

**Aus der Klinik für Kardiologie und Pneumologie
(Prof. Dr. med. G. Hasenfuß)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen**

**Angiopoietin-2 — ein neuer Biomarker
bei Patienten mit akuter Lungenembolie**

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

vorgelegt von

Caroline Antoinette Paula Niemann

aus New York

Göttingen 2016

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referentin: PD Dr. med. M. Lankeit

Ko-Referent: Prof. Dr. med. D. Patschan

Drittreferent/in:

Tag der mündlichen Prüfung: 08.12.2016

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Akute Lungenembolie	1
1.1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren	1
1.1.2 Symptomatik	3
1.2 Initiale Risikostratifizierung und Akut-Therapie	3
1.3 Weiterführende Risikostratifizierung und Therapie	4
1.4 Langzeitfolgen nach einer akuten Lungenembolie	7
1.4.1 Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie	8
1.5 Angiotensin II und ihre Funktion	10
1.6 Klinische Bedeutung von zirkulierendem Ang-2	14
1.7 Zielsetzung der Arbeit	15
2 Material und Methoden	17
2.1 Studienaufbau	17
2.1.1 Patienteneinwilligung, Ein- und Ausschlusskriterien	17
2.1.2 Studienablauf	17
2.1.3 Handhabung des Biomaterials	18
2.2 Bildgebende Verfahren zur Diagnosesicherung	19
2.3 Verfahren zur Risikostratifizierung	19
2.4 Bestimmung der Biomarker	20
2.4.1 Bestimmung der Standard-Laborparameter	20
2.4.2 NT-proBNP und hsTnT	21
2.4.3 Angiotensin II	21
3 Statistik	25
4 Ergebnisse	27
4.1 Beschreibung des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt der Aufnahme	27

4.2 Ang-2 bei Patienten mit akuter Lungenembolie	30
4.3 Ang-2 bei Lungenemboliepatienten mit RV-Dysfunktion	33
4.4 Prognostische Bedeutung von Ang-2-Plasmakonzentrationen	33
4.5 Prognostische Bedeutung von Ang-2 für Langzeitüberleben	37
4.6 Ang-2 als Prädiktor für die Diagnose einer CTEPH im Langzeitverlauf	40
5 Diskussion	45
5.1 Patienten mit akuter Lungenembolie haben erhöhte Ang-2-Konzentrationen	45
5.1.1 Ang-2 korreliert nicht mit der rechtsventrikulären Belastung bei Lungenembolie	46
5.1.2 Ang-2 hat keine prognostische Bedeutung in der Akutphase bei Lungenembolie	50
5.3 Ang-2 hat eine prognostische Bedeutung für das Langzeitüberleben	52
5.4 Ang-2 ist bei Lungenemboliepatienten mit einer CTEPH erhöht	54
6 Zusammenfassung	57
7 Literaturverzeichnis	59
8 Anhang	68
8.1 Abkürzungsverzeichnis	68
8.2 Abbildungsverzeichnis	70
8.3 Tabellenverzeichnis	71
8.4 Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie	72
8.5 Datenerfassungsbogen für das Pulmonary Embolism Registry Göttingen	75

1 Einleitung

1.1 Akute Lungenembolie

Die akute Lungenembolie stellt einen häufigen kardiovaskulären Notfall im medizinischen Alltag dar (Torbicki et al. 2008) und reiht sich hinter Herzinfarkt und Schlaganfall als die dritthäufigste Todesursache durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen ein (Goldhaber und Bounameaux 2012).

Definiert ist die akute Lungenembolie als Verschluss einer oder mehrerer Lungenarterien durch Einschweben von Thromben, seltener Lipiden, Luft oder anderem Fremdmaterial aus der venösen Blutbahn.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ausschließlich mit Lungenembolien thrombovenösen Ursprungs: Die gelösten Thromben stammen vorrangig aus dem Einzugsgebiet der Vena cava inferior und eher selten aus dem rechten Vorhof oder den Venen der oberen Extremitäten, wobei hier die Inzidenz durch das Vorhandensein von zentralen Venenkathetern, Herzschrittmachern oder implantierbaren Cardioverter-Defibrillatoren (ICD) zunimmt (Fauci et al. 2008).

1.1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren

Die Inzidenz der venösen Thromboembolie beträgt etwa 100 Fälle pro 100.000 Einwohner pro Jahr (Cohen et al. 2007; Heit 2008). Sie steigt mit dem Alter exponentiell an. In der Altersgruppe der über Achtzigjährigen kann von einer Inzidenz von ca. 500 pro 100.000 Einwohner ausgegangen werden (White 2003). Bei einem Drittel der Patienten mit einer symptomatischen venösen Thromboembolie manifestiert sich eine Lungenembolie und bei zwei Drittel eine tiefe Beinvenenthrombose (Fauci et al. 2008; White 2003).

In den USA werden ca. 300.000 Todesfälle pro Jahr durch Lungenembolien angegeben. Rechnet man die Daten von Frankreich, Deutschland, Spanien, Italien, Schweden und Großbritannien zusammen, sterben jährlich ca. 370.000 Menschen an einer Lungenembolie in Europa (Cohen et al. 2007; Fauci et al. 2008).

Etwa die Hälfte der Patienten mit einer Beckenvenenthrombose oder einer proximalen tiefen Beinvenenthrombose entwickeln eine Lungenembolie, welche jedoch in den meisten Fällen asymptomatisch verläuft (Fauci et al. 2008). Bei umgekehrter Betrachtung kann nur bei 50% der Patienten mit einer akuten Lungenembolie eine tiefe Beinvenenthrombose nachgewiesen werden (Fauci et al. 2008).

Die Risikofaktoren einer akuten Lungenembolie und einer tiefen Beinvenenthrombose sind identisch (Murin et al. 2002). Sie werden in Patienten-bedingte (unprovozierte) und Situations-bedingte (provozierte) eingeteilt. Die Patienten-bedingten Risikofaktoren sind meistens permanent, die Situations-bedingten eher zeitlich begrenzt und reversibel (Konstantinides et al. 2014). Diese Risikofaktoren können wiederum nach ihrer Bedeutung für die Entwicklung einer venösen Thromboembolie gewichtet werden. Dabei gibt das sogenannte Chancenverhältnis (Odds ratio) den Zusammenhang zwischen dem Risikofaktor und dem Auftreten einer venösen Thromboembolie in einer definierten Population wieder. Es erfolgt somit eine weitere Subsummierung in stark, moderat und schwach prädisponierende Faktoren (Rogers et al. 2012). Zu den stark prädisponierenden und Situations-bedingten Faktoren zählen unter anderem größere Operationen und Trauma. Beispiele für moderate, Patienten-bedingte Risikofaktoren sind eine maligne Grunderkrankung, Thrombophilie oder eine chronische Herzinsuffizienz. Bettruhe länger als drei Tage oder eine Immobilisierung durch lange Autofahrten oder Flugreisen werden zu den schwach prädisponierenden Risikofaktoren gezählt (Konstantinides et al. 2014; Walther et al. 2009).

Trotzdem kann nicht bei allen Patienten mit einer venösen Thromboembolie ein klarer Auslöser festgestellt werden. Dies trifft auf circa 25% der Patienten zu und in diesen Fällen spricht man von einem unprovozierten Ereignis (Anderson und Spencer 2003; Heit et al. 2002; Torbicki et al. 2008)

Zwar sind die Ursache und die Risikofaktoren von Lungenembolien und tiefen Beinvenenthrombosen identisch (Murin et al. 2002), jedoch gibt es Unterschiede in Hinblick auf

das Wiederholungsrisiko und die Mortalität: Betrachtet man das Wiederholungsrisiko einer Thromboembolie nach einer akuten Lungenembolie, so ist dieses dreimal höher als bei einem Patienten mit einer tiefen Beinvenenthrombose (Stein et al. 2004). Die Mortalität innerhalb des ersten Monats nach Auftreten einer tiefen Beinvenenthrombose beträgt ca. 6%. Die Letalität bei der akuten Lungenembolie ist abhängig vom klinischen Schweregrad der Lungenembolie und variiert zwischen 1-50% (Konstantinides et al. 2014).

1.1.2 Symptomatik

Die Symptomatik einer akuten Lungenembolie ist sehr vielseitig (Fauci et al. 2008): Die klinische Symptomatik ist nicht spezifisch für das Krankheitsbild der akuten Lungenembolie und kann somit die Diagnosestellung erheblich erschweren und verzögern. Vom völlig asymptomatischen Patienten und Zufallsbefund bis hin zum kardiogenen Schock und Reanimationspflichtigkeit kann sich eine Lungenembolie präsentieren. Häufige Symptome, die auf eine akute Lungenembolie hinweisen, sind unter anderem plötzlich neu auftretende Dyspnoe, pleuritische Thoraxschmerzen oder Husten. Seltener sind Synkopen, retrosternale Thoraxschmerzen, länger bestehende, eventuell zunehmende, Dyspnoe oder Hämoptysen (Miniati et al. 1999; Torbicki et al. 2008). Klinische Zeichen, welche mit der Lungenembolie assoziiert werden, sind zum Beispiel Tachykardie, Tachypnoe, Zeichen einer tiefen Beinvenenthrombose, Zyanose, Stauung der Halsvenen oder Fieber über 38°C (Miniati et al. 1999).

1.2 Initiale Risikostratifizierung und Akut-Therapie

Besteht der klinische Verdacht auf eine Lungenembolie, sollte entsprechend aktueller Leitlinien vorgegangen werden. Die 2014 veröffentlichten Leitlinien zu Diagnose und Management der Lungenembolie der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) sehen eine Unterteilung in hämodynamisch instabile und normotensive Patienten vor, um den jeweils geeigneten

Algorithmus zur Diagnosesicherung der Lungenembolie zu wählen (Konstantinides et al. 2014).
Hämodynamische Instabilität wird definiert als persistierende arterielle Hypotonie - systolischer Blutdruck <90 mmHg oder Abfall des systolischen Blutdrucks um >40 mmHg für >15 Minuten - oder als kardiogener Schock (Konstantinides et al. 2014).

Auch die Therapieentscheidung hängt von der Klassifizierung „Hochrisiko“- und „Nicht-Hochrisiko“-Patient ab. Ziel der Therapie der „Hochrisiko“-Patienten ist die schnellstmögliche Kreislaufstabilisierung und Entlastung des versagenden rechten Ventrikels. In dieser Gruppe ist neben der Gabe von unfraktioniertem Heparin die systemische Thrombolyse zur Reduktion der rechtsventrikulären Nachlast die Therapie der Wahl. Wenn eine systemische Thrombolyse kontraindiziert ist oder die Thrombolyse nicht den gewünschten Erfolg der Kreislaufstabilisierung erzielen kann, ist die Durchführung einer operativen Embolektomie möglich (Konstantinides et al. 2014).

Therapie der Wahl in der Akutphase ist bei hämodynamisch stabilen Patienten mit einer „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie die Gabe von niedermolekularem Heparin oder Fondaparinux in gewichtsadaptierter Dosierung. Unfraktioniertes Heparin sollte nur bei Patienten mit stark eingeschränkter Nierenfunktion und mit hohem Blutungsrisiko verwendet werden (Hach-Wunderle 2005; Konstantinides et al. 2014).

1.3 Weiterführende Risikostratifizierung und Therapie

Normotensive „Nicht-Hochrisiko“-Patienten sollten durch eine weiterführende Risikostratifizierung in Patienten mit „niedrigem“ und „intermediärem“ Risiko unterteilt werden. Die Unterscheidung in Patienten mit „intermediärem“ und Patienten mit „niedrigem“ Risiko erfolgt anhand eines klinischen, prognostischen Scores: Aufgrund der umfangreichen Datenlage (u.a. Testung in einer randomisierten Studie (Aujesky et al. 2011)) wird hierfür die Verwendung des „Pulmonary Embolism Severity Index“ (PESI) (Aujesky et al. 2005) oder auch seine vereinfachte Form, der „simplifizierte Pulmonary Embolism Severity Index“ (sPESI) (Jimenez et

al. 2010) (siehe Anhang 8.5) empfohlen. Enthalten im sPESI sind folgende Parameter: Alter >80 Jahre, Krebserkrankung (aktuell oder innerhalb der letzten sechs Monate), Herzinsuffizienz und/oder chronische Lungenerkrankung, Herzfrequenz $\geq 110/\text{min}$, systolischer Blutdruck $< 100\text{mmHg}$ und arterielle Sauerstoffsättigung $< 90\%$. Patienten mit einem sPESI < 1 werden als „Niedrig-Risiko“-Patienten klassifiziert. Das Risiko dieser Patienten, an einer Lungenembolie frühzeitig zu versterben, liegt bei $< 1\%$.

Patienten mit einem sPESI ≥ 1 werden als Patienten mit „intermediärem“ Risiko klassifiziert. Für Patienten mit „intermediärem“ Risiko wird eine stationäre Aufnahme und Monitoring empfohlen. Bei dieser Gruppe sollte eine weiterführende Risikostratifizierung in „Intermediär-Hochrisiko“ und „Intermediär-Niedrigrisiko“ erfolgen, da Patienten mit einem hohen „intermediären“ Risiko möglicherweise von einer Thrombolyse profitieren (Meyer et al. 2014).

Für diesen zweiten Schritt der Risikostratifizierung wird die Verwendung der transthorakalen Echokardiographie oder Computertomographie zur Beurteilung des rechten Ventrikels und für den Nachweis einer rechtsventrikulären (RV) Dysfunktion sowie die Bestimmung von kardialen laborchemischen Biomarkern empfohlen (Konstantinides et al. 2014). Der Nachweis einer RV-Dysfunktion in der Echokardiographie ist ein unabhängiger, prognostischer Marker für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage (Kucher et al. 2005). Kriterien für die Definition einer RV-Dysfunktion sind jedoch schwer zu standardisieren und werden deshalb in Kombination mit den kardialen Biomarkern N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid (NT-proBNP) und hoch sensitives Troponin T (hsTnT) und dem sPESI zur Risikostratifizierung von normotensiven Patienten mit akuter Lungenembolie verwendet (Konstantinides et al. 2014; ten Wolde et al. 2004). Echokardiographische Zeichen einer RV-Dysfunktion beinhalten rechter Ventrikel (RV) $>$ linker Ventrikel (LV) oder rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (RVEDD) $> 30\text{ mm}$, paradoxe Septumbewegung sowie Verlust des inspiratorischen Kollapses der Vena cava inferior (Puls et al. 2007). Computertomographisch werden die Dimension des RV

beschrieben und eine RV-Dysfunktion definiert als RV/LV-Verhältnis $\geq 0,9$ oder $\geq 1,0$ (Becattini et al. 2007).

Neben der Beurteilung der RV-Funktion stellt die Bestimmung laborchemischer Marker einen weiteren Bestandteil zur Risikostratifizierung hämodynamischer stabiler Patienten mit akuter Lungenembolie dar. Im Plasma des Patienten spiegelt die Erhöhung des brain-natriuretischen Peptids (BNP) oder des N-terminalen-pro brain-natriuretischen Peptids (NT-proBNP) die Volumenbelastung und erhöhte Wandspannung des rechten Ventrikels wider und hat prognostischen Stellenwert (Lankeit et al. 2014; Pieralli et al. 2006). Die kardialen Troponin I und Troponin T sind bei Vorliegen einer kardialen Ischämie erhöht und können - insbesondere bei Anwendung hochsensitiver Messverfahren - bei der Identifikation von Niedrigrisikopatienten hilfreich sein sowie Patienten mit intermediärem Risiko identifizieren (Becattini et al. 2007; Käberich et al. 2014; Lankeit et al. 2011; Meyer et al. 2014). Ein weiterer Marker für die frühe Schädigung des Myokards ist das heart-type fatty acid binding protein (H-FABP). Erhöhte H-FABP-Plasmakonzentrationen bei Lungenemboliepatienten haben sowohl eine prognostische Aussagekraft in der Akutphase als auch während der Langzeitbeobachtungen (Dellas et al. 2010; Dellas et al. 2014).

Bei Anzeichen einer hämodynamischen Dekompensation sollte eine Thrombolyse in Betracht gezogen werden (Konstantinides et al. 2014). Die Grundlage für diese Leitlinienempfehlung liefert die im April 2014 veröffentlichte „Pulmonary Embolism Thrombolysis“ (PEITHO) Studie (Meyer et al. 2014). In dieser Studie wurde gezeigt, dass die systemische Thrombolyse bei Patienten mit „intermediärem“ Risiko zwar den kombinierten Endpunkt (Tod oder hämodynamische Dekompensation innerhalb von 7 Tagen) reduzieren kann, jedoch ein hohes Risiko für die Entstehung einer schweren Blutung oder eines hämorrhagischen Schlaganfalls besteht. Daher wird die Thrombolyse nicht routinemäßig für normotensive Lungenemboliepatienten empfohlen (Konstantinides et al. 2014; Meyer et al. 2014).

Die Risikostratifizierung ermöglicht eine Therapieoptimierung zur Senkung der Letalität der normotensiven Patienten mit einer akuten Lungenembolie (Konstantinides et al. 2014; Walther et al. 2009). Tabelle 1 zeigt die Risikostratifizierung der normotensiven Patienten nach der Empfehlung der im August 2014 veröffentlichten Leitlinien zu Diagnose und Management der Lungenembolie der ESC.

Tabelle 1. Risikostratifizierung von „Nicht-Hochrisiko“-Patienten hinsichtlich eines frühzeitigen Versterbens an einer akuten Lungenembolie. Modifiziert nach den Leitlinien zu Diagnose und Management der Lungenembolie der ESC (Konstantinides et al. 2014, S. 3051).

Risiko für ein frühzeitiges Versterben	Risikofaktoren und Scores			
	häodynamische Instabilität	PESI-Klasse III-V / sPESI >1	RV-Dysfunktion im Echo / CT	kardiale Biomarker
Intermediär-hoch	-	+	+	+
Intermediär-niedrig	-	+	entweder beide negativ oder nur eins von beiden positiv	
Niedrig	-	-	-	-

1.4 Langzeitfolgen nach einer akuten Lungenembolie

Bei 70 bis 90% der Patienten normalisiert sich unter adäquater Antikoagulation die Funktion des rechten Ventrikels und der pulmonalarterielle Druck innerhalb des ersten Monats nach einer akuten Lungenembolie: auch die Thromben lösen sich in einem Zeitraum von sechs bis zwölf Monaten bei 70 bis 85% der Patienten auf (Klok et al. 2014). Trotzdem wurde festgestellt, dass Patienten nach einer akuten Lungenembolie häufig Einschränkungen ihrer körperlichen Leistungsfähigkeit aufzeigen und auch die Lebensqualität der Patienten vermindert ist (Klok et al. 2008; Klok et al. 2010b). Die schwerwiegendste Folge nach akuter Lungenembolie ist die Entwicklung einer chronisch thromboembolischen pulmonalen Hypertonie (CTEPH).

1.4.1 Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie

Die CTEPH ist eine seltene Form der pulmonalen Hypertonie (PH). Eine PH ist eine Sammelbezeichnung für Erkrankungen, die durch eine Erhöhung des mittleren pulmonalarteriellen Druckes auf ≥ 25 mmHg, gemessen durch eine Rechtsherzkatheteruntersuchung in Ruhe, gekennzeichnet sind (Galiè et al. 2015). Die PH wird abhängig von ihrer Ätiologie in fünf Gruppen eingeteilt (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2. Klinische Einteilung der pulmonalen Hypertonie modifiziert nach der Leitlinie der ESC (Galiè et al. 2015, S. 73).

Gruppe	Einteilung der pulmonalen Hypertonie
1	pulmonalarterielle Hypertonie (PAH)
2	pulmonale Hypertonie infolge Linksherzerkrankungen
3	pulmonale Hypertonie infolge Lungenerkrankungen und/oder Hypoxie
4	chronisch thromboembolische pulmonale Hypertonie und andere Obstruktionen der Pulmonalarterien
5	pulmonale Hypertonie mit unklarem oder multifaktoriellen Mechanismus

Die CTEPH zählt zur Gruppe 4 und hat ohne Therapie eine sehr schlechte Prognose (Simonneau et al. 2013). Aktuelle Daten aus verschiedenen Registern gehen von einer Inzidenz in der Gesamtbevölkerung von 5 Personen pro 1.000.000 Einwohner pro Jahr sowie von einer Prävalenz von 3-30 Fällen pro 1.000.000 Einwohnern aus (Kim et al. 2013; Lang et al. 2013; Wilkens et al. 2014). In einem großem internationalen CTEPH Register berichteten 74,8% der Patienten mit einer diagnostizierten CTEPH über eine frühere, symptomatische Lungenembolie und 56,1% über eine tiefe Beinvenenthrombose (Pepke-Zaba et al. 2011). Jedoch ist die Anzahl der Patienten, die nach einer akuten Lungenembolie eine CTEPH entwickeln, nicht eindeutig und variiert in der Literatur zwischen 0,6% (Klok et al. 2010a) und 8,8 % (Dentali et al. 2009).

Es wird jedoch angenommen, dass die CTEPH eine schwerwiegende Spätfolge einer akuten Lungenembolie oder wiederholten Thromboembolien ist (Lang et al. 2013). Dabei wird im arteriellen Gefäßbett der Lunge durch nicht vollständig organisierte und abgebaute Thromben ein proliferativer und fibrosierender Umbauprozess der pulmonalarteriellen Wand initiiert (Moser et al. 1990). Die Entstehung und die genauen molekularen Mechanismen der Gefäßumbauprozesse, die zu der Entwicklung einer CTEPH führen, sind noch nicht vollständig bekannt. Es wird jedoch vermutet, dass die Umbauprozesse zum einen durch Inflammation oder Infektion beeinflusst werden können (Lang et al. 2013), aber auch eine fehlgeleitete Angiogenese zur verzögerten Thrombusauflösung führt (Alias et al. 2014). Bei der CTEPH werden Teile der Lunge aufgrund dieser narbigen Obstruktion der Lungenarterien und komplexer Gefäßveränderungen pulmonaler Widerstandsgefäße schlechter und dafür nicht betroffene Areale stärker perfundiert. Es entsteht ein Ungleichgewicht der pulmonal-arteriellen Perfusion in der Lunge (Wilkins et al. 2014). Unbehandelt konnte in den 1980er Jahren nur ein 3-Jahresüberleben von etwa 50% bei Patienten mit einer CTEPH erreicht werden (Riedel et al. 1982). Heutzutage gibt es mit der pulmonalen Endarteriektomie (PEA) eine potentiell kurative Therapie für das Krankheitsbild der CTEPH (Condliffe et al. 2008; Lang et al. 2013). Bei der PEA wird das obstruktive Material intraluminal aus der Gefäßwand „geschält“ und somit eine Normalisierung der pulmonalen Perfusion ermöglicht. Dennoch sind nicht alle Patienten für eine PEA geeignet. Bei 37% der Patienten mit CTEPH ist eine PEA aufgrund vielfältiger Morbidität und peripherer Lokalisation der Obstruktion nicht möglich. Hier kommen zwei Therapieoptionen zum Tragen. Eine interventionelle Option ist die pulmonalen Ballonangioplastie (BPA), bei der ein Katheter in das verschlossene Lungengefäß vorgebracht und mittels Ballondilatation wiedereröffnet wird. Die Methode der BPA wird momentan selten in Europa durchgeführt, allerdings zeigt die bisherige (geringe) Datenlage eine niedrige Komplikationsrate sowie eine Verbesserung der Hämodynamik nach erfolgter Intervention (Andreassen et al. 2013; Inami et al. 2013). Eine andere Option stellt die medikamentöse Therapie dar. Ein Stimulator der löslichen Guanylat-

Cyclase namens Riociguat führt zu einer vasodilatatorischen sowie antiproliferativen Wirkung (Dumitrascu et al. 2006; Schermuly et al. 2008). Eine prospektiv randomisierte Studie zeigte bei CTEPH-Patienten mit einer medikamentösen Therapie mit Riociguat eine signifikante Verbesserung der körperlichen Belastbarkeit, die in Form eines sechs Minuten Gehtestes erhoben wurde, im Vergleich zu CTEPH-Patienten ohne Medikation (Ghofrani et al. 2013).

1.5 Angiopoietine und ihre Funktion

Angiopoietine zählen neben den Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF) und der Notch-Signalkaskade zu den wichtigsten Schlüsselregulatoren für das Wachstum und die Erhaltung von Blut und Lymphgefäßen (Davis et al. 2003; Maisonpierre et al. 1997; Suri et al. 1996; Thurston et al. 2000).

Angiopoietine sind eine Gruppe von Wachstumsfaktoren und entfalten ihre Wirkung über den endothelspezifischen Tyrosin-Kinasen-Rezeptor Tie2. Beschrieben wurde dieses endotheliale Angiopoietin-Tie2-System erstmals 1996 (Davis et al. 1996). Die Wirkung der beiden wichtigsten Liganden Angiopoietin-1 (Ang-1) und Angiopoietin-2 (Ang-2) wurden im Rahmen der Angio- und Vaskulogenese erforscht. Dabei wurde gezeigt, dass eine intakte Angiopoietin-Tie2-Signalkaskade lebensnotwendig für die Entwicklung eines Embryos ist (Maisonpierre et al. 1997; Suri et al. 1996): Erste Erkenntnisse über die Rolle der Angiopoietin-Tie2-Signalkaskade wurde mittels „Loss of function“ Experimente erforscht. Hierbei betrachtete man Knockout Mäuse, denen entweder das Gen für Tie2 oder Ang-1 fehlte. Beide Phänotypen starben in frühen embryonalen Entwicklungsphasen mit erheblichen Defekten des kardiovaskulären Systems (Dumont et al. 1994; Suri et al. 1996). In Ang-2-defizienten Mäusen zeigte sich zunächst eine relativ normaler Phänotyp trotz fehlendes Ang-2-Genes (Gale et al. 2002). Allerdings entwickelten die Ang-2-defizienten Mäuse kurz nach der Geburt einen chylösen Aszites sowie eine ausgeprägte Ödembildung, welche bei einem Großteil der Tiere nach 14 Tagen zum Tod führte. Des Weiteren zeigten Analysen, dass das fehlende Ang-2 in der Retina zu deutliche

Defekte in der Angiogenese führt (Gale et al. 2002). Ebenso stellte man fest, dass Ang-2-defiziente Mäuse nicht in der Lage waren eine adäquate inflammatorische Antwort in einem Infektionsmodell hervorzurufen. In diesem Zusammenhang scheint Ang-2 Leukozyten Adhäsion sowie Transmigration zu beeinflussen (Fiedler und Augustin 2006).

Neben „Loss of function“ Modellen ergaben „Gain of function“ Experimente weitere wichtige Einblicke in die Bedeutung des Angiopoietin-Tie2-Systems. In diesen Modellen wird über eine Überexpression des gewünschten Genes die Wirkungsweise erforscht. Eine Überexpression von Ang-1 führte zu einer ausgeprägten Angiogenese sowie zu einer Stabilisierung der Gefäßfunktion im Sinne einer Abnahme von Permeabilität bei inflammatorischen Stimuli (Suri et al. 1996; Thurston et al. 2000). Eine Überexpression von Ang-2 zeigte einen ähnlichen Phänotyp wie bei Ang-1-defizienten Mäusen, insbesondere die Unterbrechung der Entstehung neuer Blutgefäße führte bei beiden Ansätzen zu einem frühen Absterben des Embryos. Dadurch konnte die antagonistische Wirkung von Ang-2 auf Ang-1 erstmals beschrieben werden (Maisonpierre et al. 1997; Suri et al. 1996). Es stellte sich somit heraus, dass die Funktion des Angiopoietin-Tie2-Systems nicht in die beginnende Vaskulogenese - Neubildung von Blutgefäßen aus Angioblasten - einzuordnen ist, sondern eine bedeutende und kritische Funktion in der Angiogenese - Entstehung neuer Blutgefäße aus bereits bestehenden Blutgefäßen - spielt (Dumont et al. 1994; Suri et al. 1996).

Der transmembranäre Rezeptor Tie2 weist eine extrazelluläre, ligandenbindende Domäne und eine intrazelluläre Tyrosin-Kinase auf; die Bindungsstelle des Tie2-Rezeptors ist zusammengesetzt aus zwei Immunglobulin (Ig)-ähnlichen Domänen gefolgt von drei Endothelial Growth Factor (EGF) Domänen, einer weiteren Immunglobulin-ähnlichen Domäne und drei Fibronectin Typ III-Domänen (Augustin et al. 2009). Gebunden wird der C-Terminus der Angiopoietine an der zweiten Ig-ähnlichen Domäne (Fiedler et al. 2003) (siehe Abbildung 1).

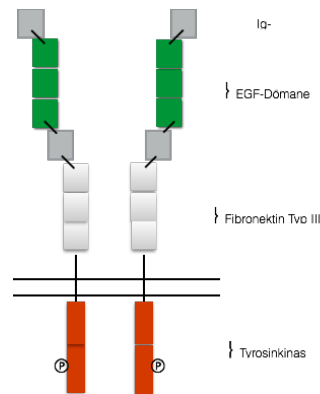


Abbildung 1. Aufbau des Tie-2-Rezeptors. Modifiziert nach einem Übersichtsartikel von Augustin et al. 2009. Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.

Ang-2 ist ein 75-kDa schweres Molekül, bestehend aus 496 Aminosäuren mit einem coiled-coil N-Terminus und einem C-Terminus (Maisonpierre et al. 1997) (Abbildung 2). Der Genlocus des Proteins befindet sich beim Menschen auf Chromosom 8 an der Stelle p23.1 (Cheung et al. 1998; Nusbaum et al. 2006). Ang-1 ist ebenfalls ein 75-kDa schweres Molekül, bestehend aus 498 Aminosäuren: das Gen ist lokalisiert auf Chromosom 8q23.1 (Davis et al. 1996; Nusbaum et al. 2006).

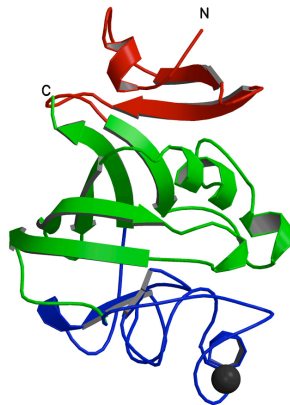


Abbildung 2. Dreidimensionale Tertiärstruktur von Ang-2 (Barton et al. 2005). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.

Die Aminosäuresequenzen von Ang-1 und Ang-2 sind zu ca. 60% identisch (Maisonpierre et al. 1997). Beide Proteine konkurrieren um die extrazelluläre Domäne des Tie2-Rezeptors und

binden diesen mit ihrem C-Terminus mit gleicher Affinität an die selbe Bindungsstelle (Fiedler et al. 2003; Maisonpierre et al. 1997; Valenzuela et al. 1999).

Hinsichtlich Synthese und Freisetzung unterscheiden sich die beiden Angiopoietine: Ang-1 wird kontinuierlich von Perizyten der Gefäßwand sowie von glatten Gefäßmuskelzellen produziert und an das benachbarte Endothel freigegeben (Fiedler et al. 2003; Suri et al. 1996). Bindet das parakrin freigesetzte Ang-1 an den Tie2-Rezeptor, wird durch Phosphorylierung des Rezeptors eine Signalkaskade aktiviert, um den Ruhezustand und die Zellintegrität der Endothelzelle aufrechtzuerhalten (Davis et al. 1996; Suri et al. 1996; Thurston et al. 2000).

Ang-2 hingegen wird zu einem großen Anteil vom Endothel selbst produziert und in kleinen granulären Vesikeln im Zytoplasma in der Endothelzelle, den sogenannten Weibel-Palade-Körperchen, gespeichert (Fiedler et al. 2004). Durch Stimuli, wie zum Beispiel Thrombin oder Histamin, können die Vesikel schnell freigegeben werden (Fiedler et al. 2004). Fiedler et al. entdeckten 2004 diesen Speicher-Mechanismus und beschrieben, dass Ang-2 zusammen mit dem von-Willebrand-Faktor (vWF) in den Weibel-Palade-Körperchen verpackt, gespeichert und ausgeschüttet wird. Die Halbwertszeit von >16 Stunden ist für Ang-2 durch diese Art der Speicherung relativ lang: nach Stimulation erfolgt zudem ein rasches Wiederauffüllen der Speicher (Fiedler et al. 2004).

Auf Ebene der Genexpression wird die Translation von Ang-2 durch verschiedene Einflüsse gefördert. Darunter zählt unter anderem Hypoxie, Scherspannungen und VEGF (Mandriota et al. 2000; Oh et al. 1999).

Initial wurde angenommen, dass die physiologische Funktion von Ang-2 nur darin bestünde, die protektive Wirkung von Ang-1 durch Dephosphorylierung des Tie2-Rezeptors zu antagonisieren (Maisonpierre et al. 1997; Tsigkos et al. 2006). Inzwischen ist jedoch bekannt, dass Ang-2 sowohl die Endothelzell-Migration, Proliferation und Entstehung neuer Blutgefäße fördern kann als auch zu einer Destabilisierung der Zell-zu-Zell-Kontakte und Zelltod der Endothelzelle führt (Lobov et al. 2002; Maisonpierre et al. 1997).

1.6 Klinische Bedeutung von zirkulierendem Ang-2

Erhöhte Spiegel von im Plasma zirkulierendem Ang-2 wurden bereits in verschiedenen Krankheitsbildern beobachtet. So zeigten David et al., dass Ang-2-Spiegel parallel zur Verschlechterung der Nierenfunktion ansteigen und stellten somit die Hypothese auf, dass hohe Ang-2-Plasmakonzentrationen die Empfindlichkeit vom Endothel gegenüber Cytokinen und Wachstumsfaktoren steigern. Außerdem wird vermutet, dass Ang-2 als „Entzündungs-Sensitizer“ zu Mikrogefäßentzündungen und Kapillarleck führt und so zur Entstehung einer chronischen Niereninsuffizienz beiträgt (David et al. 2010). In einer Beobachtungsstudie an Intensivpatienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock zeigten David et al., dass im Vergleich zu gesunden Kontrollen die medianen Ang-2-Serumspiegel mit zunehmender Erkrankungsschwere ansteigen und dass sich Ang-2 am Aufnahmetag als einziger unabhängiger Prädiktor für die 28-Tage-Mortalität erwies (David et al. 2013). Link et al. untersuchten Ang-2-Plasmakonzentrationen bei Patienten mit kardiogenem Schock. Ang-2 stellte sich als unabhängiger Prädiktor sowohl für ein Versterben innerhalb der ersten 28 Tage als auch für die 1-Jahres-Mortalität heraus (Link et al. 2013).

Verschiedene Studien haben sich mit der Bedeutung von Tie2 und Angiopoietinen im Zusammenhang mit der pulmonalarteriellen Hypertension beschäftigt und herausgefunden, dass eine fehlerhafte Aktivierung der Tie2-Signalkaskade an der Entwicklung einer PAH beteiligt sein kann (Chu et al. 2004; Du et al. 2003; Sullivan et al. 2003; Teichert-Kuliszewska et al. 2006). Der komplexe Zusammenhang der fehlgeleiteten Angiogenese kann noch nicht vollständig erklärt werden (Kümpers et al. 2010). Daher untersuchten Kümpers et al. bei einer Patientenkohorte mit idiopathischer pulmonalarterieller Hypertonie (IPAH) sowohl zirkulierendes Ang-1 und Ang-2 als auch den löslichen Tie2-Rezeptor (soluble Tie2, sTie2) (Kümpers et al. 2010). Da eine Überexpression von Ang-1 in Ratten einen PAH-ähnlichen Phänotyp zur Folge hatte (Chu et al. 2004) und eine gesteigerte Proliferation von glatten Muskelzellen in Pulmonalarterien durch eine abnorme Tie2 Aktivierung an der Entwicklung

einer PAH beteiligt ist (Du et al. 2003; Sullivan et al. 2003), legten Kämpers et al. ihr Augenmerk zunächst auf Ang-1 als Marker für den Schweregrad der Erkrankung. Im Gegensatz zur Ursprungshypothese zeigten die Analysen jedoch, dass Ang-2 - und nicht Ang-1 oder Tie2 - mit der Hämodynamik und Funktionsparametern (Herzindex, pulmonalvenöser Widerstand und gemischt venöser Sauerstoffsättigung (SvO₂)) bei IPAH-Patienten korreliert. Verringerung in der Ang-2-Plasmakonzentration ging nach Therapiebeginn sowohl mit einer Verbesserung des mittleren rechtsatrialen Druckes als auch mit einer Verbesserung der zentralvenösen Sauerstoffsättigung einher. Außerdem stellte sich eine erhöhte Ang-2-Plasmakonzentration als unabhängiger Risikofaktor für die Mortalität heraus. Die Autoren schlussfolgern, dass Ang-2 möglicherweise zur Entwicklung einer IPAH beitragen kann und dass zirkulierendes Ang-2 als neuer Biomarker für die Krankheitsschwere der IPAH-Patienten und das Ansprechen der Patienten auf die Therapie verwendet werden könnte (Kämpers et al. 2010).

1.7 Zielsetzung der Arbeit

Trotz der großen Anzahl von veröffentlichten Kohortenstudien und der kürzlichen Publikation zweier Leitlinien-relevanter randomisierter Therapiestudien (Aujesky et al. 2011; Meyer et al. 2014) stellt die Optimierung der Risikostratifizierung von normotensiven „Nicht-Hochrisiko“-Lungenemboliepatienten und Definition der optimalen Therapie weiterhin eine klinische Herausforderung dar. Die besondere Herausforderung liegt dabei in der Identifikation der Patientensubgruppe, die ein besonders hohes (intermediär-hohes) Risiko für Lungenemboliebedingte Komplikationen haben und daher von einer aggressiveren Therapie (beispielsweise mittels systemischer Thrombolyse) profitieren würden (Konstantinides et al. 2014). Obwohl in der PEITHO-Studie eine relative Risikoreduktion von über 50% für das Erreichen des primären Endpunktes (Tod oder hämodynamischer Kollaps nach 7 Tagen) durch die Gabe einer thrombolytischen Therapie mit Tenecteplase beobachtet werden konnte (im Vergleich zu

Plazebo), ist die Komplikationsrate von 5,6% im Plazebo-Arm verglichen mit der in aktuellen Kohortenstudien eher gering.

Beispielsweise wurde für einen neu entwickelten Score - bestehend aus systolischem Blutdruck zwischen 90 und 100 mmHg, Tachykardie, Erhöhung von Troponin-Plasmakonzentrationen und Nachweis einer RV-Dysfunktion - bei normotensiven Patienten mit akuter Lungenembolie eine Komplikationsrate von 29,2% in der Hochrisikogruppe beobachtet (Bova et al. 2014). Somit besteht weiterhin die Notwendigkeit einer Optimierung der Risikostratifizierung, insbesondere zur verbesserten Identifikation der Patientensubgruppe mit intermediär-hohem Risiko. Neben der Entwicklung von Kombinationsmodellen und klinischen Scores wie beispielsweise dem oben genannten Bova-Score (Bova et al. 2014) oder dem FAST-Score (Dellas et al. 2014; Hobohm et al. 2016) ist die Untersuchung von neuen Biomarkern mit bisher unbeachteten pathophysiologischen Freisetzungsmechanismen oder Funktionen von besonderem Interesse. Als Antagonist der Endothel-protektiven und Gefäß-stabilisierenden Wirkung von Ang-1 stellt Ang-2 einen derartigen neuen Biomarker dar. Darüber hinaus korrelieren zirkulierende Plasmakonzentrationen von Ang-2 mit dem Ausmaß der chronischen Rechtsherzbelastung bei IPAH (Kümpers et al. 2010).

Zirkulierendes Ang-2 wurde bei Patienten mit akuter Lungenembolie zuvor noch nicht gemessen und beschrieben. Daher bestand die Hypothese der vorliegenden Arbeit darin, dass zirkulierende Ang-2-Plasmakonzentrationen mit dem Ausmaß der akuten RV-Dysfunktion bei Patienten mit Lungenembolie korrelieren und prognostische Aussagekraft hinsichtlich eines komplizierten Verlaufes innerhalb der ersten 30 Tage nach akuter Lungenembolie haben. Darüber hinaus bestand ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit darin, die Bedeutung von zirkulierenden Ang-2-Plasmakonzentrationen in Hinblick auf den Langzeitverlauf (Langzeitmortalität und Entwicklung einer CTEPH) nach akuter Lungenembolie zu untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Studienaufbau

Insgesamt wurden 182 Patienten mit bestätigter akuter Lungenembolie an der Universitätsmedizin Göttingen innerhalb des Erfassungszeitraumes von Oktober 2005 bis September 2012 in diese prospektive, monozentrische, beobachtende Kohortenstudie eingeschlossen. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universitätsmedizin Göttingen genehmigt (Antragsnummer: 14/6/10).

2.1.1 Patienteneinwilligung, Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten ≥ 18 Jahre mit einer symptomatischen akuten Lungenembolie, die schriftlich der Teilnahme an der Studie zugestimmt haben. Hierzu wurden die Patienten bzw. der gesetzliche Betreuer mündlich und schriftlich über den Ablauf, Nutzen und Risiko der Studie aufgeklärt (siehe Anhang 8.4). Ausgeschlossen wurden die Patienten, bei denen die Lungenembolie ein Zufallsbefund war und bei denen keine Einwilligung oder die Rücknahme der Einwilligung zur Studienteilnahme erfolgte.

2.1.2 Studienablauf

Die Patienten mit Verdacht auf oder schon bestätigter akuter Lungenembolie wurden durch tägliches Screenen auf der Notaufnahme, den kardiologischen Stationen und des Radiologischen Zentrums (Computertomographie) der Universitätsmedizin Göttingen für diese Studie ausfindig gemacht. Bei Verdacht auf eine akute Lungenembolie erfolgte die Diagnosestellung in Übereinstimmung mit den Empfehlungen aktueller Leitlinien durch den betreuenden Arzt. Alle Entscheidungen zu Diagnostik und Therapie wurden durch das Studienprotokoll nicht beeinflusst und oblagen der Verantwortung des behandelnden Arztes (siehe Kapitel 1.2).

Patientendaten und -informationen wurden anhand einer ausführlichen Anamnese und mittels eines standardisierten Fragebogens durch den Studienbetreuer und durch Einsicht in die Patientenakte erfasst und anonymisiert gespeichert (siehe Anhang 8.5).

Für die Ermittlung des klinischen Langzeitverlaufes wurden Beobachtungsdaten einer klinischen Nachuntersuchung nach sechs Monaten in der kardiologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Göttingen oder durch einen niedergelassenen Kardiologen erfasst. Im letzten Fall wurden die Ergebnisse der Untersuchung durch einen Anruf bei dem betreuenden Hausarzt erfragt. Eine der wichtigsten Fragen war, ob eine CTEPH neu diagnostiziert worden ist. Die Diagnose der CTEPH erfolgte in Übereinstimmung mit aktuellen Leitlinien (Galiè et al. 2009).

Das Langzeitüberleben der Patienten wurde durch Kontaktieren der jeweiligen Einwohnermeldeämter ermittelt. Die Todesursache wurde entweder durch Anruf bei dem behandelnden Hausarzt oder Einsicht in die Patientenakte (bei Exitus letalis während der stationären Behandlung an der Universitätsmedizin Göttingen) ermittelt.

2.1.3 Handhabung des Biomaterials

Nach schriftlicher Einwilligung in die Studie wurden venöse Blutproben der Patienten zum Zeitpunkt der Aufnahme (t0h) von der Abteilung Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen bereitgestellt. Dabei handelte es sich um Rückstellproben der in der klinischen Routine erfolgten Blutentnahme, die durch den Studienbetreuer in Aliquots (250 μ l Plasma pro Aliquot) abpipettiert wurden. Darüber hinaus wurde eine venöse Blutentnahme 24 Stunden nach Aufnahme (t24h) durch den Studienbetreuer durchgeführt. Das venöse Vollblut wurde in Lithium-Heparin-Gel-Monovetten der Firma Sarstedt abgenommen und für 10 Minuten in stehender Position gelagert. Anschließend wurden die Monovetten 11 Minuten bei 1600g und einer Drehzahl von 3200 pro Minute zentrifugiert.

Erfolgte eine Untersuchung der Patienten nach sechs Monaten an der Universitätsmedizin Göttingen in der kardiologischen Ambulanz, wurde das venöse Plasma ebenfalls aus

Rückstellproben abpipettiert (t6m). Das gewonnene Material von allen drei Zeitpunkten wurde nach dem Pipettieren beschriftet, bei -80°C eingefroren und für spätere Analysen aufbewahrt.

2.2 Bildgebende Verfahren zur Diagnosesicherung

Die Bestätigung der Verdachtsdiagnose akute Lungenembolie erfolgte gemäß den Empfehlungen und Algorithmen aktueller Leitlinien (Torbicki et al. 2008).

Der Goldstandard zur Diagnosesicherung ist heutzutage die Multidetektor-Computertomographie-Pulmonalisangiographie mit Kontrastmittel. Wenn die Durchführung einer Computertomographie aufgrund beispielsweise einer hämodynamischen Instabilität des Patienten, schwerer Niereninsuffizienz, Hyperthyreose oder einer Kontrastmittelallergie nicht möglich war, wurde der Nachweis eines (oder mehrerer) Perfusionsdefektes in der kombinierten Ventilations-/Perfusionsszintigraphie mit Technetium -99m als radioaktivem Marker als Bestätigung der Verdachtsdiagnose Lungenembolie akzeptiert. Des Weiteren wurden die Pulmonalisangiographie und bei hämodynamisch instabilen Patienten der Nachweis einer akuten Rechtsherzbelastung, Nachweis von intrakardialen Thromben im rechten Atrium oder Ventrikel oder in der Arteria pulmonalis in der Echokardiographie als Bestätigung der Verdachtsdiagnose Lungenembolie akzeptiert.

2.3 Verfahren zur Risikostratifizierung

Zur weiteren Risikostratifizierung der normotensiven Patienten wurde für die aktuelle Studie eine RV-Dysfunktion in der Echokardiographie definiert als RV Dilatation (RV > LV im apikalen oder subkostalen Vierkammerblick oder RVEDD >30 mm im parasternalen Blick) kombiniert mit Hypertonie des rechten Atriums (Verlust des inspiratorischen Kollaps der Vena cava inferior) nach Ausschluss von relevanten linksventrikulären oder Mitralklappen-Erkrankungen (Puls et al. 2007).

Als Patienten mit intermediärem Risiko wurden diejenigen definiert, bei denen Zeichen der RV-Dysfunktion in der transthorakalen Echokardiographie oder eine Dilatation des rechten Ventrikels in der Computertomographie nachgewiesen wurde oder die Plasmakonzentrationen der etablierten kardialen Biomarker NT-proBNP oder hsTnT erhöht waren. Prospektiv wurde eine hsTnT-Plasmakonzentration von 14 pg/ml (Lankeit et al. 2011) und eine NT-proBNP-Plasmakonzentration von 600 pg/ml (Lankeit et al. 2014) als prognostisch relevanter Cut-Off-Wert definiert.

2.4 Bestimmung der Biomarker

2.4.1 Bestimmung der Standard-Laborparameter

Die Bestimmung von Routine-Laborparameter der Patienten mit akuter Lungenembolie zum Zeitpunkt der Aufnahme und nach sechs Monaten erfolgte unabhängig von der Teilnahme an der Studie durch die Abteilung Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen.

Zur Errechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) wurde Kreatinin mit einem enzymatischen Farb-Test in Blutproben des Patienten mit einem klinisch-chemischen Analyseautomaten der Firma Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Deutschland) gemessen. Die GFR wurde unter Verwendung der „Modification of Diet in Renal Disease study equation“ (MDRD) bestimmt. Eine Niereninsuffizienz wurde definiert als eine GFR <60 ml/min/1,73 m² Körperoberfläche (National Kidney 2002).

Die Bestimmung der Laborparameter nach 24 Stunden wurden im Rahmen der Routinediagnostik von der Abteilung Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen oder im Rahmen der Studie vom Labor Wagner-Stibbe in Göttingen durchgeführt.

2.4.2 NT-proBNP und hsTnT

Die kardialen Biomarker hsTnT und NT-proBNP sind etablierte Biomarker zur Risikostratifizierung von normotensiven Patienten mit akuter Lungenembolie. Die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von hsTnT und NT-proBNP erfolgte im Rahmen der klinischen Routinediagnostik oder - falls eine Bestimmung nicht erfolgt war - nach Abschluss der Studie aus den tiefgefrorenen venösen Plasmaproben zu allen drei Zeitpunkten durch die Abteilung Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen und das Labor Wagner-Stibbe in Göttingen. Die laborchemischen Messungsverfahren basieren auf einem elektrochemischen Lumineszenz-Immunoassay (ECLIA) und wurden mit dem vollautomatischen Analysegerät Elecsys® 2010 von Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Deutschland) gemessen.

2.4.3 Angiotensin-2

Die Konzentrationen von zirkulierenden Ang-2 Plasmaspiegeln wurde in Kooperation mit dem Universitätsklinikum Münster (Prof. Dr. med. Philipp Kumpers und Dr. med. Alexander Lukasz) gemessen. Ang-2-Plasmakonzentrationen wurden nach Abschluss der Studie in den tiefgefrorenen venösen Plasmaproben zu allen drei Zeitpunkten (siehe Kapitel 2.1.3) mithilfe eines Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) der Firma R&D Systems (Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland) bestimmt.

Die verwendete Methode zur Antigen-detektion ist ein sogenannter Sandwich-ELISA. Hierfür wird jedes Well einer Mikrotiterplatte mit einem Antikörper (Antikörper-1) beschichtet. Als nächstes wird das Antigen, in unserem Fall das in den Plasmaproben der Patienten enthaltene Ang-2, hinzugeben. Das Antigen bindet spezifisch an die Antikörper auf der Mikrotiterplatte. Als nächster Schritt wird ein sekundärer Antikörper (Antikörper-2) ergänzt, der das Antigen an ein anderes Epitop bindet. Diese Konstruktion ähnelt einem Sandwich, da das Antigen zwischen den beiden Antikörpern haftet, und gibt der Methode ihren Namen. Um jedoch die Konzentration des Antigens messen zu können, ist der sekundäre Antikörper an ein Enzym gekoppelt. Mithilfe

eines Substrats wird eine Enzymreaktion ausgelöst, die einen Farbumschlag bewirkt. Dieser Farbumschlag korreliert mit der Menge des Antigens. Die Absorption kann nun in einem Spektrometer gemessen und die Konzentration von Ang-2 mit Hilfe einer Standardkurve ermittelt werden.

In Tabelle 3 sind die verwendeten Lösungen mit ihrer Zusammensetzung aufgelistet und im Folgenden wird der genaue Versuchsablauf zur Bestimmung der Ang-2-Konzentrationen beschrieben.

Tabelle 3. Verwendete Lösungen mit ihrer Zusammensetzung.

Verwendete Pufferlösung im Versuch	Zusammensetzung	pH
Assaybuffer 1	30 g/l BSA (bovine serum albumin) 10 g/l bovinem IgG 1% Ziegenserum 0,1% Natriumazid (NaN ₃) 1 mol/l Natriumchlorid (NaCl) 40 mmol/l Natriumphosphat (Na ₃ PO ₄)	7,4
Assaybuffer 2	0,5% BSA (bovine serum albumin), 1% Mausserum, 0,15 mol/l Natriumchlorid (NaCl) 40 mmol/l Natriumphosphat (Na ₃ PO ₄) 0,1% Thimerosal	7,4
Natriumcarbonat-Puffer	0,1 mol/l Natriumcarbonat Lösung	9,5
PBST (Phosphat-gepufferte Salzlösung mit 0.05% Tween®20)	137 mmol/l NaCl 2,7 mmol/l KCl 10 mmol/l Na ₂ HPO ₄ 1,8 mmol/l KH ₂ PO ₄ H ₂ O	7,4
Citrat-Puffer	0,1 mmol/l C ₆ H ₈ O ₇ x H ₂ O 0,1 mmol/l NaC ₃ H ₅ O ₇ x 2 H ₂ O H ₂ O	6
Substratlösung	10 mg Tetramethylbenzidin gelöst in 10 ml von 0,1 mmol/l Citratpuffer mit H ₂ O ₂ 4 µl	5

Die Wells der ELISA-Platten von der Firma Nunc Maxisorb (Roskilde, Dänemark) wurden über Nacht bei 4°C mit 2 µg/ml monoklonalem Ang-2 Antikörper, der in 0,1 M Natriumcarbonat Lösung gelöst wurde, beschichtet. Am nächsten Morgen wurden die Platten durch dreimaliges Waschen mit 300 µl PBST gereinigt und so überschüssige, nicht gebundene Bestandteile entfernt.

50 µl des Patienten-Plasmas wurden dann 1:1 im Assaybuffer 1 gelöst, in die Wells gefüllt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur (RT) auf einem Horizontalschüttler inkubiert. Ang-2 wurde in diesem Schritt an den Antikörper-1 gebunden. Überschüssige Plasmabestandteile wurden durch dreimaliges Waschen der Platten mit PBST entfernt.

Zu jedem Well wurden dann 100 µl vom Assaybuffer 2, der 1 µg/ml des sekundären biotinylierten Antikörper gegen Ang-2 enthielt, hinzugefügt und für 4 Stunden bei RT inkubiert. Der enzymgekoppelte Antikörper bindet in diesem Schritt Ang-2 an ein anderes Epitop und bildet das so genannte Sandwich.

Durch einen weiteren Waschschrift, der dreimal wiederholt wurde, wurden auch hier die ungebunden Bestandteile entfernt. 100 µl in Assaybuffer 2 gelöstes Streptavidin wurde in die Vertiefungen pipettiert und es folgte eine weitere Inkubation für 20 Minuten bei RT. Die letzten drei Waschschriffe folgten. Das Streptavidin, ein bakterielles Protein, bindet das an die Antikörper gebundene Biotin und dient zur Signalverstärkung.

Anschließend wurden 100 µl Substratlösung hinzugegeben. Während dieser Inkubation läuft die enzymatische Reaktion ab, und sie erfolgt proportional zur Menge des in den Proben vorhandenen Ang-2. Die Reaktion wurde nach 15 Minuten durch 50 µl 1M Schwefelsäure (H₂SO₄) gestoppt. Mithilfe eines Mikroplate-Readers (Tecan spectra mini) der Firma Tecan (Crailsheim, Deutschland) wurde die Wellenlänge bei 450 nm gemessen.

Um die Standardkurve zu erstellen und so die Ang-2-Konzentrationen zu bestimmen, wurden die Absorptionswerte gegen die korrespondierende Konzentration der definierten Standards aufgetragen. Die Einheit, in der Ang-2 angegeben wird, ist ng/ml (Lukasz et al. 2008). Δ Ang-2

wurde für die Analysen aus der Differenz von den Ang-2-Konzentrationen bei Aufnahme und den Ang-2-Konzentrationen nach 24 Stunden berechnet.

2.5 Definition der klinischen Endpunkte

Der primäre Endpunkt der Studie wurde definiert als Komplikationen innerhalb der ersten 30 Tage der akuten Phase der Lungenembolie; Komplikationen wurden definiert als Katecholaminpflichtigkeit (ausgenommen Dobutamin bis maximal $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), Notwendigkeit zur endotracheale Intubation und maschinellen Beatmung, Notwendigkeit der kardiopulmonalen Reanimation oder Tod jeglicher Ursache.

Zur Betrachtung des Langzeitverlaufes nach akuter Lungenembolie wurde der sekundäre Endpunkt als Tod jeglicher Ursache während der Langzeitbeobachtungsperiode definiert. Die Diagnose einer CTEPH wurde als tertiärer Endpunkt festgelegt.

3 Statistik

Die statistischen Analysen wurden mithilfe der SPSS Software (Versionen 21.0, 22.0 und 23.0; Chicago, Illinois, USA) durchgeführt.

Der Kolmogorov-Smirnov-Test (Lilliefors-Test) wurde verwendet, um kontinuierliche Variablen auf das Vorliegen einer Normalverteilung zu testen. Da sie keiner Normalverteilung folgten, wurden die Ergebnisse als Median mit Angabe der 25. und 75. Perzentile dargestellt und mittels Mann-Whitney U-Test verglichen. Abhängig von der Subgruppengröße wurde zum Vergleich der kategorialen Variablen entweder der exakte Fisher-Test oder der Chi-Quadrat-Test verwendet. Um die Stärke des Zusammenhangs von relevanten Variablen zu bestimmen, wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho berechnet. Eine Korrelation $>0,6$ wurde als starker Zusammenhang gewertet (Evans 1996).

Für die Beurteilung der prognostischen Relevanz von Ang-2 bezogen auf die verschiedenen Endpunkte der Studie wurden univariable logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden als Odds Ratios (OR) mit dem korrespondierenden 95% Konfidenzintervall (KI) dargestellt. Zur Berechnung der Fläche unter der Kurve (area under the curve (AUC)) für Ang-2 bezogen auf die verschiedenen Endpunkte der Studie wurden Receiver operating characteristics (ROC) Analysen durchgeführt. Der optimale Cut-Off-Wert wurde mittels des Youden-Index kalkuliert. Etablierte prognostische Marker und die kalkulierten Ang-2 Cut-Off-Werte wurden durch die Berechnung von Sensitivität, Spezifität, positiv prädiktivem Wert (PPW) und negativ prädiktivem Wert (NPW) verglichen.

Zur Analyse des Langzeitüberlebens wurden Cox-Regressionsanalysen verwendet und die Ergebnisse als Hazard Ratio (HR) mit dem korrespondierenden 95%-KI angegeben. Auf der Basis des errechneten Cut-Off-Wertes für Ang-2 zum Zeitpunkt der Aufnahme in Hinblick auf Langzeitüberleben wurde die Überlebensrate mittels Kaplan-Meier-Analyse ermittelt, mittels Log-rank Test verglichen und als Überlebenskurve dargestellt.

Alle durchgeführten Tests waren zweiseitig und das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha < 0,05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Beschreibung des Patientenkollektivs zum Zeitpunkt der Aufnahme

Insgesamt wurden 182 Patienten mit bestätigter symptomatischer akuter Lungenembolie, die in einem Zeitraum von Oktober 2005 bis September 2012 in der Universitätsmedizin Göttingen behandelt wurden, in die Studie eingeschlossen. Das Patientenkollektiv setzte sich aus 81 (44,5%) Männern und 101 (55,5%) Frauen zusammen. Das mediane Alter lag bei 68 (25. bis 75. Perzentil: 52 bis 77) Jahren.

Zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose Lungenembolie wurden folgende Verfahren allein oder in Kombination eingesetzt: 157 (86,2%) Patienten erhielten eine Computertomographie mit Pulmonalisangiographie, fünfzehn (8,2%) Patienten eine Ventilations-/Perfusionsszintigraphie, zwei (1,1%) eine Pulmonalisangiographie und 73 (40,1%) Patienten eine sono- oder phlebographische Darstellung der Beinvenen. Sieben (3,8%) Patienten erhielten keines der genannten Verfahren. Es bestand bei diesen Patienten eine hämodynamische Instabilität und die Diagnose wurde anhand des Nachweises einer akuten RV-Dysfunktion oder intrakardialer Thromben im rechten Atrium oder Ventrikel oder in der A. pulmonalis in der Echokardiographie gesichert.

Die Studienpatienten wurden anhand der durch die Leitlinien der ESC 2008 empfohlenen Einteilung in „Hochrisiko“-Lungenembolie und in „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie eingeteilt (Torbicki et al. 2008). Von den 182 Patienten zählten 23 (12,6%) zu den „Hochrisiko“- und 159 (87,4%) zu den „Nicht-Hochrisiko“-Patienten. Nach Unterteilung der „Nicht-Hochrisiko“-Patienten anhand der empfohlenen weiterführenden Risikostratifizierung (siehe Kapitel 2.3) konnten 111 (69,8%) der 159 hämodynamisch stabilen Patienten als Patienten mit intermediärem Risiko und 48 (30,2%) Patienten als Patienten mit niedrigem Risiko klassifiziert werden.

Eine Übersicht der Charakteristika, Risikofaktoren, Begleiterkrankungen, Symptome und Standard-Laborparameter zum Zeitpunkt der Aufnahme der 182 Studienpatienten ist in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4. Charakteristika, Risikofaktoren, Begleiterkrankungen, Symptome und ausgewählte Standard-Laborparameter der 182 Studienpatienten. Patienten mit „Hochrisiko“- und „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie werden verglichen.

Parameter	Alle Patienten (n=182)	„Nicht-Hochrisiko“- Patienten (n=159)	„Hochrisiko“- Patienten (n=23)	p-Wert
Geschlecht (♂ / ♀)	81 (44,5%) / 101 (55,5%)	71 (44,7%) / 88 (55,3%)	10 (43,5%) / 13 (56,5%)	1,000
Alter (Jahren)	68 (52-77)	69 (53-8)	67 (37-76)	0,348
BMI (kg/m ²)	27,3 (24,6-30,5) n=181	27,3 (24,7-30,5) n=158	27,3 (24,5-29,9)	0,560
Risikofaktoren				
Frühere Lungenembolie	54 (29,7%)	50 (31,4%)	4 (17,4%)	0,224
Frühere tiefe Beinvenenthrombose	21 (11,5%)	19 (11,9%)	2 (8,7%)	0,748
Operation <4 Wochen	32 (17,6%)	26 (16,4%)	6 (26,1%)	0,378
Trauma <4 Wochen	7 (3,7%)	6 (3,8%)	1 (4,3%)	1,000
Immobilisierung	48 (26,4%)	36 (22,6%)	12 (52,2%)	0,005
Schwangerschaft / post partum (6 Wochen nach Entbindung)	2 (1,1%)	2 (1,3%)	---	---
Begleiterkrankungen				
Krebserkrankung	34 (18,7%)	30 (18,9%)	4 (17,4%)	1,000
Chronische Lungenerkrankung	24 (14,3%)	22 (13,8%)	4 (17,4%)	0,749
Chronische Herzinsuffizienz	33 (18,1%)	29 (18,2%)	4 (17,4%)	1,000
Koronare Herzkrankheit	38 (20,9%)	34 (21,4%)	4 (17,4%)	0,789

Parameter	Alle Patienten (n=182)	„Nicht-Hochrisiko“- Patienten (n=159)	„Hochrisiko“- Patienten (n=23)	p-Wert
Chronische Niereninsuffizienz (GFR <60 ml/min/1,73m ²)	66 (36,3%)	52 (32,7%)	14 (60,9%)	0,012
Symptome, klinische Zeichen und prognostische Scores				
Symptombeginn <24 Stunden	105 (57,7%)	83 (52,2%)	22 (95,7%)	<0,001
Thorakale Schmerzen n=181	94 (51,9%)	88 (55,3%)	6 (27,3%) n=22	0,021
Dyspnoe	155 (85,2%)	139 (87,4%)	16 (69,6%)	0,052
Synkope	45 (24,7%)	29 (18,2%)	16 (69,6%)	<0,001
Tachykardie (Herzfrequenz ≥100/min)	73 (40,1%)	61 (38,4%)	12 (52,2%)	0,256
Hypoxie (S _p O ₂ <90%) n=157	42 (26,8%)	38 (27,7%) n=137	4 (20%) n=20	0,594
sPESI ≥1 Punkt(e)	133 (73,1%)	111 (69,8%)	22 (95,7%)	0,077
RV-Dysfunktion in der transthorakalen Echokardiographie (TTE)	81 (44,5%) n=127	63 (58,9%) n=107	18 (90,0%) n=20	0,010
Laborparameter				
CRP (mg/l) n=179	31,0 (9,6-80,8)	29,2 (9,3-70,2) n=157	49,8 (14,4-89,7) n=22	0,173
Leukozyten (×1000/μl)	9,8 (7,7-11,8)	9,5 (7,5-11,3)	11,6 (9,5-17,4)	0,013
hsTnT (pg/ml) n=177	41,0 (10,8-94,5)	33,5 (9,8-87,9) n=156	79,0 (37,3-191,0) n=21	0,003
hsTnT ≥14 pg/ml n=177	126 (71,2%)	107 (68,6%) n=156	19 (90,5%) n=21	0,041
NT-proBNP (pg/ml) n=180	1196 (200-3812)	980 (179-3265) n=157	3278 (286-9627)	0,030
NT-proBNP ≥600 pg/ml n=180	109 (60,6%)	92 (58,6%) n=157	17 (73,9%)	0,177
GFR (ml/min/1,73m ²)	68,8 (50,4-84,8)	71,4 (54,3-86,6)	49,5 (31,8-68,9)	0,001

Bei 127 (69,8%) Patienten wurde in den ersten 48 Stunden nach Aufnahme eine transthorakale Echokardiographie durchgeführt. Bei dieser Untersuchung wurde bei 81 Patienten (44,5%) eine RV-Dysfunktion festgestellt. Erhöhte NT-proBNP-Plasmakonzentrationen ≥ 600 pg/ml wurden bei 109 (60,6%) Patienten gemessen; 126 (71,2%) Patienten hatten erhöhte hsTnT-Plasmakonzentrationen über den etablierten Cut-Off-Wert von ≥ 14 pg/ml. Typische klinische Zeichen und Symptome für eine akute Lungenembolie wurde bei der Mehrzahl der Patienten beobachtet: 155 (85,2%) der Patienten berichteten über Dyspnoe bei Aufnahme, 94 (51,9%) Patienten über thorakale Schmerzen; bei 73 (40,1%) Patienten wurde eine Tachykardie dokumentiert und 45 (24,7%) Patienten gaben eine Synkope an.

4.2 Ang-2 bei Patienten mit akuter Lungenembolie

Die Plasmakonzentrationen von zirkulierendem Ang-2 wurden bei allen 182 Studienpatienten sowohl bei Aufnahme (t0h) als auch nach 24 Stunden (t24h) und bei 40 Patienten zusätzlich nach sechs Monaten (t6m) im Rahmen der klinischen Nachuntersuchung in der kardiologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Göttingen gemessen.

Die mediane Ang-2-Plasmakonzentration bei Aufnahme war 2,45 (25. bis 75. Perzentil: 1,58-4,23) ng/ml. Die Biomarkerkonzentration betrug zwischen 0,1 und 25,9 ng/ml und unterlag keiner Normalverteilung. Die Ang-2-Plasmakonzentration gemessen 24 Stunden nach Aufnahme war im Median 2,1 (25. bis 75. Perzentil: 1,2-3,73) ng/ml, betrug zwischen 0,01 und 54,2 ng/ml und folgte ebenfalls keiner Normalverteilung. Innerhalb von 24 Stunden stiegen Ang-2-Plasmakonzentrationen im Median um 0,4 (25. bis 75. Perzentil: -0,2-1,1) ng/ml an.

Sechs Monate nach der akuten Lungenembolie wurde bei 40 Patienten eine mediane Ang-2-Plasmakonzentration von 1,2 (25. bis 75. Perzentil: 0,96-1,9) ng/ml gemessen. Von diesen Patienten hatten vier Patienten höhere Ang-2-Konzentrationen bei Aufnahme. Bei 12 Patienten wurden nach sechs Monaten eine höhere Ang-2-Plasmakonzentration gemessen als in der nach 24 Stunden abgenommenen Probe.

Es wurden Ang-2-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Aufnahme mit Standard-Laborparametern zum Zeitpunkt der Aufnahme verglichen. Ebenso erfolgte der Vergleich von Ang-2-Konzentrationen und Laborparametern nach 24 Stunden. Ang-2-Plasmakonzentrationen korrelierten (siehe Abbildung 3) mit der GFR (ml/min/1,73m²), mit hsTnT (pg/ml) und mit NT-proBNP (pg/ml) sowohl bei Aufnahme (t0h: $r=-0,445$ [$p <0,001$]; $0,351$ [$p <0,001$]; $0,547$ [$p <0,001$]) als auch nach 24 Stunden (t24h: $r=-0,375$ [$p <0,001$]; $0,501$ [$p <0,001$]; $0,618$ [$p <0,001$]). Ein stärker Zusammenhang besteht nur zwischen NT-proBNP (pg/ml) und Ang-2 (ng/ml) Plasmakonzentrationen.

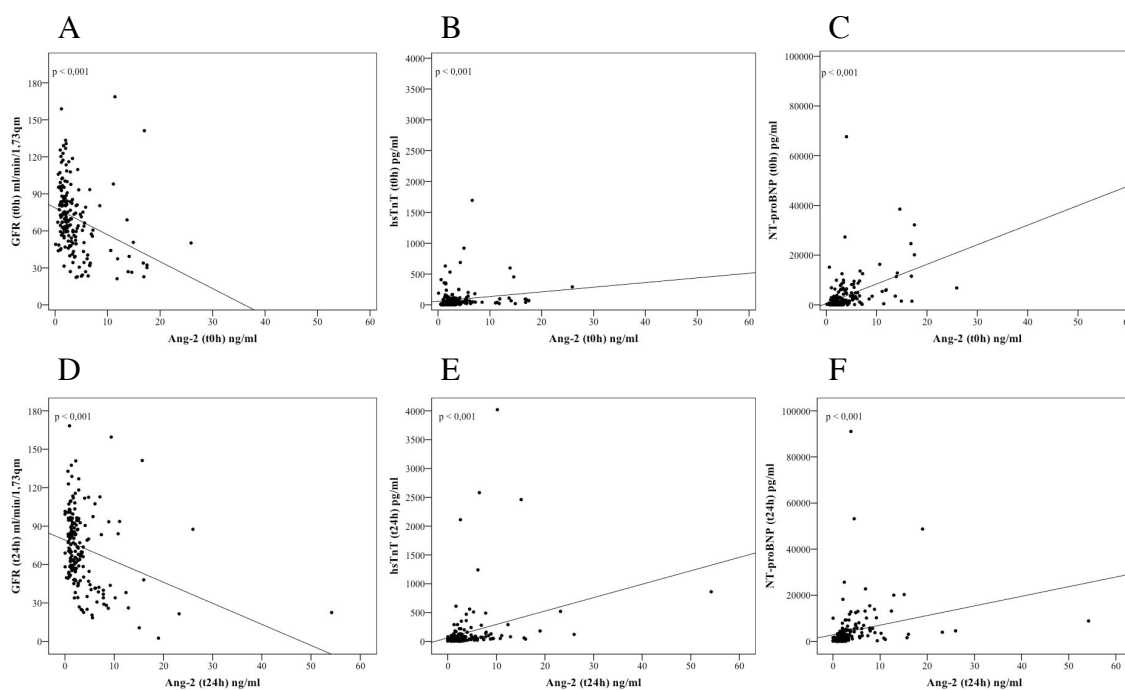


Abbildung 3. Korrelation von Ang-2-Plasmakonzentration bei Aufnahme (t0h) mit GFR (t0h) (A), hsTnT (t0h) (B), NT-proBNP (t0h) (C) und Korrelation von Ang-2-Plasmakonzentration nach 24 Stunden (t24h) mit GFR (t24h) (D), hsTnT (t24h) (E), NT-proBNP (t24h) (F).

In dem untersuchten Patientenkollektiv hatten Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Abbildung 4A) und chronischer Niereninsuffizienz (Abbildung 4B) höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen sowohl bei Aufnahme (hellgrau) als auch nach 24 Stunden (dunkelgrau). Ebenso konnten bei „Hochrisiko“-Patienten höhere Ang-2-Spiegel als bei „Nicht-Hochrisiko“-Patienten gemessen werden (Abbildung 4C). Die Ang-2-Plasmakonzentrationen der jeweiligen Patientensubgruppen sind in Tabelle 5 gegenübergestellt.

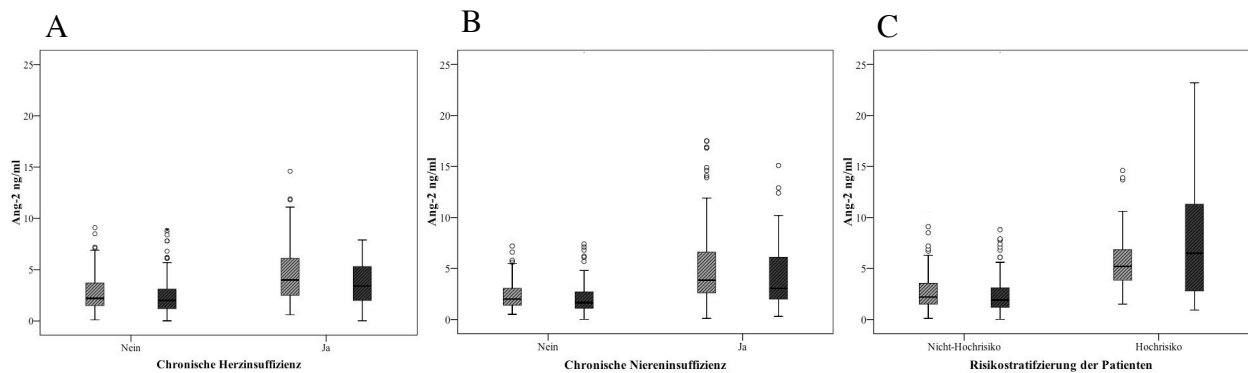


Abbildung 4. Ang-2-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Aufnahme (hellgrau) und nach 24 Stunden (dunkelgrau) bei Patienten mit (rechts) bzw. ohne (links) chronische Herzinsuffizienz (A), bei Patienten mit (rechts) bzw. ohne (links) chronische Niereninsuffizienz (B) und Risikostratifizierung der Patienten (C) in „Hochrisiko“-Lungenembolie (rechts) und „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie (links). Zur besseren graphischen Darstellung wurden extreme Ausreißer in den Abbildungen nicht dargestellt, diese wurden aber in allen Berechnungen berücksichtigt.

Tabelle 5. Vergleich von Ang-2-Plasmakonzentrationen bei verschiedenen Patientengruppen bei Aufnahme und nach 24 Stunden.

Ang-2-Konzentrationen im Vergleich	Ang-2 ng/ml (t0h)	Ang-2 ng/ml (t24h)
Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz	4,00 (2,50-6,10)	3,40 (1,95-5,40)
vs.	vs.	vs.
Patienten ohne chronische Herzinsuffizienz	2,20 (1,50-3,75)	2,00 (1,20-3,20)
	(p=0,002)	(p=0,005)
Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz	3,85 (2,58-6,60)	3,05 (2,00-6,20)
vs.	vs.	vs.
Patienten ohne chronische Niereninsuffizienz	2,00 (1,40-3,08)	1,65 (1,10-2,70)
	(p <0,001)	(p <0,001)
„Hochrisiko“-Patienten	5,20 (3,80-7,10)	6,50 (2,70-12,40)
vs.	vs.	vs.
„Nicht-Hochrisiko“-Patienten	2,20 (1,50-3,60)	1,90 (1,20-3,10)
	(p <0,001)	(p <0,001)

4.3 Ang-2 bei Lungenemboliepatienten mit RV-Dysfunktion

Um eine Aussage über den prognostischen Wert von Ang-2 treffen zu können, wurden die weiterführenden Analysen in der Subgruppe der 159 hämodynamisch stabilen „Nicht-Hochrisiko“-Patienten vorgenommen. Bei 107 Patienten lagen echokardiographische Informationen über die Funktion des rechten Ventrikels vor, davon hatten 63 (58,9%) Patienten einen echokardiographischen Nachweis einer RV Dysfunktion. Diese Patienten hatten nur geringfügige höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen bei Aufnahme (t0h: 2,6 [25. bis 75. Perzentil: 1,7-4,6] ng/ml vs. 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,3-3,3] ng/ml; $p < 0,001$) als auch nach 24 Stunden (t24h: 2,6 [25. bis 75. Perzentil: 1,5-4,0] ng/ml vs. 1,5 [25. bis 75. Perzentil: 1,1-2,5] ng/ml; $p < 0,001$) verglichen mit 44 (41,1%) Patienten mit normaler RV Funktion in der Echokardiographie. Weiterhin zeigte sich keine Korrelation von Ang-2-Plasmakonzentrationen sowohl bei Aufnahme als auch nach 24 Stunden mit echokardiographischen Parametern der RV-Dysfunktion wie dem abgeschätztem systolischen pulmonalarteriellen (PA) Druck (t0h: $r=0,15$ [$p=0,2$]) oder der Trikuspidal-Regurgitationsgeschwindigkeit (t0h: $r=-0,11$ [$p=0,4$]; t24h: $r=0,02$ [$p=0,8$]). Es zeigte sich lediglich eine Korrelation von Ang-2 gemessen nach 24 Stunden mit dem abgeschätzten systolischen PA-Druck (t24h: $r=0,25$, $p=0,03$). Jedoch ist hier festzuhalten, dass es sich nur um eine sehr schwache Korrelation handelt und die Patientenzahl gering ist ($n=69$).

4.4 Prognostische Bedeutung von Ang-2-Plasmakonzentrationen

In den ersten 30 Tagen nach der Lungenembolie entwickelten von 182 Patienten 32 (17,6%) Patienten Komplikationen: Es mussten neun (4,9%) Patienten kardiopulmonal reanimiert werden, 21 (11,5%) wurden intubiert und maschinell beatmet und 25 (13,7%) benötigten eine intravenöse Katecholamintherapie. Insgesamt verstarben 13 (7,1%) Patienten; davon vier (2,2%) an den direkten Folgen der Lungenembolie.

Bei diesen 32 Patienten mit Komplikationen während der ersten 30 Tage waren Ang-2-Plasmakonzentrationen sowohl bei Aufnahme als auch nach 24 Stunden höher als bei Patienten

mit einem unkomplizierten Verlauf (t0h: 4,8 [25. bis 75. Perzentil: 2,90-6,68] ng/ml vs. 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,48-3,53] ng/ml; $p < 0,001$; Abbildung 5A; t24h: 6,15 [25. bis 75. Perzentil: 2,63-9,88] ng/ml vs. 1,9 [25. bis 75. Perzentil: 1,18-3,00] ng/ml; $p < 0,001$; Abbildung 5 B).

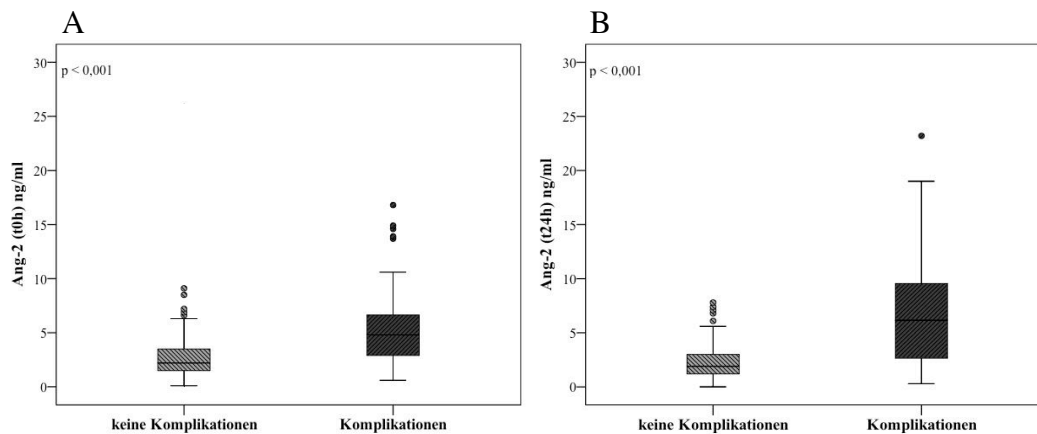


Abbildung 5. Ang-2-Konzentrationen bei Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) bei Patienten mit kompliziertem (rechts) und unkompliziertem (links) Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage. Zur besseren graphischen Darstellung wurden extreme Ausreißer in den Abbildungen nicht dargestellt, diese wurden aber in allen Berechnungen berücksichtigt.

Um eine Aussage über den prognostischen Wert von Ang-2 treffen zu können, wurden die weiterführenden Analysen in der Subgruppe der 159 hämodynamisch stabilen „Nicht-Hochrisiko“-Patienten vorgenommen. Insgesamt erreichten zwölf (7,5%) der 159 Patienten den primären Endpunkt; sechs (3,8%) Patienten verstarben, davon drei (1,9%) an der akuten Lungenembolie oder den direkten Folgen. Bei diesen zwölf Patienten waren Ang-2-Plasmakonzentrationen sowohl bei Aufnahme als auch nach 24 Stunden erhöht (t0h: 2,6 [25. bis 75. Perzentil: 1,55-5,90] ng/ml; t24h: 2,9 [25. bis 75. Perzentil: 1,75-7,38] ng/ml) verglichen mit Patienten, die den primären Endpunkt nicht erreichten (t0h: 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,40-3,50] ng/ml; t24h: 1,9 [25. bis 75. Perzentil: 1,20-3,00] ng/ml).

Mittels ROC-Analyse konnte eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0,54 (95% KI: 0,35-0,72) für Ang-2 bei Aufnahme in Hinblick auf den primären Endpunkt berechnet werden (Abbildung 6A). Überraschenderweise und im Gegensatz zur Hypothese der Studie konnte somit keine Klassifizierungsfähigkeit für Ang-2 nachgewiesen werden (siehe Tabelle 6 und Tabelle 7).

Trotzdem wurde mithilfe des Youden-Index ein Patientenkollektiv optimierter Cut-Off-Wert von 5,25 ng/ml berechnet. Wie zu erwarten, zeigten in der nachfolgend durchgeführten univariablen logistischen Regressionsanalyse weder der kalkulierte Ang-2 Cut-Off-Wert ($p=0,094$) noch Ang-2 als stetige Variable gemessen zum Zeitpunkt der Aufnahme ($p=0,672$) eine prognostische Aussagekraft für die Vorhersage von Komplikation innerhalb 30 Tagen nach akuter Lungenembolie. Auch für die berechnete Differenz der Ang-2-Plasmakonzentrationen zwischen dem Zeitpunkt der Aufnahme und nach 24 Stunden (Δ Ang-2) ($p=0,146$) sowie für einen Anstieg von Ang-2-Plasmakonzentrationen nach 24 Stunden ($p=0,617$) konnte kein prognostischer Wert mittels univariabler logistischer Regressionsanalyse nachgewiesen werden.

Dahingehend waren sowohl die kardialen Biomarker hsTnT und NT-proBNP als auch der sPESI mit einer signifikanteren prognostischen Aussagekraft für das Auftreten von Komplikationen innerhalb der ersten 30 Tage assoziiert (Jimenez et al. 2010; Lankeit et al. 2011; Lankeit et al. 2014) (siehe Tabelle 6 und Tabelle 7).

Tabelle 6. Prognostische Sensitivität und Spezifität von Biomarkern, dem sPESI und einer RV-Dysfunktion in Hinblick auf den primären Endpunkt bei 159 normotensiven Patienten mit Lungenembolie.

	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	PPW (%)	NPW (%)
bei Aufnahme				
Ang-2 (t0h) $\geq 5,25$ ng/ml	33 (14-61)	86 (79-90)	16 (6-34)	94 (89-97)
hsTnT (t0h) ≥ 14 pg/ml	100 (76-100)	34 (27-42)	11 (6-19)	100 (92-100)
NT-proBNP (t0h) ≥ 600 pg/ml	92 (64-99)	44 (36-52)	12 (6-20)	99 (92-100)
sPESI ≥ 1 Punkt(e)	100 (76-100)	33 (26-41)	11 (6-18)	100 (93-100)
RV Dysfunktion	92 (65-99)	45 (36-55)	17 (10-29)	98 (88-100)
nach 24 Stunden				
Ang-2 (t24h) $\geq 2,55$ ng/ml	67 (39-86)	67 (59-74)	14 (7-26)	96 (90-98)
hsTnT (t24h) ≥ 14 pg/ml	100 (76-100)	29 (23-37)	10 (6-17)	100 (92-100)
NT-proBNP (t24h) ≥ 600 pg/ml	100 (76-100)	38 (30-46)	12 (7-19)	100 (93-100)

Mit 0,67 (95 % KI, 0,50-0,84) konnte eine größere AUC für Ang-2 nach 24 Stunden in Hinblick auf den primären Endpunkt berechnet werden (Abbildung 6B). Für diesen Zeitpunkt wurde ein optimaler Cut-Off-Wert von 2,55 ng/ml berechnet. Dieser war mit einer Sensitivität von 0,67 (95% KI: 0,39-0,86) und einer Spezifität von 0,67 (95% KI: 0,59-0,74) für die Entwicklung von Komplikationen während der ersten 30 Tage assoziiert (siehe Tabelle 6). Der positive prädiktive Wert lag bei 0,14 (95% KI: 0,07-0,26) und der negative prädiktive Wert bei 0,96 (95% KI: 0,90-0,98).

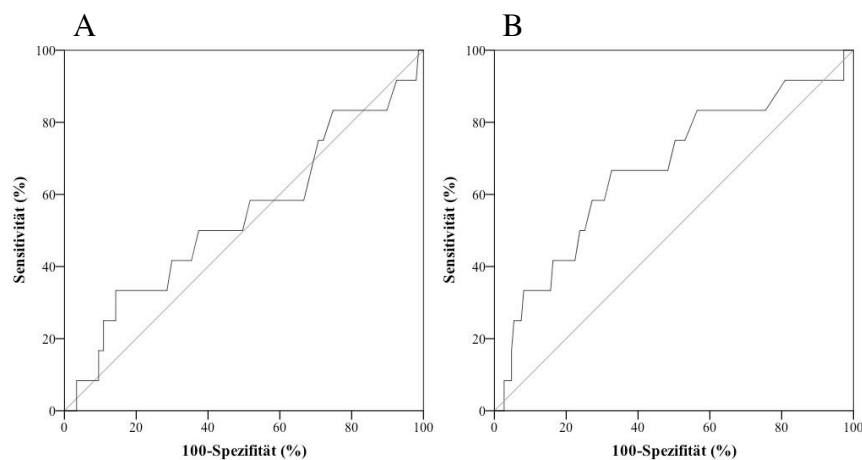


Abbildung 6. ROC-Kurve für Ang-2 zum Zeitpunkt der Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) in Hinblick auf den primären Endpunkt.

In der univariablen logistischen Regressionsanalyse waren Ang-2-Spiegel $\geq 2,55$ ng/ml, gemessen 24 Stunden nach Aufnahme, mit einem 4,1-fach erhöhten Risiko für das Auftreten von Komplikationen innerhalb 30 Tagen assoziiert (siehe Tabelle 7). Neben Ang-2 (t24h) $\geq 2,55$ ng/ml konnten eine chronische Herzinsuffizienz, das Vorhandensein einer Hypoxie, Synkope oder Tachykardie bei Aufnahme, eine RV-Dysfunktion in der Echokardiographie sowie erhöhte NT-proBNP-Plasmakonzentrationen ≥ 600 pg/ml als Prädiktoren für das Erreichen des primären Endpunktes identifiziert werden (Tabelle 7).

Tabelle 7. Prädiktoren für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage bei 159 normotensiven Patienten mit Lungenembolie.

Signifikante Parameter	OR (95% KI)	p-Wert
Chronische Herzinsuffizienz	3,66 (1,07-12,50)	0,038
Hypoxie (S _a O ₂ <90%)	4,16 (1,24-14,06)	0,021
Synkope	3,66 (1,07-12,50)	0,038
Tachykardie (HF ≥100/min)	3,54 (1,02-12,34)	0,047
RV-Dysfunktion (n=107)	9,09 (1,13-73,29)	0,038
NT-proBNP ≥600 pg/ml (n=157)	8,69 (1,09-69,10)	0,041
Ang-2 (t24h) ≥2,55 ng/ml	4,12 (1,18-14,38)	0,026

4.5 Prognostische Bedeutung von Ang-2 für Langzeitüberleben

Die akute Phase (erste 30 Tage) der Lungenembolie überlebten 167 (91,8%) Patienten. Alle Patienten wurden mittels Kontaktierung von Einwohnermeldeämtern hinsichtlich ihres Überlebensstatus nachverfolgt; von lediglich zwei Patienten (1,2%) konnten keine Langzeitverlaufsdaten erhoben werden, da sich ihr Wohnsitz außerhalb von Deutschland befindet. In dem medianen Beobachtungszeitraum von 442 (25. bis 75. Perzentil: 203 bis 913) Tagen verstarben 28 (16,8%) Patienten. Ein (3,6%) Patient verstarb am 36. Tag an der akuten Lungenembolie bzw. an den daraus folgenden Komplikationen. Es verstarben zwei (7,1%) Patienten an einer Rezidiv-Lungenembolie; zwölf (42,9%) Patienten erlagen ihrer Krebserkrankung; drei (10,7%) Patienten verstarben an einer kardialen Ursache und drei (10,7%) an einem infektiösen Geschehen. Ein (3,6%) Patient beging Suizid. Zwei (7,1%) Patienten verstarben an einer Blutung (incl. intrakranielle Blutung) und ein (3,6%) Patient an einem Apoplex. Bei drei (10,7%) Patienten konnte die Todesursache nicht ermittelt werden.

Die Sterberate war innerhalb des ersten Jahres am größten: Von 28 Patienten verstarben 22 (78,6%) innerhalb des ersten Jahres nach der akuten Lungenembolie.

Patienten, die innerhalb des Beobachtungszeitraumes verstorben sind, hatten höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme (3,60 [25. bis 75. Perzentil: 2,10-5,80] ng/ml vs. 2,20 [25. bis 75. Perzentil: 1,40-3,60] ng/ml; $p=0,01$) als auch nach 24 Stunden (2,65 [25. bis 75. Perzentil: 1,60-7,05] ng/ml vs. 1,90 [25. bis 75. Perzentil: 1,10-3,10] ng/ml; $p=0,014$).

Um den prognostischen Wert von Ang-2 in Hinblick auf das Langzeitüberleben (sekundärer Endpunkt) zu untersuchen, wurden zunächst ROC-Analysen durchgeführt. Es konnte eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0,65 (95% KI: 0,55-0,76) für Ang-2 gemessen bei Aufnahme (Abbildung 7A) und von 0,65 (95% KI: 0,54-0,76) für Ang-2 gemessen nach 24 Stunden berechnet werden (Abbildung 7B). Mittels des Youden-Indexes wurde ein optimaler Ang-2 Cut-Off-Wert 3,15 ng/ml zum Zeitpunkt der Aufnahme und von 2,35 ng/ml für den Zeitpunkt nach 24 Stunden berechnet.

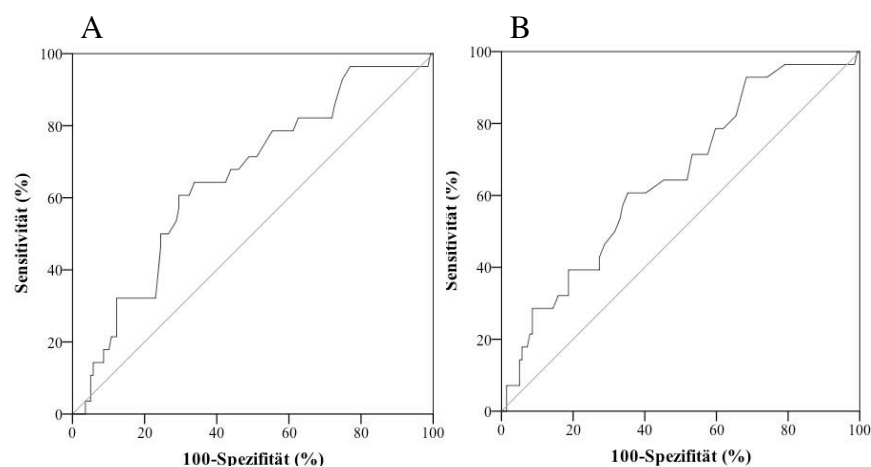


Abbildung 7. ROC-Kurve für Ang-2 bei Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) in Hinblick auf den sekundären Endpunkt bei 182 Patienten mit Lungenembolie.

In der Kaplan-Meier-Analyse konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Ang-2-Konzentrationen oberhalb des Cut-Off-Wertes von 3,15 ng/ml zum Zeitpunkt der Aufnahme eine signifikant niedrigere Wahrscheinlichkeit für Langzeitüberleben hatten ($p < 0,001$) (siehe Abbildung 8). Die Überlebenskurven von Patienten mit Ang-2-Plasmakonzentrationen $\geq 3,15$ ng/ml (dunkelgrau)

verglichen mit Patienten mit Ang-2-Plasmakonzentrationen $<3,15$ ng/ml (hellgrau) separieren bereits früh.

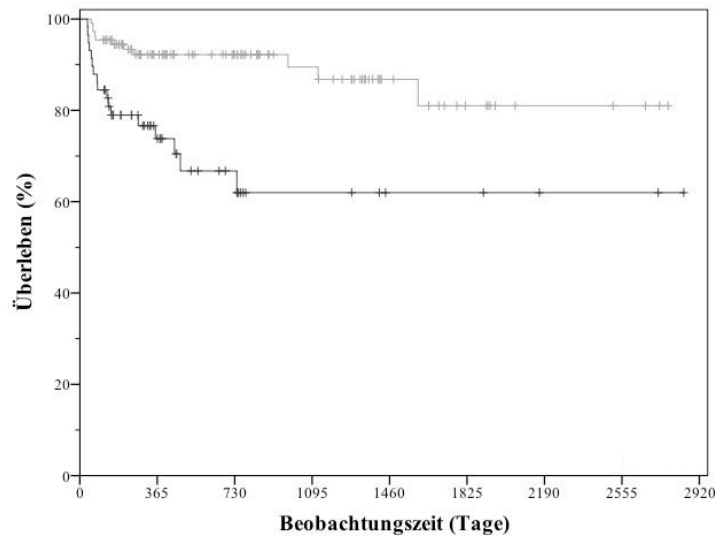


Abbildung 8. Wahrscheinlichkeit von Langzeitüberleben bei Patienten mit einer Ang-2-Konzentration $\geq 3,15$ ng/ml (dunkelgrau) und einer Ang-2-Konzentration $<3,15$ ng/ml (hellgrau) zum Zeitpunkt der Aufnahme.

Zur Identifizierung von Variablen, die als Prognosemarker für eine erhöhte Letalität dienen können, wurden univariable Cox-Regressionsanalysen durchgeführt. Die stetigen Variablen Ang-2 bei Aufnahme und Ang-2 nach 24 Stunden waren nicht mit einem prognostischen Stellenwert assoziiert. Jedoch war der Patientenkollektiv-optimierte Ang-2 Cut-Off-Wert von $\geq 3,15$ ng/ml bei Aufnahme mit einem 3,7-fach erhöhten Risiko und ein Ang-2 Cut-Off-Wert von $\geq 2,35$ ng/ml nach 24 Stunden mit einem 2,7-fach erhöhten Risiko für Langzeitmortalität assoziiert. In Tabelle 8 sind weitere signifikanten Prädiktoren für den sekundären Endpunkt dargestellt.

Tabelle 8. Prädiktoren für Langzeitmortalität bei 182 Patienten mit Lungenembolie.

Parameter	HR (95% KI)	p-Wert
Krebserkrankung	6,7 (3,1-14,3)	<0,001
Koronare Herzkrankheit	2,5 (1,2-5,5)	0,020
Chronische Herzinsuffizienz	2,6 (1,2-5,7)	0,021
Chronische Lungenerkrankung	2,8 (1,2-6,4)	0,014
Diabetes mellitus	2,7 (1,2-5,9)	0,015
sPESI \geq 1 Punkt(e)	37,6 (1,3-1075,5)	0,034
Ang-2 (t0h) \geq 3,15 ng/ml	3,7 (1,7-7,9)	0,001
Ang-2 (t24h) \geq 2,35 ng/ml	2,7 (1,3-5,8)	0,010

4.6 Ang-2 als Prädiktor für die Diagnose einer CTEPH im Langzeitverlauf

Die CTEPH ist eine schwerwiegende Erkrankung, die sich nach einer akuten Lungenembolie entwickeln kann. Von 84 der 167 (50,3%) überlebenden Patienten waren Informationen hinsichtlich einer Diagnosestellung einer CTEPH im Langzeitbeobachtungszeitraum vorhanden. Diese wurden entweder im Rahmen einer klinischen Nachbeobachtungsuntersuchung in der Ambulanz der Klinik für Kardiologie und Pneumologie der Universitätsmedizin Göttingen oder durch Kontaktierung des betreuenden Hausarztes erhoben. Insgesamt wurde bei sechs Patienten (7,1%) während der Langzeitbeobachtungen die Diagnose einer CTEPH gestellt. Die mediane Zeitdauer bis zur Diagnose einer CTEPH betrug 260 (25. bis 75. Perzentil: 44 bis 900) Tage.

Eine Übersicht der Charakteristika, Begleiterkrankungen, Symptome bei Aufnahme und echokardiographischer Parameter sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme als auch bei der klinischen Nachbeobachtungsuntersuchung der sechs Patienten sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tabelle 9. Charakteristika, Begleiterkrankungen, Symptome bei Aufnahme und echokardiographische Parameter sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme als auch bei der klinischen Nachbeobachtungsuntersuchung von sechs Patienten mit diagnostizierter CTEPH.

Parameter	Patienten mit CTEPH (n=6)
Geschlecht (♂ / ♀)	4 (66,6%) / 2 (33,3%)
Alter (Jahren)	70 (68-72)
BMI (kg/m ²)	24,13 (22,52-25,14)
Begleiterkrankungen	
Krebserkrankung	0
Chronische Lungenerkrankung	2 (33,3%)
Chronische Herzinsuffizienz	3 (50%)
Koronare Herzkrankheit	0
Chronische Niereninsuffizienz (GFR <60 ml/min/1,73m ²)	3 (50%)
Symptome und klinische Zeichen bei Aufnahme aufgrund der Lungenembolie	
Symptombeginn <24 Stunden	2 (33,3%)
Thorakale Schmerzen	2 (33,3%)
Dyspnoe	6 (100%)
Synkope	2 (33,3%)
Tachykardie (Herzfrequenz ≥100/min)	1 (16,6%)
Hypoxie (S _p O ₂ <90%)	0 n=5
Parameter der Echokardiographie bei Aufnahme aufgrund der Lungenembolie	
RV > LV	1 (25,0%) n=4
Paradoxe Septumbewegung	2 (40,0%) n=5
Abgeschätzter systolischer PA-Druck (mmHg)	75 (52,0-86,0) n=5
Abgeschätzter systolischer PA-Druck (mmHg) >36 (mmHg)	5 (100%) n=5

Parameter	Patienten mit CTEPH (n=6)
Trikuspidal- Regurgitationsgeschwindigkeit (m/s)	3,5 (1,76-3,87) n=3
Trikuspidal- Regurgitationsgeschwindigkeit $\geq 2,8$ (m/s)	2 (66,6%) n=3
LV-Ejektionsfraktion (EF) (%)	60 (50-60) n=5
Reduzierte LV-EF (<60%)	2 (40,0%) n=5
Parameter der Echokardiographie bei der Nachbeobachtungs- untersuchung	
RV > LV	0 n=3
Paradoxe Septumbewegung	0 n=3
Abgeschätzter systolischer PA-Druck (mmHg)	64 (49,5-65,5) n=3
Abgeschätzter systolischer PA-Druck (mmHg) >36 (mmHg)	2 (66,6%) n=3
Trikuspidal- Regurgitationsgeschwindigkeit (m/s)	3,85 (2,48-3,90) n=3
Trikuspidal- Regurgitationsgeschwindigkeit $\geq 2,8$ (m/s)	2 (66,6%) n=3
LV-EF (%)	55 (55) n=3
Reduzierte LV-EF (<60%)	3 (100%) n=3

Patienten mit einer CTEPH hatten zum Zeitpunkt der akuten Lungenembolie sowohl bei Aufnahme (2,00 [25. bis 75. Perzentil: 1,40-3,30] ng/ml vs. 9,00 [25. bis 75. Perzentil: 4,68-19,60] ng/ml; $p < 0,001$; Abbildung 9A) als auch nach 24 Stunden (1,70 [25. bis 75. Perzentil: 1,10-2,40] ng/ml vs. 3,35 [25. bis 75. Perzentil: 2,10-4,85] ng/ml; $p = 0,012$; Abbildung 9B) höhere Ang-2-Konzentrationen als Patienten, die keine CTEPH entwickelt haben.

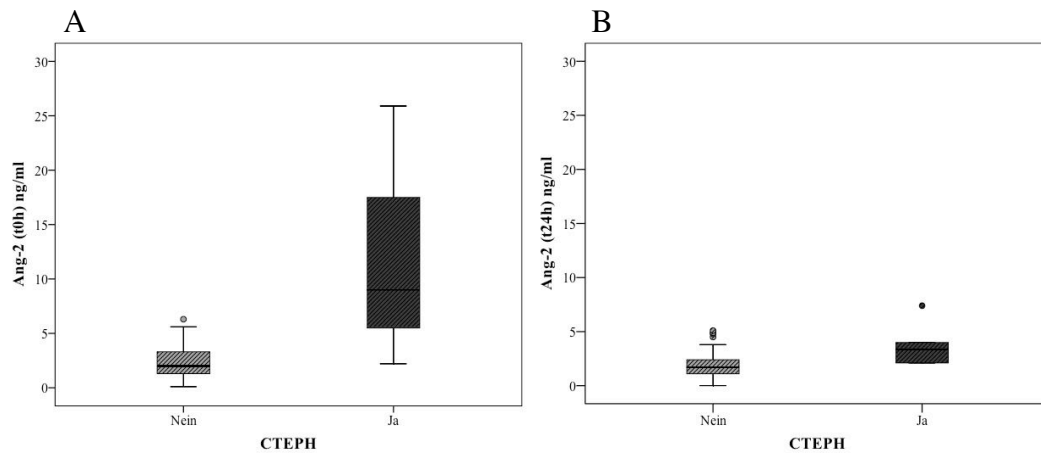


Abbildung 9. Ang-2-Konzentrationen bei Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) bei Patienten mit Diagnose einer CTEPH während der Langzeitbeobachtung (rechts) verglichen mit Patienten ohne Diagnose einer CTEPH (links). Zur besseren graphischen Darstellung wurden extreme Ausreißer in den Abbildungen nicht dargestellt, diese wurden aber in allen Berechnungen berücksichtigt.

Trotz der statistischen Limitation, dass nur sechs Patienten mit einer CTEPH im Langzeitverlauf diagnostiziert wurden, wurde eine ROC-Analyse für Ang-2 für den tertiären Endpunkt durchgeführt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Ang-2 bei Aufnahme betrug 0,92 (95% KI: 0,78-0,92). Für Ang-2 gemessen nach 24 Stunden wurde eine Fläche unter der Kurve von 0,81 (95% KI: 0,70-0,92) berechnet. Als Patientenkollektiv optimierter Cut-Off-Werte konnte eine Ang-2-Plasmakonzentration von 5,45 ng/ml bei Aufnahme und 2,05 ng/ml nach 24 Stunden berechnet werden. Trotz der geringen Fallzahl und der damit verbundenen limitierten (statistischen) Aussagekraft wurden mittels logistischer Regressionsanalyse die in Tabelle 10 aufgeführten Prädiktoren für die Diagnose einer CTEPH im Langzeitverlauf identifiziert. Überraschenderweise konnte eine Erhöhung von Ang-2-Plasmakonzentrationen oberhalb des berechneten optimalen Cut-off-Wertes als Prädiktor mit dem größten Odds Ratio für die Diagnose einer CTEPH im Langzeitverlauf identifiziert werden.

Tabelle 10. Prognostische Marker für die Entwicklung einer CTEPH bei 84 Patienten zum Zeitpunkt der Lungenembolie.

Signifikante Parameter	OR (95% KI)	p-Wert
Chronische Herzinsuffizienz	8,75 (1,51-50,84)	0,016
Chronische Lungenerkrankung	8,75 (1,51-50,84)	0,016
Ang-2 (t0h) ng/ml	1,42 (1,12-1,80)	0,004
Ang-2 (t0h) \geq 5,45 ng/ml	92,50 (8,64-990,58)	<0,001
Δ Ang-2 ng/ml	2,87 (1,34-6,13)	0,007

5 Diskussion

In ruhenden Endothelzellen vermittelt das kontinuierlich ausgeschüttete Ang-1 über die Tie2-Signalkaskade den Ruhezustand der Zelle: Ang-1 hat einen schützenden Effekt auf die Endothelzelle und mindert deren Aktivierung durch exogene Zytokine (Fiedler und Augustin 2006). Hingegen sorgt die plötzliche Ausschüttung von Ang-2 für eine Destabilisierung der Endothelzellen, löst Entzündungsreaktionen aus und verursacht eine gesteigerte Gefäßpermeabilität (Fiedler und Augustin 2006; Lemieux et al. 2005; Roviezzo et al. 2005). Die genauen molekularen Mechanismen sind allerdings noch nicht vollständig verstanden und sind weiterhin Gegenstand vieler wissenschaftlicher Forschungsanstrengungen. Jedoch ist offensichtlich, dass die Veränderung der Zellintegrität und des Ruhezustandes vaskulärer Endothelzellen entweder direkt oder indirekt in die Pathophysiologie vieler Krankheiten involviert ist (Fiedler und Augustin 2006). Die Ang-Tie2-Signalkaskade spielt in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle.

5.1 Patienten mit akuter Lungenembolie haben erhöhte Ang-2-Konzentrationen

Ang-2 ist die dynamische Komponente des Ang-Tie2-Systems und wurde bereits in unterschiedlichsten Krankheiten auf verschiedene Aspekte hin untersucht. Erhöhte zirkulierende Plasmakonzentrationen wurden bei Patienten mit exazerbierter chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD), chronischer Herzinsuffizienz, chronischer Niereninsuffizienz, Sepsis, Myokardinfarkt und kardiogenem Schock oder IPAH gemessen (Cho et al. 2011; Chong et al. 2004; David et al. 2010; David et al. 2012; Kümpers et al. 2010; Pöss et al. 2015).

Für Patienten mit akuter Lungenembolie waren bislang noch keine Daten über zirkulierende Ang-2-Plasmakonzentrationen vorhanden. In dieser Arbeit wurden Ang-2-Plasmakonzentrationen bei 182 unselektionierten Patienten mit bestätigter akuter Lungenembolie gemessen. Die mediane Ang-2-Konzentration betrug bei Aufnahme 2,45 (25. bis 75. Perzentil: 1,58-4,23) ng/ml und nach 24 Stunden 2,1 (25. bis 75. Perzentil: 1,2-3,73) ng/ml. Da es für

Ang-2 keine standardisierten Referenzwerte für Plasmakonzentrationen gibt, wäre zur Beurteilung der Werte dieser 182 Patienten eine an das Kollektiv angepasste, gesunde Kontrollgruppe wünschenswert gewesen. In der Literatur sind mediane Ang-2-Plasmakonzentrationen bei gesunden Personen von 0,77 (25. bis 75. Perzentil: 0,32–1,08) ng/ml (n=29) (David et al. 2010) und 1,6 (25. bis 75. Perzentil: 0,8-2,3) ng/ml (n=14) (Kümpers et al. 2010) zu finden. Verglichen mit den Werten der gesunden Kohorten aus der Literatur haben Patienten mit akuter Lungenembolie sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme als auch nach 24 Stunden höhere mediane Ang-2-Konzentrationen. Darüberhinaus konnten in Übereinstimmung mit der Literatur zudem erhöhte Ang-2-Plasmakonzentrationen sowohl bei Lungenemboliepatienten mit chronischer Herzinsuffizienz (t0h: 4,00 [25. bis 75. Perzentil: 2,50-6,10] ng/ml; t24h: 3,40 [25. bis 75. Perzentil: 1,95-5,40] ng/ml) als auch mit chronischer Niereninsuffizienz (t0h: 3,85 [25. bis 75. Perzentil: 2,58-6,60] ng/ml; t24h: 3,05 [25. bis 75. Perzentil: 2,00-6,20] ng/ml) beobachtet werden.

Der mediane Anstieg der Ang-2-Plasmakonzentrationen innerhalb der 24 Stunden nach Aufnahme betrug 0,4 (25. bis 75. Perzentil: 0,2-1,1) ng/ml. Es war nicht Fragestellung der aktuellen Arbeit und es bleibt daher offen, inwieweit bestimmte Therapiemaßnahmen wie zum Beispiel die Gabe von Antikoagulantien nach Diagnose der Lungenembolie und die Stabilisierung der Hämodynamik (beispielweise durch eine reperfundierende Therapie mittels systemischer Thrombolyse) einen Einfluss auf den Anstieg beziehungsweise das Absinken von Ang-2-Konzentrationen gehabt haben.

5.1.1 Ang-2 korreliert nicht mit der rechtsventrikulären Belastung bei Lungenembolie

Kümpers et al. untersuchten sowohl die Plasmakonzentrationen von Ang-1, Ang-2, sTie2 als auch von VEGF retrospektiv bei 81 und prospektiv bei 25 Patienten mit IPAH. Es wurde gezeigt, dass nur zirkulierendes Ang-2 mit der Herzleistung (Herzindex) ($r=-0,53$, $p <0,001$), dem pulmonalen Gefäßwiderstand ($r=0,60$, $p <0,001$) und der zentralvenösen Sauerstoffsättigung

(SvO₂) ($r=-0,63$, $p < 0,001$) von IPAH-Patienten korreliert (Kümpers et al. 2010). Die prospektive Patientenkohorte ($n=25$) wurde drei Monate nach Therapiebeginn (gezielte Therapie der PAH mit Prostanoiden, Endothelin-Rezeptor-Antagonisten oder Phosphodiesterase-5-Hemmern) nachuntersucht. Hier korrelierte die Ang-2-Plasmakonzentration sowohl mit der Verringerung des invasiv mittels Rechtsherzkatheter gemessenen mittleren rechtsarterialen Druckes ($r=-0,53$, $p < 0,001$) als auch mit der Verringerung des pulmonalen Gefäßwiderstandes ($r=0,60$, $p < 0,001$) (Kümpers et al. 2010). Somit wurde vermutet, dass zirkulierendes Ang-2 ein neuer, vielversprechender Biomarker bei IPAH-Patienten ist, der die Schwere der Erkrankung widerspiegelt und das Ansprechen auf eine PH spezifische medikamentöse Therapie anzeigen kann. Vor diesem Hintergrund, dass ein Zusammenhang zwischen erhöhten zirkulierenden Ang-2-Plasmakonzentrationen bei IPAH-Patienten und ihrer kardialen Hämodynamik besteht, wurde die Hypothese generiert, dass Ang-2-Konzentrationen mit einer akuten RV-Dysfunktion bei Patienten mit akuter Lungenembolie korrelieren.

Der Anstieg des pulmonalen Gefäßwiderstandes (PVR) entsteht bei der akuten Lungenembolie durch eine Verlegung der pulmonalarteriellen Strombahn durch den Embolus, sowie durch hypoxische Vasokonstriktion der Pulmonalarterien und bedingt durch den Anstieg der rechtsventrikulären Nachlast eine rechtsventrikuläre Druck- und Volumenbelastung mit Dilatation, Anstieg der Wandspannung, myokardialer Ischämie und schließlich Abfall des Schlagvolumens mit konsekutiven Abfall des Herzzeitvolumens (Konstantinides et al. 2014). Die Funktion des rechten Ventrikels normalisiert sich in der Regel innerhalb des ersten Monats nach der akuten Phase der Lungenembolie (Klok et al. 2014).

Bei „Hochrisiko“-Patienten wurden sowohl bei Aufnahme als auch nach 24 Stunden höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen als bei „Nicht-Hochrisiko“-Patienten gemessen (t0h: 5,2 [25. bis 75. Perzentil: 3,8-7,1] ng/ml vs. 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,5-3,6] ng/ml; $p < 0,001$; t24h: 6,5 [25. bis 75. Perzentil: 2,7-12,4] ng/ml vs. 1,9 [25. bis 75. Perzentil: 1,2-3,1] ng/ml; $p < 0,001$). Jedoch wird die Höhe von Ang-2-Konzentration bei einer „Hochrisiko“-Lungenembolie

wahrscheinlich nicht allein von dem Ausmaß einer RV-Dysfunktion beeinflusst, sondern hängt vielmehr mit verschiedenen Faktoren zusammen: Eine relevante Rolle spielt hierbei wahrscheinlich das Vorhandensein einer systemischen Hypotonie und eines kardiogenen Schocks. Es konnte bereits 2013 und 2015 gezeigt werden, dass Patienten im kardiogenen Schock erhöhte Ang-2-Plasmakonzentrationen haben (Link et al. 2013; Pöss et al. 2015). Beispielsweise wurde bei 96 Patienten mit kardiogenem Schock dreifach erhöhte Ang-2-Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Kontrollgruppe (n=20) ($p < 0,001$) gemessen (Link et al. 2013). Es wird vermutet, dass die Kompromittierung der Hämodynamik in kausalem Zusammenhang mit den erhöhten Ang-2-Plasmakonzentrationen steht: Durch die entstehende (Gewebe-) Hypoxie wird die Expression von Ang-2 gesteigert. Ang-2 wiederum sorgt für ein Kapillarleck, einen Verlust der Zellintegrität und eine verminderte Perfusion des Gewebes. Durch diese Mechanismen wird die Hypoxie verstärkt, und es entsteht ein Circulus vitiosus, der am Ende zu Gewebsuntergang führt (Link et al. 2013). In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass auch „Hochrisiko“-Patienten mit akuter Lungenembolie erhöhte Ang-2-Konzentrationen haben und unterstützen somit die Ergebnisse dieser Forschungsgruppen. Da bei „Hochrisiko“-Patienten das Versagen des rechten Ventrikels durch die vorhandene systemische Hypotonie und Vorhandensein eines kardiogenen Schocks angezeigt wird, wird im klinischen Alltag jedoch kein weiterer Biomarker benötigt, um zu wissen, dass diese Patienten ein hohes Risiko zu versterben haben und daher eine unverzügliche kreislaufstabilisierende Therapie und Entlastung des rechten Ventrikels (beispielsweise durch systemische Thrombolyse) benötigen. In dieser Arbeit wurde sich daher auf die prognostische Bedeutung von Ang-2 bei 159 normotensiven Lungenemboliepatienten konzentriert und überprüft, ob Ang-2-Plasmakonzentrationen mit dem Ausmaß einer akuten RV-Dysfunktion korrelieren. Es zeigten sich jedoch sowohl bei Aufnahme als auch nach 24 Stunden nur geringfügig höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen bei Patienten mit echokardiographischen Nachweis einer RV-Dysfunktion (n=63) verglichen mit Patienten mit normaler RV-Funktion in der

Echokardiographie (n=44) (t0h: 2,6 [25. bis 75. Perzentil: 1,7-4,6] ng/ml vs. 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,3-3,3] ng/ml; p <0,001; t24h: 2,6 [25. bis 75. Perzentil: 1,5-4,0] ng/ml vs. 1,5 [25. bis 75. Perzentil: 1,1-2,5] ng/ml; p <0,001). Bei der Untersuchung einzelner echokardiographischer Parameter wie dem abgeschätzten systolischen PA-Druck oder der Trikuspidal-Regurgitationsgeschwindigkeit wurde keine signifikante Korrelation mit Ang-2 beobachtet. Eine Limitation dieser Analysen besteht darin, dass die Definition einer RV-Dysfunktion mittels Echokardiographie in verschiedenen Kohortenstudien uneinheitlich definiert und unzureichend standardisiert ist. Demzufolge ist der Vergleich zwischen einzelnen Studien erschwert. Messwerte einer Rechtsherzkatheteruntersuchung wie in der Arbeit von Kümpers et al. 2010 wären theoretisch in Hinblick auf die hämodynamischen Auswirkungen einer akuten Lungenembolie genauer und aussagekräftiger; diese invasive Untersuchung kann jedoch in der Akutphase einer Lungenembolie natürlich nicht routinemäßig durchgeführt werden.

Neben der Echokardiographie wurden gemäß den Leitlinien auch die kardialen Biomarker zur Beurteilung der RV-Dysfunktion hinzugezogen. Es konnte in dieser Arbeit lediglich ein stärkerer Zusammenhang zwischen NT-proBNP- und Ang-2-Plasmakonzentrationen gezeigt werden (siehe Abbildung 3C und 3F). Zwischen erhöhten hsTnT-Plasmakonzentrationen - indirekt also mit der myokardialen Ischämie - und Ang-2-Plasmakonzentrationen konnte nur eine schwache Korrelation festgestellt werden (siehe Abbildung 3B und 3E).

Somit konnte die Hypothese der vorliegenden Arbeit, dass zirkulierende Ang-2-Plasmakonzentrationen mit dem Ausmaß der akuten RV-Dysfunktion bei Patienten mit Lungenembolie korrelieren, bei diesen 159 normotensiven Patienten nicht bestätigt werden. Es konnte jedoch eine Korrelation von Ang-2-Plasmakonzentrationen mit bereits in der Literatur beschriebenen Komorbiditäten gezeigt werden.

5.1.2 Ang-2 hat keine prognostische Bedeutung in der Akutphase bei Lungenembolie

Mit dem Ziel der Optimierung der Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie wurden in den vergangenen Jahren verschiedene Biomarker wie beispielsweise growth-differentiation factor-15 (GDF-15) (Lankeit et al. 2008), heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) (Dellas et al. 2010), Proadrenomedullin (MR-proADM) (Pedowska-Wloszek et al. 2013) und Copeptin (Hellenkamp et al. 2015) auf ihren prognostischen Stellenwert untersucht. Während kardiale Biomarker wie H-FABP, Proadrenomedullin und Copeptin mit dem Ausmaß der Rechtsherzbelastung korrelierten und so für die Voraussage von Lungenembolie assoziierten Komplikationen in der Akutphase geeignet erscheinen (Dellas et al. 2010; Hellenkamp et al. 2015; Pedowska-Wloszek et al. 2013), wurde GDF-15 als „globaler“ prognostischer Biomarker für die Voraussage von Akut- aber auch Langzeitletalität identifiziert (Lankeit et al. 2008).

Es wurde in der aktuellen Arbeit die Hypothese überprüft, ob zirkulierende Ang-2-Plasmakonzentrationen prognostische Aussagekraft hinsichtlich eines komplizierten Verlaufes innerhalb der ersten 30 Tage nach akuter Lungenembolie haben. Nachdem (wie in Kapitel 5.1.1 beschrieben) bereits der 1. Teil der Hypothese (dass zirkulierende Ang-2-Plasmakonzentrationen mit dem Ausmaß der akuten RV-Dysfunktion bei Patienten mit Lungenembolie korrelieren) abgelehnt werden musste, konnte auch der 2. Teil der Hypothese nicht bestätigt werden:

Ang-2-Plasmakonzentrationen zeigten zum Zeitpunkt der Aufnahme in der ROC-Analyse (Fläche unter der Kurve: 0,54) keine gute Klassifizierungsfähigkeit als prognostische Marker für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage. Es konnten trotz Berechnung eines Patientenkollektiv-optimierten Cut-off-Wertes zum Zeitpunkt der Aufnahme ($\geq 5,25$ ng/ml) und nach 24 Stunden ($\geq 2,55$ ng/ml) keine prognostisch relevante Sensitivität (t0h: 0,33; t24h: 0,67) und Spezifität (t0h: 0,86; t24h: 0,67) gezeigt werden (siehe Tabelle 6). In der univariablen logistischen Regressionsanalyse konnte weder ein prognostischer Stellenwert für Ang-2 zum Zeitpunkt der Aufnahme als stetige Variable ($p=0,672$) noch für den optimierten Cut-off-Wert zum Zeitpunkt der Aufnahme ($p=0,094$) festgestellt werden (siehe Kapitel 4.4).

Ang-2-Konzentrationen nach 24 Stunden waren zwar mit einer gering größeren Fläche unter der Kurve von 0,67 assoziiert und es konnte eine Signifikanz für den Patientenkohorten-optimierten Ang-2 Cut-off-Wert nach 24 Stunden ($\geq 2,55$ ng/ml) in Bezug auf einen komplizierten Verlauf innerhalb 30 Tagen in der univariablen logistischen Regressionsanalyse gezeigt werden (OR: 4,13 [95% KI: 1,18-14,38]). Allerdings ist - statistisch betrachtet - das Konfidenzintervall zu groß und - klinisch betrachtet - ein Biomarker, der erst nach 24 Stunden prognostische Informationen liefert, für die initiale Risikostratifizierung von Lungenemboliepatienten leider nicht von Nutzen.

Man stellt zudem im Zusammenschau der Ergebnisse fest, dass erhöhte Ang-2-Plasmakonzentrationen - weder zum Zeitpunkt der Aufnahme noch nach 24 Stunden - nicht besser geeignet sind als die bereits etablierten kardialen Biomarker (NT-proBNP und hsTnT) und der sPESI und so keine zusätzliche prognostische Information liefern. Auch im indirekten Vergleich mit denen in der Literatur vorgeschriebenen Einzelmarker (z.B. GDF-15 oder H-FABP) und prognostischen Scores (z.B. Bova-Score oder FAST-Score) zeigt sich Ang-2 unterlegen (Bova et al. 2014; Dellas et al. 2010; Dellas et al. 2014; Lankeit et al. 2008).

Die kardialen Biomarker NT-proBNP und hsTnT mit ihren etablierten Cut-Off-Werten sind gut etablierte prognostische Marker für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage bei Patienten mit akuter Lungenembolie. Es wurde bereits in mehreren Kohortenstudien gezeigt, dass die Kombination dieser beiden Biomarker mit dem sPESI zusätzliche prognostische Aussagekraft liefert (Lankeit et al. 2011; Lankeit et al. 2014). In einer Metaanalyse von Coutance et al. wurden Zeichen der RV-Dysfunktion in der Echokardiographie und ebenso erhöhte NT-proBNB-Konzentrationen als prognostische Marker für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten Tage identifiziert (Countance et al. 2011). Die prognostische Aussagekraft dieser Marker konnte auch in dieser Patientenkohorte bestätigt werden (siehe Tabelle 6). Desweiteren haben diese Bedeutung für die weitere Risikostratifizierung der normotensiven Patienten in „niedriges“ und „intermediäres“ Risiko und tragen somit zur weiteren

Therapieentscheidung bei (Konstantinides et al. 2014). Der sPESI wurde für die Voraussage von „Tod jeglicher Ursache“ (Aujesky et al. 2005; Jimenez et al. 2010) entwickelt und ist so vor allem für die Identifizierung von Lungenemboliepatienten mit „niedrigem“ Risiko geeignet. Dahingegen sollte für die Identifizierung von Lungenemboliepatienten, die von einer thrombolytischen Therapie profitieren könnten, ein alternativer Studienendpunkt (welcher Lungenembolie-bedingt - und damit „therapierbare“ - Komplikationen beinhaltet) für die Identifikation sinnvoller Prädiktoren verwendet werden.

Die Prognose der heterogenen Gruppe von normotensiven Patienten mit akuter Lungenembolie hängt nicht allein von einer kardialen Schädigung und einer RV-Dysfunktion ab, sondern auch von der klinischen Verfassung und Begleiterkrankungen der Patienten. So zeigen zum Beispiel die Ergebnisse des Registro Informatizado de Enfermedad TromboEmbólica (RIETE), dass Patienten mit einer eingeschränkten Nierenfunktion ($GFR < 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$) ein erhöhtes Risiko haben, an den Folgen der Lungenembolie zu versterben (Monreal et al. 2006). Ang-2-Plasmakonzentrationen korrelieren invers mit der GFR und steigen mit der Schwere der chronischen Niereninsuffizienz an (David et al. 2010). In diesem Patientenkollektiv konnte ebenso eine inverse Korrelation zwischen Ang-2-Konzentrationen und der GFR bestätigt werden (t0h: $r = -0,445$, $p < 0,001$; t24h: $r = -0,375$, $p < 0,001$).

5.3 Ang-2 hat eine prognostische Bedeutung für das Langzeitüberleben

GDF-15 ist ein „globaler“ prognostischer Biomarker für die Voraussage von Akut- aber auch Langzeitmortalität bei Patienten mit akuter Lungenembolie (Lankeit et al. 2008). Die Bezeichnung „global“ bedeutet in diesem Sinne, dass GDF-15 nicht nur kardiale sondern auch extrakardiale prognostische Informationen vereinen kann. Der prognostischen Stellenwert von Ang-2-Plasmakonzentrationen wurde bereits bei einigen schwerwiegenden Erkrankungen untersucht: Es wurde z.B. bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, chronischer Nierensuffizienz, Sepsis oder IPAH gezeigt, dass erhöhte Ang-2-Plasmakonzentrationen mit

einer erhöhten Mortalität einhergehen (Chong et al. 2004; David et al. 2010; David et al. 2013; Kumpers et al. 2010).

In der vorliegenden Arbeit wurden 167 Patienten, die die akute Phase der Lungenembolie überlebt haben (91,8% des Gesamtkollektives), über einen medianen Zeitraum von 442 (IQR; 203-913) Tagen nachverfolgt und Prädiktoren für Langzeitmortalität untersucht. In diesem Zeitraum starben 28 (16,8%) Patienten; davon verstarben 22 (78,6%) Patienten bereits im ersten Jahr nach der akuten Lungenembolie. Kardiovaskuläre Erkrankungen und eine maligne Grunderkrankung waren die häufigsten Todesursachen (siehe Kapitel 4.5). In diesem Patientenkollektiv konnten sowohl eine koronare Herzerkrankung ($p=0,020$), eine chronische Herzinsuffizienz ($p=0,021$), Diabetes mellitus ($p=0,015$) als auch eine Krebserkrankung ($p < 0,001$) als Prädiktoren für Langzeitmortalität identifiziert werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass das Outcome der Patienten nach einer akuten Lungenembolie - wie bei vielen anderen Erkrankungen auch - von Vorerkrankungen abhängt.

Die Patientenkollektiv-optimierten Cut-off-Werte für Ang-2 von $\geq 3,15$ ng/ml zum Zeitpunkt der Aufnahme und $\geq 2,35$ ng/ml nach 24 Stunden waren mit einem 3,7-fachen ($p=0,001$) bzw. ein 2,7-fachen ($p=0,010$) erhöhten Risiko für die Langzeitmortalität assoziiert. Somit konnte Ang-2 in der vorliegenden Arbeit als ein geeigneter Prädiktor für Langzeitmortalität identifiziert werden.

Die beste prognostische Aussagekraft für Voraussage von Langzeitmortalität wurde in der vorliegenden Arbeit für den sPESI beobachtet (siehe Tabelle 8). Patienten mit einem sPESI ≥ 1 Punkt(e) hatten ein 37,6-fach erhöhtes Risiko zu versterben. Die gute prognostische Eignung des sPESIs erklärt sich dadurch, dass der größte Teil der Prädiktoren, die in Tabelle 8 aufgelistet sind, in die Berechnung sPESI mit einfließen (siehe Anhang 8.5).

In Zusammenschau der Ergebnisse ist festzustellen, dass Ang-2 und Vorerkrankungen (z.B. chronische Herzinsuffizienz, Krebserkrankung oder koronare Herzkrankheit) prognostische Informationen in Hinblick auf Langzeitmortalität nach akuter Lungenembolie liefern. Da erhöhte

Ang-2-Plasmakonzentrationen bereits bei einigen Vorerkrankungen in anderen Studien nachgewiesen wurden, könnte man Ang-2 als „globalen Marker“ für einen schlechten Gesundheitszustand verstehen und somit als „globalen“ Prädiktor für Langzeitmortalität.

5.4 Ang-2 ist bei Lungenemboliepatienten mit einer CTEPH erhöht

Während der Langzeitverlauf von Patienten mit isolierter Beinvenenthrombose gut untersucht ist - beispielsweise entwickeln ca. ein Drittel der Patienten ein postthrombotisches Syndrom trotz optimaler Antikoagulation (Kahn et al. 2008; Klok et al. 2014; Prandoni et al. 1996) - sind zum Langzeitverlauf nach akuter Lungenembolie weniger Daten vorhanden. Zunehmend ist jedoch bekannt, dass etwa bei ca. der Hälfte der Patienten nach einer akuten Lungenembolie körperliche Leistungseinschränkungen („post-Lungenembolie-Syndrom“) oder eine verminderte Lebensqualität zu beobachten sind (Klok et al. 2014). Zu den Faktoren, die zu Leistungseinschränkungen führen können, zählen unter anderem die unvollständige Auflösung von Thromben in den Pulmonalarterien, eine weiterhin bestehende Funktionseinschränkung des rechten Ventrikels und die Entwicklung einer CTEPH (Klok et al. 2014). Es ist jedoch unklar, welche Patienten und wie engmaschig diese nach akuter Lungenembolie nachuntersucht werden sollten, um beispielsweise eine CTEPH frühzeitig zu entdecken. Guérin et al. empfehlen die Nachuntersuchung in einem Zeitraum von einem Jahr bei Patienten mit proximaler Lungenembolie, echokardiographischen abgeschätzten systolischen PA-Druck >60mmHg und hohen brain-natriuretischen Peptid (BNP) Plasmakonzentrationen. Bei Patienten mit persistierender Luftnot sollte nach drei bis sechs Monaten eine erneute Echokardiographie und eventuell Ventilations-/Perfusionsszintigraphie der Lunge zur frühzeitigen Erkennung einer CTEPH durchgeführt werden (Guérin et al. 2014; Konstantinides et al. 2014).

In der vorliegenden Arbeit nahmen von 167 Patienten 84 (50,3%) Patienten nach sechs Monaten an einer klinischen Nachuntersuchung in der kardiologischen Ambulanz der Universitätsmedizin Göttingen oder durch einen niedergelassenen Kardiologen teil. Sechs dieser Patienten (7,1%)

wurden mit einer CTEPH diagnostiziert. Nach aktueller Datenlage aus verschiedenen Registern wird die Inzidenz der CTEPH in der Gesamtbevölkerung auf 5 Personen pro 100000 Einwohner pro Jahr geschätzt (Kim et al. 2013; Lang et al. 2013). Die Inzidenz der CTEPH nach akuter Lungenembolie variiert in der Literatur zwischen 0,6% (Klok et al. 2010a) und 8,8% (Dentali et al. 2009). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind in Übereinstimmung mit diesen Daten. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass es sich bei der vorliegenden Arbeit nicht um eine prospektive Studie mit dem Ziel der Ermittlung der Inzidenz einer CTEPH handelte. Da nicht alle 167 Patienten nachverfolgt werden konnten und daher nur Informationen über die Diagnose einer CTEPH von 84 (50,3%) Patienten vorliegen, kann vermutlich eine größere Dunkelziffer angenommen werden.

Die sechs Patienten mit der Diagnose einer CTEPH in der Langzeitbeobachtung hatten sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme als auch nach 24 Stunden deutlich höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen als Patienten, die keine CTEPH entwickelt haben (siehe Abbildung 9). Ang-2-Plasmakonzentrationen zeigten sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme (AUC: 0,92) als auch nach 24 Stunden (AUC: 0,81) in der ROC-Analyse eine gute Klassifizierungsfähigkeit als prognostische Marker für die Entwicklung einer CTEPH im Langzeitverlauf.

Patienten, bei denen eine Ang-2-Plasmakonzentration zum Zeitpunkt der Aufnahme von $\geq 5,45$ ng/ml gemessen wurde, hatten ein 92,5-fach erhöhtes Risiko, eine CTEPH zu entwickeln. Es ist festzuhalten, dass die statistische Aussagekraft dieser Ergebnisse aufgrund der geringen Fallzahl eingeschränkt ist. Dennoch zeigen diese Ergebnisse eine Tendenz und liefern somit die Grundlage für weiterführende Projekte. Die Hypothese, dass durch erhöhtes Ang-2 die Thrombusauflösung in den Pulmonalarterien inhibiert wird und somit zur Entstehung einer CTEPH beiträgt, wird aktuell von der Juniorarbeitsgruppe „Klinische Studien“ des Centrums für Thrombose und Hämostase (CTH) der Universitätsmedizin Mainz in einem experimentellen Mausmodell untersucht.

Als weiterer spannender Forschungsansatz könnte untersucht werden, ob Ang-2 als Biomarker in Hinblick auf die Differenzierung von Patienten mit einer „echten“ akuten Lungenembolie von Patienten mit bisher unerkannten CTEPH und erstmaliger klinischer Präsentation hilfreich sein kann. Aktuelle Studien deuten darauf hin, dass Patienten mit Lungenembolie, die im Verlauf mit einer CTEPH diagnostiziert werden, bereits zum Zeitpunkt der Lungenembolie klinische Zeichen und Hinweise für eine (bis dahin noch unbekannte) CTEPH haben (Guérin et al. 2014). Aufgrund der prognostischen und therapeutischen Implikationen der Diagnose einer CTEPH wäre es wichtig, diese Patienten zu identifizieren. In dem Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit konnte diese Problematik auch bestätigt werden: Drei Patienten mit der Diagnose einer CTEPH im Verlauf hatten bereits zum Zeitpunkt der Lungenembolie echokardiographische Zeichen einer CTEPH wie beispielsweise ein abgeschätzter systolischer PA-Druck >60 mmHg oder eine Trikuspidal-Regurgitationsgeschwindigkeit $>2,8$ m/s. Da zusätzlich auch die Ang-2-Plasmakonzentrationen dieser sechs Patienten erheblich erhöht waren, wäre es spannend, die Aufnahmen der Computertomographie rückblickend auf Zeichen einer CTEPH (z.B. organisierte Wandthromben, die die Lungengefäße auskleiden, dilatierte Bronchialarterien oder Mosaikperfusion (Guérin et al. 2014)) zu untersuchen. So stellt sich die Frage, ob Ang-2 in Zukunft möglicherweise als Biomarker für die Identifizierung von CTEPH-Patienten dienen könnte, die mit der Verdachtsdiagnose einer Lungenembolie aufgenommen wurden, dabei aber die erste klinische Manifestation ihrer CTEPH präsentieren.

6 Zusammenfassung

Ang-2, ein Protein aus der Gruppe der Wachstumsfaktoren, sorgt bei plötzlicher Ausschüttung für eine Destabilisierung von Endothelzellen, löst Entzündungsreaktionen aus und verursacht eine gesteigerte Gefäßpermeabilität. Erhöhte Ang-2-Plasmakonzentrationen korrelieren bei IPAH-Patienten mit der Hämodynamik und dienen als unabhängiger Prädiktor für Mortalität.

Vor diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Arbeit die Hypothese untersucht, ob Ang-2-Plasmakonzentrationen mit dem Ausmaß einer akuten RV-Dysfunktion bei Patienten mit akuter Lungenembolie korrelieren und prognostischen Stellenwert hinsichtlich eines komplizierten Verlaufes innerhalb der ersten 30 Tage nach akuter Lungenembolie besitzen. Die mediane Ang-2-Plasmakonzentration von 182 Patienten mit akuter Lungenembolie betrug bei Aufnahme 2,45 (25. bis 75. Perzentil: 1,58-4,23) ng/ml und nach 24 Stunden 2,1 (25. bis 75. Perzentil: 1,2-3,73) ng/ml. „Hochrisiko“-Patienten hatten sowohl bei Aufnahme als auch nach 24 Stunden höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen als „Nicht-Hochrisiko“-Patienten (t0h: 5,2 [25. bis 75. Perzentil: 3,8-7,1] ng/ml vs. 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,5-3,6] ng/ml; $p < 0,001$; t24h: 6,5 [25. bis 75. Perzentil: 2,7-12,4] ng/ml vs. 1,9 [25. bis 75. Perzentil: 1,2-3,1] ng/ml; $p < 0,001$).

Im Gegensatz zur Hypothese der vorliegenden Arbeit, hatten Patienten mit akuter RV-Dysfunktion bei Aufnahme nur geringfügig erhöhte Ang-2-Plasmakonzentrationen verglichen mit Patienten mit normaler RV Funktion in der Echokardiographie (t0h: 2,6 [25. bis 75. Perzentil: 1,7-4,6] ng/ml vs. 2,2 [25. bis 75. Perzentil: 1,3-3,3] ng/ml; $p < 0,001$).

Ang-2-Plasmakonzentrationen korrelierten zwar schwach mit hsTnT (t0h: $r=0,351$ [$p < 0,001$]; t24h: 0,501 [$p < 0,001$]) und stärker mit NT-proBNP (t0h: 0,547 [$p < 0,001$]; t24h: 0,618 [$p < 0,001$]), jedoch nicht mit echokardiographischen Parametern einer RV-Dysfunktion (abgeschätzter systolischer PA-Druck (t0h: $r=0,15$ [$p=0,2$]; t24h: $r=0,25$ [$p=0,03$]) oder Trikuspidal-Regurgitationsgeschwindigkeit (t0h: $r=-0,11$ [$p=0,4$]; t24h: $r=0,02$ [$p=0,8$])).

Ang-2-Plasmakonzentrationen zeigten zum Zeitpunkt der Aufnahme (AUC: 0,54) in der ROC-Analyse keine gute Klassifizierungsfähigkeit als prognostische Marker für einen komplizierten

Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage. In der univariablen logistischen Regressionsanalyse waren nur Ang-2-Spiegel $\geq 2,55$ ng/ml, gemessen 24 Stunden nach Aufnahme, mit einem 4,1-fach erhöhten Risiko für das Auftreten von Komplikationen innerhalb 30 Tagen assoziiert. Neben Ang-2 (t24h) $\geq 2,55$ ng/ml konnten eine chronische Herzinsuffizienz, das Vorhandensein einer Hypoxie, Synkope oder Tachykardie bei Aufnahme, eine RV-Dysfunktion in der Echokardiographie sowie erhöhte NT-proBNP-Plasmakonzentrationen ≥ 600 pg/ml als Prädiktoren für das Erreichen des primären Endpunktes identifiziert werden. Ang-2 eignet sich somit nicht zur Identifizierung von normotensiven Lungenemboliepatienten mit einem erhöhten Risiko für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage.

Dahingegen konnte Ang-2 als ein prognostischer Marker für die Langzeitmortalität identifiziert werden. Ang-2 $\geq 3,15$ ng/ml zum Zeitpunkt der Aufnahme (HR 3,71 [95 % KI:1,73-7,98; p=0,001]) und Ang-2 $\geq 2,35$ ng/ml nach 24 Stunden (HR 2,72, [95 % KI: 1,28-5,83; p=0,001]) waren mit einem erhöhten Risiko für Langzeitmortalität assoziiert.

Von 84 Patienten, die an einer klinischen Nachuntersuchung teilnahmen, wurden sechs Patienten (7,1%) mit einer CTEPH diagnostiziert. Diese Patienten hatten bei Aufnahme höhere Ang-2-Plasmakonzentrationen als Patienten, die keine CTEPH im Verlauf entwickelt haben (2,00 [25. bis 75. Perzentil: 1,40-3,30] ng/ml vs. 9,00 [25. bis 75. Perzentil: 4,68-19,60] ng/ml; p <0,001). Ang-2-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Aufnahme zeigten in der ROC-Analyse (AUC: 0,92) eine gute Klassifizierungsfähigkeit als prognostische Marker für die Diagnose einer CTEPH im Langzeitverlauf. Der Patientenkollektiv-optimierte Ang-2 Cut-Off-Wert $\geq 5,45$ ng/ml bei Aufnahme konnte als Prädiktor mit dem größten Odds Ratio für die Diagnose einer CTEPH im Langzeitverlauf identifiziert werden (OR 92,50 [95% KI 8,64-990,58; p <0,001]). Trotz der geringen Fallzahl des beobachtenden Studiendesigns deuten die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, dass Ang-2 möglicherweise ein geeigneter Biomarker für die Identifizierung von Lungenemboliepatienten ist, die im Verlauf mit einer CTEPH diagnostiziert werden und somit ggf. von regelmäßigen Nachuntersuchungen profitieren würden.

7 Literaturverzeichnis

- Alias S, Redwan B, Panzenbock A, Winter MP, Schubert U, Voswinckel R, Frey MK, Jakowitsch J, Alimohammadi A, Hobohm L (2014): Defective angiogenesis delays thrombus resolution: a potential pathogenetic mechanism underlying chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34, 810-819
- Anderson FA, Jr., Spencer FA (2003): Risk factors for venous thromboembolism. *Circulation* 107, I9-16
- Andreassen AK, Ragnarsson A, Gude E, Geiran O, Andersen R (2013): Balloon pulmonary angioplasty in patients with inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Heart* 99, 1415-1420
- Augustin HG, Koh GY, Thurston G, Alitalo K (2009): Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-Tie system. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10, 165-177
- Aujesky D, Obrosky DS, Stone RA, Auble TE, Perrier A, Cornuz J, Roy PM, Fine MJ (2005): Derivation and validation of a prognostic model for pulmonary embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 172, 1041-1046
- Aujesky D, Roy PM, Verschuren F, Righini M, Osterwalder J, Egloff M, Renaud B, Verhamme P, Stone RA, Legall C (2011): Outpatient versus inpatient treatment for patients with acute pulmonary embolism: an international, open-label, randomised, non-inferiority trial. *Lancet* 378, 41-48
- Barton WA, Tzvetkova D, Nikolov DB (2005): Structure of the angiopoietin-2 receptor binding domain and identification of surfaces involved in Tie2 recognition. *Structure* 13, 825-832
- Becattini C, Vedovati MC, Agnelli G (2007): Prognostic value of troponins in acute pulmonary embolism: a meta-analysis. *Circulation* 116, 427-433
- Bova C, Sanchez O, Prandoni P, Lankeit M, Konstantinides S, Vanni S, Jimenez D (2014): Identification of intermediate-risk patients with acute symptomatic pulmonary embolism. *Eur Respir J* 44, 694-703
- Cheung AH, Stewart RJ, Marsden PA (1998): Endothelial Tie2/Tek ligands angiopoietin-1 (ANGPT1) and angiopoietin-2 (ANGPT2): regional localization of the human genes to 8q22.3-q23 and 8p23. *Genomics* 48, 389-391
- Cho YJ, Ma JE, Yun EY, Kim YE, Kim HC, Lee JD, Hwang YS, Jeong YY (2011): Serum angiopoietin-2 levels are elevated during acute exacerbations of COPD. *Respirology* 16, 284-290
- Chong AY, Caine GJ, Freestone B, Blann AD, Lip GY (2004): Plasma angiopoietin-1, angiopoietin-2, and angiopoietin receptor tie-2 levels in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 43, 423-428
- Chu D, Sullivan CC, Du L, Cho AJ, Kido M, Wolf PL, Weitzman MD, Jamieson SW, Thistlethwaite PA (2004): A new animal model for pulmonary hypertension based on the

- overexpression of a single gene, angiopoietin-1. *Ann Thorac Surg* 77, 449-456; discussion 456-447
- Cohen AT, Agnelli G, Anderson FA, Arcelus JJ, Bergqvist D, Brecht JG, Greer IA, Heit JA, Hutchinson JL, Kakkar AK (2007): Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. *Thromb Haemost* 98, 756-764
- Condliffe R, Kiely DG, Gibbs JS, Corris PA, Peacock AJ, Jenkins DP, Hodgkins D, Goldsmith K, Hughes RJ, Sheares K (2008): Improved outcomes in medically and surgically treated chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 177, 1122-1127
- Coutance G, Cauderlier E, Ehtisham J, Hamon M, Hamon M (2011): The prognostic value of markers of right ventricular dysfunction in pulmonary embolism: a meta-analysis. *Crit Care* 15, R103
- Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, Folsom AR (2004): Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. *Am J Med* 117, 19-25
- David S, Kumpers P, Lukasz A, Fliser D, Martens-Lobenhoffer J, Bode-Boger SM, Kliem V, Haller H, Kielstein JT (2010): Circulating angiopoietin-2 levels increase with progress of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 25, 2571-2576
- David S, Mukherjee A, Ghosh CC, Yano M, Khankin EV, Wenger JB, Karumanchi SA, Shapiro NI, Parikh SM (2012): Angiopoietin-2 may contribute to multiple organ dysfunction and death in sepsis*. *Crit Care Med* 40, 3034-3041
- David S, Kumpers P, van Slyke P, Parikh SM (2013): Mending leaky blood vessels: the angiopoietin-Tie2 pathway in sepsis. *J Pharmacol Exp Ther* 345, 2-6
- Davis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, Ryan TE, Bruno J, Radziejewski C, Maisonpierre PC (1996): Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell* 87, 1161-1169
- Davis S, Papadopoulos N, Aldrich TH, Maisonpierre PC, Huang T, Kovac L, Xu A, Leidich R, Radziejewska E, Rafique A (2003): Angiopoietins have distinct modular domains essential for receptor binding, dimerization and superclustering. *Nat Struct Biol* 10, 38-44
- DeBusk LM, Hallahan DE, Lin PC (2004): Akt is a major angiogenic mediator downstream of the Ang1/Tie2 signaling pathway. *Exp Cell Res* 298, 167-177
- Dellas C, Puls M, Lankeit M, Schafer K, Cuny M, Berner M, Hasenfuss G, Konstantinides S (2010): Elevated heart-type fatty acid-binding protein levels on admission predict an adverse outcome in normotensive patients with acute pulmonary embolism. *J Am Coll Cardiol* 55, 2150-2157
- Dellas C, Tschepe M, Seeber V, Zwiener I, Kuhnert K, Schafer K, Hasenfuss G, Konstantinides S, Lankeit M (2014): A novel H-FABP assay and a fast prognostic score for risk assessment of normotensive pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 111, 996-1003

- Dentali F, Donadini M, Gianni M, Bertolini A, Squizzato A, Venco A, Ageno W (2009): Incidence of chronic pulmonary hypertension in patients with previous pulmonary embolism. *Thromb Res* 124, 256-258
- Du L, Sullivan CC, Chu D, Cho AJ, Kido M, Wolf PL, Yuan JX, Deutsch R, Jamieson SW, Thistlethwaite PA (2003): Signaling molecules in nonfamilial pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 348, 500-509
- Dumitrascu R, Weissmann N, Ghofrani HA, Dony E, Beuerlein K, Schmidt H, Stasch JP, Gnoth MJ, Seeger W, Grimminger F (2006): Activation of soluble guanylate cyclase reverses experimental pulmonary hypertension and vascular remodeling. *Circulation* 113, 286-295
- Dumont DJ, Gradwohl G, Fong GH, Puri MC, Gertsenstein M, Auerbach A, Breitman ML (1994): Dominant-negative and targeted null mutations in the endothelial receptor tyrosine kinase, tek, reveal a critical role in vasculogenesis of the embryo. *Genes Dev* 8, 1897-1909
- Evans J: Straightforward statistics for the behavioral sciences. Brooks/Cole Publishing Co., Pacific Grove, CA 1996
- Fauci A, Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J: Harrison's principles of internal medicine. 17. Auflage; McGraw-Hill Professional, New York 2008
- Fiedler U, Krissl T, Koidl S, Weiss C, Koblizek T, Deutsch U, Martiny-Baron G, Marme D, Augustin HG (2003): Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 share the same binding domains in the Tie-2 receptor involving the first Ig-like loop and the epidermal growth factor-like repeats. *J Biol Chem* 278, 1721-1727
- Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, Hegen A, Grunow V, Schmidt JM, Kriz W, Thurston G, Augustin HG (2004): The Tie-2 ligand angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *Blood* 103, 4150-4156
- Fiedler U, Augustin HG (2006): Angiopoietins: a link between angiogenesis and inflammation. *Trends Immunol* 27, 552-558
- Gale NW, Thurston G, Davis S, Wiegand SJ, Holash J, Rudge JS, Yancopoulos GD (2002): Complementary and coordinated roles of the VEGFs and angiopoietins during normal and pathologic vascular formation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 67, 267-273
- Galiè N, Hoepfer MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, Beghetti M, Corris P, Gaine S, Gibbs JS (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 Heart J* 30, 2493-2537
- Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, Gibbs S, Lang I, Torbicki A, Simonneau G, Peacock A, Vonk Noordegraaf A, Beghetti M (2015): 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European

Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J* 46, 903-975

Ghaye B, Ghuysen A, Bruyere PJ, D'Orio V, Dondelinger RF (2006): Can CT pulmonary angiography allow assessment of severity and prognosis in patients presenting with pulmonary embolism? What the radiologist needs to know. *Radiographics* 26, 23-39; discussion 39-40

Ghofrani HA, D'Armini AM, Grimminger F, Hoeper MM, Jansa P, Kim NH, Mayer E, Simonneau G, Wilkins MR, Fritsch A (2013): Riociguat for the treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 369, 319-329

Goldhaber SZ, Bounameaux H (2012): Pulmonary embolism and deep vein thrombosis. *Lancet* 379, 1835-1846

Guérin L, Couturaud F, Parent F, Revel MP, Gillaizeau F, Planquette B, Pontal D, Guegan M, Simonneau G, Meyer G (2014): Prevalence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after acute pulmonary embolism. Prevalence of CTEPH after pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 112, 598-605

Hach-Wunderle V (2005): [Interdisciplinary S2 guidelines. Diagnosis and therapy in bone and deep venous thrombosis and pulmonary embolism]. *Hamostaseologie* 25, 219-236; quiz 237-218

Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ, 3rd (1999): Predictors of survival after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based, cohort study. *Arch Intern Med* 159, 445-453

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, 1245-1248

Heit JA (2008): The epidemiology of venous thromboembolism in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28, 370-372

Hellenkamp K, Schwung J, Rossmann H, Kaeberich A, Wachter R, Hasenfuss G, Konstantinides S, Lankeit M (2015): Risk stratification of normotensive pulmonary embolism: prognostic impact of copeptin. *Eur Respir J* 46, 1701-1710

Hobohm L, Hellenkamp K, Hasenfuss G, Munzel T, Konstantinides S, Lankeit M (2016): Comparison of risk assessment strategies for not-high-risk pulmonary embolism. *Eur Respir J* 47, 1170-1178

Hoeper MM, Mayer E, Simonneau G, Rubin LJ (2006): Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 113, 2011-2020

Inami T, Kataoka M, Shimura N, Ishiguro H, Yanagisawa R, Taguchi H, Fukuda K, Yoshino H, Satoh T (2013): Pulmonary edema predictive scoring index (PEPSI), a new index to predict risk of reperfusion pulmonary edema and improvement of hemodynamics in percutaneous transluminal pulmonary angioplasty. *JACC Cardiovasc Interv* 6, 725-736

- Jimenez D, Aujesky D, Moores L, Gomez V, Lobo JL, Uresandi F, Otero R, Monreal M, Muriel A, Yusen RD (2010): Simplification of the pulmonary embolism severity index for prognostication in patients with acute symptomatic pulmonary embolism. *Arch Intern Med* 170, 1383-1389
- Käberich A, Warntges S, Konstantinides S (2014): Risk-adapted management of acute pulmonary embolism: recent evidence, new guidelines. *Rambam Maimonides Med J* 5, e0040
- Kahn SR, Shrier I, Julian JA, Ducruet T, Arsenault L, Miron MJ, Roussin A, Desmarais S, Joyal F, Kassis J (2008): Determinants and time course of the postthrombotic syndrome after acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 149, 698-707
- Kasper W, Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, Heinrich F, Grosser KD, Rauber K, Iversen S, Redecker M, Kienast J (1997): Management strategies and determinants of outcome in acute major pulmonary embolism: results of a multicenter registry. *J Am Coll Cardiol* 30, 1165-1171
- Kim NH, Delcroix M, Jenkins DP, Channick R, Dartevielle P, Jansa P, Lang I, Madani MM, Ogino H, Pengo V (2013): Chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 62, D92-99
- Kimura H, Okada O, Tanabe N, Tanaka Y, Terai M, Takiguchi Y, Masuda M, Nakajima N, Hiroshima K, Inadera H (2001): Plasma monocyte chemoattractant protein-1 and pulmonary vascular resistance in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 164, 319-324
- Klok FA, Tijmensen JE, Haeck ML, van Kralingen KW, Huisman MV (2008): Persistent dyspnea complaints at long-term follow-up after an episode of acute pulmonary embolism: results of a questionnaire. *Eur J Intern Med* 19, 625-629
- Klok FA, van Kralingen KW, van Dijk AP, Heyning FH, Vliegen HW, Huisman MV (2010a): Prospective cardiopulmonary screening program to detect chronic thromboembolic pulmonary hypertension in patients after acute pulmonary embolism. *Haematologica* 95, 970-975
- Klok FA, van Kralingen KW, van Dijk AP, Heyning FH, Vliegen HW, Kaptein AA, Huisman MV (2010b): Quality of life in long-term survivors of acute pulmonary embolism. *Chest* 138, 1432-1440
- Klok FA, van der Hulle T, den Exter PL, Lankeit M, Huisman MV, Konstantinides S (2014): The post-PE syndrome: a new concept for chronic complications of pulmonary embolism. *Blood Rev* 28, 221-226
- Konstantinides SV, Torbicki A, Agnelli G, Danchin N, Fitzmaurice D, Galie N, Gibbs JS, Huisman MV, Humbert M, Kucher N (2014): 2014 ESC guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism. *Eur Heart J* 35, 3033-3069, 3069a-3069k
- Kucher N, Rossi E, De Rosa M, Goldhaber SZ (2005): Prognostic role of echocardiography among patients with acute pulmonary embolism and a systolic arterial pressure of 90 mm Hg or higher. *Arch Intern Med* 165, 1777-1781

- Kümpers P, Nickel N, Lukasz A, Golpon H, Westerkamp V, Olsson KM, Jonigk D, Maegel L, Bockmeyer CL, David S (2010): Circulating angiopoietins in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 31, 2291-2300
- Lang IM, Pesavento R, Bonderman D, Yuan JX (2013): Risk factors and basic mechanisms of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a current understanding. *Eur Respir J* 41, 462-468
- 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, 1018-1025
- Lankeit M, Jimenez D, Kostrubiec M, Dellas C, Hasenfuss G, Pruszczyk P, Konstantinides S (2011): Predictive value of the high-sensitivity troponin T assay and the simplified Pulmonary Embolism Severity Index in hemodynamically stable patients with acute pulmonary embolism: a prospective validation study. *Circulation* 124, 2716-2724
- Lankeit M, Jimenez D, Kostrubiec M, Dellas C, Kuhnert K, Hasenfuss G, Pruszczyk P, Konstantinides S (2014): Validation of N-terminal pro-brain natriuretic peptide cut-off values for risk stratification of pulmonary embolism. *Eur Respir J* 43, 1669-1677
- Lemieux C, Maliba R, Favier J, Theoret JF, Merhi Y, Sirois MG (2005): Angiopoietins can directly activate endothelial cells and neutrophils to promote proinflammatory responses. *Blood* 105, 1523-1530
- Link A, Pöss J, Rbahr R, Barth C, Feth L, Selejan S, Böhm M (2013): Circulating angiopoietins and cardiovascular mortality in cardiogenic shock. *Eur Heart J* 34, 1651-1662
- Lobov IB, Brooks PC, Lang RA (2002): Angiopoietin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 11205-11210
- Lukasz A, Hellpap J, Horn R, Kielstein JT, David S, Haller H, Kümpers P (2008): Circulating angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in critically ill patients: development and clinical application of two new immunoassays. *Crit Care* 12, R94
- Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, Compton D, McClain J, Aldrich TH, Papadopoulos N (1997): Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 277, 55-60
- Mandriota SJ, Pyke C, Di Sanza C, Quinodoz P, Pittet B, Pepper MS (2000): Hypoxia-inducible angiopoietin-2 expression is mimicked by iodonium compounds and occurs in the rat brain and skin in response to systemic hypoxia and tissue ischemia. *Am J Pathol* 156, 2077-2089
- Meyer G, Vicaut E, Danays T, Agnelli G, Becattini C, Beyer-Westendorf J, Bluhmki E, Bouvaist H, Brenner B, Couturaud F (2014): Fibrinolysis for patients with intermediate-risk pulmonary embolism. *N Engl J Med* 370, 1402-1411
- 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, 864-871

- Monreal M, Falga C, Valle R, Barba R, Bosco J, Beato JL, Maestre A, Investigators R (2006): Venous thromboembolism in patients with renal insufficiency: findings from the RIETE Registry. *Am J Med* 119, 1073-1079
- Moser KM, Auger WR, Fedullo PF (1990): Chronic major-vessel thromboembolic pulmonary hypertension. *Circulation* 81, 1735-1743
- Murin S, Romano PS, White RH (2002): Comparison of outcomes after hospitalization for deep venous thrombosis or pulmonary embolism. *Thromb Haemost* 88, 407-414
- National Kidney F (2002): K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39, S1-266
- Nusbaum C, Mikkelsen TS, Zody MC, Asakawa S, Taudien S, Garber M, Kodira CD, Schueler MG, Shimizu A, Whittaker CA (2006): DNA sequence and analysis of human chromosome 8. *Nature* 439, 331-335
- Oh H, Takagi H, Suzuma K, Otani A, Matsumura M, Honda Y (1999): Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively up-regulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. *J Biol Chem* 274, 15732-15739
- Papathanasopoulos P, Mallioris K, Karanasios P, Dimopoulos D, Papapetropoulos T (2000): Febrile Hashimoto's encephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 68, 795
- Pedowska-Wloszek J, Kostrubiec M, Kurnicka K, Ciurzynski M, Palczewski P, Pruszczyk P (2013): Midregional proadrenomedullin (MR-proADM) in the risk stratification of patients with acute pulmonary embolism. *Thromb Res* 132, 506-510
- Pepke-Zaba J, Delcroix M, Lang I, Mayer E, Jansa P, Ambroz D, Treacy C, D'Armini AM, Morsolini M, Snijder R (2011): Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH): results from an international prospective registry. *Circulation* 124, 1973-1981
- 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, 1386-1390
- Pöss J, Fuernau G, Denks D, Desch S, Eitel I, de Waha S, Link A, Schuler G, Adams V, Bohm M (2015): Angiopoietin-2 in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock- a biomarker substudy of the IABP-SHOCK II-Trial. *Eur J Heart Fail* 17, 1152-1160
- Prandoni P, Lensing AW, Cogo A, Cuppini S, Villalta S, Carta M, Cattelan AM, Polistena P, Bernardi E, Prins MH (1996): The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. *Ann Intern Med* 125, 1-7
- Puls M, Dellas C, Lankeit M, Olschewski M, Binder L, Geibel A, Reiner C, Schafer K, Hasenfuss G, Konstantinides S (2007): Heart-type fatty acid-binding protein permits early risk stratification of pulmonary embolism. *Eur Heart J* 28, 224-229

- Riedel M, Stanek V, Widimsky J, Prerovsky I (1982): Longterm follow-up of patients with pulmonary thromboembolism. Late prognosis and evolution of hemodynamic and respiratory data. *Chest* 81, 151-158
- Rogers MA, Levine DA, Blumberg N, Flanders SA, Chopra V, Langa KM (2012): Triggers of hospitalization for venous thromboembolism. *Circulation* 125, 2092-2099
- Roviezzo F, Tsigkos S, Kotanidou A, Bucci M, Brancaleone V, Cirino G, Papapetropoulos A (2005): Angiopoietin-2 causes inflammation in vivo by promoting vascular leakage. *J Pharmacol Exp Ther* 314, 738-744
- Roy PM, Colombet I, Durieux P, Chatellier G, Sors H, Meyer G (2005): Systematic review and meta-analysis of strategies for the diagnosis of suspected pulmonary embolism. *BMJ* 331, 259
- Schermuly RT, Stasch JP, Pullamsetti SS, Middendorff R, Muller D, Schluter KD, Dingendorf A, Hackemack S, Kolosionek E, Kaulen C (2008): Expression and function of soluble guanylate cyclase in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 32, 881-891
- Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celermajer D, Denton C, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Krishna Kumar R, Landzberg M, Machado RF (2013): Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 62, D34-41
- Stein PD, Kayali F, Olson RE (2004): Estimated case fatality rate of pulmonary embolism, 1979 to 1998. *Am J Cardiol* 93, 1197-1199
- Sullivan CC, Du L, Chu D, Cho AJ, Kido M, Wolf PL, Jamieson SW, Thistlethwaite PA (2003): Induction of pulmonary hypertension by an angiopoietin 1/TIE2/serotonin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 12331-12336
- Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonpierre PC, Davis S, Sato TN, Yancopoulos GD (1996): Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell* 87, 1171-1180
- Teichert-Kuliszewska K, Kutryk MJ, Kuliszewski MA, Karoubi G, Courtman DW, Zucco L, Granton J, Stewart DJ (2006): Bone morphogenetic protein receptor-2 signaling promotes pulmonary arterial endothelial cell survival: implications for loss-of-function mutations in the pathogenesis of pulmonary hypertension. *Circ Res* 98, 209-217
- 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, 1685-1689
- Thurston G, Rudge JS, Ioffe E, Zhou H, Ross L, Croll SD, Glazer N, Holash J, McDonald DM, Yancopoulos GD (2000): Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage. *Nat Med* 6, 460-463
- Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, Agnelli G, Galie N, Pruszczyk P, Bengel F, Brady AJ, Ferreira D, Janssens U (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, 2276-2315

- Tsigkos S, Zhou Z, Kotanidou A, Fulton D, Zakynthinos S, Roussos C, Papapetropoulos A (2006): Regulation of Ang2 release by PTEN/PI3-kinase/Akt in lung microvascular endothelial cells. *J Cell Physiol* 207, 506-511
- Valenzuela DM, Griffiths JA, Rojas J, Aldrich TH, Jones PF, Zhou H, McClain J, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA (1999): Angiopoietins 3 and 4: diverging gene counterparts in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 1904-1909
- Walther A, Schellhaass A, Bottiger BW, Konstantinides S, Europaischen Gesellschaft fur K (2009): [Diagnosis, therapy and secondary prophylaxis of acute pulmonary embolism. Presentation of and commentary on the new ESC 2008 guidelines]. *Anaesthesist* 58, 1048-1054
- Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Stiell I, Dreyer JF, Barnes D, Forgie M, Kovacs G, Ward J, Kovacs MJ (2001): Excluding pulmonary embolism at the bedside without diagnostic imaging: management of patients with suspected pulmonary embolism presenting to the emergency department by using a simple clinical model and d-dimer. *Ann Intern Med* 135, 98-107
- White RH (2003): The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 107, I4-8
- Wilkens H, Lang I, Blankenburg T, Grohe C, Guth S, Held M, Klepetko W, Konstantinides S, Kramm T, Kruger U (2014): [Chronic thromboembolic pulmonary hypertension--a position paper]. *Dtsch Med Wochenschr* 139 Suppl 4, S155-165

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

Ang-1	Angiopoietin-1
Ang-2	Angiopoietin-2
AUC	area under the curve, Fläche unter der (ROC) Kurve
BMI	Body mass index
BNP	brain-natriuretisches Peptid
BPA	Ballonangioplastie
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CRP	C-reaktives Protein
CTEPH	Chronisch thromboembolische pulmonale Hypertension
EF	Ejektionsfraktion
EGF	Endothelial Growth Factor
ELICA	elektrochemischer Lumineszenz-Immunoassay
ELISA	Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay
ESC	European Society of Cardiology
GDF-15	growth-differentiation factor-15
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
H-FABP	heart-type fatty acid-binding protein
HR	Hazard Ratio
hsTnT	hoch sensitives Troponin T
ICD	implantierbarer Cardioverter-Defibrillator
IPAH	idiopathische pulmonalarterielle Hypertonie
IQR	Interquartile range
KI	Konfidenzintervall
LV	linker Ventrikel
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MR-proADM	Proadrenomedullin
NT-proBNP	N-terminales-pro brain-natriuretisches Peptid
OR	Odds Ratio

PAH	pulmonalarterielle Hypertension
PH	pulmonale Hypertonie
PA	pulmonalarteriell
PEITHO	Pulmonary Embolism Thrombolysis Study
PESI	Pulmonary Embolism Severity Index
PVR	pulmonary vascular resistance, pulmonaler Gefäßwiderstand
RIETE	Registro Informatizado de Enfermedad TromboEmbólica
RT	Raumtemperatur
ROC	Receiver operating characteristics
RV	rechtsventrikulär / rechter Ventrikel
RVEDD	rechtsventrikulärer enddiastolischer Diameter
sPESI	simplifizierte Pulmonary Embolism Severity Index
S _p O ₂	pulsoxymetrisch gemessene Sauerstoffsättigung
SvO ₂	zentralvenöse Sauerstoffsättigung
TTE	transthorakale Echokardiographie
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vWF	von-Willebrand-Faktor

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Aufbau des Tie-2-Rezeptors. Modifiziert nach einem Übersichtsartikel von Augustin et al. 2009. Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.	12
Abbildung 2	Dreidimensionale Tertiärstruktur von Ang-2 (Barton et al. 2005). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.	12
Abbildung 3	Korrelation von Ang-2-Plasmakonzentration bei Aufnahme (t0h) mit GFR (t0h) (A), hsTnT (t0h) (B), NT-proBNP (t0h) (C) und Korrelation von Ang-2-Plasmakonzentration nach 24 Stunden (t24h) mit GFR (t24h) (D), hsTnT (t24h) (E), NT-proBNP (t24h) (F).	31
Abbildung 4	Ang-2-Plasmakonzentrationen zum Zeitpunkt der Aufnahme (hellgrau) und nach 24 Stunden (dunkelgrau) bei Patienten mit (rechts) bzw. ohne (links) chronische Herzinsuffizienz (A), bei Patienten mit (rechts) bzw. ohne (links) chronische Niereninsuffizienz (B) und Risikostratifizierung der Patienten (C) in „Hochrisiko“-Lungenembolie (rechts) und „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie (links).	32
Abbildung 5	Ang-2-Konzentrationen bei Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) bei Patienten mit kompliziertem (rechts) und unkompliziertem (links) Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage.	34
Abbildung 6	Roc-Kurve für Ang-2 zum Zeitpunkt der Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) in Hinblick auf den primären Endpunkt bei 159 normotensiven Patienten mit Lungenembolie.	36
Abbildung 7	Roc-Kurve für Ang-2 bei Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) in Hinblick auf den sekundären Endpunkt bei 182 Patienten mit Lungenembolie.	38
Abbildung 8	Wahrscheinlichkeit von Langzeitüberleben bei Patienten mit einer Ang-2-Konzentration $\geq 3,15$ ng/ml (dunkelgrau) und einer Ang-2-Konzentration $< 3,15$ ng/ml (hellgrau) zum Zeitpunkt der Aufnahme.	39
Abbildung 9	Ang-2-Konzentrationen bei Aufnahme (A) und nach 24 Stunden (B) bei Patienten mit Diagnose einer CTEPH während der Langzeitbeobachtung (rechts) verglichen mit Patienten ohne Diagnose einer CTEPH (links).	43

8.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Risikostratifizierung von „Nicht-Hochrisiko“-Patienten hinsichtlich eines frühzeitigen Versterbens an einer akuten Lungenembolie. Modifiziert nach den Leitlinien zu Diagnose und Management der Lungenembolie der ESC (Konstantinides et al. 2014, S. 3051).	7
Tabelle 2	Klinische Einteilung der pulmonalen Hypertonie modifiziert nach der Leitlinie der ESC (Galie et al. 2015, S. 73).	8
Tabelle 3	Verwendete Lösungen mit ihrer Zusammensetzung.	22
Tabelle 4	Charakteristika, Risikofaktoren, Begleiterkrankungen, Symptome und ausgewählte Standard-Laborparameter der 182 Studienpatienten. Patienten mit „Hochrisiko“- und „Nicht-Hochrisiko“-Lungenembolie werden verglichen.	28
Tabelle 5	Vergleich von Ang-2-Plasmakonzentrationen bei verschiedenen Patientengruppen bei Aufnahme und nach 24 Stunden.	32
Tabelle 6	Prognostische Sensitivität und Spezifität von Biomarkern, dem sPESI und einer RV-Dysfunktion in Hinblick auf den primären Endpunkt bei 159 normotensiven Patienten mit Lungenembolie.	35
Tabelle 7	Prädiktoren für einen komplizierten Verlauf innerhalb der ersten 30 Tage bei 159 normotensiven Patienten mit Lungenembolie.	37
Tabelle 8	Prädiktoren für Langzeitmortalität bei 182 Patienten mit Lungenembolie.	40
Tabelle 9	Charakteristika, Begleiterkrankungen, Symptome bei Aufnahme und echokardiographische Parameter sowohl zum Zeitpunkt der Aufnahme als auch bei der klinischen Nachbeobachtungsuntersuchung von sechs Patienten mit diagnostizierter CTEPH.	41
Tabelle 10	Prognostische Marker für die Entwicklung einer CTEPH bei 84 Patienten zum Zeitpunkt der Lungenembolie.	44

8.4 Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie

Universitätsmedizin Göttingen, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen
Priv.-Doz. Dr. med. C. Dellas, Abteilung Kardiologie und Pneumologie



Patienteninformation für die Studie

„Biomarkerbasierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

bei Ihnen ist eine akute Lungenembolie festgestellt worden.

Bei einer akuten Lungenembolie handelt es sich um die Verstopfung einer Lungenarterie durch ein Blutgerinnsel. Kleine Gerinnsel sind nicht gefährlich und lösen sich innerhalb weniger Tage spontan auf. Bei größeren Gerinnseln kommt es jedoch zu einem Druckanstieg in den Blutgefäßen der Lunge, der zu einer Störung der Herzfunktion führen kann. In diesem Fall kann es möglicherweise zu lebensbedrohlichen Situationen kommen.

Die Risikostratifizierung dient der Abschätzung des individuellen Risikos eines Patienten, an der Lungenembolie zu versterben oder schwere Komplikationen zu entwickeln. Dies soll dann eine individuelle risikoadaptierte Therapie ermöglichen. Bisher wird diese Abschätzung durch Verfahren zur Beurteilung der Herzfunktion, wie dem Herzultraschall oder einer CT-Untersuchung sowie anhand von Laborwerten (Herztroponine) im Blut durchgeführt. Diese Befunde können Hinweise darauf geben, dass ein erhöhtes Risiko besteht. Die genannten Verfahren unterliegen jedoch einigen Einschränkungen, so dass die Notwendigkeit zur Untersuchung neuer Biomarker für eine optimierte Risikostratifizierung besteht.

Wir möchten Sie daher bitten, an dieser wissenschaftlichen Studie freiwillig teilzunehmen.

Ziel der Studie ist es, neue Biomarker (Laborwerte) im Blut hinsichtlich ihrer Eignung für eine optimierte Risikostratifizierung von Patienten mit einer akuten Lungenembolie zu untersuchen. Die an der Studie beteiligten Ärzte erhoffen sich damit, in Zukunft eine Verbesserung der medizinischen Versorgung von Patienten mit einer akuten Lungenembolie erreichen zu können.

Studiendurchführung: Durch die Teilnahme an dieser Studie werden zusätzliche Blutabnahmen notwendig, aus denen die Biomarker bestimmt werden sollen. Die Blutproben werden dazu eingefroren gelagert. Weitere studienbedingte Untersuchungen sind nicht vorgesehen. Wir werden uns nach 6 Monaten (sowie ggf. erneut zu einem späteren Zeitpunkt) telefonisch mit Ihnen oder Ihrem Hausarzt in Verbindung setzen, um den Verlauf Ihrer Erkrankung zu erfragen.

Risiken: Diese Studie dient ausschließlich der Erhebung von patientenbezogenen Daten (sogenannte epidemiologische Studie). Eine therapeutische Intervention (z.B. durch die Gabe einer Prüfmedikation) ist

nicht vorgesehen. Die Studie hat keinen Einfluss auf Ihre Behandlung und die medizinische Betreuung liegt ausschließlich im Ermessen des behandelnden Arztes. Die im Rahmen der Studie gemessenen Biomarker werden den behandelnden Ärzten nicht mitgeteilt und zu keinem Zeitpunkt verwendet, um den Therapieerfolg zu überwachen oder Therapieentscheidungen zu beeinflussen.

Durch die Studienteilnahme kann für Sie durch die zusätzlichen Blutentnahmen ein geringes verfahrensspezifisches zusätzliches Risiko bestehen. Dazu zählen das Auftreten von blauen Flecken im Bereich der Einstichstelle und ein geringes Risiko für lokale oder allgemeine Infektionen. Sehr selten kann eine Verletzung eines Hautnervens auftreten, die evtl. einen chronischen Verlauf nehmen kann.

Vorteile: Durch die Studienteilnahme besteht für Sie kein unmittelbarer Nutzen.

Vertraulichkeit und Datenschutz: Die an der Studie beteiligten Ärzte und Medizinstudenten unterliegen grundsätzlich der ärztlichen Schweigepflicht.

Für die Studie relevante personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, werden durch Befragung von Ihnen, Ihrem Hausarzt und Ihren betreuenden Ärzten sowie durch Einsicht in Ihre Krankenakte erhoben.

Die elektronische Speicherung und Auswertung Ihrer Daten sowie die Archivierung Ihrer Blutproben erfolgt pseudonymisiert (also durch Verschlüsselung mit einem Nummerncode). Die Zuordnung von Daten oder Laborwerten aus den Blutproben zu einer Person ist nur durch den Einsatz des Schlüssels möglich, der für die Pseudonymisierung verwendet wurde. Die personenbezogenen Daten und die Blutproben werden unter besonderen Schutzvorkehrungen getrennt von den pseudonymisierten Daten aufbewahrt. Eine Entschlüsselung ist nur durch die verantwortlichen Studienärzte möglich. Eine Weitergabe der Daten ist nicht vorgesehen. Die Speicherung der Patientendaten und Identifizierungsschlüssel erfolgt für 15 Jahre, die Aufbewahrung der Blutproben 10 Jahre. Ergebnisse der Studie sollen in medizinischen oder wissenschaftlichen Zeitschriften publiziert werden, Sie bleiben als Patient dabei jedoch anonym. Sollten Sie Ihre Studienteilnahme widerrufen, werden die gespeicherten Patientendaten gelöscht und die gelagerten Blutproben verworfen (entsorgt).

Studienteilnahme und Widerrufsmöglichkeit: Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig und Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen von der Teilnahme zurücktreten. Wenn Sie sich entscheiden sollten, an dieser Studie nicht teilzunehmen oder Ihre Teilnahme widerrufen, wird dies keinen Einfluss auf Ihre medizinische Betreuung oder das Verhältnis zwischen Ihnen und den behandelnden Ärzten haben.

Göttingen, August 2010

Priv.-Doz. Dr. med. C. Dellas
Studienleiterin (Tel.: 39-12575)

Dr. med. M. Lankeit
Studienärztin (Tel.: 39-12575)

Universitätsmedizin Göttingen, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen
Priv.-Doz. Dr. med. C. Dellas, Abteilung Kardiologie und Pneumologie



Einverständniserklärung zur Studie

„Biomarkerbasierte Risikostratifizierung von Patienten mit akuter Lungenembolie“

Hiermit bestätige ich, dass ich von der unterzeichnenden Ärztin/dem unterzeichnenden Arzt über die Art, die Bedeutung, Risiken und Nutzen sowie den Umfang der o.g. wissenschaftlichen Studie aufgeklärt wurde. Ich habe die Patienteninformation gelesen und verstanden und hatte Gelegenheit, Fragen zu stellen. Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser Einverständniserklärung erhalten. Ich wurde darüber informiert, dass meine Teilnahme an der o.g. wissenschaftlichen Studie für mich mit einem geringen Risiko durch zusätzliche Blutabnahmen verbunden sein kann und mit keinem direkten Nutzen verbunden ist.

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zur Teilnahme an o.g. wissenschaftlicher Studie zu entscheiden und meine Einwilligung erfolgt freiwillig. Ich weiß, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann, ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auf meine ärztliche Behandlung oder medizinische Betreuung auswirken wird.

Mir ist bekannt und ich bin damit einverstanden, dass personenbezogene Daten, die über mich erhoben werden und Blutproben, die von mir archiviert werden, in verschlüsselter Form (pseudonymisiert) gespeichert und ausgewertet werden. Ich stimme der Aufbewahrung der personenbezogenen Daten (Patientendaten und Identifizierungsschlüssel für 15 Jahre, Blutproben für 10 Jahre) zu. Ich wurde darüber informiert und ich gebe mein Einverständnis, dass die Entschlüsselung der Patientendaten nur durch die verantwortlichen Studienärzte möglich und keine Weitergabe der Daten vorgesehen ist.

Hiermit erkläre ich meine freiwillige Einwilligung zu einer Teilnahme an der o.g. wissenschaftlichen Studie. Ich bin mit der Datenerhebung, der pseudonymisierten Verarbeitung und Weitergabe der Daten in beschriebener Art und Weise einverstanden.

_____, den _____
Ort, Datum

Unterschrift der Patientin / des Patienten

_____, den _____
Ort, Datum

Unterschrift der aufklärenden Ärztin /
des aufklärenden Arztes

8.5 Datenerfassungsbogen für das Pulmonary Embolism Registry Göttingen

Patientendaten

Geburtsdatum: _____.____.19____ Geschlecht: m w
Aufnahmedatum: _____.____.20____ Entlassungs-/Todesdatum: _____.____.20____ (entlassen von
Station _____)
Größe: _____ cm Gewicht: _____ kg BMI: _____
Hausarzt: _____
Aufklärung über FU: ja nein ; einverstanden: ja nein
Telefonnummer. privat: _____

Teilnahme an klinischen Studien

Der Patient wurde außerdem in eine klinische Studie eingeschlossen: ja nein
wenn ja, welche Studie: _____

Initiale Risikostratifizierung

Einteilung*: Hoch-Risiko Nicht-hoch-Risiko

*Definition:

- Die Risikostratifizierung erfolgt anhand des Blutdrucks bei Aufnahme bzw. vor Beginn einer Therapie.
- Als Hoch-Risiko Patienten werden Patienten definiert, die einen systolischen RR < 90 mmHg bzw. einen Blutdruckabfall um ≥ 40 mmHg in > 15 min erleiden, insofern dieser nicht durch eine neu-aufgetretene Arrhythmie, Hypovolämie oder Sepsis erklärbar ist. Dazu zählen auch alle Patienten, die vor Beginn einer Therapie reanimiert wurden bzw. eine prähospital Lyse erhalten haben.
- Nicht-hoch-Risiko sind alle Patienten mit einem syst. RR ≥ 90 mmHg.

Weiterführende Risikostratifizierung

Einteilung*: Niedrig-Risiko Mittleres-Risiko

*Definition:

- Als Mittleres-Risiko Patienten werden Patienten definiert, bei denen Zeichen der Rechtsherzbelastung in der Echokardiographie oder im CT und / oder erhöhte Biomarker Plasmakonzentrationen (hoch sensitives Troponin T ≥ 14 pg/ml oder Troponin I ≥ 13 ng/l ♀ / ≥ 33 ng/l ♂, BNP ≥ 100 pg/ml oder NT-proBNP ≥ 1000 pg/ml) zum Zeitpunkt der Aufnahme nachgewiesen werden können.
- Als Niedrig-Risiko werden Patienten definiert, die weder eine mit bildgebenden Verfahren nachgewiesene Rechtsherzbelastung noch erhöhte Biomarkerkonzentrationen aufweisen.

Rechtsherzbelastung:

Echokardiographie: ja nein
Spiral-CT: ja nein

Biomarker: (gemessen im Aufnahmelaabor)

Troponin I: _____ ng/l (Troponin I ≥ 13 ng/l ♀ / ≥ 33 ng/l ♂)
HTnT: _____ ng/l (hsTnT ≥ 14 pg/ml)
BNP: _____ ng/l = pg/ml
NT-proBNP: _____ pg/ml (NT-proBNP ≥ 1000 pg/ml)

Klinische Wahrscheinlichkeit einer Lungenembolie: Wells Score

Klinische Charakteristik	ja	nein	Score
Klinische Charakteristik einer TVT			+3,0
Lungenembolie wahrscheinlicher als andere Diagnose			+3,0
Herzfrequenz > 100/ min.			+1,5
Immobilisation oder OP (in den vergangenen 4 Wochen)			+1,5
Frühere TVT oder Lungenembolie			+1,5
Hämoptysen			+1,0
Krebserkrankung (aktiv oder in den vergangenen 6 Monaten)			+1,0
Wahrscheinlichkeit einer Lungenembolie	Score:		
gering: 1 (< 2,0); mittel: 2 (2,0-6,0); hoch: 3 (> 6,0)			

Klinische Wahrscheinlichkeit einer Lungenembolie: Revidierter Genfer Score

Klinische Charakteristik	ja	nein	Score
Alter > 65 Jahre			+1
Frühere TVT oder Lungenembolie			+3
OP oder Knochenfraktur innerhalb des letzten Monats			+2
Aktive Krebserkrankung			+2
Einseitiger Beinschmerz			+3
Hämoptysen			+2
Herzfrequenz (bei Aufnahme/Diagnosestellung) 75-94/min			+3
Herzfrequenz (bei Aufnahme/Diagnosestellung) ≥ 95 /min			+5
Schmerzen entlang tiefer Beinvene, einseitiges Ödem			+4
Wahrscheinlichkeit einer Lungenembolie	Score:		
gering: 1 (0-3); mittel: 2 (4-10); hoch: 3 (≥ 11)			

Pulmonary Embolism Severity Index (PESI) Score

Parameter	ja	nein	Score
Alter			Alter in Jahren
Männliches Geschlecht			+10
Krebserkrankung			+30
Herzinsuffizienz			+10
Chronische Lungenerkrankung			+10
Herzfrequenz ≥ 110 /min			+20
Systolischer RR < 100 mmHg			+30
Atemfrequenz ≥ 30 /min			+20
Temperatur < 36 °C			+20
Neuaufgetretene Psychische Auffälligkeit*			+60
Arterielle O ₂ -Sättigung < 90%**			+20
Summe:	Klasse:		
Klasse I: ≤ 65; Klasse II: 66-85; Klasse III: 86-105, Klasse IV: 106-125, Klasse V: > 125 Punkte			

*definiert als Verwirrtheit, Lethargie, Stupor, Koma

**mit oder ohne O₂-Gabe nach Aujesky et al., Am J Resp Crit Care Med 2005; 172:1041-1046

simplifizierter PESI (sPESI) Score

Parameter	ja	nein	Score
Alter > 80 Jahre			+1
Krebserkrankung			+1
Herzinsuffizienz und / oder chronischen Lungenerkrankung			+1
Herzfrequenz \geq 110/min			+1
Systolischer Blutdruck < 100 mmHg			+1
Arterielle O ₂ -Sättigung < 90%*			+1
Summe:	<input type="checkbox"/> Niedrig-Risiko (0 Punkte)		<input type="checkbox"/> Hoch-Risiko(\geq 1 Punkt(e))

*mit oder ohne O₂-Gabe nach Jiménez et al., Arch Intern Med 2010; 170:1383-1389

Anamnese

Risikofaktoren für LE

Z.n. tiefer Beinvenenthrombose	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; wann _____
Z.n. Lungenembolie	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; wann _____
Nikotin	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; pack year ___ bis wann _____
Z.n. OP (innerhalb der letzten 4 Wochen)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Immobilisierung (innerhalb der letzten 4 Wochen)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Z.n. Trauma (innerhalb der letzten 4 Wochen)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Port / ZVK / SM / ICD	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Gravidität / postpartum (6 Wochen)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; SSW _____
Reise	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
bekanntes Hyperkoagulabilität	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Krebserkrankung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Metastasen	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
aktuelle Chemotherapie	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>

Vorerkrankungen

Herzinsuffizienz	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Koronare Herzkrankheit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Z.n. ACS	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; wann _____
COPD / Asthma / PAH	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Arterieller Hypertonus	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
pAVK	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Z.n. Apoplex / PRIND / TIA	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; wann _____
Hyperlipoproteinämie	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Diabetes mellitus	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; Typ _____
Niereninsuffizienz	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; akut <input type="checkbox"/> chronisch <input type="checkbox"/>
Lebererkrankung (Fibrose, Hepatitis)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Alkoholabusus	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Z.n. Blutung (z.B. GI Blutung)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Erhöhte Sturzneigung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Chron. inflamm. Darmerkrankung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
Rheumatoide Erkrankung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____

Vormedikation

Kontrazeptiva / Hormonpräp.	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
therapeutische Antikoagulation	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
<input type="checkbox"/> VKA <input type="checkbox"/> Rivaroxaban <input type="checkbox"/> Apixaban <input type="checkbox"/> Dabigatran <input type="checkbox"/> NMH <input type="checkbox"/> Fondaparinux <input type="checkbox"/> UFH	
prophylaktische Antikoagulation	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
<input type="checkbox"/> Rivaroxaban <input type="checkbox"/> Apixaban <input type="checkbox"/> Dabigatran <input type="checkbox"/> NMH <input type="checkbox"/> Fondaparinux <input type="checkbox"/> UFH	
ASS	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ; welche _____
thrombozytäre ADP P2Y12 Inhibitoren	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Cortison / Immunsupp.	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Sonstige: _____	

Symptomatik

Beginn der Symptomatik: keine innerh. 24h (~___h.v.A.) 1-4d 4-14d > 14d

Beinschwellung/-schmerzen ja nein

thorakale Schmerzen ja nein

Dyspnoe ja nein

Hämoptysen ja nein

Synkope ja nein

Herzrhythmusstörungen ja nein ; supraventrikulär ventrikulär

kardiogener Schock (nach Definition) ja nein

Herzstillstand / Reanimation ja nein

reduzierter mentaler Zustand ja nein

(Desorientierung, Lethargie, Koma, Somnolenz, Stupor)

Apoplex / PRIND / TIA ja nein

paradoxe arterielle Embolie ja nein

Klinischer Status bei Diagnose

Puls ____/min (NA) RR ____/____mmHg (NA) Atemfrequenz ____/min (NA)

SaO₂ ____% ohne O₂-Gabe (NA) SaO₂ ____% unter ____l O₂ (NA)

PO₂ (art.) ____mmHg ohne O₂-Gabe PO₂ ____mmHg unter ____l O₂

PCO₂ (art.) ____mmHg Temperatur ____°C

Diagnostik

Echokardiographie (Befund kopieren und archivieren)

durchgeführt ja nein ; Datum, Uhrzeit: _____

RV-Dilatation (RV>LV) ja nein

RVD1,2,3(<42,35,86) _____mm

RVEDD: _____mm (bis 30mm normal)

LVEDD: _____mm

paradoxe Septumbewegung ja nein

VCI gestaut ja nein

TR-Jet Geschwindigkeit: _____m/s

TI ja nein ; Grad ____° (MI ____° , AI ____°)

geschätzter PAPsys: _____mmHg

TAPSE _____mm

LV-Funktion normal eingeschränkt EF ____%

alternativ: leichtgradig / mittelgradig / hochgradig eingeschränkt

RHB (nach Definition) ja nein

intrakardiale Thromben ja nein ; wenn ja, TTE TEE CT

PFO ja nein

Elektrokardiogramm (EKG) (bei Aufnahme, Befund kopieren und archivieren)

SIQIII-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

Lungenembolie bzw. TVT gesichert durch (Befund kopieren und archivieren)

Pulmonalisangiographie ja nein
 Kompressions-Sonographie ja nein ; TVT ja nein ; wo _____
 Phlebographie ja nein ; TVT ja nein ; wo _____
 Lungenszintigramm ja nein ; Segmente _____

Spiral-CT (Befund kopieren, archivieren und in Kommentar eintragen)

durchgeführt ja nein ; Datum, Uhrzeit: _____
 Diagnose: _____
 CT Venen ja nein ; TVT ja nein ; wo _____
 RV-Dilatation (RV>LV) ja nein

Thrombophiliediagnostik (Befund kopieren und archivieren)

durchgeführt ja nein
 Diagnose: _____

Komplikationen (während des stationären Aufenthaltes oder innerhalb der ersten 30 Tage)

Rezidiv-Lungenembolie / TVT ja nein wenn ja: LE TVT ; wann: _____
 Sepsis / Infarktpneumonie ja nein
 ANV / MOV ja nein
 Apoplex / PRIND / TIA ja nein
 paradoxe arterielle Embolie ja nein
 Blutungen ja nein

1a – **severe bleeding** (tödlich, lebensbedrohlich, mit hämodynamischer Instabilität und Notfalltransfusion / -

OP, Katecholamine, jede intrakranielle Blutung)

1b – **moderate bleeding** (Notwendigkeit von EKs, jedoch keine Lebensgefahr oder hämodynamische Instabilität)

2 – **minor bleeding** (Hb-relevant (2g/dl) Einblutung / Blutverluste ohne EK Substitution)

Auftreten (Datum, Uhrzeit: _____) ; ggf. Stunden nach Lyse ____h

Anzahl der substituierten EKs: ____

Katecholamingabe ja nein (außer Dopamin ≤ 5 Gamma)
 Intubation ja nein Anzahl der Tage: ____
 Reanimation ja nein neuroprotektive Kühlung ja nein
 Tod ja nein wenn ja: Datum: __. __. ____
 Obduktion ja nein Todesursache: _____

Therapie

Thrombolyse ja nein
 Datum, Uhrzeit: _____ ; prähospital initial (< 24h) spät (> 24h)
 Thrombusdefragmentation ja nein ; Datum, Uhrzeit: _____
 operative Thrombektomie ja nein ; Datum, Uhrzeit: _____
 Cava Schirm ja nein
 therapeutische AK (initial) ja nein ; wenn ja:
 UFH NMH Fondaparinux sonstige: _____
 therapeutische AK (Entlassung) ja nein ; wenn ja:
 VKA Rivaroxaban Apixaban Dabigatran NMH sonstige: _____
 wenn keine therap. Antikoagulation, bitte in Kommentar schreiben!!!!

Kopieren und archivieren:

- Labor (gesamter Aufenthalt) + Thrombophiliediagnostik
- radiologische / nuklearmedizinische Bildgebung
- Echokardiographie, EKG, Herzkatheter Bericht, sonstige Befunde; Entlassungsbrief
- Notarzt Protokoll, Aufnahmebogen (initial), Stammdatenblatt, ggf. Pflegekurven

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Lankeit für ihre Unterstützung und Förderung bei der Durchführung dieser Arbeit. Durch ihr weitaus über diese Doktorarbeit hinausführendes Engagement wurde mir ermöglicht, einen Einblick in das wissenschaftliche Arbeiten zu gewinnen.

Herrn Professor Dr. med. Hasenfuß möchte ich für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit danken.

Danken möchte ich außerdem Herrn Professor Dr. med. Kämpers und Herrn Dr. med. Lukasz für die freundschaftliche Kooperation.

Weiterhin möchte ich Frau Professor Dr. med. Dellas, Herrn Dr. med. univ. Lukas Hobohm und Frau Varlerie Seeber für die Unterstützung und Hilfestellung bei dieser Arbeit danken.

Ein herzlicher Dank gilt dem ärztlichen und pflegerischen Personal der Internistischen Notaufnahme, der Abteilung der Diagnostischen Radiologie und der Abteilung Klinische Chemie der Universitätsklinik Göttingen, die mich stets freundlich und hilfsbereit bei der Patientenrekrutierung und Datenerhebung unterstützt haben. Stellvertretend danke ich besonders Herrn Bodo Schulz.

Meinen Mitdoktorandinnen danke ich für das tolle Arbeitsklima.

Lebenslauf

Am 04.01.1989 wurde ich, Caroline Antoinette Paula Niemann, als erstes Kind meiner Eltern Christoph und Margarete Niemann, geb. Albert, in New York geboren.

Im Juni 2008 habe ich am Gymnasium Ernestinum in Celle meine allgemeine Hochschulreife erlangt. Danach ging ich für ein Jahr ins Ausland. Ich arbeitete ein halbes Jahr in New York und besuchte das Westchester Community College, an welchem ich Sprachkurse in Italienisch und Spanisch belegte. Für die zweite Hälfte des Jahres lebte ich in Rom als Au Pair in einer italienischen Familie.

Im Wintersemester 2009/2010 studierte ich an der Georg-August-Universität in Göttingen Agrarwissenschaften. Zum Sommersemester 2010 wechselte ich an die Johannes Gutenberg-Universität in Mainz und begann das Studium der Humanmedizin. Im März 2012 legte ich den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab und wechselte zum klinischen Abschnitts meines Studiums wieder an die Georg-August-Universität Göttingen.

Seit September 2012 bin ich Doktorandin in der Arbeitsgruppe Pulmonale Zirkulation und Rechtsherzinsuffizienz in der Abteilung Kardiologie und Pneumologie mit dem Schwerpunkt Lungenembolieforschung. Im Rahmen meiner Disseration rekrutierte ich Patienten mit akuter Lungenembolie, betreute die Biodatenbank und kümmerte mich um die Datenerfassung für das Pulmonary Embolism Registry of Göttingen.

Im Mai 2013 habe ich einen „Young Investigator Grant“ für die Teilnahme an der ersten europäischen „VTE Spring School“ in Sithonia, Chalkidiki (Griechenland) erhalten und durfte die Ergebnisse meiner Doktorarbeit vorstellen. Des Weiteren wurden die Ergebnisse meiner Arbeit auf dem Kongress der European Society of Cardiology 2013 in Amsterdam und auf der 8. PHup2date 2014 in München vorgestellt. Die Ergebnisse meiner Doktorarbeit lieferten die Grundlage für weiterführende Projekte: Ein Teil meiner Daten wurden in dem Folgeprojekt “Transition from acute pulmonary embolism to chronic thromboembolic pulmonary hypertension – role of Angiotensin-2” von Herrn Dr. med. univ. Hobohm sowohl auf dem 1.

Kardiopulmonalen Forschungsdialog 2016 als auch bei der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung (DGK) 2016 vorgestellt. Dieser erhielt hierfür den Hans-Blömer Young Investigator Award (1. Preis) und 1. Posterpreis in der Kategorie „Kardiopulmonale Forschung“.

Neben dem Studium arbeitete ich bis zum Beginn des Praktischen Jahres als studentische Hilfskraft in der Asklepios Fachklinik für Psychiatrie in Göttingen und als studentische Hilfskraft in der Abteilung für Kardiologie und Pneumologie der Universitätsmedizin Göttingen.

Im April 2015 habe ich den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung absolviert und im Mai 2015 mit dem Praktischen Jahr begonnen. Den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung habe ich im Mai 2016 abgelegt und erhielt am 24.06.2016 meine Approbation.