

Aus der Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Rolle von immunologischen und metabolischen Faktoren am
Beispiel von löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1 und
Harnsäure als prognostische Faktoren bei Patienten mit
chronischer Herzinsuffizienz

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ralph Herrmann

aus Berlin

Datum der Promotion: 27.02.2015

I. Inhaltsverzeichnis

I. Inhaltsverzeichnis	1
II. Abkürzungsverzeichnis.....	3
III. Tabellen-und Abbildungsverzeichnis	4
IV. Abstrakt	5
1 Einleitung.....	7
1.1 Definition der chronischen Herzinsuffizienz	7
1.2 Epidemiologie der chronischen Herzinsuffizienz	7
1.3 Überlebensabschätzung bei einzelnen Risikofaktoren.....	8
1.3.1 Maximale Sauerstoffaufnahme	8
1.3.2 Linksventrikuläre Ejektionsfraktion	8
1.3.3 Stadieneinteilung der New York Heart Association	9
1.3.4 Harnsäure.....	9
1.3.5 Tumornekrosefaktor und löslicher Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1.....	10
1.3.6 Lipopolysacharid.....	11
1.3.7. Kombination metabolischer, funktionaler und hämodynamischer Faktoren..	12
2 Methodik.....	14
2.1 Studiendesign	14
2.2 Probandenrekrutierung	14
2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien	14
2.2.2 Patientencharakteristika	15
2.2.3 Nachuntersuchung der Patienten	15
2.3 Quantifizierung der untersuchten Parameter	16
2.3.1 Maximale Sauerstoffaufnahme und NYHA-Stadieneinteilung	16
2.3.2. Bestimmung der LVEF	16
2.3.3 Messung von LPS	17
2.3.4 Messung von TNF und sTNF-R1	17
2.4 Statistik	18
2.4.1 Cox-Regression.....	19
2.4.2. Grenzwertoptimierungskurve/Receiver Operating Characteristic	19
2.4.3. Kaplan-Meier-Berechnungen.....	19

3 Ergebnisse.....	20
3.1 Kohorte 1	20
3.1.1 Assoziation von LPS mit dem Ödemstatus.....	20
3.1.2 Assoziation von Entzündungsparametern mit dem Ödemstatus	20
3.1.3 Assoziation von LPS mit Entzündungsparametern.....	21
3.2 Basischarakteristika und Patientenüberleben der zweiten Probandenkohorte.....	22
3.3 Box-Plot-Einzelparameterbetrachtungen für Harnsäure und sTNF-R1	24
3.4 Cox-Analyse-Ergebnisse.....	25
3.4.1 Multivariate COX-Analysen.....	25
3.5 ROC-Kurvenanalysen	26
3.5.1 Univariate ROC-Kurvenanalysen.....	27
3.5.2 Multivariate ROC-Risikobewertung.....	27
3.5.3 Bestes ROC-Risikobewertungsmodell in der Studie.....	29
3.6 Kaplan-Meier-Grafik.....	30
4 Diskussion	31
4.2 Einfluss der LVEF als hämodynamischer Faktor bei CHI	32
4.3 Funktionelle Aspekte der CHI anhand von VO ₂ und NYHA-Klasse	32
4.4 Pathophysiologie der Harnsäure bei CHI	33
4.5 Pathophysiologie der TNF-Superfamilie und LPS bei CHI	34
4.6 Mögliche Faktoren einer Prognoseverbesserung bei CHI-Patienten.....	35
4.6.1 Mögliche Therapieansätze bei erhöhtem Harnsäurespiegel bei CHI.....	35
4.2.2. Mögliche Therapieansätze bei erhöhtem TNF-Spiegel bei CHI.....	36
4.7 Limitationen.....	37
4.8 Ausblick.....	37
5 Literaturverzeichnis.....	39
V. Lebenslauf	46
VI. Publikationsliste	47
VII. Eidesstattliche Erklärung	48
VIII. Danksagung	49

II. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen angeordnet in alphabetischer Reihenfolge

AUC	-	Fläche unter der Kurve (Area under the curve)
CHI	-	chronische Herzinsuffizienz
diastol.	-	diastolisch
LPS	-	Lipopolysacharide
LVEF	-	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
NYHA	-	New York Heart Association
VO ₂	-	maximale Sauerstoffaufnahme des Herzmuskels
systol.	-	systolisch
ROC	-	Grenzwertoptimierungskurve (Receiver Operating Characteristic)
TNF	-	Tumornekrosefaktor
sTNF-R1	-	löslicher Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1 (soluble tumor necrosis factor receptor 1)

III. Tabellen-und Abbildungsverzeichnis

Tabellen

Tabelle 1: Einteilung der Herzinsuffizienz nach NYHA-Klassifikation	9
Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien der CHI-Patienten	15
Tabelle 3: Basischarakteristika der Probanden in der ersten Patientenkohorte.....	21
Tabelle 4: Basischarakteristika der Patienten in der zweiten Kohorte	23
Tabelle 5: Cox-Analysen der Parameter zur 24-Monats-Überlebensrate	26
Tabelle 6: ROC-Statistiken der Parameter auf Basis des 24-Monats-Überlebens.....	27

Abbildungen

Abbildung 1: Entzündungsmarker in Abhängigkeit vom LPS-Status	22
Abbildung 2: Harnsäure- und sTNF-R1-Box-Plots	24
Abbildung 3: Bestes Modell mit zwei Parametern.....	28
Abbildung 4: Bestes Modell ohne Spiroergometrie	29
Abbildung 5: Risikostratifizierungsmodell anhand der Anzahl der Risikofaktoren.....	30

IV. Abstrakt

Background: Chronic heart failure (CHF) is a multisystem disease. The interaction between metabolic and immunologic parameters in CHF is a subject of current research. Lipopolysaccharid (LPS) translocation from the gut may contribute to the systemic inflammation observed in CHF. Tumor necrosis factor (TNF) and soluble tumor necrosis factor receptor 1 (sTNF-R1) activation may be triggered through LPS. sTNF-R1 as a marker of inflammation and uric acid as surrogate marker of different metabolic CHF-pathways have to be tested together for their prognostic value.

Methods: Examinations were done in two cohorts. In the first cohort measurements of LPS, TNF and sTNF-R1 were conducted in 20 CHF patients (New York Heart Association [NYHA] class I/II/III/IV: 0/8/8/4, 12 edematous and eight non-edematous) and eight controls. In the second cohort, uric acid, sTNF-R1, NYHA-class, left ventricular ejection fraction (LVEF), and peak oxygen consumption (VO_2) were measured in 114 CHF patients (NYHA class I/II/III/IV: 11/34/54/15). The endpoint in the second cohort was the survival of the CHF patients after 24 months.

Results: In the first cohort, edematous patients had the highest concentrations of LPS, TNF and sTNF-R1 ($p < 0,04$). CHF patients with abnormal LPS concentrations $> 0,50$ EU/ml ($n=7$) had the highest concentrations of TNF ($7,0 \pm 1,6$ vs. $3,1 \pm 0,3$ pg/ml, $p < 0,02$) and sTNF-R1 (3499 ± 52 vs. 1599 ± 219 pg/ml, $p = 0,02$). In the second cohort, uric acid, sTNF-R1, VO_2 , LVEF and NYHA class all predicted survival ($p = 0,0001$). Receiver-operator characteristic (ROC) curve analyses showed that uric acid and sTNF-R1 are equally strong with regards to their prognostic performance in CHF as pVO_2 and even stronger than LVEF. The combination of pVO_2 , LVEF, uric acid, and sTNF-R1 in ROC statistics turned out as the best model with the highest prognostic value in CHF (Area under the curve: 0,91; sensitivity: 90,4; specificity: 74,2; $p = 0,0001$).

Conclusion: Including metabolic-immunological parameters into risk assessment might result in a better risk stratification than modelling based on clinical parameters alone. sTNF-R1 and uric acid should be tested in larger patient populations.

Hintergrund: Die chronische Herzinsuffizienz (CHI) ist eine Multisystemerkrankung, bei der die Rolle der chronischen Entzündung und der Zusammenhang zwischen metabolischen und immunologischen Faktoren weiter Forschungsgegenstand ist. Lipopolysaccharid (LPS) aus dem Darm steht in Verdacht, zur chronischen Entzündung bei CHI-Patienten beizutragen. LPS kann zur Aktivierung von Tumornekrosefaktor (TNF) und löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1 (sTNF-R1) führen. sTNF-R1 als immunologischer Faktor und Harnsäure als Surrogatparameter der Entzündung wurden bisher nicht gemeinsam auf ihre prognostische Relevanz bei CHI getestet.

Methoden: Es wurden Untersuchungen in zwei Kohorten durchgeführt. In der ersten Kohorte wurden LPS, TNF und sTNF-R1-Blutkonzentrationen bei 20 CHI-Patienten (eingeordnet nach New York Heart Association [NYHA] in Klasse I/II/III/IV: 0/8/8/4, 12 ödematös und 8 ödemfrei) sowie 8 gesunden Kontrollprobanden gemessen. In der zweiten Patientenkohorte wurden Harnsäure, sTNF-R1, NYHA-Klasse, die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) sowie die maximale Sauerstoffaufnahme des Herzmuskels (VO_2) bei 114 CHI-Patienten (NYHA-Klasse I/II/III/IV: 11/34/54/15) untersucht. Untersuchungsendpunkt in der zweiten Kohorte war das Überleben der CHI-Patienten nach 24 Monaten.

Ergebnis: In der ersten Probandenkohorte hatten die ödematösen CHI-Patienten die höchsten Konzentrationen an LPS, TNF und sTNF-R1 ($p < 0,04$). Patienten mit erhöhten LPS-Spiegeln von über 50 EU/ml ($n = 7$) hatten die höchsten Konzentrationen an TNF ($7,0 \pm 1,6$ vs. $3,1 \pm 0,3$ pg/ml, $p < 0,02$), und sTNF-R1 (3499 ± 52 vs. 1599 ± 219 pg/ml, $p = 0,02$). In der zweiten Patientenkohorte zeigten sich Harnsäure, sTNF-R1, VO_2 , LVEF und NYHA-Klasse hochprognostisch bezüglich der 24-Monats-Mortalität ($p = 0,0001$). sTNF-R1 war auch unabhängig von Harnsäure hochprognostisch. In Grenzwertoptimierungskurvenanalysen (Receiver Operating Characteristic, ROC) zeigten sich sTNF-R1 und Harnsäure als ähnlich gute Prognoseparameter wie VO_2 und sogar bessere als LVEF. Die Kombination von Harnsäure, sTNF-R1, LVEF sowie NYHA-Klasse resultierte in einem hochprognostischen ROC-Modell zur Mortalitätsvorhersage (Fläche unter der Kurve 0,91; Sensitivität 90,4; Spezifität 74,2; $p = 0,0001$).

Schlussfolgerung: Bei der Prognoseabschätzung von CHI könnten immunologisch-metabolische Parameter in Verbindung mit funktionellen und hämodynamischen Faktoren die Risikostratifizierung entscheidend verbessern. Insbesondere die Rolle von sTNF-R1 und Harnsäure sollte daher in größeren Patientenkohorten untersucht werden.

1 Einleitung

1.1 Definition der chronischen Herzinsuffizienz

Obwohl die klinischen Symptome der Herzinsuffizienz und der chronischen Herzinsuffizienz (CHI) wie Ruhe- und Belastungsdyspnoe, Abgeschlagenheit, Flüssigkeitsretentionen und abnorme Herzrhythmen wohl bekannt sind und die verschiedenen Manifestationen intensiv studiert wurden, ist auch heute eine exakte Definition der Herzinsuffizienz nicht trivial, da sich die CHI als eine Verknüpfung von verschiedenen funktionellen, metabolischen, hämodynamischen und anatomischen Anomalien präsentiert. Dieses komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Faktoren ist seit Langem Gegenstand wissenschaftlicher Forschung. So formulierte Jay N. Cohn bereits 1993, dass „die Herzinsuffizienz [...] eine Multisystemerkrankung“ ist, „welche das Herz, periphere Gefäße, die Niere, das Renin-Angiotension-System, andere zirkulierende Hormone, lokale Metaboliten, autokrine Systeme und den Skelettmuskel mit einschließt“ (1).

1.2 Epidemiologie der chronischen Herzinsuffizienz

Die CHI hat in den letzten Jahren in den industrialisierten Ländern in ihrer Inzidenz sowie Prävalenz ständig zugenommen und ist stark altersabhängig (2,3). Allgemein liegt bei den 45- bis 55-jährigen Personen die Prävalenz der Herzinsuffizienz bei etwa einem Prozent, bei den 65- bis 75-jährigen schon bei circa fünf Prozent und bei den über 80-jährigen Personen sogar bei über zehn Prozent (4). Weiterhin beträgt das Lebenszeitrisiko, an Herzinsuffizienz zu erkranken, für Männer und Frauen ab einem Alter von 40 Jahren etwa 20 Prozent (5).

Weltweit sind Herzkreislauferkrankungen die häufigste Todesursache (6). In Deutschland steht die CHI in der Liste der zehn häufigsten Todesursachen auf Platz drei. Die Wahrscheinlichkeit eines herzinsuffizienten Patienten, innerhalb von einem Jahr zu versterben, liegt allgemein bei etwa zehn Prozent oder, abhängig vom klinischen Schweregrad der Erkrankung, sogar bei bis zu 75 Prozent (7). Aufgrund intensiver Forschung konnte die Lebenszeiterwartung von Personen mit CHI beständig gesteigert werden (8), was auf neue Therapiemöglichkeiten und -schemata zurückzuführen ist (9).

1.3 Überlebensabschätzung bei einzelnen Risikofaktoren

In den letzten Jahren und Jahrzehnten wurden eine Reihe unterschiedlicher Faktoren identifiziert, welche zur individuellen Abschätzung des Überlebens bei der CHI genutzt werden können. Diese Faktoren beziehen die verschiedenen Bereiche des Gesamtbildes der CHI ein. Sie umfassen klinische Einschätzung, funktionelle Veränderungen als auch metabolische und immunologische Parameter.

1.3.1 Maximale Sauerstoffaufnahme

Die maximale Sauerstoffaufnahme (VO_2) gehört zu den anerkanntesten prognostischen Variablen der Herzinsuffizienz überhaupt (10). 1982 wurde die VO_2 von Weber et al. als nicht invasive Methode zur Prognoseabschätzung vorgeschlagen (11) und seitdem beständig weiterentwickelt (12). Die VO_2 ist nicht nur ein rein funktioneller Parameter in der CHI, sondern vereint verschiedene Aspekte der CHI. So können mit diesem Parameter Rückschlüsse über die metabolische kardiale und muskuläre Reserve unter Belastung als auch über die pulmonale sowie endotheliale Dysfunktion gezogen werden, um so die Schwere der Gesamteinschränkung durch die CHI einschätzen zu können (13). In der Vergangenheit und heute wird die VO_2 für die Dringlichkeitseinstufung von Patienten für Herztransplantationen genutzt (14).

1.3.2 Linksventrikuläre Ejektionsfraktion

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) des Herzens ein hämodynamischer prädiktiver hochprognostischer Parameter bei der Mortalitätsabschätzung von CHI-Patienten ist (15). Die LVEF beschreibt das Verhältnis des Blutvolumens, welches der linke Ventrikel bei jeder Herzaktion auswirft, zum Gesamtblutvolumen in der linken Herzkammer, wobei der Normalwert der LVEF je nach Bestimmungsmethode mit 55 bis 60 % angegeben wird. Es konnte dargestellt werden, dass bei erniedrigten LVEF-Werten unter 25 % das Mortalitätsrisiko in der CHI-Kohorte gegenüber höheren LVEF-Werten um fast 35 % ansteigt (16). Auch

spielt die LVEF eine wichtige Rolle bei der Risikostratifizierung bei Patienten nach einem Herzinfarkt (17).

1.3.3 Stadieneinteilung der New York Heart Association

Das Stadieneinteilungsmodell der New York Heart Association (NYHA) ist das bei Herzinsuffizienz weltweit am häufigsten genutzte Stratifizierungssystem. Es wurde 1928 eingeführt und seitdem mehrfach revidiert (18). Es ist klinisch einfach bei jedem Patienten ohne apparativen Aufwand einzusetzen und teilt die Patienten gemäß deren subjektivem funktionellem Befinden in Ruhe und unter Belastung in eine von vier Kategorien ein (siehe Tabelle 1). Die NYHA-Einteilung hat unabhängige prognostische Bedeutung. Sie wird heute weitläufig in Studien zur abschätzenden Eingangsbeurteilung der Schwere der Erkrankung von CHI-Patienten oder zum Ermessen des Erfolges eines klinischen Versuches gemäß einer möglichen herabgesetzten NYHA-Einstufung genutzt (19).

Tabelle 1: Einteilung der Herzinsuffizienz nach NYHA-Klassifikation	
NYHA-Stadium	Bewertungskriterien
I	Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, Rhythmus-Störungen, Luftnot oder Angina pectoris.
II	Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche körperliche Belastung mit Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
III	Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung mit Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
IV	Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe. Bettlägerigkeit.

1.3.4 Harnsäure

Harnsäure ist das Endprodukt des Purinabbaus durch die Xanthinoxidase und wird beim Menschen zum Großteil über die Niere und zum geringeren Teil über den Darm

ausgeschieden, wobei gezeigt werden konnte, dass CHI-Patienten höhere Harnsäurespiegel, auch unabhängig von der Nierenfunktion, besitzen (20).

Aktuelle klinische Studien diskutieren den Nutzen von Harnsäure als einfach zu erhebenden metabolischen Prognosefaktor für CHI-Patienten (21,22).

Lange Zeit wurde Harnsäure eine protektive Wirkung gegen oxidativen Stress zusammen mit möglichen Effekten gegen die Progression von Arteriosklerose zugeschrieben (23). In den letzten Jahrzehnten dagegen wurde eine Reihe von kontroversen Studien veröffentlicht, welche eine Assoziation von Harnsäure mit Arteriosklerose und daraus resultierenden kardiovaskulären Erkrankungen kritisch diskutieren. So konnte in einer Studie keine Assoziation von Harnsäure mit Koronararteriosklerose festgestellt werden (24), während in einer anderen Studie bei jungen Erwachsenen nach dem Ausschluss von Confoundern eine Assoziation von Harnsäure mit der Schwere der Arteriosklerose dargelegt wurde (25). Damit bleibt die Rolle der Harnsäure sowohl bezüglich ihrer Beteiligung bei der Entstehung von oxidativem Stress als auch von Herzerkrankungen weiter Gegenstand der Forschung.

Auch die Rolle der Xanthinoxidase wurde neu evaluiert, insbesondere unter dem Aspekt, wie diese an der Entstehung von reaktiven Sauerstoff-Radikalen und der Leukozytenaktivierung beteiligt ist (26). Sauerstoffradikale tragen zu oxidativem Stress und endothelialer Dysfunktion bei, womit auch direkt über die Xanthinoxidase das Risiko für Arteriosklerose und damit Herzerkrankungen erhöht sein könnte. Besteht eine Verbindung der Harnsäure zur Xanthinoxidase, so wird Harnsäure zu einem Marker chronischer Entzündung bei CHI-Patienten (27). Daher war und ist Harnsäure in Mortalitätsstudien ein interessanter Kandidat als prognostischer Faktor und möglicher Surrogatparameter von nicht nur metabolischen, sondern auch immunologischen Veränderungen bei CHI. Ob dies jedoch über die prognostische Aussagekraft rein immunologischer Marker hinausgeht, bleibt der Testung in einem Modell vorbehalten, das Harnsäure und Immunparameter einschließt.

1.3.5 Tumornekrosefaktor und löslicher Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1

Tumornekrosefaktor (TNF) als multifunktionaler Signalstoff wird vor allem von Makrophagen aber auch Kardiomyozyten produziert und vorwiegend bei systemischen Entzündungen gefunden. TNF dient in Verbindung mit verschiedenen Rezeptoren, wie

dem löslichen Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1 (sTNF-R1) sowie anderen Bindungsmolekülen, als Modulator und Verbindungsglied inflammatorischer Prozesse sowie als Vermittler der zellulären Apoptose. sTNF-R1 (55kDa) wird nach Induktion von TNF von seinem Rezeptor als extrazelluläres Fragment abgelöst (28). sTNF-R1 ist als ein natürlich vorkommender TNF-Antagonist an der Regulation der Inflammation beteiligt. Es wird vermutet, dass sTNF-R1 einen modulierenden Einfluss für die weitere TNF-Wirkung auf Rezeptoren hat und damit zur direkten Kontrolle von wichtigen inflammatorischen Kaskaden beiträgt (29).

1.3.6 Lipopolysacharid

Die Ursache der systemischen Entzündung, welche bei CHI-Patienten beobachtet wird und zur Aktivierung der Tumornekrosefaktor-Superfamilie führt, ist intensiv diskutiert. Eine der Hypothesen ist, dass eine reduzierte Blutversorgung des Intestinums eine Darmischämie auslöst (30), die Darmbarriere-Funktion somit verändert und zu einer Einschwemmung von bakteriellem Endotoxin der Darmbakterien in Form von Lipopolysacharid (LPS) aus dem Darm in die Blutzirkulation führen kann (31). Diese Invasion von LPS in den Blutstrom führt zu einer Aktivierung von Monozyten und ist von einer massiven Freisetzung proinflammatorischer Zytokine gefolgt.

LPS ist eine Zellwand-Komponente gramnegativer Bakterien, die in höchsten Konzentrationen im Dickdarm vorliegen (32). Da LPS der stärkste bekannte Immunaktivator ist, erscheint eine Beteiligung von LPS aus dem Darm an der systemischen Entzündung bei CHI möglich (33,34).

Für diese Hypothese spricht, dass die Blutkonzentration von LPS bei Patienten mit akuter Herzinsuffizienz erhöht ist (35). Auf den intestinalen Ursprung des LPS weist hin, dass die Konzentration von LPS in den Lebervenen höher ist als im linken Ventrikel (36). Zudem sind morphologische und funktionelle Veränderungen des Darmes mit einer Barrierestörung des Darmes bei Patienten mit CHI nachgewiesen (37). In einer Pilotstudie an 10 Patienten ergaben sich darüber hinaus Hinweise, dass LPS nach Re-kompensation und verbesserter Hämodynamik sinkt (35).

1.3.7. Kombination metabolischer, funktionaler und hämodynamischer Faktoren

Stefan D. Anker und Andrew J. S. Coats schlugen als Erste 1996 die Idee eines metabolischen, funktionellen und hämodynamischen Risikostratifizierungsmodells für CHI-Patienten vor (38). Sie unterstrichen, dass die CHI eine Erkrankung ist, die mit verschiedenen sekundären Veränderungen in mannigfachen Organsystemen einhergeht, welche sich gegenseitig beeinflussen und mit der Zeit verändern. Daher regten sie an, verschiedene prognostische Parameter aus den unterschiedlichen Teilkrankheitsaspekten der CHI in einem Risikostratifizierungsmodell zu vereinen, um deren einzelne prognostische Vorhersagekraft in ein metabolisches, funktionelles und hämodynamisches Vorhersagemodell zu bündeln. Das Ziel war, anhand weniger, sich gegenseitig nicht beeinflussender Parameter, die Risikoabschätzung bei CHI-Patienten multimodal zu gestalten und damit zu verbessern. Im Jahr 2003 stellten Anker et al. ein Risikostratifizierungsmodell vor, welches neben VO_2 als funktionellen und LVEF als hämodynamischen Parameter auch Harnsäure als metabolischen Parameter enthielt (21). In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Harnsäure ein hochprognostischer Parameter zur Risikostratifizierung bei CHI-Patienten ist und dass die multimodale Risikostratifizierung zur Prognose bei CHI-Patienten hochsignifikante Ergebnisse liefert. In diesem Modell ist jedoch als metabolisch-immunologischer Parameter nur Harnsäure, nicht jedoch sTNF-R1 untersucht worden.

1.4 Ziel der Arbeit

Die Herzinsuffizienz wird heute als Multisystemerkrankung verstanden. Neu herausgestellt hat sich im Gegensatz zum früheren, rein hämodynamischen Verständnis der Symptome bei Herzinsuffizienz, der verstärkt untersuchte Einfluss des metabolisch-inflammatorischen Systems. Ein Beispiel hierfür ist, dass eine reduzierte Blutversorgung des Intestinums Darmischämie auslösen, die Darmbarriere-Funktion somit verändern und zu einer Einschwemmung von bakteriellem Endotoxin/LPS aus dem Darm in die Blutzirkulation mit resultierender systemischer Entzündung führen kann.

Die vorliegende Arbeit soll in Anlehnung an diese Hypothese im ersten Teil die Frage untersuchen, ob die höheren Serumkonzentrationen von LPS bei Patienten mit öde-

matöser Dekompensation mit löslichen Entzündungsmarkern wie sTNF-R1 assoziiert sind.

Der Einschluss zunächst von inflammatorischen Faktoren wie sTNF-R1 und später auch Harnsäure in prognostische Modelle neben den angestammten hämodynamischen und funktionellen Parametern konnte das Patientenüberleben bereits besser vorhersagen. Jedoch sind Harnsäure und auch löslicher sTNF-R1 als Vertreter der immunologischen Aktivierung in verschiedenen Studien und nicht gemeinsam in einem Modell untersucht worden. Da Harnsäure jedoch als ein Surrogatparameter der inflammatorischen Aktivierung diskutiert wird, untersucht die vorliegende Arbeit im zweiten Teil in einer zweiten größeren Patientenkohorte, ob sTNF-R1 auch nach Einschluss von Harnsäure eine prognostische Relevanz behält.

Im Folgenden wird daher die prognostische Relevanz der Parameter Harnsäure und sTNF-R1 sowohl univariat in Einzelbetrachtungen als auch multivariat in verschiedenen Kombinationen mit den funktionellen Parametern NYHA-Klasse und VO_2 als auch mit dem hämodynamischen Parameter LVEF untersucht. Diese verschiedenen Parameterkombinationen werden in Risikostratifizierungsmodellen auf ihre prognostische Relevanz getestet und es werden jene Parameterkombinationen vorgestellt, welche in der zweiten Patientenkohorte die höchste Signifikanz im Bezug zum 24-Monats-Überleben haben.

2 Methodik

2.1 Studiendesign

Als Grundlage dieser Arbeit wurden Untersuchungen in zwei Studien mit jeweils einer Patientenkohorte durchgeführt. In der ersten Studie wurden jeweils prospektiv im Rahmen einer Querschnittsstudie 20 CHI-Patienten acht gesunden Kontrollprobanden gegenübergestellt. Die zweite Kohorte bestand aus 114 CHI-Patienten, die ursprünglich für ein longitudinales metabolisches Studienprogramm prospektiv rekrutiert worden waren. Fokus war die Analyse der prognostischen Relevanz von metabolischen, funktionellen und hämodynamischen Parametern. Diese Patientendaten wurden im Rahmen dieser Arbeit nun erstmals retrospektiv analysiert. Der prognostische Nutzen dieser Parameter wurde sowohl einzeln als auch additiv und diskriminierend untersucht. Der Endpunkt dieser Studie war das Überleben der Patienten nach 24 Monaten.

2.2 Probandenrekrutierung

Die Studienteilnehmer wurden im Royal Brompton Hospital, in der Klinik für chronische Herzinsuffizienz und Kardiomyopathien, in London (England) rekrutiert. Die zuständige Ethikkommission hatte die Studien genehmigt und alle Probanden hatten nach vorangegangenen Aufklärungsgesprächen ihr Einverständnis zur Teilnahme erklärt.

Die klinische Diagnose der CHI erfolgte anhand einer objektiven Einschränkung der systolischen linksventrikulären Funktion $\leq 40\%$ in der Echokardiographie oder einer Radionuklidventrikulographie sowie bei symptomatischer Leistungsintoleranz über mindestens 6 vorangegangene Monate (39).

2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Bei den Patienten durften keine Krankheiten bestehen, welche prägnant die prognostische Untersuchung der einzelnen Kriterien verfälscht hätten, wie zum Beispiel chronische entzündliche Erkrankungen, Krankheiten der Leber oder auch Hypo- oder Hyperthyreosen, welche direkten Einfluss auf die inflammatorischen oder metabolischen Pa-

parameter hätten haben können. Alle Probanden mussten frei von Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises sein. Die Ein- und Ausschlusskriterien sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien der CHI-Patienten	
Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Alter \geq 18 Jahre	Herzinfarkt in den vorangegangenen 3 Monaten
Stabile chronische Herzinsuffizienz	Hämodynamisch wirksame Herzklappenfehler
NYHA-Klasse (I–IV)	Infektionen in den vorangegangenen 3 Monaten
Stabile Medikation für 3 Monate	Krebserkrankungen oder Immundefekte
	Immunsystemmodulierende Therapien
	Nieren- oder Leberversagen
	Schilddrüsenerkrankungen oder Alkoholismus
Die Kontrollprobanden waren frei von relevanten Erkrankungen und nahmen keine Medikamente ein.	

2.2.2 Patientencharakteristika

In der ersten Studienpopulation hatten von den 20 Patienten 15 Patienten eine ischämisch bedingte und 5 eine idiopathische Genese der chronischen Herzinsuffizienz. Von den 114 Patienten in der zweiten Studie war die Herzinsuffizienz in 71 Fällen ischämischer Genese und in 34 Fällen lag eine dilatative Kardiomyopathie vor. Die NYHA-Stadien verteilten sich NYHA I / II / III / IV mit 0 / 8 / 8 / 4 bzw. 11 / 34 / 54 / 15 Patienten. Alle CHI-Patienten erhielten zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt die optimale evidenzbasierte medikamentöse Therapie.

2.2.3 Nachuntersuchung der Patienten

Die Nachuntersuchungen der Patienten der longitudinalen Studie erfolgten ambulant über Telefonkontakt und durch das Krankenhausinformationssystem.

Vom Büro für Nationale Statistik, wo alle Studienteilnehmer als Teil des Brompton Hospital Registers für CHI gemeldet waren, wurde der Überlebensstatus der Patienten übermittelt.

2.3 Quantifizierung der untersuchten Parameter

Zur Messung der Routineblutparameter wurden die Blutproben bei allen Probanden zwischen 9 und 10 Uhr morgens abgenommen. Vor der Abnahme lagen alle Probanden mindestens 15 Minuten ruhig auf dem Rücken und waren für mindestens 12 Stunden nüchtern. Für die späteren Untersuchungen wurden Plasma- bzw. Serumproben aller Probanden entweder direkt im Labor zur Messung verwendet oder direkt nach dem Zentrifugieren bei minus 80 °C aufbewahrt.

Die Parameter Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnsäure, Leukozyten und Lymphozyten wurden mit Hilfe von Routinelaboruntersuchungen unmittelbar nach der Abnahme bestimmt.

2.3.1 Maximale Sauerstoffaufnahme und NYHA-Stadieneinteilung

Die VO_2 wurde mittels eines Laufbandbelastungstests auf Grundlage eines modifizierten Bruce-Protokolls (40) mit Hilfe eines respiratorischen Massenspektrometers gemessen. Beim Massenspektrometer (Amis 2000, Odense, Dänemark) wurde ein Standard-Inertgas für die Luftverdünnung genutzt und die VO_2 wurde direkt am Computer mit der Fick'schen Methode mittels der inspiratorisch-expiratorischen Sauerstoffdifferenz berechnet. Bei allen Probanden wurde die Laufbandbelastung bis zur subjektiven Erschöpfung durchgeführt.

Die Einteilung der CHI-Patienten in eine der vier NYHA-Klassen erfolgte durch einen Mediziner des Studienklinikums anhand von Standardkriterien (18).

2.3.2. Bestimmung der LVEF

Die LVEF wurde mittels Echokardiographie oder Radionuklidventrikulographie bestimmt (41,42). Bei der Echokardiographie wurde die LVEF mittels der Summationsmethode

nach Simpson ermittelt. Bei der Radionuklidventrikulographie wurden den Patienten zwei Injektionen im Abstand von 30 Minuten gegeben. Bei der verwendeten In-vivo-Methode enthielt die erste Injektion zinnhaltige Ionen, welche sich an zirkulierende Erythrozyten binden. Die zweite Injektion beinhaltete dann das eigentliche Radionukleotid Technetium 99, welches über die Zinnionen Erythrozyten markiert. Mittels einer Gammakamera wurden dann EKG-synchronisiert szintigraphische Aufnahmen von den radioaktiv markierten Erythrozyten für etwa 15 Minuten durchgeführt, wodurch die LVEF bestimmt werden konnte.

2.3.3 Messung von LPS

Zur Messung von LPS wurde das Blut in endotoxinfreie Röhrchen (Endo Tube ET, Chromogenix AB, Schweden) abgenommen und die Quantifizierung der LPS-Konzentration im Plasma erfolgte mittels eines kommerziell erhältlichen Kits (Limulus Amebocyte Lysate QCL-1000 Testset, BioWhittaker Inc., Walkersville, USA). Die normale Konzentration von Endotoxin in diesem Assay in gesunden Probanden ist $< 0,50$ EU/ml. Der Intra-Assay-Variationskoeffizient bei Konzentrationen von 0,35 EU/ml und 0,82 EU/ml beträgt 9,9 % und 9,6 %. Der Inter-Assay-Variationskoeffizient ist 16,8 % und 13,3 %. Für wiederholte Untersuchungen in Proben von nichtödematösen Probanden liegt der Variationskoeffizient bei 10,8 %. Die untere Nachweisgrenze wird mit 0,03 EU/ml angegeben.

2.3.4 Messung von TNF und sTNF-R1

Die Serumkonzentration von TNF wurde mittels ELISA-Kit (Medgenix, Fleurus, Belgien) gemessen. Die Sensitivität liegt bei 3,0 pg/ml.

Die Konzentration von sTNF-R1 wurde ebenfalls mittels ELISA gemessen (Kit R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Die untere Nachweisgrenze hierfür wird vom Hersteller mit 25 pg/ml angegeben.

2.4 Statistik

Zur statistischen Analyse der Daten wurden StatView 5.0 (Abacus Concepts, Berkley, Kalifornien) und MedCalc 9.4 genutzt (MedCalc Software, Mariakerke, Belgien).

In allen durchgeführten statistischen Tests wurden Ergebnisse als signifikant angesehen, wenn der entsprechende p-Wert kleiner als 0,05 war, entsprechend einem 95-Prozent-Signifikanzniveau. Zur Testung auf Normalverteilung der untersuchten Parameter wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test eingesetzt. Nicht normalverteilte Daten wurden logarithmiert, um eine Normalverteilung zu erreichen. Zur Überprüfung der Unabhängigkeit der Parameter untereinander wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson genutzt. ANOVA-Tests mit exaktem Fisher-Test und Student's t-Test wurden zum Vergleich der Ergebnisse genutzt. Alle Ergebnisse sind, soweit nicht anders gekennzeichnet, als Mittelwert zusammen mit der Standardabweichung angegeben.

Univariate Cox-Analysen der verschiedenen Parameter wurden durchgeführt, um eine Assoziation der Parameter mit dem Überleben der Patienten darzustellen. Mit Hilfe der Hazard Ratio wird hier die resultierende Risikoänderung numerisch ausgedrückt. Des Weiteren wurden dabei auch immer von allen Parametern die χ^2 -Werte bestimmt. Unterschiedlich hohe χ^2 -Werte spiegelten eine Möglichkeit wider, weitere Substratifizierungen bei den einzelnen Parametern vorzunehmen. Dies war angebracht, da viele Parameter nicht näher zu bestimmende p-Werte von $< 0,0001$ erreichten und eine Parameterrangfolge aufgrund dieser hohen uniformen p-Werte nicht mehr möglich war. Schließlich wurden multivariate Cox-Analysen durchgeführt. Dabei sollten die Parameter identifiziert werden, welche die größte prognostische Relevanz bezüglich des Überlebens der CHI-Patienten bei verschiedenen Parameterkombinationen besitzen. Auch konnte in diesen multivariaten Analysen eine nun direkte Signifikanzreihenfolge der Parameter in verschiedenen Parameterkombinationen aufgestellt werden. Dies geschah auch wieder abhängig vom jeweiligen p- oder χ^2 -Wert der jeweiligen Parameter.

In der zweiten Patientenkohorte wurden statistische Untersuchungen der einzelnen Parameter und Parameterkombinationen jeweils zu den Zeitpunkten 6, 12, 18 und 24 Monate durchgeführt, wobei aus Gründen der Übersichtlichkeit nur die 12- und 24-Monatsergebnisse in der vorliegenden Arbeit dargestellt sind.

2.4.1 Cox-Regression

Mit Hilfe der Cox-Regression wurde der Einfluss der untersuchten Parameter im Bezug zur Überlebenszeit untersucht. Durch die Hazard-Funktion im Cox-Modell konnte die sogenannte Hazard-Ratio ermittelt werden, wobei der zeitlich konstante Einfluss der einzelnen Risikofaktoren auf die Mortalität für die Berechnungen vorausgesetzt wurde. Die Hazard-Ratio als ermittelter Regressionskoeffizient gibt Aufschluss über die Stärke des Zusammenhangs der untersuchten Parameter zur Mortalität über die Zeit. Im Sinne der Mortalitätsrisikoberechnung kann die Hazard-Ratio als erhöhtes oder vermindertes Mortalitätsrisiko der CHI-Patienten bei Exposition zu einzelnen oder auch mehreren Parametern über den untersuchten Zeitraum angesehen werden.

2.4.2. Grenzwertoptimierungskurve/Receiver Operating Characteristic

Mit Hilfe von Analysen der Grenzwertoptimierungskurve, auch Receiver-Operating-Characteristic-(ROC-)Kurve genannt, wurden dann die ROC-p-Werte und auch die Grenzwerte der einzelnen Parameter bestimmt. Es wurde als Maß der Güte der ROC-Kurvenanalysen die Fläche unter der Kurve (Area under the curve, AUC) berechnet. Es wurden verschiedene uni- und multivariate ROC-Kurvenanalysen durchgeführt, wobei es möglich war, statistisch festzustellen, ob zwischen zwei verschiedenen ROC-Kurvenanalysen ein signifikanter Unterschied im Bezug auf Sensitivität, Spezifität und AUC besteht.

2.4.3. Kaplan-Meier-Berechnungen

Kaplan-Meier-Berechnungen und -Grafiken wurden erstellt, um das Überleben der Patienten darzustellen. Des Weiteren wurden Kaplan-Meier-Berechnungen genutzt, um die Zugehörigkeit von Patienten zu verschiedenen Risikoprofilen anhand von Harnsäure- bzw. sTNF-R1-Gruppen abzubilden.

3 Ergebnisse

3.1 Kohorte 1

In der ersten Kohorte ließ sich in Bezug auf Basisparameter wie Alter, BMI, LVEF, NYHA-Klasse, Natrium- und Kaliumspiegel und Leukozyten als auch systolischen (systol.) sowie diastolischen (diastol.) Blutdruck kein signifikanter Unterschied zwischen CHI-Patienten mit und ohne Ödeme als auch zwischen CHI-Patienten und den gesunden Kontrollprobanden feststellen (siehe Tabelle 3). Bezüglich der Medikation war in der Gruppe der CHI-Patienten zwischen ödematösen und nichtödematösen Patienten kein signifikanter Unterschied festzustellen, wenngleich ein Trend für eine erhöhte Diuretikadosis bei den Patienten mit Ödemen im Vergleich zu jenen ohne Ödeme bestand ($p = 0,06$).

3.1.1 Assoziation von LPS mit dem Ödemstatus

Es konnte gezeigt werden, dass innerhalb der Studienkohorte die ödematösen CHI-Patienten die höchsten LPS-Konzentrationen hatten ($p = 0,0009$, ANOVA-Test). Sieben der zwölf ödematösen CHI-Patienten (58 %) hatten höhere LPS-Konzentrationen als die Kontrollgruppe (> 50 EU/ml), wobei von den nichtödematösen Patienten kein Patient LPS-Konzentrationen von mehr als 0,48 EU/ml zeigte ($p = 0,01$, t-Test).

3.1.2 Assoziation von Entzündungsparametern mit dem Ödemstatus

Die Plasmakonzentrationen von TNF und sTNF-R1 als auch im Trend von sCD14 waren am höchsten bei Patienten mit Ödemen (siehe Tabelle 3). Eine kontinuierliche Steigerung der Plasmalevel dieser pro-inflammatorischen Parameter war jeweils von den gesunden Kontrollprobanden über die nichtödematösen CHI-Patienten bis hin zu den CHI-Patienten mit peripheren Ödemen zu beobachten. IL-6 dagegen diskriminierte nicht signifikant zwischen ödematösen und nichtödematösen CHI-Patienten (siehe Tabelle 3 und Abbildung 1).

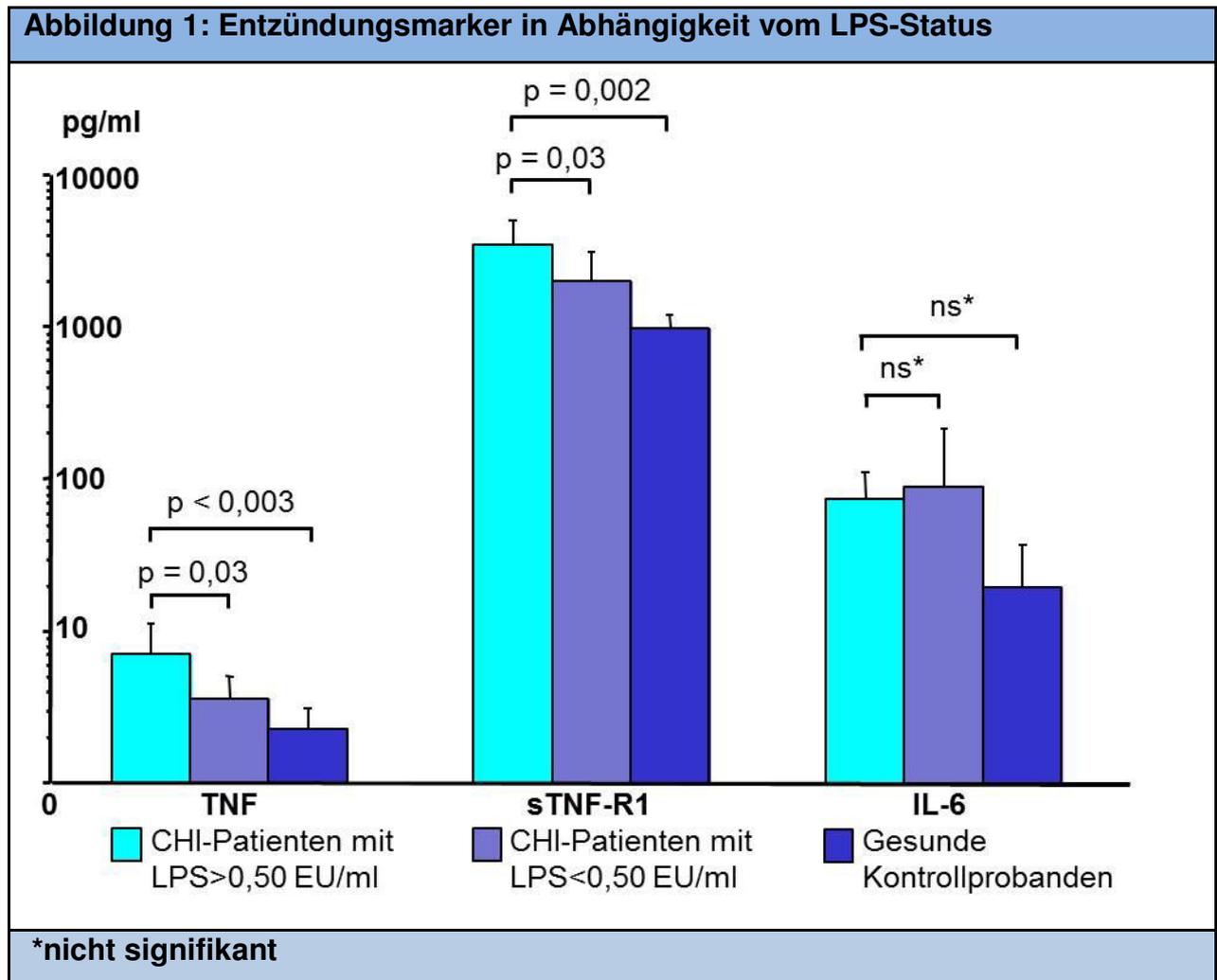
Tabelle 3: Basischarakteristika der Probanden in der ersten Patientenkohorte				
Parameter	ödematöse Patienten (n=12)	ödempfreie Patienten (n=8)	Gesunde (n=8)	p-Wert⁺
Alter der Patienten (Jahre)	71 ± 2	67 ± 4	68 ± 3	0,6
Body-Mass-Index (kg/m ²)	27 ± 2	25 ± 1	25 ± 6	0,5
Systol. Blutdruck (mmHg)	120 ± 23	118 ± 15	136 ± 18	0,2
Diastol. Blutdruck (mmHg)	72 ± 11	65 ± 13	81 ± 9	0,1
Natrium (mmol/l)	137 ± 1	137 ± 1	139 ± 0,9	0,3
Kalium (mmol/l)	4,1 ± 0,4	4,1 ± 0,3	4,5 ± 0,2	0,1
Kreatininclearance (ml/min)	62 ± 8	72 ± 1,8	70 ± 0,9	0,9
Leukozyten (10 ⁶ /μl)	7,1 ± 2,1	6,5 ± 2,4	5,8 ± 1,6	0,4
NYHA-Klasse (I-IV)	2,9 ± 0,2	2,6 ± 0,3		
LVEF (%)	29,5 ± 5	29,5 ± 5		
Harnsäure (mg/dl)	8,6 ± 2,9	6,9 ± 1,9	5,6 ± 0,9	0,05
sTNF-R1 (pg/l)	2,61 ± 0,34 ^{*#}	1,61 ± 0,38	0,97 ± 0,08	0,001
TNF (pg/ml)	4,4 ± 0,5 ^{*#}	3,0 ± 0,4	2,3 ± 0,3	0,007
CD14 (ng/ml)	4103 ± 182	3548 ± 235	3493 ± 142	0,06
IL-6 (pg/ml)	53,8 ± 11,3	118 ± 54	19 ± 6	0,052
Endotoxin (EU/ml)	0,46 ± 0,04 ^{*#}	0,31 ± 0,01	0,37 ± 0,03	0,001
⁺ ANOVA-p-Wert zwischen den 3 Gruppen				
* p < 0,05 vs. Gesunde # p < 0,05 vs. ödemfrei				
Angabe des p-Wertes für Subgruppenvergleiche, wenn der ANOVA-p-Wert < 0,05 war				

3.1.3 Assoziation von LPS mit Entzündungsparametern

Des Weiteren hatten die ödematösen CHI-Patienten mit den erhöhten LPS-Werten (n = 7) > 0,50 EU/ml die höchsten Konzentrationen von TNF (7,0 ± 1,6 vs. 3,1 ± 0,3 pg/ml, p = 0,02) und sTNF-R1 (3,5 ± 0,5 vs. 1,6 ± 0,2 pg/l, p = 0,02).

Patienten mit einem LPS > 0,50 EU/ml hatten signifikant höhere Werte für TNF und sTNF-R1 und damit höhere Entzündungswerte verglichen mit den gesunden Kontrollprobanden (siehe Abbildung 1).

Im Vergleich zwischen CHI-Patienten mit einem und ohne einen LPS > 0,50 EU/ml hatten jene Patienten mit einem LPS > 0,50 EU/ml höhere Inflammationsmarker wie TNF und sTNF-R1 (siehe Abbildung 1).



3.2 Basischarakteristika und Patientenüberleben der zweiten Probandenkohorte

Die Überlebensrate der 114 CHI-Patienten in der zweiten Kohorte betrug nach 12 Monaten 78 % (25 Verstorbene) und nach 24 Monaten 73 % (31 Verstorbene).

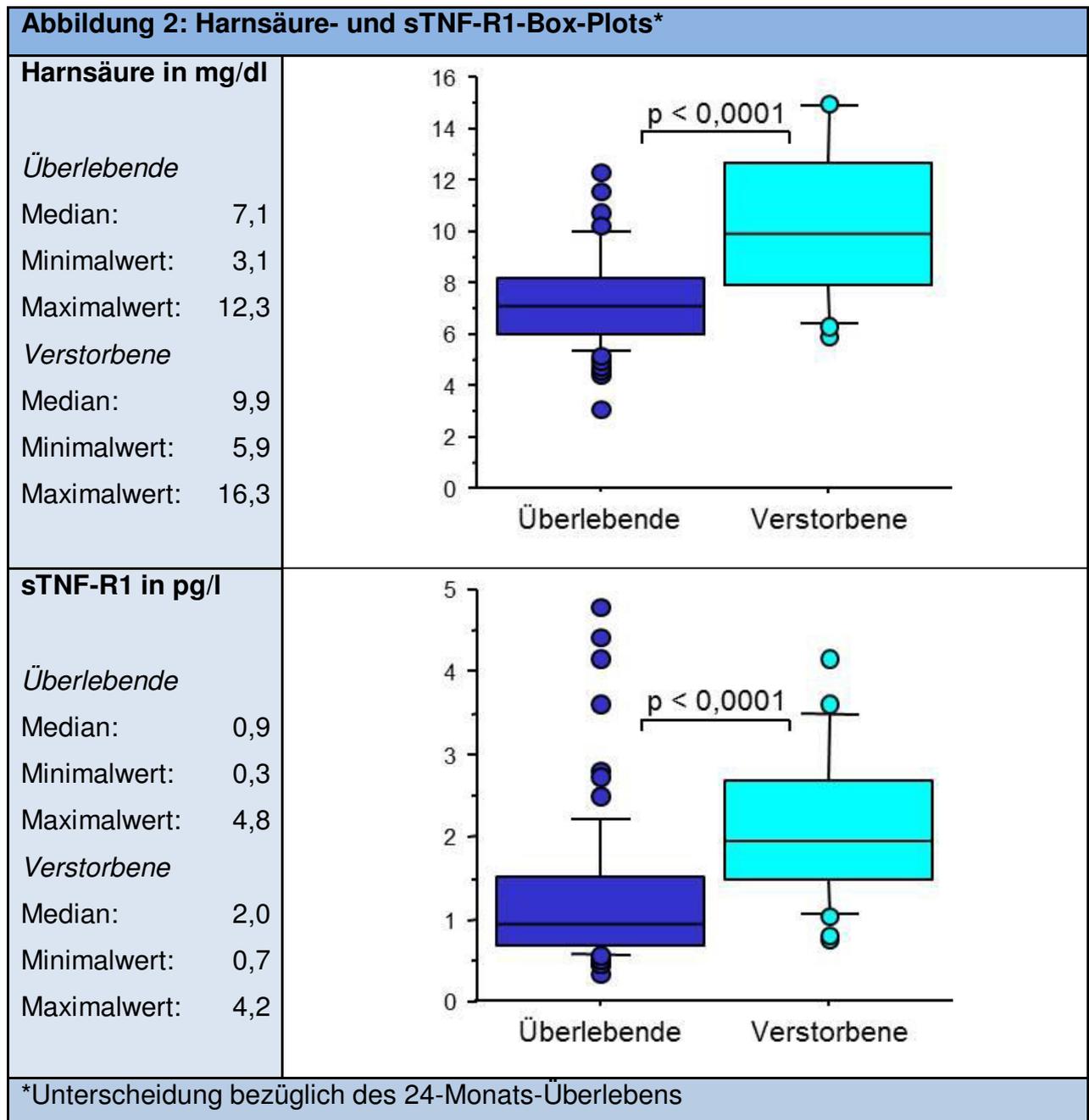
Im Bezug auf Basisparameter wie Alter, Gewicht, BMI, Natrium- und Kaliumblutspiegel unterschieden sich Überlebende und Verstorbene nach einem 24-monatigen Untersuchungszeitraum nicht signifikant voneinander (siehe Tabelle 4).

Von den allgemeinen Basisparametern zeigte die Kreatin clearance der Patienten signifikante Werte im Bezug auf das Überleben der Patienten innerhalb des 24-monatigen Untersuchungszeitraums. Im Bezug auf acht gewählte Medikamentengruppen konnten zwischen Überlebenden und Verstorbenen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Niedrige Werte von VO_2 und LVEF und hohe Werte von sTNF-R1, Harnsäure und der NYHA-Klasse waren mit einer geringeren Überlebensquote assoziiert (siehe Tabelle 4). Erwartungsgemäß war die NYHA-Klasse invers mit der VO_2 korreliert ($p < 0,0001$, $r = 0,62$). Die Parameter Harnsäure, sTNF-R1 sowie VO_2 und LVEF erreichten statistisch signifikante Werte bei der Unterscheidung des Überlebensstatus der Patienten für 12 und 24 Monate (siehe Tabelle 4, 12-Monats-p-Werte nicht dargestellt).

Tabelle 4: Basischarakteristika der Patienten in der zweiten Kohorte⁺				
Parameter	Kohorte (n=114)	Überlebende (n = 83)	Verstorbene (n = 31)	p- Wert*
Alter der Patienten (Jahre)	63,0 ± 1,0	65,7 ± 1,7	61,5 ± 1,2	0,06
Body Mass Index (kg/m ²)	24,8 ± 0,4	23,6 ± 0,7	25,3 ± 0,5	0,07
Systol. Blutdruck (mmHg)	118 ± 19	118 ± 18	118 ± 22	0,9
Diastol. Blutdruck (mmHg)	73 ± 12	74 ± 11	73 ± 13	0,8
Natrium (mmol/l)	137 ± 0,3	136 ± 0,8	137 ± 0,3	0,1
Kalium (mmol/l)	4,00 ± 0,1	4,01 ± 0,1	4,00 ± 0,1	0,9
Kreatin clearance (ml/min)	64,8 ± 0,5	71,5 ± 3,6	46,7 ± 3,8	0,0002
Leukozyten (10 ⁶ /μl)	6,9 ± 0,2	6,7 ± 0,2	6,7 ± 0,4	0,6
NYHA-Klasse (I-IV)	2,64 ± 0,8	2,42 ± 0,1	3,23 ± 0,1	0,0001
LVEF (%)	29,0 ± 1,0	20,1 ± 2,0	32,5 ± 1,6	0,0001
Harnsäure (mg/dl)	8,12 ± 2,6	7,34 ± 1,8	10,34 ± 2,9	0,0001
sTNF-R1 (pg/l)	1,50 ± 0,1	1,27 ± 0,1	2,11 ± 0,2	0,0001
VO_2 (ml/min/kg)	17,0 ± 0,6	11,8 ± 0,7	18,6 ± 0,7	0,0001
⁺ Unterteilung in Überlebende und Verstorbene nach 24 Monaten				
*p-Werte wurden jeweils zwischen Überlebenden und Verstorbenen berechnet				

3.3 Box-Plot-Einzelparameterbetrachtungen für Harnsäure und sTNF-R1

Nachdem allgemeine Aussagen über die Zusammensetzung der Patientenkohorte gemacht wurden und die prognostische Signifikanzbestimmung der untersuchten Parameter erfolgte, schließt sich hier ein detaillierter Vergleich in Box-Plots von Harnsäure- und sTNF-R1-Werten Überlebender und Verstorbener nach 24 Monaten an (siehe Abbildung 2).



3.4 Cox-Analyse-Ergebnisse

Bei der univariaten Analyse aller Parameter erreichte Harnsäure die stärkste Signifikanz gemessen am p- und χ^2 -Wert (siehe Tabelle 5). Harnsäure stellte sich hier als der stärkste metabolische Parameter dar, welche sogar höhere Signifikanzwerte als die funktionellen Parameter VO_2 und NYHA-Klasse sowie der hämodynamische Parameter LVEF erzielte (siehe Tabelle 5). Insgesamt etablierte sich in dieser Untersuchung damit Harnsäure als der stärkste Einzelprädiktor des Überlebens überhaupt.

Die höchste Hazard-Ratio – und damit die höchste Risikowahrscheinlichkeit der Patienten zu versterben – lag mit 3,32 bei Erhöhung der NYHA-Klasse vor.

3.4.1 Multivariate COX-Analysen

Die erste multivariate Untersuchung wurde für Harnsäure und sTNF-R1 durchgeführt. In dieser Untersuchung bestätigten sich die Ergebnisse der univariaten Analyse, da sich Harnsäure wieder als der stärkste metabolische Parameter zeigte, auf welchen dann sTNF-R1 folgte.

Im nächsten Schritt wurde die diagnostische Aussagekraft und statistische Signifikanz der Parameter Harnsäure und sTNF-R1 gegen die etablierten, funktionellen und hämodynamischen Parameter VO_2 , NYHA-Klasse und LVEF überprüft.

Im direkten Vergleich von Harnsäure und sTNF-R1 und der LVEF in einem multivariaten Modell erreichten die metabolischen Parameter Harnsäure und sTNF-R1 höhere p- und χ^2 -Werte als die LVEF. In einer ähnlichen Untersuchung zur Vorhersagekraft dieser drei Faktoren in Bezug auf das 24-Monats-Überleben wurden dann die Grenzwerte eingesetzt, welche vorher in ROC-Kurvenanalysen gefunden wurden. Wieder erreichte Harnsäure bessere Ergebnisse als sTNF-R1 und LVEF.

Auf ähnliche Weise wurden dann die Harnsäure und sTNF-R1 gegen die VO_2 getestet, wobei Harnsäure ähnlich gute prognostische Vorhersagekraft im direkten Vergleich und auch additiv zu VO_2 in der Cox-Analyse hatte (siehe Tabelle 5).

Im multivariaten Cox-Test gegen die NYHA-Klasse als zweiten funktionellen Parameter neben der VO_2 erreichten Harnsäure und sTNF-R1 die größere prognostische Vorhersagekraft als die NYHA-Klasse (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Cox-Analysen der Parameter zur 24-Monats-Überlebensrate				
Parameter	Hazard-Ratio	p-Wert	X ²	Gesamt X ²
Univariat				
Harnsäure (mg/dl)	1,42 (1,29–1,65)	0,0001	36,7	
VO ₂ (ml/min/kg)	0,74 (0,67–0,83)	0,0001	27,3	
NYHA-Klasse (I-IV)	3,32 (1,95–5,45)	0,0001	20,3	
sTNF-R1 (pg/l)	1,77 (1,37–2,30)	0,0001	18,6	
LVEF (%)	0,94 (0,91–0,97)	0,0002	13,9	
Multivariat				
Harnsäure (mg/dl)	1,39 (1,22–1,58)	0,0001	26,4	41,0
sTNF-R1 (pg/l)	1,60 (1,16–2,21)	0,005	8,1	
Multivariat				
Harnsäure (mg/dl)	1,32 (1,17–1,50)	0,0001	20,0	47,7
sTNF-R1 (pg/l)	2,10 (1,50–2,93)	0,0001	18,6	
LVEF (%)	0,94 (0,91–0,97)	0,0003	13,4	
Multivariat				
VO ₂ (ml/min/kg)	0,80 (0,71–0,90)	0,0001	14,9	44,1
Harnsäure (mg/dl)	1,25 (1,09–1,42)	0,001	10,7	
sTNF-R1 (pg/l)	1,51 (1,00–2,27)	0,049	3,9	
Multivariat				
Harnsäure (mg/dl)	1,27 (1,11–1,46)	0,0007	11,6	45,0
sTNF-R1 (pg/l)	1,66 (1,18–2,34)	0,004	8,4	
NYHA-Klasse (I-IV)	2,27 (1,28–4,04)	0,005	7,8	
Variablen sind nach ihrem höchsten x ² -Wert angeordnet				

3.5 ROC-Kurvenanalysen

Im ersten Schritt wurden die ROC-p-Werte und Grenzwerte der einzelnen Parameter bestimmt, welche auf einer ROC-Kurve den Punkt mit der gemeinsamen höchsten Sensitivität und Spezifität widerspiegeln.

Auch bei der ROC-Kurvenanalyse ergaben die Parameter VO₂, LVEF, NYHA-Klasse, Harnsäure und sTNF-R1 hochsignifikante p-Werte (siehe Tabelle 6).

3.5.1 Univariate ROC-Kurvenanalysen

Den besten Grenzwert, im Sinne der größten AUC und damit der meisten erfassten Patienten, erreichte die VO₂ mit einem Grenzwert von < 14 (ml/min/kg) und einer AUC von 0,83 (für weitere Grenzwerte siehe Tabelle 6). Ähnlich gute Werte, im Sinne einer hohen AUC, wurden auch von Harnsäure und sTNF-R1 mit AUCs von jeweils 0,80 erreicht. Von den untersuchten Parametern erreichte die sTNF-R1 die höchste Spezifität in der CHI-Kohorte. Harnsäure zeigte hingegen die höchste Sensitivität in der Patientenkohorte bei den 12- und 24-Monats-Untersuchungen (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: ROC-Statistiken der Parameter auf Basis des 24-Monats-Überlebens					
Parameter*	Grenzwert	AUC	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	p-Wert
VO ₂ (ml/min/kg)	≤14	0,83	67,5	87,1	0,0001
Harnsäure (mg/dl)	≥9,5	0,80	89,0	61,3	0,0001
sTNF-R1 (pg/l)	>1,02	0,80	57,8	93,5	0,0001
NYHA-Klasse (I-IV)	≥3	0,76	50,6	90,3	0,0001
LVEF (%)	<22	0,75	71,0	75,9	0,0001

*In der Tabelle sind die untersuchten Parameter absteigend nach der AUC angeordnet

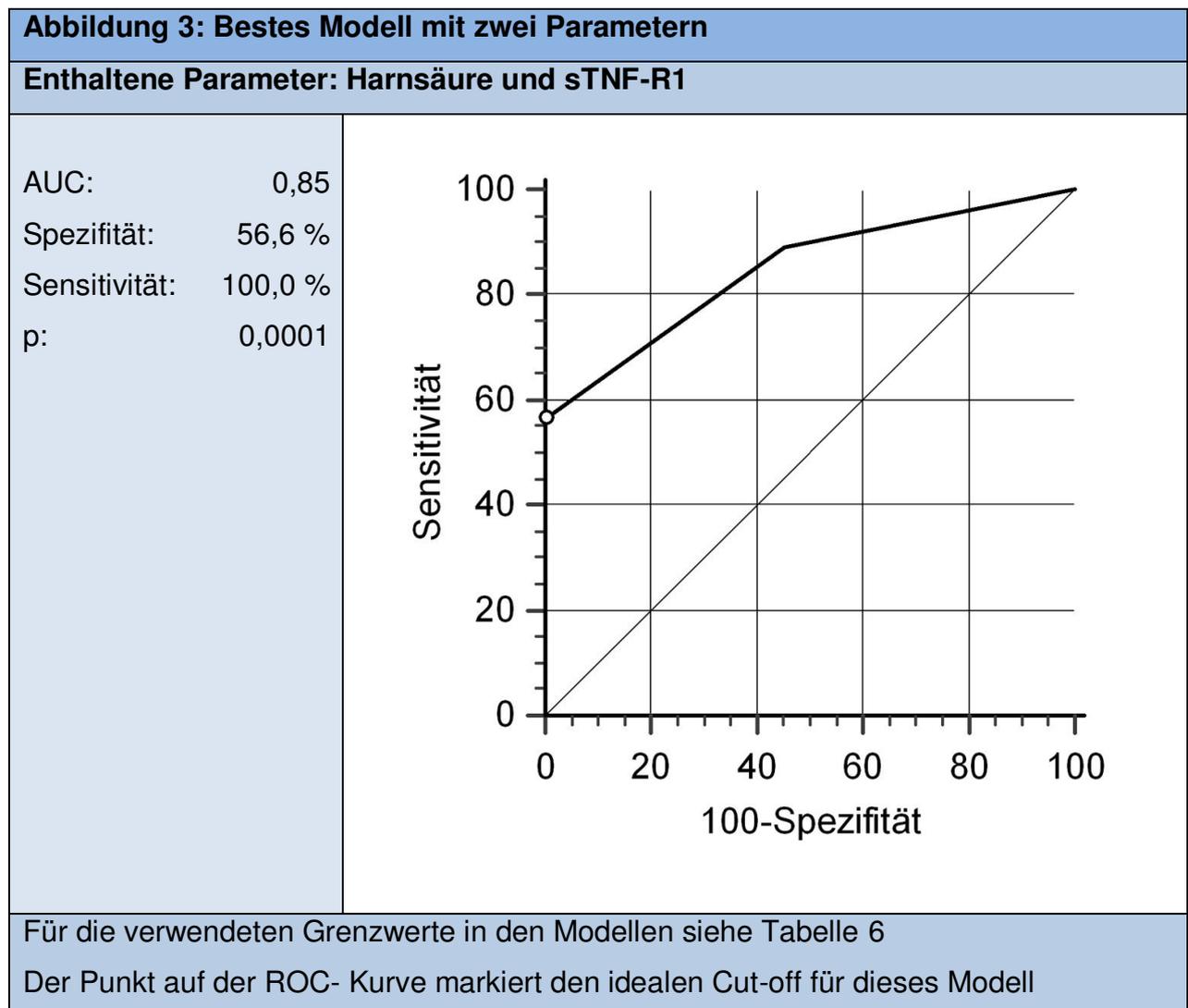
3.5.2 Multivariate ROC-Risikobewertung

Nachdem Grenzwerte für die Parameter mittels einzelner ROC-Untersuchungen bestimmt wurden, konnten diese für ROC-Statistiken genutzt werden, um die kombinierte Aussagekraft mehrerer Parameter in einem Risikobewertungsmodell abzuwägen.

Im ersten Schritt wurde die prognostische Relevanz von Harnsäure und sTNF-R1 in einem kombinierten ROC-Modell untersucht (siehe Abbildung 3). Dieses Modell zeichnete sich durch eine sehr hohe statistische Signifikanz und eine große AUC aus, welche mehr Patienten einschloss, als dies bei ROC-Einzeluntersuchungen der Parameter der Fall war (siehe Tabelle 6). Dieses Modell stellte sich bei weiteren ROC-Untersuchungen auch als jene Kombination von zwei Untersuchungsparametern dar, welche im Sinne der größten AUC die meisten Patienten überhaupt einschließt.

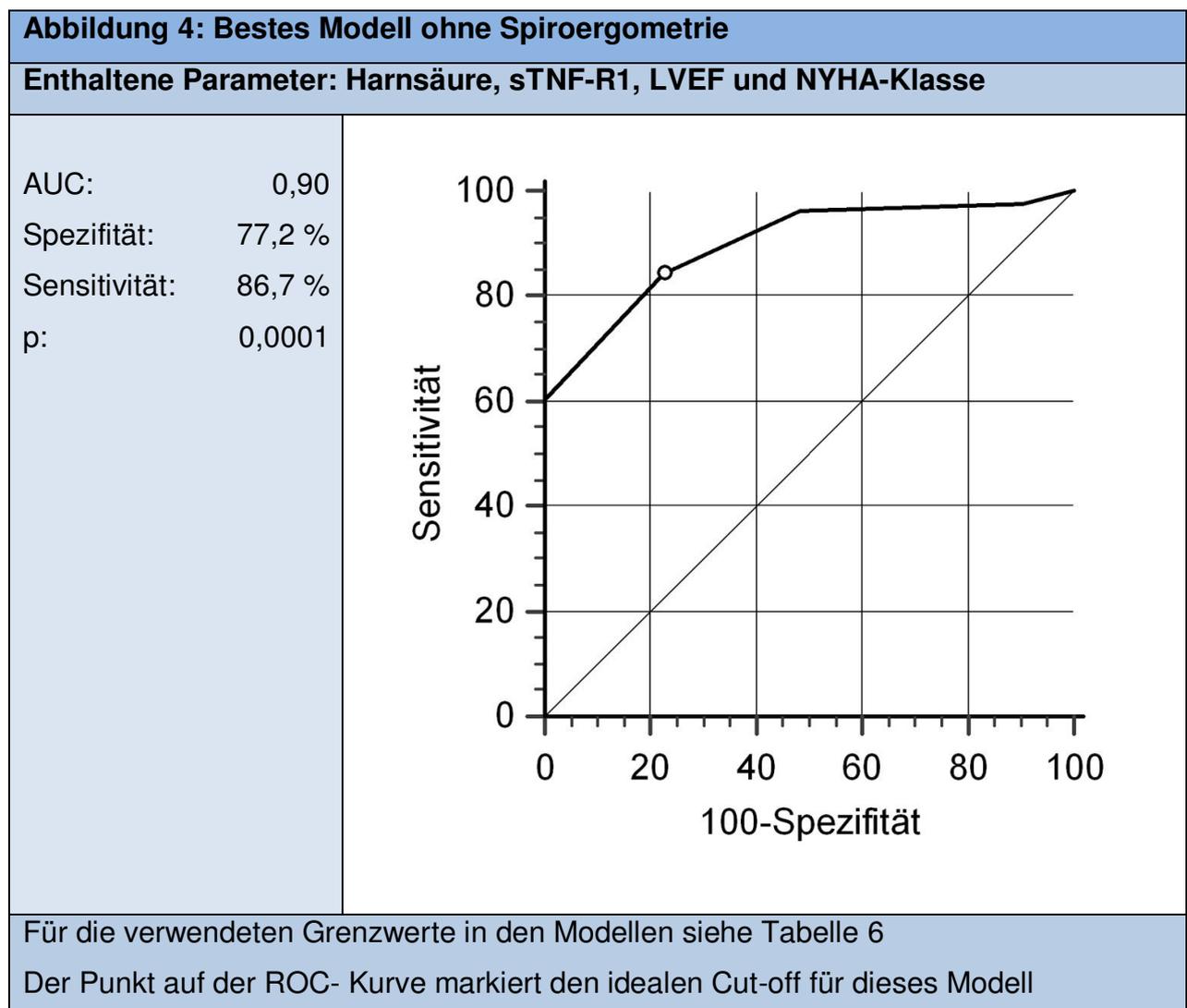
Statistisch hoch signifikante Ergebnisse wurden auch bei der Verwendung der drei etablierten CHI-Parameter VO_2 , LVEF und NYHA-Klasse in einem ROC-Modell zusammen erzielt (AUC 84,1 %, Spez. 67,5 %, Sens. 93,5 %; $p = 0,0001$)

Im folgenden Schritt wurde das Modell aus Harnsäure und sTNF-R1 in einem direkten Vergleich den etablierten CHI-Faktoren (VO_2 , LVEF und NYHA-Klasse) gegenübergestellt. Dabei erzielte das Zweier-Modell aus Harnsäure und sTNF-R1 eine etwas größere AUC als das Dreier-ROC-Modell der etablierten Faktoren. Der p-Wert zur Unterscheidung, ob ein Modell in der klinischen Anwendung dem anderen vorzuziehen ist, lag bei $p = 0,4$, womit sich hier statistisch bei der Frage, welche Parameterkombination prognostisch überlegen ist, kein Unterschied ergibt.



3.5.3 Bestes ROC-Risikobewertungsmodell in der Studie

Als das beste ROC-Risikostratifizierungsmodell in dieser Studie im Sinne der größten eingeschlossenen AUC, Sensitivität und Spezifität stellte sich schließlich die Viererkombination von Harnsäure, sTNF-R1, LVEF und VO₂ heraus (AUC 0,91, Spez. 90,4 %, Sens. 74,2 %; p = 0,0001). Auch bei Ersetzen der VO₂ durch die NYHA-Klasse wurden ähnlich gute Ergebnisse wie mit dem oben genannten Modell erzielt. Vor allem im Sinne einer einfachen klinischen Anwendung ohne weitere apparative Diagnostik, wie Spiroergometrie, stellt das ROC-Modell aus Abbildung 4 das anwendbarste und praktikierbarste Modell dar. Der klinisch nur apparativ zu erlangende und damit relativ schwer zu erhebende Parameter VO₂ konnte durch den klinisch bei jeder Eingangsanamnese leicht zu erhebenden Parameter NYHA-Klasse ersetzt werden.



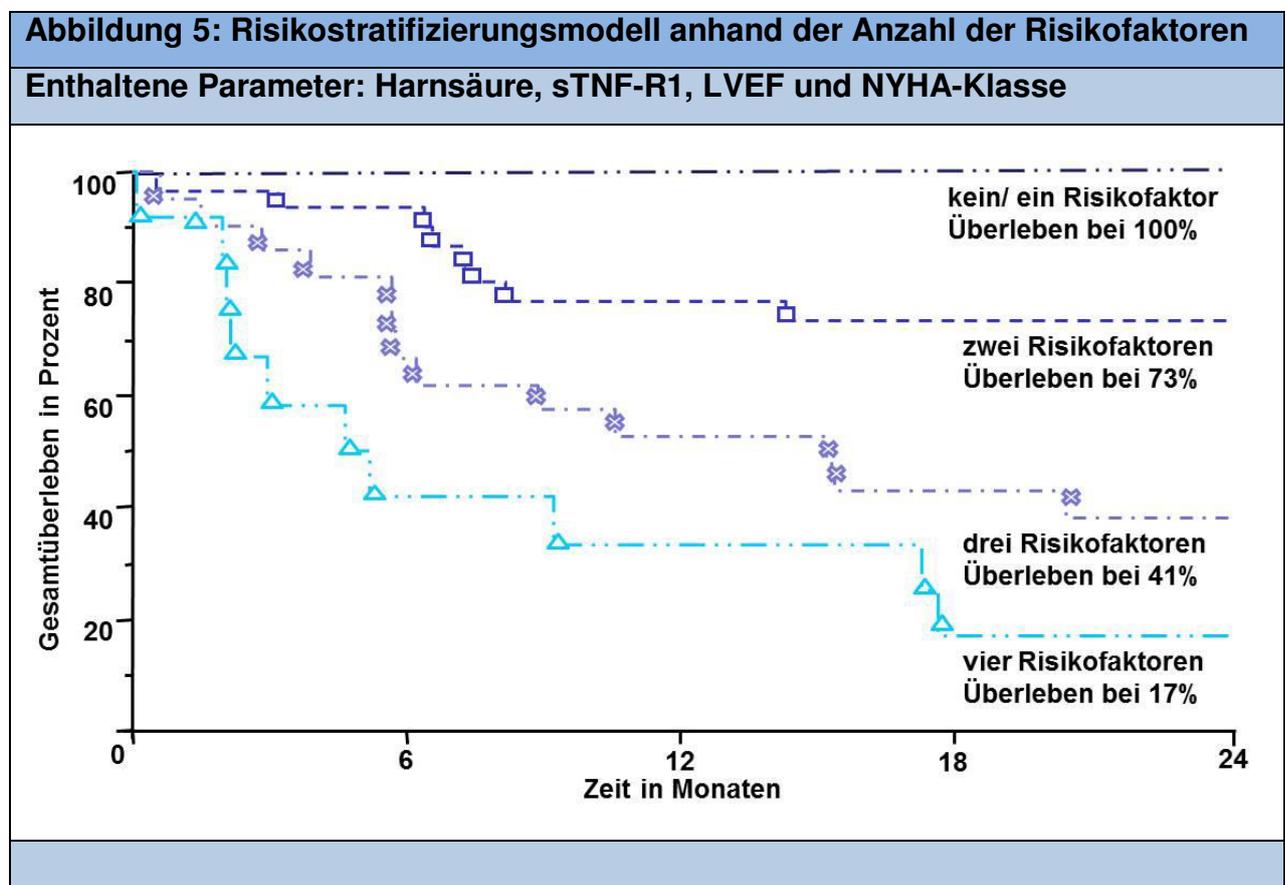
Für die verwendeten Grenzwerte in den Modellen siehe Tabelle 6

Der Punkt auf der ROC- Kurve markiert den idealen Cut-off für dieses Modell

3.6 Kaplan-Meier-Grafik

In einer Kaplan-Meier-Grafik, welche das Modell aus den Parametern Harnsäure, sTNF-R1, LVEF und NYHA-Klasse beinhaltet, konnte grafisch die Aufteilung der Patientenkohorte in verschiedene Risikogruppen gezeigt werden (siehe Abbildung 5). Mit Hilfe der vier enthaltenen Parameter konnten vier verschiedene Risikogruppen ermittelt werden, mit denen die Zuordnung der Patienten zu einer bezüglich der Mortalität sehr niedrigen Personengruppe bis hin zu einer Hochrisikogruppe möglich ist.

Mit diesem Modell konnte praktisch durchgängig eine Überlebensreduktion um ca. 25 bis 30 %, in Abhängigkeit der Anzahl der einzelnen Risikofaktoren, beobachtet werden. So verfügt die Patientengruppe, welche die niedrigste Mortalität besitzt (n = 30) über keinen bzw. einen Risikofaktor und erreicht eine Überlebensrate von 100 %. Bei der folgenden zweiten Patientengruppe mit zwei Risikofaktoren (n = 26) konnte eine Reduktion der Überlebensraten um 27 % beobachtet werden. Des Weiteren hatte die Patientengruppe mit drei Risikofaktoren (n = 22) eine Überlebensrate von 41 % und die Patientengruppe, welche alle vier Risikofaktoren einschloss (n = 10), hatte eine Überlebensrate von 17 %.



4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit zeigt in der ersten Studienkohorte eine signifikant höhere Blutkonzentration an LPS bei ödematös dekompensierten CHI-Patienten als bei herzinsuffizienten Patienten ohne Ödeme und gesunden Kontrollprobanden. Dies weist auf eine mögliche pathophysiologische Assoziation zwischen Kongestion, verminderter intestinaler Barrierefunktion und translozierendem LPS bei CHI-Patienten hin.

Die erhöhten LPS-Konzentrationen im Blut der Patienten waren eng assoziiert mit den systemischen Inflammationsmarkern TNF und sTNF-R1. Dies weist auf die Bedeutung von Inflammationsmarkern wie sTNF-R1 als mögliche Indikatoren einer Mangeldurchblutung am Darm hin. Weiterhin waren TNF und sTNF-R1 bei Patienten mit Ödemen im Vergleich zu Patienten ohne Ödeme und Kontrollprobanden erhöht. Ein möglicher Zusammenhang zwischen TNF-Erhöhungen und der Schwere der CHI im Sinne einer ödematösen Dekompensation kann vermutet werden.

In der zweiten Kohorte von 114 Patienten stellten sich, auch nach Integration von metabolisch-inflammatorischen Parametern wie sTNF-R1 und Harnsäure in ein gemeinsames multivariates Modell zum Patientenüberleben, der Entzündungsmarker sTNF-R1 und Harnsäure selbständig Prognose-assoziiert dar.

Die dargestellten Ergebnisse der multivariaten Analyse weisen damit darauf hin, dass die prognostische Korrelation erhöhter sTNF-R1-Werte mit dem Patientenüberleben nicht allein in erhöhten Harnsäurewerten fassbar ist. Dies mag daran liegen, dass Harnsäure neben der Rolle als Surrogatparameter bei Entzündungen auch zusätzlichen weiteren Faktoren unterliegt, die die Serumkonzentration beeinflussen.

Im multivariaten Modell konnten Harnsäure und sTNF-R1 additiv und unabhängig voneinander sowie von den etablierten Prognosefaktoren als Mortalitätsmarker in einem gemeinsamen Risikostratifizierungsmodell herausgestellt werden.

Es war möglich, mit dem Vier-Faktoren-Modell aus sTNF-R1, Harnsäure, LVEF und der NYHA-Klasse ein hochprognostisches Risikostratifizierungsmodell für die zugrundeliegende Patientenkohorte zu erstellen. In diesem Modell, war in Abhängigkeit von der Anzahl der Risikofaktoren, eine graduelle Zunahme des Mortalitätsrisikos zu verzeichnen.

4.2 Einfluss der LVEF als hämodynamischer Faktor bei CHI

Wenngleich die LVEF mehrfach in verschiedenen Studien validiert ist, existieren uneinheitliche Angaben über das Ausmaß der Risikoprädiktion (43).

In der zweiten Studienkohorte der vorliegenden Arbeit war der prädiktive Wert der LVEF sehr viel geringer als der von VO_2 und sTNF-R1 oder Harnsäure.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen die Auffassung, dass die LVEF in Ruhe nicht komplett die mögliche dynamische Anpassungsantwort auf körperliche Belastung reflektiert und daher möglicherweise in der prognostischen Aussagekraft limitiert ist.

4.3 Funktionelle Aspekte der CHI anhand von VO_2 und NYHA-Klasse

Innerhalb der zweiten Patientenkohorte zeigte sich die VO_2 in univariaten Analysen als der stärkste Einzelparameter zur Abschätzung der 24-Monats-Mortalität, wobei auch in verschiedenen internationalen Studien die VO_2 als ein hochsignifikanter Parameter zur Vorhersage der Mortalität bei CHI-Patienten zur Darstellung kommt (10). Limitierend bei der VO_2 ist, dass die Spiroergometrie häufig bei initialen Patientenuntersuchungen nicht überall zur Verfügung steht und VO_2 auch relativ aufwendig und zeitintensiv zu bestimmen ist. In der vorliegenden Arbeit konnte die VO_2 in multivariaten ROC-Kurvenanalysen durch die NYHA-Klasse, bei gleichbleibender statistischer Signifikanz, ersetzt werden. Das Ergebnis war ein Vier-Parameter-Modell aus Harnsäure, sTNF-R1, NYHA-Klasse und LVEF, welches eine ähnlich gute prognostische Aussagekraft erreicht wie ein alternatives Modell, welches die drei erstgenannten Faktoren und VO_2 beinhaltet. Wenngleich dieses Ergebnis an größeren Patientenkollektiven sicher validiert werden muss, deutet es doch auf eine mögliche zukünftige Option hin, die aufwendige Messung der VO_2 , die bei der Eingangsrisikoabschätzung von Patienten nicht überall vorgenommen werden kann, zu ersetzen. Die NYHA-Klasse dagegen ist ein sehr einfach zu erhebender Parameter und die Verwendung des hier vorgeschlagenen Modells könnte praktische Vorteile bringen.

4.4 Pathophysiologie der Harnsäure bei CHI

Die möglichen Mechanismen einer kardiovaskulären Wirkung von Harnsäure sind viel diskutiert. Wie aus Tierversuchen bekannt ist, erhöht Harnsäure die Konzentration von Angiotensin II in den Gefäßen sowie die Expression von Renin. Auch beim Menschen ist eine Hyperurikämie mit erhöhten Reninwerten assoziiert (44). Dies könnte erklären, weshalb eine Hyperurikämie mit einem gestörten peripheren Blutfluss und einer reduzierten vasodilatatorischen Kapazität assoziiert ist, welche eng mit der Belastungsintoleranz bei Herzschwäche verbunden sind (45).

Zusätzlich ist für Harnsäure eine entzündungsaktivierende Wirkung beschrieben (46). Damit kann eine bestehende Hyperurikämie über eine Tumornekrosefaktor-vermittelte Einschränkung der myokardialen Kontraktilität die Herzinsuffizienz verschlechtern.

Generell kommen verschiedene potenzielle Mechanismen in Betracht, um die erhöhten Harnsäurespiegel bei CHI-Patienten zu erklären. Dies kann auf eine erhöhte Bildung, eine verminderte Ausscheidung oder einen verminderten Abbau sowie auf eine Kombination dieser Faktoren zurückzuführen sein (47). So kann die vermehrte Harnsäurebildung durch die Ernährung bedingt sein. Eine purinreiche, aber auch eine sehr fruktosereiche Kost kann den Harnsäurespiegel erhöhen (48). Ferner kann es über die vermehrte Aufnahme von Nährstoffen allgemein und insbesondere von gesättigten Fettsäuren durch die Nahrung zu einer Aktivierung des entzündungssteigernden Toll-like-Rezeptors 4 und damit zu einer Erhöhung des Harnsäurespiegels kommen (49, 50). Auch LPS (z. B. aus dem Darm) sowie Harnsäure selbst können diesen Toll-like-Rezeptor 4 aktivieren und damit eine Entzündung anstoßen und sogar unterhalten (49, 50).

Ferner ist die der Harnsäureerhöhung zugrundeliegende Aktivität des Enzyms Xanthinoxidase auch durch Mechanismen wie Zellapoptose induzierbar. Zelluntergänge können bei CHI-Patienten mit Gewichtsverlust einhergehen, was in ausgeprägten Fällen zu einer sogenannten kardialen Kachexie mit verschlechterter Prognose führen kann (51). Tatsächlich sind erhöhte Harnsäure-Werte bei CHI-Patienten mit kardialer Kachexie nachgewiesen worden (52). Damit ist die Entstehung eines circulus vitiosus möglich, da Apoptose sowohl im Rahmen von entzündlichen Prozessen sekundär auftritt, aber auch primär Entzündungsprozesse anstoßen kann.

Obwohl die Leber die Hauptquelle von Harnsäure ist, trägt auch das Endothel sowie im Herzen das kapilläre Endothel (53) zur Harnsäureproduktion bei. Bei fortgeschrittener

Herzinsuffizienz entsteht durch Gewebehypoxie ein erhöhter Harnsäurespiegel, da hypoxiebedingtes Lactat Harnsäure am Anionen-Austauscher auch in der gesunden Niere im proximalen Tubulus verdrängt und somit die renale Harnsäuresekretion einschränkt (54).

Wenngleich somit erhöhte Harnsäurespiegel bei CHI-Patienten auch unabhängig von der Nierenfunktion auftreten und prognostisch sind (20), so kann zusätzlich eine eingeschränkte Nierenfunktion über eine weiter verminderte Sekretion von Harnsäure zu erhöhten Harnsäurespiegeln beitragen. All diese geschilderten Faktoren können die im Rahmen von Entzündungen vermehrt entstehende Harnsäure im Metabolismus zusätzlich erhöhen.

4.5 Pathophysiologie der TNF-Superfamilie und LPS bei CHI

TNF und seine Rezeptoren haben Einfluss auf eine Reihe von pathologischen Prozessen, welche in Verdacht stehen, wichtige Faktoren für die Progredienz der CHI zu sein. Hohe Zytokinkonzentrationen im Blut, wie auch erhöhte Parameter aus der Tumornekrosefaktor-Superfamilie, führen zur Aktivierung von Matrix-Metalloproteinen, welche die Zellmatrix verändern und das kardiale Remodeling verstärken (55). Auch die direkte schädigende Wirkung von TNF auf das Herz konnte bewiesen werden (56). In Studien konnte gezeigt werden, dass CHI-Patienten gegenüber gesunden Kontrollgruppen erhöhte TNF- und sTNF-R1-Werte im Blut haben und dass innerhalb der Tumornekrosefaktor-Superfamilie sTNF-R1 eine höhere prognostische Vorhersagekraft als TNF, CD14 und IL-6 bezüglich der 24-Monats-Mortalität hat. Dabei war sTNF-R1 unabhängig von anderen etablierten Faktoren der Herzinsuffizienz wie NYHA-Klasse, VO_2 und der LVEF. Es wurde damals vermutet, dass sTNF-R1 am Besten geeignet ist, um als Einzelparameter die immunologischen Veränderungen bei CHI-Patienten darzustellen (57). In der vorliegenden Arbeit konnten in der ersten Patientenkohorte bei CHI-Patienten mit ödematöser Dekompensation erhöhte LPS-Spiegel sowie TNF- und sTNF-R1-Werte festgestellt werden. Es war ein gradueller Anstieg dieser vier Entzündungsparameter von den gesunden Kontrollprobanden über die CHI-Patienten ohne Ödeme bis hin zu den CHI-Patienten mit Ödemen festzustellen. Eine verschlechterte periphere Durchblutung mit konsekutiven Ödemen steht auch im Verdacht, die Darmbarrierefunktion zu beeinträchtigen und eine LPS-Einschwemmung durch den Darm zu begünstigen. Das

vermehrt translozierte LPS würde damit die erhöhten Werte für TNF und sTNF-R1 erklären und eine mögliche Ursache für die erhöhten Entzündungswerte darstellen, welche bei der CHI beobachtet werden.

Darüber hinaus bestehen im Mausmodell Hinweise auf eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber LPS mit erhöhter TNF-Produktion nach Infusion von Harnsäure, womit eine direkte Assoziation zwischen der Tumornekrosefaktor-Superfamilie und Harnsäure zu vermuten ist (58). Damit ist ein zweiter *circulus vitiosus* zwischen Harnsäureerhöhung und sich unterhaltender Inflammation mit erhöhten Werten aus der Tumornekrosefaktor-Superfamilie gegeben.

4.6 Mögliche Faktoren einer Prognoseverbesserung bei CHI-Patienten

Es wurde festgestellt, dass in den untersuchten Studienkohorten erhöhte LPS-Spiegel sowie erhöhte Werte von TNF und sTNF-R1 mit der Schwere der CHI im Sinne einer ödematösen Dekompensation korrelieren. Weiterhin wurde deutlich, dass mit sTNF-R1 als Vertreter der Tumornekrosefaktor-Superfamilie sowie mit Harnsäure als Surrogatparameter der Entzündung hochprognostische Aussagen zum Überleben der CHI-Patienten möglich sind und beide Faktoren unabhängig voneinander prognose-relevant sind. Damit stellt sich die Frage, ob sich eine Senkung von Harnsäure und sTNF-R1 positiv auf die Progression der CHI und die Mortalität auswirken könnte.

4.6.1 Mögliche Therapieansätze bei erhöhtem Harnsäurespiegel bei CHI

Die Assoziation von erhöhtem Harnsäurespiegel mit kardiovaskulärer Morbidität, einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und einer Immunaktivierung lässt den Harnsäuremetabolismus als einen interessanten potenziellen therapeutischen Angriffspunkt erscheinen. Eine Behandlung mit dem Xanthinoxidase-Hemmer Allopurinol beispielsweise könnte eine Reduktion von oxidativem Stress, vaskulärer Inflammation und arterieller Hypertonie ermöglichen, wie erste Studien bei Patienten mit Übergewicht und Diabetes andeuten (44). Die LIFE-Studie hat gezeigt, dass eine behandlungsinduzierte Reduktion der Harnsäure das kardiovaskuläre Risiko reduzieren kann (59). Ansonsten liegen zum aktuellen Zeitpunkt kaum doppelblinde, randomisierte mul-

tizentrische Studien vor, die klar zeigen, dass eine therapeutische Verminderung der Harnsäurespiegel sich günstig auf das kardiovaskuläre Gesamtrisiko und den Bluthochdruck auswirkt. Die potenziell protektive Rolle von Xanthinoxidase-Inhibitoren könnte auch auf deren Fähigkeit zurückzuführen sein, konsistent die endotheliale Funktion zu verbessern, und zwar vorrangig durch die Reduktion von oxidativem Stress sowie auch in geringerem Ausmaß durch die Reduktion erhöhter Harnsäurespiegel (44). Die begleitende Reduktion der Harnsäurespiegel könnte zu diesen protektiven Effekten beitragen oder nur ein Epiphänomen der Medikamentenwirkung sein. Letztlich bleibt der genaue Mechanismus der hyperurikämieinduzierten Gewebeschädigung bis dato ungeklärt, wenn auch Harnsäure bei oxidativem Stress, der Bildung reaktiver Sauerstoffradikale und einer Reduktion der endothelprotektiven NO-Produktion eine Rolle spielt (52).

4.2.2. Mögliche Therapieansätze bei erhöhtem TNF-Spiegel bei CHI

Bisher waren therapeutische Interventionen zur Senkung der TNF-Konzentrationen bei CHI-Patienten nicht maßgebend von Erfolg gekrönt. So wurde Eterncept zur Hemmung von TNF in zwei großen multizentrischen Studien doppelblind evaluiert, wobei in diesen Studien bezüglich des primären Endpunktes mit Tod oder Hospitalisierung der Herzinsuffizienz-Patienten, Eterncept im Vergleich zum Placebo keinen statistisch signifikanten Vorteil erbrachte (60). Dieses Ergebnis regte die Diskussion an, inwieweit die anti-inflammatorische Therapie bei Herzinsuffizienz zielführend ist (61). Fürsprecher des anti-inflammatorischen Konzeptes gaben zu bedenken, dass die gewählte Dosierung des Eterncepts möglicherweise zu niedrig gewesen sei, um zirkulierendes TNF im Herzmuskelgewebe tatsächlich effektiv zu neutralisieren (61). Angesichts der komplexen Interaktionen zwischen den inflammatorischen Botenstoffen steht zudem zur Debatte, ob eine Hemmung isoliert nur von TNF diese multifaktorielle Entzündungskaskade effektiv zu stören vermag (60).

Interessanterweise kommen als mögliche Auslöser kardiovaskulärer Erkrankungen wie Arteriosklerose spezifische Veränderungen der Darmflora, die systemisch chronisch-inflammatorische Prozesse unterhalten können, ebenfalls in Betracht (62). Jene Bakterienstämme zu identifizieren, die die Darmbarriere stabilisieren und damit anti-inflammatorisch wirken, als auch mögliche Therapieoptionen aus diesen Erkenntnissen abzuleiten, ist derzeit Gegenstand der Forschung (62).

Ein besseres Verständnis über die Entstehung der chronischen Entzündung bei CHI-Patienten, wie beispielsweise durch die weitere Untersuchung des Konzeptes zur Darmischämie als Ursache der inflammatorischen Aktivierung kann den Weg bereiten, die einzelnen Facetten der Immunregulation besser zu verstehen. Dies könnte helfen mit der gezielten Therapie der chronischen Entzündung mit erhöhten TNF oder TNF-R1-Spiegeln das Überleben der CHI-Patienten therapeutisch zu verbessern.

4.7 Limitationen

sTNF-R1 ist nicht spezifisch für eine LPS-getriggerte Inflammation, wenngleich LPS der stärkste bekannte biologische Immunaktivator ist. In den vorliegenden Studien wurde nicht die Herkunft des LPS im Blut untersucht, sondern lediglich die Assoziation von LPS mit den erhöhten Entzündungswerten im Blut festgestellt. Studien zur Darmperfusion müssen die Rolle der Darmbakterien und deren Beitrag zur chronischen Inflammation bei verschiedenen Schweregraden der Herzinsuffizienz weiter evaluieren, was nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist.

Beim Einschluss der Probanden erhielten alle Patienten die jeweils zu diesem Zeitpunkt optimale leitliniengerechte Medikation. Diese Richtlinien unterliegen ständigen Änderungen, so dass festzustellen ist, dass vom heutigen Standpunkt aus die Verwendung von Aldosteron-Antagonisten in der zweiten Patientenkohorte unterrepräsentiert ist.

In der zweiten Studienkohorte wurde, in Anbetracht der begrenzten Größe der Patientenpopulation, für die Überlebensdaten neben Harnsäure als Surrogatparameter mit sTNF-R1 nur ein einzelner spezifischer Inflamationsparameter untersucht. Prospektive, multizentrische, doppelblinde und randomisierte Studien sollten den prognostischen Wert von Harnsäure und sTNF-R1 an größeren Patientenpopulationen weiter evaluieren.

4.8 Ausblick

Wie am Anfang dargestellt, nimmt die weltweite Verbreitung der Herzinsuffizienz und der CHI weiter zu. Vor diesem Hintergrund ist die korrekte Klassifizierung von CHI-Patienten in verschiedene Risikoprofilgruppen und damit auch die Zuordnung zu adäquaten Therapieprogrammen von größter Wichtigkeit. Für den Kliniker könnte die Ver-

fügbare von Risikoprofilgruppen in einer validen Entscheidungsgrundlage für die Einteilung von CHI-Patienten in jeweilige Therapieschemata und Herztransplantationsprogramme und damit in einen optimierten Behandlungserfolg des einzelnen Patienten resultieren.

Bei der Prognoseabschätzung von CHI als multifaktorieller Erkrankung mit einem breiten Spektrum an Teilaspekten könnten immunologisch-metabolische Parameter in Verbindung mit funktionellen und hämodynamischen Faktoren die Risikostratifizierung entscheidend verbessern. Die Untersuchung einzelner Mortalitätsrisikofaktoren aus verschiedenen CHI-Teilbereichen und die mögliche Verwendung von kombinierten Risikostratifizierungsmodellen können dabei eine pragmatische Hilfe und weiterhin auch ein wichtiger Schritt zum besseren Verständnis des komplexen Gesamtbildes der CHI sein. Die vorliegende Arbeit weist an zwei verschiedenen Studienpopulationen darauf hin, dass sowohl sTNF-R1 als immunologischer Parameter als auch die vielfach als inflammatorischer Surrogatparameter angesehene Harnsäure auch in einem gemeinsamen Risikostratifizierungsmodell zusammen mit der LVEF und der NYHA-Klasse jeweils eigene prognostische Relevanz behalten.

Die Testung dieses vorgestellten Modells unter Einschluss von Harnsäure sowie sTNF-R1 diskriminierend und additiv zu einem BNP-Modell bezüglich der Mortalitätsabschätzung in größeren CHI-Kohorten wäre ein möglicher interessanter Ansatzpunkt für weitere Forschung, insbesondere nachdem die vorliegende Arbeit gezeigt hat, dass die Kombination aus metabolischen, immunologischen und funktionellen Parametern bei CHI prognostisch sein könnte.

5 Literaturverzeichnis

- 1 Cohn JN. Adaptive and Maladaptive Processes: Physiological Variables as Markers for Symptoms, Risk, and Interventions in Heart Failure. *Circulation* 1993;87:VII110-4.
- 2 Galbreath AD, Krasuski RA, Smith B, et al. Long-term healthcare and cost outcomes of disease management in a large, randomized, community-based population with heart failure. *Circulation* 2004;110:3518-26.
- 3 McMurray JJ, Pfeffer MA. Heart failure. *Lancet* 2005;9474:1877-89.
- 4 Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur Heart J* 2008;19:2388-442.
- 5 Lloyd-Jones DM, Larson MG, Leip EP, et al. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2002;106:3068-72.
- 6 Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1269-76.
- 7 Mozaffarian D, Anker SD, Anand I, et al. Prediction of Mode of Death in Heart Failure: The Seattle Heart Failure Model. *Circulation* 2007;116:392-8.
- 8 Blackledge HM, Tomlinson J, Squire IB. Prognosis for patients newly admitted to hospital with heart failure: survival trends in 12 220 index admissions in Leicestershire. *Heart* 2003;6:615-20.
- 9 Eichhorn EJ, Bristow MR. Medical therapy can improve the biological properties of the chronically failing heart. A new era in the treatment of heart failure. *Circulation* 1996;9:2285-9.

-
- 10 Francis DP, Shamim W, Davies LC, et al. Cardiopulmonary exercise testing for prognosis in chronic heart failure: continuous and independent prognostic value from VE/VCO₂ slope and peak VO₂. *Eur Heart J* 2000;21:154-61.
- 11 Weber K, Kinasewitz G, Janicki J, et al. Oxygen utilization and ventilation during exercise in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation* 1982;65:1213-23.
- 12 Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, et al. Value of peak exercise consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation* 1991;83:778-6.
- 13 Davies LC, Wensel R, Georgiadou P, et al. Enhanced prognostic value from cardiopulmonary exercise testing in chronic heart failure by non-linear analysis: oxygen uptake efficiency slope. *Eur Heart J* 2006;27:684-90.
- 14 Mancini D, LeJemtel T, Aaronson K. Peak VO₂: a simple yet enduring standard. *Circulation* 2000;10:1152-7.
- .
- 15 Dhir M, Nagueh SF. Echocardiography and prognosis of heart failure. *Am J Cardiol* 2002;17:253-257.
- 16 Cohn JN, Johnson GR, Shabetai R, et al. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias, and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation* 1993;87:VI5-16.
- 17 Moss AJ, Zareba W, Hall WJ, et al. Prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction. *N Engl J Med* 2002;346:877-83.
- 18 Raphael C, Briscoe C, Davies J, et al. Limitations of the New York Heart Association functional classification system and self-reported walking distances in chronic heart failure. *Heart* 2007;93:476-82.

-
- 19 Blanc JJ, Bertault-Valls V, Fatemi M, et al. Midterm benefits of left univentricular pacing in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2004;109:1741-4.
- 20 Leyva F, Anker SD, Swan JW, et al. Serum uric acid as an index of impaired oxidative metabolism in chronic heart failure. *Eur Heart J* 1997;18:858-65.
- 21 Anker SD, Doehner W, Rauchhaus M, et al. Uric Acid and Survival in Chronic Heart Failure: Validation and Application in Metabolic, Functional and hemodynamic staging. *Circulation* 2003;107:1991-7.
- 22 Strasak A, Ruttmann E, Brant L, et al. Serum uric Acid and risk of cardiovascular mortality: a prospective long-term study of 83 683 austrian men. *Clin Chem* 2008;54:273-84.
- 23 Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84:1381-478.
- 24 Neogi T, Terkeltaub R, Ellison RC, et al. Serum urate is not associated with coronary artery calcification: the NHLBI Family Heart Study. *J Rheumatol* 2011;38:111-7.
- 25 Krishnan E, Pandya BJ, Chung L, et al. Hyperuricemia and the risk for subclinical coronary atherosclerosis-data from a prospective observational cohort study. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R66.
- 26 Lazzarino G, Raatikainen P, Nuutinen M, et al. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery. *Circulation* 1994;90:291-7.
- 27 Leyva F, Anker SD, Godsland IF, et al. Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation. *Eur Heart J* 1998;19:1814-22.

-
- 28 Van Zee KJ, Kohno T, Fischer E, et al. TNF soluble receptors protect against excessive TNF alpha during infection and injury. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 4845-4849.
- 29 Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, et al. A tumor necrosis factor binding protein purified to homogeneity from human urine protects cells from tumor necrosis factor toxicity. *J BiolChem* 1989;264:11974-80.
- 30 Krack A, Richartz BM, Gastmann A, et al. Studies on intragastric PCO₂ at rest and during exercise as a marker of intestinal perfusion in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6:403-7.
- 31 Anker SD, Egerer KR, Volk HD, et al. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 1997;79:1426-30.
- 32 Deitch EA. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: what is important in human beings? *Surgery* 2002;131:241-4.
- 33 von Haehling S, Schefold JC, Lainscak M, et al. Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: much more than innocent bystanders. *Heart Fail Clin* 2009;5:549-60.
- 34 Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin–lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000;356:930-3.
- 35 Niebauer J, Volk HD, Kemp M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet*. 1999;353:1838-42.
- 36 Peschel T, Schönauer M, Thiele H, et al. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2003;5:609-14.
- 37 Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:1561-9.

-
- 38 Anker SD, Coats AJ. Metabolic, functional and haemodynamic staging for CHI? *Lancet* 1996;9041:1530-1.
- 39 Anker SD, Chua TD, Ponikowski P, et al. Hormonal changes and catabolic/ anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia. *Circulation* 1997;96:526-534.
- 40 Bruce RA, Blackmon, JR, Jones, JW, et al. Exercising testing in adult normal subjects and cardiac patients. *Pediatrics* 1963;32:742-756.
- 41 van Royen N, Jaffe CC, Krumholz HM, et al. Comparison and reproducibility of visual echocardiographic and quantitative radionuclide left ventricular ejection fractions. *Am J Cardiol* 1996;77:843-50.
- 42 Folland ED, Parisi AF, Moynihan PF, et al. Assessment of left ventricular ejection fraction and volumes by real-time, two-dimensional echocardiography. A comparison of cineangiographic and radionuclide techniques. *Circulation* 1979; 60:760-6.
- 43 Marantz PR, Tobin JN, Wassertheil-Smoller S, et al. The relationship between left ventricular systolic function and congestive heart failure diagnosed by clinical criteria. *Circulation* 1988;77:607-12.
- 44 Puddu P, Puddu GM, Cravero E, et al. Relationships among hyperuricemia, endothelial dysfunction and cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. *J Cardiol* 2012;59:235-42.
- 45 Mitsumata K, Saitoh S, Ohnishi H, et al. Effects of parental hypertension on longitudinal trends in blood pressure and plasma metabolic profile: mixed-effects model analysis. *Hypertension* 2012;60:1124-30.
- 46 Conforti-Andreoni C, Spreafico R, Qian HL, et al. Uric acid-driven Th17 differentiation requires inflammasome-derived IL-1 and IL-18. *J Immunol* 2011;187:5842-50.

-
- 47 Herrmann R, Sandek A, von Haehling S, et al. Risk stratification in patients with chronic heart failure based on metabolic-immunological, functional and haemodynamic parameters. *Int J Cardiol* 2012;156:62-8.
- 48 Hosoya T, Kuriyama S, Yoshizawa T, et al. Effects of combined antihypertensive therapy with losartan/hydrochlorothiazide on uric acid metabolism. *Intern Med* 2012;51:2509-14.
- 49 Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med* 2013;34:39-58.
- 50 Brown K, DeCoffe D, Molcan E, et al. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients* 2012;4:1095-119.
- 51 Anker SD, Negassa A, Coats AJ, et al. Prognostic importance of weight loss in chronic heart failure and the effect of treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors: an observational study. *Lancet* 2003;361:1077-83.
- 52 Doehner W, Rauchhaus M, Florea VG, et al. Uric acid in cachectic and noncachectic patients with chronic heart failure: relationship to leg vascular resistance. *Am Heart J* 2001;141:792-9.
- 53 Jarasch E, Grund C, Bruder G, et al. Localization of xanthine oxidase in mammary gland epithelium and capillary endothelium. *Cell* 1981;25:67-82.
- 54 Roch-Ramel F, Guisan B, Diezi J. Effects of uricosuric and antiuricosuric agents on urate transport in human brush-border membrane vesicles. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:839-45.
- 55 Satoh M, Minami Y, Takahashi Y, et al. Immune modulation: role of the inflammatory cytokine cascade in the failing human heart. *Curr Heart Fail Rep* 2008;5:69-74.

-
- 56 Hegewisch S, Weh HJ, Hossfeld DK. TNF-induced cardiomyopathy. *Lancet* 1990;2:294-5.
- 57 Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, et al. Plasma Cytokine Parameters and Mortality in Patients With Chronic Heart Failure. *Circulation* 2000;102:3060-7.
- 58 Netea MG, Kullberg BJ, Blok WL, et al. The role of hyperuricemia in the increased cytokine production after lipopolysaccharide challenge in neutropenic mice. *Blood* 1997;89:577-82.
- 59 Høieggen A, Alderman MH, Kjeldsen SE, et al. The impact of serum uric acid on cardiovascular outcomes in the life study. *Kidney Int* 2004;65:1041–9.
- 60 Mann DL, McMurray JJ, Packer M, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 2004;109:1594-602.
- 61 Anker SD, Coats AJS. How to RECOVER from RENAISSANCE? The significance of the results of RECOVER, RENAISSANCE, RENEWAL and ATTACH. *Int J Cardiol* 2002;86:123–130.
- 62 Vinjé S, Stroes E, Nieuwdorp M, Hazen SL. The gut microbiome as novel cardio-metabolic target: the time has come! *European Heart Journal* 2014; 35:883–887.

V. Lebenslauf

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

VI. Publikationsliste

Publikation 1:

Herrmann R, Sandek A, von Haehling S, Doehner W, Schmidt HB, Anker SD, Rauchhaus M. Risk stratification in patients with chronic heart failure based on metabolic-immunological, functional and haemodynamic parameters. *Int J Cardiol.* 2012 Apr 5;156(1):62-8.

Pubklikation 2:

Sandek A1, Bjarnason I, Volk HD, Crane R, Meddings JB, Niebauer J, Kalra PR, Buhner S, Herrmann R, Springer J, Doehner W, von Haehling S, Anker SD, Rauchhaus M. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2012 May 17;157(1):80-5.

VII. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, [Ralph Herrmann], versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: [Die Rolle von immunologischen und metabolischen Faktoren am Beispiel von löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor-1 und Harnsäure als prognostischen Faktoren bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz] 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 beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Berlin den

Unterschrift

VIII. Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich bei allen, die mich bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Ich danke zunächst meiner Betreuerin, Frau Dr. Anja Sandek, dafür, dass sie mir mit ihrem beständigem Engagement und ihrer konstruktiven Kritik jederzeit eine feste Ansprechpartnerin sowie Mentorin war. Dadurch war es mir erst möglich, diese Doktorarbeit und die zugrunde liegenden Publikationen in der vorliegenden Form zu erarbeiten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Anker für die Vergabe des Themas als auch für die hilfreichen Verbesserungsvorschläge zum wissenschaftlichen Vorgehen, Arbeiten und Denken.

Bedanken möchte ich mich auch bei den wissenschaftlichen Mitarbeitern und Pflegekräften der kardiologischen Klinik des Virchow-Klinikums Berlin, welche mir bei vielen Details behilflich waren sowie mir mit Rat und Tat zur Seite standen.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie, besonders meiner Lebenspartnerin Katharina Loibnegger, für die Unterstützung.