

Aus der Clinical Research Unit der Medizinischen Klinik
mit Schwerpunkt Kardiologie am Campus Virchow-Klinikum
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Klinische Assoziationen von Serummarkern des Stickstoffmonoxid-
Metabolismus bei Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion**

**Clinical associations of serum nitric oxide metabolites
in heart failure with preserved ejection fraction**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Karsten Piatek
aus Magdeburg

Datum der Promotion: 30.11.2023

Vorwort

Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit wurden vor Abschluss des Promotionsverfahrens in der folgenden Originalarbeit publiziert:

Piatek K, Feuerstein A, Zach V, Rozados da Conceicao C, Beblo A, Belyavskiy E, Pieske-Kraigher E, Krannich A, Schwedhelm E, Hinz S, Pieske B, Edelmann F. Nitric oxide metabolites: associations with cardiovascular biomarkers and clinical parameters in patients with HFpEF. *ESC Heart Fail* 2022; **9**:3961-72.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
Kurzzusammenfassung	IX
Abstract	XI
1 Einleitung	1
1.1 Definition, Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung der Herzinsuffizienz	1
1.2 Einteilung der Herzinsuffizienz	2
1.3 Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF)	4
1.3.1 HFpEF und diastolische Dysfunktion.....	4
1.3.2 Epidemiologische Aspekte der HFpEF	5
1.3.3 Pathophysiologie der HFpEF.....	5
1.3.4 Diagnostik und Therapie der HFpEF	7
1.3.5 Kardiovaskuläre Biomarker bei HFpEF	11
1.4 Endothel, endotheliale Dysfunktion und Stickstoffmonoxid-Metabolismus	13
1.4.1 Aufbau des Endothels und endotheliale Dysfunktion	13
1.4.2 Chemische Grundlagen und biologische Effekte des Stickstoffmonoxids	14
1.4.3 Stickstoffmonoxid-Metabolismus und Methylarginine	15
1.4.4 Bedeutung des Stickstoffmonoxid-Metabolismus bei HFpEF.....	17
1.4.5 Stickstoffmonoxid-Metabolite als Biomarker und therapeutisches Target	19
1.4.6 Bestimmung der endothelialen Funktion.....	20
2 Fragestellung	22
3 Methoden	23
3.1 Studiendesign und Rekrutierung	23
3.1.1 Studiendesign	23
3.1.2 Rekrutierung	23
3.1.3 Einschluss- und Ausschlusskriterien	24
3.2 Untersuchungen.....	25
3.2.1 Anamnese und körperliche Untersuchung.....	25
3.2.2 Biobanking und Labordiagnostik	26
3.2.3 Echokardiographie	27
3.2.4 Messung der endothelialen Funktion.....	27
3.2.5 Spiroergometrie und Sechs-Minuten-Geh-Test	28
3.3 Statistische Auswertung	29

4	Ergebnisse	31
4.1	Deskriptive Statistik des Patientenkollektivs	31
4.1.1	HFA-PEFF Score im untersuchten Patientenkollektiv	32
4.1.2	Basischarakteristika	34
4.1.3	Echokardiographie	37
4.1.4	Spiroergometrie und Sechs-Minuten-Geh-Test	38
4.1.5	Endotheliale Funktion	39
4.1.6	Biomarker	39
4.2	Zusammenhänge zwischen den untersuchten Biomarkern	41
4.3	Klinische Assoziationen der untersuchten Biomarker	42
4.3.1	Biomarker und Echokardiographie	43
4.3.2	Biomarker und körperliche Leistungsfähigkeit	44
4.3.3	Biomarker und endotheliale Funktion	45
4.4	Hauptkomponentenanalyse	45
4.5	Prädiktion eines prognostisch validierten peakVO ₂ Cut-Offs	46
5	Diskussion	49
5.1	Kernaussagen der Arbeit	49
5.2	Betrachtung des Patientenkollektivs	49
5.3	Stickstoffmonoxid-Metabolite und etablierte kardiovaskuläre Biomarker	51
5.4	Methylarginine und echokardiographische Parameter der HFpEF	52
5.5	Stickstoffmonoxid-Metabolite sind nicht mit der endothelialen Funktion assoziiert	53
5.6	Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit als therapeutisches Ziel	55
5.7	HFpEF als eine multidimensionale Erkrankung	56
5.8	Limitationen	58
5.9	Schlussfolgerungen	58
6	Literaturverzeichnis	59
7	Eidesstattliche Versicherung/Anteilserklärung	70
8	Lebenslauf	72
9	Publikationsliste	73
10	Danksagung	74
11	Bescheinigung der statistischen Beratung	75

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung der inflammationsbedingten Entwicklung kardialer Remodelingprozesse bei HFpEF	6
Abb. 2: Interaktionen von L-Arginin, Methylargininen, Homoarginin und Stickstoffmonoxid	16
Abb. 3: Verteilung des untersuchten Patientenkollektivs in zwei Gruppen anhand des ermittelten Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores	31
Abb. 4: Verteilung des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores (0 bis 6) innerhalb des untersuchten HFpEF-Patientenkollektivs sowie Ableitung der entsprechenden Befunde „HFpEF“ (bei einem HFA-PEFF Score ≥ 5) bzw. „Risiko für HFpEF“ (bei einem HFA-PEFF Score 3-4) ..	32
Abb. 5: Verteilung der erreichten Punktwerte (0 bis 2) in der Kategorie „funktionelle echokardiographische Kriterien“ des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores	33
Abb. 6: Verteilung der erreichten Punktwerte (0 bis 2) in der Kategorie „morphologische echokardiographische Kriterien“ des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores	33
Abb. 7: Verteilung der erreichten Punktwerte (0 bis 2) in der Kategorie „Biomarker“ des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores	34
Abb. 8: Heatmap-Darstellung der einfachen linearen Regressionsanalyse zwischen den untersuchten Markern und Parametern der Echokardiographie, körperlichen Leistungsfähigkeit und endothelialen Funktion	42
Abb. 9: Screeplot nach Cattell	45
Abb. 10: Hauptkomponentenanalyse	46
Abb. 11: ROC-Kurven für die Hauptkomponenten 1 (rot) und 2 (blau) für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer $\text{peakVO}_2 < 14 \text{ ml/kg/min}$ bzw. $\geq 14 \text{ ml/kg/min}$ in der Spiroergometrie	48

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Definition der Herzinsuffizienz mit reduzierter (HFrEF), mäßiggradig eingeschränkter (HFmrEF) und erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF)	3
Tab. 2: Kriterien zur Bildung des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores.....	8
Tab. 3: Basischarakteristika im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen	35
Tab. 4: Echokardiographische Befunde im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen.....	37
Tab. 5: Spiroergometrie und Sechs-Minuten-Geh-Test im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen.....	38
Tab. 6: EndoPAT™ Hyperämie-Indizes im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen.....	39
Tab. 7: Biomarker-Konzentrationen im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen	40
Tab. 8: Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalyse zwischen den Biomarkern.....	41
Tab. 9: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse zwischen den untersuchten Markern und Parametern der Echokardiographie	43
Tab. 10: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse zwischen den untersuchten Markern und Parametern der körperlichen Leistungsfähigkeit.....	44
Tab. 11: Area Under the Curve, p-Wert und 95% Konfidenzintervall für die untersuchten Marker, den reaktiven Hyperämieindex sowie die Hauptkomponenten 1 und 2 für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer $\text{peakVO}_2 < 14 \text{ ml/kg/min}$ und $\geq 14 \text{ ml/kg/min}$ in der Spiroergometrie.....	47
Tab. 12: Area Under the Curve und p-Wert von SDMA, Endothelin-1 und NT-proBNP sowie Hauptkomponente 1 für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer $\text{peakVO}_2 < 14 \text{ ml/kg/min}$ und $\geq 14 \text{ ml/kg/min}$ in der Spiroergometrie (Angabe des optimalen Schwellenwertes mit korrespondierender Sensitivität und Spezifität)	47

Abkürzungsverzeichnis

ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
AUC	Area Under the Curve, Fläche unter der Kurve
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
BMI	Body-Mass-Index
BNP	B-Typ natriuretisches Peptid
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CRP	C-reaktives Protein
DD	diastolische Dysfunktion
e' mean	mittlere frühdiastolische Mitralanulusgeschwindigkeit
E/e' mean	linksventrikulärer Füllungsindex
EDV	enddiastolisches Volumen
EF	Ejektionsfraktion
eGFR	geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	enzymgekoppelter Immunadsorptionstest
EndoPAT™	nicht-invasives System zur Messung der endothelialen Funktion
ESC	Europäische Gesellschaft für Kardiologie
ESV	endsystolisches Volumen
ET-1	Endothelin-1
FMD	Fluss-vermittelte Vasodilatation
hArg	Homoarginin
HF	Herzinsuffizienz
HFA	Heart Failure Association, Herzinsuffizienz-Arbeitsgruppe
HFmrEF	Herzinsuffizienz mit mäßiggradig eingeschränkter Ejektionsfraktion
HFpEF	Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion
HFrEF	Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion
hsCRP	hochsensitives C-reaktives Protein
IVSED	enddiastolische interventrikuläre Septumdicke
KOF	Körperoberfläche
LA	linkes Atrium

LAE	linksatriale Vergrößerung
L-Arg	L-Arginin
LAVES	endsystolisches linksatriales Volumen
LAVI	linksatrialer Volumenindex
L-NMMA	N-Monomethylarginin
lnRHI	natürlich logarithmierter reaktiver Hyperämie-Index
LV	linker Ventrikel/linksventrikulär
LVEDD	linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVH	linksventrikuläre Hypertrophie
LVmass	linksventrikuläre Masse
LVMI	linksventrikulärer Massenindex
MR-proADM	Midregionales pro-Adrenomedullin
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
NP	Natriuretische Peptide
NT-proBNP	N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid
NYHA	New York Heart Association
PAT	periphere Pulsamplituden-Tonometrie
peakVO ₂	maximale Sauerstoffaufnahme
PKG	Proteinkinase G
PWED	enddiastolische Hinterwanddicke
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RHI	reaktiver Hyperämieindex
ROC-Kurve	Receiver Operating Characteristics Kurve, Grenzwertoptimierungskurve
RWT	relative Wanddicke
SDMA	symmetrisches Dimethylarginin
sGC	lösliche Guanylatzyklase
SOP	Standard Operating Procedures

Kurzzusammenfassung

Hintergrund: Das pathophysiologische Verständnis der Herzinsuffizienz mit einer erhaltenen Ejektionsfraktion (HFpEF) ist weiterhin unvollständig. Als ein mögliches Schlüsselement konnte der Stickstoffmonoxid (NO)-Signalweg identifiziert werden. Ziel der Arbeit war es, Serummarker des NO-Metabolismus sowie weitere kardiovaskuläre Biomarker und die endotheliale Funktion in einem integrierenden Ansatz innerhalb einer HFpEF-Kohorte zu untersuchen.

Methoden: 73 prospektiv in das „HFpEF-Register“ eingeschlossene Patienten wurden analysiert. Einschlusskriterien der Studie waren: linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) $\geq 50\%$; NYHA-Funktionsklasse $\geq II$; NT-proBNP-Spiegel > 125 pg/ml sowie mindestens ein zusätzliches Kriterium für das Vorliegen einer strukturellen Herzerkrankung oder diastolische Dysfunktion. Alle Patienten wurden einer Echokardiographie, Spiroergometrie und Pulsamplituden-Tonometrie (EndoPAT™) unterzogen. Folgende Serumkonzentrationen wurden bestimmt: L-Arginin (L-Arg), Homoarginin (hArg), symmetrisches Dimethylarginin (SDMA), asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA), NT-proBNP, Endothelin-1 (ET-1), Copeptin, hochsensitives C-reaktives Protein, Midregionales pro-Adrenomedullin. Die Patienten wurden anhand ihres ermittelten HFA-PEFF Scores in zwei Gruppen eingeteilt.

Ergebnisse: Das mittlere Alter lag bei 74 Jahren, 47% der Patienten waren weiblich. Die mittlere LVEF betrug 57%. 52 Patienten (71%) hatten einen HFA-PEFF Score ≥ 5 (definitive HFpEF) und 21 Patienten (29%) einen Score von 3 bis 4 (Risiko für HFpEF). Für die NO-Metabolite wurden mittlere Konzentrationen von 126 ± 32 $\mu\text{mol/l}$ für L-Arg, $1,67 \pm 0,55$ $\mu\text{mol/l}$ für hArg, 0,74 (0,60; 0,85) $\mu\text{mol/l}$ für SDMA und $0,61 \pm 0,10$ $\mu\text{mol/l}$ für ADMA ermittelt. Der mittlere reaktive Hyperämieindex (RHI) lag bei 1,55 (1,38;1,87). SDMA korrelierte mit NT-proBNP ($r=0,291$; $p=0,013$), ET-1 ($r=0,233$; $p=0,047$) sowie Copeptin ($r=0,381$; $p=0,001$). SDMA war mit dem linksatrialen Volumenindex assoziiert ($\beta=0,332$; $p=0,004$), auch nach Adjustierung für Alter, Geschlecht und Komorbiditäten. Die untersuchten Biomarker waren nicht mit dem RHI assoziiert. Eine Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Biomarker und des RHI ergab zwei Cluster. SDMA, ET-1 und NT-proBNP sowie die abgeleitete Hauptkomponente 1 lieferten signifikante

Areas under the Curve in der Vorhersage des in der Spiroergometrie prognostisch validierten Grenzwerts der maximalen Sauerstoffaufnahme von 14 ml/kg/min.

Schlussfolgerungen: Beeinträchtigungen des NO-Metabolismus erscheinen als eine mögliche pathophysiologische Komponente in zumindest einer Subgruppe von Patienten mit HFpEF. Eine weitere Evaluation NO-basierender Therapien erscheint sinnvoll. Zukünftige Studien sollten klären, ob bestimmte Subgruppen von HFpEF-Patienten stärker von Therapieansätzen profitieren können, die auf den NO-Metabolismus bzw. NO-Signalweg abzielen.

Abstract

Background: Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is one of the most rapidly growing cardiovascular health burden worldwide, but there is still a lack of understanding about its pathophysiology. The nitric oxide (NO) signalling pathway has been identified as a potential key element. The aim of this study was to investigate markers of NO metabolism, additional cardiovascular biomarkers and the endothelial function in an integrated approach focussing on associations with clinical characteristics in patients with HFpEF.

Methods: Seventy-three patients, prospectively enrolled in the “HFpEF Registry”, were analysed. Inclusion criteria were: left ventricular ejection fraction (LVEF) $\geq 50\%$; NYHA functional class $\geq II$; elevated levels of NT-proBNP > 125 pg/ml; at least one additional criterion for structural heart disease or diastolic dysfunction. All patients underwent transthoracic echocardiography, cardiopulmonary exercise testing (CPET) and pulse amplitude tonometry (EndoPAT™). Serum concentrations of L-arginine (L-Arg), homoarginine (hArg), asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA), NT-proBNP, endothelin-1 (ET-1), copeptin, high sensitivity C-reactive protein and midregional proadrenomedullin were determined.

Results: Patients had a median age of 74 years, 47% were female and median LVEF was 57%. 52 patients (71%) had an HFA-PEFF score ≥ 5 (definitive HFpEF), 21 patients (29%) a score of 3 to 4 (risk for HFpEF). Overall biomarker concentrations were 126 ± 32 $\mu\text{mol/l}$ for L-Arg, 1.67 ± 0.55 $\mu\text{mol/l}$ for hArg, 0.74 ($0.60; 0.85$) $\mu\text{mol/l}$ for SDMA and 0.61 ± 0.10 $\mu\text{mol/l}$ for ADMA. The median reactive hyperemia index (RHI) was 1.55 ($1.38; 1.87$). SDMA correlated with NT-proBNP ($r=0.291$; $p=0.013$), ET-1 ($r=0.233$; $p=0.047$) and copeptin ($r=0.381$; $p=0.001$). SDMA was associated with the left atrial volume index ($\beta=0.332$; $p=0.004$), even after adjustment for age, sex and comorbidities. The biomarkers were non-associated with the RHI. A principal component analysis revealed two contrary clusters of the investigated biomarkers and the RHI. In receiver-operating characteristic analysis, SDMA, ET-1 and NT-proBNP as well as the derived principal component 1 performed with a significant area under the curve in prediction of the prognostic validated peak oxygen uptake cut-off 14 ml/kg/min.

Conclusions: The findings of this study suggest an impaired NO metabolism as one possible key pathogenic determinant in at least a subgroup of patients with HFpEF. Further studies should clarify whether subgroups of patients with HFpEF can take more benefit from therapies that are targeting NO metabolism and pathway.

1 Einleitung

1.1 Definition, Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz (HF) ist ein komplexes klinisches Syndrom, das sich in Folge struktureller und/oder funktioneller kardialer Veränderungen einstellen kann und durch typische Symptome und Zeichen charakterisiert ist.¹ Typische Symptome sind z. B. Kurzatmigkeit, eine verminderte Belastungstoleranz sowie zunehmende Erschöpfung. Periphere Ödeme gelten als ein typisches Zeichen.¹ Die Störung der normalen Herzfunktion führt zur Herabsetzung des Herzzeitvolumens. Es wird nicht mehr ausreichend Blut durch die Körperperipherie gepumpt, um die metabolischen Ansprüche aller Organe in Ruhe und unter Belastung ausreichend zu decken.² Die Symptome beeinträchtigen die Lebensqualität der betroffenen Patienten* und führen mitunter zu erheblichen Einschränkungen im Arbeitsalltag und bei Freizeitaktivitäten.¹ Einer HF liegen meist verschiedene kardiovaskuläre und nicht-kardiovaskuläre Erkrankungen zu Grunde und eine klare Benennung auslösender Faktoren erscheint schwierig. Die europäische Gesellschaft für Kardiologie (ESC) fasst mögliche ätiologische Faktoren in drei Kategorien zusammen: Erkrankungen des Myokards, abnorme Volumenbedingungen und Arrhythmien. Es ist von Überschneidungen zwischen den Kategorien auszugehen.¹ Komorbiditäten (z. B. arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus) haben einen wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung und Prognose des Krankheitsgeschehens. Als wichtigster Risikofaktor gilt eine fehlende oder eingeschränkte körperliche Aktivität.³

Mit einer Prävalenz von 1-2% der Erwachsenenbevölkerung in westlichen Industrienationen stellt die HF eines der häufigsten kardiovaskulären Krankheitsbilder dar.^{3,4} Es zeigt sich eine deutliche Altersabhängigkeit der Erkrankung.^{5,6} Die *Rotterdam-Studie* ermittelte in 7,983 untersuchten Probanden eine Prävalenz von 0.9% in der Altersgruppe 55- bis 64-jähriger Frauen und Männer, hingegen für 85-jährige und ältere Patienten eine Prävalenz von 17.4%.⁶ Eine deutschlandweite Auswertung vertragsärztlicher Abrechnungsdaten ergab im Jahr 2017 eine Diagnoseprävalenz der HF von 3.1%.⁷ Auch hier stieg die Prävalenz mit zunehmendem Alter. In der Altersgruppe ab

* Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung der Sprachformen männlich und weiblich verzichtet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten gleichermaßen für alle Geschlechter.

85 Jahren waren 28% der deutschen Bevölkerung betroffen.⁷ Angesichts der demographischen Entwicklungen mit einem wachsenden Anteil älterer Menschen innerhalb der Bevölkerung, ist eine weitere Zunahme der Prävalenz zu erwarten. Modellrechnungen in den USA prognostizieren für den Zeitraum von 2012 bis 2030 eine Zunahme um 46%.⁸

Das Krankheitsbild ist mit häufigen Krankenhauseinweisungen verbunden. Mit einer Gesamtzahl von 455,700 Fällen war die HF im Jahr 2016 der zweithäufigste Anlass für eine vollstationäre Versorgung in Deutschland.⁹ Ab dem 65. Lebensjahr ist die HF der allgemein häufigste Grund einer Hospitalisierung.¹⁰ Nicht nur die absolute Häufigkeit, sondern insbesondere auch die lang andauernden und wiederholten Einweisungen von Patienten in das Krankenhaus sind von großer sozioökonomischer Bedeutung. Ein Viertel aller Patienten wird innerhalb von 30 Tagen nach einem stationären Aufenthalt erneut in ein Krankenhaus eingewiesen.¹¹ Die HF bedingt etwa 1-2% der jährlichen Gesundheitskosten in westlichen Industrienationen.³ Für das Jahr 2012 wurde eine globale wirtschaftliche Belastung von 108 Milliarden US-Dollar ermittelt.¹² Etwa 7.3 Milliarden US-Dollar (5.6 Milliarden Euro) entfielen dabei auf Deutschland. Bei Gesundheitsausgaben von 304.1 Milliarden Euro im Jahr 2012 entsprach dies rund 1.8% an den Gesamtkosten.¹³ Mit 37,709 Sterbefällen war die HF im Jahr 2018 fünfhäufigste Todesursache in Deutschland.¹⁴ Die Angaben zum 5-Jahres-Überleben variieren zwischen 41-60%.^{15,16} Ein 5-Jahres-Überleben von Patienten mit HF ist demnach weniger wahrscheinlich als beispielsweise das Überleben von Patienten mit einem Prostata- (68%) oder Mammakarzinom (78%). Gegenüber malignen Neoplasien hat die HF allerdings bisher keine vergleichbare öffentliche Aufmerksamkeit erhalten.¹⁷

1.2 Einteilung der Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz kann u. a. deskriptiv, nach dem klinischen Schweregrad (NYHA-Stadien) und anhand der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) eingeteilt werden. Deskriptiv erfolgt die Einteilung z. B. nach der betroffenen Kammer (Links-/Rechts- oder Global-Insuffizienz), dem zeitlichen Verlauf (akut/chronisch) oder entsprechend des Kompensationsgrades (kompensiert/dekompensiert).³ Die Stadieneinteilung der New York Heart Association (NYHA) ist international

zur Einteilung herzkranker Patienten hinsichtlich Einschränkungen im Bereich der körperlichen Leistungsfähigkeit etabliert. Im klinischen Alltag stellt die Unterscheidung der vier NYHA-Stadien außerdem eine wichtige Hilfestellung zur Therapieplanung und Verlaufskontrolle dar.¹⁸

Die HF war in ihrem Verständnis lange an die Annahme einer obligat reduzierten LVEF geknüpft. Mit der Verbesserung diagnostischer Methoden wurde jedoch zunehmend festgestellt, dass ein beträchtlicher Anteil der betroffenen Patienten eine formal erhaltene LVEF besitzt. Folgerichtig wurde für diese bis dahin nicht ausreichend beachtete Gruppe erstmals in den ESC-Leitlinien im Jahr 2005 der Begriff der „PLVEF“ (preserved left ventricular ejection fraction) eingeführt.¹⁹ Um den verschiedenen HF-Entitäten gerecht zu werden, basiert die klinische Einteilung heute maßgeblich auf der LVEF und erlaubt die Unterscheidung dreier Gruppen (siehe auch Tab. 1):

- 1) HFrEF: heart failure with reduced ejection fraction, Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion (LVEF <40%),
- 2) HFmrEF: heart failure with mid-range ejection fraction, Herzinsuffizienz mit mäßiggradig eingeschränkter Ejektionsfraktion (LVEF 40-49%) und
- 3) HFpEF: heart failure with preserved ejection fraction, Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (LVEF ≥50%).¹

Tab. 1: Definition der Herzinsuffizienz mit reduzierter (HFrEF), mäßiggradig eingeschränkter (HFmrEF) und erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF); nach Ponikowski et al.¹

HF-Typ		HFrEF	HFmrEF	HFpEF
Kriterien (zur Diagnosestellung müssen alle zwei bzw. drei Kriterien erfüllt sein)	1	Symptome ± Zeichen ^a	Symptome ± Zeichen ^a	Symptome ± Zeichen ^a
	2	LVEF <40%	LVEF 40-49%	LVEF ≥50%
	3	-	(1) ↑ Serumkonzentration natriuretische Peptide ^b (2) mindestens ein zusätzliches Kriterium: a) relevante strukturelle Herzerkrankung (LVH und/oder LAE) b) diastolische Dysfunktion ^c	(1) ↑ Serumkonzentration natriuretische Peptide ^b (2) mindestens ein zusätzliches Kriterium: a) relevante strukturelle Herzerkrankung (LVH und/oder LAE) b) diastolische Dysfunktion ^c

LAE, Left atrial enlargement, linksatriale Vergrößerung (linksatrialer Volumenindex [LAVI] >34ml/m²); LVH, linksventrikuläre Hypertrophie (linksventrikulärer Massenindex [LVMI] ≥115 g/m² für Männer und ≥95 g/m² für Frauen); ^a Zeichen können in frühen Stadien der Herzinsuffizienz und Diuretika-behandelten Patienten fehlen; ^b BNP >35 pg/ml und/oder NT-proBNP >125 pg/ml; ^c E/e' mean ≥13, e' mean <9cm/s.

Während zunächst nur zwischen HF_rEF und HF_pEF unterschieden wurde, wurde in den ESC-Leitlinien 2016 die HF_{mr}EF-Gruppe als Mittelglied eingeführt. Durch die Abgrenzung des „LVEF-Graubereiches“ von 40% bis 49% soll eine bessere Charakterisierung der Patienten und die Durchführung einheitlicher Therapiestudien ermöglicht werden.

1.3 Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (HF_pEF)

1.3.1 HF_pEF und diastolische Dysfunktion

Gemäß Leitlinie ist die HF_pEF definiert durch typische Symptome und/oder Zeichen der HF bei einer LVEF von $\geq 50\%$, einer gleichzeitig erhöhten Konzentration der natriuretischen Peptide (BNP >35 pg/ml und/oder NT-proBNP >125 pg/ml) und der Erfüllung echokardiographischer Kriterien einer „relevanten strukturelle Herzerkrankung“ (linksventrikuläre Hypertrophie [LVH] und/oder linksatriale Vergrößerung [LAE]) und/oder „diastolische Dysfunktion (DD)“ (siehe auch Tab. 1).¹ Eine LVH liegt bei einem linksventrikulären Massenindex (LVMI) ≥ 115 g/m² für Männer bzw. ≥ 95 g/m² für Frauen vor, eine LAE bei einem linksatrialen Volumenindex (LAVI) >34 ml/m². Das Kriterium der DD ist erfüllt, wenn der linksventrikuläre Füllungsindex (E/e' mean) ≥ 13 und die mittlere frühdiastolische passive Mitralanulusgeschwindigkeit (e' mean) <9 cm/s betragen.¹

Trotz einer nachweisbaren strukturellen Herzerkrankung stellt die DD allein noch keine HF dar, da typische Symptome und Zeichen einer HF hier (noch) fehlen. Zudem definiert sich die DD unabhängig von der LVEF.²⁰ Kuznetsova et al. zeigten in einer zufällig rekrutierten Stichprobe mit 539 Probanden (50.5% Frauen, mittleres Alter 52.5 Jahre) eine Prävalenz der DD von 27%.²¹ Als häufige Risikofaktoren für die Entwicklung einer DD wurden ein höheres Alter, das weibliche Geschlecht sowie das Vorliegen von Diabetes mellitus und Adipositas beschrieben.²² Auch wenn die DD mechanistisch führend für die HF_pEF-Entstehung ist, sollte der Begriff der „diastolischen Herzinsuffizienz“ vermieden werden, da mitunter zusätzliche systolische funktionelle Anomalien vorliegen können. Es empfiehlt sich die Verwendung der rein EF-basierten Klassifikation.²³

1.3.2 Epidemiologische Aspekte der HFpEF

Die Angaben bezüglich des Anteils der HFpEF-Patienten an der Gesamtzahl aller Patienten mit einer HF variieren. Eine Ursache ist die zwischen einzelnen Studien teils uneinheitliche Definition der diskriminierenden EF, ab der von einer HFpEF ausgegangen wurde (z. B. $\geq 40\%$; $> 45\%$; $\geq 50\%$; $> 50\%$; $\geq 55\%$).²⁴ Die Betrachtung ausgewählter Studien mit dem Kriterium einer erhaltenen LVEF bei einer EF $\geq 50\%$ ergab Prävalenzen von 31-55%.^{1,25-30} Steinberg et al. untersuchten über einen Zeitraum von fünf Jahren in über 110,000 Patienten, die aufgrund einer HF hospitalisiert waren, die Verteilung innerhalb des EF-Spektrums. Insgesamt wurden 50% der Patienten als Patienten mit reduzierter EF, 36% als Patienten mit erhaltener EF und 14% als Patienten mit grenzwertiger (heute mäßiggradig eingeschränkter) EF identifiziert. Zwischen 2005 und 2010 stieg der Anteil der Patienten mit erhaltener EF signifikant von 33% auf 39%, während der Anteil der Patienten mit reduzierten EF von 52% auf 47% sank. Die Studie konnte somit einen Anstieg der HFpEF-Prävalenz bei sinkender HFrEF-Prävalenz zeigen.³¹

1.3.3 Pathophysiologie der HFpEF

Das pathophysiologische Verständnis der HFpEF ist weiter unvollständig. Als gesichert gilt, dass eine gesteigerte passive Steifigkeit des Herzens zu einer reduzierten diastolischen Compliance des LV führt. Unter körperlicher Belastung aber auch in Ruhe bedarf es entsprechend höherer Füllungsdrücke, um adäquate Füllungsvolumina aufrecht zu erhalten.³² Die pathophysiologischen Grundlagen für diesen Zustand bleiben indes offen. Verschiedene Ansätze werden diskutiert und zunehmend miteinander verknüpft. Das Konzept der erhöhten LV Nachlast als primäre Ursache der HFpEF wurde verlassen. Vielmehr scheint die HFpEF Folge einer systemischen Inflammation mit resultierenden kardialen Remodelingprozessen zu sein.³³ Paulus und Tschöpe postulieren eine Kaskade ablaufender Ereignisse in der HFpEF-Entwicklung: Komorbiditäten (darunter z. B. Adipositas, Diabetes mellitus, Hypertonie) induzieren einen systemischen proinflammatorischen Zustand; dieser Zustand führt wiederum zu mikrovaskulären endothelialen Inflammationen, auch an den Koronarien; die mikrovaskuläre endotheliale Inflammation reduziert die Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid sowie folglich auch zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) und führt

zu einer verminderten Aktivität der Proteinkinase G (PKG) in benachbarten Kardiomyozyten; die geringe Aktivität der PKG bedingt schließlich die Entwicklung von kardialer Hypertrophie und einer erhöhten kardiomyozytären Ruhespannung infolge der Hypophosphorylation von Titin (siehe Abb. 1).³³ Aktuell ist noch unklar, ob es sich bei der kardialen Fibrose eher um reaktive, möglicherweise reversible oder reparative, irreversible fibrotische Prozesse handelt.³⁴

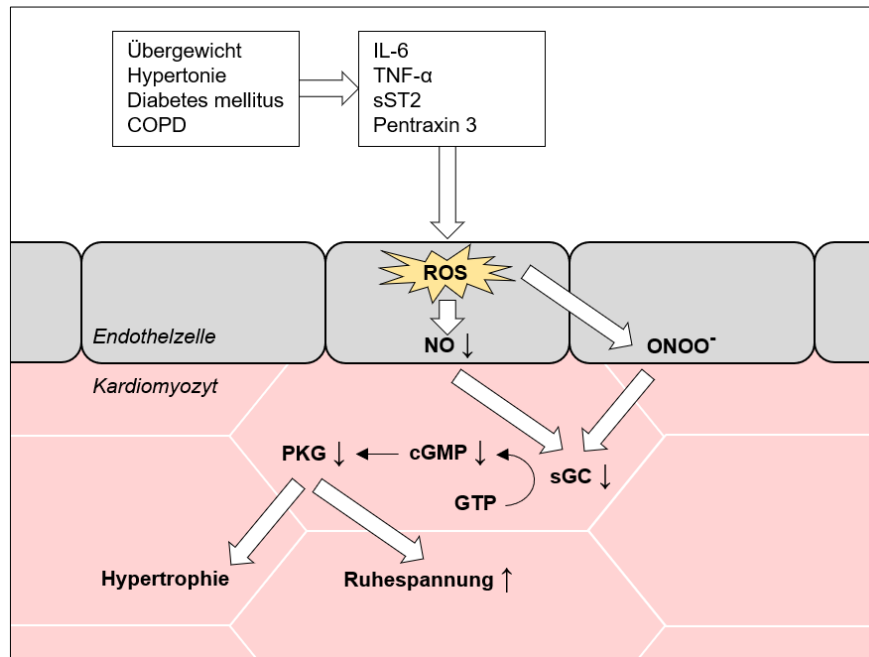


Abb. 1: Schematische Darstellung der inflammationsbedingten Entwicklung kardialer Remodelingprozesse bei HFpEF; adaptiert nach Paulus und Tschöpe³³ (Komorbiditäten, z. B. Übergewicht, Hypertonie, Diabetes mellitus oder eine chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD) induzieren einen systemischen proinflammatorischen Zustand; inflammatorische Zytokine wie Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α), lösliches ST2 (sST2) und Pentraxin 3 bedingen eine mikrovaskuläre endotheliale Inflammation; es kommt zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und Peroxynitrit (ONOO⁻); durch die verminderte Stickstoffmonoxid (NO)-Bioverfügbarkeit nimmt auch die katalytische Aktivität der löslichen Guanylatzyklase (sGC) ab, entsprechend wird weniger Guanosintriphosphat (GTP) zu zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) umgesetzt und die Aktivität der Proteinkinase G (PKG) ist vermindert; die geringere PKG-Aktivität bedingt die Entwicklung kardialer Hypertrophie und erhöhter kardiomyozytärer Ruhespannung infolge der Hypophosphorylation von Titin)

Die HFpEF darf nicht als isolierte Erkrankung des Herzens verstanden werden. Im Sinne des systemischen Charakters des Krankheitsbildes können neben dem gesamten Gefäßsystem auch verschiedene weitere Organe von Veränderungen betroffen sein. Beispielsweise konnte ein erhöhter zentraler Venendruck infolge einer HF als Ursache einer beeinträchtigten Nierenfunktion nachgewiesen werden.³⁵ Ein verminderter renaler Perfusionsdruck aktiviert u. a. das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und das sympathische Nervensystem. Die Aktivierung

dieser Systeme begünstigt wiederum die Progression einer HFpEF.³⁶ Das Fettgewebe scheint ebenfalls eine wichtige Rolle einzunehmen und die kardialen Remodelingprozesse bei HFpEF zu verstärken.³⁷ Molekulare Grundlage scheint eine verstärkte Signalvermittlung über den Leptin-Rezeptor mit konsekutiver Aktivierung wiederum des RAAS und sympathischen Nervensystems zu sein.³⁸ In Verbindung mit Schädigungen der Niere ergibt sich eine Neprilysin-Überaktivität. So bedingt das komplexe neurohumorale Zusammenspiel eine Ausdehnung des Plasma-Volumens sowie ungünstige ventrikuläre Remodelingprozesse und kardiale Fibrosen, die maßgeblich zur Entwicklung einer HFpEF beitragen.³⁸

1.3.4 Diagnostik und Therapie der HFpEF

Ein validierter Goldstandard in der Diagnostik der HFpEF existiert bislang nicht.¹ Kürzlich wurden neue diagnostische Algorithmen beschrieben, die den diagnostischen Prozess vereinfachen und besser strukturieren sollen.^{39,40} So stellte auch die Herzinsuffizienz-Arbeitsgruppe (HFA) der ESC im Jahr 2019 einen neuartigen „HFA-PEFF Diagnostik-Algorithmus mit HFA-PEFF Score“ vor.⁴⁰ Der Algorithmus basiert auf vier Schritten. Im ersten Schritt (P = Pretest) wird der Patient anhand seines Risikoprofils und bekannter Vorbefunde auf das Bestehen einer HFpEF eingeschätzt. Alternative Ursachen für das Vorliegen HF-ähnlicher Symptome sollten in diesem Schritt bereits ausgeschlossen werden (u. a. Klappenerkrankungen, Lungenerkrankungen oder Anämien). Ist der Schritt P positiv, so schließt sich Schritt E (Echokardiographie und natriuretische Peptide) mit umfassenden echokardiographischen Untersuchungen an. Spätestens hier erfolgt zudem die Bestimmung der natriuretischen Peptide. Aus den Ergebnissen im Schritt E wird der eigentliche HFA-PEFF Score abgeleitet (siehe Tab. 2). Zur Bildung des Scores erfolgt eine Unterscheidung von Major- und Minor-Kriterien in drei Kategorien (funktionell, morphologisch und Biomarker). Aus dem ermittelten Punktwert kann schließlich die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer HFpEF abgeleitet werden. Ein Score ≥ 5 impliziert demnach eine definitive HFpEF, ein Score ≤ 1 macht das Vorliegen einer HFpEF unwahrscheinlich. 2 bis 4 Punkte sprechen für ein Risiko für HFpEF – hier ergibt sich die Empfehlung zu weiterführenden echokardiographischen oder invasiven hämodynamischen Belastungstests (entspricht Schritt F1 = Funktionstests). Der vierte

Schritt (F2 = finale Ätiologie) ist zur Identifizierung der patientenindividuellen Ätiologie der HFpEF vorgesehen und soll zielgerichtete Therapien ermöglichen.⁴⁰

Tab. 2: Kriterien zur Bildung des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores; nach Pieske et al.⁴⁰

funktionell	morphologisch	Biomarker (bei SR)	Biomarker (bei VHF)
M A J O R - K R I T E R I E N (je 2 Punkte bei Erfüllung)			
e' septal < 7 cm/s oder e' lateral < 10 cm/s oder E/e' mean ≥ 15 oder TR v(max) > 2,8 m/s (SPAP > 35 mmHg)	LAVI > 34 ml/m ² oder LVMI ≥ 149/122 g/m ² (m/w) und RWT > 0,42	NT-proBNP > 220 pg/ml oder BNP > 80 pg/ml	NT-proBNP > 660 pg/ml oder BNP > 240 pg/ml
M I N O R - K R I T E R I E N (je 1 Punkt bei Erfüllung)			
E/e' mean 9-14 oder GLS < 16%	LAVI 29-34 ml/m ² oder LVMI > 115/95 g/m ² (m/w) oder RWT > 0,42 oder LV EDWT ≥ 12 mm	NT-proBNP 125 -220 pg/ml oder BNP 35-80 pg/ml	NT-proBNP 365 -660 pg/ml oder BNP 105-240 pg/ml
SUMME ≥ 5 Punkte: HFpEF			
[min. 0, max. 6] 2-4 Punkte: Fortführung der Diagnostik mit Funktionstests (nicht-invasiv, invasiv)			
≤ 1 Punkt: HFpEF unwahrscheinlich → Suche anderer Ursachen			

Verteilung der Punkte (jeweils 0-2) in drei Domänen (funktionell, morphologisch, Biomarker); bezüglich der Biomarker-Domäne ist zu unterscheiden, ob ein Sinusrhythmus (SR) oder Vorhofflimmern (VHF) vorliegt und die entsprechende Spalte auszuwählen; e', frühdiaastolische, passive Mitralanulusgeschwindigkeit; E/e' mean, linksventrikulärer Füllungsindex; TR v(max), maximale Geschwindigkeit des Rückflusses über die Trikuspidalklappe; SPAP, systolischer Pulmonalarteriendruck; GLS, globaler longitudinaler Strain des linken Ventrikels; LAVI, linksatrialer Volumenindex; LVMI, linksventrikulärer Massenindex; RWT, relative Wandstärke linker Ventrikel; LV EDWT, linksventrikuläre enddiastolische Wanddicke.

Trotz der hohen Prävalenz der HFpEF fehlen bislang definierte therapeutische Standards.²² Die Behandlung bleibt daher weitgehend empirisch. Bei der HFpEF existiert eine evidenzbasierte pharmakologische Therapie, basierend auf den drei Medikamentengruppen der ACE-Hemmer, β-Blocker und Mineralokortikoidantagonisten. Studien im Bereich der HFpEF konnten bisher keine relevante Morbiditäts- und Mortalitätsreduktion unter dem Einsatz von β-Blockern und Mineralokortikoidantagonisten verzeichnen.¹ Auch für ACE-Hemmer und Angiotensin-Rezeptor-Blocker besteht nur unzureichende Evidenz.⁴¹⁻⁴³ Die Empfehlungen der ESC beschränken sich daher auf die symptomatische Behandlung von Anzeichen einer Flüssigkeitsüberladung mittels Diuretika.^{1,22} Zudem verweist die ESC-Leitlinie darauf, kardiovaskuläre und nicht-kardiovaskuläre

Risikofaktoren zu identifizieren und entsprechend zu behandeln.¹ 2021 wurden die Ergebnisse der *EMPEROR-Preserved Studie* vorgestellt, die den SGLT2-Inhibitor Empagliflozin in Patienten mit HFpEF (hier definiert als EF >40%) untersuchte. Empagliflozin reduzierte dabei unabhängig vom Vorliegen eines Diabetes mellitus das Risiko eines kardiovaskulären Todes bzw. einer HF-bedingten Hospitalisierung.⁴⁴ Im März 2022 wurde die entsprechende Zulassungserweiterung für Empagliflozin in Europa erteilt. Der SGLT2-Inhibitor ist damit aktuell das einzige Medikament, das zur Behandlung von HFrEF-Patienten als auch Patienten mit einer HFpEF zugelassen ist.⁴⁵ Ein weiterer Schwerpunkt der HFpEF-Forschung liegt im Bereich körperlicher Trainingsstudien. Die Verbesserung der kardiorespiratorischen Fitness erscheint nicht nur in der Primärprävention, sondern auch als therapeutisches Mittel sinnvoll.²² Auch interventionelle Möglichkeiten werden untersucht. Der Einsatz interatrialer Shunt-Devices zeigte in ersten Studien gute Ergebnisse.⁴⁶ Fraglich bleibt, warum bisher durchgeführte Studien im Bereich der HFpEF bisweilen zumeist nur neutrale Ergebnisse liefern konnten. Mögliche Ursachen fassen Petutschnigg und Edelman zusammen: „das pathophysiologische Verständnis der HFpEF ist weiterhin unvollständig; die Patientenpopulation ist heterogen; die diagnostischen Kriterien sind unzureichend und dadurch besteht die Gefahr der Rekrutierung „falscher“ Patienten ohne echte HF oder von Patienten in zu frühen Stadien des Syndroms; die Studiendesigns sind zum Teil suboptimal und die statistische Trennschärfe (Power) unzureichend“.²²

Echokardiographische Diagnostik der HFpEF

Die transthorakale Echokardiographie ist zentraler Bestandteil der HFpEF-Diagnostik. Mittels Einstellung verschiedener Achsen und Blicke ist die Erhebung detaillierter morphologischer und funktioneller Charakteristika des Herzens möglich. Gleichzeitig können weitere Indizes aus den erhobenen Parametern abgeleitet werden. In der parasternal langen Achse können u. a. der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD), die enddiastolische interventrikuläre Septumdicke (IVSED) und die enddiastolische Hinterwanddicke (PWED) bestimmt werden. Aus den erhobenen Werten kann der linksventrikuläre Massenindex (LVMI) kalkuliert werden, der die Masse des linken Ventrikels (LVmass) in Beziehung zur Körperoberfläche (KOF) setzt und so

Hinweise auf das Vorliegen einer linksventrikulären Hypertrophie liefern kann. Die LVmass ergibt sich nach Devereux et al.: $LVmass[g] = 0.8 \times (1.04 ([LVEDD+IVSED+PWED]^3 - LVEDD^3)) + 0,6g$. Die KOF-Berechnung folgt der Mosteller-Formel: $KOF[m^2] = \sqrt{((Größe[cm] \times Gewicht[kg])/3600)}$. Der LVMI ergibt sich schließlich als Quotient aus LVmass und KOF.^{47,48} Weiterhin kann aus LVEDD und PWED die relative Wanddicke (RWT) berechnet werden: $RWT = (2 \times PWED)/LVEDD$. Basierend auf dem LVMI und der RWT lassen sich Aussagen zur linksventrikulären Geometrie ableiten. Eine RWT größer als 0.42 spricht für ein konzentrisches Remodeling.⁴⁹ In biplaner Methode (Vierkammerblick und Zweikammerblick) wird das endsystolische linksatriale Volumen (LAVES) bestimmt. Dazu werden sowohl im Vierkammer- als auch Zweikammerblick jeweils die Flächen des Atriums (A1 und A2) und zusätzlich die über beide Blicke kürzeste Vorhoflänge L (von der posterioren LA Wand bis zur Verbindungslinie zwischen den Rändern der Mitralklappe) bestimmt. Das LAVES wird schließlich mittels der Formel $8/3\pi [(A1 \times A2)/(L)]$ berechnet und wiederum bezogen auf die KOF als linksatrialer Volumenindex (LAVI) angegeben.⁵⁰ Die Bestimmung der enddiastolischen und endsystolischen Volumina (EDV, ESV) erfolgt gewöhnlich ebenfalls biplan in der Scheibchensummations-Methode nach Simpson. Unter Kenntnis dieser Werte ist die Berechnung der LVEF möglich: $LVEF[\%] = (EDV-ESV)/EDV \times 100$. Die diastolische Funktion ist ein komplexer Vorgang, der sich aus mehreren Phasen zusammensetzt. So folgt einer isovolumetrischen Relaxationsphase die Phase der Ventrikelfüllung, die sich wiederum in eine frühdiastolische, passive Füllungsphase und spätdiastolische, aktive Phase infolge atrialer Kontraktion einteilen lässt. Da kein singulärer Parameter existiert, der die Abläufe hinreichend differenziert abbildet, werden verschiedene Funktionsparameter zur Einschätzung diastolischer Funktionsstörungen eingesetzt.⁵¹ Durch die Messung der E-Welle (für „early“, entspricht der frühdiastolischen Ventrikelfüllung) und der A-Welle (für „atrial“, entspricht der spätdiastolischen Ventrikelfüllung) im Pulsed-Wave-Doppler (PW-Doppler) wird das LV Einstromprofil evaluiert. Im Gewebe-Doppler kann die laterale und septale frühdiastolische Mitralanulus-Geschwindigkeit (e' lateral und e' septal) gemessen und daraus eine mittlere Geschwindigkeit (e' mean) abgeleitet werden. Schließlich ist durch die ermittelten Werte die Berechnung des Quotienten E/e' mean (linksventrikulärer Füllungsindex) möglich.

1.3.5 Kardiovaskuläre Biomarker bei HFpEF

Natriuretische Peptide

BNP (B-Typ natriuretisches Peptid) sowie NT-proBNP (N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid) sind etablierte Biomarker in der Diagnostik der HF. Die Freisetzung erfolgt kardiomyozytär aus dem Prohormon proBNP; zentraler Stimulus zur Sekretion ist die kardiomyozytäre Dehnung. Verschiedene Hormone (z. B. Katecholamine, Angiotensin II) und eine myokardiale Hypoxie können die Sekretion verstärken. Das Prohormon proBNP wird bei der Sekretion in seine biologisch aktive Form BNP und das verbleibende NT-proBNP aufgespalten.⁵² In der HF-Diagnostik liegen die BNP- und NT-proBNP-Grenzwerte bei 35 pg/ml und 125 pg/ml im nicht-akuten Setting bzw. 100 pg/ml und 300 pg/ml im akuten Setting.¹ Die Grenzwerte sind über das gesamte EF-Spektrum gültig, obgleich Untersuchungen eher geringere Konzentrationen der natriuretischen Peptide (NP) bei Patienten mit HFpEF im Vergleich zu HFrEF-Patienten ergaben.¹ Der diagnostische Nutzen der NP liegt insbesondere im Ausschluss einer HF bei niedrigen Plasmakonzentrationen. Verschiedene Einflussfaktoren können zu einer Erhöhung der NP-Spiegel führen, sodass sich in diesen Fällen womöglich nur ein eingeschränkter diagnostischer Nutzen ergibt. Neben einem höheren Alter und einer renalen Dysfunktion zählt auch das Vorhofflimmern zu diesen Faktoren.¹

Endothelin-1

Endothelin-1 (ET-1) ist ein Polypeptid aus der Familie der Endotheline. Es sind mindestens vier Varianten der Endotheline bekannt, von denen das ET-1 die insgesamt vorherrschende und biologisch relevanteste Isoform darstellt.⁵³ Dies begründet sich u. a. durch die hochpotenten vasokonstriktorisches Eigenschaften.⁵³ Die ET-1 Synthese und Freisetzung erfolgt hauptsächlich durch das Gefäßendothel.⁵⁴ Verschiedene Faktoren, wie eine Hypoxie, Ischämie, oder auch erhöhte Scherbeanspruchungen stimulieren die Synthese. Über ET-A Rezeptoren an den Zellen der glatten Gefäßmuskulatur werden neben der Vasokonstriktion auch zellproliferatorische und zellmigratorische Effekte vermittelt.⁵³ ET-1 wird auch durch Kardiomyozyten freigesetzt und induziert u. a. profibrotische myokardiale Remodelingprozesse.⁵⁵ Obwohl die Effekte des ET-1

vorwiegend para- oder autokrin vermittelt werden, ist auch eine Bestimmung des zirkulierenden ET-1 möglich.⁵⁵ Bei Patienten mit HFpEF wurden zuletzt erhöhte ET-1 Spiegel und ein möglicher prognostischer Nutzen beschrieben.^{56,57}

Copeptin

Arginin-Vasopressin (AVP), auch antidiuretisches Hormon (ADH) genannt, wird durch die Neurohypophyse sekretiert und gilt als zentrales Hormon in der Kontrolle der osmotischen Homöostase. Hauptstimuli zur Sekretion sind Hypovolämie und Hypotonie.⁵⁸ Auch Stress-Zustände (z. B. bei akutem Myokardinfarkt) triggern die ADH-Sekretion.⁵⁹ An den Nieren fördert das ADH die Rückresorption von Wasser, zudem induziert es eine starke Vasokonstriktion und führt zur Freisetzung von Cortisol.⁵⁹ Aufgrund seiner geringen Größe und Instabilität ist eine direkte Messung des ADH schwierig. Daher wird das Copeptin als der C-terminale Anteil des Prä-Pro-Vasopressins bestimmt, das äquivalent mit ADH sezerniert wird und daher dessen Freisetzung ideal widerspiegelt.⁶⁰ Bei akuter HF mit unbekannter LVEF konnte das Copeptin zuletzt als ein prognostischer Marker hinsichtlich Hospitalisierung und Mortalität beschrieben werden.^{61,62} Die Bedeutung des Vasopressin-Systems bei HFpEF ist jedoch noch weitestgehend ungeklärt.⁶³

MR-proADM

Adrenomedullin (ADM) wurde ursprünglich im Nebennierenmark (erstmal in Phäochromozytom-Zellen), im Ventrikel und der Lunge entdeckt.⁶⁴ Mittlerweile ist bekannt, dass das Peptid in nahezu allen Körpergeweben sezerniert wird. Auch Endothelzellen synthetisieren und sezernieren das vasodilatatorisch wirkende ADM.⁶⁵ Da das Peptid instabil ist, wird in Immunoassays das mid-regionale Fragment des Pro-Adrenomedullins (MR-proADM) bestimmt, das in einer äquivalenten Konzentration vorliegt, jedoch deutlich stabiler ist.⁶⁶ Bei HF-Patienten ist die ADM-Konzentration erhöht und korreliert zudem mit der Krankheitsschwere.⁶⁷ Studien in HFpEF-Patienten konnten bisher keinen oder nur einen geringen diagnostischen bzw. prognostischen Nutzen zeigen.^{68,69}

hsCRP

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein, das durch Hepatozyten im Rahmen inflammatorischer Prozesse bzw. bei Gewebsschädigungen ausgeschüttet wird.⁷⁰ Ursprünglich wurde das CRP insbesondere zur Überwachung aktiver Infektionen eingesetzt. Es kann jedoch auch zur Beurteilung des kardiovaskulären Risikos genutzt werden.⁷¹ Dabei sind vergleichsweise geringe Konzentrationen von Interesse, wie sie ursprüngliche Labortests nicht abbilden konnten. Daher wurden neue Assays entwickelt, die auch Konzentrationen unterhalb der ursprünglichen unteren Nachweisgrenzen (3-8 mg/l) angeben können (hsCRP, hochsensitives CRP).⁷¹ hsCRP-Konzentrationen von <1 mg/l, 1-3 mg/l bzw. >3 mg/l sind demnach mit einem geringen, moderaten bzw. erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert.⁷¹ Studien in HF-Patienten deuten auf höhere hsCRP-Konzentrationen bei Patienten mit HFpEF im Vergleich zu HFrEF-Patienten hin.⁷²

1.4 Endothel, endotheliale Dysfunktion und Stickstoffmonoxid-Metabolismus

1.4.1 Aufbau des Endothels und endotheliale Dysfunktion

Das gesamte Blutgefäßsystem einschließlich der Koronarien ist luminal von einer Zellschicht ausgekleidet, dem Endothel. Als einschichtiges Plattenepithel bildet es die mechanische und biologische Barriere zwischen dem Gefäßlumen und der Gefäßwand.⁷³ Das Endothel wird aus etwa 10 Billionen Endothelzellen gebildet, mit einer bedeckten Fläche von 6,000 m² und einem Gesamtgewicht von 1.5 kg.⁷⁴ Dem Endothel wurde zunächst keine weitere Funktion als die Sicherstellung der selektiven Permeabilität für Wasser und Elektrolyte zugesprochen. Heute ist bekannt, dass Endothelzellen eine Vielzahl an Molekülen produzieren und sekretieren, die den Gefäßtonus, aber auch die Blutgerinnung sowie inflammatorische und immunologische Prozesse beeinflussen und regulieren.⁷⁵ Daher kann das Endothel auch als ein großes endokrines Organ mit systemischer Bedeutung aufgefasst werden.

Die endotheliale Dysfunktion ist durch ein Ungleichgewicht endothelial freigesetzter Substanzen gekennzeichnet, insbes. durch die verminderte Freisetzung und damit reduzierte Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid (NO).⁷⁶ Veränderte Gerinnungs- und Entzündungsreaktionen können zu

prothrombotischen oder -inflammatorischen Zuständen führen. NO hemmt unter physiologischen Bedingungen die Expression von Adhäsionsmolekülen auf den Endothelzellen, sodass ein Anheften zellulärer Elemente an der Gefäßwand verhindert wird. Im Zustand der ED sind die Adhäsionsmoleküle jedoch überexprimiert, sodass Leukozyten vermehrt in das Endothel migrieren und dort einen zusätzlichen Schaden induzieren können.⁷⁷

1.4.2 Chemische Grundlagen und biologische Effekte des Stickstoffmonoxids

Stickstoffmonoxid ist ein anorganisches, farb- und geruchloses Gas mit einer Halbwertszeit von drei bis fünf Sekunden.^{78,79} Ein freies Elektron macht NO zu einem hochreaktiven Radikal mit hoher Affinität zu anderen Substanzen. Angesichts der lipophilen Eigenschaften und der geringen Größe ist NO in der Lage, durch Membranen zu diffundieren. Es wirkt vorwiegend parakrin bei Diffusionsstrecken von 50-1,000 µm.⁸⁰ Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro und Ferid Murad legten den Grundstein für unser heutiges Verständnis zur Bedeutung des NO im kardiovaskulären System. Sie erhielten 1998 „für ihre Arbeiten über die Rolle von Stickstoffmonoxid als Botenstoff im Herz-Kreislauf-System“ den Nobelpreis für Medizin.⁸¹

Die Synthese von NO erfolgt aus der Aminosäure L-Arginin (L-Arg).⁸² L-Arg trägt je Molekül vier Stickstoffatome und ist somit der effektivste Stickstoffträger im Intermediär-Stoffwechsel.⁸³ Die Synthese von L-Arg erfolgt endogen. In bestimmten eiweißkatabolen Zuständen oder während des körperlichen Wachstums kann die Synthese unzureichend sein; daher wird L-Arg auch als eine semiessentielle Aminosäure bezeichnet. Neben der endogenen Synthese werden täglich etwa 2-6 g über die Nahrung aufgenommen.⁸³ Die Umsetzung von L-Arg zu L-Citrullin und NO erfolgt durch NO-Synthasen (NOS). Es werden drei Isoformen der NOS unterschieden: zwei für gewöhnlich konstitutiv exprimierte Isoformen: die endotheliale NOS (eNOS) und neuronale NOS (nNOS) sowie die durch inflammatorische Zytokine induzierbare NOS (iNOS).⁸⁴ Insbesondere auf der Ebene der NOS unterliegt der NO-Stoffwechsel vielfältigen Regulationsmechanismen. Die katalytische Aktivität ist u. a. abhängig von der Anwesenheit des Cofaktors Tetrahydrobiopterin (BH₄). Bei einem BH₄-Mangel synthetisiert die NOS statt NO vermehrt freie Sauerstoffradikale,

die eine Endothelschädigung induzieren können.⁷⁷ Die NOS-Aktivität kann zusätzlich im Sinne eines negativen Feedback-Mechanismus durch das entstehende NO selbst reguliert werden. Daneben hat auch die Substratverfügbarkeit wesentlichen Einfluss auf die Aktivität der NOS.⁷⁸

Die Effekte des NO werden über verschiedene Signalwege vermittelt. Detailliert beschrieben ist der NO-sGC-cGMP-Signalweg. NO-Moleküle binden hochaffin an die lösliche Guanylatzyklase und regulieren damit direkt deren katalytische Aktivität. Auch die gefäßdilatorische Wirkung des NO beruht auf ebendieser Aktivierung der sGC in Zellen der glatten Gefäßmuskulatur. Die NO-Freisetzung erfolgt dabei in Reaktion auf bestimmte Agonisten (z. B. Acetylcholin), mechanische Stimuli bzw. Veränderungen der Scherbeanspruchungen sowie in Reaktion auf Ischämie und Temperaturveränderungen.⁸⁵ Die zunehmende Aktivität der sGC hat die vermehrte Bildung von cGMP zur Folge, welches cGMP-abhängige Kinasen aktiviert, darunter auch die Proteinkinase G. Die Kinasen führen zur Aktivitätssteigerung sarkoplasmatischer und sarkolemmaler Calcium-ATPasen, sodass der induzierte Abfall der intrazellulären Calcium-Konzentration die Relaxation der Muskelzellen und somit schließlich eine Vasodilatation zur Folge hat.⁸⁶

1.4.3 Stickstoffmonoxid-Metabolismus und Methylarginine

Neben L-Arg sind noch weitere (methylierte) Argininderivate am NO-Metabolismus beteiligt. Methylarginine entstehen im Rahmen der posttranslationalen Modifikation proteingebundener Arginin-Reste unter der Aktivität von Protein-N-Arginin-Methyltransferasen (PRMT).⁸⁷ Insgesamt sind neun PRMTs in drei Klassen beschrieben (Typ 1, 2 und 3). Alle PRMTs können die initiale Methylierung proteingebundener Arginin-Reste zum Rme1 (Monomethylarginin-Rest am Protein) katalysieren. Durch eine weitere Methylierung entstehen zweifach methylierte Arginin-Reste: PRMTs vom Typ 1 katalysieren die Methylierung zum Rme2a (asymmetrischer Dimethylarginin-Rest am Protein), Typ 2-PRMTs die Methylierung zum Rme2s (symmetrischer Dimethylarginin-Rest am Protein). Mit der Degradation der Proteine werden schließlich N-Monomethylarginin (L-NMMA) aus Rme1, asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) aus Rme2a sowie symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) aus Rme2s freigesetzt.⁸⁷ Die Aufnahme der drei Methylarginine sowie

der Aminosäuren Arginin, Lysin und Ornithin in die Endothelzellen erfolgt hauptsächlich über kationische Aminosäure-Transporter (CAT), auch als „y⁺-System“ bezeichnet.⁸⁸ L-NMMA und ADMA sind direkte Inhibitoren der NOS. SDMA hat keinen direkten Einfluss auf die NOS, kann allerdings über den kompetitiven Transport über das y⁺-System eine verminderte Aufnahme von Arginin bedingen, sodass der NOS nicht mehr ausreichend Substrat zur Verfügung steht.⁸⁸ Ein weiterer zentraler Metabolit im NO-Stoffwechsel ist das Homoarginin (hArg), das aus L-Arg und Lysin durch die Aktivität der L-Arg-Glycin-Amidino-transferase (AGAT) gebildet wird. Gegenüber L-Arg zeichnet sich hArg durch eine zusätzliche Methylengruppe bei einem sonst gleichem Aufbau aus. Die Synthese erfolgt überwiegend renal.⁸⁹ Die AGAT vermittelt zudem die Synthese des Metaboliten Guanidinoacetat, der als Vorläufer des Phosphatgruppen-Überträgers Kreatin bedeutsamen Einfluss auf den Energiestoffwechsel nimmt.⁹⁰ Bezüglich des NO-Stoffwechsels scheint hArg als alternatives NOS-Substrat aufzutreten. Weiterhin blockiert hArg das Enzym Arginase und verhindert somit den Abbau von Arginin.⁹¹ Die Interaktionen von L-Arg, hArg sowie methylierten Argininderivaten und deren Einfluss auf die Synthese von NO sind schematisch in Abb. 2 dargestellt.

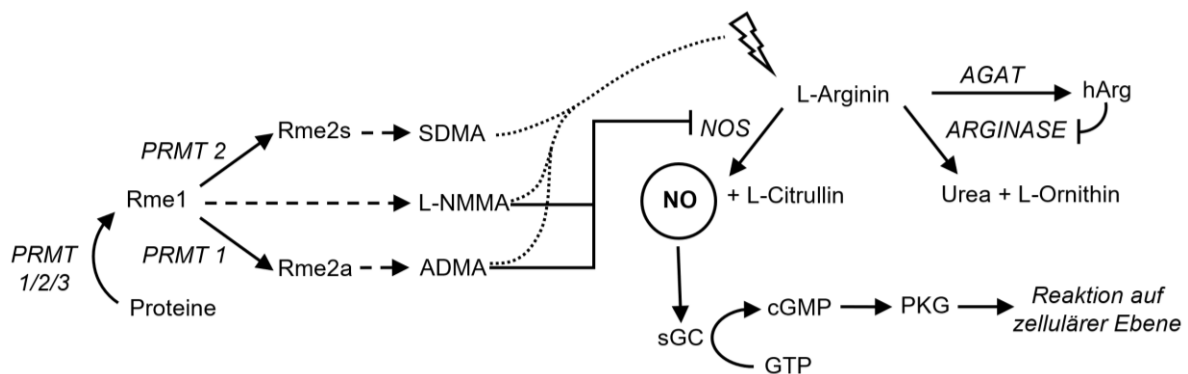


Abb. 2: Interaktionen von L-Arginin, Methylargininen, Homoarginin und Stickstoffmonoxid
 (Symmetrisches Dimethylarginin (SDMA), N-Monomethylarginin (L-NMMA) und asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) werden im Rahmen posttranslationaler Modifikationen proteingebundener Arginin-Reste durch Protein-N-Arginin-Methyltransferasen (PRMT) gebildet (Rme1 = Monomethylarginin-Rest am Protein; Rme2s = symmetrischer Dimethylarginin-Rest am Protein; Rme2a = asymmetrischer Dimethylarginin-Rest am Protein); ADMA und L-NMMA sind direkte Inhibitoren der Stickstoffmonoxid-Synthese (NOS), die die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) aus L-Arginin katalysiert; SDMA, ADMA und L-NMMA bedingen durch einen kompetitiven Transport über das kationische Aminosäure-Transporter-System eine geringere L-Arginin-Aufnahme und somit verminderte Substratverfügbarkeit für die NOS; Homoarginin (hArg) wird durch die L-Arg-Glycin-Amidino-transferase (AGAT) gebildet und kann das Enzym Arginase inhibieren, dadurch können L-Arginin Speicher erhalten werden; eine geringere NO-Bioverfügbarkeit führt zur Suppression der NO – löslichen Guanylatzyklase (sGC) – zyklischen Guanosinmonophosphat (cGMP) – Proteinkinase G (PKG) Achse mit entsprechenden Reaktionen)

1.4.4 Bedeutung des Stickstoffmonoxid-Metabolismus bei HFpEF

Zur Erfassung des aktuellen Forschungsstandes erfolgte eine elektronische Literaturrecherche in der Datenbank Medline (PubMed). Ein MeSH-Term (Medical Subject Heading) „HFpEF“ war zum Zeitpunkt der Literaturrecherche nicht etabliert, sodass zusätzlich der MeSH-Term „Heart Failure, Diastolic“ eingesetzt wurde. Im Zeitraum vom 06.12. bis 07.12.2020 wurde die Datenbank auf die folgenden Kombinationen durchsucht: (1) "Nitric Oxide"[Mesh] OR "Arginine"[Mesh] AND "HFpEF"; (2) "Nitric Oxide"[Mesh] OR "Arginine"[Mesh] AND "heart failure with preserved ejection fraction" und (3) "Nitric Oxide"[Mesh] OR "Arginine"[Mesh] AND "Heart Failure, Diastolic"[Mesh]. Insgesamt wurden anhand der Suchanfragen 51 Treffer identifiziert. Nach der Entfernung von 14 Duplikaten sowie 16 Kommentaren, Editorials und Übersichtsarbeiten wurden schließlich 21 Originalarbeiten betrachtet, darunter 12 präklinische und neun klinische Studien.

Die präklinischen Studien untersuchten in Tiermodellen mögliche molekulare Charakteristika der kardialen Dysfunktion bei HFpEF und prüften ebenso verschiedene therapeutische Ansätze. Silberman et al. wiesen in einem hypertensiven Mausmodell nach, dass eine verringerte NO-Produktion und kardiale Oxidationsprozesse mit einer eingeschränkten ventrikulären Relaxation assoziiert waren. Die reduzierte NO-Produktion war dabei maßgeblich durch eine dysfunktionale NOS ausgelöst, genauer durch ein „NOS Uncoupling“, das sich aus einer oxidativen Depletion des NOS-Cofaktors BH₄ ergab. So führte der BH₄-Mangel zu einer vermehrten Superoxid- statt NO-Bildung durch die NOS. Unter Gabe von BH₄ konnte ein Absinken der Superoxid-Spiegel und eine Verbesserung der diastolischen Funktion beobachtet werden.⁹² Schiattarella et al. zeigten im Mausmodell die iNOS als „Master-Mediator“ in der Entwicklung einer HFpEF. Demnach führe eine systemische Inflammation zur übermäßigen iNOS-Aktivierung mit anschließender iNOS-abhängiger Suppression der sog. „IRE1 α -XBP1-Achse“.⁹³ Weiterhin wurde gezeigt, dass durch Inhibition der konstitutiven NOS unter Nutzung von N^G-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) die systemischen sowie kardiovaskulären Eigenschaften einer HFpEF induziert werden konnten.⁹³ Zhang et al. konnten in einer randomisierten Studie in Schweinen unter der Gabe des SGLT2-Inhibitors Dapagliflozin eine Aktivierung des NO-sGC-cGMP-PKG Signalwegs und eine Umkehr

der HFpEF-typischen kardialen Remodelingprozesse nachweisen.⁹⁴ Auch Sitagliptin zeigte in Ratten positive Effekte auf die diastolische Compliance. Inflammatorische Prozesse waren unter Gabe des Dipeptidylpeptidase-4-Inhibitors rückläufig, gleichzeitig stieg die Expression der NO-produzierenden dimeren eNOS.⁹⁵ Shea et al. untersuchten den Effekt des sGC-Stimulators Pralicigat in Ratten mit kardioresaler Insuffizienz. Das Präparat zeigte positive Effekte.⁹⁶ Auch Tobin et al. konnten einen neuartigen sGC-Stimulator (IW-1973) als ein potentes Präparat mit renoprotektiven, antiinflammatorischen sowie antifibrotischen Effekten im präklinischen Modell nachweisen.⁹⁷ Westermann et al. untersuchten den Effekt einer pharmakologischen eNOS-Verstärkung. 30 Ratten mit diastolischer HF wurden dabei mit dem eNOS-Verstärker AVE3085 behandelt, während 30 weitere Ratten mit diastolischer HF ein Placebo erhielten. Die AVE3085-Gruppe zeigte eine Abschwächung der diastolischen Dysfunktion bei Verbesserung der kardialen Hypertrophie und Fibrose.⁹⁸

Auch erste klinische Studien weisen auf Störungen des NO-Metabolismus bei HFpEF-Patienten hin. Chirinos et al. untersuchten Serumkonzentrationen von NO-Metaboliten (NO_M) in Patienten mit HFrEF, Patienten mit HFpEF und gesunden Probanden. Es ergaben sich nur in der HFpEF-Gruppe Assoziationen mit niedrigeren NO_M -Konzentrationen. Zusammenhänge zwischen NO_M -Konzentrationen und einer LVH ließen sich nicht nachweisen.⁹⁹ Pilz et al. untersuchten in 1,396 Patienten innerhalb der Primärversorgung die Serumkonzentrationen von ADMA, SDMA und Homoarginin. Höhere ADMA- und SDMA- sowie geringere hArg-Konzentrationen waren dabei mit echokardiographischen Charakteristika einer DD assoziiert. Außerdem konnte für ADMA und SDMA eine positive Assoziation und für hArg eine negative Assoziation mit den Markern NT-proBNP und MR-proADM nachgewiesen werden.¹⁰⁰ Baldassari et al. untersuchten im Rahmen einer Studie zur Bedeutung von körperlichem Training als Therapiekonzept bei HFpEF auch den Einfluss des Trainings auf die Konzentrationen der NO-Metabolite ADMA, L-Arg und hArg. Während die Trainingsgruppe (n=43) über drei Monate zusätzlich zur Standardtherapie ein strukturiertes Trainingsprogramm erhielt, wurde die Kontrollgruppe (n=19) während dieser Zeit nur mit Standardtherapie weiterbehandelt. In der Baseline-Untersuchung zeigten sich negative

Assoziationen zwischen der maximalen Arbeitslast in der Spiroergometrie und den gemessenen ADMA-Konzentrationen. Nach Abschluss des Follow-Ups war kein signifikanter Unterschied in den Konzentrationen der untersuchten NO-Metabolite zu erkennen. Höhere hArg-Spiegel waren jedoch mit einer stärkeren Verbesserung der maximalen Sauerstoffaufnahme assoziiert.¹⁰¹

1.4.5 Stickstoffmonoxid-Metabolite als Biomarker und therapeutisches Target

Die Bedeutung von Arginin/NO-Metaboliten wie L-Arg, hArg, ADMA oder SDMA als Biomarker im kardiovaskulären System wurde zuletzt zunehmend erforscht.¹⁰² Während L-Arg und hArg als protektive Marker beschrieben wurden, werden ADMA und SDMA als Risikomarker angesehen, die den NO-Metabolismus negativ beeinflussen können.¹⁰² In bisherigen Studien war L-Arg kein unabhängiger Marker für das Eintreten kardiovaskulärer Ereignisse oder die Gesamtsterblichkeit, wohingegen erhöhte Spiegel der Methylarginine ADMA und SDMA unabhängige Prädiktoren für die kardiovaskuläre Mortalität und Gesamtsterblichkeit waren.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Ebenfalls wurden geringere hArg-Plasmakonzentrationen als unabhängiger Prädiktor für die Sterblichkeit identifiziert.¹⁰⁵

Angesichts des Konzepts einer reduzierten NO-Bioverfügbarkeit als möglicherweise beteiligten Mechanismus in der Entwicklung der HFpEF erscheinen der NO-Metabolismus und -Signalweg als potentielle therapeutische Targets bei Patienten mit HFpEF.³³ Die Erkenntnisse aus den präklinischen Modellen, in denen u. a. durch Inhibition der NOS die Eigenschaften einer HFpEF induziert werden konnten, unterstützen diesen Ansatz (siehe oben).⁹³ Bisherige Studien, die beispielsweise die Effekte von anorganischem Nitrit (*INDIE-HFpEF Studie*) oder organischem Nitrat (*NEAT-HFpEF Studie*) in Patienten mit HFpEF prüften, verfehlten eine Verbesserung des Outcomes.^{106,107} Auch der sGC-Stimulator Vericiguat konnte in der *VITALITY-HFpEF Studie* keine Verbesserung des Outcomes von HFpEF-Patienten erzielen.¹⁰⁸ Hinsichtlich der Methylarginine fehlen insgesamt noch konkrete therapeutische Strategien zur Senkung erhöhter ADMA- und SDMA-Spiegel, obwohl die Effekte der Metabolite auf die NO-Synthese gut verstanden sind.¹⁰⁹ Die Behandlung der nachteiligen Effekte der Methylarginine erscheint als ein weiterer Ansatz.¹⁰⁴ So wurde beispielsweise L-Arg als „Antidot“ von ADMA beschrieben.¹⁰⁴ In Patienten mit HFpEF

konnte die Gabe von L-Arg und Citrullin die rechtsventrikuläre Funktion verbessern; Studien, die den Effekt einer L-Arg Supplementation auf das kardiovaskuläre Gesamt-Outcome untersuchen, sind insgesamt jedoch noch ausstehend.^{104,110}

1.4.6 Bestimmung der endothelialen Funktion

Die endotheliale Funktion kann mittels invasiver und nicht-invasiver Methoden ermittelt werden. Die quantitative Koronarangiographie in Verbindung mit der Infusion vasoaktiver Substanzen war eine der ersten Methoden.¹¹¹ Unter kontinuierlicher kathetergestützter Messung des Blutflusses in den Koronarien erfolgt dabei die kontrollierte arterielle Infusion von vasoaktiven Substanzen wie Acetylcholin oder Bradykinin. Mögliche Veränderungen des Blutflusses werden erfasst und die endotheliale Funktion mittels der gewonnenen Messwerte abgeleitet.¹¹¹ Diese Methode ist weithin validiert, aber aufgrund ihrer Invasivität und des damit verbundenen Risikos nicht für ein systematisches Screening größerer Populationen geeignet. Es wurden folgerichtig alternative nicht-invasive Methoden entwickelt. Die Fluss-vermittelte Vasodilatation (FMD) war im Jahr 1992 die erste nicht-invasive Methode. Ultraschallgestützt wird der Durchmesser der Arteria brachialis vor und nach einer induzierten Okklusion bestimmt. Der Okklusionsdruck liegt 50 mmHg über dem systolischen Blutdruck und wird über 5 min durch das Aufblasen einer Blutdruckmanschette am Oberarm aufrechterhalten. Das Lösen der Stauung bedingt eine reaktive Hyperämie und zunehmende Scherkräfte an der Endotheloberfläche. Diese Effekte führen zur vermehrten endothelialen Freisetzung von NO. Eine mögliche Veränderung im Durchmesser der Arteria brachialis wird ultraschallgestützt bestimmt und die FMD schließlich als prozentuale Veränderung des Gefäßdurchmessers Postokklusion zu Ausgangsdurchmesser angegeben.¹¹¹ Die FMD ist aufgrund ihrer Einfachheit und nicht-Invasivität ein häufig verwendetes Verfahren in klinischen Studien. Nachteile sind die mögliche Beeinflussung der Messergebnisse durch Confounder (z. B. Umgebungstemperatur) und die Abhängigkeit vom Untersucher. Trotz dieser Limitationen zeigt sich bei standardisierter Methodologie eine hohe Reproduzierbarkeit der FMD.¹¹² Mit der wachsenden Bedeutung des Endothels in der Herz-Kreislauf-Forschung wurden weitere nicht-

invasive Techniken zur Messung der endothelialen Funktion entwickelt, darunter die periphere Pulsamplituden-Tonometrie (PAT). Das EndoPAT™ 2000-System der Firma Itamar Medical Ltd. (Caesarea, Israel) ist ein neuartiges System, das unter Nutzung der PAT Aussagen zur endothelialen Funktion treffen soll.¹¹³ Grundlage der PAT ist, dass die vom Herzen ausgehende Pulswelle durch das arterielle System bis in die Fingerbeeren fortgeleitet wird und auch dort zu pulsatischen Volumenänderungen führt.¹¹⁴ Zur Erfassung des Tonus werden bei dieser Methode an beiden Zeigefingern dicht umschließende plethysmographische Sensoren aufgesetzt, die die Volumenänderungen registrieren. Dazu erzeugen die Sensoren einen konstanten Gegendruck, der durch die einlaufenden Pulswellen Schwankungen erfährt.¹¹³ Diese Signale werden Software-gestützt in eine digital dargestellte Pulskurve umgesetzt. Vergleichbar zur FMD erfolgt auch bei der EndoPAT eine Okklusion über 5 min am Oberarm. Die Hypoperfusion führt zum Erlöschen der am Finger erfassten Pulswelle. Das Lösen der Stauung führt zu einer reaktiven Hyperämie und bedingt einen zunehmenden Blutfluss und verstärkte Scherkräfte, die schließlich eine vermehrte NO-Freisetzung und damit eine Vasodilatation auslösen. Das PAT-Signal wird dadurch entsprechend verstärkt. Der nicht-okkludierte Arm dient als interne Kontrolle, hier erfolgt keine Manipulation. Die kontinuierlich erfassten Pulskurven werden Software-gestützt ausgewertet und das EndoPAT-System gibt den reaktiven Hyperämie-Index (RHI) als Parameter der endothelialen Funktion aus. Für den RHI wurden auf Basis einer Validationsstudie Schwellenwerte definiert: ein RHI >1.67 spricht für eine normale endotheliale Funktion, ein RHI ≤ 1.67 zeigt eine ED an.¹¹³ Der RHI wird zudem in seinem natürlichen Logarithmus angegeben (lnRHI). Auch für den lnRHI wurden Normwerte definiert (Normwert lnRHI >0.51 ; ED bei einem lnRHI ≤ 0.51).¹¹³ Bislang durchgeführte Studien zeigen insgesamt gemischte Ergebnisse hinsichtlich der Reliabilität des EndoPAT™-Verfahrens im Vergleich zur FMD.^{111,115} Nachteile der PAT sind mit denen der FMD vergleichbar. Ein Vorteil liegt in der Unabhängigkeit des Verfahrens vom Untersucher.

2 Fragestellung

Trotz der hohen und absehbar zunehmenden HFpEF-Prävalenz bleibt das pathophysiologische Verständnis des Krankheitsbildes unvollständig. Diagnostische und therapeutische Standards fehlen. Das ursprüngliche Konzept der erhöhten linksventrikulären Nachlast als primäre Ursache wurde verlassen. Aktuelle Studien deuten auf eine zugrundeliegende systemische Inflammation mit resultierenden kardialen Umbauprozessen hin. Der NO-Signalweg nimmt dabei womöglich eine zentrale Rolle ein. NO ist ein kurzlebiges Signalmolekül, das aus der Aminosäure L-Arginin gebildet und von Endothelzellen freigesetzt wird. Neben L-Arginin sind weitere Argininderivate am NO-Metabolismus beteiligt, darunter Homoarginin sowie die Methylarginine symmetrisches und asymmetrisches Dimethylarginin. Diese Metabolite sind im Serum bestimmbar. Endothelin-1, MR-proADM, Copeptin und hsCRP sind neuartige oder etablierte kardiovaskuläre Biomarker, die Einfluss auf den Vasotonus und die endotheliale Funktion nehmen können. Vorangegangene Studien konnten bereits Zusammenhänge zwischen NO-Metaboliten und echokardiographischen Charakteristika demonstrieren. Weiterhin wurde bereits eine endotheliale Dysfunktion in HFpEF-Patienten beschrieben. Bislang fehlt jedoch ein integrierender Ansatz, der die genannten Marker auf mögliche Zusammenhänge mit der endothelialen Funktion und klinischen Charakteristika bei Patienten mit HFpEF prüft. Die vorliegende Arbeit soll potentielle Zusammenhänge in einer tiefgründig phänotypisierten HFpEF-Kohorte untersuchen. Folgende Fragestellungen bilden den Schwerpunkt:

- Welche Zusammenhänge zeigen sich zwischen den untersuchten Serummarkern und klinischen Charakteristika der Patienten mit HFpEF? Ergeben sich hierbei insbesondere Zusammenhänge mit echokardiographischen Charakteristika der HFpEF und Parametern der körperlichen Leistungsfähigkeit?
- Zeigen Patienten mit HFpEF eine endotheliale Dysfunktion und können die untersuchten Serummarker eine endotheliale Dysfunktion anzeigen?
- Welche prognostische Bedeutung lässt sich aus den untersuchten Serummarkern ableiten und welche Konsequenzen ergeben sich hinsichtlich therapeutischer Ansätze bei HFpEF?

3 Methoden

3.1 Studiendesign und Rekrutierung

3.1.1 Studiendesign

Die vorliegende Arbeit basiert auf Daten des „HFpEF-Registers“, das 2016 an der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum (CVK), initiiert wurde. Ziel der prospektiven Kohortenstudie ist die Erfassung kardialer, vaskulärer und metabolischer Dimensionen des Krankheitsbildes Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF). Die gewonnenen Erkenntnisse sollen die Ableitung diagnostischer und therapeutischer Prinzipien ermöglichen. Ein positives Votum der Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin vom 26.11.2016 liegt vor (Antragsnummer EA 2/134/15 mit Bestätigung vom 16.10.2018). Die Analysen dieser Arbeit beruhen auf der Studienkohorte zum Zeitpunkt Juni 2020.

3.1.2 Rekrutierung

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte hauptsächlich aus dem stationären und ambulanten Betrieb der initiiierenden Klinik. Bei der Rekrutierung potentiell geeigneter Patienten wurde insbesondere darauf geachtet, ob aus bereits bekannten Informationen Anhalte für das Vorliegen einer HFpEF gegeben waren. Potentiell geeignete Patienten wurden über die Möglichkeit zur Teilnahme an der Studie informiert und auf ein mögliches Interesse befragt. Bei Interesse erfolgte die Einladung zu einem ausführlichen Informationsgespräch, in dem die Patienten mündlich und schriftlich über Inhalte, Ablauf, Ziele sowie die jederzeit bestehende Möglichkeit des Widerrufs der Teilnahme aufgeklärt wurden. Weiterhin erhielten die Patienten bei diesem Gespräch zusätzliches Informationsmaterial ausgehändigt. Den Patienten wurde ausreichend Zeit zum Überdenken der Teilnahme eingeräumt. Bei weiter bestehendem Interesse gaben die Patienten zu Beginn der Teilnahme ihr schriftliches Einverständnis. Bei Erfüllung der Einschlusskriterien erfolgte schließlich der Einschluss.

3.1.3 Einschluss- und Ausschlusskriterien

Folgende Einschlusskriterien wurden in Anlehnung an die ESC-Leitlinie 2016 festgelegt:

- vorliegende schriftliche Einverständniserklärung
- Alter ≥ 18 Jahre (Männer und Frauen)
- erhaltene Ejektionsfraktion (LVEF $\geq 50\%$)
- NYHA-Klasse \geq II
- NT-proBNP > 125 pg/ml
- mind. ein zusätzliches echokardiographisches Kriterium:
 - E/e' mean ≥ 13 und e' mean < 9 cm/s
 - LAVI > 34 ml/m²
 - LVMI ≥ 115 g/m² für Männer bzw. LVMI ≥ 95 g/m² für Frauen

Es ist zu beachten, dass das ursprüngliche LVEF-Einschlusskriterium des HFpEF-Registers bei einer LVEF $\geq 45\%$ lag. Um den HFpEF-Kriterien der ESC-Leitlinie 2016 zu entsprechen, wurden in dieser Arbeit jedoch nur Patienten mit einer LVEF $\geq 50\%$ berücksichtigt.

Folgende Ausschlusskriterien wurden festgelegt:

- fehlendes schriftliches Einverständnis oder fehlende Einwilligungsfähigkeit
- Myokardinfarkt (STEMI oder NSTEMI) innerhalb der letzten drei Monate
- kardiale Operationen/Interventionen innerhalb der letzten drei Monate
- Perikarderkrankungen (wenn hämodynamisch relevant)

Darüber hinaus wurden Patienten aus der hier vorliegenden Analyse ausgeschlossen, die in der Spiroergometrie eine maximale Respiratory Exchange Ratio (RER) < 1 erreichten, da dies für eine mangelnde Ausbelastung spricht.

3.2 Untersuchungen

Sämtliche Untersuchungen erfolgten gemäß der einheitlichen Standardarbeitsanweisungen des Deutschen Zentrums für Herz-Kreislauf-Forschung e. V. (DZHK Standard Operating Procedures). Die einzelnen Untersuchungsergebnisse wurden auf vorgefertigten Prüfbögen pseudonymisiert dokumentiert. Anschließend wurden die Ergebnisse in eine studieneigene Datenbank übertragen. Nachfolgend werden die Untersuchungen dargestellt, die für die Fragestellung der vorliegenden Arbeit relevant waren. Das „HFpEF-Register“ umfasst darüber hinaus weitere Untersuchungen, auf die hier nicht näher eingegangen wird.

3.2.1 Anamnese und körperliche Untersuchung

Zur Beurteilung des kardiovaskulären Risikoprofils wurden die Patienten auf Risikofaktoren wie das Vorliegen eines Diabetes mellitus, einer Hypertonie, Hyperlipidämie, Hyperurikämie oder eines obstruktiven Schlafapnoesyndroms befragt. Weiterhin erfasste die Anamnese bereits bestehende kardiovaskuläre Diagnosen (Kardiomyopathie, bekannte koronare Herzkrankheit, Zustand nach Myokardinfarkt, Vorhofflimmern). Das Vorliegen weiterer Nebendiagnosen (z. B. chronisch obstruktiven Lungenerkrankung, chronische Nierenerkrankung, zerebrovaskuläre Erkrankungen oder periphere arterielle Verschlusskrankheit) wurde erfragt und dokumentiert. Weiterhin wurde die aktuelle Medikation der Patienten festgehalten. Die Anamnese umfasste zudem die Erkundigung nach der aktuellen gesundheitlichen Verfassung. Zur Beurteilung von Symptomen der HF wurden die Patienten hinsichtlich des Auftretens von Belastungsdyspnoe, Ruhedyspnoe, Orthopnoe und Müdigkeit bzw. Leistungsschwäche am Tage befragt. Aus den Angaben der Patienten wurde zusätzlich die aktuelle NYHA-Klasse abgeleitet. Die körperliche Untersuchung überprüfte potentiell vorliegende Zeichen einer HF. Körpergröße, Körpergewicht, Hüft- und Taillenumfang wurden gemessen.

3.2.2 Biobanking und Labordiagnostik

Den Patienten wurde venöses Blut zur Konservierung und späteren Auswertung abgenommen. Die Blutabnahme erfolgte entsprechend DZHK SOP sitzend oder liegend nach einer Ruhezeit von fünf Minuten in zuvor unveränderter Körperhaltung. Das Biomaterial wurde anschließend in das Labor der Studienambulanz überführt und dort mit Hilfe einer Eppendorf-Zentrifuge 5702R für zehn Minuten bei 18 °C und 2000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und in Aliquotgefäßen bis zur weiteren Analyse bei -80 °C gelagert. Die Analyse der Konzentrationen von L-Arginin, Homoarginin, ADMA und SDMA erfolgte durch das Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (Hamburg, Deutschland). Die Serumproben wurden auf Trockeneis an das Labor versandt, sodass die Aufrechterhaltung der Kühlkette gewährleistet war. L-Arginin, Homoarginin, ADMA und SDMA wurden mittels validierter Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometrie (LC-MS/MS) quantifiziert.¹¹⁶ 25 µl der Serumproben wurden dafür mit stabilen isotopenmarkierten internen Standards der in 100 µl Methanol gelösten Analyten verdünnt. Nach Proteinfällung und Verdampfen der Überstände bis zur Trockenheit wurden die Analyten in ihre Butylester-Derivate umgewandelt und einer positiven Elektrospray-Ionisation (ESI+) LC-MS/MS unterzogen. Die Analytkonzentrationen wurden aus Kalibrierungskurven für vier Konzentrationsniveaus jedes Analyten berechnet. Qualitätskontrollen (QCs) wurden zudem in zwei Konzentrationsniveaus in dreifacher Ausführung durchgeführt. Alle Variations- und Bias-Koeffizienten waren ≤10% für QC (niedrig) und <4% für QC (hoch).^{116,117} Die Konzentrationen von NT-proBNP, hsCRP, ET-1 und MR-proADM wurden ebenfalls aus den Serumproben bestimmt (Analyse durch das Labor Berlin, Berlin, Deutschland). Die ET-1 Konzentrationen wurden mittels eines Solid Phase Sandwich ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA) analysiert. Die MR-proADM Spiegel wurden ebenfalls mittels eines Sandwich ELISA (Elabscience Biotechnology, Wuhan, China) bestimmt. NT-proBNP wurde mittels eines Elektro Chemilumineszenz Immuno-Assays quantifiziert, hsCRP mittels eines turbidimetrischen Immunoassays.

3.2.3 Echokardiographie

Die transthorakale Echokardiographie erfolgte durch zertifizierte Kardiologen unter Nutzung des Ultraschall-Systems Philips EPIQ 7 (Philips Medical Systems, Andover, Massachusetts, USA). Folgende Blicke und Achsen wurden als 2D-Aufnahmen dargestellt: apikaler Zweikammerblick, Dreikammerblick, Vierkammerblick und Fünfkammerblick, parasternal lange und kurze Achse, subkostale Aufnahme. Folgende Parameter wurden gemäß der Erläuterungen in der Einleitung bestimmt: LVEDD, IVSED, PWED, LVMI, RWT, LAVI, LVEF, E-Welle, A-Welle, E/A-Verhältnis, e' lateral und septal, e' mean, E/e' mean.

3.2.4 Messung der endothelialen Funktion

Zur Messung der endothelialen Funktion wurde das EndoPAT™ 2000-System (Firma Itamar Medical Ltd., Caesarea, Israel) eingesetzt. Die Untersuchung erfolgte im Liegen. Zunächst wurde der aktuelle Blutdruck am nicht-dominanten Arm nach einer Ruhezeit von fünf Minuten ermittelt. Das Anbringen der Fingersensoren am rechten und linken Zeigefinger erfolgte entsprechend der Vorgaben. Als Mess-Arm wurde der nicht-dominante Arm gewählt, der dominante Arm diente als interne Kontrolle. Die Patienten wurden darauf hingewiesen, während der Messung möglichst zu entspannen. Das Schließen der Augen war gestattet, ein Einschlafen war hingegen untersagt. Das Licht im Untersuchungsraum wurde gedimmt und die Fenster verdunkelt. Nach Abschluss der Patientenvorbereitung wurde über die EndoPAT™-Software die kontinuierliche PAT-Messung gestartet und zunächst ein Ruhe-Signal über 5 min aufgezeichnet. Anschließend erfolgte die Okklusion mittels der vorab platzierten Okklusionsmanschette bei einem Okklusionsdruck ca. 50 mmHg über dem zuvor ermittelten systolischen Blutdruck. Die Okklusion wurde über 5 min aufrechterhalten und danach wieder vollständig gelöst. Das nun folgende Signal der reaktiven Hyperämie wurde über weitere 5 min aufgezeichnet. Die Software gab schließlich den reaktiven Hyperämieindex (RHI) aus. Dieser ergibt sich aus dem Verhältnis „PAT-Signal okkludierter Arm Post- zu Präokklusion“ zu „PAT-Signal Kontrollarm Post- zu Präokklusion“, multipliziert mit einem Baseline-Korrekturfaktor.¹¹³

3.2.5 Spiroergometrie und Sechs-Minuten-Geh-Test

Die Spiroergometrie ist ein allgemein etabliertes Verfahren zur Erfassung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Der kardiopulmonale Belastungstest berücksichtigt neben der Aufzeichnung von EKG und Blutdruck die kontinuierliche Erfassung von Atemflussparametern und ermöglicht so präzise Aussagen zur maximalen körperlichen Leistungsfähigkeit über die Ermittlung der maximalen Sauerstoffaufnahme (peakVO_2).¹¹⁸ Eine peakVO_2 von 14 ml/kg/min konnte als ein prognostischer Cut-Off Wert bei Patienten mit HFpEF validiert werden.^{119,120} Die Untersuchung erfolgte auf dem Sitz-Ergometer ergoselect 100 (Firma ergoline, Bitz, Deutschland) unter der Nutzung des Spiroergometrie-Systems MetaLyzer® 3B-R3 und der Software MetaSoft® Studio (Firma CORTEX Biophysik GmbH, Leipzig, Deutschland). Zur Messung der Atemgase erhielten die Patienten eine Atemmaske mit Turbine und Atemflusssensor. Der Sensor wurde vor Beginn der Untersuchung volumen- und gaskalibriert. Die Patientenvorbereitung umfasste neben der detaillierten Patienteninstruktion die korrekte Höheneinstellung des Ergometers und das Anlegen von Atemmaske, 12-Kanal-EKG und Blutdruckmanschette. Nach Abschluss aller Vorbereitungen wurde die Untersuchung gemäß eines definierten Belastungsprotokolls gestartet (Ruhephase 4 min, anschließend Belastungsbeginn mit 20 W für 2 min, weitere Steigerung um 10 W pro min). Die Atemflussparameter wurden „Atemzug-für-Atemzug“ aufgezeichnet. Ein Fingersensor ermittelte kontinuierlich die periphere kapillare Sauerstoffsättigung. Das 12-Kanal-EKG wurde fortlaufend aufgezeichnet und dabei auf Herzfrequenz und Rhythmus, Erregungsleitungs- und Erregungsrückbildungsstörungen sowie Zeichen einer ischämischen Herzkrankheit geprüft. Die Blutdruckmessung erfolgte alle 2 min. Die Patienten waren dazu angehalten, sich möglichst bis zur maximalen Erschöpfung auszubelasten. Der Belastungsabbruch erfolgte gemäß definierter absoluter und relativer Abbruchkriterien.¹²¹ In der anschließenden Ruhephase wurden über 4 min alle Parameter weiter aufgezeichnet. Abschließend erfolgte die Befragung der Patienten über den subjektiven Grad der Erschöpfung zum Zeitpunkt des Belastungsabbruchs (Borg-Skala 6-20).¹²² Der Sechs-Minuten-Geh-Test stellt eine mögliche Alternative zur Objektivierung der körperlichen Leistungsfähigkeit dar.^{123,124} Hierbei wird die innerhalb von sechs Minuten durch forciertes Gehen auf einem ebenem Terrain zurückgelegte Wegstrecke bestimmt.¹²⁴ Der Test erfolgte auf einem

standardisierten Kurs von 20 m Länge mit markierten Wendepunkten. Die Patienten wurden instruiert, so zügig wie möglich zu gehen, aber nicht zu laufen. Vor Untersuchungsbeginn wurden Blutdruck und Herzfrequenz in Ruhe bestimmt. Während des Tests wurden die Patienten fortlaufend durch Ansprache motiviert. Pausen waren gestattet, sofern benötigt. Die Zeit lief hierbei allerdings weiter. Direkt nach dem Ende der sechs Minuten wurden Blutdruck und Herzfrequenz erneut bestimmt, zudem wurden die Patienten über den subjektiven Grad der Erschöpfung zum Zeitpunkt des Belastungsabbruchs befragt (Borg-Skala 6-20).

3.3 Statistische Auswertung

Zunächst wurde für alle Patienten der individuelle HFA-PEFF Score ermittelt. Anhand der erreichten Punktzahl erfolgte die Aufteilung des Patientenkollektivs in zwei Gruppen (definitive HFpEF und Risiko für HFpEF). Die Ergebnisse aller durchgeführten Untersuchungen wurden mittels Methoden der deskriptiven Statistik ausgewertet. Die Prüfung auf das Vorliegen von Normalverteilung erfolgte mittels Shapiro-Wilk-Test. Kontinuierliche, normalverteilte Variablen wurden entsprechend als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben, nicht-normalverteilte Variablen als Median (1. Quartil; 3. Quartil). Kategoriale Variablen wurden als absolute Anzahl und Anteil in % an der Gesamtzahl angegeben. Zum Vergleich zwischen den Gruppen wurden der Pearson-Chi-Quadrat-Test für kategoriale Variablen und der T-Test (bei Normalverteilung) bzw. Mann-Whitney-U-Test (keine Normalverteilung) für kontinuierliche Variablen eingesetzt. Sofern sich in der Auswertung der kategorialen Variablen eine Zellenzahl kleiner als fünf ergab, wurde der exakte Test nach Fisher verwendet. Zwischen den Biomarkern erfolgte eine Korrelationsanalyse nach Spearman. Zur Prüfung möglicher Zusammenhänge mit Parametern der Echokardiographie, endothelialen Funktion und körperlichen Leistungsfähigkeit erfolgte eine einfache lineare Regressionsanalyse zwischen den Biomarkern und der jeweils betreffenden Variable. Die Regressionskoeffizienten wurden in einer Heatmap dargestellt. Sofern sich in der einfachen linearen Regression (Modell 1) signifikante Assoziationen ergaben, wurde eine multiple lineare Regression durchgeführt. Im Modell 2 wurden hierbei zunächst die Variablen Alter und

Geschlecht hinzugenommen. In einem weiteren Modell (Modell 3) wurde zusätzlich um die Variablen Body-Mass-Index (BMI), Vorhofflimmern (VHF), geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) und Hämoglobin-Konzentration (Hb) adjustiert. Eine Hauptkomponentenanalyse wurde durchgeführt, um potentielle Hauptkomponenten aus den untersuchten Markern und dem RHI abzuleiten. Eine Receiver Operating Characteristics (ROC) Analyse erfolgte, um einen möglichen diagnostischen Nutzen der untersuchten Marker zu prüfen. Sofern sich eine signifikante Fläche unter der ROC-Kurve (Area under the Curve, AUC) ergab, wurde für den jeweiligen Marker mittels Youden-Index der geeignete Cut-Off mit korrespondierender Sensitivität und Spezifität ermittelt. Sämtliche Auswertungen erfolgten unter Nutzung der Windows-Software IBM SPSS Statistics 25.0 (Armonk, New York, USA). Ein p-Wert <0.05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik des Patientenkollektivs

Von 131 ursprünglich in das Register eingeschlossenen Patienten hatten 121 eine LVEF $\geq 50\%$. Vollständige Daten waren von 98 Patienten verfügbar. Bei sieben Patienten waren die Ergebnisse der EndoPAT™ von unzureichender Qualität. 13 Patienten erreichten in der Spiroergometrie eine maximale RER < 1 und von fünf Patienten waren keine Serumproben verfügbar. Somit konnten insgesamt 73 Patienten in die Betrachtungen der vorliegenden Arbeit eingeschlossen werden. Die Patienten wurden anhand des ermittelten HFA-PEFF Scores (siehe folgende Seite) in zwei Gruppen eingeteilt: definitive HFpEF (n=52) und Risiko für HFpEF (n=21).

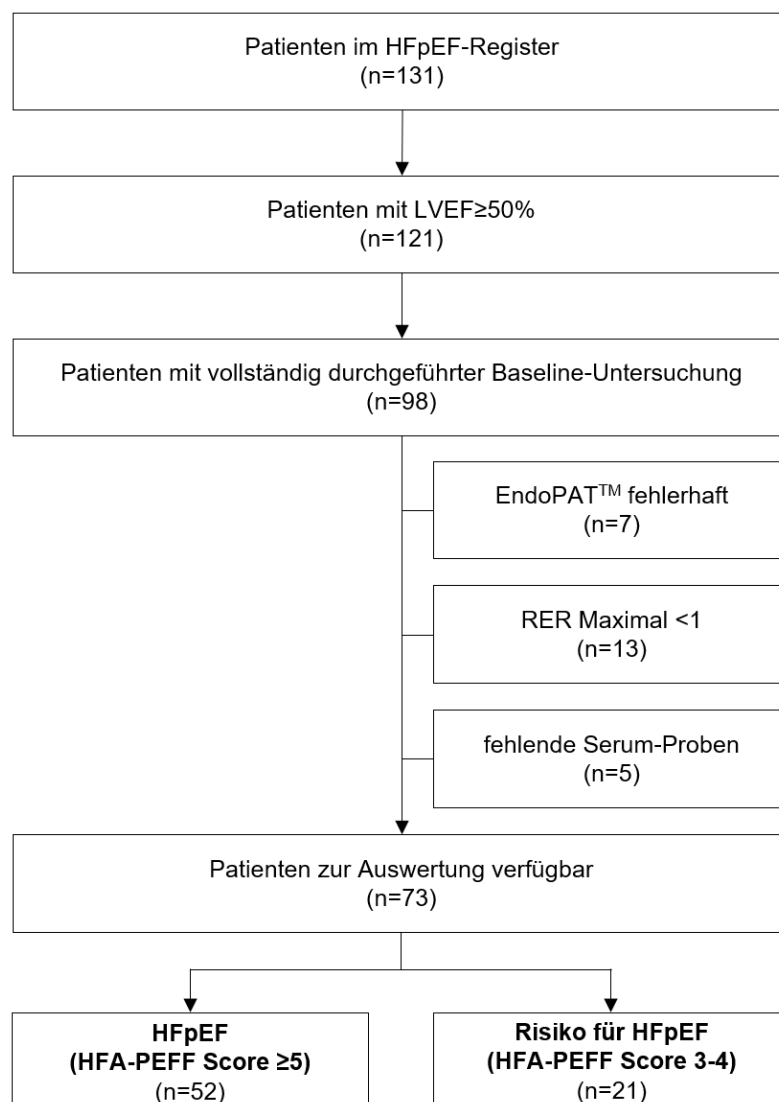


Abb. 3: Verteilung des untersuchten Patientenkollektivs in zwei Gruppen anhand des ermittelten Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores

4.1.1 HFA-PEFF Score im untersuchten Patientenkollektiv

Alle eingeschlossenen Patienten erfüllten die diagnostischen Kriterien der HFpEF gemäß ESC-Leitlinie 2016 und wurden daher als HFpEF-Patienten in das Register aufgenommen. Zusätzlich wurde in der vorliegenden Arbeit für jeden Patienten der individuelle HFA-PEFF Score ermittelt (siehe Kriterien zur Ermittlung des Scores in Tab. 2). Die Verteilung der erreichten Punktwerte sowie der abgeleiteten Befunde zeigt Abb. 4. In den Abb. 5-7 sind außerdem die Verteilungen der einzelnen Punktwerte innerhalb der drei Einzelkategorien „funktionelle echokardiographische Kriterien“, „morphologische echokardiographische Kriterien“ sowie „Biomarker“ dargestellt. Die Summe der Punktwerte aus den drei Einzelkategorien bildet den individuellen HFA-PEFF Score.

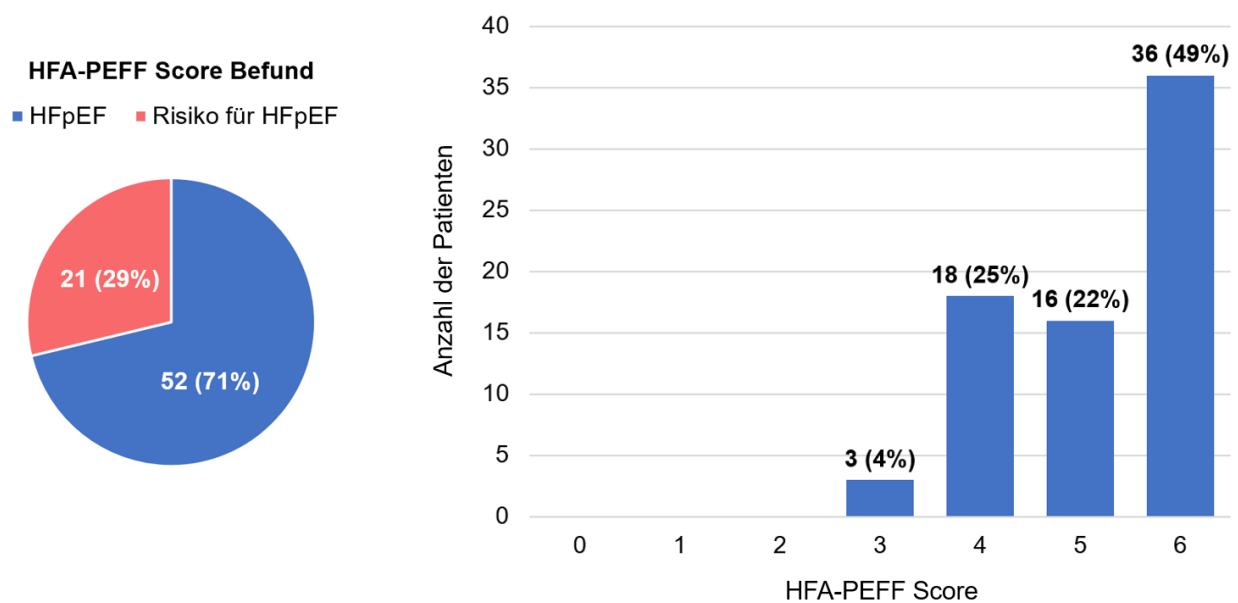


Abb. 4: Verteilung des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores (0 bis 6) innerhalb des untersuchten HFpEF-Patientenkollektivs sowie Ableitung der entsprechenden Befunde „HFpEF“ (bei einem HFA-PEFF Score ≥ 5) bzw. „Risiko für HFpEF“ (bei einem HFA-PEFF Score 3-4)

52 Patienten (71%) erreichten einen Score von 5 oder 6 und somit gemäß HFA-PEFF Diagnostik-Algorithmus einen „sicheren bzw. definitiven Befund einer HFpEF“. Für 21 Patienten (29%) ergab sich ein Punktwert von 3 oder 4. Diese Patienten können somit gemäß Algorithmus als Patienten mit einem „Risiko für das Vorliegen einer HFpEF“ eingeschätzt werden.

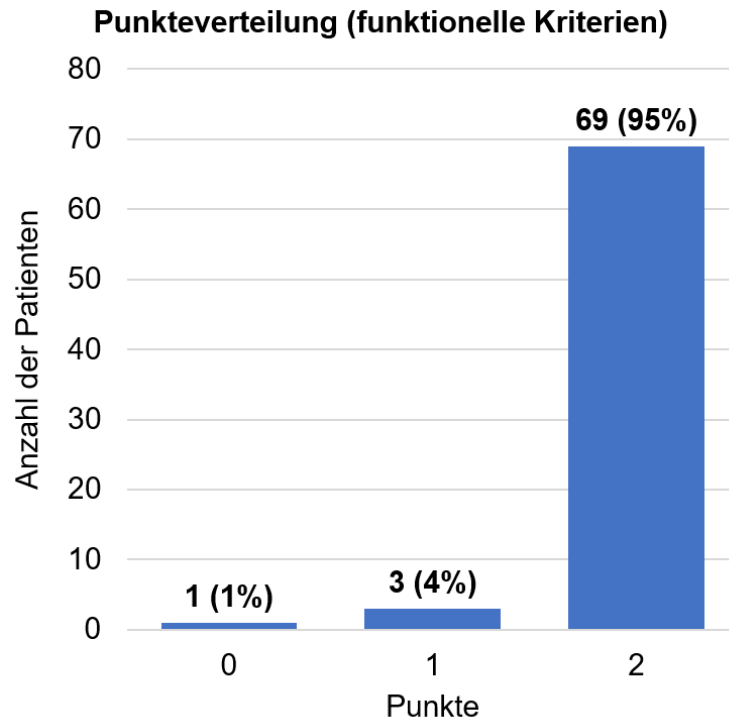


Abb. 5: Verteilung der erreichten Punktwerte (0 bis 2) in der Kategorie „funktionelle echokardiographische Kriterien“ des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores

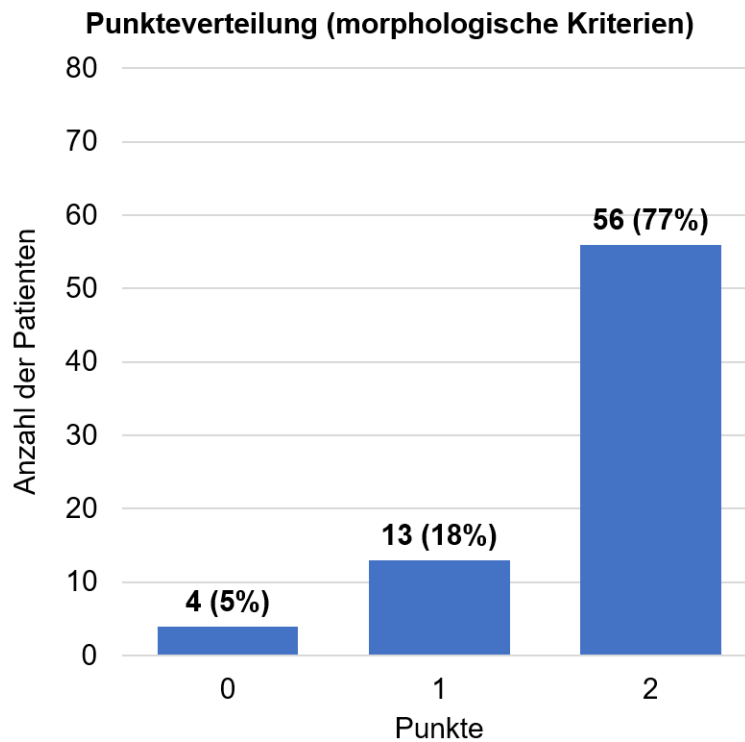


Abb. 6: Verteilung der erreichten Punktwerte (0 bis 2) in der Kategorie „morphologische echokardiographische Kriterien“ des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores

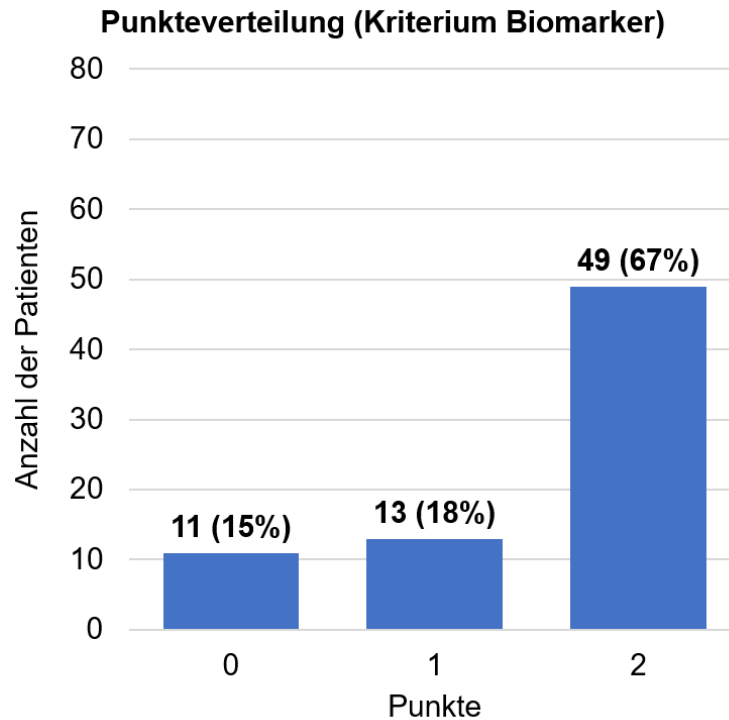


Abb. 7: Verteilung der erreichten Punktwerte (0 bis 2) in der Kategorie „Biomarker“ des Heart Failure Association (HFA)-PEFF Scores

In der Betrachtung der drei Einzelkategorien ergibt sich, dass 62 Patienten (85%) mindestens einen Punkt in der Kategorie „Biomarker“ erreichten, 69 Patienten (95%) mindestens einen Punkt in den „morphologischen echokardiographischen Kriterien“ und 72 Patienten (99%) mindestens einen Punkt in den „funktionellen echokardiographischen Kriterien“. Von den 11 Patienten, die in der Kategorie „Biomarker“ keinen Punkt erhielten, waren alle von Vorhofflimmern betroffen.

4.1.2 Basischarakteristika

In Tabelle 3 sind die Basischarakteristika des untersuchten Patientenkollektivs dargestellt. Die Basischarakteristika wurden zusätzlich gemäß der zwei gebildeten HFA-PEFF Score Gruppen gegenübergestellt. Auch Zeichen und Symptome der HF sowie die Medikation der Patienten sind dargestellt. Das mittlere Alter des untersuchten Kollektivs lag bei 74 (69;78) Jahren. Mit einer Verteilung von 46.6% Frauen zu 53.4% Männern war das Geschlechterverhältnis nahezu ausgeglichen. Patienten mit definitiver HFpEF waren tendenziell etwas älter (76 (69;78) Jahre vs.

72 (65;76) Jahre; $p=0.059$). Von allen Patienten befanden sich 58 (79.5%) im NYHA-Stadium II und 15 (20.5%) im NYHA-Stadium III. Patienten mit definitiver HFpEF waren häufiger im NYHA-Stadium III eingeordnet als Patienten mit Risiko für HFpEF (25.0% vs. 9.5%), jedoch war der Unterschied nicht signifikant ($p=0.204$). Hinsichtlich begleitender Komorbiditäten, Risikofaktoren sowie Vorerkrankungen waren zwischen den zwei HFA-PEFF Score Gruppen keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Die Patienten waren beispielsweise vergleichbar häufig von einer arteriellen Hypertonie (67 (91.8%) der Patienten), Hyperlipidämie (47 (64.4%) der Patienten) und koronaren Herzkrankheit (38 (52.1%) der Patienten) betroffen. Patienten mit definitiver HFpEF gemäß HFA-PEFF Algorithmus zeigten in ihrer Krankengeschichte jedoch signifikant häufiger ein ischämisches cerebrales Ereignis (30.8% vs. 4.8%; $p=0.017$). Die eGFR war bei den Patienten mit definitiver HFpEF tendenziell geringer als bei Patienten mit Risiko für HFpEF, wobei der Unterschied nicht statistisch signifikant war (64.2 ± 16.6 vs. 72.9 ± 22.1 ml/min/1.73m²; $p=0.070$). Das Patientenkollektiv präsentierte typische Zeichen und Symptome der HF. Etwa ein Drittel der Patienten litt an peripheren Ödemen und mehr als die Hälfte an zunehmender Müdigkeit und Leistungsschwäche. Zwischen den Gruppen tat sich allein bei der Schlafdauer ein signifikanter Unterschied auf (mittlere Schlafdauer von 6.0 (6.0;7.0) Stunden bei Patienten mit definitiver HFpEF vs. 7.0 (6.3;8.0) Stunden bei Patienten mit Risiko für HFpEF; $p=0.030$). Bezüglich der eingenommenen Medikamente war zwischen den Gruppen kein Unterschied zu erkennen.

Tab. 3: Basischarakteristika im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen

	Gesamt (n=73)	HFpEF (n=52)	Risiko für HFpEF (n=21)	p-Wert
HFA-PEFF Score	5 (4;6)	6 (5;6)	4 (4;4)	<0.001
Basisdaten und Komorbiditäten				
Alter [Jahre]	74 (69;78)	76 (69;78)	72 (65;76)	0.059
Geschlecht weiblich, n (%)	34 (46.6)	25 (48.1)	9 (42.9)	0.797
BMI [kg/m ²]	27.6 (24.3;32.1)	27.9 (24.3;32.6)	26.8 (24.3;29.4)	0.414
Taillenumfang [cm]	101 ± 16	102 ± 15	100 ± 18	0.742
Hüftumfang [cm]	105 (98;112)	106 (97;113)	102 (99;111)	0.779
RR _s [mmHg]	137 ± 19	135 ± 17	143 ± 22	0.107
RR _d [mmHg]	80 ± 12	79 ± 11	84 ± 13	0.167
Herzfrequenz [/min]	66 (59;73)	64 (59;72)	69 (57;80)	0.320

Tab. 3: Fortsetzung

	Gesamt (n=73)	HFpEF (n=52)	Risiko für HFpEF (n=21)	p-Wert
NYHA-Stadium II, <i>n (%)</i>	58 (79.5)	39 (75.0)	19 (90.5)	0.204
NYHA-Stadium III, <i>n (%)</i>	15 (20.5)	13 (25.0)	2 (9.5)	0.204
Vorhofflimmern, <i>n (%)</i>	41 (56.2)	27 (51.9)	14 (66.7)	0.250
Kardiomyopathie, <i>n (%)</i>	4 (5.5)	4 (7.7)	0 (0.0)	0.318
arterielle Hypertonie, <i>n (%)</i>	67 (91.8)	48 (92.3)	19 (90.5)	1.000
Hyperlipidämie, <i>n (%)</i>	47 (64.4)	33 (63.5)	14 (66.7)	0.796
Diabetes mellitus, <i>n (%)</i>	29 (39.7)	23 (44.2)	6 (28.6)	0.216
Schlafapnoesyndrom, <i>n (%)</i>	15 (20.5)	13 (25.0)	2 (9.5)	0.204
Raucher aktiv oder ehemalig, <i>n (%)</i>	38 (52.1)	27 (51.9)	11 (52.4)	0.972
koronare Herzkrankheit, <i>n (%)</i>	38 (52.1)	27 (51.9)	11 (52.4)	0.972
Zustand nach Myokardinfarkt, <i>n (%)</i>	19 (26.0)	14 (26.9)	5 (23.8)	0.784
Klappeninterventionen, <i>n (%)</i>	12 (16.4)	11 (21.2)	1 (4.8)	0.160
Apoplex/TIA, <i>n (%)</i>	17 (23.3)	16 (30.8)	1 (4.8)	0.017
pAVK, <i>n (%)</i>	7 (9.6)	6 (11.5)	1 (4.8)	0.665
Adipositas, <i>n (%)</i>	21 (28.8)	17 (32.7)	4 (19.0)	0.244
Anämie, <i>n (%)</i>	19 (26.0)	16 (30.8)	3 (14.3)	0.146
COPD, <i>n (%)</i>	5 (6.8)	4 (7.7)	1 (4.8)	1.000
chronische Nierenerkrankung, <i>n (%)</i>	17 (23.3)	13 (25.0)	4 (19.0)	0.762
eGFR [ml/min/1.73m ²]	66.7 ± 18.6	64.2 ± 16.6	72.9 ± 22.1	0.070
Zeichen und Symptome				
periphere Ödeme, <i>n (%)</i>	24 (32.9)	18 (34.6)	6 (28.6)	0.785
Belastungsdyspnoe, <i>n (%)</i>	69 (94.5)	49 (94.2)	20 (95.2)	1.000
Orthopnoe, <i>n (%)</i>	10 (13.7)	8 (15.4)	2 (9.5)	0.714
Müdigkeit/Leistungsschwäche, <i>n (%)</i>	42 (57.5)	31 (59.6)	11 (52.4)	0.609
nächtlicher Husten, <i>n (%)</i>	7 (9.6)	7 (13.5)	0 (0.0)	0.182
Schlafdauer [h]	6.5 (6.0;7.3)	6.0 (6.0;7.0)	7.0 (6.3;8.0)	0.030
Nykturie, <i>n (%)</i>	55 (75.3)	37 (71.2)	18 (85.7)	0.241
Medikation				
ACE-Inhibitor/AT1-Antagonist, <i>n (%)</i>	56 (76.7)	41 (80.8)	14 (66.7)	0.229
Calcium-Antagonisten, <i>n (%)</i>	30 (41.1)	22 (42.3)	8 (38.1)	0.741
Beta-Blocker, <i>n (%)</i>	61 (83.6)	42 (80.8)	19 (90.5)	0.489
Nitrate, <i>n (%)</i>	3 (4.1)	3 (5.8)	0 (0.0)	0.552
Statine, <i>n (%)</i>	46 (63.0)	34 (65.4)	12 (57.1)	0.509
Diuretika, <i>n (%)</i>	48 (65.2)	36 (69.2)	12 (57.1)	0.325
Aldosteron-Antagonisten, <i>n (%)</i>	14 (19.2)	10 (19.2)	4 (19.0)	1.000

BMI, Body-Mass-Index; RR_s, systolischer Blutdruck; RR_d, diastolischer Blutdruck; NYHA, New York Heart Association; TIA, transitorische ischämische Attacke; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; COPD, chronisch-obstruktive Lungenerkrankung; eGFR, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate.

4.1.3 Echokardiographie

Die echokardiographischen Befunde sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die mittlere LVEF im Gesamtkollektiv lag bei 57 (55;60) % und unterschied sich zwischen den HFA-PEFF Score Gruppen nicht. Insgesamt präsentierten die Patienten eindeutige echokardiographische Zeichen einer relevanten strukturellen Herzerkrankung bzw. diastolischen Dysfunktion. Der mittlere LAVI betrug 42 (34;53) ml/m². Der LAVI war zudem der einzige echokardiographische Parameter, der sich zwischen den HFA-PEFF Score Gruppen hochsignifikant unterschied (Patienten mit definitiver HFpEF gemäß HFA-PEFF Score 47 (38;58) ml/m² vs. 33 (26;38) ml/m² bei Patienten mit Risiko für HFpEF gemäß HFA-PEFF Score; p<0.001). Hinsichtlich echokardiographischer Parameter der diastolischen Funktion wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den HFA-PEFF Score Gruppen festgestellt. Die mittlere frühdiastolische Mitralanulusgeschwindigkeit lag im Gesamtkollektiv bei 6.7 ± 1.7 cm/s, der linksventrikuläre Füllungsindex bei 12.2 (10.2;16.6).

Tab. 4: Echokardiographische Befunde im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen

	Gesamt (n=73)	HFpEF (n=52)	Risiko für HFpEF (n=21)	p-Wert
LA und LV Struktur und Funktion				
LAVI [ml/m ²]	42 (34;53)	47 (38;58)	33 (26;38)	<0.001
LVEDD [mm]	48.4 ± 6.5	48.9 ± 6.8	47.4 ± 5.8	0.383
IVSED [mm]	12.0 (11.0;13.0)	12.0 (11.0;13.0)	12.0 (10.5;13.5)	0.853
PWED [mm]	11.0 (10.0;12.0)	11.0 (10.0;12.0)	10.0 (9.0;12.0)	0.216
RWT	0.43 (0.38;0.51)	0.45 (0.38;0.52)	0.43 (0.38;0.49)	0.583
LVMl [g/m ²]	112 (85;127)	115 (90;128)	102 (75;126)	0.087
LVEF [%]	57 (55;60)	57 (55;60)	56 (55;60)	0.936
Doppler				
E [cm/s]	84 (68;104)	85 (67;104)	80 (68;104)	0.643
A [cm/s] (n=51)	76 ± 26	77 ± 28	74 ± 22	0.686
E/A (n=51)	1.0 (0.8;1.4)	1.0 (0.7;1.4)	1.0 (0.8;1.5)	0.536
e' mean [cm/s]	6.7 ± 1.7	6.8 ± 1.6	6.6 ± 1.8	0.632
E/e' mean	12.2 (10.2;16.6)	12.0 (10.2;15.3)	13.4 (10.2;17.1)	0.692

LA, linkes Atrium; LV, linker Ventrikel; LAVI, linksatrialer Volumenindex; LVEDD, linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser; IVSED, enddiastolische interventrikuläre Septumdicke; PWED, enddiastolische Hinterwanddicke; RWT, relative Wanddicke; LVMl, linksventrikulärer Massenindex; LVEF, linksventrikuläre Ejektionsfraktion; E, Welle der frühdiastolischen Ventrikelfüllung; A, Welle der spätdiastolischen Ventrikelfüllung; E/A, Quotient aus E- zu A-Welle; e' mean, mittlere frühdiastolische Mitralanulusgeschwindigkeit; E/e' mean, linksventrikulärer Füllungsindex; in Klammern angegeben ist die Anzahl der gemessenen Patienten (n), sofern eine Abweichung von n=73 vorlag (Messdaten der übrigen Patienten nicht verfügbar).

4.1.4 Spiroergometrie und Sechs-Minuten-Geh-Test

In der Spiroergometrie erreichten die Patienten im Mittel eine maximale Belastung von 90 (70; 110) Watt und eine mittlere peakVO₂ von 15.3 (12.9;18.8) ml/kg/min (siehe Tab. 5). Zwischen den HFA-PEFF Score Gruppen ergab sich dabei kein signifikanter Unterschied. Patienten mit definitiver HFpEF tendierten jedoch zu einem höheren VE/VCO₂ Slope (36 (31;39) vs. 34 (29;35); p=0.108). Weiterhin erreichten die Patienten mit definitiver HFpEF eine geringere Gehstrecke im Sechs-Minuten-Geh-Test (427 ± 100 vs. 473 ± 92 m), obgleich auch dieser Unterschied nicht statistisch signifikant war (p=0.073).

Tab. 5: Spiroergometrie und Sechs-Minuten-Geh-Test im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen

	Gesamt (n=73)	HFpEF (n=52)	Risiko für HFpEF (n=21)	p-Wert
Spiroergometrie				
maximale Belastung [W]	90 (70;110)	90 (70;100)	90 (80;125)	0.216
RR _s Ruhe [mmHg] (n=68)	126 ± 21	125 ± 20	128 ± 26	0.647
RR _d Ruhe [mmHg] (n=68)	72 (67;78)	72 (63;77)	74 (70;85)	0.100
RR _s Maximal [mmHg] (n=60)	172 ± 31	168 ± 31	180 ± 31	0.195
RR _d Maximal [mmHg] (n=60)	77 ± 18	74 ± 18	84 ± 18	0.070
Herzfrequenz Ruhe [/min]	68 (63;77)	67 (63;75)	70 (59;81)	0.403
Herzfrequenz Maximal [/min]	112 ± 28	112 ± 28	112 ± 28	0.993
VE Ruhe [l/min]	11.7 ± 2.7	11.8 ± 2.7	11.3 ± 2.8	0.432
VE Maximal [l/min]	48.0 (41.0;58.9)	48.5 (40.0;60.6)	47.5 (41.8;57.4)	0.860
RER Ruhe	0.81 ± 0.07	0.81 ± 0.07	0.79 ± 0.07	0.331
RER Maximal	1.16 (1.10;1.24)	1.16 (1.09;1.22)	1.16 (1.12;1.27)	0.571
VE/VCO ₂ Slope	35 (30;38)	36 (31;39)	34 (29;35)	0.108
peakVO ₂ [ml/kg/min]	15.3 (12.9;18.8)	15.3 (12.5;19.0)	15.9 (13.5;17.3)	0.534
Borg-Score	15 (15;17)	15 (15;17)	15 (15;17)	0.930
Sechs-Minuten-Geh-Test				
Gehstrecke [m]	440 ± 100	427 ± 100	473 ± 92	0.073
Borg-Score	12 ± 3	12 ± 3	12 ± 2	0.639

RR_s, systolischer Blutdruck; RR_d, diastolischer Blutdruck; VE, Atemminutenvolumen; RER, respiratorischer Quotient; peakVO₂, maximale Sauerstoffaufnahme; VE/VCO₂ Slope, Anstiegssteilheit der Regressionsgeraden zwischen Ventilation und Kohlendioxidabgabe; in Klammern angegeben ist die Anzahl der gemessenen Patienten (n), sofern eine Abweichung von n=73 vorlag (Messdaten der übrigen Patienten nicht verfügbar).

4.1.5 Endotheliale Funktion

Der RHI lag im Gesamtkollektiv bei 1.55 (1.38;1.87) und der lnRHI bei 0.44 (0.32;0.63) (siehe Tab. 6). Zwischen den HFA-PEFF Score Gruppen taten sich keine signifikanten Unterschiede auf. RHI und lnRHI lagen bei Patienten mit definitiver HFpEF bei 1.52 (1.38;1.76) und 0.42 (0.32; 0.57), bei Patienten mit Risiko für HFpEF bei 1.73 (1.28;2.00) und 0.55 (0.25;0.70) ($p=0.652$).

Tab. 6: EndoPAT™ Hyperämie-Indizes im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen

	Gesamt (n=73)	HFpEF (n=52)	Risiko für HFpEF (n=21)	p-Wert
RHI	1.55 (1.38;1.87)	1.52 (1.38;1.76)	1.73 (1.28;2.00)	0.652
lnRHI	0.44 (0.32;0.63)	0.42 (0.32;0.57)	0.55 (0.25;0.70)	0.652

RHI, reaktiver Hyperämie-Index; lnRHI, natürlich logarithmierter reaktiver Hyperämie-Index.

4.1.6 Biomarker

In Tabelle 7 sind die Serumkonzentrationen der untersuchten Biomarker des NO-Metabolismus sowie der weiteren untersuchten kardiovaskulären Biomarker dargestellt. Die mittlere Arginin-Konzentration lag bei $126 \pm 32 \mu\text{mol/l}$, die Homoarginin-Konzentration bei $1.67 \pm 0.55 \mu\text{mol/l}$ und die Konzentrationen von SDMA und ADMA bei $0.74 (0.60;0.85) \mu\text{mol/l}$ und $0.61 \pm 0.10 \mu\text{mol/l}$. Hinsichtlich der weiteren untersuchten Biomarker ergaben sich für Endothelin-1 eine Konzentration von $2.64 (2.29;3.63) \text{pg/ml}$, für Copeptin $7.77 (4.69;18.96) \text{pmol/l}$, für MR-proADM $208 (188;241) \text{pg/ml}$, für NT-proBNP $477 (272;949) \text{pg/ml}$ sowie für hsCRP $1.8 (0.9;3.3) \text{mg/l}$. Patienten mit definitiver HFpEF gemäß HFA-PEFF Score zeigten tendenziell höhere SDMA- und Endothelin-1-Spiegel, jedoch waren diese Unterschiede nicht statistisch signifikant ($p=0.192$ und $p=0.055$). Die Copeptin-Konzentration lag bei Patienten mit definitiver HFpEF signifikant höher als bei Patienten mit Risiko für HFpEF ($9.60 (5.58;22.36) \text{pmol/l}$ vs. $5.04 (3.86;11.58) \text{pmol/l}$; $p=0.044$). Weiterhin waren die NT-proBNP Spiegel bei Patienten mit definitiver HFpEF mit $654 (335;1058) \text{pg/ml}$ signifikant erhöht gegenüber Patienten mit Risiko für HFpEF gemäß HFA-PEFF Score ($253 (195;410) \text{pg/ml}$; $p<0.001$).

Tab. 7: Biomarker-Konzentrationen im gesamten Patientenkollektiv und nach HFA-PEFF Score Gruppen

	Gesamt (n=73)	HFpEF (n=52)	Risiko für HFpEF (n=21)	p-Wert
Arginin [$\mu\text{mol/l}$]	126 \pm 32	128 \pm 34	124 \pm 29	0.614
Homoarginin [$\mu\text{mol/l}$]	1.67 \pm 0.55	1.66 \pm 0.58	1.68 \pm 0.50	0.855
SDMA [$\mu\text{mol/l}$]	0.74 (0.60;0.85)	0.76 (0.61;0.87)	0.71 (0.58;0.78)	0.192
ADMA [$\mu\text{mol/l}$]	0.61 \pm 0.10	0.63 \pm 0.10	0.60 \pm 0.11	0.318
Endothelin-1 [pg/ml]	2.64 (2.29;3.63)	2.74 (2.31;3.71)	2.40 (2.16;3.02)	0.055
Copeptin [pmol/l]	7.77 (4.69;18.96)	9.60 (5.58;22.36)	5.04 (3.86;11.58)	0.044
MR-proADM [pg/ml]	208 (188;241)	214 (185;236)	200 (188;282)	0.738
NT-proBNP [pg/ml]	477 (272;949)	654 (335;1058)	253 (195;410)	<0.001
hsCRP [mg/l]	1.8 (0.9;3.3)	1.9 (0.8;3.6)	1.5 (0.9;2.6)	0.393

SDMA, symmetrisches Dimethylarginin; ADMA, asymmetrisches Dimethylarginin; MR-proADM, Midregionales pro-Adrenomedullin; NT-proBNP, N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein.

4.2 Zusammenhänge zwischen den untersuchten Biomarkern

Es erfolgte eine Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen den Biomarkern. Die erhaltenen Korrelationskoeffizienten sind in Tab. 8 aufgetragen. Es zeigte sich u. a. eine negative Korrelation zwischen Homoarginin und NT-proBNP ($r=-0.275$; $p=0.019$). SDMA korrelierte hingegen positiv mit NT-proBNP ($r=0.291$; $p=0.013$) und darüber hinaus mit Endothelin-1 ($r=0.233$; $p=0.047$) und Copeptin ($r=0.381$; $p=0.001$), jedoch nicht mit MR-proADM oder hsCRP. ADMA zeigte ebenfalls eine positive Korrelation mit Endothelin-1 ($r=0.250$; $p=0.033$) und zusätzlich auch mit hsCRP ($r=0.303$; $p=0.009$). Endothelin-1 korrelierte zudem mit MR-proADM ($r=0.282$; $p=0.016$) und NT-proBNP ($r=0.346$; $p=0.003$). Auch Copeptin korrelierte mit NT-proBNP ($r=0.283$; $p=0.015$). Die weiteren Ergebnisse der Korrelationsanalyse sind der Tabelle zu entnehmen.

Tab. 8: Ergebnisse der bivariaten Korrelationsanalyse zwischen den Biomarkern (jeweils angegeben ist der Korrelationskoeffizient nach Spearman; signifikante Korrelationen sind hervorgehoben; * $p<0.05$; ** $p<0.01$)

	Arginin	Homoarginin	SDMA	ADMA	Arginin/ADMA-Ratio	Endothelin-1	Copeptin	MR-proADM	NT-proBNP	hsCRP
Arginin	1	0.299*	0.210	0.297*	0.773**	0.150	-0.021	0.078	-0.087	0.079
Homoarginin	0.299*	1	0.079	0.180	0.222	0.130	-0.070	-0.055	-0.275*	-0.071
SDMA	0.210	0.079	1	0.549**	-0.151	0.233*	0.381**	-0.130	0.291*	0.221
ADMA	0.297*	0.180	0.549**	1	-0.298*	0.250*	0.083	-0.093	0.083	0.303**
Arginin/ADMA-Ratio	0.773**	0.222	-0.151	-0.298*	1	-0.034	-0.108	0.155	-0.148	-0.081
Endothelin-1	0.150	0.130	0.233*	0.250*	-0.034	1	0.091	0.282*	0.346**	0.199
Copeptin	-0.021	-0.070	0.381**	0.083	-0.108	0.091	1	-0.117	0.283*	0.225
MR-proADM	0.078	-0.055	-0.130	-0.093	0.155	0.282*	-0.117	1	0.001	0.061
NT-proBNP	-0.087	-0.275*	0.291*	0.083	-0.148	0.346**	0.283*	0.001	1	0.156
hsCRP	0.079	-0.071	0.221	0.303**	-0.081	0.199	0.225	0.061	0.156	1

SDMA, symmetrisches Dimethylarginin; ADMA, asymmetrisches Dimethylarginin; MR-proADM, Midregionales pro-Adrenomedullin; NT-proBNP, N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein.

4.3 Klinische Assoziationen der untersuchten Biomarker

Die Ergebnisse der einfachen linearen Regressionsanalyse (Modell 1) zwischen den Markern und Parametern der Echokardiographie, körperlichen Leistungsfähigkeit und endothelialen Funktion sind in Abbildung 8 dargestellt. In der Analyse ergaben sich einzelne Assoziationen zwischen Biomarkern und Parametern der Echokardiographie und körperlichen Leistungsfähigkeit, jedoch keinerlei Zusammenhang mit dem reaktiven Hyperämieindex als hier untersuchten Parameter der endothelialen Funktion. Nachfolgend wurden die signifikanten Assoziationen der einfachen linearen Regressionsanalyse weitergehend untersucht (siehe folgende Kapitel).

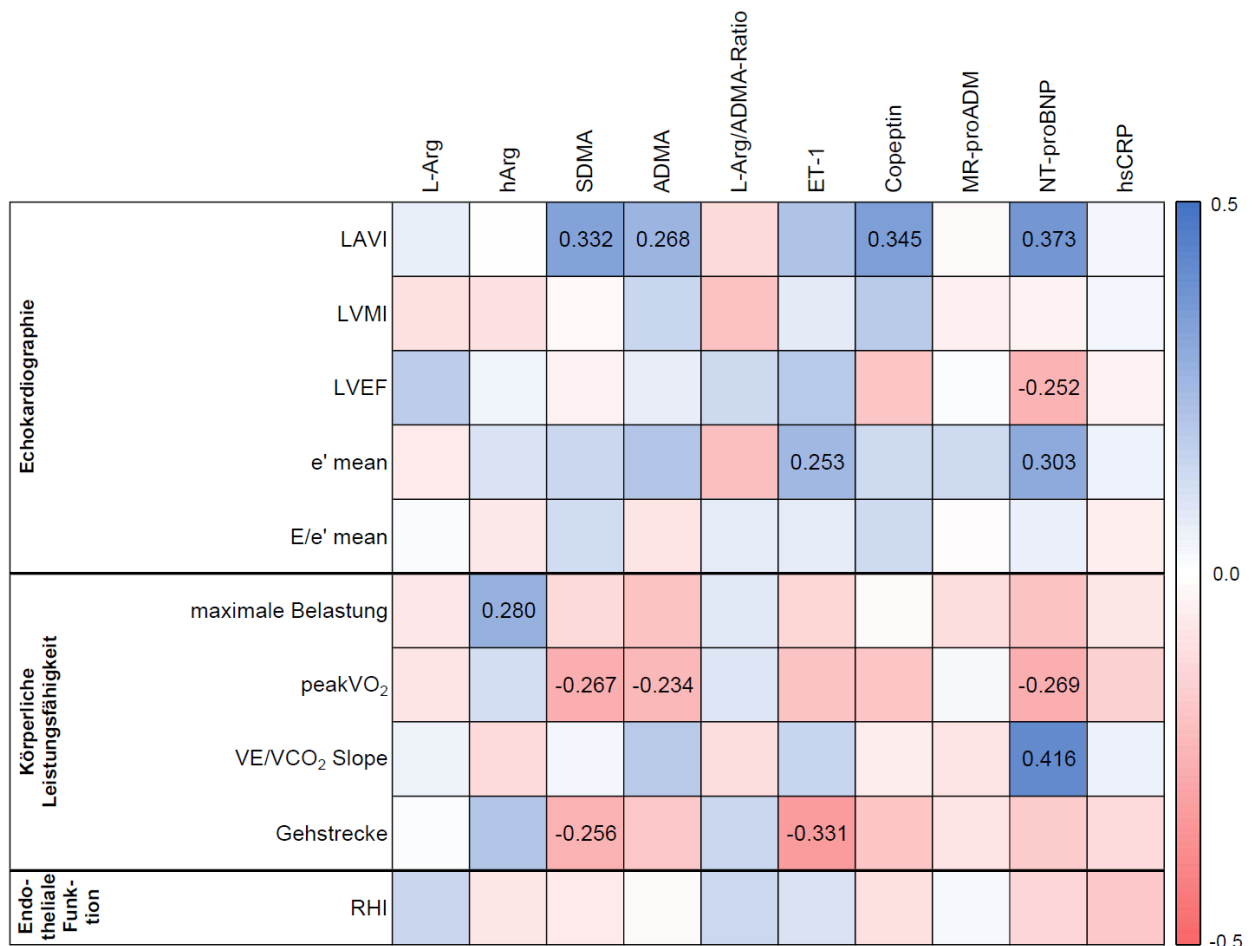


Abb. 8: Heatmap-Darstellung der einfachen linearen Regressionsanalyse zwischen den untersuchten Markern und Parametern der Echokardiographie, körperlichen Leistungsfähigkeit und endothelialen Funktion (LAVI, linksatrialer Volumenindex; LVMI, linksventrikulärer Massenindex; LVEF, linksventrikuläre Ejektionsfraktion; e' mean, mittlere frühdiastolische Mitralanulusgeschwindigkeit; E/e' mean, linksventrikulärer Füllungsindex; peakVO₂, maximale Sauerstoffaufnahme; VE/VCO₂ Slope, Anstiegssteilheit der Regressionsgeraden zwischen Ventilation und Kohlendioxidabgabe; RHI, reaktiver Hyperämieindex; Farbskala für den Regressionskoeffizienten von $\beta=0.5$ bis $\beta=-0.5$; bei Signifikanz [$p<0.05$] ist zusätzlich der Regressionskoeffizient im jeweiligen Feld angegeben)

4.3.1 Biomarker und Echokardiographie

Die einfache lineare Regressionsanalyse (Modell 1; siehe Abb. 8 und Tab. 9) ergab signifikante Assoziationen zwischen SDMA und LAVI ($\beta=0.332$; $p=0.004$), ADMA und LAVI ($\beta=0.268$; $p=0.022$), Copeptin und LAVI ($\beta=0.345$; $p=0.003$), NT-proBNP und LAVI ($\beta=0.373$; $p=0.001$), NT-proBNP und LVEF ($\beta=-0.252$; $p=0.032$), ET-1 und e' mean ($\beta=0.253$; $p=0.031$) sowie NT-proBNP und e' mean ($\beta=0.303$; $p=0.009$). L-Arg, hArg, die L-Arg/ADMA-Ratio, MR-proADM und hsCRP zeigten hingegen keine Assoziation zu echokardiographischen Parametern. Signifikante Assoziationen wurden weiter adjustiert: im Modell 2 für die Variablen Alter und Geschlecht, im Modell 3 zusätzlich für BMI, Vorhofflimmern, die eGFR und die Hämoglobin-Konzentration. Über alle drei Modelle hatte die Assoziation zwischen dem Methylarginin SDMA und LAVI Bestand. Hingegen war zwischen ADMA und LAVI in den Modellen 2 und 3 keine Signifikanz mehr gegeben. Copeptin und NT-proBNP zeigten wie SDMA über alle drei Modelle eine signifikante Assoziation mit dem LAVI. Die Assoziation von NT-proBNP und LVEF ging in den Modellen 2 und 3 verloren. Ebenfalls zeigten weder ET-1 noch NT-proBNP den Zusammenhang mit e' mean über alle drei Modelle.

Tab. 9: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse zwischen den untersuchten Markern und Parametern der Echokardiographie (es sind ausschließlich die Zusammenhänge dargestellt, für die in Modell 1 Signifikanz bestand; Modell 1: unadjustiert; Modell 2: adjustiert für Alter und Geschlecht; Modell 3: adjustiert für Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, Vorhofflimmern, eGFR, Hämoglobin-Konzentration)

	Modell 1		Modell 2		Modell 3	
	β	p	β	p	β	p
LAVI						
SDMA	0.332	0.004	0.254	0.033	0.352	0.024
ADMA	0.268	0.022	0.238	0.093	0.195	0.106
Copeptin	0.345	0.003	0.291	0.014	0.362	0.012
NT-proBNP	0.373	0.001	0.295	0.014	0.270	0.044
LVEF						
NT-proBNP	-0.252	0.032	-0.221	0.081	-0.209	0.127
e' mean						
Endothelin-1	0.253	0.031	0.234	0.053	0.219	0.078
NT-proBNP	0.303	0.009	0.293	0.020	0.156	0.229

LAVI, linksatrialer Volumenindex; LVEF, linksventrikuläre Ejektionsfraktion; e' mean, mittlere frühdiastol. Mitralanulusgeschwindigkeit; β , Regressionskoeffizient; p , p -Wert.

4.3.2 Biomarker und körperliche Leistungsfähigkeit

Homoarginin war als einziger Marker mit der maximal erreichten Belastung in der Spiroergometrie assoziiert ($\beta=0.280$; $p=0.016$), jedoch war dieser Zusammenhang in den Modellen 2 und 3 nicht mehr signifikant (siehe Abb. 8 und Tab. 10). Weiterhin ergaben sich in der einfachen linearen Regressionsanalyse negative Assoziationen zwischen SDMA und peakVO_2 ($\beta=-0.267$; $p=0.022$), ADMA und peakVO_2 ($\beta=-0.234$; $p=0.046$), NT-proBNP und peakVO_2 ($\beta=-0.269$; $p=0.021$), SDMA und Gehstrecke ($\beta=-0.256$; $p=0.029$), ET-1 und Gehstrecke ($\beta=-0.331$; $p=0.004$) sowie eine positive Assoziation von NT-proBNP und VE/VCO_2 Slope ($\beta=0.416$; $p<0.001$). L-Arg, die L-Arg/ADMA-Ratio, Copeptin, MR-proADM und hsCRP zeigten keinerlei Assoziationen zu Parametern der körperlichen Leistungsfähigkeit. Die Assoziation zwischen NT-proBNP und VE/VCO_2 Slope war über alle drei Modelle signifikant, während insbesondere für die Zusammenhänge der Methylarginine und des NT-proBNP mit der peakVO_2 die Signifikanz in den Modellen 2 und 3 verloren ging.

Tab. 10: Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse zwischen den untersuchten Markern und Parametern der körperlichen Leistungsfähigkeit (es sind ausschließlich die Zusammenhänge dargestellt, für die in Modell 1 Signifikanz bestand; Modell 1: unadjustiert; Modell 2: adjustiert für Alter und Geschlecht; Modell 3: adjustiert für Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, Vorhofflimmern, eGFR, Hämoglobin-Konzentration)

	Modell 1		Modell 2		Modell 3	
	β	p	β	p	β	p
Belastung Maximal						
Homoarginin	0.280	0.016	0.093	0.319	0.090	0.332
peakVO₂						
SDMA	-0.267	0.022	-0.219	0.066	0.117	0.389
ADMA	-0.234	0.046	-0.188	0.110	-0.092	0.380
NT-proBNP	-0.269	0.021	-0.215	0.077	-0.082	0.481
VE/VCO₂ Slope						
NT-proBNP	0.416	<0.001	0.384	0.001	0.376	0.003
Gehstrecke						
SDMA	-0.256	0.029	-0.195	0.101	0.082	0.576
Endothelin-1	-0.331	0.004	-0.293	0.010	-0.177	0.128

peakVO₂, maximale Sauerstoffaufnahme; VE/VCO₂ Slope, Anstiegsteilheit der Regressionsgeraden zwischen Ventilation und Kohlendioxidabgabe; β , Regressionskoeffizient; p , p-Wert.

4.3.3 Biomarker und endotheliale Funktion

In der einfachen linearen Regressionsanalyse konnte keine signifikante Assoziation zwischen den untersuchten Markern und dem reaktiven Hyperämieindex als Parameter der endothelialen Funktion identifiziert werden. Daher wurden hier auch keine weiteren Modelle berechnet.

4.4 Hauptkomponentenanalyse

Es wurde eine Hauptkomponentenanalyse unter Einschluss aller untersuchten Marker und des RHI durchgeführt. Im Screeplot nach Cattell ließen sich anhand der graphischen Darstellung zwei relevante Hauptkomponenten extrahieren (siehe Abb. 9).

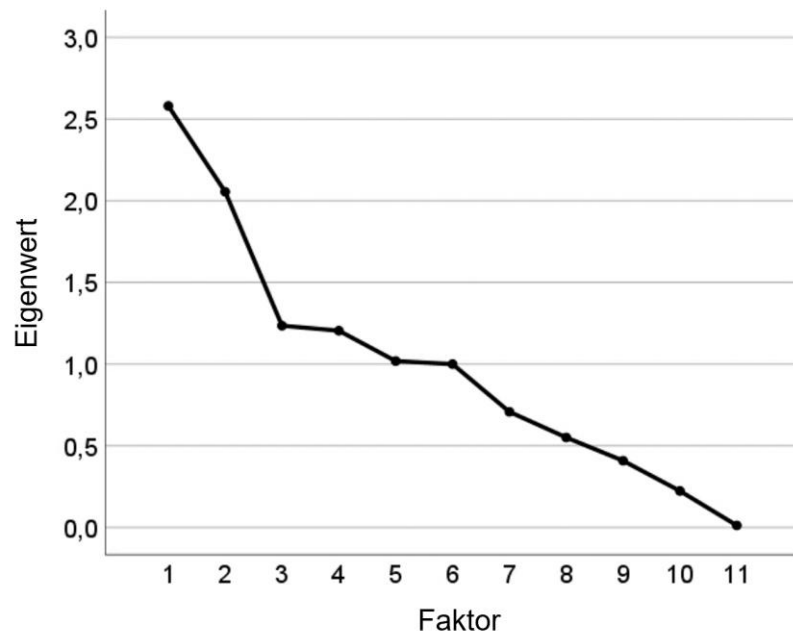


Abb. 9: Screeplot nach Cattell

(Überprüfung des Eigenwertverlaufs der Faktoren und Ermittlung der optimalen Anzahl von Hauptkomponenten: die Faktoren 1 und 2 liegen vor dem „Elbow“)

Die Hauptkomponenten 1 (HK1) und 2 (HK2) erklärten jeweils 23.46% bzw. 18.68% der Varianz. Es ergaben sich zwei Cluster (siehe Abb. 10). ADMA, SDMA, ET-1, Copeptin, NT-proBNP und hsCRP luden dabei maßgeblich auf HK1 (rot markiert). L-Arg, die L-Arg/ADMA-Ratio, hArg, MR-proADM und der RHI luden maßgeblich auf HK2 (blau markiert).

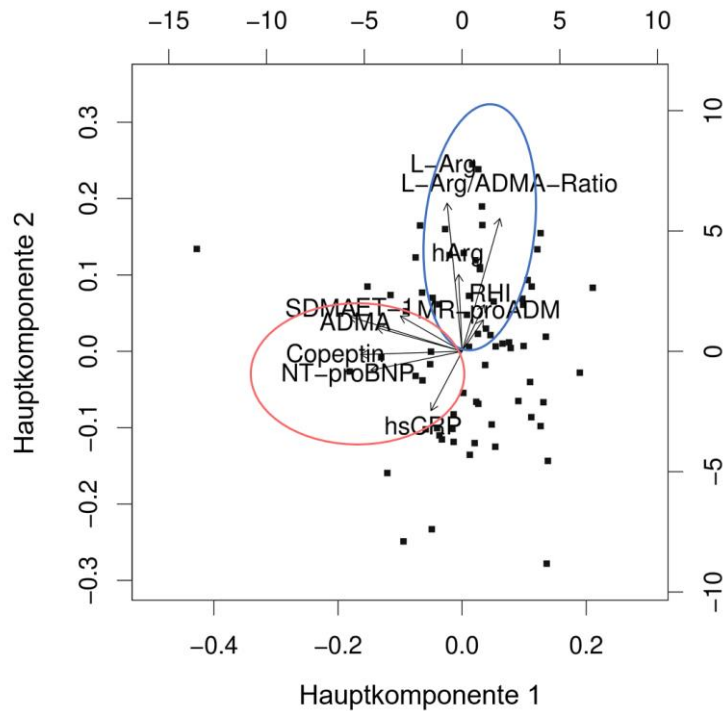


Abb. 10: Hauptkomponentenanalyse

(die Hauptkomponenten 1 und 2 erklären 23.46% bzw. 18.68% der Varianz; die Vektoren zeigen die Stärke des Einflusses der untersuchten Marker auf die Hauptkomponenten; L-Arg, L-Arginin; hArg, Homoarginin; RHI, reaktiver Hyperämieindex; MR-proADM, Midregionales pro-Adrenomedullin; ET-1, Endothelin-1; SDMA, symmetrisches Dimethylarginin; ADMA, asymmetrisches Dimethylarginin; NT-proBNP, N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein)

4.5 Prädiktion eines prognostisch validierten peakVO₂ Cut-Offs

Für alle Biomarker, den RHI sowie die zwei abgeleiteten Hauptkomponenten 1 und 2 wurde eine ROC-Analyse für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer peakVO₂ <14 ml/kg/min bzw. ≥14 ml/kg/min in der Spiroergometrie durchgeführt. Die Ergebnisse der Analyse sind in Tab. 11 zusammengefasst. Für SDMA, Endothelin-1 und NT-proBNP ergaben sich signifikante AUCs. Daraus ist abzuleiten, dass diese drei Marker bzgl. der Diskrimination zwischen einer peakVO₂ <14 ml/kg/min und ≥14 ml/kg/min einen signifikanten Informationsgewinn liefern können. Der Einsatz dieser Marker ist demzufolge einer Zufallsentscheidung überlegen. Auch die HK1 lieferte in der Analyse eine signifikante AUC. Für die weiteren Marker, den RHI sowie die HK2 wurden hingegen keine signifikanten AUCs identifiziert.

Tab. 11: Area Under the Curve, p-Wert und 95% Konfidenzintervall für die untersuchten Marker, den reaktiven Hyperämieindex sowie die Hauptkomponenten 1 und 2 für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer peakVO₂ <14 ml/kg/min und ≥14 ml/kg/min in der Spiroergometrie

	AUC	p-Wert	95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
Arginin	0.508	n. s.	0.372	0.644
Homoarginin	0.422	n. s.	0.284	0.560
SDMA	0.641	<0.05	0.514	0.768
ADMA	0.591	n. s.	0.460	0.722
Arginin/ADMA-Ratio	0.440	n. s.	0.302	0.579
Endothelin-1	0.679	<0.05	0.542	0.815
Copeptin	0.504	n. s.	0.362	0.646
MR-proADM	0.467	n. s.	0.326	0.609
NT-proBNP	0.711	<0.01	0.587	0.836
hsCRP	0.547	n. s.	0.410	0.683
RHI	0.502	n. s.	0.367	0.637
Hauptkomponente 1	0.697	<0.01	0.574	0.821
Hauptkomponente 2	0.457	n. s.	0.320	0.594

SDMA, symmetrisches Dimethylarginin; ADMA, asymmetrisches Dimethylarginin; MR-proADM, Midregionales pro-Adrenomedullin; NT-proBNP, N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein; RHI, reaktiver Hyperämieindex; n. s., nicht signifikant.

Mittels Youden-Index wurde anhand der Ergebnisse der ROC-Analyse für SDMA, Endothelin-1, NT-proBNP und die HK1 der jeweils optimale Schwellenwert mit korrespondierender Sensitivität und Spezifität ermittelt (siehe Tab. 12).

Tab. 12: Area Under the Curve und p-Wert von SDMA, Endothelin-1 und NT-proBNP sowie Hauptkomponente 1 für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer peakVO₂ <14 ml/kg/min und ≥14 ml/kg/min in der Spiroergometrie (Angabe des optimalen Schwellenwertes mit korrespondierender Sensitivität und Spezifität)

	AUC (95% Konfidenzintervall)	p-Wert	Cut-Off	Sensitivität [%]	Spezifität [%]
SDMA	0.641 (0.514-0.768)	<0.05	0.657 µmol/l	88.5	42.6
ET-1	0.679 (0.542-0.815)	<0.05	3.54 pg/ml	50.0	85.1
NT-proBNP	0.711 (0.587-0.836)	<0.01	1004.5 pg/ml	46.2	91.5
Hauptkomponente 1	0.697 (0.574-0.821)	<0.01	-0.0446971	69.2	70.2

SDMA, symmetrisches Dimethylarginin; ET-1, Endothelin-1; NT-proBNP, N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid.

Für SDMA ergab sich bei einer AUC von 0.641 (p<0.05) ein optimaler Cut-Off von 0.657 µmol/l bei einer Sensitivität bzw. Spezifität von 88.5% bzw. 42.6%, für Endothelin-1 bei einer AUC von 0.679 (p<0.05) ein Cut-Off von 3.54 pg/ml bei einer Sensitivität bzw. Spezifität von 50% bzw.

85.1% sowie für NT-proBNP bei einer AUC von 0.711 ($p < 0.01$) ein Cut-Off von 1004.5 pg/ml bei einer korrespondierenden Sensitivität bzw. Spezifität von 46.2% bzw. 91.5%. Für die HK1 wurde bei einer AUC von 0.697 ($p < 0.01$) ein Cut-Off von -0.0446971 mit einer korrespondierenden Sensitivität und Spezifität von 69.2% bzw. 70.2% ermittelt. In Abbildung 11 sind die ROC-Kurven für die HK1 und HK2 gegenübergestellt.

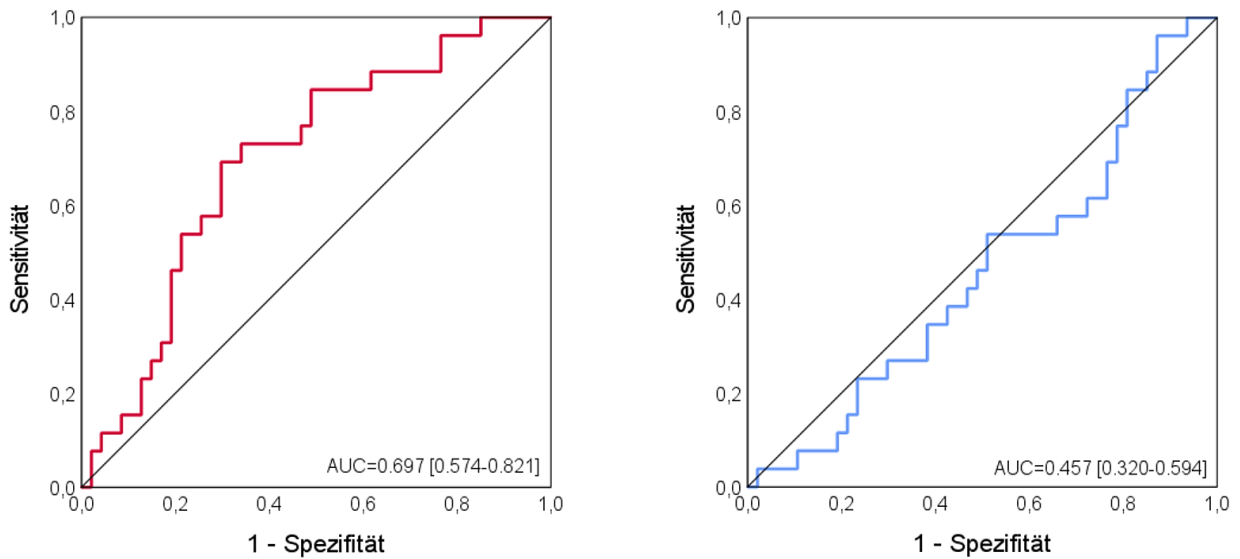


Abb. 11: ROC-Kurven für die Hauptkomponenten 1 (rot) und 2 (blau) für die Diskrimination zwischen dem Erreichen einer $\text{peakVO}_2 < 14 \text{ ml/kg/min}$ bzw. $\geq 14 \text{ ml/kg/min}$ in der Spiroergometrie

5 Diskussion

5.1 Kernaussagen der Arbeit

In einer Kohorte tiefgründig phänotypisierter HFpEF-Patienten wurden die Serumkonzentrationen der Stickstoffmonoxid-Metabolite L-Arginin, Homoarginin, symmetrisches Dimethylarginin und asymmetrisches Dimethylarginin, sowie weitere kardiovaskuläre Biomarker und die endotheliale Funktion analysiert.

Es ergeben sich folgende Kernaussagen:

- 1) Marker des NO-Metabolismus korrelieren mit dem etablierten Herzinsuffizienz-Marker NT-proBNP sowie weiteren kardiovaskulären Biomarkern, die inflammatorische Prozesse und Prozesse der neurohumoralen Aktivierung anzeigen.
- 2) SDMA ist mit dem linksatrialen Volumenindex assoziiert, auch nach Adjustierung für Alter, Geschlecht und Komorbiditäten.
- 3) Die untersuchten Serummarker sind nicht mit dem reaktiven Hyperämieindex assoziiert, der die endotheliale Funktion widerspiegelt.
- 4) In einer Hauptkomponentenanalyse unter Berücksichtigung aller untersuchten Marker zeigen sich zwei Cluster.
- 5) Die Biomarker SDMA, Endothelin-1 und NT-proBNP sowie die Hauptkomponente 1 liefern einen signifikanten Informationsgewinn bezüglich der Diskrimination zwischen dem Erreichen einer $\text{peakVO}_2 < 14 \text{ ml/kg/min}$ und $\geq 14 \text{ ml/kg/min}$ in der Spiroergometrie.

5.2 Betrachtung des Patientenkollektivs

Als prospektive Kohortenstudie soll das „HFpEF-Register“ die verschiedenen Dimensionen der Herzinsuffizienz mit erhaltenen Ejektionsfraktion erfassen und das Verständnis des komplexen Krankheitsbildes verbessern. Alle eingeschlossenen Patienten erfüllten die formalen Kriterien der HFpEF gemäß Leitlinie der ESC aus dem Jahr 2016. Mit einem mittleren Alter von 74 Jahren unterstreicht auch die hier untersuchte Kohorte, dass die HF v. a. eine Erkrankung des höheren

Alters ist.^{5-7,125} Das nahezu ausgeglichene Geschlechterverhältnis innerhalb der hier vorliegenden Analyse kann als repräsentativ für die Gesamtheit der HFpEF-Patienten angesehen werden. Zur Darstellung der Basischarakteristika wurde für alle Patienten der individuelle HFA-PEFF Score berechnet und die Kohorte anhand der Punktwerte in zwei Gruppen eingeteilt. 71% der Patienten konnten so als Patienten mit „definitiver HFpEF“ (5 oder 6 Punkte) und 29% als Patienten mit „Risiko für HFpEF“ (3 oder 4 Punkte) eingruppiert werden. Es sollte berücksichtigt werden, dass alle Patienten im Register Patienten mit HFpEF gemäß ESC-Leitlinie sind und somit auch die Patienten, die laut HFA-PEFF nur ein „Risiko für HFpEF“ tragen für die explorativen Analysen ebenfalls als HFpEF-Patienten angesehen wurden. Die Aufteilung in die zwei Gruppen erfolgte insbesondere zur Darstellung der Basischarakteristika. Die Verteilung der erreichten Scores innerhalb einer etablierten HFpEF-Kohorte ist indes vergleichbar mit kürzlich publizierten Studien, die ebenfalls den HFA-PEFF Algorithmus auf bestehende HFpEF-Kohorten anwandten.^{126,127}

Zwischen den Gruppen ergaben sich hinsichtlich klinischer Charakteristika keine wesentlichen Unterschiede. Patienten mit „definitiver HFpEF“ gemäß HFA-PEFF-Score waren eher in einem höheren NYHA-Stadium klassifiziert, besaßen tendenziell eine schlechtere renale Funktion und neigten eher zu einer Anämie. Dies entspricht den Erwartungen. Auch hinsichtlich Risikofaktoren und Komorbiditäten waren keine wesentlichen Differenzen zu erkennen. Trotz der vergleichbaren klinischen Präsentation lag der LAVI als ein zentraler echokardiographischer Parameter der HFpEF bei Patienten mit „definitiver HFpEF“ signifikant höher als bei Patienten mit „Risiko für HFpEF“ ($p < 0.001$). Die LVEF war in beiden Gruppen mit 57% bzw. 56% nahezu identisch. Daraus ist abzuleiten, dass trotz vergleichbarer klinischer Symptomatik zwischen Patienten mit HFpEF mitunter erhebliche Unterschiede der strukturellen kardialen Veränderungen (hier: des LAVI) vorliegen können. Auch hinsichtlich der untersuchten Biomarker ergaben sich Unterschiede. Bei Patienten mit „definitiver HFpEF“ lagen die mittleren NT-proBNP- und Copeptin-Konzentrationen höher als bei Patienten mit „Risiko für HFpEF“. Es sollte jedoch ebenfalls berücksichtigt werden, dass der LAVI und NT-proBNP Spiegel zentrale Kriterien in der Bildung des HFA-PEFF Scores sind. In den Serumkonzentrationen von SDMA, ADMA, ET-1 und hsCRP waren zwischen den

Gruppen keine signifikanten Unterschiede zu erkennen; für SDMA und ET-1 zeigten Patienten mit „definitiver HFpEF“ allenfalls eine Tendenz zu höheren Konzentrationen. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Patienten mit „Risiko für HFpEF“ und „definitiver HFpEF“ gleichermaßen von Abnormalitäten des L-Arg/NO-Metabolismus betroffen waren und daher vergleichbare Konzentrationen zeigten, zumal alle Studienpatienten gemäß ESC-Leitlinie Patienten mit HFpEF waren. Angesichts der allgemein eher unspezifischen klinischen Symptomatik von HFpEF-Patienten erscheint eine tiefgründige Phänotypisierung der Patienten sinnvoll und geboten, um eine möglichst konkrete klinische Einschätzung der Patienten zu erlangen und zielgerichtete therapeutische Maßnahmen einleiten zu können.⁴⁰

5.3 Stickstoffmonoxid-Metabolite und etablierte kardiovaskuläre Biomarker

In der vorliegenden Arbeit korrelierte SDMA positiv mit dem etablierten Herzinsuffizienz-Marker NT-proBNP, während zwischen Homoarginin und NT-proBNP eine negative Korrelation bestand. Diese Zusammenhänge wurden zuvor bereits durch Pilz et al. in einer großen Multicenterstudie (DIAST-CHF) bei Patienten mit erhaltener Ejektionsfraktion und Risiko für eine HF beschrieben und können damit bestätigt werden.¹⁰⁰ Eine positive Korrelation zwischen ADMA und NT-proBNP zeigte sich indes nicht. Höhere hArg-Spiegel werden als ein protektiver kardiovaskulärer Faktor angesehen, während ein Mangel mit myokardialer Dysfunktion und einem erhöhten Risiko für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse assoziiert ist.^{89,128} Die negative Korrelation zwischen hArg und NT-proBNP unterstützt diese Annahme. In gesunden Probanden wurde eine mittlere hArg-Konzentration von 2.63 (2.08;3.32) $\mu\text{mol/l}$ beschrieben.¹²⁹ Mit 1.67 ± 0.55 $\mu\text{mol/l}$ lag die mittlere Konzentration in der untersuchten HFpEF-Kohorte deutlich unterhalb des Referenzbereiches. Die ROC-Analyse ergab für hArg jedoch keine signifikante AUC in der Prädiktion der $\text{peakVO}_2 < 14$ ml/kg/min , sodass keinen weiteren Anhaltspunkte für eine prognostische Qualität des Markers gefunden werden konnten.

Die endotheliale Dysfunktion ist nicht allein durch eine reduzierte NO-Bioverfügbarkeit, sondern insbesondere durch ein Missverhältnis der physiologischen Balance zwischen NO und Endothelin

charakterisiert.¹³⁰ In Zuständen der ED ist die Balance zugunsten des stark vasokonstriktiv und profibrotisch wirkenden Endothelins verschoben.¹³⁰ In der hier vorliegenden Analyse korrelierten sowohl ADMA als auch SDMA jeweils mit ET-1. Es kann daher geschlussfolgert werden, dass Methylarginine in Zuständen der ED bei Patienten mit HFpEF erhöht sind. Valero-Munoz et al. beschrieben in Patienten mit HFpEF ET-1 Spiegel von 2.61 ± 0.81 pg/ml und damit signifikant höhere Spiegel gegenüber der Kontrollgruppe (1.74 ± 0.52 pg/ml; $p < 0.001$).⁵⁶ Mit 2.64 ($2.29; 3.63$) pg/ml ergab die vorliegende Analyse eine vergleichbare ET-1 Konzentration in der untersuchten HFpEF-Kohorte. Auch dem Arginin-Vasopressin, laboranalytisch durch Copeptin wiedergespielt, werden profibrotische Effekte zugeschrieben. Die gefundene positive Korrelation von SDMA und Copeptin kann daher dahingehend interpretiert werden, dass SDMA an profibrotischen kardialen Remodelingprozessen bei HFpEF pathophysiologisch beteiligt ist. Im diesem Zusammenhang ist auf die Ergebnisse von Schepers et al. zu verweisen: Schepers et al. beschrieben SDMA als proinflammatorisches Agent, das die Produktion von Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor- α verstärkt.¹³¹ Weiterhin verstärkt SDMA die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies.¹³² IL-6, TNF- α und ROS tragen ihrerseits zu profibrotischen kardialen Remodelingprozessen bei HFpEF bei.³³ Die positive Korrelation zwischen ADMA und hsCRP geht ebenfalls mit dem Konzept eines systemischen proinflammatorischen Zustandes einher, der zu Beeinträchtigungen innerhalb des NO-Signalweges bei Patienten mit HFpEF führt.

5.4 Methylarginine und echokardiographische Parameter der HFpEF

Der LAVI ist neben dem LVMI ein wichtiger echokardiographischer Parameter für die Beurteilung struktureller myokardialer Veränderungen. Ein LAVI >34 ml/m² gilt als etabliertes Kriterium einer LA Vergrößerung.¹ Es konnte nachgewiesen werden, dass ein erhöhter LAVI mit einer höheren kardiovaskulären und Gesamt-Mortalitätsrate assoziiert ist.¹³³ Die Funktion des LA ist wesentlich von der LV Funktion abhängig. Änderungen des intraventrikulären Drucks oder Volumens werden entsprechend direkt durch die LA Funktion reflektiert.¹³³ Der LAVI ist einer der nützlichsten

Parameter zur Identifizierung von HFpEF-Patienten und dabei u. a. auch dem linksventrikulären Füllungsindex E/e' , der die diastolische Funktion widerspiegelt, überlegen.¹³⁴

Hage et al. untersuchten die Konzentrationen der Myeloperoxidase und assoziierter Biomarker in Patienten mit HFpEF und wiesen signifikant höhere SDMA-Spiegel in Patienten mit diastolischer Dysfunktion gegenüber Patienten mit normaler diastolischer Funktion nach ($E/e' >14$ vs. $E/e' \leq 14$; $p=0.039$). Weiterhin zeigten sie erhöhte SDMA- und ADMA-Konzentrationen bei Patienten mit HFpEF gegenüber gesunden Kontrollen (SDMA: 0.5 (0.4;0.6) vs. 0.4 (0.3;0.4) $\mu\text{mol/l}$, $p<0.001$; ADMA: 0.6 (0.5;0.6) vs. 0.5 (0.4;0.5) $\mu\text{mol/l}$, $p<0.001$).¹³⁵ Die Analyse der vorliegenden Arbeit ergab vergleichbare ADMA-Spiegel und höhere SDMA-Spiegel. Eine Assoziation mit Parametern der diastolischen Funktion fand sich indes nicht. Die Analyse erbrachte jedoch sowohl für SDMA als auch ADMA eine signifikante Assoziation mit dem LAVI. Für SDMA hatte diese Assoziation zudem auch nach weiterer Adjustierung für Alter, Geschlecht sowie Komorbiditäten Bestand. Es kann geschlussfolgert werden, dass höhere SDMA-Konzentrationen mit typischen strukturellen Veränderungen bei HFpEF einhergehen und Methylarginine womöglich selbst an der Ausbildung ebendieser typischen Veränderungen bei HFpEF mitbeteiligt sind. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass SDMA und ADMA nicht mit dem LVMI assoziiert waren. Echokardiographische Untersuchungen in 1,919 Probanden der *Framingham Offspring Studie* zeigten ebenfalls keine unabhängige Assoziationen zwischen ADMA und LV Masse.¹³⁶ SDMA wurde in dieser Studie nicht untersucht. Insgesamt lag der Fokus in vorangegangenen Studien eher auf dem ADMA; zukünftige Untersuchungen von Methylargininen in der kardiovaskulären Risikoprädiktion sollten das Augenmerk ebenfalls auf SDMA legen.¹⁰⁰

5.5 Stickstoffmonoxid-Metabolite sind nicht mit der endothelialen Funktion assoziiert

Das Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion konnte bereits mehrfach in Patienten mit HFpEF nachgewiesen werden.^{137,138} Grundsätzlich ist die Bestimmung der endothelialen Funktion durch invasive oder nicht-invasive Methoden möglich. Mit der EndoPAT™-Technologie wurde eine nicht-invasive Methode entwickelt, die unter Nutzung des Messprinzips der Plethysmographie

Veränderungen des peripheren arteriellen Tonus nach einer induzierten Hyperämie erfasst.¹¹³ Der reaktive Hyperämie-Index soll Rückschlüsse auf die endotheliale Funktion erlauben.^{111,113} Maréchaux et al. untersuchten mittels FMD die endotheliale Funktion in Patienten mit HFpEF und Patienten mit arterieller Hypertonie, aber ohne HF. Sie stellten fest, dass HFpEF-Patienten eine signifikant geringere FMD und damit eine schlechtere endotheliale Funktion besaßen.¹³⁷ Akiyama et al. zeigten einen signifikant geringeren lnRHI in Patienten mit HFpEF gegenüber Patienten ohne HFpEF (0.53 ± 0.20 vs. 0.64 ± 0.20 ; $p < 0.001$).¹³⁸ Mit einem mittleren lnRHI von 0.44 (0.32;0.63) lag auch der lnRHI der vorliegenden Arbeit unterhalb des Cut-Offs von 0.57, ab dem von einer endothelialen Dysfunktion auszugehen ist.¹¹³ Somit bestätigt diese Arbeit, dass bei HFpEF-Patienten typischerweise eine endotheliale Dysfunktion vorliegen kann. Die ED ist eng mit einer reduzierten NO-Bioverfügbarkeit verknüpft, doch in der vorliegenden Analyse konnte keine signifikante Assoziation zwischen den untersuchten Serum-Biomarkern und dem RHI gefunden werden. Dies wirft die Frage auf, ob der RHI eine geeignete Größe ist, um die Bioverfügbarkeit des NO ideal widerzuspiegeln. Es ist zu beachten, dass die Physiologie der PAT zum aktuellen Zeitpunkt noch weitestgehend unklar ist.¹¹¹ Die PAT misst mikrovaskuläre Dilatationen innerhalb des komplexen Gefäßsystems des Fingers, das sich u. a. aus nutritiven Gefäßen und arteriovenösen Anastomosen zusammensetzt.¹³⁹ Der Ruhetonus der Anastomosen wird überwiegend durch das sympathische Nervensystem reguliert und erscheint daher nur teilweise NO-abhängig.¹³⁹ Entsprechend muss hier geschlussfolgert werden, dass die mittels der EndoPAT™-Technologie ermittelte Augmentation der arteriellen Pulsamplitude sowohl Endothel- als auch Nicht-Endothel-bezogene Mechanismen beinhaltet. Es ergibt sich daher eine limitierte Spezifität des RHI als Surrogat der NO-Bioverfügbarkeit.^{139,140} Unter Berücksichtigung, dass kein untersuchter Serummarker mit dem RHI assoziiert war, kann abgeleitet werden, dass der RHI womöglich nicht die postulierten NO-abhängigen Prozesse in der Entwicklung von kardialer Hypertrophie und kardiomyozytärer Ruhespannung bei HFpEF widerspiegelt. Demgegenüber fanden Bonetti et al. einen signifikant geringeren RHI in Patienten mit koronarer endothelialer Dysfunktion im Vergleich zu Patienten mit normaler endothelialer Funktion. Die endotheliale Funktion wurde dabei durch die intrakoronare Infusion von Acetylcholin bestimmt.¹⁴¹

5.6 Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit als therapeutisches Ziel

Einschränkungen in der körperlichen Leistungsfähigkeit stellen einen wichtigen Prädiktor von Morbidität und Mortalität in Patienten mit HFpEF dar.¹²⁰ Entsprechend ist die Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit eines der zentralen Ziele von HFpEF-Therapien und ein häufig untersuchter Endpunkt in klinischen Studien. Die maximale Sauerstoffaufnahme (peakVO_2) ist eine häufig verwendete Größe zur Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit und wurde in der vorliegenden Arbeit mittels Spiroergometrie bestimmt. Es wurden Zusammenhänge zwischen der peakVO_2 und den untersuchten Markern geprüft. Die Analyse ergab negative Assoziationen zwischen SDMA und peakVO_2 , ADMA und peakVO_2 sowie NT-proBNP und peakVO_2 . Weiterhin war SDMA negativ mit der erreichten Gehstrecke im Sechs-Minuten-Geh-Test assoziiert, der eine alternative Untersuchung zur Objektivierung der körperlichen Leistungsfähigkeit darstellt. Jedoch waren die genannten Ergebnisse nach weiterer Adjustierung nicht mehr signifikant, sodass nur bedingt Schlussfolgerungen aus diesen gefundenen Zusammenhängen möglich sind.

Die vorliegende Arbeit untersuchte weiterhin die Fähigkeit der untersuchten Biomarker zur Diskrimination zwischen dem Erreichen einer $\text{peakVO}_2 < 14 \text{ ml/kg/min}$ und $\geq 14 \text{ ml/kg/min}$ in der Spiroergometrie. Die ROC-Analyse ergab für SDMA eine signifikante AUC. Obgleich die AUC mit 0.641 eher mäßig war, ist dies doch ein Anhaltspunkt für eine prognostische Qualität des SDMA. Weiterhin zeigten sich für ET-1, NT-proBNP und die HK1 signifikante AUCs.

Vorangegangene randomisiert kontrollierte Studien, die auf den NO-Signalweg abzielten und dabei u. a. die Wirkung anorganischen Nitrits, organischen Nitrats und Stimulatoren der löslichen Guanylatzyklase prüften, führten zu keiner Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit in Patienten mit HFpEF.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Mögliche Ursachen könnten eine unzureichende Compliance bei der Einnahme der Therapeutika, ein Mangel an freigesetztem NO, eine letztlich mangelnde cGMP-Hochregulierung während der Aktivität oder auch eine Tachyphylaxie sein.¹⁴² Eine kürzlich publizierte Studie spricht sich für eine weitere Evaluation NO-basierender Therapien aus. Reddy et al. demonstrierten in Patienten mit HFpEF positive pulmonale, kardiale und periphere Effekte während körperlicher Belastung durch die Gabe anorganischen Nitrits.¹⁴³

Es existieren neben der cytosolischen sGC weitere, in der Zellmembran verankerte Rezeptor-Guanylatzyklen (partikuläre Guanylatzyklen, kurz pGC), die eine extrazelluläre Domäne mit Rezeptorfunktion besitzen.¹⁴⁴ Dort binden u. a. NP, sodass es zu einer NP-vermittelten und NO-unabhängigen cGMP-Produktion kommt. Durch die Blockade NP-abbauender Enzyme wie der Peptidase Nephilysin kann die cGMP-Produktion so unabhängig von der NO-Bioverfügbarkeit gesteigert werden. Dieser Ansatz wurde u. a. in der *PARAGON-HF Studie* verfolgt. Die Studie untersuchte in 4,822 Patienten mit einer EF von $\geq 45\%$ die Wirkung des Angiotensin-Rezeptor-Nephilysin-Inhibitors (ARNI) Sacubitril/Valsartan vs. Valsartan allein. Der primäre Endpunkt (kardiovaskulärer Tod und wiederholte HF-bedingte Hospitalisierung) wurde jedoch knapp verpasst.¹⁴⁵ Ob der Ansatz der Verstärkung des NP-pGC-cGMP Signalwegs oder des NO-sGC-cGMP Signalwegs der vielversprechendere Ansatz in der Therapie von HFpEF-Patienten ist, bleibt demzufolge weiter offen. Es steht jedoch fest, dass Risikofaktoren identifiziert werden sollten, die zu einer Defizienz im cGMP-PKG Signalweg führen.³⁴ Nicht nur in der Therapie, sondern auch in der Prävention der HFpEF könnte ein zielgerichtetes Targeting auslösender Faktoren helfen. Dabei könnten angesichts der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit womöglich auch Methylarginine wie ADMA und SDMA ein Ziel sein. Insgesamt mangelt es im Bereich der Methylarginine noch an möglichen therapeutischen Strategien, obwohl die Mechanismen, wie ADMA und SDMA die NO-Synthese beeinflussen, weithin beschrieben sind. Der Mangel könnte darauf zurückzuführen sein, dass ein Großteil unseres Wissens bezüglich möglicher Therapien zur Senkung von ADMA- und SDMA-Konzentrationen auf Studien in Tiermodellen beruht. Es sind in diesem Bereich weitere Studien notwendig, um die translationale Lücke zwischen präklinischen Modellen und klinischen Studien zu schließen.¹⁰⁹

5.7 HFpEF als eine multidimensionale Erkrankung

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt, um potentielle Hauptkomponenten aus den untersuchten Markern und dem RHI abzuleiten. Es ergaben sich dabei zwei Biomarker-Cluster. Die Marker, welche maßgeblich auf HK1 aufluden, darunter das

ADMA, SDMA, Copeptin, hsCRP und NT-proBNP, reflektieren eher den Aspekt einer geringeren NO-Bioverfügbarkeit. Hingegen luden das Homoarginin sowie die L-Arg/ADMA-Ratio maßgeblich auf HK2 und repräsentieren eher den Aspekt einer besseren NO-Bioverfügbarkeit. Damit ergeben sich hier zwei konträre Zustände innerhalb einer untersuchten Kohorte von HFpEF-Patienten.

Vorangegangene Studien haben sowohl den systemischen Charakter des HFpEF-Syndroms als auch das Vorhandensein von Subphänotypen innerhalb des heterogenen klinischen Syndroms hervorgehoben, was den potentiellen Bedarf an gezielteren Therapien für spezifische Subtypen der HFpEF verdeutlicht.³⁴ Die Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse unterstützen diesen Ansatz. Womöglich gibt es innerhalb der Gesamtpopulation der HFpEF-Patienten Subgruppen mit besserer und schlechterer NO-Bioverfügbarkeit, wie sie durch die zwei HK widergespiegelt werden. Einzelne Subgruppen könnten stärker von bestimmten Therapieansätzen profitieren, die auf den NO-Metabolismus bzw. NO-Signalweg abzielen.

Shah et al. verweisen in ihrem 2020 veröffentlichten Artikel „Research Priorities in HFpEF“ auf die weiterhin bestehende Notwendigkeit, mehrgleisige Forschungsansätze sowohl in Tiermodellen als auch in klinischen Studien am Menschen zu etablieren, um zugrundeliegende Mechanismen noch besser zu verstehen und therapeutische Ansätze zu entwickeln.³⁴ Angesichts der großen Heterogenität einzelner HFpEF-Subphänotypen und der Vielschichtigkeit der zugrundeliegenden Komorbiditäten ist ein *einziges* HFpEF-Modell ein unrealistisches und nicht erstrebenswertes Ziel. Es sollten Tiermodelle entwickelt werden, die die verschiedenen humanen Subphänotypen widerspiegeln. Dafür sind hochauflösende Messmethoden zur Charakterisierung der HFpEF im Menschen notwendig; neuartige Entwicklungen der Bildgebung (z. B. Strain-Analysen) sowie die weitere Evaluation potentieller Biomarker können dabei hilfreich sein. Ausgewählte Biomarkerprofile könnten in der Kombination mit klinischen Charakteristika bei der Zuordnung von HFpEF-Patienten in die einzelnen Subtypen helfen.³⁴ Die Bestimmung von NO-Metaboliten in HFpEF-Patienten erscheint daher als sinnvolle Ergänzung in der klinischen Evaluation.

5.8 Limitationen

Die Analysen beruhen auf Daten einer unizentrischen Kohorte mit bisher nicht verfügbaren Langzeitdaten. Daher sollten sämtliche Ergebnisse und Schlussfolgerungen mit entsprechender Sorgfalt betrachtet werden. Eine weitere Limitation ist die retrospektive Ermittlung des HFA-PEFF Scores. Bei der Analyse der Biomarkerkonzentrationen wurde die untersuchte HFpEF-Kohorte nicht nach dem Geschlecht unterteilt. Die Geschlechterverteilung innerhalb der Studienkohorte war jedoch annähernd gleich. Es war keine gesunde Kontrollgruppe zum Vergleich des RHI und der Biomarkerkonzentrationen verfügbar. Mit einer insgesamt erklärten Varianz von 42.14% in der Hauptkomponentenanalyse sollten die Schlussfolgerungen dieser Analyse ebenfalls mit entsprechender Sorgfalt betrachtet werden.

5.9 Schlussfolgerungen

Beeinträchtigungen innerhalb des Stickstoffmonoxid-Metabolismus bzw. -Signalwegs erscheinen als eine mögliche Schlüsselkomponente in der Pathophysiologie der HFpEF. Methylarginine wie SDMA sind möglicherweise ursächlich an der Entwicklung kardialer Remodelingprozesse bei HFpEF beteiligt. Angesichts der Komplexität und Vielschichtigkeit des Krankheitsbildes erscheint es nicht sinnvoll, ein einziges, allgemeingültiges therapeutisches Konzept zu etablieren. HFpEF-Patienten sollten so weit phänotypisiert werden, dass zielgerichtete Therapien möglich sind. Die Bestimmung von NO-Metaboliten könnte bei der Phänotypisierung helfen. Therapien, die auf den NO-Metabolismus und -Signalweg abzielen, sollten weiterhin untersucht werden. Es wäre von besonderem Interesse, die Konzentrationen von NO-Metaboliten wie L-Arginin, Homoarginin, ADMA und SDMA im Rahmen zukünftiger HFpEF-Studien zu bestimmen, um festzustellen, ob Subgruppen von Patienten stärker von bestimmten Therapien profitieren können.

6 Literaturverzeichnis

1. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, Gonzalez-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2016; **37**:2129-200.
2. Schneider H, Nienaber CA. Herzinsuffizienz. In: Duale Reihe Innere Medizin. 4. Auflage. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag KG; 2018.
3. Edelmann F. Epidemiologie und Prognose der Herzinsuffizienz. *Herz* 2015; **40**:176-84.
4. Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, Grobbee DE. The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J* 1997; **18**:208-25.
5. Eriksson H, Svärdsudd K, Larsson B, Ohlson LO, Tibblin G, Welin L, Wilhelmsen L. Risk factors for heart failure in the general population: the study of men born in 1913. *Eur Heart J* 1989; **10**:647-56.
6. Bleumink GS, Knetsch AM, Sturkenboom MC, Straus SM, Hofman A, Deckers JW, Witteman JC, Stricker BH. Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure: The Rotterdam Study. *Eur Heart J* 2004; **25**:1614-9.
7. Zentralinstitut für die kassenärztliche Versorgung in Deutschland (Zi). Prävalenz der Herzinsuffizienz – bundesweite Trends, regionale Variationen und häufige Komorbiditäten. Versorgungsatlas-Bericht Nr. 18/09. 2018. https://www.versorgungsatlas.de/fileadmin/ziva_docs/97/VA_18-09_BerichtHerzinsuffizienz. Abgerufen am 24.06.2020.
8. Heidenreich PA, Albert NM, Allen LA, Bluemke DA, Butler J, Fonarow GC, Ikonomidis JS, Khavjou O, Konstam MA, Maddox TM, Nichol G, Pham M, Piña IL, Trogon JG. Forecasting the impact of heart failure in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circ Heart Fail* 2013; **6**:606-19.
9. Statistisches Bundesamt (Destatis). Diagnosedaten der Patienten und Patientinnen in Krankenhäusern (einschl. Sterbe- und Stundenfälle) 2016. 2017. <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Krankenhaeuser/Publikationen/Downloads-Krankenhaeuser/diagnosedaten-krankenhaus>. Abgerufen am 09.08.2020.
10. Liu YC, Pfister O. Klinik und Diagnostik der Herzinsuffizienz. *Ther Umsch* 2018; **75**:151-4.
11. Krumholz HM, Merrill AR, Schone EM, Schreiner GC, Chen J, Bradley EH, Wang Y, Wang Y, Lin Z, Straube BM, Rapp MT, Normand SL, Drye EE. Patterns of hospital performance in acute myocardial infarction and heart failure 30-day mortality and readmission. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2009; **2**:407-13.
12. Cook C, Cole G, Asaria P, Jabbour R, Francis DP. The annual global economic burden of heart failure. *Int J Cardiol* 2014; **171**:368-76.

13. Statistisches Bundesamt (Destatis). Gesundheitsausgaben (nominal). 2020. https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/_Grafik/_Interaktiv/gesundheitsausgaben-nominal.html. Abgerufen am 09.08.2020.
14. Statistisches Bundesamt (Destatis). Sterbefälle (absolut, Sterbeziffer, Ränge, Anteile) für die 10/20/50/100 häufigsten Todesursachen (ab 1998). 2020. <http://www.gbe-bund.de/gbe10/l?l=516:39447011D>. Abgerufen am 09.08.2020.
15. Mosterd A, Cost B, Hoes AW, de Bruijne MC, Deckers JW, Hofman A, Grobbee DE. The prognosis of heart failure in the general population: The Rotterdam Study. *Eur Heart J* 2001; **22**:1318-27.
16. Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, Benjamin EJ, Kupka MJ, Ho KK, Murabito JM, Vasan RS. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med* 2002; **347**:1397-402.
17. Mamas MA, Sperrin M, Watson MC, Coutts A, Wilde K, Burton C, Kadam UT, Kwok CS, Clark AB, Murchie P, Buchan I, Hannaford PC, Myint PK. Do patients have worse outcomes in heart failure than in cancer? A primary care-based cohort study with 10-year follow-up in Scotland. *Eur J Heart Fail* 2017; **19**:1095-104.
18. Weinbrenner S, Langer T, Scherer M, Störk S, Ertl G, Muth C, Hoppe UC, Kopp I, Ollenschläger G. Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische Herzinsuffizienz. *Dtsch Med Wochenschr* 2012; **137**:219-27.
19. Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M, Tavazzi L, Smiseth OA, Gavazzi A, Haverich A, Hoes A, Jaarsma T, Korewicki J, Lévy S, Linde C, Lopez-Sendon JL, Nieminen MS, Piérard L, Remme WJ. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; **26**:1115-40.
20. Aurigemma GP, Zile MR, Gaasch WH. Contractile behavior of the left ventricle in diastolic heart failure: with emphasis on regional systolic function. *Circulation* 2006; **113**:296-304.
21. Kuznetsova T, Herbots L, López B, Jin Y, Richart T, Thijs L, González A, Herregods MC, Fagard RH, Díez J, Staessen JA. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in a general population. *Circ Heart Fail* 2009; **2**:105-12.
22. Petutschnigg J, Edelmann F. Herzinsuffizienz mit erhaltener linksventrikulärer Ejektionsfraktion. *Internist (Berl)* 2019; **60**:925-42.
23. Burkhoff D, Maurer MS, Packer M. Heart failure with a normal ejection fraction: is it really a disorder of diastolic function? *Circulation* 2003; **107**:656-8.
24. Dunlay SM, Roger VL, Redfield MM. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat Rev Cardiol* 2017; **14**:591-602.
25. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, Jr., Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA* 2003; **289**:194-202.
26. Bursi F, Weston SA, Redfield MM, Jacobsen SJ, Pakhomov S, Nkomo VT, Meverden RA, Roger VL. Systolic and diastolic heart failure in the community. *JAMA* 2006; **296**:2209-16.

27. Brouwers FP, de Boer RA, van der Harst P, Voors AA, Gansevoort RT, Bakker SJ, Hillege HL, van Veldhuisen DJ, van Gilst WH. Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND. *Eur Heart J* 2013; **34**:1424-31.
28. Gurwitz JH, Magid DJ, Smith DH, Goldberg RJ, McManus DD, Allen LA, Saczynski JS, Thorp ML, Hsu G, Sung SH, Go AS. Contemporary prevalence and correlates of incident heart failure with preserved ejection fraction. *Am J Med* 2013; **126**:393-400.
29. MacCarthy PA, Kearney MT, Nolan J, Lee AJ, Prescott RJ, Shah AM, Brooksby WP, Fox KA. Prognosis in heart failure with preserved left ventricular systolic function: prospective cohort study. *BMJ* 2003; **327**:78-9.
30. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2006; **355**:251-9.
31. Steinberg BA, Zhao X, Heidenreich PA, Peterson ED, Bhatt DL, Cannon CP, Hernandez AF, Fonarow GC. Trends in patients hospitalized with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction: prevalence, therapies, and outcomes. *Circulation* 2012; **126**:65-75.
32. Borlaug BA, Nishimura RA, Sorajja P, Lam CS, Redfield MM. Exercise hemodynamics enhance diagnosis of early heart failure with preserved ejection fraction. *Circ Heart Fail* 2010; **3**:588-95.
33. Paulus WJ, Tschöpe C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction: comorbidities drive myocardial dysfunction and remodeling through coronary microvascular endothelial inflammation. *J Am Coll Cardiol* 2013; **62**:263-71.
34. Shah SJ, Borlaug BA, Kitzman DW, McCulloch AD, Blaxall BC, Agarwal R, Chirinos JA, Collins S, Deo RC, Gladwin MT, Granzier H, Hummel SL, Kass DA, Redfield MM, Sam F, Wang TJ, Desvigne-Nickens P, Adhikari BB. Research Priorities for Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group Summary. *Circulation* 2020; **141**:1001-26.
35. Mullens W, Abrahams Z, Francis GS, Sokos G, Taylor DO, Starling RC, Young JB, Tang WHW. Importance of venous congestion for worsening of renal function in advanced decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2009; **53**:589-96.
36. Damman K, Voors AA, Navis G, van Veldhuisen DJ, Hillege HL. The cardiorenal syndrome in heart failure. *Prog Cardiovasc Dis* 2011; **54**:144-53.
37. Obokata M, Reddy YNV, Pislaru SV, Melenovsky V, Borlaug BA. Evidence Supporting the Existence of a Distinct Obese Phenotype of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circulation* 2017; **136**:6-19.
38. Packer M. Leptin-Aldosterone-Nephrilysin Axis: Identification of Its Distinctive Role in the Pathogenesis of the Three Phenotypes of Heart Failure in People With Obesity. *Circulation* 2018; **137**:1614-31.
39. Reddy YNV, Carter RE, Obokata M, Redfield MM, Borlaug BA. A Simple, Evidence-Based Approach to Help Guide Diagnosis of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circulation* 2018; **138**:861-70.

40. Pieske B, Tschöpe C, de Boer RA, Fraser AG, Anker SD, Donal E, Edelmann F, Fu M, Guazzi M, Lam CSP, Lancellotti P, Melenovsky V, Morris DA, Nagel E, Pieske-Kraigher E, Ponikowski P, Solomon SD, Vasan RS, Rutten FH, Voors AA, Ruschitzka F, Paulus WJ, Seferovic P, Filippatos G. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2019; **40**:3297-317.
41. Yusuf S, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, Held P, McMurray JJ, Michelson EL, Olofsson B, Ostergren J. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction: the CHARM-Preserved Trial. *Lancet* 2003; **362**:777-81.
42. Cleland JG, Tendera M, Adamus J, Freemantle N, Polonski L, Taylor J. The perindopril in elderly people with chronic heart failure (PEP-CHF) study. *Eur Heart J* 2006; **27**:2338-45.
43. Massie BM, Carson PE, McMurray JJ, Komajda M, McKelvie R, Zile MR, Anderson S, Donovan M, Iverson E, Staiger C, Ptaszynska A. Irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2008; **359**:2456-67.
44. Anker SD, Butler J, Filippatos G, Ferreira JP, Bocchi E, Böhm M, Brunner-La Rocca HP, Choi DJ, Chopra V, Chuquiure-Valenzuela E, Giannetti N, Gomez-Mesa JE, Janssens S, Januzzi JL, Gonzalez-Juanatey JR, Merkely B, Nicholls SJ, Perrone SV, Piña IL, Ponikowski P, Senni M, Sim D, Spinar J, Squire I, Taddei S, Tsutsui H, Verma S, Vinereanu D, Zhang J, Carson P, Lam CSP, Marx N, Zeller C, Sattar N, Jamal W, Schnaidt S, Schnee JM, Brueckmann M, Pocock SJ, Zannad F, Packer M. Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med* 2021; **385**:1451-61.
45. Boehringer Ingelheim International GmbH. Jardiance® (empagliflozin) becomes the first and only approved treatment in Europe for adults with symptomatic chronic heart failure regardless of ejection fraction. 2022. <https://www.boehringer-ingelheim.com/human-health/heart-diseases/heart-failure/preserved-heart-failure-treatment-approval-europe>. Abgerufen am 01.07.2022.
46. Hasenfuß G, Hayward C, Burkhoff D, Silvestry FE, McKenzie S, Gustafsson F, Malek F, Van der Heyden J, Lang I, Petrie MC, Cleland JG, Leon M, Kaye DM. A transcatheter intracardiac shunt device for heart failure with preserved ejection fraction (REDUCE LAP-HF): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1 trial. *Lancet* 2016; **387**:1298-304.
47. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, Reichek N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986; **57**:450-8.
48. Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med* 1987; **317**:1098.
49. Dichtl W. Echokardiographie in der Abklärung der arteriellen Hypertonie. *Journal für Hypertonie - Austrian Journal of Hypertension* 2016; **4**:94-7.
50. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; **18**:1440-63.

51. Böhmeke T, Schmidt A. Checkliste Echokardiographie. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag KG; 2008.
52. Hall C. NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. *J Card Fail* 2005; **11**:81-3.
53. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* 2000; **102**:2434-40.
54. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; **332**:411-5.
55. Omland T. Targeting the endothelin system: a step towards a precision medicine approach in heart failure with preserved ejection fraction? *Eur Heart J* 2019; **40**:3718-20.
56. Valero-Munoz M, Li S, Wilson RM, Boldbaatar B, Iglarz M, Sam F. Dual Endothelin-A/Endothelin-B Receptor Blockade and Cardiac Remodeling in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circ Heart Fail* 2016; **9**:e003381.
57. Chowdhury MA, Moukarbel GV, Gupta R, Frank SM, Anderson AM, Liu LC, Khouri SJ. Endothelin 1 Is Associated with Heart Failure Hospitalization and Long-Term Mortality in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Pulmonary Hypertension. *Cardiology* 2019; **143**:124-33.
58. Robertson GL. Antidiuretic hormone. Normal and disordered function. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001; **30**:671-94.
59. Morgenthaler NG. Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function. *Congest Heart Fail* 2010; **16 Suppl 1**:37-44.
60. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem* 2006; **52**:112-9.
61. Stoiser B, Mörtl D, Hülsmann M, Berger R, Struck J, Morgenthaler NG, Bergmann A, Pacher R. Copeptin, a fragment of the vasopressin precursor, as a novel predictor of outcome in heart failure. *Eur J Clin Invest* 2006; **36**:771-8.
62. Maisel A, Xue Y, Shah K, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, Ponikowski P, Mockel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Clopton P, Filippatos GS, Di Somma S, Anand IS, Ng L, Daniels LB, Neath SX, Christenson R, Potocki M, McCord J, Terracciano G, Kremastinos D, Hartmann O, von Haehling S, Bergmann A, Morgenthaler NG, Anker SD. Increased 90-day mortality in patients with acute heart failure with elevated copeptin: secondary results from the Biomarkers in Acute Heart Failure (BACH) study. *Circ Heart Fail* 2011; **4**:613-20.
63. Hage C, Lund LH, Donal E, Daubert JC, Linde C, Mellbin L. Copeptin in patients with heart failure and preserved ejection fraction: a report from the prospective KaRen-study. *Open Heart* 2015; **2**:e000260.
64. Kitamura K, Sakata J, Kangawa K, Kojima M, Matsuo H, Eto T. Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; **194**:720-5.

65. Sugo S, Minamino N, Kangawa K, Miyamoto K, Kitamura K, Sakata J, Eto T, Matsuo H. Endothelial cells actively synthesize and secrete adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; **201**:1160-6.
66. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem* 2005; **51**:1823-9.
67. Jougasaki M, Rodeheffer RJ, Redfield MM, Yamamoto K, Wei CM, McKinley LJ, Burnett Jr JC. Cardiac secretion of adrenomedullin in human heart failure. *J Clin Invest* 1996; **97**:2370-6.
68. Zabarovskaja S, Hage C, Linde C, Daubert JC, Donal E, Gabrielsen A, Mellbin L, Lund LH. Adaptive cardiovascular hormones in a spectrum of heart failure phenotypes. *Int J Cardiol* 2015; **189**:6-11.
69. Mason JM, Hancock HC, Close H, Murphy JJ, Fuat A, de Belder M, Singh R, Teggert A, Wood E, Brennan G, Hussain N, Kumar N, Manshani N, Hodges D, Wilson D, Hungin AP. Utility of biomarkers in the differential diagnosis of heart failure in older people: findings from the heart failure in care homes (HFinCH) diagnostic accuracy study. *PLoS One* 2013; **8**:e53560.
70. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; **105**: 1135-43.
71. Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Curr Probl Cardiol* 2004; **29**:439-93.
72. Tromp J, Khan MA, Klip IT, Meyer S, de Boer RA, Jaarsma T, Hillege H, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Voors AA. Biomarker Profiles in Heart Failure Patients With Preserved and Reduced Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc* 2017; **6**:e003989.
73. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci* 2013; **9**:1057-69.
74. Lüscher TF, Tschudi MR, Wenzel RR, Noll G. Endotheliale Dysfunktion und Stickstoffmonoxid (NO; Nitric Oxide). *Internist (Berl)* 1997; **38**:411-9.
75. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol* 2017; **956**:511-40.
76. Simon BC, Noll B, Maisch B. Endotheliale Dysfunktion - eine Bestandsaufnahme und Ansätze zur Therapie. *Herz* 1999; **24**:62-71.
77. Tiefenbacher CP, Kreuzer J. Nitric Oxide-mediated Endothelial Dysfunction - Is there need to treat? *Curr Vasc Pharmacol* 2003; **1**:123-33.
78. Mathers MJ, Brandt AS, Rundstedt F, Roth S, Sommer F, Klotz T. Stickstoffmonoxid (NO)- und Arginin-Stoffwechsel und deren Bedeutung in der Männergesundheit. *Aktuelle Urol* 2009; **40**:235-41.
79. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**:9265-9.

80. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018; **115**:5839-48.
81. Herrmann P, Mauer D. Nobelpreis Medizin 1998. *Notfall & Rettungsmedizin* 1998; **1**:324.
82. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; **333**:664-6.
83. Roth E, Wessner B. L-Arginin: Eine Aminosäure mit multiplen Wirkungen. *Wien Klin Wochenschr* 2005; **117**:666-72.
84. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; **357**:593-615.
85. Lüscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin Cardiol* 1997; **20**:3-10.
86. Kelly RA, Balligand JL, Smith TW. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res* 1996; **79**:363-80.
87. Fulton MD, Brown T, Zheng YG. The Biological Axis of Protein Arginine Methylation and Asymmetric Dimethylarginine. *Int J Mol Sci* 2019; **20**.
88. Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999; **43**:542-8.
89. Pilz S, Meinitzer A, Gaksch M, Grübler M, Verheyen N, Drechsler C, Hartaigh B, Lang F, Alesutan I, Voelkl J, März W, Tomaschitz A. Homoarginine in the renal and cardiovascular systems. *Amino Acids* 2015; **47**:1703-13.
90. Joncquel-Chevalier Curt M, Voicu PM, Fontaine M, Dessein AF, Porchet N, Mention-Mulliez K, Dobbelaere D, Soto-Ares G, Cheillan D, Vamecq J. Creatine biosynthesis and transport in health and disease. *Biochimie* 2015; **119**:146-65.
91. Michel T. R is for arginine: metabolism of arginine takes off again, in new directions. *Circulation* 2013; **128**:1400-4.
92. Silberman GA, Fan TH, Liu H, Jiao Z, Xiao HD, Lovelock JD, Boulden BM, Widder J, Fredd S, Bernstein KE, Wolska BM, Dikalov S, Harrison DG, Dudley SC, Jr. Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction. *Circulation* 2010; **121**:519-28.
93. Schiattarella GG, Altamirano F, Tong D, French KM, Villalobos E, Kim SY, Luo X, Jiang N, May HI, Wang ZV, Hill TM, Mammen PPA, Huang J, Lee DI, Hahn VS, Sharma K, Kass DA, Lavandro S, Gillette TG, Hill JA. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction. *Nature* 2019; **568**:351-6.
94. Zhang N, Feng B, Ma X, Sun K, Xu G, Zhou Y. Dapagliflozin improves left ventricular remodeling and aorta sympathetic tone in a pig model of heart failure with preserved ejection fraction. *Cardiovasc Diabetol* 2019; **18**:107.
95. Esposito G, Cappetta D, Russo R, Rivellino A, Ciuffreda LP, Roviezzo F, Piegari E, Berrino L, Rossi F, De Angelis A, Urbanek K. Sitagliptin reduces inflammation, fibrosis and preserves diastolic function in a rat model of heart failure with preserved ejection fraction. *Br J Pharmacol* 2017; **174**:4070-86.

96. Shea CM, Price GM, Liu G, Sarno R, Buys ES, Currie MG, Masferrer JL. Soluble guanylate cyclase stimulator praliciguat attenuates inflammation, fibrosis, and end-organ damage in the Dahl model of cardiorenal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2020; **318**:F148-59.
97. Tobin JV, Zimmer DP, Shea C, Germano P, Bernier SG, Liu G, Long K, Miyashiro J, Ranganath S, Jacobson S, Tang K, Im GJ, Sheppeck J, 2nd, Moore JD, Sykes K, Wakefield J, Sarno R, Banijamali AR, Profy AT, Milne GT, Currie MG, Masferrer JL. Pharmacological Characterization of IW-1973, a Novel Soluble Guanylate Cyclase Stimulator with Extensive Tissue Distribution, Antihypertensive, Anti-Inflammatory, and Antifibrotic Effects in Preclinical Models of Disease. *J Pharmacol Exp Ther* 2018; **365**:664-75.
98. Westermann D, Riad A, Richter U, Jäger S, Savvatis K, Schuchardt M, Bergmann N, Tölle M, Nagorsen D, Gotthardt M, Schultheiss HP, Tschöpe C. Enhancement of the endothelial NO synthase attenuates experimental diastolic heart failure. *Basic Res Cardiol* 2009; **104**:499-509.
99. Chirinos JA, Akers SR, Trieu L, Ischiropoulos H, Doulias PT, Tariq A, Vasim I, Koppula MR, Syed AA, Soto-Calderon H, Townsend RR, Cappola TP, Margulies KB, Zamani P. Heart Failure, Left Ventricular Remodeling, and Circulating Nitric Oxide Metabolites. *J Am Heart Assoc* 2016; **5**:e004133.
100. Pilz S, Edelmann F, Meinitzer A, Gelbrich G, Doner U, Dungen HD, Tomaschitz A, Kienreich K, Gaksch M, Duvinage A, Stahrenberg R, Kunde J, Schmidt A, Marz W, Wachter R, Pieske B. Associations of methylarginines and homoarginine with diastolic dysfunction and cardiovascular risk factors in patients with preserved left ventricular ejection fraction. *J Card Fail* 2014; **20**:923-30.
101. Baldassarri F, Schwedhelm E, Atzler D, Böger RH, Cordts K, Haller B, Pressler A, Müller S, Suchy C, Wachter R, Düngen HD, Hasenfuss G, Pieske B, Halle M, Edelmann F, Duvinage A. Relationship between exercise intervention and NO pathway in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Biomarkers* 2018; **23**:540-50.
102. Banjarnahor S, Rodionov RN, König J, Maas R. Transport of L-Arginine Related Cardiovascular Risk Markers. *J Clin Med* 2020; **9**:3975.
103. Tang WH, Wang Z, Cho L, Brennan DM, Hazen SL. Diminished global arginine bioavailability and increased arginine catabolism as metabolic profile of increased cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2009; **53**:2061-7.
104. Schlesinger S, Sonntag SR, Lieb W, Maas R. Asymmetric and Symmetric Dimethylarginine as Risk Markers for Total Mortality and Cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *PLoS One* 2016; **11**:e0165811.
105. März W, Meinitzer A, Drechsler C, Pilz S, Krane V, Kleber ME, Fischer J, Winkelmann BR, Böhm BO, Ritz E, Wanner C. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation* 2010; **122**:967-75.
106. Borlaug BA, Anstrom KJ, Lewis GD, Shah SJ, Levine JA, Koepp GA, Givertz MM, Felker GM, LeWinter MM, Mann DL, Margulies KB, Smith AL, Tang WHW, Whellan DJ, Chen HH, Davila-Roman VG, McNulty S, Desvigne-Nickens P, Hernandez AF, Braunwald E, Redfield MM. Effect of Inorganic Nitrite vs Placebo on Exercise Capacity Among Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: The INDIE-HFpEF Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2018; **320**:1764-73.

107. Redfield MM, Anstrom KJ, Levine JA, Koeppe GA, Borlaug BA, Chen HH, LeWinter MM, Joseph SM, Shah SJ, Semigran MJ, Felker GM, Cole RT, Reeves GR, Tedford RJ, Tang WH, McNulty SE, Velazquez EJ, Shah MR, Braunwald E. Isosorbide Mononitrate in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med* 2015; **373**:2314-24.
108. Armstrong PW, Lam CSP, Anstrom KJ, Ezekowitz J, Hernandez AF, O'Connor CM, Pieske B, Ponikowski P, Shah SJ, Solomon SD, Voors AA, She L, Vlainic V, Carvalho F, Bamber L, Blaustein RO, Roessig L, Butler J. Effect of Vericiguat vs Placebo on Quality of Life in Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction: The VITALITY-HFpEF Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2020; **324**:1512-21.
109. Tain YL, Hsu CN. Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel)* 2017; **9**:92.
110. Orozco-Gutiérrez JJ, Castillo-Martínez L, Orea-Tejeda A, Vázquez-Díaz O, Valdespino-Trejo A, Narváez-David R, Keirns-Davis C, Carrasco-Ortiz O, Navarro-Navarro A, Sánchez-Santillán R. Effect of L-arginine or L-citrulline oral supplementation on blood pressure and right ventricular function in heart failure patients with preserved ejection fraction. *Cardiol J* 2010; **17**:612-8.
111. Premer C, Kanelidis AJ, Hare JM, Schulman IH. Rethinking Endothelial Dysfunction as a Crucial Target in Fighting Heart Failure. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes* 2019; **3**:1-13.
112. Ghiadoni L, Fajta F, Salvetti M, Cordiano C, Biggi A, Puato M, Di Monaco A, De Sisti L, Volpe M, Ambrosio G, Gemignani V, Muiesan ML, Taddei S, Lanza GA, Cosentino F. Assessment of flow-mediated dilation reproducibility: a nationwide multicenter study. *J Hypertens* 2012; **30**:1399-405.
113. Itamar Medical Ltd. EndoPAT™ 2000 Device User Manual. 2019.
114. Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE, Pumper GM, Lerman LO, Lerman A. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J* 2010; **31**:1142-8.
115. Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, Sullivan LM, Lehman BT, Vasani RS, Levy D, Mitchell GF, Vita JA, Benjamin EJ. Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community: the Framingham heart study. *Hypertension* 2011; **57**:390-6.
116. Schwedhelm E, Maas R, Tan-Andresen J, Schulze F, Riederer U, Böger RH. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; **851**:211-9.
117. Atzler D, Mieth M, Maas R, Böger RH, Schwedhelm E. Stable isotope dilution assay for liquid chromatography-tandem mass spectrometric determination of L-homoarginine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011; **879**:2294-8.
118. Malhotra R, Bakken K, D'Elia E, Lewis GD. Cardiopulmonary Exercise Testing in Heart Failure. *JACC Heart Fail* 2016; **4**:607-16.
119. Balady GJ, Arena R, Sietsema K, Myers J, Coke L, Fletcher GF, Forman D, Franklin B, Guazzi M, Gulati M, Keteyian SJ, Lavie CJ, Macko R, Mancini D, Milani RV. Clinician's Guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010; **122**:191-225.

120. Nadruz W, Jr., West E, Sengeløv M, Santos M, Groarke JD, Forman DE, Claggett B, Skali H, Shah AM. Prognostic Value of Cardiopulmonary Exercise Testing in Heart Failure With Reduced, Midrange, and Preserved Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc* 2017; **6**:e006000.
121. Wonisch M, Berent R, Klicpera M, Laimer H, Marko C, Pokan R, Schmid P, Schwann H. Praxisleitlinien Ergometrie. Krause & Pachernegg; 2008.
122. Borg G. Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med* 1970; **2**:92-8.
123. Faggiano P, D'Aloia A, Gualeni A, Brentana L, Dei Cas L. The 6 minute walking test in chronic heart failure: indications, interpretation and limitations from a review of the literature. *Eur J Heart Fail* 2004; **6**:687-91.
124. Haass M, Zugck C, Kübler W. Der 6-Minuten-Gehtest: Eine kostengünstige Alternative zur Spiroergometrie bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz. *Z Kardiol* 2000; **89**:72-80.
125. Murphy NF, Simpson CR, McAlister FA, Stewart S, MacIntyre K, Kirkpatrick M, Chalmers J, Redpath A, Capewell S, McMurray JJ. National survey of the prevalence, incidence, primary care burden, and treatment of heart failure in Scotland. *Heart* 2004; **90**:1129-36.
126. Faxen UL, Venkateshvaran A, Shah SJ, Lam CSP, Svedlund S, Saraste A, Beussink-Nelson L, Lagerstrom Fermer M, Gan LM, Hage C, Lund LH. Generalizability of HFA-PEFF and H(2)FPEF Diagnostic Algorithms and Associations With Heart Failure Indices and Proteomic Biomarkers: Insights From PROMIS-HFpEF. *J Card Fail* 2021; **27**:756-65.
127. Sotomi Y, Iwakura K, Hikoso S, Inoue K, Onishi T, Okada M, Fujii K, Okamura A, Tamaki S, Yano M, Hayashi T, Nakagawa A, Nakagawa Y, Nakatani D, Yasumura Y, Yamada T, Sakata Y. Prognostic significance of the HFA-PEFF score in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail* 2021; **8**:2154-64.
128. Pilz S, Meinitzer A, Tomaschitz A, Drechsler C, Ritz E, Krane V, Wanner C, Boehm BO, März W. Low homoarginine concentration is a novel risk factor for heart disease. *Heart* 2011; **97**:1222-7.
129. Atzler D, Schwedhelm E, Nauck M, Ittermann T, Böger RH, Friedrich N. Serum reference intervals of homoarginine, ADMA, and SDMA in the study of health in Pomerania. *Clin Chem Lab Med* 2014; **52**:1835-42.
130. Masaki T, Sawamura T. Endothelin and endothelial dysfunction. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2006; **82**:17-24.
131. Schepers E, Barreto DV, Liabeuf S, Glorieux G, Eloit S, Barreto FC, Massy Z, Vanholder R. Symmetric dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; **6**:2374-83.
132. Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, Leybaert L, Vanholder R. Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrol Dial Transplant* 2009; **24**:1429-35.
133. Lupu S, Mitre A, Dobreanu D. Left atrium function assessment by echocardiography - physiological and clinical implications. *Med Ultrason* 2014; **16**:152-9.

134. Almeida P, Rodrigues J, Lourenço P, Maciel MJ, Bettencourt P. Left atrial volume index is critical for the diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2018; **19**:304-9.
135. Hage C, Michaëlsson E, Kull B, Miliotis T, Svedlund S, Linde C, Donal E, Daubert J-C, Gan L-M, Lund LH. Myeloperoxidase and related biomarkers are suggestive footprints of endothelial microvascular inflammation in HFpEF patients. *ESC Heart Fail* 2020; **7**:1534-46.
136. Lieb W, Benndorf RA, Benjamin EJ, Sullivan LM, Maas R, Xanthakis V, Schwedhelm E, Aragam J, Schulze F, Böger RH, Vasani RS. Plasma asymmetric dimethylarginine, L-arginine and left ventricular structure and function in a community-based sample. *Atherosclerosis* 2009; **204**:282-7.
137. Maréchaux S, Samson R, van Belle E, Breyne J, de Monte J, Dédrie C, Chebai N, Menet A, Banfi C, Bouabdallaoui N, Le Jemtel TH, Ennezat P-V. Vascular and Microvascular Endothelial Function in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *J Card Fail* 2016; **22**:3-11.
138. Akiyama E, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Konishi M, Suzuki H, Nozaki T, Ohba K, Matsubara J, Maeda H, Horibata Y, Sakamoto K, Sugamura K, Yamamuro M, Sumida H, Kaikita K, Iwashita S, Matsui K, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Incremental Prognostic Significance of Peripheral Endothelial Dysfunction in Patients With Heart Failure With Normal Left Ventricular Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol* 2012; **60**:1778-86.
139. Bruno RM, Gori T, Ghiadoni L. Endothelial function testing and cardiovascular disease: focus on peripheral arterial tonometry. *Vasc Health Risk Manag* 2014; **10**:577-84.
140. Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol (1985)* 2006; **101**:545-8.
141. Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Jr., Kuvin JT, Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol* 2004; **44**:2137-41.
142. Wan S, Pandey A. Targeting the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in heart failure with preserved ejection fraction: too soon to say no to nitric oxide? *Eur J Heart Fail* 2021; **23**:824-5.
143. Reddy YNV, Stewart GM, Obokata M, Koepp KE, Borlaug BA. Peripheral and pulmonary effects of inorganic nitrite during exercise in heart failure with preserved ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2021; **23**:814-23.
144. Kuhn M. Structure, regulation, and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on guanylyl cyclase-A. *Circ Res* 2003; **93**:700-9.
145. Solomon SD, McMurray JJV, Anand IS, Ge J, Lam CSP, Maggioni AP, Martinez F, Packer M, Pfeffer MA, Pieske B, Redfield MM, Rouleau JL, van Veldhuisen DJ, Zannad F, Zile MR, Desai AS, Claggett B, Jhund PS, Boytsov SA, Comin-Colet J, Cleland J, Dünge HD, Goncalvesova E, Katova T, Kerr Saraiva JF, Lelonek M, Merkely B, Senni M, Shah SJ, Zhou J, Rizkala AR, Gong J, Shi VC, Lefkowitz MP. Angiotensin-Nephrilysin Inhibition in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med* 2019; **381**:1609-20.

7 Eidesstattliche Versicherung/Anteilserklärung

„Ich, Karsten Piatek, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Klinische Assoziationen von Serummarkern des Stickstoffmonoxid-Metabolismus bei Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion / Clinical associations of serum nitric oxide metabolites in heart failure with preserved ejection fraction“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an der erfolgten Publikation

Karsten Piatek hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Piatek K, Feuerstein A, Zach V, Rozados da Conceicao C, Beblo A, Belyavskiy E, Pieske-Kraigher E, Krannich A, Schwedhelm E, Hinz S, Pieske B, Edelmann F. Nitric oxide metabolites: associations with cardiovascular biomarkers and clinical parameters in patients with HFpEF. *ESC Heart Fail* 2022; **9**:3961-72.

Beitrag im Einzelnen: Erstellung und Entwicklung der Fragestellung in Rücksprache mit Herrn Prof. Dr. med. Frank Edelmann; Einschluss und Untersuchung von Patienten für das HFpEF-Register im Zeitraum von Dezember 2019 bis September 2020; eigenständige Aufbereitung der Daten für die Analyse; statistische Auswertung der Daten in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. rer. medic. Alexander Krannich; vollständige Konzeption und Anfertigung des Manuskripts unter Berücksichtigung von Änderungs- und Verbesserungsvorschlägen durch die Co-Autoren; außer der Abbildung 3 wurden alle Abbildungen und Tabellen selbstständig erstellt.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

8 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9 Publikationsliste

Piatek K, Feuerstein A, Zach V, Rozados da Conceicao C, Beblo A, Belyavskiy E, Pieske-Kraigher E, Krannich A, Schwedhelm E, Hinz S, Pieske B, Edelmann F. Nitric oxide metabolites: associations with cardiovascular biomarkers and clinical parameters in patients with HFpEF. *ESC Heart Fail* 2022; **9**:3961-72.

10 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. B. Pieske, Klinikdirektor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie der Charité am Campus Virchow-Klinikum, für die Möglichkeit, die Dissertation an seiner Klinik durchführen zu können.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. F. Edelmann für die Überlassung des interessanten Dissertationsthemas, die umfassende fachliche Betreuung und die fortdauernde Motivation.

Frau Dr. med. univ. V. Zach danke ich für die Unterstützung und Beratung bei der Erstellung dieser Arbeit und für die stetige Hilfsbereitschaft.

Frau Dr. med. A. Feuerstein danke ich für die Unterstützung bei der Publikation.

Herrn Dr. A. Krannich gilt ein großer Dank für seine Hilfe und den unkomplizierten Austausch bei der statistischen Bearbeitung des Projekts.

Mein Dank gilt ebenfalls dem gesamten Team der Clinical Research Unit Kardiologie am Campus Virchow-Klinikum für die freundliche Aufnahme und Unterstützung des Forschungsvorhabens.

Meinen Eltern und meiner Schwester danke ich für die Unterstützung während des Studiums und der Erstellung dieser Arbeit.

11 Bescheinigung der statistischen Beratung



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBike)

Direktor (komm.): Prof. Dr. Frank Konietschke

Name, Vorname: **Piatek, Karsten**

Emailadresse: **karsten.piatek@charite.de**

Matrikelnummer:

PromotionsbetreuerIn: **Prof. Dr. Frank Edelmann**

Promotionsinstitution / Klinik: **Med. Klinik m.S. Kardiologie (CVK)**

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
frank.konietschke@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Herr Piatek innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBike) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Es wurde ein Beratungstermin am 16.08.2022 wahrgenommen.

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Entscheidungsgrundlagen für die Verwendung verschiedener Korrelationsmaße diskutiert (Pearson, Spearman, Kendall)
- Begründung der Komponentenanzahl in der PCA einfügen
- Regression mit den PCA-Komponenten rechnen

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 17.08.22

Name des Beraters: Dr. Daniel Schulze

Unterschrift Berater, Institutsstempel