromosom 1 p32-p33 (Troxler et al. 1993) lokalisiert ist. Das mature H-FABP besteht aus 132 Aminosäuren und hat eine Größe von 15 kDa (Borchers et al. 1990). Trotz großer Unterschiede in ihrer Primärstruktur (126-137 Aminosäuren) mit einer Aminosäuresequenz-Homologie von 20-70%, zeigen zytoplasmatische FABPs eine nahezu identische Tertiärstruktur mit 10 antiparallelen β -Strängen, die in 2 orthogonalen β Faltblättern arrangiert werden, und 2 kurzen α -Helices (siehe Abbildung 6) (Zanotti et al. 1992; Zimmerman und Veerkamp 2002). Die hoch-affine Bindung von gesättigten und (mehrfach) ungesättigten Fettsäuren erfolgt in einer großen U-förmigen Bindungstasche, dem sogenannten β -Barrel, im Inneren der Klaffmuschelartigen Proteinstruktur (Veerkamp und Maatman 1995).



Abbildung 6. Dreidimensionale Tertiärstruktur von H-FABP mit einem gebundenen Molekül Ölsäure (weiß, Carboxylgruppe rot);

aus Zimmerman und Veerkamp (2002, S. 1100).

Die primäre physiologische Funktion von zytoplasmatischen FABPs besteht in dem intrazellulärem Transport von unlöslichen langkettigen Fettsäuren (Storch und Thumser 2000; Zimmerman und Veerkamp 2002). Nach Aufnahme über das Sarkolemm per diffusionem, „flip-flop“ oder Carrier-vermitteltem Transport, werden Fettsäuren nicht-kovalent an FABP gebunden und von der Plasmamembran zu Zellkompartimenten transportiert und so der metabolischen Konversion zugeführt (Schaap et al. 1998). Durch Translokation von Fettsäuren in den Nukleus sind FABPs an der Signaltransduktion und Regulation der Genexpression beteiligt (Zimmerman und Veerkamp 2002). Weiterhin wird vermutet, dass FABPs modulierend in Zellproliferations- und -differenzierungsprozesse eingreifen sowie Tumorsuppressive und zytoprotektive Eigenschaften besitzen (Glatz und van der Vusse 1996; Hohoff und Spener 1998). Nach Veränderungen im Fettmetabolismus beispielsweise durch Ischämie, Ausdauertraining, Diabetes, Hypertrophie oder Pharmazeutika wie Fibraten wird die zelluläre Expression von FABPs auf transkriptionaler Ebene reguliert (Pelsers et al. 2005).

Wie die meisten kleinmolekularen Proteine wird H-FABP durch renale Clearance eliminiert (Hall und Hardwicke 1979) und folglich sind H-FABP-Konzentrationen bei Patienten mit Niereninsuffizienz erhöht (Gorski et al. 1997). Unter physiologischen Umständen ist H-FABP im Plasma gesunder Individuen nahezu nicht nachweisbar (Alhadi und Fox 2004) und mediane Plasmaspiegel liegen bei ~1,6 ng/ml (Glatz et al. 1998). Das Verhältnis von intrazellulärem vs. extrazellulärem H-FABP beträgt etwa 200.000 : 1 (Glatz et al. 1994). Als oberer Referenzwert für normale H-FABP-Plasmakonzentrationen wurde 6 ng/ml definiert (Pagani et al. 2002). Erhöhte H-FABP-Spiegel wurden bei Männern, im Alter, höherem body mass index (BMI) und bei Skelettmuskelerkrankungen beobachtet (Niizeki et al. 2007a; Pelsers et al. 1999).

Bereits 1988 konnte erstmals gezeigt werden, dass H-FABP von geschädigtem Myokard freigesetzt wird (Glatz et al. 1988). Nach myokardialer Zellschädigung diffundiert das kleine zytoplasmatische Protein in den interstitiellen Raum und kann bereits nach 20 Minuten im Plasma nachgewiesen werden (Colli et al. 2007). Tanaka et al. konnten 1991 erstmalig zeigen, dass H-FABP ein geeigneter Biomarker für den Nachweis eines Myokardinfarktes ist (Tanaka et al. 1991). Bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom erreichen H-FABP Plasmaspiegel, in Abhängigkeit der Therapie, 4-8 Stunden nach Beginn der ersten Symptome ihr Maximum und kehren nach 24-30 Stunden in den Normalbereich zurück (Azzazy et al. 2006; Colli et al. 2007). Der schnelle Anstieg und Abfall von H-FABP-Plasmakonzentrationen wird einerseits durch die kleine Molekülgröße und das isolierte Vorkommen im Zytoplasma und andererseits durch die rasche renale Elimination erklärt. So ist H-FABP den etablierten myokardialen

Ischämie markern Troponin T (37 kDa), Kreatinkinase (CK) und ihrem Isoenzym MB (80 kDa), die aufgrund ihrer Molekülgröße und Strukturbindung erst nach >6 Stunden im Plasma nachgewiesen werden können, bezüglich der frühen Detektion einer myokardialen Ischämie überlegen (Bakker et al. 1993; Ishii et al. 2005; Nakata et al. 2003). Aber auch dem in Molekülgröße, Freisetzungskinetik und Gewebeverteilung vergleichbaren Myoglobin war H-FABP in mehreren Studien hinsichtlich der prognostischen Aussagekraft überlegen (Ishii et al. 1997). Grundsätzlich eignet sich H-FABP bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom als diagnostisches Tool für eine sichere und frühzeitige (<6 Stunden) Diagnosestellung (Ishii et al. 1997), die Bestimmung der Infarktgröße (Glatz et al. 1994), den Nachweis einer erfolgreichen Reperfusion nach Thrombolyse (de Lemos et al. 2000) und eines Re-Infarktes (<10 Stunden) (Alhadi und Fox 2004; Van Nieuwenhoven et al. 1995) sowie als prognostischer Marker für die Vorhersage von kardialen Ereignissen und Mortalität in der Hospitalphase (O'Donoghue et al. 2006) und im Langzeitverlauf (Kilcullen et al. 2007).

Bei Patienten mit Herzinsuffizienz unterschiedlicher Ätiologie ist eine Erhöhung von H-FABP assoziiert mit der Schwere der Erkrankung (linksventrikuläre Funktion, NYHA) und einer ungünstigen Prognose (Goto et al. 2003; Setsuta et al. 2008). H-FABP gilt als Marker für den Nachweis einer geringfügigen myokardialen Schädigung (Arimoto et al. 2005; Setsuta et al. 2002) mit größeren Sensitivität als Troponin T (Niizeki et al. 2007b).

Die Bedeutung des neuen Biomarkers H-FABP bei Patienten mit Pulmonalarterieller Hypertension wurde bislang noch nicht untersucht. Bei Patienten mit akuter Lungenembolie wurde H-FABP zum Zeitpunkt der Einreichung des Manuskripts von Puls et al. (Puls et al. 2007) ebenfalls noch nicht untersucht. Heute sind jedoch zwei weitere Studien bekannt, die die Bedeutung von H-FABP als neuen Biomarker zur Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie untersucht haben (Kaczynska et al. 2006; Vuilleumier et al. 2009).

Zusammenfassend gilt H-FABP aufgrund der Kombination aus 1.) kleiner Molekülgröße, 2.) isoliertem Vorkommen im Zytoplasma, 3.) früher Freisetzung ins Plasma nach Symptombeginn, 4.) schneller renaler Clearance und 5.) hoher kardialer Spezifität als idealer Biomarker zur Detektion und Risikostratifizierung von Patienten mit einer myokardialer Schädigung (Alhadi und Fox 2004). Limitationen für die Verwendung von H-FABP beinhalten das kleine diagnostische Fenster von 24-30 Stunden nach Symptombeginn, die nicht 100%ige kardiale Spezifität sowie die Möglichkeit falsch erhöhter Werte bei Patienten mit Niereninsuffizienz (Azzazy et al. 2006).

1.3.4 Growth-differentiation factor-15

Growth-differentiation factor-15 (GDF-15) ist ein Mitglied der Transforming-Growth Factor- β (TGF- β) Familie und wurde erstmals 1997 als Macrophage-Inhibitory Cytokine-1 (MIC-1) beschrieben (Bootcov et al. 1997). Neben MIC-1 sind weitere Proteine bekannt, die über eine identische cDNA Sequenz verfügen und somit alternative Bezeichnungen für GDF-15 sind:

- Placental bone morphogenetic protein (PLAB) (Hromas et al. 1997),
- Placental transforming growth factor- β (PTGF- β) (Lawton et al. 1997),
- Prostate-derived factor (PDF) (Paralkar et al. 1998),
- PL74 (Morrish et al. 1996) und
- Nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene-1 (NAG-1) (Baek et al. 2001).

Die nach dem ersten identifizierten Mitglied TGF- β 1 benannte TGF- β Superfamilie umfasst mehr als 40 Mitglieder mit strukturell und funktionell ähnlichen Eigenschaften und wird in folgende Subgruppen unterteilt:

- TGF- β Proteine,
- Bone morphogenetic proteins (BMP),
- Growth and differentiation factors (GDF),
- Activin (inhibin- α (ihbA) und inhibin- β (ihbB)),
- Muellierian-inhibitory substance (MIS) und
- Glial-derived neurothropic factor (GDNF).

TGF- β Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei Wachstums- und Differenzierungsprozessen (z.B. im Rahmen von Wundheilung, Gewebereparatur, Angiogenese, Apoptose), pro- und antiinflammatorischen Effekten und in der Pathogenese inflammatorischer und fibrotischer Erkrankungen (z.B. rheumatoider Arthritis, Arteriosklerose, Lungenfibrose, Leberzirrhose, Ehlers-Danlos-Syndrom) sowie in der Embryonalentwicklung und der Tumorgenese. Mitglieder der TGF- β Superfamilie und ihre Liganden haben sich als nützliche diagnostische, prognostische und prädiktive Marker bei verschiedenen Erkrankungen erwiesen (Gordon und Blobel 2008; Kingsley 1994).

Das Gen von GDF-15 beinhaltet 2 Exons und 1 Intron und ist lokalisiert auf Chromosom 19p13.11. GDF-15 wird als 62 kDa großes intrazelluläres Präproprotein synthetisiert (308 Aminosäuren) und durch eine Furin-like-Protease in das mature Protein (112 Aminosäuren) gespalten (siehe Abbildung 7).

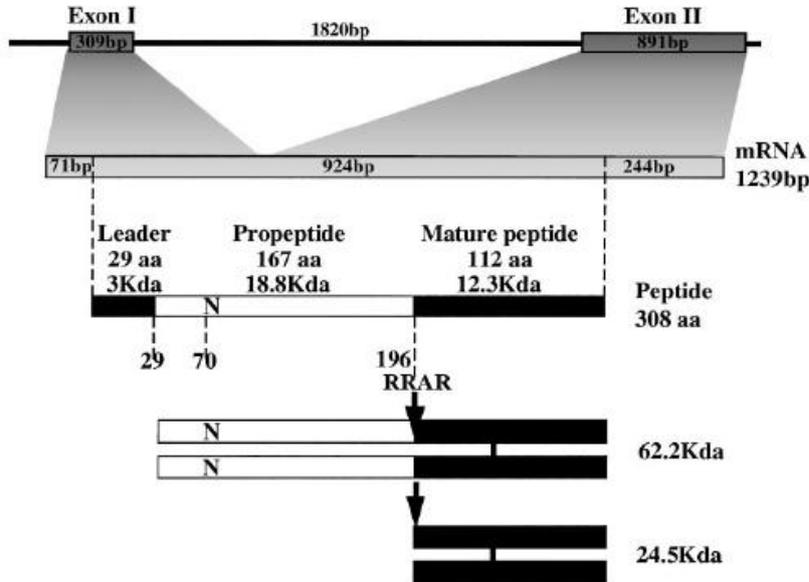


Abbildung 7. Genetische Organisation und resultierende mRNA von intrazellulärem und sezerniertem GDF-15; aus Fairlie et al. (1999, S. 4).

In seiner aktiven Form liegt GDF-15 als 25kDA großes Dimer-Protein vor und beinhaltet die für die TGF- β Familie charakteristische Sieben-Cystein-Domäne, die einen „Cystein-Knoten“ bildet. Aufgrund der nur 15-29%igen Aminosäuresequenz-Homologie von GDF-15 zu anderen TGF- β Zytokinen, handelt es sich bei GDF-15 um ein entferntes Mitglied und möglicherweise das erste Mitglied einer neuen Subgruppe (Bootcov et al. 1997; Fairlie et al. 1999).

GDF-15 wird in zahlreichen Organen und Geweben – in erster Linie in epithelialen Gewebe und Makrophagen – exprimiert (Bottner et al. 1999b; Bottner et al. 1999a). Erhöhte GDF-15-Konzentrationen finden sich unter physiologischen Konditionen fast nur in der Plazenta (Hromas et al. 1997) und folglich in der Schwangerschaft (Moore et al. 2000). Aber auch im zentralen Nervensystem wird GDF-15 physiologischerweise exprimiert und vermittelt protektive Effekte u.a. durch die Verhinderung von Kaliummangel oder Eisen-Zytotoxizität induzierter Apoptose zerebraler Neurone (Strelau et al. 2000; Subramaniam et al. 2003).

Unter pathologischen Zuständen wie Verletzung, Entzündung oder Krebserkrankung kann die GDF-15 Expression in verschiedenen Geweben stark ansteigen. Während GDF-15 von nicht-

aktivierten Makrophagen nicht exprimiert wird, steigt die Expression im Rahmen von entzündlichen Prozessen in aktivierten Makrophagen stark an und wird durch proinflammatorische Zytokine (IL-1 β , IL-2, TNF- α , CSF) (Bootcov et al. 1997) und oxidativen Stress (Schlittenhardt et al. 2004) stimuliert. Bei Patienten mit der chronisch entzündlichen Erkrankung Rheumatoider Arthritis sind GDF-15 Plasmaspiegel erhöht und assoziiert mit der Schwere der Erkrankung (Brown et al. 2007). Die Expression von GDF-15 kann in Tumorzelllinien durch das Tumor-Suppressor-Protein p53 (Tan et al. 2000) und über nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR) durch das Tumor-Suppressor-Protein Egr-1 (Baek et al. 2005) induziert werden. GDF-15 kann als sezernierter Biomarker für die Aktivierung von p53 *in vivo* und *in vitro* in humanen Tumor-Zelllinien dienen (Yang et al. 2003). Eine Überexpression von GDF-15 bewirkt Zellzyklusarrest und Apoptose *in vivo* in Mamma- (Li et al. 2000), Kolon- (Baek et al. 2001; Brown et al. 2003; Yang et al. 2003) und Pankreaskarzinomzelllinien (Liu T et al. 2003). Darüberhinaus konnte in klinischen Studien gezeigt werden, dass GDF-15-Plasmakonzentrationen mit der Schwere der Erkrankung (TNM Stadium) bei Patienten mit Kolonkarzinom korreliert (Brown et al. 2003) und als diagnostischer Tumormarker bei Patienten mit Pankreaskarzinom (Koopmann et al. 2004; Koopmann et al. 2006) und Prostatakarzinom (Brown et al. 2006; Rasiah et al. 2006) nützlich sein kann. Durch zellulären Stress wie beispielsweise Sauerstoffmangel wird GDF-15 p53-unabhängig in Glioblastomzelllinien hochreguliert und übt parakrin antitumorgenetische Effekte aus (Albertoni et al. 2002). Von der Arbeitsgruppe von Teresa Zimmers konnte gezeigt werden, dass GDF-15 nach operativer, toxischer und ischämischer Leber-, Lungen- und Nierenverletzung auch TNF- und p53-unabhängig vermehrt exprimiert wird (Hsiao et al. 2000; Zimmers et al. 2005; Zimmers et al. 2006).

Vom Myokardium wird GDF-15 unter normalen Konditionen nicht produziert. Jedoch wird GDF-15 von kultivierten Herzmuskelzellen nach simulierter Ischämie mit Reperfusion (I/R), oxidativem Stress oder durch Zytokine (IL-1 β , IFN- γ) vermehrt synthetisiert und sezerniert. In einem *in vivo* Modell konnte gezeigt werden, dass GDF-15 nach induzierter Ischämie mittels transidienter oder permanenter Koronarligatur (simuliertes Akutes Koronarsyndrom mit und ohne Reperfusionstherapie) von den betroffenen Myozyten vermehrt exprimiert wird. Auch in Herzmuskelproben von an Akutem Myokardinfarkt verstorbenen Patienten konnten erhöhte GDF-15 Level gemessen werden. GDF-15-defiziente Mäuse entwickeln größere Infarktzone und Apoptose im Infarktareal nach I/R verglichen mit Wildtyp-Mäusen. Durch Behandlung mit rekombinantem GDF-15 konnte das Ausmaß von Nekrose und Apoptose reduziert werden

(Kempf et al. 2006). Des Weiteren konnte von Xu et al. gezeigt werden, dass GDF-15 mRNA Level nach druckinduzierter kardialer Hypertrophie und dilatativer Kardiomyopathie *in vivo* erhöht sind. Während GDF-15 knock-out Mäuse eine vermehrte kardiale Hypertrophie und Funktionseinschränkung nach Druckbelastung entwickelten, sind transgene GDF-15-überexprimierende Mäuse resistent gegen eine druckinduzierte Hypertrophie. Durch die exogene Gabe von rekombinantem GDF-15 konnte bei GDF-15^{-/-} Mäusen die Entwicklung einer Herzinsuffizienz abgeschwächt werden (Xu et al. 2006).

Um den physiologischen Normalwert von GDF-15 zu ermitteln, bestimmten Kempf et al. die GDF-15-Konzentrationen bei 429 gesunden älteren Individuen aus dem „SWISCH“ Kollektiv. Als oberen Referenzwert für normale GDF-15-Konzentrationen wurden 1.188 ng/l definiert (90. Perzentil) (Kempf et al. 2007b). Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz hatten signifikant höhere GDF-15-Spiegel als das Kontrollkollektiv der „SWISCH“ Kohorte und erhöhte GDF-15-Spiegel korrelierten mit der NYHA-Klasse, NT-proBNP und dem Mortalitätsrisiko in der Langzeitbeobachtung (Kempf et al. 2007c). Bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom konnte gezeigt werden, dass GDF-15 ein unabhängiger Prädiktor für die 1-Jahres-Mortalität ist und additive prognostische Informationen zu etablierten Risikomarkern liefert. Bei Patienten mit Nicht-ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI) verbessert GDF-15 die Identifizierung von Patienten, die von einer invasiven Therapiestrategie profitieren würden. Eine GDF-15-Plasmakonzentration von 1.800 ng/l konnte als optimaler Cutoff-Wert identifiziert und bestätigt werden (Kempf et al. 2007a; Wollert et al. 2007a; Wollert et al. 2007b). Erst kürzlich wurde die Bedeutung von GDF-15 für die Risikostratifizierung von Patienten mit akutem Brustschmerz bei 479 unselektionierten Patienten aus dem „FAST II“ und „FASTER I“ Kollektiv untersucht. Auch in dieser Studie war GDF-15 ein starker und unabhängiger Biomarker für einen ungünstigen klinischen Verlauf und lieferte additive prognostische Informationen zu EKG Befunden und Troponin I Messungen (Eggers et al. 2008).

Eine Untersuchung von GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie und der prognostischen Bedeutung erhöhter GDF-15-Plasmakonzentrationen ist bislang noch nicht erfolgt.

1.4 Unbeantwortete Fragen und Zielsetzung der Arbeit

Auch wenn die Bedeutung der Echokardiographie mit dem Nachweis einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion für die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie unumstritten ist, zeigen Studien, dass eine nicht unerhebliche Anzahl von hämodynamisch stabilen Patienten mit einer RV Dysfunktion (Patienten mit „mittlerem“ Risiko) niedrige Mortalitätsraten aufweist (Goldhaber et al. 1999). Der alleinige echokardiographische Nachweis einer RV Dysfunktion ist demzufolge nicht ausreichend zur Identifizierung gefährdeter hämodynamisch stabiler Patienten, wie auch anhand des niedrigen positiven prädiktiven Wertes von 58% und dem großen Konfidenzintervall für das Risiko zu versterben in der Metaanalyse von Sanchez et al. deutlich wird (Sanchez et al. 2008). Darüber hinaus sind bildgebende Verfahren, verglichen mit kardialen Biomarkern, vermutlich hinsichtlich des Nachweises einer geringfügigen RV Schädigung unterlegen und können keine Informationen über die Auswirkung von Begleiterkrankungen auf den Hospitalverlauf und insbesondere für die Langzeitprognose nach einer akuten Lungenembolie liefern.

Neben bildgebenden Verfahren dienen die kardialen Biomarker Troponin T und NT-proBNP für den Nachweis einer RV Schädigung respektive Dysfunktion und zur Identifizierung von gefährdeten Patienten. Ihre Verwendung ist jedoch gekennzeichnet durch eine Reihe von Limitationen wie dem verzögerten Anstieg von Plasmaspiegeln nach myokardialer Ischämie respektive Dehnung, dem Nichtvorhandensein etablierter Cutoff-Werte für NT-proBNP und einer geringen diagnostischen Spezifität und niedrigen positiven prädiktiven Werten, so dass der alleinige Nachweis erhöhter Biomarker-Plasmakonzentrationen für den Nachweis einer RV Dysfunktion nicht ausreichend ist (Kucher und Goldhaber 2003; Sohne et al. 2004).

Trotz kontinuierlicher Weiterentwicklung der Strategien zur Risikostratifizierung in den letzten Jahren kann weiterhin eine nennenswerte Anzahl von Patienten mit erhöhtem Risiko, Komplikationen zu entwickeln, durch die Verwendung etablierter Biomarker oder bildgebender Verfahren nicht identifiziert werden. Daher besteht die Notwendigkeit zur Etablierung neuer Risikomarker – im Sinne neuer Biomarker und / oder Multimarkerstrategien, allein oder in Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion – für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie.

Dabei bieten Biomarker gegenüber anderen Methoden zur Risikostratifizierung den Vorteil, dass sie nicht-invasiv zu ermitteln sind, Untersucher-bedingte Confounder nahezu

ausgeschlossen werden können, der Kostenaufwand angemessen ist und sie nach Etablierung ubiquitär und rund um die Uhr verfügbar sind.

Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) und growth-differentiation factor-15 (GDF-15) sind vielversprechende neue kardiale Biomarker. Während sich H-FABP aufgrund der kleinen Proteingröße durch einen schnellen Anstieg des Plasmaspiegels nach einer myokardialen Ischämie auszeichnet, ist GDF-15 ein „globaler“ Biomarker, der verschiedene klinische Informationen, die einen Einfluss auf das Outcome von Patienten mit Lungenembolie haben (Inflammation, maligne Grunderkrankungen), vereinen kann.

Das **Ziel der Arbeit** bestand daher darin,

- 1.) den prognostischen Stellenwert von heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP), eines hochsensitiven Biomarkers mit günstiger Kinetik (rascher Anstieg nach myokardialer Schädigung), bei Patienten mit akuter Lungenembolie zu untersuchen und mit den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP zu vergleichen sowie den additiven Wert des Biomarkers in Kombination mit der Echokardiographie in einem Multimarkermodell zu analysieren,
- 2.) den prognostischer Stellenwert von H-FABP auch bei Patienten mit chronischem Cor pulmonale im Rahmen einer Chronisch-Thromboembolischen Pulmonalen Hypertension (CTEPH) zu untersuchen und
- 3.) den neuen Biomarker growth-differentiation factor-15 (GDF-15), der möglicherweise die Fähigkeit besitzt, prognostische Informationen in Zusammenhang mit Myokardschädigung, RV Dysfunktion und Komorbiditäten zu integrieren, bezüglich seines prognostischen Stellenwertes bei Patienten mit akuter Lungenembolie zu untersuchen und mit den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP zu vergleichen sowie den additiven Wert des Biomarkers in Kombination mit der Echokardiographie in einem Multimarkermodell zu analysieren.

2 Material und Methoden

2.1 Kollektiv der Patienten mit akuter Lungenembolie

2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Patienten mit bestätigter Diagnose akute Lungenembolie (siehe Kapitel 2.1.2) wurden am Universitätsklinikum Göttingen in diese fortlaufende prospektive Studie eingeschlossen.

Patienten, bei denen eine asymptomatische Lungenembolie im Rahmen einer diagnostischen Untersuchung für eine andere Erkrankung zufällig diagnostiziert wurde oder Patienten, die nicht einwilligungsfähig waren oder keine Einwilligung zur Studienteilnahme gaben, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

2.1.2 Diagnosestellung und Studienablauf

In Übereinstimmung mit den aktuellen diagnostischen Leitlinien (Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology 2000; British Thoracic Society Standards of Care Committee Pulmonary Embolism Guideline Development Group 2003) (siehe Kapitel 1.1.4) wurde bei allen hämodynamisch stabilen Patienten mit dem klinischen Verdacht auf eine akute Lungenembolie die klinische Wahrscheinlichkeit anhand des Wells' Score evaluiert (Wells et al. 2000). Bei Patienten mit niedriger klinischer Wahrscheinlichkeit und positivem D-Dimer-Test ($>0,5 \mu\text{g/l}$) sowie bei Patienten mit mittlerer oder hoher klinischer Wahrscheinlichkeit wurden anschließend folgende bildgebenden Untersuchungen – alleine oder in Kombination – durchgeführt, um die Diagnose zu bestätigen:

- Mehrzeilen-Spiral-Computertomographie mit Kontrastmittel,
- kombinierte Ventilations- / Perfusions-Szintigraphie,
- Pulmonalisangiographie und / oder
- sono- oder phlebographische Darstellung der Beinvenen.

Bei hämodynamisch instabilen Patienten, deren klinische Konditionen zu kritisch waren, um einen Transport für eine bildgebende Untersuchung zu verantworten, wurde die Diagnose mithilfe einer bettseitigen transthorakalen Echokardiographie bestätigt.

Von allen Patienten wurden zum Zeitpunkt der Aufnahme, nach 8 und nach 24 Stunden venöse Blutproben abgenommen und für die spätere kumulative Messung der Biomarker bei -80°C eingefroren. Informationen über Symptomatik, Risikofaktoren, Vorerkrankungen, Vormedikation, Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen (Vitalparameter, Labor, EKG, Bildgebung incl. transthorakale Echokardiographie), Therapie und Verlauf (Kurzzeit- und Langzeitverlauf) wurden anamnestisch durch den Studienbetreuer erhoben oder aus den Patientenakten entnommen und in einem standardisierten Datenerfassungsbogen erfasst (siehe Anlage, Kapitel 7.2).

2.1.3 Definition des klinischen Schweregrades

Zum Zeitpunkt der Aufnahme wurden bei allen Patienten, in Übereinstimmung mit den aktuellen Leitlinien (Torbicki et al. 2008) (siehe Kapitel 1.1.3), das Vorliegen einer hämodynamischen Instabilität überprüft und eine Einteilung in „Hochrisiko“- und „Nicht-Hochrisiko“-Patienten vorgenommen.

Kardiogener Schock zum Zeitpunkt der Aufnahme wurde definiert als:

- Notwendigkeit einer kardiopulmonalen Reanimation,
- systolischer Blutdruck kleiner 90 mmHg oder Abfall um mehr als 40 mmHg für länger als 15 Minuten mit Zeichen der Endorganhypoperfusion oder
- Katecholaminbedürftigkeit, um eine adäquate Organperfusion aufrecht zu erhalten oder einen kardiogenen Schock zu behandeln oder zu vermeiden.

2.1.4 Echokardiographie und Nachweis einer RV Dysfunktion

Die Durchführung einer transthorakalen Echokardiographie wurde im Studienprotokoll für alle Patienten innerhalb 2 Stunden nach Diagnosestellung empfohlen. Die Untersuchung diente dem Nachweis (oder Ausschluss) einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion anhand folgender Kriterien (Kasper et al. 1997a; Kasper et al. 1997b):

- rechtsventrikuläre Dilatation (RV>LV im apikalen oder subkostalen Vierkammerblick oder RVEDD >30 mm im parasternalen Blick) und
- paradoxe Septumbewegungen bei
- Verlust des inspiratorischer Kollaps der Vena cava inferior und
- Ausschluss von linksventrikulären oder Mitralklappen-Erkrankungen.

2.1.5 Klinischer Verlauf und Definition klinischer Endpunkte

Die Therapie umfasste bei allen Patienten die Gabe von unfraktioniertem Heparin als Bolus mit anschließender Dauerinfusion und bei Patienten mit „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie die Gabe niedermolekularer Heparine (NMH) subkutan in gewichtsadaptierter Dosierung im Verlauf, bei Patienten mit „Hochrisiko“-Lungenembolie eine rekanalisierende Therapie (Thrombolyse oder chirurgischen Embolektomie) und bei allen Patienten eine sekundärprophylaktisch Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten oder NMH – jeweils sofern keine Kontraindikationen vorlagen. In Einzelfällen wurde auch bei initial hämodynamisch stabilen Patienten mit Zeichen einer RV Dysfunktion bei sekundärer Verschlechterung, dem Vorliegen schwerer Begleiterkrankungen, offenem Foramen ovale mit rechts-links-Shunt oder limitierter kardiopulmonaler Reserve (Lankeit und Konstantinides 2009) eine thrombolytische Therapie durchgeführt. Beobachtungsdaten wurden für alle Patienten über einen Zeitraum von 30 Tagen nach Diagnosestellung erfasst. Ein komplizierter Hospitalverlauf wurde definiert als:

- Tod aufgrund Lungenembolie,
- Katecholaminbedürftigkeit (ausgenommen Dobutamin bis maximal 5 µg/kg/min),
- endotracheale Intubation oder
- kardiopulmonale Reanimation.

Langzeitbeobachtungsdaten wurden 6 Monate nach der Lungenembolie mittels einer klinischen Kontrolluntersuchung oder durch ein Telefongespräch mit dem verantwortlichen (Haus-)Arzt erfasst. Erhoben wurden – soweit verfügbar und / oder vorhanden – Informationen über das Sterbedatum und Todesursache, eine Rezidiv-Lungenembolie, klinische und / oder echokardiographische Zeichen einer chronischen Rechtsherzbelastung und / oder Pulmonalarteriellen Hypertension und die aktuelle Medikation.

2.1.6 Patienteneinwilligung und Sicherheit

Vor der Aufnahme in die Studie erhielten alle Patienten eine mündliche und schriftliche Aufklärung über den Ablauf, Nutzen und Risiko der Studie und unterzeichneten eine Einverständniserklärung. Die im Rahmen der Studie gemessenen Biomarker wurden dem verantwortlichen Arzt nicht mitgeteilt und zu keinem Zeitpunkt verwendet, um den Therapieerfolg zu überwachen oder Therapieentscheidungen zu beeinflussen. Das Studienprotokoll und die Messung von Biomarkern wurden von der Ethikkommission der Universität Göttingen geprüft und genehmigt.

2.2 Kollektiv der Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension

2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

In diese prospektive Studie wurden 93 Patienten mit bestätigter Diagnose Chronisch-Thromboembolische Pulmonale Hypertension (CTEPH) (siehe Kapitel 2.2.2) eingeschlossen. Die Patientenerfassung wurde in Kooperation mit der klinischen Abteilung für Kardiologie der Universitätsklinik für Innere Medizin II der Medizinischen Universität Wien am Allgemeinen Krankenhaus Wien durchgeführt, welches als primäres Referenzzentrum für Patienten mit Pulmonalarterieller Hypertension (PAH) und insbesondere CTEPH in Österreich fungiert.

2.2.2 Diagnosestellung und Studienablauf

In Übereinstimmung mit den aktuellen diagnostischen Leitlinien (Galie et al. 2009; Galie et al. 2004) wurde die Diagnose PAH anhand standardisierten Kriterien gestellt, die eine Erhöhung des pulmonalarteriellen Mitteldruckes (mPAP) >25 mmHg in Ruhe oder >30 mmHg bei Belastung und einen pulmonalen Gefäßwiderstand (PVR) >240 dyn·sec·cm⁻⁵ beinhalteten. Anhand etablierter diagnostischer Protokolle und bildgebender Verfahren (Ventilations- / Perfusions-Szintigraphie, high-resolution und Spiral-Computertomographie, ggf. Kernspintomographie, selektive Pulmonalisangiographie) (Coulden 2006; Hoeper et al. 2006) wurde die CTEPH als Ursache der PAH identifiziert. Zusätzlich wurde bei allen Patienten ein Rechtsherzkatherter zur Ermittlung der hämodynamischen Parameter durchgeführt – die Berechnung des Cardiac Index (CI) und des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) erfolgte nach dem Fick-Prinzip (Fick-Gleichung: $CO = VO_2/avO_2$). Bei 46 Patienten (49,5%) wurde ein 6-Minuten-Gehtest nach aktuellen Empfehlungen und Standards durchgeführt (ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories 2002).

Zum Zeitpunkt der initialen diagnostischen Evaluation wurden von allen Patienten Plasmaproben entnommen und für die spätere kumulative Messung der Biomarker bei $-80^{\circ}C$ eingefroren. Informationen über Symptomatik, Risikofaktoren, Vorerkrankungen, Vormedikation, Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen, Therapie und Verlauf wurden anamnestisch durch den Studienbetreuer erhoben oder aus den Patientenakten entnommen und in einem standardisierten Datenerfassungsbogen erfasst.

2.2.3 Klinischer Verlauf und Definition des klinischen Endpunktes

Die medikamentöse Therapie der Patienten beinhaltete, je nach Ermessen des jeweiligen behandelnden Arztes, Vitamin-K-Antagonisten mit einem Ziel-INR von 2,0-3,0, Diuretika, Digitalis und Sauerstoff. Patienten, deren Therapie neue pharmakologische Substanzen wie Prostazyklinanaloga (z.B. Iloprost), unselektiven und ET_A-selektiven Endothelinrezeptor Antagonisten (z.B. Bosentan) und Phosphodiesterase-5 Inhibitoren (z.B. Sildenafil) beinhaltete, wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Bei 52 Patienten (56%) wurde zu verschiedenen Zeitpunkten während der Beobachtungsperiode eine chirurgische pulmonale Thrombendarterektomie (PEA) durchgeführt. Die Indikation zur PEA wurde bei Patienten mit einem PVR $>300 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}$ in Ruhe (mit Ausnahme von Patienten mit unilateraler Erkrankung) und chirurgischer Zugänglichkeit der thromboembolischen Läsionen in Übereinstimmung mit den Leitlinien des American College of Chest Physicians gestellt (Doyle et al. 2004; Klepetko et al. 2004). Die Operation wurde nicht durchgeführt wenn der PVR $>1100 \text{ dyn}\cdot\text{sec}\cdot\text{cm}^{-5}$ war (Dartevelle et al. 2004), der Patient schwere Begleiterkrankungen vorwies oder die Operation ablehnte. Langzeitüberlebensdaten wurden zum Zeitpunkt der Biomarker Messung durch Sichtung der Patientenakten sowie Befragung der zuständigen Einwohnermeldeämter und / oder verantwortlichen (Haus-)Ärzte erhoben. Ein ungünstiger Langzeitverlauf wurde definiert als

- CTEPH-assoziiertes Tod,
- Lungentransplantation oder
- persistierende pulmonalarterielle Hypertension nach PEA.

2.2.4 Patienteneinwilligung und Sicherheit

Vor der Aufnahme in die Studie erhielten alle Patienten eine mündliche und schriftliche Aufklärung über den Ablauf, Nutzen und Risiko der Studie und unterzeichneten eine Einverständniserklärung. Die im Rahmen der Studie gemessenen Biomarker wurden dem verantwortlichen Arzt nicht mitgeteilt und zu keinem Zeitpunkt verwendet, um den Therapieerfolg zu überwachen oder Therapieentscheidungen zu beeinflussen. Das Studienprotokoll und die Messung von Biomarkern wurden von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Wien geprüft und genehmigt.

2.3 Bestimmung der Biomarker

Die Messung aller laborchemischen Parameter und der Biomarker H-FABP und GDF-15 erfolgte durch Untersucher, die in Unkenntnis über den klinischen Zustand und Verlauf des jeweiligen Patienten waren. Zur Messung von H-FABP und GDF-15 wurden die Proben vom Zeitpunkt der Aufnahme einmalig aufgetaut und schubweise analysiert.

Die Messung von laborchemischen Routineparametern inklusive D-Dimeren, Kreatinin, Troponin T und NT-proBNP erfolgte für die Studienpatienten mit Lungenembolie durch die Abteilung Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen und für die Studienpatienten mit CTEPH durch das Klinische Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Wien.

Zur Bestimmung von D-Dimeren wurde ein immunologischer Trübungstest (Tina-quant®) von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim (Roche / Hitachi) verwendet. Das Testprinzip basiert auf der Bildung von Antigen-Antikörper-Komplex durch Verwendung von mit monoklonalen Antikörper-beschichteten Latexpartikeln. Die Zugabe von D-Dimeren bewirkt eine Zunahme der Trübung, die als Extinktionsänderung pro Zeit quantifiziert werden kann.

Mit einem enzymatischen *in vitro* Farb-Test wurde Kreatinin in Humanserum, -plasma oder -urin mit einem klinisch-chemischen Analyseautomaten von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim (Roche / Hitachi) bestimmt. Das Testprinzip basiert auf der Bestimmung von Sarcosin nach enzymatischer Umwandlung von Kreatinin mittels Kreatinkinase, Kreatinase und Sarcosinoxidase und der anschließenden Messung des gebildeten Wasserstoffperoxids über eine modifizierte Trinderreaktion.

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) wurde mithilfe der „Modification of Diet in Renal Disease study equation“ (MDRD) (National Kidney Foundation 2002; Stevens et al. 2006) ermittelt und Niereninsuffizienz definiert als eine GFR $<60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ Körperoberfläche.

2.3.1 N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid

NT-proBNP-Konzentrationen wurde in Plasma- oder Serumproben mit dem vollautomatischen Analysegerät Elecsys® 1010 / 2010 von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim gemessen. Die Messung basiert auf einem electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA, Elektrochemischer Lumineszenzimmunoassay) mit Sandwichprinzip.

Im Rahmen eines ECLIA werden Antigene über einen Antikörper an stabile Ausgangsstoffe (Ruthenium mit dem Reaktionspartner Tripropylamin) und über einen 2. biotinylierten Antikörper an Streptavidin-beschichtete paramagnetische Mikropartikel gebunden und der Komplex unter Spannung gesetzt. Die durch die Chemilumineszenz-Reaktion (Reaktion von Ruthenium mit Tripropylamin) erzeugte Lichtemission kann quantitativ erfasst werden und ist proportional zum Antigengehalt der Probe.

Testdurchführung:

Die Patientenprobe wird mit einem biotinylierten Antikörper und einem Ruthenium-markierten Antikörper in ein Reaktionsgefäß pipettiert. Während der nachfolgenden neunminütigen Inkubation bei 37°C binden die beiden monoklonalen spezifischen Antikörper an Epitope im N-terminalen Teil des NT-proBNPs, so dass ein „Sandwich“ entsteht. Anschließend werden Streptavidin-markierte paramagnetische Mikropartikel hinzugefügt, an die während der nachfolgenden erneuten neunminütigen Inkubation bei 37°C der Biotin-Antikörper-NT-proBNP-Antikörper-Ruthenium-Komplex über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkungen an die Festphase gebunden wird. Danach wird das Reaktionsgemisch in eine Messzelle transferiert und der entstandene Immunkomplex magnetisch an die Arbeitselektrode fixiert. Die überschüssigen Substanzen werden mit ProCell Elecsys® Waschlösung entfernt. Nach Anlegen einer Spannung an der Oberfläche der Elektrode kann die aus der Elektrochemilumineszenz-Reaktion von Ruthenium mit seinem Reaktionspartner Tripropylamin entstandene Lichtemission mit einer Wellenlänge von 620 nm in einem Photomultiplier gemessen werden. Anhand der Kalibrationskurve, die aus einer 2-Punkt-Kalibration der Masterkurve generiert wird, kann die NT-proBNP-Konzentration der Probe errechnet werden.

Der seit 2002 kommerziell erhältliche NT-proBNP Assay hat einen Messbereich zwischen 5 pg/ml und 53.000 pg/ml.

2.3.2 Troponin T

Troponin-T-Konzentrationen wurde in Plasma- oder Serumproben mit dem vollautomatischen Analysegerät Elecsys® 1010 / 2010 von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim gemessen. Die Messung basiert, wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben, auf dem electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA, Elektrochemischer Lumineszenzimmunoassay) mit Sandwichprinzip.

Testdurchführung:

Die Patientenprobe wird mit einem biotinylierten Antikörper und einem Ruthenium-markierten Antikörper in ein Reaktionsgefäß pipettiert. Während der nachfolgenden neunminütigen Inkubation bei 37°C binden die beiden monoklonalen spezifischen Antikörper an unterschiedliche Epitope des Troponin Ts, welche sich im zentralen Teil des Proteins befinden (Position 125-131 und 136-147), so dass ein „Sandwich“ entsteht. Anschließend werden Streptavidin-markierte paramagnetische Mikropartikel hinzugefügt, an die während der nachfolgenden erneuten neunminütigen Inkubation bei 37°C der Biotin-Antikörper-Troponin-T-Antikörper-Ruthenium-Komplex über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkungen an die Festphase gebunden wird. Danach wird das Reaktionsgemisch in eine Messzelle transferiert und der entstandene Immunkomplex magnetisch an die Arbeitselektrode fixiert. Die überschüssigen Substanzen werden mit ProCell Elecsys® Waschlösung entfernt. Nach Anlegen einer Spannung an der Oberfläche der Elektrode kann die aus der Elektrochemilumineszenz-Reaktion von Ruthenium mit seinem Reaktionspartner Tripropylamin entstandene Lichtemission mit einer Wellenlänge von 620 nm in einem Photomultiplier gemessen werden. Anhand der Kalibrationskurve, die aus einer 2-Punkt-Kalibration der Masterkurve generiert wird, kann die Troponin-T-Konzentration der Probe errechnet werden.

Der Troponin-T-Assay misst sowohl freies als auch gebundenes Troponin T, der Messbereich liegt zwischen 0,010 µg/l und 25 µg/l und der obere Referenzwert wird vom Hersteller mit 0,04 µg/l angegeben.

2.3.3 Heart-type fatty acid-binding protein

H-FABP-Plasmaspiegel wurden mittels eines kommerziell erhältlichen auf dem Sandwich-Prinzip basierenden enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (HyCult Biotechnology b.v., Uden, Niederlande) gemessen.

Im Rahmen eines ELISAs werden Enzyme an Antikörper oder Antigene gebunden, ohne dadurch die immunologischen oder enzymatischen Eigenschaften der Reaktionspartner zu verändern. Durch Zugabe eines Substrates und Bestimmung dessen enzymatischer Umsetzung können Antikörper-Antigen-Reaktionen sichtbar gemacht und quantitativ erfasst werden.

Testdurchführung:

Der verwendete Kit ist geeignet für die quantitative Bestimmung von humanem H-FABP in Plasma- oder Serumproben und der Messbereich liegt zwischen 100 pg/ml (minimale messbare Konzentration) und 25.000 pg/ml. Beide verwendeten monoklonalen Antikörper gegen H-FABP zeigen keine Kreuzreaktivität mit intestinal-type oder liver-type FABP (Wodzig et al. 1997).



Abbildung 8. Schematisiertes Funktionsprinzip des H-FABP ELISAs.

Die mit Protein-stabilisierendem Phosphatpuffer fünffach verdünnten Plasmaproben und die hergestellten Standards mit einer Konzentration von 100 pg/ml bis 25.000 pg/ml werden in die Vertiefungen einer 96 Mikrotiter Platte gegeben, die mit H-FABP-spezifischen monoklonalen Antikörper (Abbildung 8, rot) beschichtet sind. Es erfolgt die Zugabe von löslichen Peroxidase-konjugierten H-FABP Antikörpern (Abbildung 8, blau). Während der nachfolgenden einstündigen Inkubation bei Raumtemperatur bindet das in den Plasmaproben und Standards vorhandene H-FABP (Abbildung 8, gelb) an die Festphasen-gebundenen Antikörper. An ein weiteres Epitop des gebundenen H-FABPs binden nun die Peroxidase-konjugierten Antikörper,

so dass ein „Sandwich“ entsteht (siehe Abbildung 8). Ungebundenes und überschüssiges Material wird durch Waschen entfernt. Nachfolgend wird Tetramethylbenzidine (TMB) in die Vertiefungen gegeben. Die Farbentwicklung entsteht durch die enzymatische Spaltung von Tetramethylbenzidine durch Peroxidase und erfolgt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen H-FABP. Die Enzymreaktion wird nach 15-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur durch Hinzugabe von 2,0 M Zitronensäure gestoppt. Abschließend wird zeitnah die Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm mittels Spektrometer gemessen. Die Standardkurve erhält man indem die Absorptionswerte gegen die korrespondierende Konzentration der definierten Standards aufgetragen werden. Die H-FABP-Konzentration der verdünnten Plasmaproben kann nun anhand der Standardkurve bestimmt werden. Danach muss mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden um die endgültigen Werte in pg/ml zu erhalten.

2.3.4 Growth-differentiation factor-15

Die Messungen von Plasma-GDF-15-Spiegeln wurden in Zusammenarbeit mit der Medizinischen Hochschule Hannover mittels eines nicht-kommerziell erhältlichen immunoradiometric assay (IRMA, Radioimmunoassay) durchgeführt.

Dabei handelt es sich um ein dem Sandwich-ELISA ähnelndes Prinzip, jedoch wird anstatt eines Enzym-konjugierten monoklonalen Antikörpers ein mit ¹²⁵Jod radioaktiv-markierter Antikörper verwendet. Die abschließend im Gammacounter gemessene Radioaktivität (in count per minute) ist proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe. Der Assay hat einen Messbereich von 200 ng/l bis 50.000 ng/l (Kempf et al. 2007b).

Pufferlösungen:

Beschichtungspuffer: 0,1 mol/l Natriumcarbonat (Na_2CO_3), titriert mit Natriumhydrogen-Carbonat (NaHCO_3) auf einen pH von 9.

Waschpuffer: 40 mmol/l Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4), 150 mmol/l Natriumchlorid (NaCl), 1 ml/l Tween 20, titriert mit 1 M Salzsäure (HCl) auf einen pH von 7,4.

Assaypuffer: 30 g/l BSA (bovine serum albumin, Sigma-Aldrich), 10 g/l bovinem IgG, 10 ml/l Ziegen Serum, 1 g/l Natriumazid (NaN_3), 1 mol/l Natriumchlorid (NaCl), 40 mmol/l Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4), titriert mit 1 M Salzsäure auf einen pH von 7,4.

Testdurchführung:

Maxisorp Startubes werden über Nacht bei 4°C mit 0,5 µg polyklonalem GDF-15 Antikörper pro Röhrchen beschichtet. Dazu wird der GDF-15 Antikörper mit dem Beschichtungs- (Carbonat-) puffer auf eine Konzentration von 2,5 µg/ml verdünnt und 200 µl dieser Lösung in jedes Röhrchen pipettiert. Nach der Beschichtung werden die Röhrchen zweimal mit je 2 ml Waschpuffer gewaschen. Anschließend werden je 100 µl Assay-Puffer und je 100 µl (1:1 Verdünnung) Plasmaproben bzw. die aus einer Stock-Lösung hergestellten Standards (Konzentrationen von 50.000, 16.667, 5.556, 1.852, 617 und 206 ng/l rhGDF-15) in jedes Röhrchen hinzugefügt und für 16 Stunden bei 4°C inkubiert (Kaltinkubation). Nach erneutem Waschen der Röhrchen mit je zweimal 2 ml Waschpuffer werden 200 µl Assaypuffer, der ¹²⁵I-markierte anti-GDF-15 Antikörper (Tracer) mit einer spezifischen Aktivität von ~7,4 kBq enthält (entspricht 10 ng Tracer pro Röhrchen), zu jedem Tube hinzugefügt und bei Raumtemperatur für 4 Stunden auf einem Rüttler (150 rpm) inkubiert (Heißinkubation). Nach 3 finalen Waschschritten mit je 2 ml Waschpuffer wurde die gebundene Radioaktivität in einem Gammazähler (LKB Wallac 1261) für je 120 Sekunden quantifiziert (in counts per minute). In jedem Experiment wurde eine Kalibrationskurve mit verschiedenen rhGDF-15 Verdünnungen (Standards, s.o.) generiert und verwendet um die GDF-15-Konzentrationen in den Proben der Lungenemboliepatienten zu berechnen.

Alle Messungen wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Gepoolte Kontrollproben wurden bei jedem Durchlauf mit analysiert. Der radioaktive Abfall wurde über die Nuklearmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover entsorgt.

2.4 Statistik

Zum Zeitpunkt der Studiendesigns waren keine Daten über den möglichen prognostischen Stellenwert von H-FABP und GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie verfügbar. Daher wurde auf der Basis früherer Untersuchungen, die zeigen konnten, dass eine Kollektivgröße von ca. 100 Patienten geeignet ist, um den prognostischen Stellenwert von Biomarker wie Troponin T und NT-proBNP bei Patienten mit akuter Lungenembolie zu untersuchen (Binder et al. 2005; Konstantinides et al. 2002b), eine Probenanzahl in dieser Größenordnung gewählt. Für die Untersuchung von H-FABP bei Patienten mit CTEPH wurde eine vergleichbare Kollektivgröße gewählt.

Die statistischen Analysen wurden mit der SPSS Software (Version 14.0; Chicago, Illinois, USA), der GraphPad Prism Software (Version 4.01; La Jolla, California, USA) und der MedCalc statistical Software (Version 9.4.1.0; Mariakerke, Belgien) durchgeführt. Zur graphischen Darstellung wurde die PASW Software (Version 17.0; Chicago, Illinois, USA) verwendet. Alle Test waren zweiseitig und verwendeten ein Signifikanzlevel von 0,05.

2.4.1 H-FABP bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Kontinuierliche Variablen werden als Mittelwert mit der zugehörigen Standardabweichung dargestellt und wurden mit dem Student's T-Test verglichen. Kategoriale Variablen werden als ganze Zahlen mit der zugehörigen Prozentzahl dargestellt und wurden mit dem Fisher's Exact Test verglichen.

Die prognostische Relevanz von H-FABP und weiterer Variablen in Bezug auf einen komplizierten Hospitalverlauf wurden mittels univariabler und multivariabler logistischer Regressionsanalyse untersucht. Die Ergebnisse werden als Odds Ratio (OR) mit dem korrespondierenden 95% Konfidenzintervall (KI) dargestellt. In der multivariablen logistischen Regressionsanalyse wurden die drei Biomarker simultan in das Modell eingefügt. Weitere (z.B. klinische) Variablen wurden aufgrund der kleinen Fallzahl nicht addiert. Für die Durchführung der uni- und multivariablen Analysen wurden die Biomarkerkonzentrationen anhand prospektiv gewählter, etablierter Cutoff-Werten dichotomisiert (H-FABP 6 ng/ml (Pelsers et al. 2005), NT-proBNP 1000 ng/l (Binder et al. 2005) und Troponin T 0,04 µg/l (Konstantinides et al. 2002b)). Um die Validität dieser Berechnungen zu verifizieren, führten wir ferner eine logistische Regressionsanalyse durch, in der die kontinuierliche Erhöhung der Biomarkerspiegel berücksichtigt wurde. In diesem Modell beziehen sich die OR und KI auf die kontinuierliche Erhöhung von H-FABP um 1 ng/ml, von Troponin T um 0,01 µg/l und für NT-proBNP um 1000 pg/ml.

Die Linearität des Effekts von kontinuierlichen Variablen wurde durch Verwendung der positiven Wahrscheinlichkeitsverhältnisse (Likelihood Ratio, LR) überprüft. Zusätzlich wurden receiver operating characteristics (ROC) Analysen durchgeführt, um die Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) der Biomarker zu bestimmen und miteinander zu vergleichen.

2.4.2 H-FABP bei Patienten mit CTEPH

Für die Untersuchung von H-FABP bei Patienten mit CTEPH wurde der modifizierte Kolmogorov-Smirnov Test (Lilliefors Test) verwendet um kontinuierliche Variablen auf das Vorliegen einer Normalverteilung zu testen. Kontinuierliche Variablen werden als Median mit korrespondierendem 25. und 75. Perzentil (interquartile range, IQR) dargestellt und wurden mittels Mann-Whitney U-Test verglichen. Kategorische Variablen werden als ganze Zahlen mit der zugehörigen Prozentzahl dargestellt und wurden mit dem Fisher's Exact Test verglichen. Der Spearman Rho Korrelationskoeffizient wurde verwendet um Variablen zu identifizieren, die mit H-FABP assoziiert waren.

Die prognostische Relevanz von H-FABP und weiterer Variablen in Bezug auf einen ungünstigen Langzeitverlauf wurde mittels Cox-Regressionsanalyse untersucht. Das Modell berücksichtigt die kontinuierliche Erhöhung von H-FABP-Konzentrationen und der hämodynamischen Parameter. Die Ergebnisse werden als Hazard Ratio (HR) mit dem korrespondierenden 95% Konfidenzintervall (KI) dargestellt und wurden mit dem Wald's Test verglichen. Die errechneten HR und 95% KIs beziehen sich auf die Erhöhung von H-FABP-Plasmakonzentrationen um 1 ng/ml, des mittleren pulmonalarteriellen Druckes (mPAP), mittleren rechtsatrialen Druckes (mRAP) und pulmonalkapillären Verschlussdruckes (PCWP) um je 1 mmHg, des Cardiac Outputs (CO) um 1 l/min und des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) um 1 dyn·sec·cm⁻⁵. Für die multivariable Analyse wurden H-FABP und alle hämodynamischen Parameter, die sich in der univariablen Analyse als signifikant herausstellten, gemeinsam in das Modell eingefügt. Troponin T wurde in diesem Modell nicht berücksichtigt, da nur vier Studienpatienten messbare Konzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung hatten.

Die Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben (in Prozent) in Abhängigkeit der Art der Behandlung (pulmonale Thrombendarterektomie (PEA) vs. medikamentös) und in Abhängigkeit der H-FABP-Konzentration (im Gesamtkollektiv aufgedgliedert nach Tertile: <2,7 ng/ml, 2,7-4,4 ng/ml, >4,4 ng/ml und bei Patienten, die eine PEA erhalten haben aufgedgliedert nach der medianen H-FABP-Konzentration in dieser Patientensubgruppe: <2,7 ng/ml, ≥2,7 ng/ml) wurde mittels Kaplan-Meier-Analyse errechnet, durch den Log-rank Test verglichen und als Überlebenskurve dargestellt.

2.4.3 GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Für die Untersuchung von GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie wurde der modifizierte Kolmogorov-Smirnov Test (Lilliefors Test) verwendet um kontinuierliche Variablen auf das Vorliegen einer Normalverteilung zu testen. Kontinuierliche Variablen werden als Median mit korrespondierendem 25. und 75. Perzentil (interquartile range, IQR) dargestellt und wurden mittels Mann-Whitney U-Test verglichen. Kategorische Variablen werden als ganze Zahlen mit der zugehörigen Prozentzahl dargestellt und wurden mit dem Fisher's Exact Test verglichen. Der Spearman Rho Korrelationskoeffizient wurde verwendet um Variablen zu identifizieren, die mit GDF-15 assoziiert waren.

Die prognostische Relevanz von GDF-15 und weiterer Variablen in Bezug auf einen komplizierten Hospitalverlauf wurden mittels logistischer Regressionsanalyse nach Transformation der kontinuierlichen Variablen in ihren natürlichen Logarithmus untersucht. Die Ergebnisse werden als Odds Ratio (OR) mit dem korrespondierenden 95% Konfidenzintervall (KI) dargestellt.

Zur Identifizierung von Prädiktoren für Langzeitmortalität wurden Cox-Regressionsanalysen unter Verwendung des Wald's Test durchgeführt. Diese Resultate werden als Hazard Ratio (HR) mit dem korrespondierenden 95% KI dargestellt.

Prognostische relevante Cutoff-Werte der Biomarker wurden aus der receiver operating characteristics (ROC) Analyse abgeleitet, die ferner verwendet wurde um die Fläche unter der Kurve (area under the curve (AUC), c-statistics) zu bestimmen. Auf der Basis des errechneten Cutoff-Wertes für GDF-15 (4.600 ng/l) sowie der validierten Cutoff-Werte für NT-proBNP (1000 ng/l) (Binder et al. 2005) und Troponin T (0,04 µg/l) (Konstantinides et al. 2002b), wurden die Überlebensraten mittels Kaplan-Meier-Analyse ermittelt, alle statistischen Vergleiche mit dem Log-rank Test durchgeführt und als Überlebenskurve dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Heart-type fatty acid-binding protein bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) ist ein spezifischer und hochempfindlicher Biomarker für das Vorliegen einer myokardialen Schädigung und bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom und Herzinsuffizienz ein Prädiktor für schwere kardiale Ereignisse und Mortalität (Pelters et al. 2005). Zur prognostischen Bedeutung von H-FABP bei Patienten mit Lungenembolie liegen bislang keine Daten vor. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit der prognostische Stellenwert von H-FABP bei Patienten mit akuter Lungenembolie untersucht und mit den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP verglichen.

Insgesamt konnten im Zeitraum von September 2003 bis Oktober 2005 107 Patienten (40 Männer, 67 Frauen; mittleres Alter 61 ± 16 Jahre) mit akuter Lungenembolie in die Studie eingeschlossen werden. Die Bestätigung der Diagnose erfolgte, wie im Methodenteil beschrieben, in Übereinstimmung mit den aktuellen diagnostischen Leitlinien (Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology 2000; British Thoracic Society Standards of Care Committee Pulmonary Embolism Guideline Development Group 2003). Dazu wurde – alleine oder in Kombination – bei 3 Patienten (2,8%) eine Pulmonalisangiographie, bei 63 Patienten (58%) ein Spiral-CT mit Kontrastmittel, bei 38 Patienten (36%) eine Lungenszintigraphie und bei 62 Patienten (58%) eine sono- oder phlebographische Darstellung der Beinvenen durchgeführt. Klinische Charakteristika, Symptome, Begleiterkrankungen und Risikofaktoren sowie laborchemische Parameter zum Zeitpunkt der Aufnahme wurden bei allen Studienpatienten erfasst und sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Ergebnisse

	Alle Patienten n=107	H-FABP ≥6 ng/ml n=29	H-FABP <6 ng/ml n=78	P-Wert
Geschlecht (♂ / ♀)	40 (37%) / 67 (63%)	9 (31%) / 20 (69%)	31 (40%) / 47 (60%)	0,502
Alter (Jahren)	61 ± 16	67 ± 16	60 ± 16	0,045
BMI (kg/m ²)	28,6 ± 6,6	29,7 ± 8,9	28,2 ± 5,4	0,395
Symptome				
Symptombeginn <24 h	62 (57,9%)	17 (58,6%)	45 (57,7%)	0,894
Dyspnoe	96 (89,7%)	24 (82,7%)	72 (92,3%)	0,277
Synkope	21 (19,6%)	10 (34,5%)	11 (14,1%)	0,037
Kardiogener Schock	10 (9,3%)	9 (31,0%)	1 (1,3%)	<0,001
Begleiterkrankungen und Risikofaktoren für eine venöse Thromboembolie				
Operation <14 Tagen	18 (16,8%)	3 (10,3%)	15 (19,2%)	0,423
Trauma < 14 Tagen	5 (4,7%)	2 (6,9%)	3 (3,8%)	0,881
frühere TVT	33 (30,8%)	6 (20,7%)	27 (34,6%)	0,250
frühere LE	17 (15,9%)	2 (6,9%)	15 (19,2%)	0,202
Herzinsuffizienz	11 (10,3%)	5 (17,2%)	6 (7,7%)	0,164
Koronare Herzkrankheit	26(24,3%)	9 (31,0%)	17 (21,8%)	0,447
COPD / Asthma	14 (13,1%)	6 (20,7%)	8 (10,3%)	0,200
Krebserkrankung	20 (18,7%)	4 (13,8%)	16 (20,5%)	0,608
Laborparameter				
Troponin T (µg/l) _a	0,06 ± 0,11	0,03 ± 0,07	0,11± 0,15	0,009
Troponin T ≥0,04 µg/l _a	27 (25,5%)	13 (44,8%)	14 (17,9%)	0,004
Troponin T (µg/l) _b	0,09 ± 0,18	0,03 ± 0,07	0,25 ± 0,30	0,001
Troponin T ≥0,04 µg/l _b	39 (36,4%)	23 (79,3%)	16 (20,5%)	<0,001
NT-proBNP (ng/l) _a	3259 ± 5965	1702 ± 2682	7607 ± 9667	0,005
NT-proBNP ≥1000 ng/l _a	53 (51,5%)	21 (72,4%)	32 (41,0%)	0,008
RV Dysfunktion	38 (39,6%)	16 (59,3%)	20 (29,9%)	0,016

Tabelle 5. Klinische Charakteristika, Symptome, Begleiterkrankungen und Risikofaktoren sowie laborchemische Parameter von 107 Patienten mit akuter Lungenembolie. Anhand des etablierten Cutoff-Wertes für H-FABP von 6 ng/ml wurde das Kollektiv in 2 Gruppen aufgeteilt.

a = bei Aufnahme, b = Maximalwert von vier innerhalb von 24 Stunden gemessenen Werten.

3.1.1 H-FABP korreliert mit Troponin T und NT-proBNP

Die bei Aufnahme gemessenen H-FABP-Plasmakonzentrationen betragen zwischen 0,42 und 218 ng/ml und 29 Patienten (27%) hatten erhöhte H-FABP-Spiegel oberhalb des etablierten Cutoff-Wertes von 6 ng/ml.

Erhöhte Troponin-T-Konzentrationen oberhalb des Cutoff-Wertes von 0,04 µg/l wurden bei 27 Studienpatienten (26%) gemessen. Jedoch fanden sich zum Zeitpunkt der Aufnahme nur bei 13 Patienten (45%) mit erhöhten H-FABP-Spiegeln auch erhöhte Troponin-T-Spiegel. Innerhalb der ersten 24 Stunden des Krankenhausaufenthaltes stiegen Troponin-T-Konzentrationen bei weiteren Patienten an, so dass im Verlauf bei 23 (80%) der Patienten mit initial erhöhten H-FABP-Spiegeln auch erhöhte Troponin-T-Spiegel nachweisbar waren (Abbildung 9).

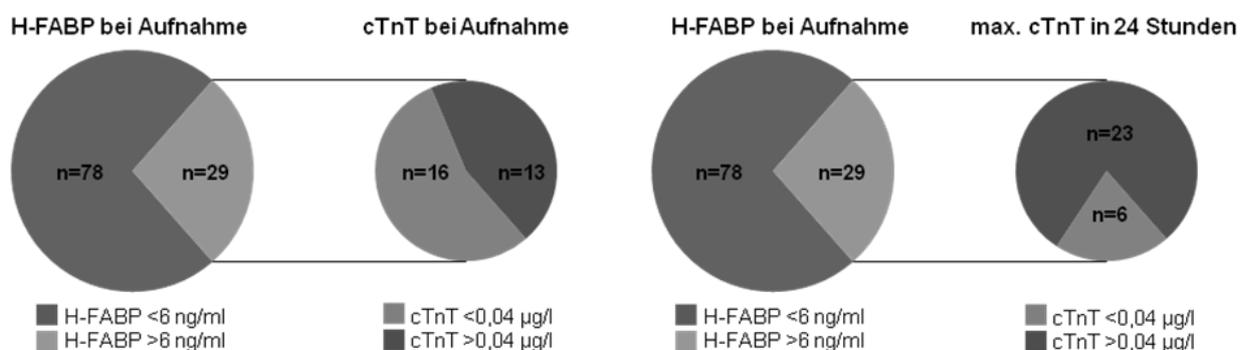


Abbildung 9. Zusammenhang zwischen erhöhten H-FABP-Spiegeln bei Aufnahme und erhöhten Troponin-T- (cTnT) Spiegeln bei Aufnahme und im Verlauf.

Analog zeigte sich eine Verbesserung des positiven Wahrscheinlichkeitsverhältnisses (Likelihood Ratio, LR), wenn anstatt der Troponin-T-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Aufnahme die maximalen Troponin-T-Konzentrationen innerhalb der ersten 24 Stunden des Krankenhausaufenthaltes mit H-FABP verglichen wurden (LR 8,7; P=0,003 vs. LR 27,2; P<0,0001).

Von 29 Patienten mit erhöhten H-FABP-Konzentrationen bei Aufnahme hatten 21 Patienten (72%) erhöhte NT-proBNP-Konzentrationen oberhalb des etablierten Cutoff-Wertes von 1000 pg/ml (LR 7,8; P=0,0006). Insgesamt waren erhöhte NT-proBNP-Plasmakonzentrationen jedoch bei 52% aller Patienten messbar.

3.1.2 Patienten mit einem komplizierten Hospitalverlauf haben erhöhte H-FABP-Konzentrationen

Während des Krankenhausaufenthaltes (erste 30 Tage nach Diagnosestellung) entwickelten 12 Patienten (11,2%) Lungenembolie-assoziierte Komplikationen (definiert als Katecholaminbedürftigkeit, endotracheale Intubation, kardiopulmonale Reanimation oder Tod aufgrund der Lungenembolie; siehe Kapitel 2.1.5) und 10 dieser Patienten starben. Ein weiterer Patient verstarb an einem Krebsleiden (insgesamt also 11 Todesfälle, Gesamtmortalitätsrate 10,3%).

Wie in Abbildung 10 (A) zu erkennen ist, hatten Patienten mit Komplikationen signifikant höhere H-FABP-Spiegel zum Zeitpunkt der Aufnahme als Patienten ohne Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes mit nahezu keinerlei Überlappung der Plasmaspiegel von Patienten mit kompliziertem und unkompliziertem Verlauf ($P < 0,0001$). Im Vergleich dazu zeigten sich ausgeprägte Überschneidungen von Troponin-T- und NT-proBNP-Plasmakonzentrationen, auch wenn Patienten mit Komplikationen jeweils signifikant höhere mittlere Biomarker Konzentrationen hatten (Abbildung 10 (B) und (C)).

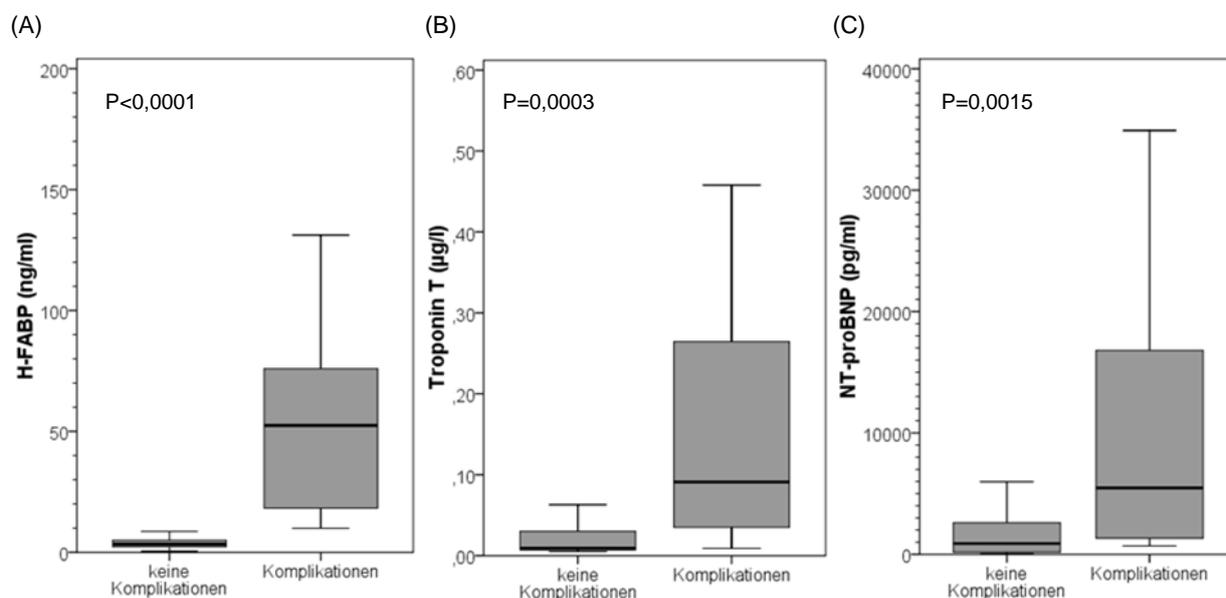


Abbildung 10. H-FABP (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C) Konzentrationen bei Aufnahme bei Patienten mit kompliziertem (rechts) und unkompliziertem (links) Verlauf in der Akutphase.

Von den 29 Patienten mit H-FABP-Konzentrationen oberhalb des Cutoff-Wertes von 6 ng/ml hatten 12 Patienten (41%) einen komplizierten Hospitalverlauf, während kein Patient mit normalen H-FABP-Spiegeln Komplikationen entwickelte. Analog zeigte sich in der

logistischen Regressionsanalyse ein signifikant erhöhtes Risiko, Komplikationen zu entwickeln, für Patienten mit einem positiven H-FABP-Test (Odds Ratio 71,5; 95% Konfidenzintervall 11,0 - >999,9; $P < 0,0001$; siehe auch Kapitel 3.1.3 und Tabelle 7).

Der Zusammenhang zwischen initial erhöhten H-FABP-Spiegeln und Komplikationen sowie Gesamtmortalität ist in Abbildung 11 (A) graphisch dargestellt.

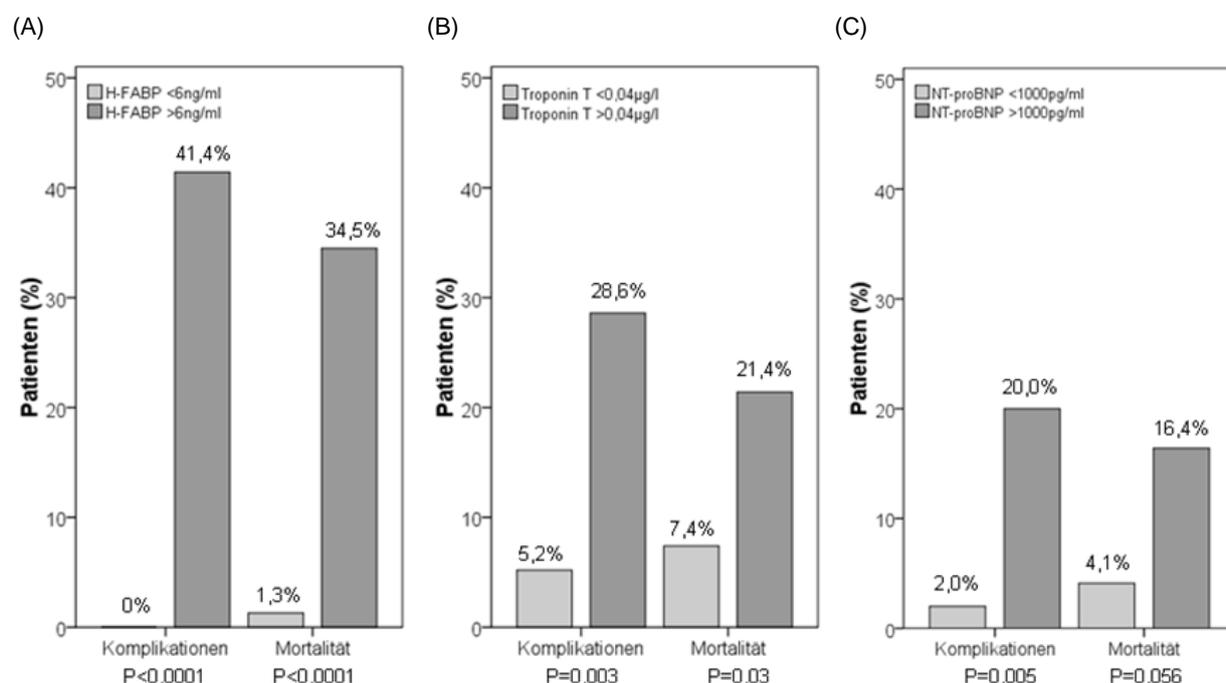


Abbildung 11. Zusammenhang zwischen erhöhten H-FABP (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C) Konzentrationen und Komplikationen (links) sowie Gesamtmortalität (rechts).

H-FABP-Spiegel oberhalb 6 ng/ml waren assoziiert mit einem negativen prädiktiven Wert (NPW) von 100%, einem positiven prädiktiven Wert (PPW) von 41%, einer prognostischen Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 82% (Tabelle 6). Während des Krankenhausaufenthaltes ist nur ein Patient mit normalen H-FABP-Spiegeln verstorben – die Todesursache war jedoch eine Krebserkrankung und nicht Lungenembolie-assoziiert.

	Sensitivität	Spezifität	NPW	PPW
H-FABP ≥ 6 ng/ml	100%	82%	100%	41%
Troponin T $\geq 0,04$ µg/l bei Aufnahme	67%	77%	95%	29%
Troponin T $\geq 0,04$ µg/l max. in 24h	100%	68%	100%	30%
NT-proBNP ≥ 1000 pg/ml	92%	52%	98%	19%

Tabelle 6. Prognostische Sensitivität und Spezifität erhöhter Biomarkerspiegel in Bezug auf einen komplizierten Verlauf während des Krankenhausaufenthaltes.

3.1.3 Prognostischer Stellenwert von H-FABP im Vergleich zu den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP

Neben erhöhten H-FABP-Spiegeln waren auch erhöhte Troponin-T-Spiegel oberhalb 0,04 µg/l zum Zeitpunkt der Aufnahme ein Prädiktor für einen komplizierten Hospitalverlauf (Odds Ratio 8,9; 95% Konfidenzintervall 1,9-56,9; P=0,0031; Tabelle 7). Im Vergleich zu H-FABP war Troponin T jedoch hinsichtlich Sensitivität, Spezifität sowie negativem und positivem prädiktiven Wert unterlegen (siehe Tabelle 6). Der Zusammenhang zwischen initial erhöhten Troponin-T-Spiegeln und Komplikationen sowie Gesamtmortalität ist in Abbildung 11 (B) graphisch dargestellt. Die prognostische Aussagekraft konnte zwar durch Verwendung der maximalen Troponin-T-Konzentrationen in 24 Stunden (anstatt der Troponin-T-Konzentrationen zum Zeitpunkt der Aufnahme) verbessert werden (Odds Ratio 30,3; 95% Konfidenzintervall 4,7 - >999,9; P<0,0001; Tabelle 7), jedoch zeigte sich weiterhin eine Überlegenheit von H-FABP hinsichtlich positivem und negativem prädiktiven Wert (Tabelle 6).

	OR	95% KI	P-Wert
H-FABP ≥ 6 ng/ml	71,5	11,0 - >999,9	<0,0001
Troponin T $\geq 0,04$ µg/l bei Aufnahme	8,9	1,9 – 56,9	0,0031
Troponin T $\geq 0,04$ µg/l max. in 24h	30,3	4,7 – >999,9	<0,0001
NT-proBNP ≥ 1000 pg/ml	11,8	1,6 – 527,0	0,0073

Tabelle 7. Prädiktiver Wert erhöhter Biomarkerspiegel in Bezug auf einen komplizierten Verlauf während des Krankenhausaufenthaltes.

Darüberhinaus konnten auch NT-proBNP-Spiegel oberhalb des Cutoff-Wertes von 1000 pg/ml zum Zeitpunkt der Aufnahme einen komplizierten Hospitalverlauf voraussagen (Odds Ratio 11,8; 95% Konfidenzintervall 1,6 - 527,0; P=0,0073; Tabelle 7). Allerdings waren auch erhöhte NT-proBNP-Spiegel, in Übereinstimmung mit der Literatur (Binder et al. 2005; Kucher und Goldhaber 2003), mit einem niedrigen positiven prädiktiven Werte assoziiert (siehe Tabelle 6). Der Zusammenhang zwischen initial erhöhten NT-proBNP-Spiegeln und Komplikationen sowie Gesamtmortalität ist in Abbildung 11 (C) graphisch dargestellt.

Mittels logistischer Regressionsanalyse, in der anstatt der jeweiligen Cutoff-Werte die kontinuierliche Erhöhung der drei Biomarker H-FABP, Troponin T und NT-proBNP berücksichtigt wurde, zeigten sich vergleichbare Ergebnisse (Daten nicht gezeigt).

Ergebnisse der receiver operating characteristics (ROC) Analyse zeigten, das H-FABP der Biomarker mit der größten Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) verglichen mit Troponin T (P=0,018 vs. H-FABP) und NT-proBNP (P=0,013 vs. H-FABP) war (Abbildung 12).

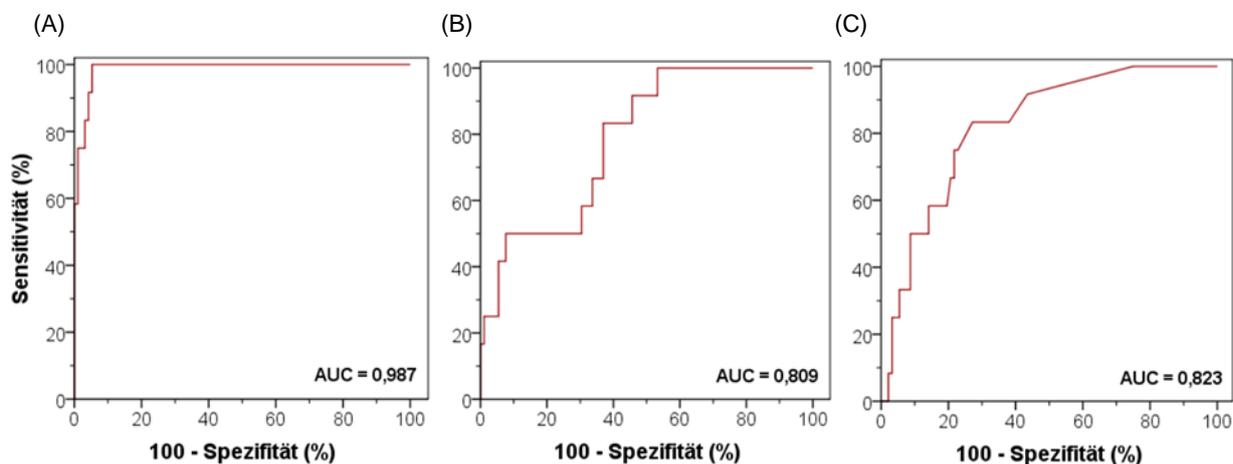


Abbildung 12. Receiver operating characteristics (ROC) Kurven für H-FABP (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C) in Bezug auf einen komplizierten Hospitalverlauf.

Für die maximale gemessene Troponin-T-Konzentration in 24 Stunden wurde eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0,937 berechnet (P=0,433 vs. H-FABP).

3.1.4 Unabhängiger prognostischer Stellenwert von H-FABP

Durch den direkten Vergleich der drei Biomarker mittels multivariabler logistischer Regressionsanalyse konnte H-FABP (Odds Ratio 36,7; 95% Konfidenzintervall 5,1 - >999,9; P<0,0001; Tabelle 8) – nicht jedoch Troponin T (P=0,13) oder NT-proBNP (P=0,36) – als unabhängiger Prädiktor für einen komplizierten Krankenhausaufenthalt identifiziert werden.

	OR	95% KI	P-Wert
H-FABP ≥ 6 ng/ml	36,7	5,1 - >999,9	<0,0001
Troponin T $\geq 0,04$ $\mu\text{g/l}$	5,6	0,7 - 62,1	0,13
NT-proBNP ≥ 1000 pg/ml	3,3	0,3 - >999,9	0,36

Tabelle 8. Unabhängiger prädiktiver Wert erhöhter Biomarkerspiegel bei Aufnahme in Bezug auf einen komplizierten Verlauf während des Krankenhausaufenthaltes.

Vergleichbare Ergebnisse wurden auch erzielt, wenn anstatt der Komplikationen die Gesamtmortalität betrachtet wurde (siehe Tabelle 9).

	OR	95% KI	P-Wert
H-FABP ≥ 6 ng/ml	22,9	2,6 - $>999,9$	0,0012
Troponin T $\geq 0,04$ $\mu\text{g/l}$	2,0	0,3 – 13,0	0,5950
NT-proBNP ≥ 1000 pg/ml	2,0	0,1 – 113,8	0,9832

Tabelle 9. Unabhängiger prädiktiver Wert erhöhter Biomarkerspiegel bei Aufnahme in Bezug auf Gesamtmortalität.

H-FABP war den beiden etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP auch dann hinsichtlich der prognostischen Aussagekraft überlegen, wenn anstatt der Troponin-T-Spiegel zum Zeitpunkt der Aufnahme in der multivariablen logistischen Regressionsanalyse die maximalen Spiegel über 24 Stunden verwendet wurden (Daten nicht gezeigt).

3.1.5 Additiver prognostischer Wert von H-FABP in Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion

Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass die Bestimmung von Biomarkern in Kombination mit einer echokardiographischen Untersuchung einen sinnvolleren und effektiveren Ansatz für die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie darstellt, als eine der beiden Vorgehensweisen allein (Binder et al. 2005; Kucher und Goldhaber 2003; Scridon et al. 2005). Daher wurde der prognostische Wert von H-FABP in Kombination mit echokardiographischen Untersuchungsergebnissen in dem vorliegenden Patientenkollektiv untersucht.

Insgesamt erhielten 97 Patienten (91%) eine echokardiographische Untersuchung um die Diagnose oder den Ausschluss einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion zu ermöglichen. Alle Patienten mit einem negativen H-FABP-Test (n=78) blieben von Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes verschont – unabhängig vom Vorhandensein (n=22) oder Nicht-Vorhandensein (n=48) einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie. Folglich scheint ein negativer H-FABP-Test allein ausreichend zu sein, um einen komplizierten Hospitalverlauf auszuschließen.

Auf der anderen Seite betrug die Komplikationsrate bei Patienten mit einem positiven H-FABP-Test und negativer Echokardiographie 23,1% (n=13; Odds Ratio im Vergleich mit negativem H-FABP-Test 24,0; 95% Konfidenzintervall 2,4 - $>999,9$; P=0,0062; Tabelle 10)

und erhöhte sich mehr als 2-fach (57,1%) bei Patienten mit positivem Echokardiogramm (n=14; Odds Ratio 106,1; 95% Konfidenzintervall 14,5 - >999,9; P<0,0001).

	OR	95% KI	P-Wert
H-FABP \geq6 ng/ml ohne RV Dysfunktion	24,0	2,4 - >999,9	0,0062
H-FABP \geq6 ng/ml mit RV Dysfunktion	106,1	14,5 - >999,9	<0,0001

Tabelle 10. Prädiktiver Wert erhöhter H-FABP-Spiegel in Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion für die Voraussage eines komplizierten Verlaufes während des Krankenhausaufenthaltes.

Bei einem (nicht-Lungenembolie-assoziierten) Todesfall unter den H-FABP negativen Patienten, betrug die Gesamtmortalität der H-FABP positiven Patienten ohne RV Dysfunktion 7,7% (Odds Ratio im Vergleich mit negativem H-FABP-Test 5,6; 95% Konfidenzintervall 0,07 - 458,0; P=0,58; Tabelle 11) und 57,1% bei zusätzlichem Nachweis einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie (Odds Ratio 81,4; 95% Konfidenzintervall 8,8 - >999,9; P<0,0001).

	OR	95% KI	P-Wert
H-FABP \geq6 ng/ml ohne RV Dysfunktion	5,6	0,07 – 458,0	0,58
H-FABP \geq6 ng/ml mit RV Dysfunktion	81,4	8,8 - >999,9	<0,0001

Tabelle 11. Prädiktiver Wert erhöhter H-FABP-Spiegel in Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion für die Voraussage von Gesamtmortalität.

Zusammenfassend scheint ein positiver H-FABP-Test in Kombination mit dem Nachweis einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie geeignet zu sein, einen komplizierten Verlauf während des Krankenhausaufenthaltes sowie Gesamtmortalität vorherzusagen.

3.2 Heart-type fatty acid-binding protein bei Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension

Bei der Chronisch-Thromboembolischen Pulmonalen Hypertension (CTEPH) handelt es sich um eine seltene, jedoch schwerwiegende Komplikation nach einer Lungenembolie mit progressiver Entwicklung einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion (Hoepfer et al. 2006). Nachdem im 1. Teil dieser Arbeit gezeigt werden konnte, dass heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) bei Patienten mit Lungenembolie und akuter RV Dysfunktion ein Prädiktor für Lungenembolie-assoziierte Komplikationen und Mortalität ist, wurde in dem 2. Teil der vorliegenden Arbeit der prognostische Stellenwert von H-FABP bei Patienten mit CTEPH und chronischem Cor pulmonale untersucht.

In die Studie konnten im Zeitraum von September 1994 bis November 2005, wie im Methodenteil (siehe Kapitel 2.2) beschrieben, 93 Patienten (47 Männer, 46 Frauen; medianes Alter 58 Jahre) mit der gesicherten Diagnose CTEPH eingeschlossen werden. Neben der Beurteilung der funktionellen Kapazität mittels 6-Minuten-Gehtest (sofern durchführbar) und der körperlichen Belastbarkeit nach der Einteilung der New York Heart Association (NYHA) wurde bei allen Patienten ein Rechtsherzkatheter zur Ermittlung des mittleren pulmonalarteriellen Druckes (mPAP), des mittleren rechtsatrialen Druckes (mRAP), des pulmonalarteriellen Verschlussdruckes (PCWP), des Cardiac Output (CO) und des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) durchgeführt. Die klinische Charakteristika sowie hämodynamischen und laborchemischen Parameter der 93 Studienpatienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sind in den Tabellen 12a und 12b zusammengefasst.

	Alle Patienten n=93	Ungünstiger Verlauf n=46	Günstiger Verlauf n=47	P-Wert
Geschlecht (♂ / ♀)	47 (51%) / 46 (49%)	25 (54%) / 21 (46%)	22 (47%) / 25 (53%)	0,536
Alter (Jahre)	58 (45 - 69)	61 (51 - 68)	56 (42 - 72)	0,744
BMI (kg/m ²)	26,3 (24,3 - 28,6)	26,0 (23,5 - 27,7)	26,8 (24,8 - 29,1)	0,098
6-Minuten-Gehtest (m)	317 (220 - 396) n=46	264 (196 - 349) n=20	356 (237 - 401) n=26	0,027
NYHA-Klasse I-II / III-IV	17 (20%) / 68 (80%) n=85	6 (14%) / 36 (86%) n=42	11 (26%) / 32 (74%) n=43	0,279
PEA	52 (56%)	22 (48%)	30 (64%)	0,146

Tabelle 12a. Klinische Charakteristika von 93 Patienten mit CTEPH.

	Alle Patienten n=93	Ungünstiger Verlauf n=46	Günstiger Verlauf n=47	P-Wert
Hämodynamische Parameter				
mPAP (mmHg)	50 (41 - 57)	51 (45 - 61)	48 (39 - 54)	0,035
mRAP (mmHg)	10 (6 - 14)	11 (8 - 17)	9 (5 - 11)	0,024
PCWP (mmHg)	11 (8 - 16)	12 (9 - 16)	10 (7 - 14)	0,067
CO (l/min)	4,02 (3,22 - 5,20)	3,82 (3,03 - 4,60)	4,62 (3,46 - 5,34)	0,029
PVR (dyn·sec·cm ⁻⁵)	763 (491 - 995)	812 (572 - 1125)	700 (447 - 848)	0,023
Laborchemische Parameter				
H-FABP (ng/ml)	3,42 (2,28 - 4,86)	3,62 (2,86 - 5,37)	2,96 (2,16 - 4,49)	0,028

Tabelle 12b. Hämodynamischen und laborchemischen Parameter von 93 Patienten mit CTEPH.

3.2.1 Klinische und hämodynamische Prädiktoren für einen ungünstigen Langzeitverlauf von Patienten mit CTEPH

Während der Beobachtungsperiode, die einen Zeitraum von 8 Tagen bis 13 Jahren (Median 1.260 (25. - 75. Perzentil, 708 - 2.460) Tage) umfasste, hatten 46 Patienten (49%) einen ungünstigen klinischen Verlauf, definiert als CTEPH-assoziiertes Tod, Lungentransplantation oder persistierende pulmonalerterielle Hypertension nach pulmonaler Thrombendarterektomie (PEA). Von diesen Patienten verstarben 33 Patienten an der CTEPH, 5 Patienten wurden Lungentransplantiert (2 von ihnen verstarben im weiteren Verlauf) und 8 Patienten hatten eine persistierende pulmonalerterielle Hypertension nach PEA.

In Übereinstimmung mit kürzlich veröffentlichten Daten (Miyamoto et al. 2000; Paciocco et al. 2001) verfügten Patienten mit einem ungünstigen klinischen Verlauf über eine geringere funktionelle Kapazität mit signifikant kürzerer Gehstrecke im 6-Minuten-Gehtest (264 (196 - 349) m) verglichen mit Patienten mit einem günstigen klinischen Verlauf (356 (237 - 401) m; P=0,027). Des Weiteren hatten Patienten mit einem ungünstigen Verlauf eine signifikante Erhöhung des mPAP, des mRAP und des PVR sowie ein signifikant niedrigeres CO in der Rechtsherzkatheteruntersuchung verglichen mit Patienten mit einem günstigen klinischen Verlauf (siehe Tabelle 12b). Folglich zeigte sich auch in der univariablen Cox-Regressionsanalyse eine Assoziation dieser hämodynamischen Parameter mit einem erhöhten Risiko für einen ungünstigen Langzeitverlauf (siehe Tabelle 13).

	Univariables Modell			Multivariables Modell		
	HR	95% KI	P-Wert	HR	95% KI	P-Wert
H-FABP (ng/ml)	1,10	1,04 - 1,18	0,002	1,11	1,02 - 1,22	0,015
mPAP (mmHg)	1,03	1,01 - 1,06	0,010	1,00	0,95 - 1,05	0,943
mRAP (mmHg)	1,10	1,05 - 1,16	<0,001	1,07	1,01 - 1,13	0,025
PCWP (mmHg)	1,07	1,02 - 1,12	0,005	1,02	0,96 - 1,09	0,530
CO (l/min)	0,69	0,52 - 0,91	0,008	0,72	0,39 - 1,31	0,278
PVR (dyn·sec·cm⁻⁵)	1,00	1,00 - 1,00	0,010	1,00	1,00 - 1,00	0,199
PEA	0,37	0,20 - 0,71	0,002	0,45	0,23 - 0,89	0,021

Tabelle 13. Prädiktoren für einen ungünstigen Langzeitverlauf von Patienten mit CTEPH.

3.2.2 Prognostische Bedeutung von H-FABP-Konzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Zum Zeitpunkt der initialen diagnostischen Evaluation betragen die Plasma-H-FABP-Konzentrationen zwischen 0,69 und 24,3 ng/ml (Median, 3,42 (25. - 75. Perzentil, 2,28 - 4,86) ng/ml) und korrelierten (schwach) mit dem CO ($r=-0,21$; $P=0,045$), dem mRAP ($r=0,21$; $P=0,044$), dem PCWP ($r=0,29$, $P=0,006$) und der im 6-Minuten-Gehtest zurückgelegten Wegstrecke ($r=-0,43$; $P=0,003$). Basale H-FABP-Konzentrationen waren signifikant höher bei Patienten mit einem ungünstigen Verlauf in der Langzeitbeobachtung (Median, 3,62 (25. - 75. Perzentil, 2,86 - 5,37) ng/ml) verglichen mit Patienten mit ein günstigen Verlauf (Median, 2,96 (25. - 75. Perzentil, 2,16 - 4,49) ng/ml; $P=0,028$; Abbildung 13).

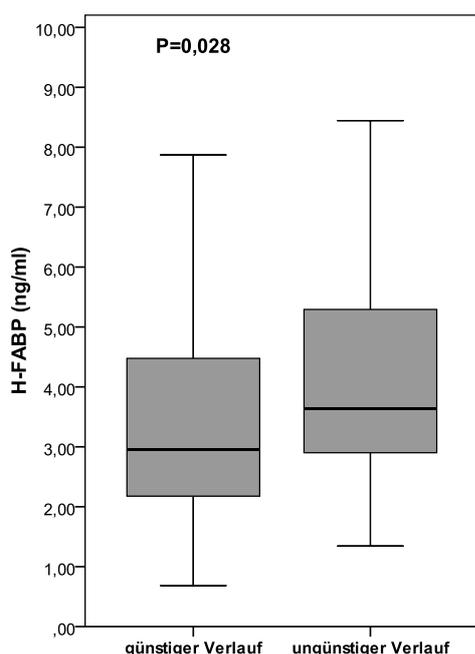


Abbildung 13. H-FABP-Konzentrationen bei Patienten mit ungünstigem (rechts) und günstigem (links) Langzeitverlauf zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.

Mittels univariabler Cox-Regressionsanalyse konnte ein Hazard Ratio von 1,10 (95 % Konfidenzintervall 1,04 - 1,18; $P=0,002$) für jeden Anstieg von H-FABP um 1 ng/ml errechnet werden (Tabelle 13, links). Auch in der multivariablen Cox-Regressionsanalyse, die alle hämodynamischen Parameter und therapeutischen Verfahren einschloss, die als univariable Prädiktoren identifiziert werden konnten, erwies sich der kontinuierliche Anstieg von H-FABP als unabhängiger Prädiktor für einen ungünstigen Langzeitverlauf (95 % Konfidenzintervall 1,02 - 1,22; $P=0,015$; Tabelle 13, rechts).

Zusätzlich wurde die prognostische Bedeutung des Biomarkers durch die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse bestätigt. So konnte gezeigt werden, dass Patienten mit H-FABP-Spiegel im kleinsten Tertil ($<2,7$ ng/ml; grün in Abbildung 14) eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben hatten, als Patienten mit H-FABP-Konzentrationen im mittleren ($2,7 - 4,4$ ng/ml; $P=0,031$ mittels Log-rank; blau in Abbildung 14) und größten Tertil ($>4,4$ ng/ml; $P=0,004$ mittels Log-rank; rot in Abbildung 14).

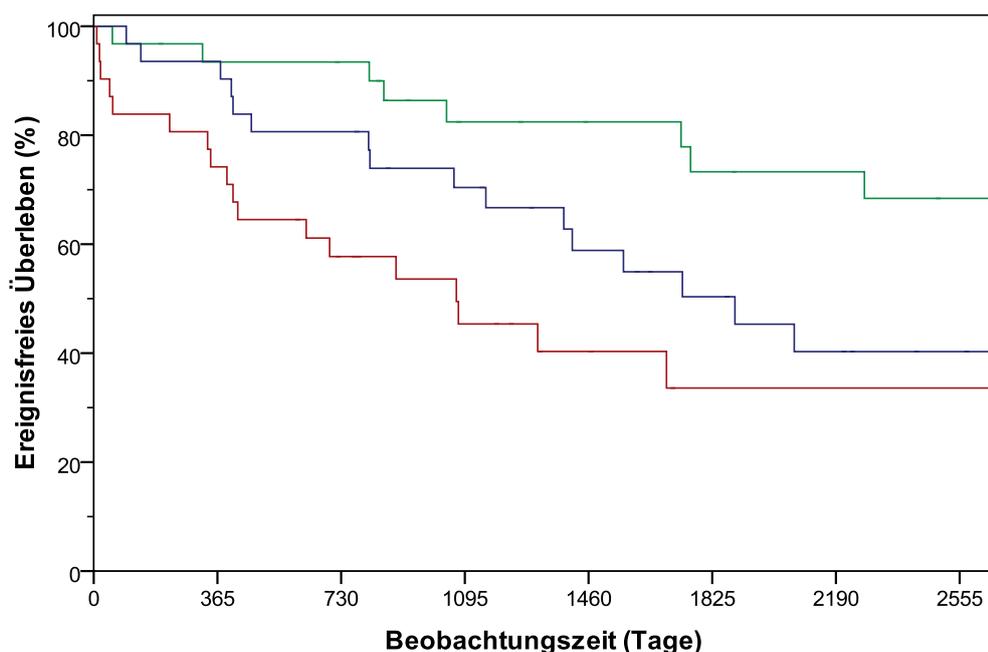


Abbildung 14. Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben von CTEPH Patienten mit H-FABP $<2,7$ ng/ml (grün), H-FABP $2,7-4,4$ ng/ml (blau) und H-FABP $>4,4$ ng/ml (rot) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.

Im Gegensatz zu einer Studie bei Patienten mit Pulmonalerterieller Hypertension unterschiedlicher Ätiologie (Torbicki et al. 2003b) hatten nur 4 unserer Studienpatienten (4,3%) eine messbare Troponin-T-Konzentration zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Alle vier Patienten hatten einen ungünstigen Langzeitverlauf.

3.2.3 Bedeutung von H-FABP für die Risikostratifizierung von Patienten mit pulmonaler Thrombendarterektomie

Die chirurgische pulmonale Thrombendarterektomie (PEA) verbessert die Prognose von Patienten mit CTEPH (Bonderman et al. 2007). In der vorliegenden Studie hatten Patienten, bei denen eine PEA durchgeführt wurde (n=52; grün in Abbildung 15), eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben in der Beobachtungsperiode, als Patienten die eine medikamentöse Therapie erhielten (P=0,002 mittels Log-rank; blau in Abbildung 15).

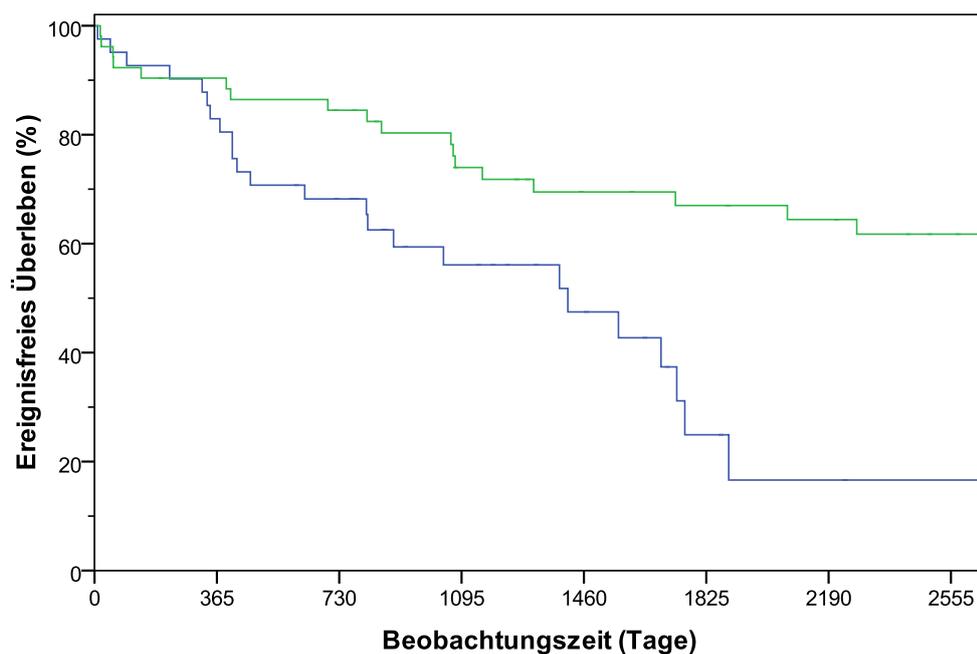


Abbildung 15. Wahrscheinlichkeit für ereignisfreies Überleben von Patienten mit PEA (grün) und Patienten mit medikamentöser Therapie (blau).

Mittels univariabler und multivariabler Cox-Regressionsanalyse konnte bestätigt werden, dass die chirurgische Behandlung von Patienten mit CTEPH mit einem signifikant reduzierten Risiko für einen ungünstigen Verlauf assoziiert war (siehe Tabelle 13).

Von den 52 Patienten, die eine PEA im weiteren Verlauf erhielten, hatten Patienten mit einem ungünstigen klinischen Verlauf signifikant höhere H-FABP-Spiegel zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (Median, 3,55 (25. - 75. Perzentil, 2,11 - 5,63) ng/ml; n=22) als Patienten mit einem günstigen Langzeitverlauf (Median, 2,29 (25. - 75. Perzentil, 1,68 - 3,49) ng/ml; n=30; P=0,026). In Übereinstimmung mit dieser Beobachtung konnte mittels Kaplan-Meier-Analyse gezeigt werden, dass Patienten mit PEA und H-FABP-Konzentrationen $\geq 2,7$ ng/ml (der medianen H-FABP-Konzentration in der Patientensubgruppe mit PEA; rot in Abbildung 16)

eine signifikant niedrigere Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben hatten, als Patienten mit niedrigen H-FABP-Spiegel zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ($P=0,002$ mittels Log-rank; grün in Abbildung 16).

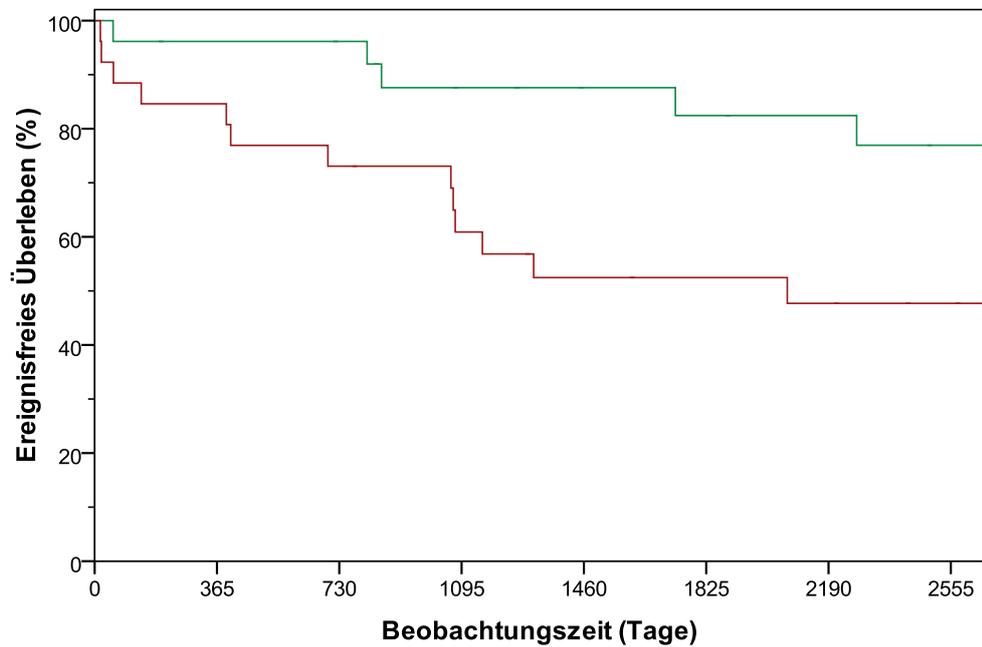


Abbildung 16. Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben von Patienten mit PEA abhängig der H-FABP-Konzentration zum Zeitpunkt der Diagnosestellung; H-FABP <2,7 ng/ml (grün) und H-FABP \geq 2,7 ng/ml (rot).

3.3 Growth-differentiation factor-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Unter physiologischen Bedingungen wird growth-differentiation factor- 15 (GDF-15) vom Myokard nicht produziert, jedoch zeigt sich sowohl nach myokardialer Schädigung als auch nach ventrikulärer Druckbelastung ein Anstieg der kardialen Expression. Dieser Biomarker könnte prognostische Informationen in Zusammenhang mit Myokardschädigung, rechtsventrikulärer (RV) Dysfunktion und Komorbiditäten integrieren. Zur Bedeutung von GDF-15 bei Patienten mit Lungenembolie liegen bislang keine Daten vor. In der vorliegenden Arbeit wurde daher der prognostische Stellenwert von GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie untersucht und mit den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP verglichen.

3.3.1 GDF-15-Spiegel sind erhöht bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Insgesamt konnten im Zeitraum von Oktober 2004 bis März 2007 123 Patienten (52 Männer, 71 Frauen; medianes Alter 68 Jahre) mit akuter Lungenembolie in die Studie eingeschlossen werden. Die Bestätigung der Diagnose erfolgte, wie im Methodenteil (siehe Kapitel 2.1) beschrieben, in Übereinstimmung mit den aktuellen diagnostischen Leitlinien (Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology 2000; British Thoracic Society Standards of Care Committee Pulmonary Embolism Guideline Development Group 2003). Dazu wurde bei 95 Patienten (77%) ein Spiral-CT mit Kontrastmittel, bei 21 Patienten (17%) eine Lungenszintigraphie und bei 60 Patienten (49%) eine sono- oder phlebographische Darstellung der Beinvenen durchgeführt. Bei 60 Patienten wurden mindestens zwei der genannten bildgebenden Verfahren durchgeführt.

Klinische Charakteristika, Symptome, Begleiterkrankungen und Risikofaktoren sowie laborchemische Parameter zum Zeitpunkt der Aufnahme wurden bei allen Studienpatienten erfasst und sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

	Alle Patienten n=123	GDF-15 <2.196 ng/l n=61	GDF-15 ≥2.196 ng/l n=62	P-Wert
Geschlecht (♂ / ♀)	52 (42%) / 71 (58%)	25 (41%) / 36 (59%)	27 (44%) / 35 (56%)	0,86
Alter (Jahre)	68 (55 - 76) (n=123)	60 (46 - 73) (n=61)	72 (64 - 80) (n=62)	<0,001
BMI (kg/m ²)	27 (25 - 32) (n=123)	27 (25 - 32) (n=61)	28 (25 - 33) (n=62)	0,52
Symptome				
Symptombeginn <24 h	77 (63%) (n=122)	38 (62%) (n=61)	39 (64%) (n=61)	1,0
Dyspnoe	104 (87%) (n=119)	55 (90%) (n=61)	49 (85%) (n=58)	0,41
Synkope	32 (27%) (n=121)	12 (20%) (n=60)	20 (33%) (n=61)	0,15
Kardiogener Schock	14 (11%) (n=123)	3 (4,9%) (n=61)	11 (18%) (n=62)	0,044
Begleiterkrankungen und Risikofaktoren für eine venöse Thromboembolie				
frühere TVT und / oder LE	42 (34%) (n=122)	21 (34%) (n=61)	21 (34%) (n=61)	1,0
Immobilisierung	42 (36%) (n=117)	19 (31%) (n=61)	23 (41%) (n=56)	0,34
COPD / Asthma	17 (14%) (n=123)	9 (15%) (n=61)	8 (13%) (n=62)	0,80
Herzinsuffizienz	22 (18%) (n=122)	5 (8,2%) (n=61)	17 (28%) (n=61)	0,008
Diabetes mellitus	21 (17%) (n=122)	5 (8,2%) (n=61)	16 (26%) (n=62)	0,015
Krebserkrankung	18 (15%) (n=123)	4 (6,6%) (n=61)	14 (23%) (n=62)	0,020
Laborparameter zum Zeitpunkt der Aufnahme				
Kreatinin (mg/dl)	1,0 (0,8 - 1,3)	0,9 (0,7 - 1,0)	1,2 (0,9 - 1,4)	<0,001
GFR <60 ml/min/1,73m ²	44 (36%) (n=123)	9 (15%) (n=61)	35 (57%) (n=62)	<0,001
Troponin T (µg/l)	0,01 (0,01 - 0,05)	0,01 (0,01 - 0,04)	0,01 (0,01 - 0,08)	0,10
Troponin T ≥0,04 µg/l	39 (32%) (n=122)	17 (28,3%) (n=60)	22 (35,5%) (n=62)	0,44
NT-proBNP (ng/l)	1220 (198 - 3436)	452 (106 - 2392)	1736 (474 - 6904)	<0,001
NT-proBNP ≥1000 ng/l	68 (56%) (n=122)	24 (40%) (n=60)	44 (71%) (n=62)	0,001
RV Dysfunktion	47 (42%) (n=112)	23 (42%) (n=55)	24 (42%) (n=57)	1,0

Tabelle 14. Klinische Charakteristika, Symptome, Begleiterkrankungen und Risikofaktoren sowie laborchemische Parameter von 123 Patienten mit akuter Lungenembolie. Anhand der medianen GDF-15-Konzentration von 2.196 ng/l wurde das Patientenkollektiv in zwei Gruppen aufgeteilt.

Die mediane GDF-15-Konzentration zum Zeitpunkt der Aufnahme betrug 2.196 (25. – 75. Perzentil, 1.333 – 3.457) ng/l. Die Biomarkerspiegel waren nicht normalverteilt und betrugen zwischen 553 ng/l und 47.274 ng/l (siehe Abbildung 17).

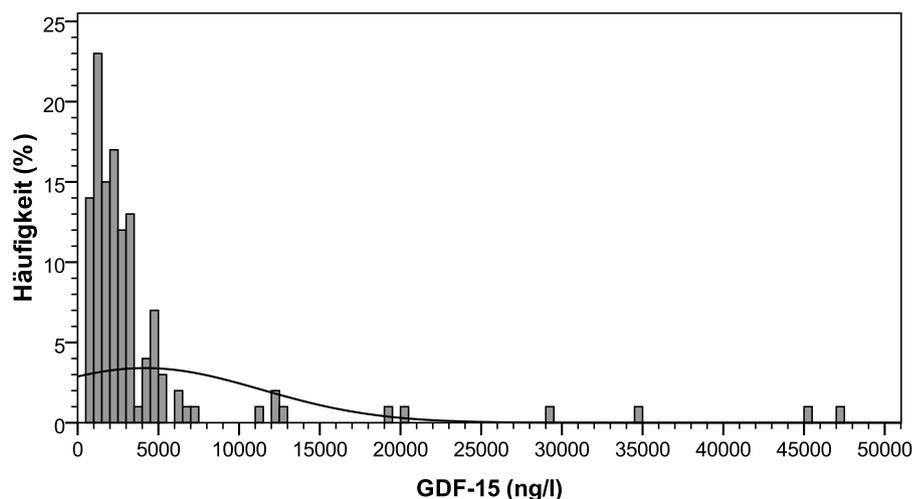


Abbildung 17. Verteilung der GDF-15-Spiegel zum Zeitpunkt der Aufnahme.

Insgesamt hatten 101 Patienten (82% des Studienkollektivs) GDF-15-Konzentrationen größer als 1.200 ng/l, dem oberen Referenzwert von gesunden älteren Individuen (Kempf et al. 2007b). Wie Tabelle 14 zu entnehmen ist, waren Patienten mit GDF-15-Spiegeln oberhalb des Medians älter und bei Aufnahme häufiger hämodynamisch instabil. Bei ihnen waren häufiger die Diagnosen Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus, Krebserkrankung und Niereninsuffizienz bekannt und außerdem hatten sie höher NT-proBNP-Spiegel zum Zeitpunkt der Aufnahme.

3.3.2 GDF-15-Spiegel können einen komplizierten Verlauf während des Krankenhausaufenthaltes voraussagen

Während der ersten 30 Tage nach Diagnosestellung entwickelten 17 Patienten (14%) Komplikationen (definiert als Katecholaminbedürftigkeit, endotracheale Intubation, kardiopulmonale Reanimation oder Tod aufgrund der Lungenembolie; siehe Kapitel 2.1.5); 14 Patienten (11%) verstarben an der Lungenembolie. Wie in Abbildung 18 zu erkennen ist, hatten Patienten, die Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes entwickelt haben, signifikant höhere GDF-15-Spiegel zum Zeitpunkt der Aufnahme (Median 6.039 (25. - 75. Perzentil, 2.778 - 19.722) ng/l) als Patienten mit einem unkomplizierten Hospitalverlauf (Median 2.036 (25. - 75. Perzentil, 1.279 - 3.176) ng/l; $P < 0,001$). Im Vergleich mit Troponin T und NT-proBNP wurden die geringsten Überschneidungen der Plasmaspiegel von Patienten mit kompliziertem und unkompliziertem Verlauf bei GDF-15 beobachtet (siehe Abbildung 18 (A)). Keiner der 22 Patienten (18%) mit GDF-15-Konzentrationen unterhalb der Referenzgrenze von 1.200 ng/l entwickelte Komplikationen in den ersten 30 Tagen nach Diagnosestellung.

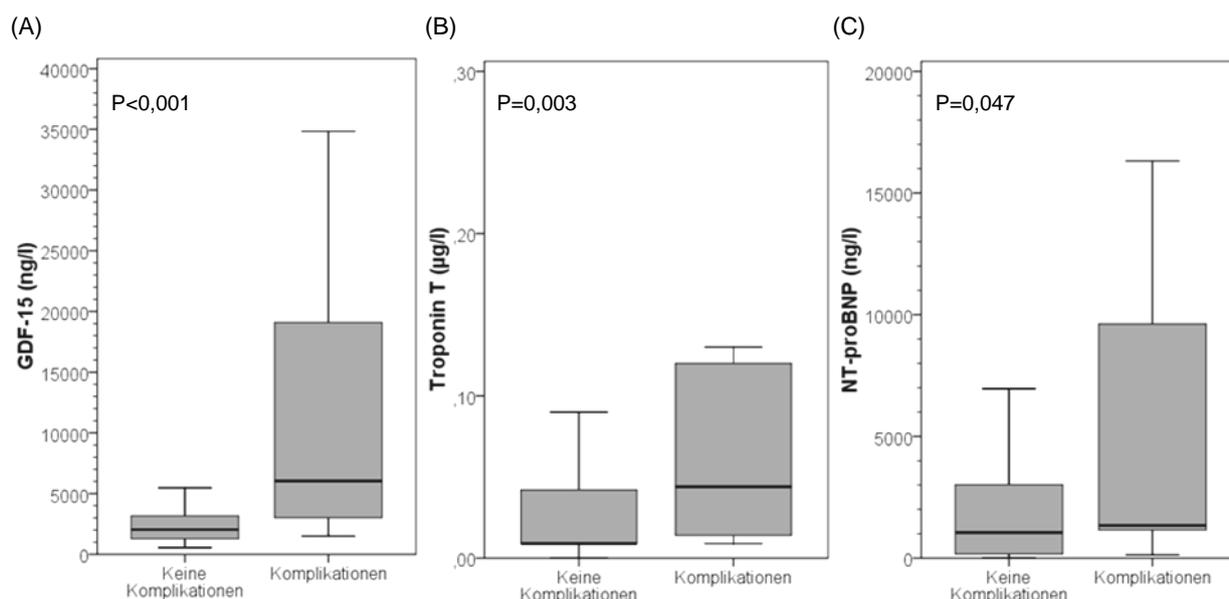


Abbildung 18. GDF-15 (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C) Konzentrationen bei Patienten mit kompliziertem (rechts) und unkompliziertem (links) Hospitalverlauf.

Mittels univariabler logistischer Regressionsanalyse (Tabelle 15, links) konnte gezeigt werden, dass sich pro Anstieg des natürlichen Logarithmus (ln) von GDF-15 um eine Standardabweichung das Risiko, Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes zu entwickeln, 5,0-fach erhöht (95% Konfidenzintervall 2,4 - 10,3). Die Biomarker Troponin T und NT-proBNP konnten ebenfalls als univariable Prädiktoren identifiziert werden, jedoch mit einer geringeren assoziierten Risikoerhöhung (Odds Ratio 1,7 und 1,4; Tabelle 15).

	Unvariables Modell			Multivariables Modell		
	OR	95% KI	P-Wert	OR	95% KI	P-Wert
Kardiogener Schock	125	21,8 - 715	<0,001	2009	13,5 - 298169	0,003
RV Dysfunktion	4,1	1,3 - 12,7	0,014	0,46	0,0 - 16,0	0,67
Herzinsuffizienz	9,2	2,9 - 28,9	<0,001	15,7	0,7 - 361	0,09
Diabetes mellitus	4,6	1,5 - 14,1	0,007	14,0	0,2 - 851	0,21
ln Kreatinin	6,2	1,7 - 22,5	0,006	0,1	0,0 - 2,2	0,15
ln Troponin T	1,7	1,2 - 2,5	0,004	4,3	1,1- 17,4	0,038
ln NT-proBNP	1,4	1,0 - 1,9	0,032	0,7	0,3 - 1,6	0,43
ln GDF-15	5,0	2,4 - 10,3	<0,001	10,1	1,2 - 84,9	0,033

Tabelle 15. Prädiktoren für Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes.

Im multivariablen Modell, in das alle als univariable Prädiktoren identifizierte Parameter eingeschlossen wurden, konnten GDF-15 und Troponin T sowie kardiogener Schock als

unabhängige Prädiktoren für einen komplizierten Hospitalverlauf identifiziert werden (Tabelle 15, rechts).

Darüberhinaus ließ sich mit der receiver operating characteristics (ROC) Analyse zeigen, dass GDF-15 ein starker Indikator für die Entwicklung von Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes ist. Die errechnete Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) für GDF-15 betrug 0,84 (95% Konfidenzintervall 0,76 - 0,90) und war größer als für Troponin T (0,72, 95% Konfidenzintervall 0,63 - 0,80; P=0,18 vs. GDF-15) und NT-proBNP (0,65, 95% Konfidenzintervall 0,56 - 0,73; P=0,022 vs. GDF-15) (Abbildung 19).

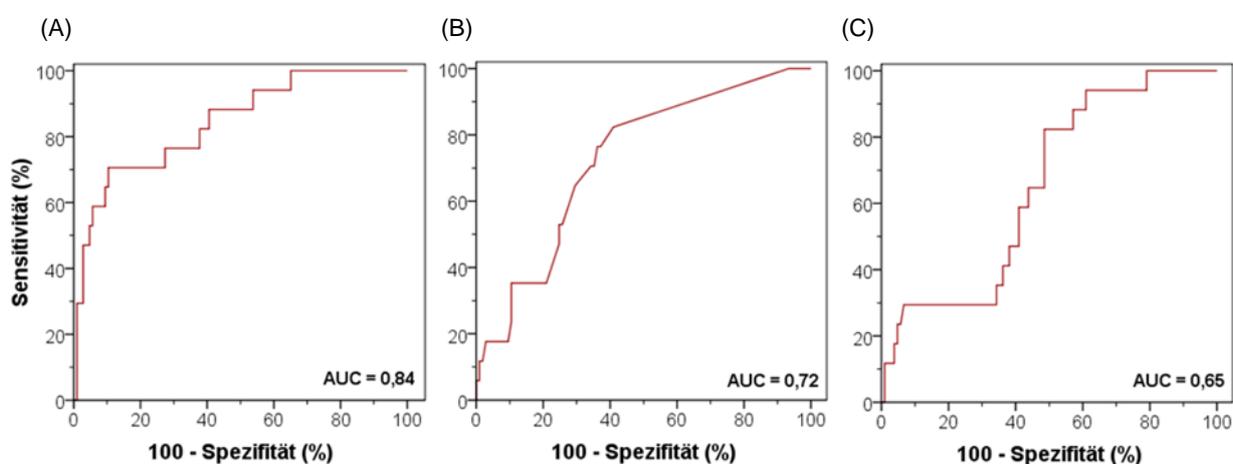


Abbildung 19. Receiver operating characteristics (ROC) Kurven für GDF-15 (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C) in Bezug auf einen komplizierten Hospitalverlauf.

In dem vorliegenden Patientenkollektiv konnte eine GDF-15-Konzentration von 4.600 ng/l als bester Cutoff-Wert mithilfe der ROC-Analyse identifiziert werden. Dieser Wert war assoziiert mit einer prognostischen Sensitivität von 0,71, einer Spezifität von 0,90, einem positiven prädiktiven Wert von 0,52 und einem negativen prädiktiven Wert von 0,95 (Tabelle 16).

	Sensitivität	Spezifität	NPW	PPW
GDF-15 \geq4.600 ng/l	0,71	0,90	0,95	0,52
Troponin T \geq0,04 μg/l	0,59	0,72	0,92	0,26
NT-proBNP \geq1000 ng/l	0,82	0,49	0,94	0,21

Tabelle 16. Prognostische Sensitivität und Spezifität erhöhter Biomarkerspiegel.

Insgesamt entwickelten 12 der 23 Patienten (52%) mit GDF-15-Konzentrationen oberhalb des Cutoff-Wertes Komplikationen, während nur 5 der 100 Patienten mit GDF-15-Spiegel unterhalb 4.600 ng/l Komplikationen im Hospitalverlauf entwickelten (P<0,001).

3.3.3 Additive prognostische Information durch GDF-15 in Kombination mit Troponin T und NT-proBNP

Als nächstes wurde untersucht, ob GDF-15 in der Kombination mit den etablierten Biomarkern Troponin T und NT-proBNP im Sinne einer Multimarkerstrategie additive prognostische Informationen liefern kann. Wie Tabelle 17 zu entnehmen ist, waren erhöhte Troponin-T- und NT-proBNP-Spiegel alleine assoziiert mit einem zwar signifikanten, jedoch nur moderaten Anstieg des Risikos, Komplikationen zu entwickeln (Odds Ratio, 3,7 bzw. 4,4). Eine Kombination mit GDF-15 verbesserte die prognostische Aussagekraft in beiden Fällen (Odds Ratio, 17,7 bzw. 17,3), während die Kombination von Troponin T und NT-proBNP in diesem Patientenkollektiv keine zusätzlichen prognostischen Informationen beinhaltete (siehe auch Abbildung 20).

	OR	95% KI	P-Wert
Troponin T $\geq 0,04$ $\mu\text{g/l}$	3,7	1,3 – 10,8	0,014
NT-proBNP ≥ 1000 ng/l	4,4	5,2 – 57,8	0,026
Troponin T und GDF-15 Erhöhung	17,7	4,4 – 70,9	<0,001
NT-proBNP und GDF-15 Erhöhung	17,3	5,2 – 57,8	<0,001
Troponin T und NT-proBNP Erhöhung	3,0	1,0 – 8,5	0,044

Tabelle 17. Multimarkerstrategie für die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie.

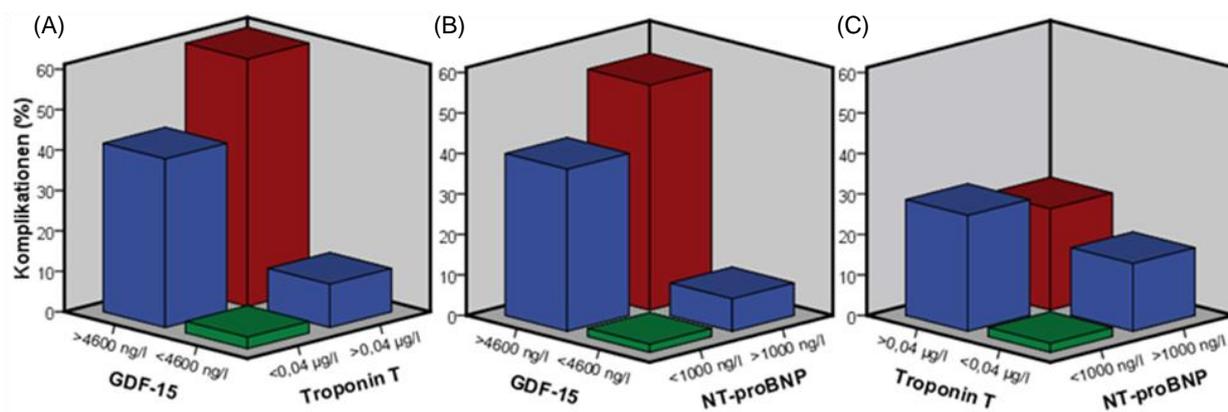


Abbildung 20. Prozentuale Häufigkeit von Komplikationen im Hospitalverlauf in Patientensubgruppen anhand erhöhter Biomarker (GDF-15 + Troponin T (A), GDF-15 + NT-proBNP (B), Troponin T + NT-proBNP (C)).

3.3.4 Additive prognostische Information durch GDF-15 in Kombination mit der Echokardiographie

Da laborchemische Biomarker und bildgebende Verfahren sich in der Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie gegenseitig ergänzen können, wurde der (additive) prognostische Effekt von GDF-15 in Kombination mit echokardiographischen Zeichen für eine rechtsventrikuläre (RV) Dysfunktion untersucht und mit Troponin T und NT-proBNP verglichen.

Keiner der 55 Patienten ohne RV Dysfunktion und GDF-15-Spiegel unterhalb 4.600 ng/l entwickelte Komplikationen (Abbildung 21). Der additive prognostische Wert von den beiden anderen Biomarker war nahezu vergleichbar – nur 2 von 53 Patienten ohne RV Dysfunktion und Troponin-T-Spiegel unterhalb 0,04 µg/l sowie nur 1 von 36 Patienten ohne RV Dysfunktion und mit NT-proBNP-Spiegel unterhalb 1000 ng/l entwickelte Lungenembolie-assoziierte Komplikationen im Hospitalverlauf.

Der Nachweis einer RV Dysfunktion allein war in der logistischen Regressionsanalyse assoziiert mit einem 4,1-fach erhöhten Risiko, Komplikationen zu entwickeln (Tabelle 18). Eine Kombination mit GDF-15 jedoch, war assoziiert mit einem fast 16-fach erhöhten Risiko, Komplikationen zu entwickeln – 7 von 11 Patienten (64%) mit GDF-15-Erhöhung und Zeichen einer RV Dysfunktion entwickelten Komplikationen – was deutlich höher war als der additive prognostische Werte von Troponin T oder NT-proBNP (Odds Ratio 3,0 bzw. 3,7; Tabelle 18).

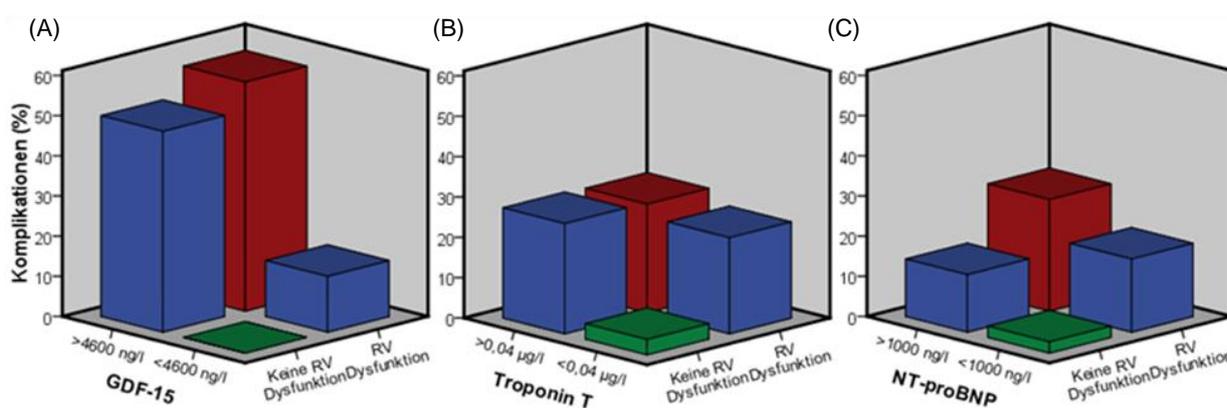


Abbildung 21. Prozentuale Häufigkeit von Komplikationen im Hospitalverlauf in Patientensubgruppen anhand der Kombination von GDF-15 (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C) je mit Zeichen einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie.

	OR	95% KI	P-Wert
RV Dysfunktion	4,1	1,3 - 12,7	0,014
RV Dysfunktion und GDF-15 ≥ 4.600 ng/l	15,9	4,0 - 64,0	<0,001
RV Dysfunktion und Troponin T $\geq 0,04$ μ g/l	3,0	1,0 - 8,8	0,052
RV Dysfunktion und NT-proBNP ≥ 1000 ng/l	3,7	1,3 - 10,9	0,015

Tabelle 18. Kombination von GDF-15, Troponin T und NT-proBNP mit Zeichen einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie.

3.3.5 GDF-15-Spiegel bei Aufnahme können einen komplizierten Langzeitverlauf voraussagen

Langzeitüberlebensdaten waren von fast allen Patienten mit einer Ausnahme (n=122) vorhanden. Die mediane Beobachtungszeit betrug 287 (25. – 75. Perzentil, 188 – 826) Tage. 29 Patienten (24%) starben während dieser Zeit. Insgesamt 15 Patienten (48%) verstarben an der primären Lungenembolie, 7 (24%) aufgrund einer malignen Grunderkrankung und 5 (17%) aufgrund Herzinsuffizienz. Bei 2 Patienten konnte die Todesursache nicht ermittelt werden. Patienten, die verstorben sind, hatten signifikant höhere GDF-15-Spiegel (Median 4.977 (25. – 75. Perzentil, 2.954 – 14.265) ng/l) als Patienten, die überlebt haben (Median 1.808 (25. – 75. Perzentil, 1.238 – 2.939; P<0,001).

Mittels univariabler Cox-Regressionsanalyse konnten mehrere univariable Prädiktoren für Langzeitmortalität identifiziert werden (Tabelle 19, links). Jeder Anstieg des natürlichen Logarithmus (ln) von GDF-15 um eine Standardabweichung war assoziiert mit einem 2,8-fach erhöhten Risiko, im Langzeitverlauf zu versterben. Für Troponin T und NT-proBNP wurde jeweils eine 1,4-fache Risikoerhöhung beobachtet.

In der multivariablen Cox-Regressionsanalyse konnten nur GDF-15 und Herzinsuffizienz (nicht jedoch Troponin T oder NT-proBNP) als unabhängige Prädiktoren für Langzeitmortalität identifiziert werden (Tabelle 19, rechts).

	Univariables Modell			Multivariables Modell		
	HR	95% KI	P-Wert	HR	95% KI	P-Wert
Herzinsuffizienz	5,2	2,4 - 11,0	<0,001	3,2	1,2 - 8,3	0,020
Krebserkrankung	2,5	1,1 - 5,6	0,031	1,9	0,7 - 5,1	0,18
Diabetes mellitus	3,4	1,6 - 7,3	0,002	2,1	0,8 - 5,3	0,14
ln Kreatinin	3,3	1,9 - 5,8	<0,001	1,0	0,5 - 2,1	0,93
ln Troponin T	1,4	1,1 - 1,8	0,019	1,0	0,7 - 1,4	0,90
ln NT-proBNP	1,4	1,1 - 1,7	0,004	1,0	0,8 - 1,2	0,82
ln GDF-15	2,8	2,0 - 3,8	<0,001	2,4	1,6 - 3,7	<0,001

Tabelle 19. Prädiktoren für Langzeitmortalität.

Zusätzliche Analysen, in denen GDF-15 separat mit jedem univariablen Prädiktor für Langzeitmortalität verglichen wurde, konnten bestätigen, dass auch im direkten Vergleich GDF-15 ein unabhängiger Prädiktor für Langzeitmortalität verblieb (Daten nicht gezeigt).

In der Kaplan-Meier-Analyse konnte darüberhinaus gezeigt werden, dass Patienten mit GDF-15-Konzentrationen oberhalb des Cutoff-Wertes von 4.600 ng/l eine signifikant niedrigere Wahrscheinlichkeit für Langzeitüberleben hatten ($P < 0,001$; Abbildung 22 (A)). Die Überlebenskurven von Patienten mit initial erhöhten GDF-15-Spiegel verglichen mit Patienten mit initial niedrigen GDF-15-Spiegel, separieren bereits sehr früh und divergieren kontinuierlich im weiteren Verlauf. Ein ähnlicher, wenn auch weniger betonter Effekt, konnte für NT-proBNP-Konzentrationen ≥ 1000 ng/l ($P = 0,012$; Abbildung 22 (C)) beobachtet werden, während die Erhöhung von Troponin T $\geq 0,04$ $\mu\text{g/l}$ ($P = 0,06$; Abbildung 22 (B)) nur in der akuten Phase mit einer reduzierten Wahrscheinlichkeit für Überleben assoziiert war.

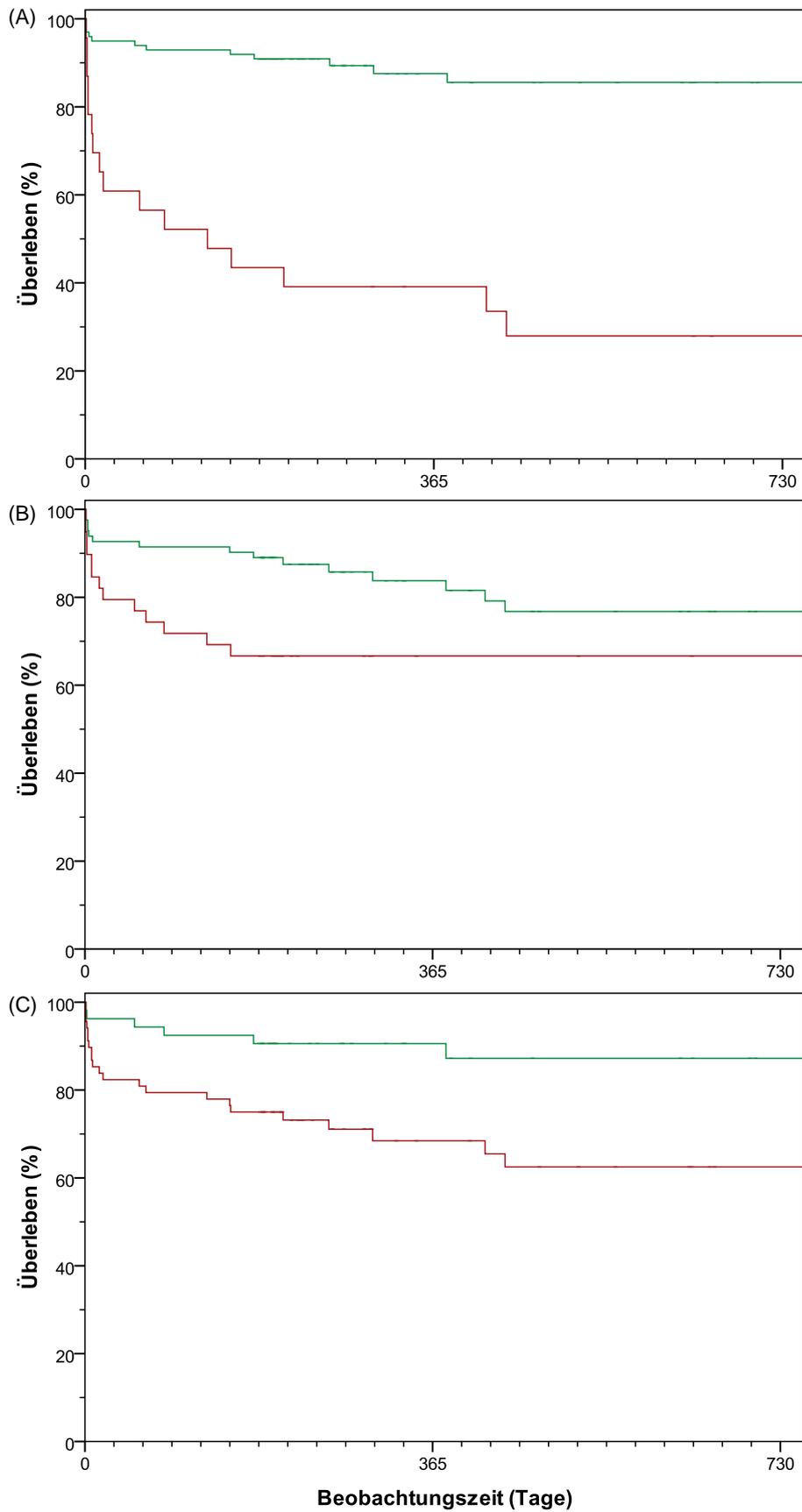


Abbildung 22. Wahrscheinlichkeit von Langzeitüberleben bei Patienten mit (rot) und ohne (grün) Erhöhung der Biomarker GDF-15 (A), Troponin T (B) und NT-proBNP (C).

4 Diskussion

4.1 Die Bedeutung von heart-type fatty acid-binding protein für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie und Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonalen Hypertension

In der vorliegenden Arbeit wurde der prognostische Stellenwert des neuen Biomarkers heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) bei Patienten mit akuter Lungenembolie und bei Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonalen Hypertension (CTEPH) – einer seltenen, jedoch schwerwiegenden Komplikation nach einer akuten Lungenembolie – untersucht.

4.1.1 Vor- und Nachteile von H-FABP im Vergleich zu etablierten Biomarkern einer myokardialen Ischämie

Die Bestimmung von H-FABP bietet gegenüber der Messung etablierter kardialer Biomarker wie Kreatinkinase (CK) und ihrem Isoenzym MB, Troponin I / T und Myoglobin einige theoretische und praktische Vorteile für den Nachweis einer myokardialen Ischämie.

So zeichnet sich H-FABP durch eine vergleichsweise günstige Freisetzungskinetik mit nachweisbarem Anstieg von Plasmakonzentrationen bereits 20 Minuten nach myokardialer Schädigung aus, die durch die kleine Molekülgröße (15 kDa) des Proteins und dem isolierten Vorkommen von H-FABP im zytoplasmatischen Raum erklärt wird (Colli et al. 2007). Bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom sind H-FABP-Plasmakonzentrationen bereits 1 bis 2 Stunden nach Auftreten der ersten Symptome erhöht und erreichen, in Abhängigkeit der Therapie, nach 4 bis 8 Stunden ihr Maximum (Pelsers et al. 2005). Im Gegensatz dazu können etablierte kardiale Biomarker wie Troponin T (37 kDa), Kreatinkinase (CK) und ihr Isoenzym MB (80 kDa) aufgrund ihrer Molekülgröße und Strukturbindung frühestens 3 bis 4 Stunden nach myokardialer Schädigung im Plasma nachgewiesen werden (Bakker et al. 1993). Dieser Tatsache muss bei der Diagnostik von Patienten mit Akutem Koronarsyndrom Rechnung

getragen werden und macht eine zweite Messung 6 bis 12 Stunden nach Aufnahme notwendig (Bassand et al. 2007; Hamm et al. 1997), da ein einzelner negativer Messwert bei Aufnahme nicht für den Ausschluss einer myokardialen Ischämie ausreicht (Heeschen et al. 1999). Des Weiteren ist die Sensitivität dieser Biomarker für die Detektion einer geringfügigen myokardialen Ischämie, beispielsweise bei Patienten mit Herzinsuffizienz (Niizeki et al. 2007b; Setsuta et al. 2002), aber auch bei Patienten mit akuter Lungenembolie und CTEPH – wie durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte – limitiert. In dem vorliegenden Lungenemboliekollektiv hatten zum Zeitpunkt der Aufnahme nur 45% der Patienten mit erhöhten H-FABP-Spiegeln auch erhöhte Troponin-T-Konzentrationen. Wenn jedoch die maximalen Troponin-T-Plasmakonzentrationen während der ersten 24 Stunden des Krankenhausaufenthaltes berücksichtigt wurden, waren erhöhte Troponin-T-Konzentrationen bei 80% der Patienten mit erhöhten H-FABP-Spiegeln nachweisbar. Diese Beobachtung bestätigt die schnelle Freisetzungskinetik von H-FABP und belegt die kardiale Spezifität des Biomarkers. Die verbleibenden 20% der Patienten (n=6), die zwar eine Erhöhung von H-FABP jedoch keine Erhöhung von Troponin T (auch nicht nach 24 Stunden) zeigten, entwickelten keine Komplikationen im Hospitalverlauf und hatten möglicherweise eine geringfügige, durch Troponin T nicht detektierbare rechtsventrikuläre myokardiale Schädigung.

In der vorliegenden Folgestudie bei Patienten mit CTEPH hatten nur 4 Patienten (4%) detektierbare ($\geq 0,01 \mu\text{g/l}$) Troponin-T-Plasmaspiegel zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, während H-FABP bei allen Patienten messbar war (siehe auch Kapitel 4.1.4.1).

H-FABP-Plasmakonzentrationen kehren nach myokardialer Schädigung im Rahmen eines Akuten Koronarsyndroms nach 24 bis 30 Stunden in den Normalbereich zurück (Azzazy et al. 2006). Der schnelle Abfall von H-FABP-Plasmaspiegeln – und damit das kleine therapeutische Fenster – wird einerseits durch die oben beschriebene Freisetzungskinetik und andererseits durch die schnelle renale Elimination von H-FABP begünstigt. Folglich sind bei gesunden Individuen sehr niedrige Plasmakonzentrationen nachweisbar (Pelsers et al. 2005), so dass ein Anstieg von H-FABP-Spiegeln mit einer hohen Sensitivität verbunden ist. H-FABP ist jedoch aufgrund der schnellen renalen Elimination nicht geeignet, eine mehrere Tage zurückliegende myokardiale Schädigung zu detektieren – im Gegensatz zu Troponin T, was aufgrund der progressiven Proteolyse des kontraktilen Apparates bis zu 2 Wochen im Plasma erhöht bleibt (Bassand et al. 2007; Colli et al. 2007). Außerdem resultiert aus der vollständigen renalen Elimination eine begrenzte Anwendbarkeit des Biomarkers bei Patienten mit Niereninsuffizienz, da bei diesen Patienten falsch erhöhte Werte gemessen werden können (Gorski et al. 1997).

Die Kinetik (Freisetzung, Elimination) von H-FABP ist der von Myoglobin, dem derzeit sensitivsten verwendeten Marker einer myokardialen Schädigung, sehr ähnlich (Alhadi und Fox 2004; Colli et al. 2007). Dies liegt vor allem daran, dass Myoglobin eine vergleichbare Molekülgröße aufweist (18 kDa) und ebenso wie H-FABP isoliert im zytoplasmatischen Raum vorkommt. Beide Proteine werden sowohl im Herzmuskel als auch im Skelettmuskel exprimiert, wobei der Skelettmuskelanteil von H-FABP nur 10-30% des Anteils von H-FABP im Herzmuskel beträgt, während der Skelettmuskelanteil von Myoglobin etwa doppelt so hoch ist wie der Herzmuskelanteil. Des Weiteren ist die physiologische H-FABP-Plasmakonzentration 10- bis 15-fach niedriger als von Myoglobin (Glatz et al. 1998), so dass zusammenfassend H-FABP als kardiospezifischerer und sensitiverer Marker für die frühe Detektion einer myokardialen Schädigung als Myoglobin gilt (Ishii et al. 1997; Nakata et al. 2003). Dennoch deuten einige Daten an, dass die Anwendbarkeit von H-FABP bei Patienten mit Skelettmuskelschädigung, inklusive elektrischer Kardioversion oder kardiopulmonaler Reanimation, limitiert sein könnte (Van Nieuwenhoven et al. 1995).

Von verschiedenen Autoren ist beschrieben worden, dass H-FABP nicht nur in Herz- und Skelettmuskulatur, sondern in geringem Umfang auch in der Niere, dem Gehirn, Magen, Fettgewebe, Hoden und der laktierenden Mamma / Plazenta nachgewiesen werden kann (Veerkamp et al. 1990). Diese Beobachtungen sind jedoch möglicherweise auf eine Kreuzreaktivität der in den Assays verwendeten Antikörpern mit anderen FABP Gewebetypen (bei einer Aminosäuresequenz-Homologie von bis zu 70%) und folglich falsch positiven Ergebnissen zurückzuführen (Alhadi und Fox 2004; Pelsers et al. 2005). Während ältere Assays eine Kreuzreaktivität von 5% aufwiesen, zeigen neuere Assays – wie der in dieser Arbeit verwendete, auf dem Sandwich-Prinzip basierende solid-phase ELISA von HyCult® (Wodzig et al. 1997) – eine Kreuzreaktivität mit anderen H-FABP-Typen von weniger als 0,005%. Neben diesen hochsensitiven neuen Assays könnten qualitative lateral-flow Assays (Vollbluttests) die H-FABP-Messungen vereinfachen und die Unterscheidung von normalen oder erhöhten H-FABP-Spiegeln (mit einem Cutoff-Wert von 6 ng/ml) innerhalb von 15 Minuten erlauben (Chan et al. 2003; Chan et al. 2005; Watanabe et al. 2001). Die klinische Anwendbarkeit dieses letzteren Ansatzes benötigt weitere Überprüfung bei Patienten mit akuter myokardialer Ischämie und Lungenembolie.

4.1.2 Prognostischer Stellenwert von H-FABP im Vergleich zu etablierten kardialen Biomarkern

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass erhöhte H-FABP-Plasmakonzentrationen oberhalb des etablierten Cutoff-Wertes von 6 ng/ml (Pagani et al. 2002) zum Zeitpunkt der Aufnahme ein zuverlässiger Prädiktor für den Hospitalverlauf von 107 konsekutiven Patienten mit akuter Lungenembolie und bezüglich der prognostischen Aussagekraft den kardialen Biomarkern Troponin T und NT-proBNP überlegen war.

Sowohl NT-proBNP als auch Troponin T sind gekennzeichnet durch eine hohe prognostische Sensitivität und negativ prädiktive Werte für die Voraussage eines komplizierten Hospitalverlaufes und demnach gut geeignet, eine potentiell lebensbedrohliche rechtsventrikuläre (RV) Dysfunktion respektive Schädigung auszuschließen. Daher ist bei Patienten mit normalen Biomarkerleveln die Durchführung einer echokardiographischen Untersuchung zum Nachweis einer RV Dysfunktion nicht notwendig (Kucher und Goldhaber 2003). Im direkten Vergleich erscheint NT-proBNP aufgrund der größeren prognostischen Sensitivität besser geeignet, einen komplizierten Hospitalverlauf ausschließen zu können als Troponin T (Binder et al. 2005).

Auf der anderen Seite des Risikospektrums sind erhöhte NT-proBNP-Spiegel assoziiert mit einem enttäuschend niedrigen positiven prädiktiven Wert verglichen mit Troponin T (Kucher et al. 2003a; Sohne et al. 2004). Aufgrund der vergleichsweise geringen Spezifität und der Gefahr falsch positiver Werte reicht der alleinige Nachweis von erhöhten Troponin-T- oder NT-proBNP-Plasmakonzentrationen für den Nachweis einer RV Dysfunktion nicht aus, und diese bedarf einer echokardiographischen Bestätigung (Kucher und Goldhaber 2003) – oder der Etablierung neuer Biomarker mit vorteilhafteren Eigenschaften.

In dem vorliegenden Studienkollektiv hatten Patienten mit Komplikationen in der Akutphase (11,2%) signifikant höhere H-FABP-Konzentrationen als Patienten mit einem unkomplizierten Verlauf ($P < 0,0001$) mit nahezu keinerlei Überlappung der Plasmaspiegel (siehe Abbildung 10). Während des Krankenhausaufenthaltes entwickelte kein Patient mit normalen H-FABP-Konzentrationen Komplikationen oder verstarb an der Lungenembolie. Dementsprechend waren H-FABP-Spiegel oberhalb 6 ng/ml assoziiert mit einem exzellenten negativen prädiktiven Wert von 100%, der identisch mit dem von Troponin T war, wenn anstatt der Werte zum Zeitpunkt der Aufnahme die maximalen Troponin-T-Konzentrationen während der ersten 24 Stunden des Krankenhausaufenthaltes verwendet wurden. Der positive prädiktive

Wert (PPW) (41%) – als Indikator für die Kardiospezifität des Biomarkers – und die Spezifität (82%) erhöhter H-FABP-Plasmakonzentrationen für die Voraussage eines komplizierten Hospitalverlaufes war im Vergleich zu Troponin T (PPW 29%, Spezifität 77%) und NT-proBNP (PPW 19%, Spezifität 52%) größer (siehe Tabelle 6). Auch in der ROC-Analyse zeigte sich die signifikant größte Fläche unter der Kurve (AUC) für H-FABP im Vergleich zu Troponin T und NT-proBNP (siehe Abbildung 12). Aufgrund dieser Eigenschaften erscheint der neue Biomarker H-FABP besser geeignet, gefährdete Patienten zu identifizieren als die beiden etablierten kardialen Biomarker.

Diese Beobachtung konnte auch in Analysen zur Evaluierung des prognostischen Stellenwertes der Biomarker bestätigt werden. In der univariablen logistischen Regressionsanalyse zeigte sich ein fast 72-fach erhöhtes Risiko für Patienten mit erhöhten H-FABP-Plasmakonzentrationen, Komplikationen während des Krankenhausaufenthaltes zu entwickeln. Im Vergleich zu Patienten mit erhöhten Troponin-T- (OR 8,9) oder NT-proBNP- (OR 11,8) Spiegeln, hatten Patienten mit erhöhten H-FABP-Spiegeln (OR 71,5) das höchste Risiko, Komplikationen zu entwickeln. Durch den direkten Vergleich der drei Biomarker in einem multivariablen Modell der logistischen Regressionsanalyse konnte H-FABP – nicht jedoch Troponin T oder NT-proBNP – als unabhängiger Prädiktor für einen komplizierten Hospitalverlauf identifiziert werden.

4.1.3 Stellenwert von H-FABP in Multimarkermodellen

Biomarker für die Risikostratifizierung von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen repräsentieren jeweils nur einen Teil des komplexen pathophysiologischen Prozesses einer Erkrankung – beispielsweise dient NT-proBNP bei Patienten mit Herzinsuffizienz als Marker für den Grad der ventrikulären Volumenbelastung, erlaubt jedoch keine Aussage bezüglich einer möglicherweise aufgetretenen myokardialen Ischämie wie beispielsweise kardiale Troponine. Für eine exaktere Beurteilung der Schwere der Erkrankung und des individuellen Risikos des Patienten, ist die Berücksichtigung von möglichst vielen verschiedenen Komponenten des pathophysiologischen Prozesses notwendig. In der klinischen Routine wird dem Rechnung getragen, indem die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen (körperlich, apparativ, laborchemisch) zusammengetragen werden, um den Gesamtzustand des Patienten beurteilen zu können. In den vergangenen Jahren hat die Verwendung von Kombinationsmodellen aus etablierten Biomarkern zur Optimierung der Risikostratifizierung von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Die Vorteile einer solchen Multimarkerstrategie gegenüber dem einzelnen Risikomarker werden vor allem in einer Verbesserung der Risikostratifizierung durch

- die Vereinigung verschiedener klinischer und laborchemischer Informationen und Einflussfaktoren und infolgedessen
- eine verbesserte Berücksichtigung des jeweiligen individuellen Risikoprofils,
- den Erhalt additiver Informationen,
- die Verbesserung der prognostischen Aussagekraft und
- die Verbesserung von Sensitivität und Spezifität gesehen.

Kombinationsmodelle aus Markern der myokardialen Nekrose (Troponine), Inflammation und Plaqueruptur (CRP) und der neurohumoralen Aktivierung (NT-proBNP) wurden bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom (de Lemos und Morrow 2003; James et al. 2003; Sabatine et al. 2002) und bei Patienten mit Herzinsuffizienz (Fonarow und Horwich 2003; Fonarow et al. 2008; Yin et al. 2007) erfolgreich angewendet, um die prognostische Aussage zu verbessern.

Auch für Patienten mit akuter Lungenembolie sind Multimarkermodelle, die der Komplexität der Erkrankung und den verschiedenen Komponenten der resultierenden rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion gerecht werden, untersucht worden. Das Konzept, prognostisch relevante laborchemische Biomarker und bildgebende Verfahren mit dem Ziel einer optimierten

Risikostratifizierung miteinander zu kombinieren, erscheint vielversprechend. In ersten Studien konnte gezeigt werden, dass durch die Kombination der Biomarkern Troponin T und NT-proBNP untereinander (Kostrubiec et al. 2005) oder mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion (Binder et al. 2005; Kucher et al. 2003b; Scridon et al. 2005) additive prognostische Informationen erhalten werden können. Während in der Studie von Binder et al. erhöhte Troponin-T-Konzentrationen oder der echokardiographische Nachweise einer RV Dysfunktion nicht mit einem erhöhten Risiko für einen komplizierten Krankenhausaufenthalt assoziiert waren, zeigte sich für die Kombination aus beiden ein signifikantes 10-fach erhöhtes Risiko (Binder et al. 2005). NT-proBNP-Konzentrationen unterhalb 600 pg/ml waren in der Studie von Kostrubiec et al. mit einem günstigen Verlauf assoziiert (keine Todesfälle), während bereits eine Erhöhung von NT-proBNP ≥ 600 pg/ml in Kombination mit einem negativen Troponin-T-Test ($< 0,07 \mu\text{g/l}$) zu einem Anstieg der Mortalitätsrate auf 3,7% führte, die auf 33% stieg, wenn beide Biomarker erhöht waren (Kostrubiec et al. 2005).

In der vorliegenden Arbeit konnte in einem Multimarkermodell bestehend aus H-FABP in Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion nachgewiesen werden, dass die Echokardiographie keine zusätzlichen prognostischen Informationen bei Vorliegen eines negativen H-FABP-Testes offeriert. Unabhängig vom Vorhandensein oder Nichtvorhandensein einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie entwickelte kein Patienten mit H-FABP-Plasmakonzentrationen unterhalb 6 ng/ml Komplikationen während des Hospitalverlaufes. Auf der anderen Seite hatten Patienten mit H-FABP-Konzentrationen oberhalb des Cutoff-Wertes zum Zeitpunkt der Aufnahme (27% des gesamten Studienkollektivs) eine Verdopplung der Komplikationsrate und ein 4-fach erhöhtes relatives Risiko für einen komplizierten Hospitalverlauf, wenn zusätzliche eine RV Dysfunktion in der Echokardiographie nachgewiesen werden konnte.

4.1.4 Ein neuer Biomarker bei Patienten mit CTEPH

Basierend auf den vielversprechenden Ergebnissen der Untersuchung von H-FABP bei Patienten mit akuter Lungenembolie (Kaczynska et al. 2006; Puls et al. 2007) wurde in der vorliegenden Arbeit der prognostische Stellenwert des neuen Biomarkers bei Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension (CTEPH) untersucht. Dazu wurden sich auf eine Population von 93 Patienten mit gesicherter Diagnose CTEPH konzentriert, die über einen medianen Zeitraum von 3,5 Jahren beobachtet wurden. Während dieser Zeit erhielten 52 Patienten (56%) eine pulmonale Thrombendarterektomie (PEA), und 46 Patienten (49%) hatten einen ungünstigen Verlauf, definiert als CTEPH-assoziiertes Tod oder Lungentransplantation. Da bekannt ist, dass ca. 10-15% der Patienten, bei denen eine PEA durchgeführt wurde, postoperativ eine persistierende pulmonalarterielle Hypertension zeigen (Auger et al. 2004) mit konsekutiver Verschlechterung der Prognose, wurde die Definition eines ungünstigen Verlaufes um diesen Punkt erweitert.

4.1.4.1 Prognostischer Stellenwert von H-FABP

H-FABP-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung waren signifikant höher bei Patienten mit einem ungünstigen Verlauf in der Beobachtungsperiode verglichen mit Patienten mit einem günstigen Verlauf ($P=0,028$). Mit steigenden H-FABP-Plasmaspiegeln (Tertilen) reduzierte sich kontinuierlich die Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben. Mittels Cox-Regressionsanalyse konnten H-FABP-Plasmalevel, neben dem invasiv ermittelten (Rechtsherzkatheter) mittleren rechtsatrialen Druck (mRAP) und der Durchführung einer chirurgischen Therapie (PEA), als unabhängige Prädiktoren für einen ungünstigen Langzeitverlauf identifiziert werden.

Verglichen mit H-FABP, wurde für den etablierten Biomarker einer myokardialen Schädigung Troponin T eine enttäuschend niedrige prognostische Sensitivität für die Voraussage eines ungünstigen Langzeitverlaufes gefunden. Nur 4 Patienten (4%) hatten detektierbare ($\geq 0,01 \mu\text{g/l}$) Troponin-T-Plasmaspiegel zum Zeitpunkt der Diagnosestellung – alle 4 Patienten hatten einen ungünstigen Langzeitverlauf. Daraus wird ersichtlich, dass eine Erhöhung von Troponin T – sofern vorhanden – ein Indikator für einen ungünstigen Verlauf bei Patienten mit CTEPH ist. Dennoch stehen die hier beobachteten Ergebnisse teilweise im Widerspruch zu einer Studie, in der gezeigt wurde, dass Troponin T bei einer größeren Anzahl von Patienten (8 von 56 untersuchten Patienten (14,3%)) mit Pulmonalarterieller Hypertension (PAH) unterschiedlicher

Ätiologie erhöht ist (Torbicki et al. 2003b). Trotz vergleichbarer hämodynamischer Parameter hatten diese 8 Patienten einen signifikant schlechteren Langzeitverlauf (24 Monate) als Patienten ohne Erhöhung von Troponin T. Obwohl die exakte Ursache für die offensichtlichen Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen dieser Arbeit und der Studie von Torbicki et al. unklar ist, schloss die besagte Studie nur eine kleine Anzahl (n=5) von Patienten mit CTEPH ein. Weitere Studien, die den prognostischen Stellenwert von Troponin T bei Patienten mit PAH oder CTEPH untersucht haben, liegen derzeit nicht vor.

Die Befunde der vorliegenden Arbeit deuten auf eine Überlegenheit von H-FABP über Troponin T in der Risikostratifizierung von Patienten mit CTEPH und in der Vorhersage von ereignisfreiem Langzeitüberleben. Diese Beobachtungen stehen in Einklang mit den Ergebnissen der Untersuchung bei Patienten mit akuter Lungenembolie und akuter RV Dysfunktion (siehe Kapitel 4.1.2) und lassen sich durch die theoretischen Vorteile von H-FABP (kleinere Molekulargröße und isoliertes Vorkommen im zytoplasmatischen Raum mit resultierender günstigerer Freisetzungskinetik verglichen mit Troponin T, hoher myokardialen Spezifität sowie schneller renalen Elimination) (Alhadi und Fox 2004) erklären (siehe auch Kapitel 4.1.1).

4.1.4.2 H-FABP identifiziert PEA Patienten mit ungünstiger Langzeitprognose

Die chirurgische pulmonale Thrombendarterektomie (PEA) wurde erstmals 1957 durchgeführt und ist aufgrund des potentiell kurativen Ansatzes die Therapie der Wahl für Patienten mit CTEPH (Rubin et al. 2006). Dabei wird im Gegensatz zur operativen Therapie der akuten Lungenembolie keine Embolektomie, sondern eine Endarterektomie mit bilateraler Pulmonalarterien-Inzision und Entfernung der Intima und Teilen der Media und so des organisierten, eingebauten fibrösen Gewebes durchgeführt (Jamieson et al. 1993).

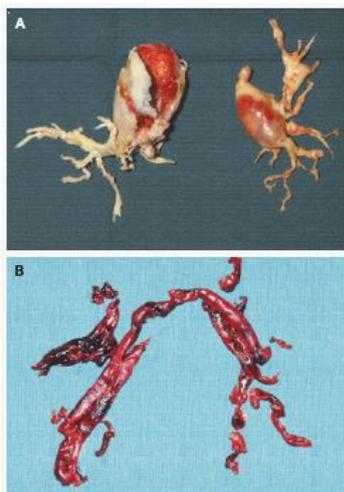


Abbildung 23. Operationspräparate; aus Lang (2004, S. 2237).

Abbildung A zeigt einen weißlich-gelb, fibrösen, organisierten Thromboembolus aus dem Pulmonalarterienbaum eines Patienten mit CTEPH (Thrombendarterektomie).

Abbildung B hingegen zeigt einen frischen roten Thrombus eines Patienten mit akuter Lungenembolie (Embolektomie nach Trendelenburg).

Die perioperativen Mortalitätsraten sinken kontinuierlich und betragen heute in erfahrenen Zentren unter 10% (Jamieson et al. 2003; Klepetko et al. 2004). Postoperativ profitieren die Patienten von einer exzellenten und nachhaltigen Verbesserung der hämodynamischen Parameter (z.B. der Reduktion des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) um durchschnittlich 65% (Fedullo et al. 2001)), der körperlichen Belastbarkeit (Reduktion der NYHA-Klasse von III / IV auf I / II in ca. 90% der Fälle) und somit der Lebensqualität (Archibald et al. 1999) sowie Langzeitüberlebensraten von bis zu 80% (Condliffe et al. 2008).

In der vorliegenden Arbeit konnte der vorteilhafte Effekt der chirurgischen Therapie verglichen mit einer medikamentösen Therapie auf das Langzeitüberleben bestätigt werden (siehe Abbildung 15). Darüberhinaus konnte gezeigt werden, dass von den 52 Patienten, die eine chirurgische Behandlung erfahren haben, Patienten mit einem ungünstigen Langzeitverlauf signifikant höhere H-FABP-Spiegel hatten als Patienten mit einem günstigen Verlauf (siehe Abbildung 16). Die Bestimmung von H-FABP könnte daher geeignet sein, Patienten zu identifizieren, die von einer PEA profitieren würden. Diese klinisch relevante Hypothese bedarf jedoch der Untersuchung in größeren prospektiven Studien. Zusätzlich sind weitere Studien notwendig, um zu untersuchen, ob die serielle Messung von H-FABP als Surrogat-Biomarker für das Monitoring von Therapieerfolgen verwendet werden kann. Diesbezüglich muss noch erwähnt werden, dass in die vorliegende Studie keine Patienten eingeschlossen wurden, die mit neuen pharmakologischen Substanzen wie Prostazyklinanaloga, unselektiven und ET_A-selektiven Endothelin-Rezeptor-Antagonisten oder Phosphodiesterase-5-Inhibitoren behandelt wurden, die bei Patienten mit distaler Lokalisation der pulmonalen Thromben (Typ IV, „small-vessel disease“ (Thistlethwaite et al. 2002)), Kontraindikation für eine chirurgische Thrombendarterektomie, persistierender pulmonalarterieller Hypertension nach PEA oder auch als „bridging-therapy“ bis zur Operation heutzutage versuchsweise eingesetzt werden, um den pulmonalvaskulären Widerstand und den pulmonalarteriellen Druckes zu senken. Bislang ist jedoch nicht abschließend belegt, dass CTEPH Patienten davon einen langfristigen Nutzen haben (Hoepfer et al. 2006), auch wenn erste Studiendaten vermuten lassen, dass diese Pharmaka einen positiven Effekt auf den klinischen Verlauf haben könnten (Bresser et al. 2006; Jais et al. 2008). Die Mehrzahl dieser medikamentösen Therapieansätze befindet sich momentan im Stadium der klinischen Erprobung, und in Europa sind derzeit noch keine Medikamente für die Behandlung von Patienten mit CTEPH zugelassen.

4.1.5 H-FABP: Chancen, Limitationen und Ausblick

Zusammenfassend konnten die Daten der hier vorliegenden Arbeit zeigen, dass heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) ein vielversprechender und früher Indikator für eine myokardiale rechtsventrikuläre (RV) Schädigung bei Patienten mit akuter Lungenembolie ist und prognostische additive Informationen beinhaltet.

Bevor jedoch H-FABP die etablierten Biomarker NT-proBNP oder insbesondere Troponin T in Algorithmen zur Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie zur Identifizierung von Patienten mit „mittlerem Risiko“ ersetzen kann (Kucher und Goldhaber 2003), müssen die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit in größeren, unselektionierten Patientenkollektiven mit hämodynamisch stabilen Patienten mit akuter Lungenembolie bestätigt werden. Eine derartige Studie, die bei 126 normotensiven Patienten mit akuter Lungenembolie den prognostischen Stellenwert von H-FABP untersucht hat und die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit bestätigen konnte, befindet sich derzeit im Druck beim „Journal of the American College of Cardiology“ (Dellas, Puls, Lankeit et al. „Elevated Heart-type Fatty Acid-Binding Protein Levels on Admission Predict an Adverse Outcome in Normotensive Patients with Acute Pulmonary Embolism“).

Die entscheidende Frage bei der Etablierung von neuen Biomarkern und prognostischen Algorithmen zur Optimierung der Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie ist, inwiefern diese zur Identifizierung von Patienten, die von einer thrombolytischen Therapie profitieren würden, beitragen können. Derzeit liegen nur unzureichende Daten bezüglich des Benefits einer Thrombolysetherapie bei hämodynamisch stabilen Patienten mit laborchemischen oder echokardiographischen Zeichen einer RV Dysfunktion vor (Lankeit und Konstantinides 2009; Tardy et al. 2009), so dass die European Society of Cardiology eine individuelle, Patienten-orientierte Therapieentscheidung empfiehlt (Torbicki et al. 2008) – auch wenn in einzelnen Studien eine Mortalitätsrate bis zu über 30% für diese Lungenemboliepatienten mit „mittlerem Risiko“ angegeben wird (Kostrubiec et al. 2005; Scridon et al. 2005). In der derzeit größten randomisierten Thrombolysestudie, die 256 normotensive Patienten mit Zeichen der RV Dysfunktion in der Echokardiographie eingeschlossen hat, wurden keine Unterschiede durch die Therapieform (Thrombolyse vs. Heparin) in Bezug auf den primären Endpunkt gefunden (Konstantinides et al. 2002a). Auch durch zwei große Metaanalysen der publizierten Thrombolysestudien, konnte die wichtige Frage, durch welche Kriterien die Subgruppe der hämodynamisch stabilen Patienten

identifiziert werden kann, die von einer thrombolytischen Therapie profitieren würden, nicht beantwortet werden (Tardy et al. 2009; Wan et al. 2004).

Derzeit wird eine große prospektive, randomisierte, doppelblinde, plazebokontrollierte, multizentrische, klinische Phase-III-Studie durchgeführt mit dem Ziel, die klinische Überlegenheit einer thrombolytischen Behandlung (durch Tenekteplase) im Vergleich zu Plazebo bei normotensiven Patienten mit RV Dysfunktion (transthorakale Echokardiographie oder CT) und Myokardschädigung (Troponin T oder I) nachzuweisen, sowie die Sicherheit der Thrombolyse in dieser Patientengruppe zu überprüfen. Die Ergebnisse der Pulmonary Embolism International Thrombolysis Study (PEITHO) werden 2011 erwartet.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen außerdem, dass bei Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension (CTEPH) – einer Erkrankung, die zunehmend als eine der führenden Ursachen der Pulmonalarteriellen Hypertension (PAH) anerkannt wird und als Folgeerkrankung einer akuten Lungenembolie gilt – heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) ein zuverlässiger Prädiktor für den Langzeitverlauf und ein nützliches Tool für die Risikostratifizierung, inklusive von Patienten, die eine chirurgische pulmonale Thrombendarterektomie (PEA) erhalten, ist.

Die dargestellten Daten liefern die Grundlage für weitere Studien, um den exakten Stellenwert kardialer Biomarker und insbesondere H-FABP – als Ergänzung oder als Alternative zu hämodynamischen Parameter – in Behandlungsalgorithmen für diese lebensbedrohliche Erkrankung – die mehr Patienten zu betreffen scheint, als früher angenommen wurde – zu definieren. Zusätzlich verbleibt zu zeigen, inwiefern und in welchem Ausmaß eine Erhöhung von H-FABP-Plasmakonzentrationen bei einer RV Dysfunktion infolge einer linksventrikulären Herzinsuffizienz (sekundär) oder im Rahmen weiterer Formen einer PAH zu beobachten ist.

4.2 Die Bedeutung von growth-differentiation factor-15 für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie

Die Prognose von Patienten mit akuter Lungenembolie ist nicht ausschließlich abhängig vom Vorhandensein und Ausmaß einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion, sondern auch von koexistenten Grunderkrankungen. Troponin T und NT-proBNP teilen die Limitation, dass sie den prognostischen Einfluss von extrakardialen Erkrankungen nicht integrieren können. Beispielsweise haben Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion (detektierbar durch die Biomarker Kreatinin Clearance, Albuminurie und Cystatin C) neben einem erhöhten Risiko für Gesamtmortalität (Tonelli et al. 2006), ein signifikant erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse (Schiffrin et al. 2007). Bei Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz ist die Inzidenz einer akuten Lungenembolie leicht erhöht (Tveit et al. 2002) und Analysen des „RIETE“ Registers (Registro Informatizoda de Pacientes con Enfermedad ThromboEmbolica) zeigen, dass Patienten mit einer GFR <30 ml/min/1,73m² ein erhöhtes Risiko für ein Lungenembolie-Rezidiv oder therapiebedingten Blutungen haben (Falga et al. 2007; Monreal et al. 2006). Auch in der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass steigende Kreatinin-Plasmaspiegel sowohl mit einem erhöhten Risiko für einen komplizierten Hospitalverlauf als auch mit Langzeitmortalität assoziiert waren (siehe Tabelle 15 und Tabelle 19).

Ein weiterer Ansatz für die Integration von extrakardialen Einflüssen in die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie könnte in der Verwendung von Inflammationsmarkern liegen. Der Zusammenhang zwischen Arteriosklerose, arteriellen Thrombosen und Inflammation ist gut untersucht und unbestritten (Ridker et al. 1997), während die Beziehung zwischen erhöhten Inflammationsmarkern wie CRP, Interleukinen und Tumor-Nekrose-Faktor und einer venösen Thromboembolie noch unzureichend bekannt ist (Fox und Kahn 2005). Jedoch teilen Patienten mit Arteriosklerose und Patienten mit akuter Lungenembolie – zumindest teilweise – Risikofaktoren wie Alter, Adipositas, Schwangerschaft und maligne Grunderkrankung, die mit einer Erhöhung von Inflammationsmarkern assoziiert sein können (Pabinger und Ay 2009). Daher könnte die Bestimmung von Biomarkern, deren Expression im Rahmen von entzündlichen Prozessen ansteigt, zusätzliche prognostische Informationen liefern und die Integration von extrakardialen prognostischen Informationen in die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie erlauben.

4.2.1 Ein neuer Biomarker bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Unter physiologischen Bedingungen wird der neue Biomarker growth-differentiation factor-15 (GDF-15) vom Myokardium nicht produziert. Experimentelle Studien konnten jedoch zeigen, dass die myokardiale Expression von GDF-15 nach ventrikulärer Druckbelastung rapide ansteigt und bei druckinduzierter kardialer Hypertrophie und Insuffizienz hochreguliert bleibt (Xu et al. 2006). In einem weiteren *in vivo* Modell konnte gezeigt werden, dass GDF-15 nach induzierter Ischämie mittels transidienter oder permanenter Koronarligatur von Myozyten vermehrt exprimiert wird (Kempf et al. 2006). In den letzten 2 Jahren konnten diese experimentellen Daten auch in klinischen Studien bestätigt werden. Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz hatten signifikant höhere GDF-15-Plasmakonzentrationen als das Kontrollkollektiv der „SWISCH“ Kohorte (Kempf et al. 2007c) und in großen, klinisch gut charakterisierten Kollektiven („GUSTO-IV“, „FRISC-II“, „ASSENT-2“ und „ASSENT-plus“, „FAST II“ und „FASTER I“) konnte gezeigt werden, dass GDF-15 bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom erhöht ist (Eggers et al. 2008; Kempf et al. 2007a; Wollert et al. 2007a; Wollert et al. 2007b). Auch in der vorliegenden Arbeit hatten Lungenemboliepatienten mit Herzinsuffizienz (P=0,001) und Koronarer Herzkrankheit (P=0,016) signifikant höhere GDF-15-Spiegel bei Aufnahme. Da GDF-15 sowohl nach ventrikulärer Druckbelastung als auch nach myokardialer Ischämie vermehrt exprimiert wird, erscheint GDF-15 als vielversprechender neuer Biomarker für die Detektion einer 1.) rechtsventrikulären (RV) Schädigung und 2.) RV Druckbelastung als Folge des abrupten Anstieges des pulmonalarteriellen Druckes und der resultierenden akuten RV Dysfunktion im Rahmen einer akuten Lungenembolie. Darüberhinaus scheint GDF-15 die pathophysiologische Informationen der kardialen Biomarker Troponin T (RV Ischämie) und NT-proBNP (RV Dysfunktion) zu vereinigen. In der vorliegenden Arbeit konnte in einem Patientenkollektiv von 123 konsekutiven Patienten mit bestätigter Lungenembolie gezeigt werden, dass GDF-15-Plasmakonzentrationen bei 82% der Patienten oberhalb des oberen Referenzwertes von gesunden älteren Individuen erhöht sind (1.200 ng/l) (Kempf et al. 2007b).

4.2.2 Prädiktiver Wert von GDF-15

In experimentellen Studien konnte durch die exogene Gabe von rekombinantem GDF-15 bei GDF-15^{-/-} Mäusen das Ausmaß von Nekrose und Apoptose nach Koronarligatur reduziert (Kempf et al. 2006) und die Entwicklung einer druckinduzierten Herzinsuffizienz limitiert werden (Xu et al. 2006). Die Ergebnisse dieser beiden Studien lassen vermuten, dass endogenes GDF-15 eine kardioprotektive Wirkung (Reduktion von postischämischer Apoptose und druckinduzierter Hypertrophie, verbesserte Infarktheilung) besitzt. Unterstützt wird diese These durch die „Women’s Health Study“, in der gezeigt werden konnte, dass erhöhte GDF-15-Spiegel mit einem erhöhten Risiko für zukünftige kardiovaskulären Ereignissen bei älteren, gesunden Frauen assoziiert waren (Brown et al. 2002). Bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom ist GDF-15 ein unabhängiger Prädiktor für die 1-Jahres-Mortalität und liefert additive prognostische Informationen zu etablierten Risikomarkern (Eggers et al. 2008; Kempf et al. 2007a; Wollert et al. 2007a; Wollert et al. 2007b) und bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz korrelierten erhöhte GDF-15-Spiegel mit der NYHA-Klasse, NT-proBNP und dem Mortalitätsrisiko in der Langzeitbeobachtung (Kempf et al. 2007c). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Anwendbarkeit von GDF-15 als prognostischer Biomarker auf Patienten mit akuter Lungenembolie ausgeweitet werden kann. In dem vorliegenden Studienkollektiv waren erhöhte GDF-15-Spiegel bei Aufnahme ein starker und unabhängiger Prädiktor für ein erhöhtes Risiko zu versterben oder schwere Komplikationen während der ersten 30 Tage nach Diagnosestellung zu entwickeln. GDF-15 liefert in der Kombination mit Troponin T und NT-proBNP sowie in der Kombination mit dem echokardiographischen Nachweis einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion additive prognostische Informationen. Darüberhinaus dient GDF-15 als unabhängiger Prädiktor von Langzeitmortalität.

GDF-15 wird nicht nur von Kardiomyozyten exprimiert. Unter pathologischen Zuständen wie Verletzung, Entzündung oder Krebserkrankung kann die GDF-15 Expression in verschiedenen Geweben stark ansteigen. So sind GDF-15-Plasmakonzentrationen bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis und bei Patienten mit Kolonkarzinom erhöht und mit der Schwere der Erkrankung assoziiert (Brown et al. 2007; Brown et al. 2003) und bei Patienten mit Pankreaskarzinom (Koopmann et al. 2006) und Prostatakarzinom (Brown et al. 2006) als diagnostischer Tumormarker von Bedeutung. Des Weiteren wird GDF-15 nach operativer, toxischer und ischämischer Leber-, Lungen- und Nierenverletzung vermehrt exprimiert (Hsiao et al. 2000; Zimmers et al. 2005). In der vorliegenden Studie waren kardiale Grund-

erkrankungen wie chronische Herzinsuffizienz und Koronare Herzkrankheit, ebenso wie extrakardiale Erkrankungen inklusive Krebserkrankung ($P=0,004$), Diabetes mellitus ($P=0,004$) und Niereninsuffizienz ($P<0,001$) mit erhöhten GDF-15-Plasmakonzentrationen assoziiert. Diese Ergebnisse stimmen mit der Beobachtung überein, dass bei Patienten mit Nicht-ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI) erhöhte GDF-15-Spiegel mit Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus und Niereninsuffizienz assoziiert waren (Wollert et al. 2007b). Die myokardiale Spezifität des neuen Biomarkers GDF-15 ist daher geringer als die der etablierten kardialen Biomarker Troponin T und NT-proBNP. Erhöhte GDF-15-Plasmakonzentrationen sollten demzufolge bei Patienten mit akuter Lungenembolie nicht als alleinige Folge einer RV Dysfunktion und Schädigung interpretiert werden – unterstrichen wird diese These durch die Beobachtung, dass Patienten mit GDF-15-Spiegeln unterhalb, verglichen mit Patienten mit GDF-15-Spiegeln oberhalb des Cutoff-Wertes von 4.600 ng/l, gleich häufig Zeichen einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie aufwiesen ($P=1,000$) (siehe Tabelle 14). Jedoch zeichnen gerade diese Eigenschaften GDF-15 als gut geeigneten Prognosemarker und optimalen Kombinationspartner in Multimarkermodellen aus, da GDF-15 Informationen verschiedener extrakardialer Einflüsse auf die Schwere der Erkrankung und Prognose integriert und Informationen beinhaltet, die von herkömmlichen Biomarkern nicht erfasst werden können. In der vorliegenden Studie wurde das durch eine relativ große Fläche unter der Kurve in der ROC-Analyse (siehe Abbildung 19) und dem hohen unabhängigen prognostischen Wert von GDF-15-Konzentrationen bei Aufnahme in der logistischen Regressionsanalyse (siehe Tabelle 15) für die Voraussage eines komplizierten Hospitalverlaufes reflektiert. In beiden Analysen war GDF-15 den beiden etablierten Biomarkern überlegen. Insbesondere zeichnet sich GDF-15 durch einen vergleichsweise hohen positiven prädiktiven Wert (52%) im Vergleich zu Troponin T (26%) und NT-proBNP (21%) aus und erscheint daher besser geeignet, gefährdete Patienten zu identifizieren (siehe Tabelle 16). Aufgrund dieser Eigenschaften ist GDF-15 für die Verwendung als diagnostischer Biomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen jedoch nicht geeignet. Auch in der differentialdiagnostischen Abklärung von Patienten mit thorakalen Schmerzen ist GDF-15 durch eine geringe Spezifität gekennzeichnet, da der Biomarker bei einer Vielzahl von Differentialdiagnosen (STEMI, NSTEMI, Herzinsuffizienz, Lungenembolie) erhöht sein kann. Die Vorteile von GDF-15 erklären sich aus der Tatsache, dass erhöhte GDF-15-Spiegel – unabhängig von der zugrunde liegenden Ursache – mit einem erhöhten Risiko zu Versterben assoziiert sind und der Biomarker somit auch in einem heterogenen Patientenkollektiv gut für die Risikostratifizierung geeignet ist (Eggers et al. 2008).

4.2.3 Additiver prognostischer Wert von GDF-15

In den letzten Jahren hat die Verwendung von Multimarkermodellen zur Optimierung der Risikostratifizierung von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten zeigen, dass neben der Kombination von Biomarkern der unterschiedlichen pathophysiologischen Prozesse einer Erkrankung, die Kombination mit dem neuen „globalen“ Biomarker GDF-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie zusätzliche prognostische Informationen zu etablierten Biomarkern und in der Kombination mit der Echokardiographie liefern kann.

Während eine Erhöhung der Biomarker NT-proBNP oder Troponin T oberhalb des jeweiligen Cutoff-Wertes mit einem zwar signifikanten, jedoch nur schwach erhöhten Risiko für die Entwicklung von Komplikationen in der Hospitalphase assoziiert war, konnte durch die Kombination mit GDF-15 die prognostische Aussagekraft in beiden Fällen verbessert werden (siehe Tabelle 17). Im Gegensatz zu der Studie von Kostrubiec et al. lieferte die Kombination von Troponin T und NT-proBNP miteinander keine zusätzlichen prognostischen Informationen (Kostrubiec et al. 2005). Ein Erklärungsansatz hierfür könnte in den unterschiedlichen verwendeten Cutoff-Werten für Troponin T und NT-proBNP liegen.

In einem Multimarkermodell konnte durch die Kombination mit Troponin T respektive NT-proBNP die prognostische Aussagekraft der Echokardiographie für die Vorhersage eines komplizierten Hospitalverlaufes nicht verbessert werden. Während der alleinige Nachweis einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion in der Echokardiographie mit einem 4-fach erhöhten Risiko, Komplikationen zu entwickeln, assoziiert war, zeigte sich für die Kombination mit erhöhten GDF-15-Konzentrationen ein fast 16-fach erhöhtes Risiko (siehe Tabelle 18). Hervorzuheben ist hierbei, dass keiner der 55 Patienten ohne RV Dysfunktion und normalen GDF-15-Spiegeln Komplikationen entwickelt hat (siehe Abbildung 21). Damit stehen die hier gezeigten Daten teilweise im Widerspruch zu den Studien von Binder et al. und Scridon et al., die jeweils einen additiven prognostischen Effekt durch die Kombination von Troponin T respektive NT-proBNP mit dem echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion bei Patienten mit akuter Lungenembolie nachweisen konnten (Binder et al. 2005; Scridon et al. 2005). Dieser Widerspruch lässt sich eventuell teilweise durch die unterschiedliche Definition einer RV Dysfunktion in der Echokardiographie erklären – während Scridon eine RV / LV Ratio von $\geq 0,9$ als RV Dysfunktion definierte, wurden in der Studie von Binder die gleichen Kriterien wie in der vorliegenden Arbeit verwendet.

4.2.4 Voraussage von Langzeitmortalität

Derzeit ist unklar, ob der prädiktive Wert der beiden etablierten Biomarker Troponin T und NT-proBNP für die Voraussage von Lungenembolie-assoziierten Komplikationen und Mortalität auf die akute Phase der Lungenembolie beschränkt ist oder auf die Zeit jenseits des Krankenhausaufenthaltes ausgeweitet werden kann. In einigen wenigen Studien zur Untersuchung von Biomarkern sind Patienten mit akuter Lungenembolie über maximal drei Monate nachverfolgt worden – Ergebnisse dieser Studien lassen annehmen, dass der prognostische Stellenwert von natriuretischen Peptiden (Sohne et al. 2006; ten Wolde et al. 2003) und Troponinen (Douketis et al. 2005; Kucher et al. 2003b) auf die Langzeitbeobachtungsperiode ausgeweitet werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Studienpatienten über eine mediane Beobachtungszeit von 287 Tagen nachverfolgt – damit handelt es sich um die längste Nachbeobachtungsperiode von Patienten mit akuter Lungenembolie im Rahmen einer Biomarkerstudie.

Mittels Kaplan-Meier-Analyse konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung von Troponin T nur während der ersten Tage nach einer akuten Lungenembolie mit einer reduzierten Wahrscheinlichkeit für Überleben assoziiert war, was die Rolle von Troponin T als „akute-Phase-Indikator“ (Becattini et al. 2007) unterstützt. Eine Erhöhung von NT-proBNP oberhalb des Cutoff-Wertes hingegen, war assoziiert mit einer signifikant niedrigeren Wahrscheinlichkeit für Langzeitüberleben. Ein noch betonterer Effekt konnte für GDF-15 beobachtet werden – die Überlebenskurven von Patienten mit initial erhöhten GDF-15-Spiegeln verglichen mit Patienten mit initial niedrigen GDF-15-Spiegeln, separieren bereits sehr früh und divergieren kontinuierlich im weiteren Verlauf (siehe Abbildung 22). Durch diese Ergebnisse wird die Bedeutung von GDF-15 als „globaler“ Biomarker bestätigt, der auch in Hinblick auf das Langzeitüberleben kardiale und extrakardiale prognostische Informationen vereinen kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass H-FABP auch bei Patienten mit CTEPH von prognostischem Stellenwert ist (siehe Kapitel 4.1.4). In einer kürzlich publizierten Arbeit konnte nun auch der Zusammenhang zwischen erhöhten GDF-15-Spiegeln zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und einem erhöhten Risiko für Tod oder Transplantation nach 3 Jahren bei Patienten mit idiopathischer Pulmonalarterieller Hypertension (PAH) gezeigt werden (Nickel et al. 2008). Diese Ergebnisse deuten an, dass auch der prognostische Stellenwert von GDF-15 auf Patienten mit chronischer RV Dysfunktion ausgeweitet werden kann.

4.2.5 GDF-15: Chancen, Limitationen und Ausblick

Zusammenfassend konnten die Daten der hier vorliegenden Arbeit zeigen, dass growth-differentiation factor-15 (GDF-15) ein vielversprechender neuer „globaler“ Biomarker für die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie ist.

Als Limitation dieser Studie muss angeführt werden, dass der Cutoff-Wert von 4.600 ng/l für GDF-15 mittels ROC-Analyse ermittelt worden ist. Daher ist eine prospektive Bestätigung in einer fremden Kohorte nötig, um den negativen und positiven prädiktiven Wert dieses Cutoff-Wertes bei Patienten mit akuter Lungenembolie zu bestätigen. Zur Ermittlung der prognostischen Relevanz des neuen Biomarkers wurden jedoch in den Regressionsanalysen GDF-15-Werte nach Transformation der kontinuierlichen Variable in ihren natürlichen Logarithmus untersucht und auf die Verwendung dichotomisierter Biomarkerkonzentrationen anhand von Cutoff-Werten verzichtet.

Inwiefern prognostische Algorithmen basierend auf Multimarkerstrategien oder der Kombination von Biomarkern mit bildgebenden Verfahren zur Identifizierung von Patienten, die von einer thrombolytischen Therapie profitieren würden, beitragen können, bedarf der Untersuchung in größeren Studienkollektiven mit hämodynamisch stabilen Patienten. Die entscheidende Frage ist dabei, ob GDF-15, als sensitiver globaler Indikator für einen komplizierten Hospitalverlauf nach einer akuten Lungenembolie, bildgebende Verfahren oder myokardspezifische Biomarker bezüglich der Identifizierung von 1.) normotensiven Patienten mit rechtsventrikulärer Dysfunktion, die von einer frühen Thrombolyse oder chirurgischen Therapie profitieren könnten und 2.) Patienten, bei denen ein längeres Follow-up spätere Todesereignisse verhindern könnte, unterstützen kann.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) und growth-differentiation factor-15 (GDF-15) vielversprechende neue Biomarker für die Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie sind, die in ihrer prognostischen Aussagekraft den etablierten Biomarkern Troponin T und N-terminalem pro-brain-natriuretischem Peptid (NT-proBNP) überlegen sind.

In einem Patientenkollektiv von 107 Patienten mit akuter Lungenembolie erwies sich H-FABP als zuverlässiger prognostischer Parameter für das Auftreten von Lungenembolie-assoziierten Komplikationen. Im Gegensatz zu 41% der Patienten mit erhöhten H-FABP-Plasmakonzentrationen oberhalb des etablierten Cutoff-Wertes von 6 ng/ml zum Zeitpunkt der Aufnahme, entwickelte keiner der Patienten mit normalen H-FABP-Spiegeln Komplikationen während der Krankenhausaufenthaltes ($P < 0,0001$). Erhöhte Troponin-T-Spiegel oberhalb 0,04 $\mu\text{g/l}$ (OR 8,9; $P = 0,003$) und erhöhte NT-proBNP-Spiegel oberhalb 1000 pg/ml (OR 11,8; $P = 0,007$) konnten ebenso wie erhöhte H-FABP-Spiegel (OR 71,5; $P < 0,0001$) als prognostische Prädiktoren für einen komplizierten Hospitalverlauf identifiziert werden, wohingegen nur H-FABP (OR 36,7; $P < 0,0001$) und nicht Troponin T ($P = 0,13$) oder NT-proBNP ($P = 0,36$) in der multivariablen Analyse unabhängige prognostische Informationen lieferte. Darüberhinaus verfügt H-FABP über den Vorteil, dass eine einmalige Bestimmung bei Aufnahme zur Risikostratifizierung ausreichend ist, während aufgrund der verzögerten Freisetzungskinetik die anderen Marker repetitiv gemessen werden müssen. Die Komplikationsrate bei Patienten mit echokardiographischen Nachweis einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion in Kombination mit einer Erhöhung von H-FABP betrug 57%, während bei Patienten mit normalen H-FABP-Spiegeln das Echokardiogramm keine prognostische Aussagekraft besaß und die alleinige Bestimmung von H-FABP für den Ausschluss eines komplizierten Verlaufes ausreichend war (Puls et al. 2007).

Basierend auf diesen Ergebnissen, konnte in der vorliegenden Arbeit außerdem gezeigt werden, dass H-FABP ein zuverlässiger neuer Biomarker für die Risikostratifizierung von Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonalen Hypertension (CTEPH) ist.

Bei 93 Patienten mit CTEPH, die über einen medianen Zeitraum von 1260 Tagen nachverfolgt wurden, korrelierten H-FABP-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung mit

klinischen und hämodynamischen Parametern und so mit der Schwere der Erkrankung. H-FABP konnte als unabhängiger Prädiktor für einen ungünstigen Langzeitverlauf identifiziert werden (HR 1,1; $P=0,015$) und die Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben sank mit steigen H-FABP-Tertilen (kleinstes Tertil ($<2,7$ ng/ml) vs. mittleres Tertil ($2,7 - 4,4$ ng/ml) $P=0,031$ und vs. größtes Tertil ($>4,4$ ng/ml) $P=0,004$). Diese Beobachtung konnte auch für 52 Patienten, die im Verlauf eine pulmonale Thrombendarterektomie (PEA) erhielten, bestätigt werden – Patienten mit H-FABP-Spiegeln oberhalb der medianen H-FABP-Konzentration von $2,7$ ng/ml in diesem Patientenkollektiv hatten eine signifikant niedrigere Wahrscheinlichkeit für ein ereignisfreies Überleben im weiteren postoperativen Verlauf ($P=0,026$). Zusätzlich wurde in dieser Studie erstmals der prognostische Stellenwert von Troponin T bei Patienten mit CTEPH untersucht. Nur 4 Patienten hatten messbare Plasmakonzentrationen und Troponin T war H-FABP bezüglich der prognostischen Aussagekraft unterlegen (Lankeit et al. 2008b).

Bei 123 konsekutiven Patienten mit akuter Lungenembolie, die über einen medianen Zeitraum von 287 Tagen nachverfolgt wurden, konnte GDF-15 als unabhängiger Prädiktor sowohl für einen komplizierten Hospitalverlauf als auch für Langzeitmortalität identifiziert werden. Obwohl Troponin-T- und NT-proBNP-Spiegel ebenso wie GDF-15-Spiegel zum Zeitpunkt der Aufnahme bei Patienten mit Lungenembolie-assoziierten Komplikationen signifikant erhöht waren, konnte nur GDF-15 neben Troponin T als unabhängiger Prädiktor für einen komplizierten Hospitalverlauf identifiziert werden. Patienten mit GDF-15-Spiegeln oberhalb des errechneten Cutoff-Wertes von 4.600 ng/ml entwickelten in 52% der Fälle Komplikationen, während nur 5% der Patienten mit normalen GDF-15-Spiegeln Komplikationen hatten. Durch die Kombination mit GDF-15 wird die prognostische Aussagekraft der Echokardiographie und der Biomarker Troponin T und NT-proBNP verbessert. Keiner der 55 Patienten ohne RV Dysfunktion in der Echokardiographie und GDF-15-Leveln unterhalb des Cutoff-Wertes entwickelte Komplikationen, wohingegen das Vorliegen einer RV Dysfunktion in Kombination mit einer GDF-15-Erhöhung mit einem 16-fach erhöhten Risiko, Komplikationen zu entwickeln, assoziiert war. Die alleinige Erhöhung von Troponin T oder NT-proBNP war mit einem zwar signifikanten, jedoch nur schwach erhöhten Risiko, Komplikationen zu entwickeln (OR 3,7; $P=0,014$ bzw. OR 4,4; $P=0,026$), assoziiert. Eine Kombination mit GDF-15 verbesserte die prognostische Aussagekraft in beiden Fällen (OR 17,7; $P<0,001$ bzw. OR 17,3; $P<0,001$), während die Kombination von Troponin T und NT-proBNP in diesem Patientenkollektiv keine additiven prognostischen Informationen lieferte (OR 3,0; $P=0,044$). In der Kaplan-Meier-Analyse hatten Patienten mit GDF-15-Konzentrationen oberhalb 4.600 ng/ml

eine signifikant niedrigere Wahrscheinlichkeit für Langzeitüberleben ($P < 0,001$). Für die Voraussage des Langzeitverlaufes haben beide etablierten Biomarker Troponin T und NT-proBNP im Gegensatz zu GDF-15 keinen signifikanten unabhängigen prognostischen Stellenwert (Lankeit et al. 2008a).

Zusammenfassend tragen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zur Weiterentwicklung und Optimierung der Strategien zur Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie durch die Identifizierung neuer vielversprechender Biomarker und Multimarkerstrategien bei und liefern die Grundlage für weiterführende Untersuchungen zur Beantwortung der kritischen Frage, inwiefern die neuen Prognosemarker H-FABP und GDF-15 bei der Identifizierung von normotensiven Patienten mit rechtsventrikulärer Dysfunktion (Patienten mit „mittlerem“ Risiko), die möglicherweise von einer thrombolytischen Therapie profitieren würden, von Nutzen sein können.

6 Literaturverzeichnis

- Agnelli G, Prandoni P, Becattini C, Silingardi M, Taliani MR, Miccio M, Imberti D, Poggio R, Ageno W, Pogliani E et al. (2003): "Extended oral anticoagulant therapy after a first episode of pulmonary embolism." *Ann Intern Med* 139(1): 19-25.
- Albertoni M, Shaw PH, Nozaki M, Godard S, Tenan M, Hamou MF, Fairlie DW, Breit SN, Paralkar VM, de Tribolet N et al. (2002): "Anoxia induces macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) in glioblastoma cells independently of p53 and HIF-1." *Oncogene* 21(27): 4212-4219.
- Alhadi HA, Fox KA (2004): "Do we need additional markers of myocyte necrosis: the potential value of heart fatty-acid-binding protein." *QJM* 97(4): 187-198.
- Alpert JS, Smith R, Carlson J, Ockene IS, Dexter L, Dalen JE (1976): "Mortality in patients treated for pulmonary embolism." *JAMA* 236(13): 1477-1480.
- Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP (2000): "Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction." *J Am Coll Cardiol* 36(3): 959-969.
- Anderson FA Jr., Spencer FA (2003): "Risk factors for venous thromboembolism." *Circulation* 107(23 Suppl 1): I9-16.
- Andreassen AK, Wergeland R, Simonsen S, Geiran O, Guevara C, Ueland T (2006): "N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as an indicator of disease severity in a heterogeneous group of patients with chronic precapillary pulmonary hypertension." *Am J Cardiol* 98(4): 525-529.
- Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, Fischer GA, Fung AY, Thompson C, Wybenga D et al. (1996): "Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes." *N Engl J Med* 335(18): 1342-1349.
- Archibald CJ, Auger WR, Fedullo PF, Channick RN, Kerr KM, Jamieson SW, Kapelanski DP, Watt CN, Moser KM (1999): "Long-term outcome after pulmonary thromboendarterectomy." *Am J Respir Crit Care Med* 160(2): 523-528.
- Arimoto T, Takeishi Y, Shiga R, Fukui A, Tachibana H, Nozaki N, Hirono O, Nitobe J, Miyamoto T, Hoit BD et al. (2005): "Prognostic value of elevated circulating heart-type fatty acid binding protein in patients with congestive heart failure." *J Card Fail* 11(1): 56-60.
- 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* 166(1): 111-117.
- Auger WR, Kerr KM, Kim NH, Ben-Yehuda O, Knowlton KU, Fedullo PF (2004): "Chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Cardiol Clin* 22(3): 453-466, vii.
- Aviles RJ, Askari AT, Lindahl B, Wallentin L, Jia G, Ohman EM, Mahaffey KW, Newby LK, Califf RM, Simoons ML et al. (2002): "Troponin T levels in patients with acute coronary syndromes, with or without renal dysfunction." *N Engl J Med* 346(26): 2047-2052.
- Azzazy HM, Pelsers MM, Christenson RH (2006): "Unbound free fatty acids and heart-type fatty acid-binding protein: diagnostic assays and clinical applications." *Clin Chem* 52(1): 19-29.
- Baek SJ, Kim KS, Nixon JB, Wilson LC, Eling TE (2001): "Cyclooxygenase inhibitors regulate the expression of a TGF-beta superfamily member that has proapoptotic and antitumorigenic activities." *Mol Pharmacol* 59(4): 901-908.

- Baek SJ, Kim JS, Moore SM, Lee SH, Martinez J, Eling TE (2005): "Cyclooxygenase inhibitors induce the expression of the tumor suppressor gene EGR-1, which results in the up-regulation of NAG-1, an antitumorigenic protein." *Mol Pharmacol* 67(2): 356-364.
- Baggish AL, van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr. (2008): "The differential diagnosis of an elevated amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide level." *Am J Cardiol* 101(3A): 43-48.
- Baglin TP, White K, Charles A (1997): "Fatal pulmonary embolism in hospitalised medical patients." *J Clin Pathol* 50(7): 609-610.
- Bakker AJ, Koelemay MJ, Gorgels JP, van Vlies B, Smits R, Tijssen JG, Haagen FD (1993): "Failure of new biochemical markers to exclude acute myocardial infarction at admission." *Lancet* 342(8881): 1220-1222.
- Bassand JP, Hamm CW, Ardissino D, Boersma E, Budaj A, Fernandez-Aviles F, Fox KA, Hasdai D, Ohman EM, Wallentin L et al. (2007): "Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes." *Eur Heart J* 28(13): 1598-1660.
- Becattini C, Agnelli G, Pesavento R, Silingardi M, Poggio R, Taliani MR, Ageno W (2006): "Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after a first episode of pulmonary embolism." *Chest* 130(1): 172-175.
- Becattini C, Vedovati MC, Agnelli G (2007): "Prognostic value of troponins in acute pulmonary embolism: a meta-analysis." *Circulation* 116(4): 427-433.
- Benard E, Lafuma A, Ravaut P (2005): "[Epidemiology of venous thromboembolic disease]." *Presse Med* 34(6): 415-419.
- Bergqvist D, Lindblad B (1985): "A 30-year survey of pulmonary embolism verified at autopsy: an analysis of 1274 surgical patients." *Br J Surg* 72(2): 105-108.
- Binder L, Pieske B, Olschewski M, Geibel A, Klostermann B, Reiner C, Konstantinides S (2005): "N-terminal pro-brain natriuretic peptide or troponin testing followed by echocardiography for risk stratification of acute pulmonary embolism." *Circulation* 112(11): 1573-1579.
- Blyth KG, Groenning BA, Mark PB, Martin TN, Foster JE, Steedman T, Morton JJ, Dargie HJ, Peacock AJ (2007): "NT-proBNP can be used to detect right ventricular systolic dysfunction in pulmonary hypertension." *Eur Respir J* 29(4): 737-744.
- Bonderman D, Skoro-Sajer N, Jakowitsch J, Adlbrecht C, Dunkler D, Taghavi S, Klepetko W, Kneussl M, Lang IM (2007): "Predictors of outcome in chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Circulation* 115(16): 2153-2158.
- Bonnefoy E, Godon P, Kirkorian G, Chabaud S, Touboul P (2005): "Significance of serum troponin I elevation in patients with acute aortic dissection of the ascending aorta." *Acta Cardiol* 60(2): 165-170.
- Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, He XY, Zhang HP, Donnellan M, Mahler S, Pryor K et al. (1997): "MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily." *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(21): 11514-11519.
- Borchers T, Hojrup P, Nielsen SU, Roepstorff P, Spener F, Knudsen J (1990): "Revision of the amino acid sequence of human heart fatty acid-binding protein." *Mol Cell Biochem* 98(1-2): 127-133.
- Bottner M, Suter-Crazzolara C, Schober A, Unsicker K (1999a): "Expression of a novel member of the TGF-beta superfamily, growth/differentiation factor-15/macrophage-inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in adult rat tissues." *Cell Tissue Res* 297(1): 103-110.
- Bottner M, Laaff M, Schechinger B, Rappold G, Unsicker K, Suter-Crazzolara C (1999b): "Characterization of the rat, mouse, and human genes of growth/differentiation factor-15/macrophage inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1)." *Gene* 237(1): 105-111.

- Brady AJ, Crake T, Oakley CM (1991): "Percutaneous catheter fragmentation and distal dispersion of proximal pulmonary embolus." *Lancet* 338(8776): 1186-1189.
- Braunwald E (2008): "Biomarkers in heart failure." *N Engl J Med* 358(20): 2148-2159.
- Bresser P, Pepke-Zaba J, Jais X, Humbert M, Hoeper MM (2006): "Medical therapies for chronic thromboembolic pulmonary hypertension: an evolving treatment paradigm." *Proc Am Thorac Soc* 3(7): 594-600.
- British Thoracic Society Standards of Care Committee Pulmonary Embolism Guideline Development Group (2003): "British Thoracic Society guidelines for the management of suspected acute pulmonary embolism." *Thorax* 58(6): 470-483.
- Brown DA, Breit SN, Buring J, Fairlie WD, Bauskin AR, Liu T, Ridker PM (2002): "Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study." *Lancet* 359(9324): 2159-2163.
- Brown DA, Ward RL, Buckhaults P, Liu T, Romans KE, Hawkins NJ, Bauskin AR, Kinzler KW, Vogelstein B, Breit SN (2003): "MIC-1 serum level and genotype: associations with progress and prognosis of colorectal carcinoma." *Clin Cancer Res* 9(7): 2642-2650.
- Brown DA, Moore J, Johnen H, Smeets TJ, Bauskin AR, Kuffner T, Weedon H, Milliken ST, Tak PP, Smith MD et al. (2007): "Serum macrophage inhibitory cytokine 1 in rheumatoid arthritis: a potential marker of erosive joint destruction." *Arthritis Rheum* 56(3): 753-764.
- Brown DA, Stephan C, Ward RL, Law M, Hunter M, Bauskin AR, Amin J, Jung K, Diamandis EP, Hampton GM et al. (2006): "Measurement of serum levels of macrophage inhibitory cytokine 1 combined with prostate-specific antigen improves prostate cancer diagnosis." *Clin Cancer Res* 12(1): 89-96.
- Burke MA, Cotts WG (2007): "Interpretation of B-type natriuretic peptide in cardiac disease and other comorbid conditions." *Heart Fail Rev* 12(1): 23-36.
- Cavallazzi R, Nair A, Vasu T, Marik PE (2008): "Natriuretic peptides in acute pulmonary embolism: a systematic review." *Intensive Care Med* 34(12): 2147-2156.
- Chan CP, Sum KW, Cheung KY, Glatz JF, Sanderson JE, Hempel A, Lehmann M, Renneberg I, Renneberg R (2003): "Development of a quantitative lateral-flow assay for rapid detection of fatty acid-binding protein." *J Immunol Methods* 279(1-2): 91-100.
- Chan CP, Wan TS, Watkins KL, Pelsers MM, Van der Voort D, Tang FP, Lam KH, Mill J, Yuan Y, Lehmann M et al. (2005): "Rapid analysis of fatty acid-binding proteins with immunosensors and immunotests for early monitoring of tissue injury." *Biosens Bioelectron* 20(12): 2566-2580.
- Chmurzynska A (2006): "The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism." *J Appl Genet* 47(1): 39-48.
- Christenson RH, Azzazy HM (1998): "Biochemical markers of the acute coronary syndromes." *Clin Chem* 44(8 Pt 2): 1855-1864.
- Colli A, Josa M, Pomar JL, Mestres CA, Gherli T (2007): "Heart fatty acid binding protein in the diagnosis of myocardial infarction: where do we stand today?" *Cardiology* 108(1): 4-10.
- Condliffe R, Kiely DG, Gibbs JS, Corris PA, Peacock AJ, Jenkins DP, Hodgkins D, Goldsmith K, Hughes RJ, Sheares K et al. (2008): "Improved outcomes in medically and surgically treated chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Am J Respir Crit Care Med* 177(10): 1122-1127.
- Coulden R (2006): "State-of-the-art imaging techniques in chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Proc Am Thorac Soc* 3(7): 577-583.
- Cushman M (2007): "Epidemiology and risk factors for venous thrombosis." *Semin Hematol* 44(2): 62-69.

- Dalla-Volta S, Palla A, Santolicandro A, Giuntini C, Pengo V, Visioli O, Zoncin P, Zanuttini D, Barbaresi F, Agnelli G et al. (1992): "PAIMS 2: alteplase combined with heparin versus heparin in the treatment of acute pulmonary embolism. Plasminogen activator Italian multicenter study 2." *J Am Coll Cardiol* 20(3): 520-526.
- Daniels LB, Maisel AS (2007): "Natriuretic peptides." *J Am Coll Cardiol* 50(25): 2357-2368.
- Daniels LB, Allison MA, Clopton P, Redwine L, Siecke N, Taylor K, Fitzgerald R, Bracker M, Maisel AS (2008): "Use of natriuretic peptides in pre-participation screening of college athletes." *Int J Cardiol* 124(3): 411-414.
- Dartevelle P, Fadel E, Mussot S, Chapelier A, Herve P, de Perrot M, Cerrina J, Ladurie FL, Lehouerou D, Humbert M et al. (2004): "Chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Eur Respir J* 23(4): 637-648.
- de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H (1981): "A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats." *Life Sci* 28(1): 89-94.
- de Lemos JA, Morrow DA (2003): "Combining natriuretic peptides and necrosis markers in the assessment of acute coronary syndromes." *Rev Cardiovasc Med* 4 Suppl 4: S37-46.
- de Lemos JA, Antman EM, Morrow DA, Llevadot J, Giugliano RP, Coulter SA, Schuhwerk KC, Arslanian S, McCabe CH, Gibson CM et al. (2000): "Heart-type fatty acid binding protein as a marker of reperfusion after thrombolytic therapy." *Clin Chim Acta* 298(1-2): 85-97.
- de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, Omland T, Sabatine MS, McCabe CH, Hall C, Cannon CP, Braunwald E (2001): "The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes." *N Engl J Med* 345(14): 1014-1021.
- de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH (2003): "B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease." *Lancet* 362(9380): 316-322.
- Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, Stromberg A, van Veldhuisen DJ, Atar D, Hoes AW et al. (2008): "ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)." *Eur Heart J* 29(19): 2388-2442.
- Douketis JD, Leeuwenkamp O, Grobara P, Johnston M, Sohne M, Ten Wolde M, Buller H (2005): "The incidence and prognostic significance of elevated cardiac troponins in patients with submassive pulmonary embolism." *J Thromb Haemost* 3(3): 508-513.
- Doyle RL, McCrory D, Channick RN, Simonneau G, Conte J (2004): "Surgical treatments/interventions for pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines." *Chest* 126(1 Suppl): 63S-71S.
- Drabikowski W, Dabrowska R, Barylko B (1975): "Composition of cardiac muscle troponin." *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 5: 245-252.
- Eggers KM, Kempf T, Allhoff T, Lindahl B, Wallentin L, Wollert KC (2008): "Growth-differentiation factor-15 for early risk stratification in patients with acute chest pain." *Eur Heart J* 29(19): 2327-2335.
- Fairlie WD, Moore AG, Bauskin AR, Russell PK, Zhang HP, Breit SN (1999): "MIC-1 is a novel TGF-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation." *J Leukoc Biol* 65(1): 2-5.
- Falga C, Capdevila JA, Soler S, Rabunal R, Sanchez Munoz-Torrero JF, Gallego P, Monreal M (2007): "Clinical outcome of patients with venous thromboembolism and renal insufficiency. Findings from the RIETE registry." *Thromb Haemost* 98(4): 771-776.
- Fam NP, Verma A (2002): "Images in clinical medicine. Thrombolysis of a massive pulmonary embolism." *N Engl J Med* 347(15): 1161.

- Farah CS, Reinach FC (1995): "The troponin complex and regulation of muscle contraction." *FASEB J* 9(9): 755-767.
- Fedullo PF, Auger WR, Kerr KM, Rubin LJ (2001): "Chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *N Engl J Med* 345(20): 1465-1472.
- Ferrari E, Benhamou M, Berthier F, Baudouy M (2005): "Mobile thrombi of the right heart in pulmonary embolism: delayed disappearance after thrombolytic treatment." *Chest* 127(3): 1051-1053.
- 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(5): 1313-1321.
- Fonarow GC, Horwich TB (2003): "Combining natriuretic peptides and necrosis markers in determining prognosis in heart failure." *Rev Cardiovasc Med* 4 *Suppl 4*: S20-28.
- Fonarow GC, Peacock WF, Horwich TB, Phillips CO, Givertz MM, Lopatin M, Wynne J (2008): "Usefulness of B-type natriuretic peptide and cardiac troponin levels to predict in-hospital mortality from ADHERE." *Am J Cardiol* 101(2): 231-237.
- Fox EA, Kahn SR (2005): "The relationship between inflammation and venous thrombosis. A systematic review of clinical studies." *Thromb Haemost* 94(2): 362-365.
- Freda BJ, Tang WH, Van Lente F, Peacock WF, Francis GS (2002): "Cardiac troponins in renal insufficiency: review and clinical implications." *J Am Coll Cardiol* 40(12): 2065-2071.
- Galie N, Torbicki A, Barst R, Darteville P, Haworth S, Higenbottam T, Olschewski H, Peacock A, Pietra G, Rubin LJ et al. (2004): "Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. The Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology." *Eur Heart J* 25(24): 2243-2278.
- Galie N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, Beghetti M, Corris P, Gaine S, Gibbs JS et al. (2009): "Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The 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 the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT)." *Eur Respir J* 30(20): 2493-2537.
- Ghaye B, Ghuysen A, Willems V, Lambermont B, Gerard P, D'Orio V, Gevenois PA, Dondelinger RF (2006): "Severe pulmonary embolism: pulmonary artery clot load scores and cardiovascular parameters as predictors of mortality." *Radiology* 239(3): 884-891.
- Giannitsis E, Katus HA (2005): "Risk stratification in pulmonary embolism based on biomarkers and echocardiography." *Circulation* 112(11): 1520-1521.
- Giannitsis E, Muller-Bardorff M, Kurowski V, Weidtmann B, Wiegand U, Kampmann M, Katus HA (2000): "Independent prognostic value of cardiac troponin T in patients with confirmed pulmonary embolism." *Circulation* 102(2): 211-217.
- Glatz JF, van der Vusse GJ (1996): "Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance." *Prog Lipid Res* 35(3): 243-282.
- Glatz JF, van Bilsen M, Paulussen RJ, Veerkamp JH, van der Vusse GJ, Reneman RS (1988): "Release of fatty acid-binding protein from isolated rat heart subjected to ischemia and reperfusion or to the calcium paradox." *Biochim Biophys Acta* 961(1): 148-152.
- Glatz JF, Kleine AH, van Nieuwenhoven FA, Hermens WT, van Dieijen-Visser MP, van der Vusse GJ (1994): "Fatty-acid-binding protein as a plasma marker for the estimation of myocardial infarct size in humans." *Br Heart J* 71(2): 135-140.
- Glatz JF, van der Vusse GJ, Simoons ML, Kragten JA, van Dieijen-Visser MP, Hermens WT (1998): "Fatty acid-binding protein and the early detection of acute myocardial infarction." *Clin Chim Acta* 272(1): 87-92.

- Goldhaber SZ, Haire WD, Feldstein ML, Miller M, Toltzis R, Smith JL, Taveira da Silva AM, Come PC, Lee RT, Parker JA et al. (1993): "Alteplase versus heparin in acute pulmonary embolism: randomised trial assessing right-ventricular function and pulmonary perfusion." *Lancet* 341(8844): 507-511.
- Goldhaber SZ, Visani L, De Rosa M (1999): "Acute pulmonary embolism: clinical outcomes in the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry (ICOPER)." *Lancet* 353(9162): 1386-1389.
- Gordon JI, Elshourbagy N, Lowe JB, Liao WS, Alpers DH, Taylor JM (1985): "Tissue specific expression and developmental regulation of two genes coding for rat fatty acid binding proteins." *J Biol Chem* 260(4): 1995-1998.
- Gordon KJ, Blobel GC (2008): "Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease." *Biochim Biophys Acta* 1782(4): 197-228.
- Gorski J, Hermens WT, Borawski J, Mysliwiec M, Glatz JF (1997): "Increased fatty acid-binding protein concentration in plasma of patients with chronic renal failure." *Clin Chem* 43(1): 193-195.
- Goto T, Takase H, Toriyama T, Sugiura T, Sato K, Ueda R, Dohi Y (2003): "Circulating concentrations of cardiac proteins indicate the severity of congestive heart failure." *Heart* 89(11): 1303-1307.
- Grifoni S, Olivetto I, Cecchini P, Pieralli F, Camaiti A, Santoro G, Conti A, Agnelli G, Berni G (2000): "Short-term clinical outcome of patients with acute pulmonary embolism, normal blood pressure, and echocardiographic right ventricular dysfunction." *Circulation* 101(24): 2817-2822.
- Hall CL, Hardwicke J (1979): "Low molecular weight proteinuria." *Annu Rev Med* 30: 199-211.
- Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, Masuda I, Nakanishi K, Yoshimasa T, Hashimoto Y et al. (1995): "Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction." *Circulation* 92(6): 1558-1564.
- Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jorgensen P, Peheim E, Ljungdahl L, Goldmann B, Katus HA (1992): "The prognostic value of serum troponin T in unstable angina." *N Engl J Med* 327(3): 146-150.
- Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreyman G, Berger J, Meinertz T (1997): "Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I." *N Engl J Med* 337(23): 1648-1653.
- Hamm CW, Heeschen C, Goldmann B, Vahanian A, Adgey J, Miguel CM, Rutsch W, Berger J, Kootstra J, Simoons ML (1999): "Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels. c7E3 Fab Antiplatelet Therapy in Unstable Refractory Angina (CAPTURE) Study Investigators." *N Engl J Med* 340(21): 1623-1629.
- Heeschen C, Hamm CW, Goldmann B, Deu A, Langenbrink L, White HD (1999): "Troponin concentrations for stratification of patients with acute coronary syndromes in relation to therapeutic efficacy of tirofiban. PRISM Study Investigators. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management." *Lancet* 354(9192): 1757-1762.
- Heit JA, Mohr DN, Silverstein MD, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd (2000): "Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based cohort study." *Arch Intern Med* 160(6): 761-768.
- Heit JA, O'Fallon WM, Petterson TM, Lohse CM, Silverstein MD, Mohr DN, Melton LJ 3rd (2002): "Relative impact of risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based study." *Arch Intern Med* 162(11): 1245-1248.
- Hoepfer MM, Mayer E, Simonneau G, Rubin LJ (2006): "Chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Circulation* 113(16): 2011-2020.

- Hohoff C, Spener F (1998): "Fatty acid binding proteins and mammary-derived growth inhibitor." *Lipid* 100(6): 252-263.
- Howie-Esquivel J, White M (2008): "Biomarkers in acute cardiovascular disease." *J Cardiovasc Nurs* 23(2): 124-131.
- Hromas R, Hufford M, Sutton J, Xu D, Li Y, Lu L (1997): "PLAB, a novel placental bone morphogenetic protein." *Biochim Biophys Acta* 1354(1): 40-44.
- Hsiao EC, Koniaris LG, Zimmers-Koniaris T, Sebald SM, Huynh TV, Lee SJ (2000): "Characterization of growth-differentiation factor 15, a transforming growth factor beta superfamily member induced following liver injury." *Mol Cell Biol* 20(10): 3742-3751.
- Ishii J, Wang JH, Naruse H, Taga S, Kinoshita M, Kurokawa H, Iwase M, Kondo T, Nomura M, Nagamura Y et al. (1997): "Serum concentrations of myoglobin vs human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein in early detection of acute myocardial infarction." *Clin Chem* 43(8 Pt 1): 1372-1378.
- Ishii J, Ozaki Y, Lu J, Kitagawa F, Kuno T, Nakano T, Nakamura Y, Naruse H, Mori Y, Matsui S et al. (2005): "Prognostic value of serum concentration of heart-type fatty acid-binding protein relative to cardiac troponin T on admission in the early hours of acute coronary syndrome." *Clin Chem* 51(8): 1397-1404.
- Jais X, D'Armini AM, Jansa P, Torbicki A, Delcroix M, Ghofrani HA, Hoepfer MM, Lang IM, Mayer E, Pepke-Zaba J et al. (2008): "Bosentan for treatment of inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension: BENEFiT (Bosentan Effects in iNoperable Forms of chronIc Thromboembolic pulmonary hypertension), a randomized, placebo-controlled trial." *J Am Coll Cardiol* 52(25): 2127-2134.
- James SK, Lindahl B, Siegbahn A, Stridsberg M, Venge P, Armstrong P, Barnathan ES, Califf R, Topol EJ, Simoons ML et al. (2003): "N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies To Open occluded arteries (GUSTO)-IV substudy." *Circulation* 108(3): 275-281.
- Jamieson SW, Auger WR, Fedullo PF, Channick RN, Kriett JM, Tarazi RY, Moser KM (1993): "Experience and results with 150 pulmonary thromboendarterectomy operations over a 29-month period." *J Thorac Cardiovasc Surg* 106(1): 116-126; discussion 126-117.
- Jamieson SW, Kapelanski DP, Sakakibara N, Manecke GR, Thistlethwaite PA, Kerr KM, Channick RN, Fedullo PF, Auger WR (2003): "Pulmonary endarterectomy: experience and lessons learned in 1,500 cases." *Ann Thorac Surg* 76(5): 1457-1462; discussion 1462-1454.
- Janata K, Holzer M, Laggner AN, Mullner M (2003): "Cardiac troponin T in the severity assessment of patients with pulmonary embolism: cohort study." *BMJ* 326(7384): 312-313.
- Januzzi JL, Jr., Camargo CA, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen AA, Krauser DG, Tung R, Cameron R, Nagurney JT, Chae CU et al. (2005): "The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study." *Am J Cardiol* 95(8): 948-954.
- Jernberg T, James S, Lindahl B, Johnston N, Stridsberg M, Venge P, Wallentin L (2004): "Natriuretic peptides in unstable coronary artery disease." *Eur Heart J* 25(17): 1486-1493.
- Kaczynska A, Pelsers MM, Bochowicz A, Kostrubiec M, Glatz JF, Pruszczyk P (2006): "Plasma heart-type fatty acid binding protein is superior to troponin and myoglobin for rapid risk stratification in acute pulmonary embolism." *Clin Chim Acta* 371(1-2): 117-123.
- Kasper W, Geibel A, Tiede N, Bassenge D, Kauder E, Konstantinides S, Meinertz T, Just H (1993): "Distinguishing between acute and subacute massive pulmonary embolism by conventional and Doppler echocardiography." *Br Heart J* 70(4): 352-356.
- Kasper W, Konstantinides S, Geibel A, Tiede N, Krause T, Just H (1997a): "Prognostic significance of right ventricular afterload stress detected by echocardiography in patients with clinically suspected pulmonary embolism." *Heart* 77(4): 346-349.

- Kasper W, Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, Heinrich F, Grosser KD, Rauber K, Iversen S, Redecker M, Kienast J (1997b): "Management strategies and determinants of outcome in acute major pulmonary embolism: results of a multicenter registry." *J Am Coll Cardiol* 30(5): 1165-1171.
- Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kubler W (1989): "Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients." *J Mol Cell Cardiol* 21(12): 1349-1353.
- Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Remppis A, Scheffold T, Borgya A, Essig U, Geuss U (1992): "Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T." *Clin Chem* 38(3): 386-393.
- Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers J, Heineke J, Kotlarz D, Xu J, Molkentin JD et al. (2006): "The transforming growth factor-beta superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury." *Circ Res* 98(3): 351-360.
- Kempf T, Bjorklund E, Olofsson S, Lindahl B, Allhoff T, Peter T, Tongers J, Wollert KC, Wallentin L (2007a): "Growth-differentiation factor-15 improves risk stratification in ST-segment elevation myocardial infarction." *Eur Heart J* 28(23): 2858-2865.
- Kempf T, Horn-Wichmann R, Brabant G, Peter T, Allhoff T, Klein G, Drexler H, Johnston N, Wallentin L, Wollert KC (2007b): "Circulating concentrations of growth-differentiation factor 15 in apparently healthy elderly individuals and patients with chronic heart failure as assessed by a new immunoradiometric sandwich assay." *Clin Chem* 53(2): 284-291.
- Kempf T, von Haehling S, Peter T, Allhoff T, Cicoira M, Doehner W, Ponikowski P, Filippatos GS, Rozentryt P, Drexler H et al. (2007c): "Prognostic utility of growth differentiation factor-15 in patients with chronic heart failure." *J Am Coll Cardiol* 50(11): 1054-1060.
- Kilcullen N, Viswanathan K, Das R, Morrell C, Farrin A, Barth JH, Hall AS (2007): "Heart-type fatty acid-binding protein predicts long-term mortality after acute coronary syndrome and identifies high-risk patients across the range of troponin values." *J Am Coll Cardiol* 50(21): 2061-2067.
- Kingsley DM (1994): "The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms." *Genes Dev* 8(2): 133-146.
- Klepetko W, Mayer E, Sandoval J, Trulock EP, Vachiery JL, Dartevelle P, Pepke-Zaba J, Jamieson SW, Lang I, Corris P (2004): "Interventional and surgical modalities of treatment for pulmonary arterial hypertension." *J Am Coll Cardiol* 43(12 Suppl S): 73S-80S.
- Klok FA, Mos IC, Huisman MV (2008): "Brain-type natriuretic peptide levels in the prediction of adverse outcome in patients with pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis." *Am J Respir Crit Care Med* 178(4): 425-430.
- Konstantinides S (2005): "Pulmonary embolism: impact of right ventricular dysfunction." *Curr Opin Cardiol* 20(6): 496-501.
- Konstantinides S (2008a): "Clinical practice. Acute pulmonary embolism." *N Engl J Med* 359(26): 2804-2813.
- Konstantinides SV (2008b): "Recurrent venous thromboembolism: quite harmless after all?" *Thromb Haemost* 99(4): 655-656.
- Konstantinides SV (2008c): "Acute pulmonary embolism revisited: thromboembolic venous disease." *Heart* 94(6): 795-802.
- Konstantinides S, Geibel A, Heusel G, Heinrich F, Kasper W (2002a): "Heparin plus alteplase compared with heparin alone in patients with submassive pulmonary embolism." *N Engl J Med* 347(15): 1143-1150.
- Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, Kasper W, Hruska N, Jackle S, Binder L (2002b): "Importance of cardiac troponins I and T in risk stratification of patients with acute pulmonary embolism." *Circulation* 106(10): 1263-1268.

- Koopmann J, Buckhaults P, Brown DA, Zahurak ML, Sato N, Fukushima N, Sokoll LJ, Chan DW, Yeo CJ, Hruban RH et al. (2004): "Serum macrophage inhibitory cytokine 1 as a marker of pancreatic and other periampullary cancers." *Clin Cancer Res* 10(7): 2386-2392.
- Koopmann J, Rosenzweig CN, Zhang Z, Canto MI, Brown DA, Hunter M, Yeo C, Chan DW, Breit SN, Goggins M (2006): "Serum markers in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma: macrophage inhibitory cytokine 1 versus CA19-9." *Clin Cancer Res* 12(2): 442-446.
- Korff S, Katus HA, Giannitsis E (2006): "Differential diagnosis of elevated troponins." *Heart* 92(7): 987-993.
- Kostrubiec M, Pruszczyk P, Bochowicz A, Pacho R, Szulc M, Kaczynska A, Styczynski G, Kuch-Wocial A, Abramczyk P, Bartoszewicz Z et al. (2005): "Biomarker-based risk assessment model in acute pulmonary embolism." *Eur Heart J* 26(20): 2166-2172.
- Kucher N, Goldhaber SZ (2003): "Cardiac biomarkers for risk stratification of patients with acute pulmonary embolism." *Circulation* 108(18): 2191-2194.
- Kucher N, Goldhaber SZ (2005): "Management of massive pulmonary embolism." *Circulation* 112(2): e28-32.
- Kucher N, Printzen G, Goldhaber SZ (2003a): "Prognostic role of brain natriuretic peptide in acute pulmonary embolism." *Circulation* 107(20): 2545-2547.
- Kucher N, Wallmann D, Carone A, Windecker S, Meier B, Hess OM (2003b): "Incremental prognostic value of troponin I and echocardiography in patients with acute pulmonary embolism." *Eur Heart J* 24(18): 1651-1656.
- Kucher N, Printzen G, Doernhoefer T, Windecker S, Meier B, Hess OM (2003c): "Low pro-brain natriuretic peptide levels predict benign clinical outcome in acute pulmonary embolism." *Circulation* 107(12): 1576-1578.
- Kucher N, Rossi E, De Rosa M, Goldhaber SZ (2006): "Massive pulmonary embolism." *Circulation* 113(4): 577-582.
- Kurose M, Yoshimura M, Yasue H (1997): "Raised plasma BNP in a patient with acute pulmonary thromboembolism." *Heart* 78(3): 320-321.
- Lang IM (2004): "Chronic thromboembolic pulmonary hypertension--not so rare after all." *N Engl J Med* 350(22): 2236-2238.
- Lankeit M, Konstantinides S (2009): "Thrombolysis for hemodynamically stable patients with pulmonary embolism: Still searching for the intermediate-risk group." *Thromb Res* [Epub ahead of print].
- Lankeit M, Kempf T, Dellas C, Cuny M, Tapken H, Peter T, Olschewski M, Konstantinides S, Wollert KC (2008a): "Growth differentiation factor-15 for prognostic assessment of patients with acute pulmonary embolism." *Am J Respir Crit Care Med* 177(9): 1018-1025.
- Lankeit M, Dellas C, Panzenboeck A, Skoro-Sajer N, Bonderman D, Olschewski M, Schaefer K, Puls M, Konstantinides S, Lang IM (2008b): "Heart-type fatty acid-binding protein for risk assessment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Eur Respir J* 31(5): 1024-1029.
- Lapostolle F, Surget V, Borron SW, Desmaizieres M, Sordelet D, Lapandry C, Cupa M, Adnet F (2001): "Severe pulmonary embolism associated with air travel." *N Engl J Med* 345(11): 779-783.
- Lauer B, Niederau C, Kuhl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE, Schultheiss HP (1997): "Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis." *J Am Coll Cardiol* 30(5): 1354-1359.
- Lawton LN, Bonaldo MF, Jelenc PC, Qiu L, Baumes SA, Marcelino RA, de Jesus GM, Wellington S, Knowles JA, Warburton D et al. (1997): "Identification of a novel member of the TGF-beta superfamily highly expressed in human placenta." *Gene* 203(1): 17-26.

- Le Gal G, Righini M, Roy PM, Sanchez O, Aujesky D, Bounameaux H, Perrier A (2006): "Prediction of pulmonary embolism in the emergency department: the revised Geneva score." *Ann Intern Med* 144(3): 165-171.
- Leuchte HH, Holzapfel M, Baumgartner RA, Ding I, Neurohr C, Vogeser M, Kolbe T, Schwaiblmair M, Behr J (2004): "Clinical significance of brain natriuretic peptide in primary pulmonary hypertension." *J Am Coll Cardiol* 43(5): 764-770.
- Levin ER, Gardner DG, Samson WK (1998): "Natriuretic peptides." *N Engl J Med* 339(5): 321-328.
- Li PX, Wong J, Ayed A, Ngo D, Brade AM, Arrowsmith C, Austin RC, Klamut HJ (2000): "Placental transforming growth factor-beta is a downstream mediator of the growth arrest and apoptotic response of tumor cells to DNA damage and p53 overexpression." *J Biol Chem* 275(26): 20127-20135.
- Liang F, Gardner DG (1998): "Autocrine/paracrine determinants of strain-activated brain natriuretic peptide gene expression in cultured cardiac myocytes." *J Biol Chem* 273(23): 14612-14619.
- Lindahl B, Diderholm E, Lagerqvist B, Venge P, Wallentin L (2001): "Mechanisms behind the prognostic value of troponin T in unstable coronary artery disease: a FRISC II substudy." *J Am Coll Cardiol* 38(4): 979-986.
- Liu T, Bauskin AR, Zauders J, Brown DA, Pankhurst S, Russell PJ, Breit SN (2003): "Macrophage inhibitory cytokine 1 reduces cell adhesion and induces apoptosis in prostate cancer cells." *Cancer Res* 63(16): 5034-5040.
- Liu Z, Cui L, Wang Y, Guo Y (2006): "Cardiac troponin I and ventricular arrhythmia in patients with chronic heart failure." *Eur J Clin Invest* 36(7): 466-472.
- Logeart D, Lecuyer L, Thabut G, Tabet JY, Tartiere JM, Chavelas C, Bonnin F, Stievenart JL, Solal AC (2007): "Biomarker-based strategy for screening right ventricular dysfunction in patients with non-massive pulmonary embolism." *Intensive Care Med* 33(2): 286-292.
- Mahajan N, Mehta Y, Rose M, Shani J, Lichstein E (2006): "Elevated troponin level is not synonymous with myocardial infarction." *Int J Cardiol* 111(3): 442-449.
- Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B (2001): "The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure." *Clin Chem Lab Med* 39(7): 571-588.
- Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, Kazenegra R, Clopton P, Gardetto N, Morrissey R, Garcia A, Chiu A, De Maria A (2001): "Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction." *Am Heart J* 141(3): 367-374.
- Maytum R, Geeves MA, Lehrer SS (2002): "A modulatory role for the troponin T tail domain in thin filament regulation." *J Biol Chem* 277(33): 29774-29780.
- McIntyre KM, Sasahara AA (1971): "The hemodynamic response to pulmonary embolism in patients without prior cardiopulmonary disease." *Am J Cardiol* 28(3): 288-294.
- McIntyre KM, Sasahara AA (1974): "Determinants of right ventricular function and hemodynamics after pulmonary embolism." *Chest* 65(5): 534-543.
- McLaughlin VV, Presberg KW, Doyle RL, Abman SH, McCrory DC, Fortin T, Ahearn G (2004): "Prognosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines." *Chest* 126(1 Suppl): 78S-92S.
- Meneveau N, Seronde MF, Blonde MC, Legalery P, Didier-Petit K, Briand F, Caulfield F, Schiele F, Bernard Y, Bassand JP (2006): "Management of unsuccessful thrombolysis in acute massive pulmonary embolism." *Chest* 129(4): 1043-1050.
- Meyer T, Binder L, Hruska N, Luthe H, Buchwald AB (2000): "Cardiac troponin I elevation in acute pulmonary embolism is associated with right ventricular dysfunction." *J Am Coll Cardiol* 36(5): 1632-1636.

- Miniati M, Prediletto R, Formichi B, Marini C, Di Ricco G, Tonelli L, Allesscia G, Pistolesi M (1999): "Accuracy of clinical assessment in the diagnosis of pulmonary embolism." *Am J Respir Crit Care Med* 159(3): 864-871.
- 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): 487-492.
- Monreal M, Falga C, Valle R, Barba R, Bosco J, Beato JL, Maestre A (2006): "Venous thromboembolism in patients with renal insufficiency: findings from the RIETE Registry." *Am J Med* 119(12): 1073-1079.
- Moore AG, Brown DA, Fairlie WD, Bauskin AR, Brown PK, Munier ML, Russell PK, Salamonsen LA, Wallace EM, Breit SN (2000): "The transforming growth factor- α superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentrations in the serum of pregnant women." *J Clin Endocrinol Metab* 85(12): 4781-4788.
- Morrish DW, Linetsky E, Bhardwaj D, Li H, Dakour J, Marsh RG, Paterson MC, Godbout R (1996): "Identification by subtractive hybridization of a spectrum of novel and unexpected genes associated with in vitro differentiation of human cytotrophoblast cells." *Placenta* 17(7): 431-441.
- Moser KM, Auger WR, Fedullo PF (1990): "Chronic major-vessel thromboembolic pulmonary hypertension." *Circulation* 81(6): 1735-1743.
- Moser KM, Fedullo PF, Litlejohn JK, Crawford R (1994): "Frequent asymptomatic pulmonary embolism in patients with deep venous thrombosis." *JAMA* 271(3): 223-225.
- Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, Martina B, Schindler C, Buser P, Pfisterer M, Perruchoud AP (2004): "Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea." *N Engl J Med* 350(7): 647-654.
- Nagaya N, Nishikimi T, Okano Y, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Kuribayashi S, Hamada S, Kakishita M, Nakanishi N et al. (1998): "Plasma brain natriuretic peptide levels increase in proportion to the extent of right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension." *J Am Coll Cardiol* 31(1): 202-208.
- Nagaya N, Nishikimi T, Uematsu M, Satoh T, Kyotani S, Sakamaki F, Kakishita M, Fukushima K, Okano Y, Nakanishi N et al. (2000): "Plasma brain natriuretic peptide as a prognostic indicator in patients with primary pulmonary hypertension." *Circulation* 102(8): 865-870.
- Nakata T, Hashimoto A, Hase M, Tsuchihashi K, Shimamoto K (2003): "Human heart-type fatty acid-binding protein as an early diagnostic and prognostic marker in acute coronary syndrome." *Cardiology* 99(2): 96-104.
- 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.
- Nickel N, Kempf T, Tapken H, Tongers J, Laenger F, Lehmann U, Golpon H, Olsson K, Wilkins MR, Gibbs JS et al. (2008): "Growth differentiation factor-15 in idiopathic pulmonary arterial hypertension." *Am J Respir Crit Care Med* 178(5): 534-541.
- Niizeki T, Takeishi Y, Takabatake N, Shibata Y, Konta T, Kato T, Kawata S, Kubota I (2007a): "Circulating levels of heart-type fatty acid-binding protein in a general Japanese population: effects of age, gender, and physiologic characteristics." *Circ J* 71(9): 1452-1457.
- Niizeki T, Takeishi Y, Arimoto T, Takabatake N, Nozaki N, Hirono O, Watanabe T, Nitobe J, Harada M, Suzuki S et al. (2007b): "Heart-type fatty acid-binding protein is more sensitive than troponin T to detect the ongoing myocardial damage in chronic heart failure patients." *J Card Fail* 13(2): 120-127.
- Nordstrom M, Lindblad B (1998): "Autopsy-verified venous thromboembolism within a defined urban population--the city of Malmo, Sweden." *APMIS* 106(3): 378-384.

- O'Donoghue M, de Lemos JA, Morrow DA, Murphy SA, Buross JL, Cannon CP, Sabatine MS (2006): "Prognostic utility of heart-type fatty acid binding protein in patients with acute coronary syndromes." *Circulation* 114(6): 550-557.
- Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, Ho WK (1972): "A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium, and other tissues." *Science* 177(43): 56-58.
- Omland T, Aakvaag A, Bonarjee VV, Caidahl K, Lie RT, Nilsen DW, Sundsfjord JA, Dickstein K (1996): "Plasma brain natriuretic peptide as an indicator of left ventricular systolic function and long-term survival after acute myocardial infarction. Comparison with plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal proatrial natriuretic peptide." *Circulation* 93(11): 1963-1969.
- Pabinger I, Ay C (2009): "Biomarkers and venous thromboembolism." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29(3): 332-336.
- Paciocco G, Martinez FJ, Bossone E, Pielsticker E, Gillespie B, Rubenfire M (2001): "Oxygen desaturation on the six-minute walk test and mortality in untreated primary pulmonary hypertension." *Eur Respir J* 17(4): 647-652.
- Pagani F, Bonora R, Bonetti G, Panteghini M (2002): "Evaluation of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for the measurement of serum heart fatty acid-binding protein." *Ann Clin Biochem* 39(Pt 4): 404-405.
- Paralkar VM, Vail AL, Grasser WA, Brown TA, Xu H, Vukicevic S, Ke HZ, Qi H, Owen TA, Thompson DD (1998): "Cloning and characterization of a novel member of the transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein family." *J Biol Chem* 273(22): 13760-13767.
- Pelsers MM, Chapelle JP, Knapen M, Vermeer C, Muijtjens AM, Hermens WT, Glatz JF (1999): "Influence of age and sex and day-to-day and within-day biological variation on plasma concentrations of fatty acid-binding protein and myoglobin in healthy subjects." *Clin Chem* 45(3): 441-443.
- Pelsers MM, Hermens WT, Glatz JF (2005): "Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury." *Clin Chim Acta* 352(1-2): 15-35.
- Pengo V, Lensing AW, Prins MH, Marchiori A, Davidson BL, Tiozzo F, Albanese P, Biasiolo A, Pegoraro C, Iliceto S et al. (2004): "Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism." *N Engl J Med* 350(22): 2257-2264.
- Perez-Rodriguez E, Jimenez D, Diaz G, Perez-Walton I, Luque M, Guillen C, Manas E, Yusen RD (2003): "Incidence of air travel-related pulmonary embolism at the Madrid-Barajas airport." *Arch Intern Med* 163(22): 2766-2770.
- Perrier A, Roy PM, Sanchez O, Le Gal G, Meyer G, Gourdier AL, Furber A, Revel MP, Howarth N, Davido A et al. (2005): "Multidetector-row computed tomography in suspected pulmonary embolism." *N Engl J Med* 352(17): 1760-1768.
- Piechota M, Banach M, Jacon A, Rysz J (2008): "Natriuretic peptides in cardiovascular diseases." *Cell Mol Biol Lett* 13(2): 155-181.
- Pieralli F, Olivotto I, Vanni S, Conti A, Camaiti A, Targioni G, Grifoni S, Berni G (2006): "Usefulness of bedside testing for brain natriuretic peptide to identify right ventricular dysfunction and outcome in normotensive patients with acute pulmonary embolism." *Am J Cardiol* 97(9): 1386-1390.
- Potluri S, Ventura HO, Mulumudi M, Mehra MR (2004): "Cardiac troponin levels in heart failure." *Cardiol Rev* 12(1): 21-25.
- Prandoni P, Piccioli A, Girolami A (1999): "Cancer and venous thromboembolism: an overview." *Haematologica* 84(5): 437-445.

- Pruszczyk P, Bochowicz A, Torbicki A, Szulc M, Kurzyna M, Fijalkowska A, Kuch-Wocial A (2003a): "Cardiac troponin T monitoring identifies high-risk group of normotensive patients with acute pulmonary embolism." *Chest* 123(6): 1947-1952.
- Pruszczyk P, Kostrubiec M, Bochowicz A, Styczynski G, Szulc M, Kurzyna M, Fijalkowska A, Kuch-Wocial A, Chlewicka I, Torbicki A (2003b): "N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with acute pulmonary embolism." *Eur Respir J* 22(4): 649-653.
- Puls M, Dellas C, Lankeit M, Olschewski M, Binder L, Geibel A, Reiner C, Schaefer K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2007): "Heart-type fatty acid-binding protein permits early risk stratification of pulmonary embolism." *Eur Heart J* 28(2): 224-229.
- Rasiah KK, Kench JG, Gardiner-Garden M, Biankin AV, Golovsky D, Brenner PC, Kooner R, O'Neill G F, Turner JJ, Delprado W et al. (2006): "Aberrant neuropeptide Y and macrophage inhibitory cytokine-1 expression are early events in prostate cancer development and are associated with poor prognosis." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15(4): 711-716.
- Reesink HJ, Tulevski, II, Marcus JT, Boomsma F, Kloek JJ, Vonk Noordegraaf A, Bresser P (2007): "Brain natriuretic peptide as noninvasive marker of the severity of right ventricular dysfunction in chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Ann Thorac Surg* 84(2): 537-543.
- Ribeiro A, Lindmarker P, Juhlin-Dannfelt A, Johnsson H, Jorfeldt L (1997): "Echocardiography Doppler in pulmonary embolism: right ventricular dysfunction as a predictor of mortality rate." *Am Heart J* 134(3): 479-487.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH (1997): "Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men." *N Engl J Med* 336(14): 973-979.
- Rodeheffer RJ (2004): "Measuring plasma B-type natriuretic peptide in heart failure: good to go in 2004?" *J Am Coll Cardiol* 44(4): 740-749.
- Rubin LJ, Hoepfer MM, Klepetko W, Galie N, Lang IM, Simonneau G (2006): "Current and future management of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: from diagnosis to treatment responses." *Proc Am Thorac Soc* 3(7): 601-607.
- Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Gibson CM, Murphy SA, Rifai N, McCabe C, Antman EM, Cannon CP, Braunwald E (2002): "Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide." *Circulation* 105(15): 1760-1763.
- Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Omland T, Desai MY, Tanasijevic M, Hall C, McCabe CH, Braunwald E (2004): "Acute changes in circulating natriuretic peptide levels in relation to myocardial ischemia." *J Am Coll Cardiol* 44(10): 1988-1995.
- Sanchez O, Trinquart L, Colombet I, Durieux P, Huisman MV, Chatellier G, Meyer G (2008): "Prognostic value of right ventricular dysfunction in patients with haemodynamically stable pulmonary embolism: a systematic review." *Eur Heart J* 29(12): 1569-1577.
- Sandler DA, Martin JF (1989): "Autopsy proven pulmonary embolism in hospital patients: are we detecting enough deep vein thrombosis?" *J R Soc Med* 82(4): 203-205.
- Schaap FG, van der Vusse GJ, Glatz JF (1998): "Fatty acid-binding proteins in the heart." *Mol Cell Biochem* 180(1-2): 43-51.
- Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF (2007): "Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system." *Circulation* 116(1): 85-97.
- Schlittenhardt D, Schober A, Strelau J, Bonaterra GA, Schmiedt W, Unsicker K, Metz J, Kinscherf R (2004): "Involvement of growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in oxLDL-induced apoptosis of human macrophages in vitro and in arteriosclerotic lesions." *Cell Tissue Res* 318(2): 325-333.

- Schoepf UJ, Kucher N, Kipfmueller F, Quiroz R, Costello P, Goldhaber SZ (2004): "Right ventricular enlargement on chest computed tomography: a predictor of early death in acute pulmonary embolism." *Circulation* 110(20): 3276-3280.
- Scridon T, Scridon C, Skali H, Alvarez A, Goldhaber SZ, Solomon SD (2005): "Prognostic significance of troponin elevation and right ventricular enlargement in acute pulmonary embolism." *Am J Cardiol* 96(2): 303-305.
- Setsuta K, Seino Y, Ogawa T, Arao M, Miyatake Y, Takano T (2002): "Use of cytosolic and myofibril markers in the detection of ongoing myocardial damage in patients with chronic heart failure." *Am J Med* 113(9): 717-722.
- Setsuta K, Seino Y, Kitahara Y, Arao M, Ohbayashi T, Takano T, Mizuno K (2008): "Elevated levels of both cardiomyocyte membrane and myofibril damage markers predict adverse outcomes in patients with chronic heart failure." *Circ J* 72(4): 569-574.
- Sevitt S, Gallagher N (1961): "Venous thrombosis and pulmonary embolism. A clinicopathological study in injured and burned patients." *Br J Surg* 48: 475-489.
- Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd (1998): "Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-year population-based study." *Arch Intern Med* 158(6): 585-593.
- Simonneau G, Galie N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, Gibbs S, Lebrec D, Speich R, Beghetti M et al. (2004): "Clinical classification of pulmonary hypertension." *J Am Coll Cardiol* 43(12 Suppl S): 5S-12S.
- Sohne M, Ten Wolde M, Buller HR (2004): "Biomarkers in pulmonary embolism." *Curr Opin Cardiol* 19(6): 558-562.
- Sohne M, Ten Wolde M, Boomsma F, Reitsma JB, Douketis JD, Buller HR (2006): "Brain natriuretic peptide in hemodynamically stable acute pulmonary embolism." *J Thromb Haemost* 4(3): 552-556.
- Stein PD, Henry JW (1995): "Prevalence of acute pulmonary embolism among patients in a general hospital and at autopsy." *Chest* 108(4): 978-981.
- Stein PD, Saltzman HA, Weg JG (1991): "Clinical characteristics of patients with acute pulmonary embolism." *Am J Cardiol* 68(17): 1723-1724.
- Stein PD, Kayali F, Olson RE (2004a): "Regional differences in rates of diagnosis and mortality of pulmonary thromboembolism." *Am J Cardiol* 93(9): 1194-1197.
- Stein PD, Hull RD, Patel KC, Olson RE, Ghali WA, Brant R, Biel RK, Bharadia V, Kalra NK (2004b): "D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism: a systematic review." *Ann Intern Med* 140(8): 589-602.
- Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS (2006): "Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate." *N Engl J Med* 354(23): 2473-2483.
- Storch J, Thumser AE (2000): "The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins." *Biochim Biophys Acta* 1486(1): 28-44.
- Strelau J, Sullivan A, Bottner M, Lingor P, Falkenstein E, Suter-Crazzolara C, Galter D, Jaszai J, Krieglstein K, Unsicker K (2000): "Growth/differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 is a novel trophic factor for midbrain dopaminergic neurons in vivo." *J Neurosci* 20(23): 8597-8603.
- Subramaniam S, Strelau J, Unsicker K (2003): "Growth differentiation factor-15 prevents low potassium-induced cell death of cerebellar granule neurons by differential regulation of Akt and ERK pathways." *J Biol Chem* 278(11): 8904-8912.
- Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H (1988): "A new natriuretic peptide in porcine brain." *Nature* 332(6159): 78-81.
- Suntharalingam J, Goldsmith K, Toshner M, Doughty N, Sheares KK, Hughes R, Jenkins D, Pepke-Zaba J (2007): "Role of NT-proBNP and 6MWD in chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Respir Med* 101(11): 2254-2262.

- Swaanenburgh JC, Klaase JM, DeJongste MJ, Zimmerman KW, ten Duis HJ (1998): "Troponin I, troponin T, CKMB-activity and CKMB-mass as markers for the detection of myocardial contusion in patients who experienced blunt trauma." *Clin Chim Acta* 272(2): 171-181.
- Tan M, Wang Y, Guan K, Sun Y (2000): "PTGF-beta, a type beta transforming growth factor (TGF-beta) superfamily member, is a p53 target gene that inhibits tumor cell growth via TGF-beta signaling pathway." *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(1): 109-114.
- Tanaka T, Hirota Y, Sohmiya K, Nishimura S, Kawamura K (1991): "Serum and urinary human heart fatty acid-binding protein in acute myocardial infarction." *Clin Biochem* 24(2): 195-201.
- Tapson VF (2008): "Acute pulmonary embolism." *N Engl J Med* 358(10): 1037-1052.
- Tapson VF, Humbert M (2006): "Incidence and prevalence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: from acute to chronic pulmonary embolism." *Proc Am Thorac Soc* 3(7): 564-567.
- Tardy B, Venet C, Zeni F, Coudrot M, Guyomarc'h S, Mismetti P (2009): "Short term effect of recombinant tissue plasminogen activator in patients with hemodynamically stable acute pulmonary embolism: Results of a meta-analysis involving 464 patients." *Thromb Res* [Epub ahead of print].
- Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology (2000): "Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology." *Eur Heart J* 21(16): 1301-1336.
- ten Wolde M, Tulevski, II, Mulder JW, Sohne M, Boomsma F, Mulder BJ, Buller HR (2003): "Brain natriuretic peptide as a predictor of adverse outcome in patients with pulmonary embolism." *Circulation* 107(16): 2082-2084.
- ten Wolde M, Sohne M, Quak E, Mac Gillavry MR, Buller HR (2004): "Prognostic value of echocardiographically assessed right ventricular dysfunction in patients with pulmonary embolism." *Arch Intern Med* 164(15): 1685-1689.
- The Joint Internatinal Society and Federation of Cardiology / World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature (1979): "Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature." *Circulation* 59(3): 607-609.
- The PIOPED Investigators (1990): "Value of the ventilation/perfusion scan in acute pulmonary embolism. Results of the prospective investigation of pulmonary embolism diagnosis (PIOPED). The PIOPED Investigators." *JAMA* 263(20): 2753-2759.
- Thistlethwaite PA, Mo M, Madani MM, Deutsch R, Blanchard D, Kapelanski DP, Jamieson SW (2002): "Operative classification of thromboembolic disease determines outcome after pulmonary endarterectomy." *J Thorac Cardiovasc Surg* 124(6): 1203-1211.
- Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M, McAlister F, Garg AX (2006): "Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review." *J Am Soc Nephrol* 17(7): 2034-2047.
- Torbicki A, Galie N, Covezzoli A, Rossi E, De Rosa M, Goldhaber SZ (2003a): "Right heart thrombi in pulmonary embolism: results from the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry." *J Am Coll Cardiol* 41(12): 2245-2251.
- Torbicki A, Kurzyna M, Kuca P, Fijalkowska A, Sikora J, Florczyk M, Pruszczyk P, Burakowski J, Wawrzynska L (2003b): "Detectable serum cardiac troponin T as a marker of poor prognosis among patients with chronic precapillary pulmonary hypertension." *Circulation* 108(7): 844-848.

- Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, Agnelli G, Galie N, Pruszczyk P, Bengel F, Brady AJ, Ferreira D, Janssens U et al. (2008): "Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC)." *Eur Heart J* 29(18): 2276-2315.
- Troxler RF, Offner GD, Jiang JW, Wu BL, Skare JC, Milunsky A, Wyandt HE (1993): "Localization of the gene for human heart fatty acid binding protein to chromosome 1p32-1p33." *Hum Genet* 92(6): 563-566.
- Tsutamoto T, Wada A, Sakai H, Ishikawa C, Tanaka T, Hayashi M, Fujii M, Yamamoto T, Dohke T, Ohnishi M et al. (2006): "Relationship between renal function and plasma brain natriuretic peptide in patients with heart failure." *J Am Coll Cardiol* 47(3): 582-586.
- Tveit DP, Hypolite IO, Hshieh P, Cruess D, Agodoa LY, Welch PG, Abbott KC (2002): "Chronic dialysis patients have high risk for pulmonary embolism." *Am J Kidney Dis* 39(5): 1011-1017.
- van der Meer RW, Pattynama PM, van Strijen MJ, van den Berg-Huijsmans AA, Hartmann IJ, Putter H, de Roos A, Huisman MV (2005): "Right ventricular dysfunction and pulmonary obstruction index at helical CT: prediction of clinical outcome during 3-month follow-up in patients with acute pulmonary embolism." *Radiology* 235(3): 798-803.
- Van Nieuwenhoven FA, Kleine AH, Wodzig WH, Hermens WT, Kragten HA, Maessen JG, Punt CD, Van Dieijen MP, Van der Vusse GJ, Glatz JF (1995): "Discrimination between myocardial and skeletal muscle injury by assessment of the plasma ratio of myoglobin over fatty acid-binding protein." *Circulation* 92(10): 2848-2854.
- Veerkamp JH, Maatman RG (1995): "Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: their structure and genes." *Prog Lipid Res* 34(1): 17-52.
- Veerkamp JH, Paulussen RJ, Peeters RA, Maatman RG, van Moerkerk HT, van Kuppevelt TH (1990): "Detection, tissue distribution and (sub)cellular localization of fatty acid-binding protein types." *Mol Cell Biochem* 98(1-2): 11-18.
- Vuilleumier N, Le Gal G, Verschuren F, Perrier A, Bounameaux H, Turck N, Sanchez JC, Mensi N, Perneger T, Hochstrasser D et al. (2009): "Cardiac biomarkers for risk stratification in non-massive pulmonary embolism: a multicenter prospective study." *J Thromb Haemost* 7(3): 391-398.
- Wan S, Quinlan DJ, Agnelli G, Eikelboom JW (2004): "Thrombolysis compared with heparin for the initial treatment of pulmonary embolism: a meta-analysis of the randomized controlled trials." *Circulation* 110(6): 744-749.
- 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(3): 254-258.
- Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, Wolf PA, Vasani RS (2004): "Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death." *N Engl J Med* 350(7): 655-663.
- Watanabe T, Ohkubo Y, Matsuoka H, Kimura H, Sakai Y, Ohkaru Y, Tanaka T, Kitaura Y (2001): "Development of a simple whole blood panel test for detection of human heart-type fatty acid-binding protein." *Clin Biochem* 34(4): 257-263.
- Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Ginsberg JS, Kearon C, Gent M, Turpie AG, Bormanis J, Weitz J, Chamberlain M et al. (2000): "Derivation of a simple clinical model to categorize patients probability of pulmonary embolism: increasing the models utility with the SimpliRED D-dimer." *Thromb Haemost* 83(3): 416-420.
- Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J, Kovacs G, Mitchell M, Lewandowski B, Kovacs MJ (2003): "Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis." *N Engl J Med* 349(13): 1227-1235.

- Wodzig KW, Pelsers MM, van der Vusse GJ, Roos W, Glatz JF (1997): "One-step enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for plasma fatty acid-binding protein." *Ann Clin Biochem* 34 (Pt 3): 263-268.
- Wollert KC, Kempf T, Lagerqvist B, Lindahl B, Olofsson S, Allhoff T, Peter T, Siegbahn A, Venge P, Drexler H et al. (2007a): "Growth differentiation factor 15 for risk stratification and selection of an invasive treatment strategy in non ST-elevation acute coronary syndrome." *Circulation* 116(14): 1540-1548.
- Wollert KC, Kempf T, Peter T, Olofsson S, James S, Johnston N, Lindahl B, Horn-Wichmann R, Brabant G, Simoons ML et al. (2007b): "Prognostic value of growth-differentiation factor-15 in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome." *Circulation* 115(8): 962-971.
- Wood KE (2002): "Major pulmonary embolism: review of a pathophysiologic approach to the golden hour of hemodynamically significant pulmonary embolism." *Chest* 121(3): 877-905.
- Xu J, Kimball TR, Lorenz JN, Brown DA, Bauskin AR, Klevitsky R, Hewett TE, Breit SN, Molkentin JD (2006): "GDF15/MIC-1 functions as a protective and antihypertrophic factor released from the myocardium in association with SMAD protein activation." *Circ Res* 98(3): 342-350.
- Yang H, Filipovic Z, Brown D, Breit SN, Vassilev LT (2003): "Macrophage inhibitory cytokine-1: a novel biomarker for p53 pathway activation." *Mol Cancer Ther* 2(10): 1023-1029.
- 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(1): 195-203.
- Yin WH, Chen JW, Feng AN, Lin SJ, Young S (2007): "Multimarker approach to risk stratification among patients with advanced chronic heart failure." *Clin Cardiol* 30(8): 397-402.
- Zanotti G, Scapin G, Spadon P, Veerkamp JH, Sacchetti JC (1992): "Three-dimensional structure of recombinant human muscle fatty acid-binding protein." *J Biol Chem* 267(26): 18541-18550.
- Zimmerman AW, Veerkamp JH (2002): "New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins." *Cell Mol Life Sci* 59(7): 1096-1116.
- Zimmers TA, Jin X, Hsiao EC, McGrath SA, Esquela AF, Koniaris LG (2005): "Growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 induction after kidney and lung injury." *Shock* 23(6): 543-548.
- Zimmers TA, Jin X, Hsiao EC, Perez EA, Pierce RH, Chavin KD, Koniaris LG (2006): "Growth differentiation factor-15: induction in liver injury through p53 and tumor necrosis factor-independent mechanisms." *J Surg Res* 130(1): 45-51.

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

ACC	American College of Cardiology
AHA	American Heart Association
ANP	Atrial natriuretic peptide, atriales natriuretisches Peptid
ATS	American Thoracic Society
AUC	Area under the curve, Fläche unter der (ROC) Kurve
avO ₂	Arteriovenöse Sauerstoffdifferenz
BMI	Body mass index
BMP	Bone morphogenetic protein
BNP	Brain natriuretic peptide, brain-natriuretisches Peptid
cDNA	Complementary desoxyribonucleic acid, komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CI	Cardiac index, Herzindex
CK	Creatine kinase, Kreatinkinase
CNP	C-type natriuretic peptide, C-type natriuretisches Peptid
CO	Cardiac output, Herzzeitvolumen
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease, chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CRP	C-reaktives Peptid
CSF	Colony stimulating factor
CT	Computed tomography, Computertomographie
CTEPH	Chronisch-Thromboembolische Pulmonale Hypertension
cTnT	Cardiac troponin T, kardiales Troponin T
DNP	Dendroaspis natriuretic peptide, dendroaspis-natriuretisches Peptid
ECLIA	Electrochemiluminescence immunoassay, Elektrochemischer Lumineszenz-immunoassay
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
ESC	European Society of Cardiology
FABP	Fatty acid-binding protein

GDF-15	Growth-differentiation factor-15
GDNF	Glial-derived neurotrophic factor
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
H-FABP	Heart-type fatty acid-binding protein
HR	Hazard Ratio
I/R	Ischemia / reperfusion, Ischämie mit Reperfusion
IFN	Interferon
IL	Interleukin
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartile range
IRMA	Immunoradiometric assay, Radioimmunoassay
KI	Konfidenzintervall
LE	Lungenembolie
ln	Natürlicher Logarithmus
LR	Likelihood Ratio
LV	Linksventrikulär / linker Ventrikel
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter
MDCT	Multidetector computed tomography, Multi-Detektor Computertomographie
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease study equation
MIC-1	Macrophage-inhibitory cytokine-1
MIS	Muellerian-inhibitory substance
mRNA	Messenger ribonucleic acid, messenger Ribonukleinsäure
MTHFR	Methylentetrahydrofolatreduktase
NAG-1	Nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene-1
NMH	niedermolekulare/s Heparin/e
NPW	Negativer prädiktiver Wert
NSAR	nicht-steroidale Antirheumatika
NSTEMI	Non-ST-elevation myocardial infarction, Nicht-ST-Strecken-Hebungs-Myokardinfarkt
NT-proBNP	N-terminal-pro brain natriuretic peptide, N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid
NYHA	New York Heart Association
OR	Odds Ratio

PAH	Pulmonalarterielle Hypertension
(m)PAP	(mean) pulmonary arterial pressure, (mittlerer) pulmonalarterieller Druck
PCWP	Pulmonary capillary wedge pressure, pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PDF	Prostate-derived factor
PEA	Pulmonale Thrombendarterektomie
PLAB	Placental bone morphogenetic protein
PPW	Positiver prädiktiver Wert
PTGF- β	Placental transforming growth factor- β
PVR	Pulmonary vascular resistance, pulmonaler Gefäßwiderstand
RA	Rechtsatrial / rechtes Atrium
(m)RAP	(mean) right atrial pressure, (mittlerer) rechtsatrialer Druck
ROC	Receiver operating characteristics
rpm	Rounds per minute
RV	Rechtsventrikulär / rechter Ventrikel
RVEDD	Rechtsventrikulärer enddiastolischer Diameter
STEMI	ST-elevation myocardial infarction, ST-Strecken Hebungs-Myokardinfarkt
TAPSE	Tricuspid annular plane systolic excursion
TGF- β	Transforming-growth factor- β
TMB	Tetramethylbenzidine
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TVT	Tiefe Beinvenenthrombose
VO ₂	Sauerstoffaufnahme
WHO	World Health Organization
ZVK	Zentraler Venenkatheter

7.2 Datenerfassungsbogen Lungenembolie

Patientendaten

Geburtsdatum: _____._____.199__ Geschlecht: m w
 Aufnahme datum: _____._____.200__ Entlassungs-/Todesdatum: _____._____.200__
 Größe: _____cm Gewicht: _____kg BMI: _____kg/m²

Anamnese

Klinische Wahrscheinlichkeit einer LE: Wells Score

Klinische Charakteristik	ja	nein	Score
1. Klinische Zeichen und Symptome einer TVT			3,0
2. andere Diagnose als LE unwahrscheinlich			3,0
3. frühere TVT oder LE			1,5
4. Immobilisation oder OP in den vergangenen 4 Wochen			1,5
5. Herzfrequenz > 100 /min.			1,5
6. Hämoptysen			1,0
7. Krebserkrankung			1,0
Wahrscheinlichkeit einer LE	ja	nein	Score
gering			< 2,0
mittel			2,0-6,0
hoch			> 6,0

Sonstige prädisponierende Faktoren für LE

Z.n. tiefer Beinvenenthrombose ja nein ; wann _____
 Z.n. Lungenembolie ja nein ; wann _____
 Nikotin ja nein ; pack / year ____
 Z.n. OP (innerhalb der letzten 14 Tage) ja nein
 Z.n. Trauma (innerhalb der letzten 14 Tage) ja nein
 Gravidität / postpartal ja nein
 Flugreise ja nein
 bekannte Hyperkoagulabilität ja nein ; welche _____
 Krebserkrankung (_____) ja nein ; ED _____
 Metastasen ja nein

Vorerkrankungen

Herzinsuffizienz ja nein
 Koronare Herzkrankheit ja nein
 COPD / Asthma ja nein
 Arterieller Hypertonus ja nein
 Z.n. Insult ja nein
 Hyperlipoproteinämie ja nein
 Diabetes mellitus ja nein ; Typ ____
 insulinpflichtig ja nein ; Medikation: _____
 Niereninsuffizienz ja nein
 sonstige: _____

Vormedikation

Kontrazeptiva / Hormonpräparate ja nein
 Vitamin K Antagonisten ja nein
 niedermolekulare Heparine ja nein
 Acetylsalicylsäure, Clopidogrel ja nein
 sonstige: _____

Symptomatik

Beginn der Symptomatik: keine < 24 Stunden zw. 1-4 Tagen zw. 4-14 Tagen
 Beinschwellung / -schmerzen ja nein
 thorakale Schmerzen ja nein
 Dyspnoe ja nein
 Synkope ja nein
 Herzrhythmusstörungen ja nein
 kardiogener Schock ja nein
 Herzstillstand / Reanimation ja nein
 Schlaganfall / Transitorische ischämische Attacke ja nein

Klinischer Status bei Diagnose

Puls ____/min RR ____/____ mmHg Atemfrequenz ____/min
 PO₂ (arteriell) ____ mmHg unter ____ l O₂/____ F_IO₂ PCO₂ (arteriell) ____ mmHg
 SaO₂ ____% unter RL / ____ l O₂

Diagnostik

Laborchemie	t _{0h}	t _{3h}	t _{6h}	t _{24h}	max.
CK (U/l)					
CK-MB (U/l)					
Troponin T (µg/l)					
Kreatinin (mg/dl)		-	-	-	
D-Dimere (mg/l)		-	-	-	
CRP (mg/l)		-	-	-	
NT-proBNP (pg/ml)					
Glucose (mg/dl)		-	-	-	-
Gesamtcholesterin (mg/dl)		-	-	-	-
Triglyceride (mg/dl)		-	-	-	-
LDL (mg/dl)		-	-	-	-
HDL (mg/dl)		-	-	-	-
Kleines Blutbild	Baseline	Thrombophiliediagnostik			
Hb (g/dl)		Faktor II (Prothrombin) (< 115%)			
Hkt (%)		Faktor V (57-176%)			
MCV (fl)		Faktor VIII (87-170%)			
MCH (pg)		Protein C (68-119%)			
Thrombozyten (x 10 ³ /µl)		Protein S (49-118%)			
Leukozyten (x 10 ³ /µl)		APC-Resistenz (2,00-3,20)			
		Lupus-Antikoagulanz			
		Antikardiolipin-AK IgG <10 U/ml			
		Antikardiolipin-AK IgM <7 U/ml			
		Antithrombin (80-130%)			

Transthorakale Echokardiographie

Datum: ____ . ____ . 200__ Uhrzeit: ____ : ____ Uhr (____ Stunden nach Aufnahme)
 Schlechte Schallbedingungen ja nein
 RV>LV ja nein ; RVEDD: ____ mm LVEDD: ____ mm
 paradoxe Septumbewegungen ja nein
 VCI nicht atemreagibel ja nein
 intrakardiale Thromben ja nein
 Kontrast-Echo ja nein
 Persistierendes Foramen ovale (PFO) ja nein
 TR-Jet Geschwindigkeit: ____ m/s TI ja nein ; Grad ____ °
 geschätzter PAPsys: ____ mmHg
 LV-Funktion normal eingeschränkt
 EF ____% alternativ: leichtgradig mittelgradig hochgradig eingeschränkt
 Mitralklappenerkrankung ja nein wenn ja, welche _____

Elektrokardiogramm (EKG)

Datum: ____ . ____ . 200__ Uhrzeit: ____ : ____ Uhr (____ Stunden nach Aufnahme)
 S₁Q_{III}-Typ ja nein
 T-Negativierung V₁-V₃ ja nein
 Rechtsschenkelblock ja nein wenn ja: komplett inkomplett
 atriale Arrhythmien ja nein
 nicht verwertbar (LSB, SM) ja nein

LE bzw. TVT gesichert durch:

Pulmonalisangiographie ja nein
 Kompressions-Sonographie ja nein wenn ja: Nachweis einer TVT ja nein
 Phlebographie ja nein wenn ja: Nachweis einer TVT ja nein
 Lungen V / P Szintigramm ja nein wenn ja: Segmentanzahl _____
 Spiral-CT ja nein
 mit Beinvenendarstellung ja nein wenn ja: Nachweis einer TVT ja nein

Komplikationen (während des stationären Aufenthaltes)

Rezidiv-LE ja nein
 paradoxe Embolie ja nein wenn ja: cerebral peripher
 Blutungen ja nein wenn ja: Anzahl der substituierten EKs: ____
 Katecholamingabe ja nein (außer Dopamin ≤ 5µg/kg/min)
 Intubation ja nein
 Reanimation ja nein
 Tod ja nein wenn ja: Datum: ____ . ____ . 200__
 Obduktion ja nein Todesursache: _____

Therapie

Heparin ja nein
 niedermolekulare Heparine ja nein
 Thrombolyse ja nein wenn ja: initial (< 24h) spät (ab 24h)
 Thrombusdefragmentation ja nein
 operative Thrombektomie ja nein
 Orale Antikoagulation ja nein

Danksagung

Meinem Doktorvater und Mentor **Herrn Prof. Dr. med. Stavros Konstantinides** gilt mein größter Dank für die intensive und engagierte Betreuung, Förderung und Unterstützung weit über den Rahmen der Dissertation hinaus. Durch das mir entgegen gebrachte Vertrauen und die Übertragung von Verantwortung erhielt ich die Möglichkeit, auf nationalen und internationalen Kongressen und im Rahmen von wissenschaftlichen Kooperationsprojekten Erfahrungen zu sammeln sowie Publikationen zu erarbeiten und so die Grundlagen des wissenschaftlichen Arbeitens zu erlernen. Seine Professionalität, sein Optimismus und seine Geduld werden mir immer Vorbild sein.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei **Frau Dr. med. Claudia Dellas** für ihre engagierte Betreuung meiner Dissertation sowie die umfangreiche Unterstützung und kompetente Hilfestellung in unseren Projekten. Ich freue mich auf die weitere wissenschaftliche und berufliche Zusammenarbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt unseren Kooperationspartnern, ohne die sowohl diese Dissertation als auch die gemeinsamen Publikationen nicht möglich gewesen wären.

Frau Prof. Dr. med. Irene Lang und **Frau Mag. Scient. Adelheid Panzenböck** der klinischen Abteilung für Kardiologie der Universitätsklinik für Innere Medizin II der Medizinischen Universität Wien danke ich für die produktive und freundschaftliche Zusammenarbeit sowie für die Rekrutierung und Probenakquirierung des Kollektivs der Patienten mit Chronisch-Thromboembolischer Pulmonaler Hypertension.

Herrn Prof. Dr. med. Kai Wollert und **Herrn Dr. med. Tibor Kempf** der Abteilung für Kardiologie und Angiologie der Medizinischen Hochschule Hannover danke ich für die lehrreiche und produktive Zusammenarbeit sowie für die Messungen von growth-differentiation factor-15 im Kollektiv der Patienten mit akuter Lungenembolie.

Herrn Dipl. Stat. Manfred Olschewski der Abteilung Medizinische Biometrie und Statistik des Instituts für Medizinische Biometrie und Medizinische Informatik des Universitätsklinikums Freiburg danke ich für die Durchführung der ersten statistischen Analysen.

Im Rahmen der Erfassung von Patienten mit akuter Lungenembolie bin ich vielen ärztlichen und nicht-ärztlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Universitätsmedizin Göttingen zu Dank verpflichtet, diese alle zu nennen, hier jedoch den Rahmen sprengen würde. Stellvertretend für sie bedanken möchte ich mich bei **Herrn Bodo Schulz** und den Medizinisch-technischen Radiologieassistentinnen der Abteilung Diagnostische Radiologie der Universitätsmedizin Göttingen für vielgestaltige Hilfestellung und Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. med. Gerd Hasenfuß danke ich für die Freistellung von der klinischen Arbeit im September 2009 für die Fertigstellung der Dissertationsschrift sowie für die Möglichkeit zur Durchführung meiner Forschungsarbeiten in der von ihm geleiteten Abteilung Kardiologie und Pneumologie der Universitätsmedizin Göttingen.

Lebenslauf

Am 16.04.1982 wurde ich, Mareike Katharina Lankeit, als erstes Kind meiner Eltern Michael und Katharina Lankeit, geb. Lindner, in Köln geboren. Ich habe einen Bruder (Frederik, geb. 05.04.1985) und eine Schwester (Henrike, geb. 24.04.1987).

Von 1988 bis 1990 besuchte ich die katholische Grundschule Mondorf, Stadt Niederkassel, und nach unserem Umzug nach Göttingen von 1990 bis 1992 die Hainbundschole und nachfolgend von 1992 bis 1994 die Orientierungsstufe im Schulzentrum Göttingen-Nord. Von 1994 bis 2001 besuchte ich das Theodor-Heuss-Gymnasium und erlangte 2001 mit dem Abitur die allgemeine Hochschulreife (Note „sehr gut“). Das erste Halbjahr des 11. Schuljahres, also von August bis Dezember 1998, verbrachte ich in Valdosta, Georgia, USA und besuchte dort die Lowndes High School.

Im Wintersemester 2001 / 2002 studierte ich Physik an der Georg-August-Universität Göttingen und begann ebenda im Sommersemester 2002 mein Studium der Humanmedizin. Im September 2004 bestand ich den 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Physikum). Mein Praktisches Jahr absolvierte ich in der Abteilung Allgemein- und Viszeralchirurgie, Zentrum Chirurgie, Universitätsmedizin Göttingen, im Zentrum Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin, Universitätsmedizin Göttingen (Wahlfach) und als Unterassistentin im Department für Innere Medizin des Universitätsspitals Zürich, Schweiz. Im November 2008 bestand ich den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (4. Fach Gynäkologie, Gesamtnote „sehr gut“) und am 09.12.2008 wurde mir die Approbation erteilt.

Seit Februar 2009 arbeite ich als Assistenzärztin in der Facharztausbildung in der Abteilung Kardiologie und Pneumologie der Universitätsmedizin Göttingen.

Im Juli 2005 nahm ich meine Forschungstätigkeit im Rahmen meiner Dissertation in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Stavros Konstantinides, Abteilung Kardiologie und Pneumologie der Universitätsmedizin Göttingen auf. Im Rahmen meiner wissenschaftlichen Arbeit konnte ich verschiedene Kongresse besuchen und meine Forschungsergebnisse als Poster oder Vortrag präsentieren (73., 74., 75. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung (DGK), jeweils in Mannheim; International Conference der American Thoracic Society (ATS) 2007, San Francisco, CA, USA; Scientific Sessions der American Heart Association (AHA) 2007, Orlando, FL, USA) sowie mehrere Publikationen veröffentlichen (siehe Publikationsverzeichnis).

Publikationsverzeichnis

Publikationen

- Lankeit M, Konstantinides S (2009): "Tenecteplase can be given to patients with intermediate-risk pulmonary embolism – but should it?" *Thromb Res* [Epub ahead of print].
- Dellas C, Puls M, Lankeit M, Schaefer K, Cuny M, Bender M, Hasenfuss G, Konstantinides S (2009): "Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) is a strong predictor for complications and death in normotensive patients with acute pulmonary embolism." *J Am Coll Cardiol* [Epub ahead of print].
- Lankeit M, Konstantinides S (2009): "Thrombolysis for hemodynamically stable patients with pulmonary embolism – still searching for the intermediate-risk group." *Thromb Res* [Epub ahead of print].
- Dellas C, Schaefer K, Rohm I, Lankeit M, Ellrott T, Faustin V, Riggert J, Hasenfuss G, Konstantinides S (2008): "Absence of leptin resistance in platelets from morbidly obese individuals may contribute to the increased thrombosis risk in obesity." *Thromb Haemost* 100(6): 1123-1129.
- Lankeit M, Kempf T, Dellas C, Cuny M, Tapken H, Peter T, Olschewski M, Konstantinides S, Wollert KC (2008): "Growth differentiation factor-15 for prognostic assessment of patients with acute pulmonary embolism." *Am J Respir Crit Care Med* 177(9): 1018-1025.
- Lankeit M, Dellas C, Panzenboeck A, Skoro-Sajer N, Bonderman D, Olschewski M, Schaefer K, Puls M, Konstantinides S, Lang IM (2008): "Heart-type fatty acid-binding protein for risk assessment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension." *Eur Respir J* 31(5): 1024-1029.
- Dellas C, Schaefer K, Rohm IK, Lankeit M, Leifheit M, Loskutoff DJ, Hasenfuss G, Konstantinides SV (2007): "Leptin signaling and leptin-mediated activation of human platelets: importance of JAK2 and the phospholipases Cgamma2 and A2." *Thromb Haemost* 98(5): 1063-1071.
- Puls M, Dellas C, Lankeit M, Olschewski M, Binder L, Geibel A, Reiner C, Schaefer K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2007): "Heart-type fatty acid-binding protein permits early risk stratification of pulmonary embolism." *Eur Heart J* 28(2): 224-229.

Präsentationen auf Kongressen

- Lankeit M (2009): "Biomarkers for diagnosis, risk stratification and guidance of therapy in pulmonary embolism." Clin Chem Lab Med 47, S13. EUROMEDLAB, Innsbruck, Österreich, 07.-11.06.2009.
- Lankeit M, Dellas C, Katus HA, Giannitsis E, Konstantinides S (2009): "Additive prognostische Information durch die Verwendung eines hoch sensitiven Assays für Troponin T bei Patienten mit akuter Lungenembolie." Clin Res Cardiol 98, I, P1015. 75. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 16.-18.04.2009.
- Dellas C, Puls M, Lankeit M, Berner M, Hasenfuss G, Schaefer K, Konstantinides S (2009): "Heart-type fatty acid-binding protein eignet sich zur Risikostratifizierung von normotensiven Patienten mit akuter Lungenembolie." Clin Res Cardiol 98, I, P1017. 75. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 16.-18.04.2009.
- Dellas C, Lankeit M, Puls M, Schaefer K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2008): "Heart-type fatty acid-binding protein predicts outcome in normotensive patients with pulmonary embolism." Circ 118, S, 621. American Heart Association, Scientific Sessions, New Orleans, LA, USA, 08.-12.11.2008.
- Dellas C, Schaefer K, Rohm I, Lankeit M, Hasenfuss G, Konstantinides S (2008): "Absence of Leptin Resistance in Platelets from Obese Individuals Suggests a Mechanism for Increased Thrombosis Risk in Obesity." Circ 118: S, 1168. American Heart Association, Scientific Sessions, New Orleans, LA, USA, 08.-12.11.2008.
- Lankeit M, Kempf T, Dellas C, Cuny M, Tapken H, Peter T, Konstantinides S, Wollert KC (2008): "Prognostischer Stellenwert von growth-differentiation factor-15 bei Patienten mit akuter Lungenembolie." Clin Res Cardiol 97, I, V11. 74. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 27.-29.03.2008.
- Dellas C, Schaefer K, Rohm I, Lankeit M, Hasenfuss G, Konstantinides S (2008): "Aggregation und Leptin-Responsivität menschlicher Thrombozyten bei Adipositas." Clin Res Cardiol 97, I, V30. 74. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 27.-29.03.2008.

- Puls M, Dellas C, Schaefer K, Soemer V, Lankeit M, Sterzl K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2008): "Bedeutung der Myeloperoxidase-Plasmaspiegel als möglicher Biomarker eines instabilen Koronarplaques und akuter Koronarsyndrom." *Clin Res Cardiol* 97, I, P170. 74. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 27.-29.03.2008.
- Lankeit MK, Kempf T, Dellas C, Cuny M, Olschewski M, Tapken H, Peter T, Konstantinides SV, Wollert KC (2007): "Prognostic Value of Growth-Differentiation Factor-15 in Patients with Acute Pulmonary Embolism." *Circ* 116, II, 502. American Heart Association, Scientific Sessions, Orlando, FL, USA, 04.-07.11.2007.
- Konstantinides S, Lankeit M, Panzenboeck A, Dellas C, Skoro-Sajer N, Bonderman D, Lang I (2007): "Heart-type Fatty Acid-Binding Protein Is a Novel Biomarker of Hemodynamic Compromise in Patients with Pulmonary Hypertension." *Am J Respir Crit Care Med* 175; A34. International Conference der American Thoracic Society; San Francisco, CA, USA; 18.-23.05.2007.
- Konstantinides S, Lankeit M, Panzenboeck A, Dellas C, Puls M, Skoro-Sajer N, Bonderman D, Lang I (2007): "Prognostischer Stellenwert des Biomarkers heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) bei Patienten mit (Chronisch-Thromboembolischer) Pulmonaler Hypertonie." *Clin Res Cardiol* 96, I, V108. 73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 12.-14.04.2007.
- Dellas C, Puls M, Lankeit M, Reiner C, Schaefer K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2007): "Erhöhte sCD40L Plasmaspiegel korrelieren mit ungünstiger Prognose bei Patienten mit akuter Lungenembolie." *Clin Res Cardiol* 96, I, P194. 73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 12.-14.04.2007.
- Dellas C, Schaefer K, Rohm I, Lankeit M, Leifheit M, Hasenfuss G, Konstantinides S (2007): "Leptin aktiviert Thrombozyten über die Janus Kinase 2, Phosphatidylinositol-3-Kinase und die Phospholipasen C γ 2 und A $_2$." *Clin Res Cardiol* 96, I, V1932. 73. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 12.-14.04.2007.
- Dellas C, Schaefer K, Rohm I, Lankeit M, Hasenfuss G, Konstantinides S (2006): "Leptin induces activation of human platelets: insights into the intracellular signaling mechanisms underlying the prothrombotic effect of the adipokine." *Circ* 114, II, 180. American Heart Association, Scientific Sessions, Chicago, IL, USA, 12.-15.11.2006.

- Dellas C, Puls M, Binder L, Lankeit M, Reiner C, Hasenfuss G, Schaefer K, Konstantinides S (2006): "Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) als neuer Biomarker zur Risikostratifizierung bei akuter Lungenembolie." Clin Res Cardiol 95, V, P499. 72. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 20.-22.04.2006.
- Puls M, Dellas C, Binder L, Sterzl K, Lankeit M, Hasenfuss G, Schaefer K, Konstantinides S (2006): "Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) als diagnostischer Marker bei akutem Koronarsyndrom." Clin Res Cardiol 95, V, V1175. 72. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim, 20.-22.04.2006.