

Aus der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Kardiologie
der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Biologische Variabilität von Biomarkern der Herzinsuffizienz

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät,
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Simon Litmeier

aus Ahaus

Datum der Promotion: 25. November 2022

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	4
Abbildungsverzeichnis.....	6
Tabellenverzeichnis.....	7
Zusammenfassung	8
1 Einleitung.....	10
1.1 Herzinsuffizienz.....	10
1.1.1 HF mit reduzierter EF (HFrEF)	11
1.1.2 HF mit erhaltener EF (HFpEF)	11
1.2 Biomarker der Herzinsuffizienz	13
1.2.1 NT-proBNP	14
1.2.2 hsTnT	15
1.2.3 Soluble ST2.....	16
1.2.4 Galectin-3	16
1.2.5 Copeptin	16
1.2.6 NGAL.....	17
1.3 Biologische Variabilität.....	17
1.4 Fragestellung	21
2 Methodik	22
2.1 Studienablauf	22
2.2 Studienkohorte.....	23
2.3 Visite 1 und 2	25
2.4 Messung Biomarker	26
2.5 Statistik	27
3 Ergebnisse.....	29
3.1 Demographie	29
3.2 Biomarker - Konzentrationen	32

3.3 Biologische Variabilität.....	32
4 Diskussion	35
Wesentliche Ergebnisse	35
NT-proBNP	35
hsTnT	36
sST2.....	37
Galectin-3.....	38
Copeptin.....	38
NGAL	39
Limitationen.....	39
Konklusion	40
5 Literaturverzeichnis	41
Eidesstattliche Versicherung	57
Lebenslauf.....	59
Publikationsliste	61
Genderhinweis.....	63
Danksagung	63

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Converting Enzym
aHt	Arterieller Hypertonus
ARB	Angiotensin-II Rezeptorblocker
AV	Analytische Variabilität
AVP	Arginine-Vasopressin
BMI	Body Mass Index
BNP	Brain Natriuretic Peptide
BV	Biologische Variabilität (= intra-individueller Variationskoeffizient)
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology
Copeptin	C-terminal Provasopressin
cTn	Kardiale Troponine
CV	Coefficient of Variation
CVa	analytischer Coefficient of variation = analytische Variabilität
CVi	intra-individueller Coefficient of variation = biologische Variabilität
CVt	total Coefficient of variation
DM	Diabetes mellitus
DN	Diabetische Nephropathie
E	frühdiastolischer passiver Füllungsfluss des linken Ventrikels
e'	Geschwindigkeit linksventrikulärer Strukturen in der Systole
eGFR	geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	European Society of Cardiology
GCP	Good Clinical Practice
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HF	Herzinsuffizienz
HFpEF	Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion
HF _r EF	Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion
hsTnT	high sensitivity Troponin T
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAVI	Linksatrialer Volumen Index
LLOD	Lower Limit of Detection
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVMI	Linksventrikulärer Massen Index

Mean	Mittelwert
MRA	Aldosteron-Rezeptorantagonisten
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
NT-proBNP	N-terminal pro Brain Natriuretic Peptide
NP	Natriuretische Peptide
NYHA	New York Heart Association
PAPsys	Systemischer pulmonaler Druck
RCV	Reference Change Value
SD	Standardabweichung
sST2	soluble Suppression of tumourigenicity 2
UACR	Albumin/Kreatinin-Quotient im Urin
VO ₂	maximale Sauerstoffaufnahme

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: pathophysiologische Prozesse HF ²⁵	14
Abbildung 2: Kohorte Biomarker Substudie.....	29
Abbildung 3: BV in den Studiengruppen.....	33

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Literatur BV von Biomarkern der HF.....	18
Tabelle 2: Analytische Varianz (CVa) der Biomarker-Assays	27
Tabelle 3: Patienten mit quantitativer Bestimmung über der LLOD	30
Tabelle 4: Charakteristika Studienkohorte.....	30
Tabelle 5: Biomarker Konzentrationen	32
Tabelle 6: CVi und RCV der Biomarker in den Studiengruppen.....	33

Zusammenfassung

Einleitung: In der Herzinsuffizienz werden Biomarker in der Diagnostik, der Risikostratifizierung, dem Verlaufsmoitoring sowie als Argument in Therapieentscheidungen eingesetzt. Zur Interpretation von seriellen Messungen von Biomarkern ist es entscheidend, die biologische Variabilität (BV) eines Biomarkers zu kennen. Mit genauer Kenntnis der BV als zufälliger Schwankung eines Biomarkers ist es möglich zu beurteilen, ob die Konzentrationsänderung eines Biomarkers klinisch signifikant ist. In Vorarbeiten wurde die BV in gesunden Probanden und stabilen Patienten mit Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion (HFrEF) bestimmt. Bei sich unterscheidenden pathophysiologischen Prozessen und Biomarkerprofilen, gibt es aktuell keine Daten zur BV in Patienten mit Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF). Des Weiteren wurde die BV bislang nicht in Patienten mit arterieller Hypertonie oder multimorbiden Patienten mit Diabetischer Nephropathie untersucht. Diese Arbeit untersucht deshalb die biologische Variabilität von sechs Biomarkern in den vier Studiengruppen HFpEF, HFrEF, arterielle Hypertonie (aHt) und diabetische Nephropathie (DN).

Methodik: Die Biomarker NT-proBNP, Galectin-3, sST2, hsTnT, Copeptin und NGAL wurden zweifach im Intervall von einer Woche in den vier Studiengruppen gemessen. Der intra-individuelle Coefficient of Variation ($CV_i = BV$ - biologische Variabilität) sowie der Reference change value (RCV) wurden nach der Methode von Fraser und Harris berechnet.

Ergebnisse: Die BV von NT-proBNP in HFpEF war 28% im Vergleich zu 24% in HFrEF-Patienten. Die BV von hsTnT war 14% in HFrEF, 15% in HFpEF und 12% in Patienten mit DN. sST (8% - 12%) und NGAL (8% - 14%) hatten in allen Studiengruppen eine niedrige und konsistente BV. Die BV von Copeptin war hoch (19% - 42%) und hat sich zwischen den Studiengruppen signifikant unterschieden.

Konklusion: In dieser Arbeit wird die BV von NT-proBNP, Galectin-3, sST2, hsTnT, Copeptin und NGAL in Patienten mit HFrEF, HFpEF, aHt und DN beschrieben, was eine bessere Interpretation von seriellen Biomarkermessungen in HFpEF-Patienten sowie multimorbiden Patienten ermöglicht.

Background: In heart failure (HF) biomarkers are used in diagnosis, risk stratification, monitoring of disease progression and therapy guidance. When it comes to the interpretation of serial measurements knowledge about the biomarker's biological variation (BV) is crucial. There are previous studies enlightening the BV in healthy subjects and stable HF patients with reduced ejection fraction (rEF). Due to different pathophysiological mechanism and biomarker profiles, there is a paucity of data on the BV in HF subjects with preserved EF (pEF). Further, the effect of frequent comorbidities as arterial hypertension, diabetes mellitus and kidney insufficiency on the BV is unknown. Therefore, this study aimed to determine and compare BV of six biomarkers in HFpEF, HFrEF, arterial Hypertension (aHt) and diabetic nephropathy (DN).

Methods: The biomarkers NT-proBNP, Galectin-3, sST2, hsTnT, Copeptin and NGAL were quantified twice in between one week in clinical stable patients with HFpEF, HFrEF, aHt and DN. The intraindividual coefficient of variation ($CV_i = BV$) and the reference change value (RCV) were calculated providing a percentage range in which a concentration change is clinically not significant.

Results: The BV of NT-proBNP was 28% in HFpEF, 24% in HFrEF and 25% in DN. The BV of hsTnT was 14% in HFrEF, 15% in HFpEF and 12% in DN. sST2 (8% - 12%) and NGAL (8% - 14%) present a low and in all study groups reliable BV. The BV differed significantly between the study groups for Copeptin (19% - 42%).

Conclusion: This study determined the BV of NT-proBNP, Galectin-3, sST2, hsTnT, Copeptin and NGAL in patients with HFpEF, HFrEF, arterial Hypertension and diabetic nephropathy and hereby provides more robust interpretation of serial biomarker measurements in HFpEF- and multimorbid HF-patients.

1 Einleitung

1.1 Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz (HF – aus dem Englischen Heart Failure) stellt ein klinisches Syndrom dar, welches durch typische Symptome wie Luftnot, periphere Ödeme und einer verringerten körperlichen Belastbarkeit charakterisiert ist¹. Als ursächlich wird eine strukturelle und/oder funktionelle Veränderung des Herzens verstanden, welche zu einer verringerten Herzauswurfleistung oder erhöhten intrakardialen Drücken in Ruhe oder bei Belastung führt³. Die verringerte Herzauswurfleistung führt zu einem Missverhältnis zwischen dem Sauerstoffangebot im Blut und dem Sauerstoffbedarf im peripheren Gewebe².

Die Herzinsuffizienz ist ein komplexes Syndrom und die klinische Präsentation variabel. Gemein ist allen Symptomen, dass sie unspezifisch und daher von geringem diagnostischen Wert sind³. Zur weiteren Diagnostik einer HF werden deshalb ein Elektrokardiogramm (EKG), ein Röntgen-Thorax, eine Echokardiographie sowie die Bestimmung der Natriuretischen Peptide (NP) empfohlen³.

In entwickelten Ländern sind etwa 1-2% der Erwachsenen an einer Herzinsuffizienz erkrankt. Die Prävalenz steigt im Alter und beträgt bei über 70-Jährigen mehr als 10%^{1,2}. Mit 55 Jahren beträgt das Lebensrisiko an einer Herzinsuffizienz zu erkranken 33% für Männer und 28% für Frauen¹. Für Patienten bedeutet die Herzinsuffizienz oft eine relevante Einschränkung des alltäglichen Lebens, insbesondere in den Bereichen der funktionellen Aktivität und Vitalität^{4,5}. Obwohl die Überlebensrate sich in den letzten Jahren verbessert hat, beträgt die absolute 5-Jahres-Überlebensrate etwa 50%^{6,7}. Für das amerikanische Gesundheitssystem wurden für das Jahr 2013 jährliche Kosten von 30 Milliarden Dollar für die Behandlung der HF berechnet⁸.

Ein wichtiger diagnostischer Parameter in der HF ist die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in der Echokardiographie, welche ein Maß für die Herzauswurfleistung des Herzens darstellt. Die LVEF beschreibt pro Herzschlag den prozentualen Anteil des endsystolisch ausgeworfenen Blutvolumens im Verhältnis zum enddiastolischen Volumen der linken Herzkammer. Trotz erhaltener LVEF kann die Herzauswurfleistung vermindert sein. In der LVEF nicht abgebildet werden strukturelle Veränderungen des

Herzens, welche Einfluss auf die diastolische Füllung des linken Ventrikels haben. Anhand der LVEF werden HF-Patienten in eine HF mit erhaltener Ejektionsfraktion (HFpEF – engl. preserved ejection fraction) und in eine HF mit reduzierter Ejektionsfraktion (HFrEF) unterteilt¹. Diese Unterteilung ist relevant, da sich die beiden HF-Gruppen wesentlich in demographischen Daten, Komorbiditäten, pathophysiologischen Prozessen, Prognose und Therapieansprechen unterscheiden^{1,9}.

1.1.1 HF mit reduzierter EF (HFrEF)

Etwa die Hälfte der HF-Patienten hat eine HF mit reduzierter Ejektionsfraktion des linken Ventrikels. Nach der aktuellen ESC-Leitlinie werden HF-Patienten mit einer LVEF < 40% zu HFrEF gezählt¹. Der Großteil der Studien zu Herzinsuffizienz wurde an HFrEF-Patienten durchgeführt und effiziente Therapiekonzepte konnten bislang nur für HFrEF-Patienten gezeigt werden¹. Mit etwa zwei Dritteln ist die koronare Herzkrankheit (KHK) die häufigste Genese der HFrEF³. Im Gegensatz dazu scheinen Diabetes mellitus und arterieller Hypertonus vor allem beeinflussende Faktoren zu sein³. Pathophysiologisch ist HFrEF deutlich besser als HFpEF verstanden³. Es wird angenommen, dass nach einer myokardialen Schädigung pathologisches Remodelling des Ventrikels mit Dilatation und verschlechterter Kontraktilität zu einer reduzierten Ejektionsfraktion führt^{10,11}. Charakteristisch für die HF ist eine progressive Verschlechterung der pathophysiologischen Veränderungen über die Zeit³. Aufrechterhalten wird die Verschlechterung zum einen durch weitere Myokardschädigungen, wie zum Beispiel im Rahmen einer KHK. Zum anderen spielt die neurohumorale Reaktion auf die systolische Veränderung eine wichtige Rolle im Krankheitskonzept der HF³. Die beiden wichtigen Säulen sind die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems sowie die erhöhte Aktivität des sympathischen Nervensystems³. Die Überaktivierung der beiden Systeme führt zu nachteiligen systemischen Effekten in den Blutgefäßen, den Nieren, der Muskulatur, dem Knochenmark, den Lungen und der Leber³. Mit der neurohumoralen Überaktivierung entwickelt sich ein Teufelskreis, dessen Unterbrechung im Zentrum für die meisten effektiven Therapieansätze der HF steht^{10,11}.

1.1.2 HF mit erhaltener EF (HFpEF)

Etwa die Hälfte die Hälfte der HF-Patienten hat eine HF mit erhaltener Ejektionsfraktion¹². Nach der aktuellen ESC-Leitlinie werden HF-Patienten mit einer EF > 50% zur HFpEF gezählt^{1,13}.

Die Diagnosestellung einer HFpEF ist bei normaler LVEF und unspezifischen HF-Symptomen anspruchsvoll. Neben typischen HF-Symptomen und einer erhaltenen EF (>50%), gehören erhöhte NP-Werte (NT-proBNP > 125pg/ml) sowie eine objektivierbare Darstellung von funktionellen und strukturellen Herzveränderungen einer HF zur Diagnosestellung¹. Die Herzveränderungen lassen sich vor allem durch die Echokardiographie darstellen. Echokardiographische Parameter für strukturelle Veränderungen sind der linksatriale Volumen Index (LAVI > 34ml/m²) sowie der linksventrikuläre Massen Index (LVMI \geq 115g/m² für Männer, \geq 95g/m² für Frauen)¹⁴. Echokardiographische Parameter für funktionelle Veränderungen sind der frühdiastrische passive Füllungsfluss des linken Ventrikels (E), und die Geschwindigkeit von Strukturen des linken Ventrikels (z.B. des Mitralklappenannulus) in der Systole (e'). Echokardiographisch lässt sich die diastolische Funktionsstörung mit der Relation E/e' (\geq 13), sowie einer durchschnittlichen e' der septalen und lateralen Herzwand darstellen (< 9cm/s)^{15,16}. In unklaren Fällen sind ein Stress-Test mit Ermittlung der Parameter bei körperlicher Belastung, der Bestimmung der Herzauswurfleistung und des Pulmonalarteriendruckes weitere diagnostische Mittel¹.

Epidemiologisch und ätiologisch unterscheidet sich die HFpEF von der HFrEF¹⁷. Im Vergleich sind HFpEF-Patienten älter und öfter weiblich¹⁷. Weitere Risikofaktoren für die Entstehung einer HFpEF sind arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Übergewicht, Hyperlipidämie, Niereninsuffizienz, Anämie, Schlafstörungen und chronisch obstruktive Lungenerkrankungen^{1,12,18}. Eine besondere Bedeutung in der Entstehung einer HFpEF scheint mit einer Prävalenz von 60% bis 89% (je nach Studie und Register) der arteriellen Hypertonie zuzukommen¹⁹.

Pathophysiologisch ist die HFpEF weit weniger verstanden³. Im Vordergrund stehen bei der HFpEF folgende das Myokard betreffende basale Mechanismen: Myozytenhypertrophie, systolische und diastolische Dysfunktion, interstitielle Fibrose des Myokards, Inflammation, Störungen des Energiestoffwechsels und eine gestörte Mikrozirkulation¹⁴. Aufgrund der verschiedenen pathophysiologischen Prozesse unterscheiden sich ebenfalls die Biomarkerprofile, auf welche nachfolgend genauer eingegangen wird⁹. Im Gegensatz zu HFrEF besteht für HFpEF aktuell keine Therapie, welche die Hospitalisierungsrate und die Mortalität senkt¹.

1.2 Biomarker der Herzinsuffizienz

Nach der WHO stellen Biomarker Substanzen, Strukturen oder Prozesse dar, welche im Körper oder seiner Produkte gemessen werden und die Inzidenz einer Erkrankung oder ihr Outcome vorhersagen können²⁰. Eine Arbeitsgruppe des National Institute of Health beschreibt Biomarker als biologische Marker, welche objektivierbar gemessen werden können und als Indikator für einen physiologischen oder pathologischen Prozess oder eine pharmakologische Reaktion auf therapeutische Interventionen stehen²⁰. Für kardiovaskuläre Biomarker heben Morro und de Lemos insbesondere den klinischen Nutzen hervor²¹.

Biomarker in der Herzinsuffizienz werden in der Diagnostik, der Risikostratifizierung und Prognose, dem Verlaufsmonitoring sowie als Hilfe in Therapieentscheidungen verwendet. In den vergangenen Jahren wächst die Bedeutung der Biomarker im Rahmen der Herzinsuffizienz. Das gesteigerte Interesse zeigt sich an einer exponentiellen Zunahme der Publikationen zu Biomarkern der Herzinsuffizienz²².

Biomarker bilden relevante pathophysiologische Prozesse der Herzinsuffizienz wie Fibrosierung, Inflammation, Volumenbelastung des Herzens, Myokardschädigung, neurohumorale Aktivität, strukturelle Modellierung und eine Verschlechterung der Nierenfunktion ab²³.

In dieser Arbeit werden sechs Biomarker untersucht, welche relevante pathophysiologische Prozesse der HF abbilden²⁴. Die Abbildung 1 stellt die untersuchten Biomarker anhand der pathophysiologischen Prozesse der HF dar.

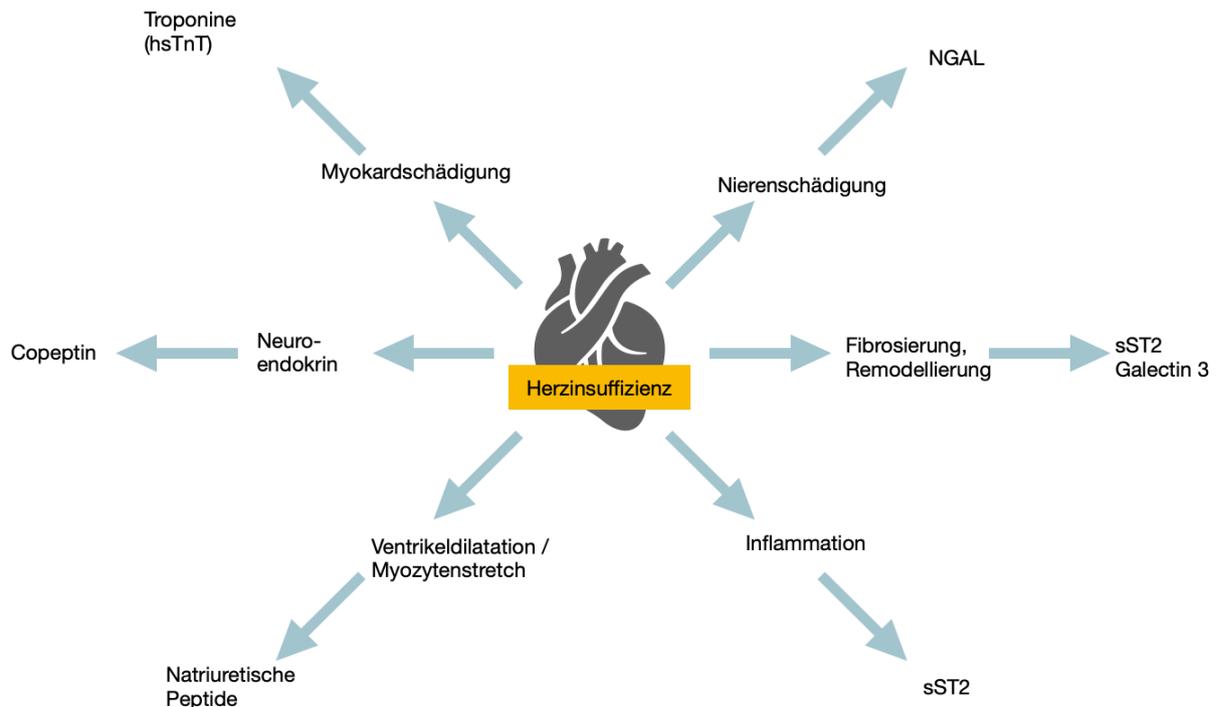


Abbildung 1: pathophysiologische Prozesse HF²⁴.

Idee der graphischen Darstellung von Nadar et al²⁴, unter Beachtung des Copyrights.

Im folgenden Abschnitt werden die in dieser Arbeit untersuchten Biomarker hinsichtlich der physiologischen Bedeutung, der klinischen Relevanz und der Anwendung von seriellen Biomarkermessungen erläutert.

1.2.1 NT-proBNP

NT-proBNP gehört zu den natriuretischen Peptiden (NP), welche direkt vom Myokard als Reaktion auf ein erhöhtes Volumen oder Druck im linken Ventrikel ausgeschüttet werden²⁵. Das inerte und deutliche stabilere NT-proBNP entsteht zusammen mit dem biologisch aktivem BNP aus der Spaltung des Prohormons proBNP. NT-proBNP ist sowohl Bestandteil der amerikanischen als auch der europäischen Leitlinien^{1,26}. Empfohlen wird die Messung von NT-proBNP zur initialen Evaluation eines Patienten mit dem Leitsymptom Luftnot zur Diagnose und insbesondere zum Ausschluss einer Herzinsuffizienz (HF)^{1,27}. Außerdem ist nach Leitlinie zur Prognoseabschätzung eine Messung von NT-proBNP zu Beginn oder zum Ende eines Krankenhausaufenthaltes sinn-

voll¹. In der Framingham Heart Study wurden erhöhte NT-proBNP-Werte als Risikofaktor für die Entstehung einer HF identifiziert mit höherem prädiktiven Wert als die bekannten Risikofaktoren²⁸.

Da die Symptome einer HF unspezifisch sind, eignet sich die Klinik nur bedingt als Indikator für Anpassungen der medikamentösen HF-Therapie. Mit der Idee, dass die Natriuretischen Peptide einen objektiven Index des Kreislaufsystems darstellen, haben mehrere Studien versucht auf der Basis der NP-Konzentrationen die Pharmakotherapie anzupassen^{29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39}. Eine Meta-Analyse der Studien hat gezeigt, dass für HF-Patienten unter 75 Jahren eine NP-geleitete Therapie zu einer Reduktion der Mortalität um 20 – 30% im Vergleich zur Standardtherapie führt. Die randomisierte GUIDE-IT-Studie hat für Hochrisikopatienten mit HFrEF keinen Vorteil für eine NT-proBNP-geleitete Therapie gegenüber einer Standardtherapie gezeigt⁴⁰. Zusammenfassend sind die Ergebnisse der Studien zum Teil vielversprechend aber inkonsistent und damit aktuell nicht Bestandteil der Leitlinienempfehlung⁴¹.

1.2.2 hsTnT

Kardiale Troponine (cTn) sind myofibrilläre Proteine der kardialen Muskelkontraktion und ein sensitiver und spezifischer Marker für eine Myokardschädigung⁴². Als obligater Bestandteil der Diagnostik sind cTn beim akuten Myokardinfarkt am besten etabliert^{43,44}. cTn werden durch irreversiblen Zellschaden des Myokards ins Blut freigesetzt^{45,46}.

Auch im Rahmen der HF kommt es zu einer Myokardschädigung und erhöhten cTn-Werten⁴⁷. Die Myokardschädigung kann dabei durch eine KHK oder unabhängig davon durch pathophysiologische HF-Prozesse wie neurohumorale Überstimulation, Inflammation oder Apoptose bedingt sein^{22,48,49}. Bei ambulanten HF-Patienten ohne akutem Koronarsyndrom lassen sich in 25% bis 50% erhöhte cTn-Werte nachweisen^{50,51}. Mit dem hoch sensitiven Troponin-Assay lassen sich sogar in der Mehrzahl der HF-Patienten erhöhte Werte von high-sensitivity Troponin T (hsTnT) nachweisen^{49,52}. Erhöhte cTn-Werte sind mit einer verschlechterten Hämodynamik⁴⁸, einer linksventrikulären Dysfunktion⁵³ und einer erhöhten Mortalität assoziiert^{48,50}. In den amerikanischen HF-Leitlinien wird der Nutzen des kardialen Troponins im Rahmen der additiven Risikostratifizierung erwähnt²⁶.

Ein cTn-Anstieg in seriellen Messungen bei hospitalisierten HF-Patienten erhöht wesentlich das Mortalitätsrisiko, unabhängig vom Zeitpunkt der Messung^{54,55}.

1.2.3 Soluble ST2

Suppression of tumourigenicity-2 (ST2) ist Teil der Interleukin-1-Rezeptor-Familie. Die Produktion der löslichen (engl. soluble) Form soluble ST2 (sST2) wird durch eine Herzbelastung stimuliert und steht für eine strukturelle Remodellierung sowie eine Fibrosierung des Herzens^{22,56}. Die sST2-Konzentration im Plasma ist nicht abhängig vom Alter oder dem Body-Mass-Index⁴⁷. Erhöhte sST2-Konzentrationen waren prognostisch für das Patientenoutcome⁵⁷, was durch serielle Messungen sogar erhöht werden konnte⁵⁸. Für eine chronische HFpEF-Kohorte war sST2 anderen Biomarkern wie NT-proBNP und hsTnT überlegen kardiovaskuläre Ereignisse vorherzusagen⁵⁹. Eine hohe Aussagekraft der seriellen Messungen von sST2 deutet auf Potential im Therapiemonitoring der HF hin. In einer post-hoc Analyse konnte ein Zusammenhang zwischen der Betablocker-Dosierung, der sST2-Konzentration sowie kardiovaskulären Ereignissen gezeigt werden⁶⁰.

1.2.4 Galectin-3

Galectin-3 ist ein Beta-Galactosidase bindendes Lektin⁶¹. Galectin-3 wird durch aktivierte Makrophagen ausgeschüttet und ist ein Mediator der Proliferation von Myofibroblasten⁶². Galectin-3 stellt einen Marker der kardialen Fibrosierung sowie Remodellierung dar⁶³. Erhöhte Galectin-3-Werte sind bei HF-Patienten mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko assoziiert^{63,64}. Insbesondere für HFpEF scheint Galectin-3 einen stärkeren prädiktiven Wert zu haben⁶⁴. Serielle Messungen von Galectin-3 haben einen zusätzlichen prognostischen Wert für das Patientenoutcome gezeigt⁶⁵. In einer HFpEF-Kohorte konnte die Assoziation von einem Anstieg der Galectin-3-Konzentration mit einem schlechterem Outcome gezeigt werden⁶⁶.

1.2.5 Copeptin

C-terminal Provasopressin (Copeptin) entsteht aus dem Precursor-Protein Pre-Pro-

vasopressin zusammen mit Arginine-Vasopressin (AVP)⁶⁷. Als Reaktion auf Hypovolämie und Veränderungen der Plasma-Osmolarität wird AVP im Hypothalamus produziert⁶⁷. Copeptin ist deutlich stabiler und steht als Surrogatmarker für AVP⁶⁷. Im Rahmen der Herzinsuffizienz werden erhöhte AVP-Konzentrationen als neurohumorale Vermittler einer Hypertrophie der Kardiomyozyten sowie der Remodellierung verstanden und stehen in Verbindung mit der Schwere der HF^{67,68}. In einer Metaanalyse konnte für Copeptin ein vergleichbarer prognostischer Wert für die Mortalität wie für NT-proBNP gezeigt werden⁶⁹.

Serielle Messungen von Copeptin haben einen zusätzlichen prognostischen Wert für das Patientenoutcome gezeigt^{70,71,72}. Anhand der Serumkonzentration von Copeptin konnte in HFrEF-Patienten, im Vergleich zu NT-proBNP, frühzeitiger ein Therapieansprechen einer Betablockeraufdosierung gezeigt werden⁷³. Dieser Effekt zeigte sich nicht bei HFpEF-Patienten⁷³.

1.2.6 NGAL

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) ist ein Biomarker eines tubulären Nierenschadens⁷⁴. Die Tubulusepithelzellen der Niere haben den größten Sauerstoffbedarf der Niere und sind damit besonders vulnerabel für eine renale Hypoxie⁷⁴. Marker tubulärer Nierenschäden werden deswegen als Marker für eine Verschlechterung der HF mit Abnahme der Gewebepfusion und Hypoxie gesehen⁷⁴. Im Rahmen eines akuten Nierenversagens können NGAL-Konzentrationen sowohl im Urin als auch im Plasma um das Tausendfache ansteigen, was NGAL zu einem starken diagnostischen Marker des Nierenschadens macht⁷⁵.

Für die akute HF konnte für NGAL ein zusätzlicher prognostischer Wert zu BNP und anderen Markern der Nierenfunktion gezeigt werden^{76,77}. Für die chronische HF haben NGAL im Urin und Plasma einen prädiktiven Wert für die Mortalität gezeigt⁷⁸.

1.3 Biologische Variabilität

Um serielle Messungen von Biomarkern zu interpretieren ist es entscheidend, die biologische (BV) sowie die analytische Variabilität (AV) zu kennen⁷⁹. Die biologische Va-

riabilität, als intra-individuelle Variation, beschreibt die zufällige biologische Schwankung eines Biomarkers über die Zeit um einen homöostatischen Mittelwert⁸⁰. Die analytische Variabilität beschreibt die Variabilität, welche beim Messen der gleichen Probe durch den verwendeten Assay entstehen kann. Die biologische und analytische Variabilität sind ein zentrales Kriterium für Biomarker der HF, welches 2011 von De Kimmande und Januzzi aufgestellt wurde²².

Das Konzept der BV wurde in den 1980ern von Fraser und Harris entwickelt⁸⁰. Bis heute wird das Konzept der BV weiterentwickelt und Fragen zur Modalität der Bestimmung sind weiter unbeantwortet⁸¹. Besonders im Zentrum steht die Frage, in welchen Probanden die BV bestimmt werden sollte. Die Bestimmung der BV in gesunden Probanden wird einerseits befürwortet, da dem Konzept von Krankheit ein stetiger Fluss von Zunahme und Abnahme inhärent ist und ein Status-Quo kaum zu erreichen ist^{79,82}. Gegenüberstehend wird vertreten, dass die Bestimmung der BV idealerweise in kranken Patienten in stabilem Zustand gemessen wird^{83,84}. Das Argument ist, dass die Anwendung der BV im klinischen Kontext an der jeweiligen Krankheitskohorte stattfindet und die Bestimmung in der Gruppe einen realistischeren Wert der BV ergibt^{83,85,86}. Es wird formuliert, dass die Bestimmung an kranken Patienten zu einer Reduktion der Rate an falsch-positiven Konzentrationsänderungen führe⁸³. In den Studien zu Biomarkern der HF wurde die BV entweder an gesunden oder HF-Patienten (HFREF) bestimmt^{79,85,87,88,89,90}. Im Unterschied zu den Vorarbeiten wird in der Arbeit von Meijers et al. die BV von Biomarkern in gesunden Probanden und HFREF-Patienten bestimmt und verglichen⁹¹. Für die Biomarker NT-proBNP, sST2, Galectin-3 und hsTnT unterscheidet sich in der Arbeit die BV zwischen gesunden Probanden und HFREF-Patienten statistisch nicht signifikant⁹¹.

Die in Studien publizierten BVs zu den in dieser Arbeit untersuchten Biomarker werden in der Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Literatur BV von Biomarkern der HF

Publikation	Zeitintervall	Anzahl Blutentnahmen	BV
NT-proBNP			

Gesund			
Wu et al., Am J Cardiol, 2003 ⁹²	1 Woche	4x	33,3%
Melzi d'Eril et al., Clinical Chemistry, 2003 ⁹³	4 Tage	4x	9%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	4 Wochen	5x	25,1%
HFrEF			
Bruins et al., Clinical Chemistry, 2004 ⁹⁰	1 Tag 1 Woche	6x	20% 35%
Schou et al., Eur J Heart Fail 2007 ⁸⁵	1 Woche	2x	8%
Schimmel et al., Clin Chem 2016 ⁸⁷	1 Tag 1 Woche	6x	18% 30%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	3 Wochen	3x	21,8%
hsTnT			
Gesund			
Frankenstein et al., Clin Chem 2011 ⁹⁴	1 Woche	4x	30%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	4 Wochen	5x	16,0%
Täger et al., Clin Biochem. 2019 ⁹⁵	1 Jahr	2x	15,9%
HFrEF			
Frankenstein et al., Clin Res Cardiol, 2011 ⁸⁶	2 Wochen	4x	7,2%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	3 Wochen	3x	11,1%
Dialysepflichtige Niereninsuffizienz			
Fahim et al., Chem Lab Med 2015 ⁹⁶	1 Woche 1 Monat	5x 4x	7,9% 12,6%
sST2			
Gesund			
Dieplinger et al., Clin Chim Acta 2009 ⁹⁷	1 Woche	6x	11%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	4 Wochen	5x	10,5%
HFrEF			
Wu et al., Am Heart J 2013 ⁸⁸	1 Woche	8x	11%
Piper et al., Am J Cardiol. 2016 ⁹⁸	1 Monat	2x	12%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	3 Wochen	3x	15%
Galectin-3			
Gesund			

Schindler et al., Clinical Chemistry, 20016 ⁹⁹	4 Tage 4 Wochen	5x 8x	4,5% 5,5%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	4 Wochen	5x	8,1%
HFrEF			
Wu et al., Am Heart J 2013 ⁸⁸	1 Woche	8x	20%
Schindler et al., Clinical Chemistry, 20016 ⁹⁹	4 Tage 4 Wochen	5x 8x	7,1% 7,7%
Meijers et al., Eur J Heart Fail 2017 ⁹¹	3 Wochen	3x	8,1%
Copeptin			
Für Copeptin konnten auf pubmed keine Daten zur biologischen Variabilität gefunden werden.			
NGAL			
NGAL im Plasma an Patienten mit Niereninsuffizienz			
Carter et al., Clin Chem 2016 ¹⁰⁰	1 Woche	6x	16,1%
NGAL im Urin an gesunden Probanden			
Delanaye et al., Clin Chim Acta 2011 ¹⁰¹	1 Tag	10x	84%
Helmersson-Karlqvist et al., Clin Biochem 2013 ¹⁰²	1 Tag	10x	27%

Zu keinem der HF-Biomarker ist eine BV in HFpEF-Patienten bestimmt worden, was eine bedeutende analytische Lücke darstellt. Aktuell besteht keine Evidenz, ob die in HFrEF-Patienten generierte BV auch für HFpEF-Patienten angewendet werden kann. Bei unterschiedlichen pathophysiologischen Prozessen sowie Biomarker-Profilen scheint eine Differenzierung zwischen den beiden HF-Entitäten relevant⁹. Eine besondere klinische Bedeutung hat die Bestimmung der BV von NT-proBNP in HFpEF, als Bestandteil der amerikanischen und europäischen HF-Leitlinie^{1,26}. Die BV von Copeptin ist bislang nicht bekannt. Eine Konzentrationsänderung in seriellen Biomarkermessungen als klinisch signifikant zu beurteilen ist daher nicht fundiert.

1.4 Fragestellung

1. Das Hauptziel der Arbeit ist es die BV von NT-proBNP, hsTnT, sST2, Galectin-3, Copeptin und NGAL in den Studiengruppen HFrEF, HFpEF, aHt und Diabetische Nephropathie (DN) zu bestimmen. Von besonderem Interesse ist die Bestimmung der BV von HF-Biomarkern in Patienten mit HFpEF.

In dieser Arbeit wurden mit NT-proBNP, hsTnT, sST2, Galectin-3, Copeptin und NGAL sechs Biomarker der HF ausgewählt, welche relevante pathophysiologische Prozesse der HF abbilden (siehe Abbildung 1). Die ausgewählten Biomarker haben eine klinische Relevanz, insbesondere auch für serielle Messungen (siehe Kapitel zu Biomarkern).

Im klinischen Kontext findet die Bestimmung von Biomarkern der HF häufig an multimorbiden Patienten statt. Es ist bislang nicht bekannt, inwieweit Komorbiditäten die BV von HF-Biomarkern beeinflussen. Arterielle Hypertonie ist ein Risikofaktor sowie eine häufige Komorbidität von HFrEF und HFpEF¹. In der Arbeit soll die BV von HF-Biomarkern in einer Studiengruppe mit arterieller Hypertonie und Ausschluss einer strukturellen Herzerkrankung bestimmt werden.

Es gibt keine Daten zu der BV von Biomarkern der HF in einer stabilen multimorbiden Patientengruppe. Diabetes mellitus und eine Niereninsuffizienz sind häufige Komorbiditäten der HF^{103,104,105,106}. In dieser Arbeit soll die BV in einer stabilen multimorbiden Patientengruppe mit diabetischer Nephropathie ermittelt werden.

2. Neben der Bestimmung der BV in den Studiengruppen ist der Vergleich der BVs zwischen den Studiengruppen das untergeordnete Ziel der Studie.

2 Methodik

Die Biomarker-Substudie ist Teil der EndoCEC-Studie, ein Investigator Initiated Trial. Die EndoCEC-Studie ist eine prospektive, monozentrische Beobachtungsstudie mit dem Ziel die Reliabilität von nicht-invasiven kardiologischen Messverfahren in den Studiengruppen HFpEF, HFrEF, aHt und DN zu untersuchen. Die Biomarker-Substudie hat das Ziel die biologische Variabilität der Biomarker NT-proBNP, Galectin-3, sST2, hsTnT, Copeptin und NGAL in den genannten Studiengruppen zu bestimmen.

Die Studie wurde in der kardiologischen Studienambulanz am Campus Virchow Klinikum der Charité-Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Das Studienprotokoll sowie die Amendements wurden von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité bewilligt. Die Durchführung der Studie erfolgte gemäß der Deklaration von Helsinki und den GCP-Richtlinien. Die Studie wurde unter clinicaltrials.gov unter NCT02299960 registriert.

Zwischen August 2014 und September 2015 wurden 171 Patienten aus der kardiologischen Ambulanz der Charité-Universitätsmedizin Berlin für die Studie rekrutiert. Insgesamt wurden 101 Patienten in die Studie eingeschlossen. Für alle Patienten liegt nach ausführlicher Aufklärung eine schriftliche Einverständniserklärung vor.

2.1 Studienablauf

Gemäß dem Studienprotokoll folgte der Screeningvisite die Visite 1 und Visite 2 innerhalb von sieben Tagen. In der Screening-Visite erfolgte die Zuordnung der Studiengruppe. Von einem Studienarzt wurden die Patienten auf die Einschlusskriterien der vier Studiengruppen geprüft. Für Zuordnung der Studiengruppe umfasste die Screening-Visite routinemäßig eine detaillierte Anamnese, eine körperliche Untersuchung, eine Blutentnahme mit laborchemischem Screening, ein EKG und eine Echokardiographie. Für die Studiengruppe HFpEF mit dem Einschlusskriterium (maximal Sauerstoffaufnahme VO_2 unter Belastung $< 20\text{ml/kg/min}$) gehörte ebenfalls eine Spiroergometrie zum Screening. Sowohl die EKG-Auswertung, die Echokardiographie als auch die Spiroergometrie wurden von demselben Arzt durchgeführt. Für die Echokardiographie wurde dasselbe Gerät verwendet: Vivid i, General Electric Medical Systems (Milwaukee, Wisconsin).

Die Visite 1 und Visite 2 umfasst die nicht-invasiven kardiologischen Messverfahren.

2.2 Studienkohorte

Durch die Einschlusskriterien werden die Studienpatienten zu den vier Patientengruppen zugeordnet: HFrEF, HFpEF, aHt und DN. Das Ziel der Kriterien ist eine Differenzierung der Herzinsuffizienzpatienten zwischen HFrEF und HFpEF sowie ein Herausstellen von Merkmalen für die Vergleichsgruppen aHt und DN. Die Ein- und Ausschlusskriterien sollen zudem sicherstellen, dass die Studienpatienten sich aktuell in einem klinisch stabilen Zustand ihrer Erkrankung befinden. Folgend sind die Ein- und Ausschlusskriterien für die EndoCEC-Studie aufgeführt.

Für alle eingeschlossenen Patienten gelten folgende Kriterien:

- Alter zwischen 35 und 80 Jahren
- Klinisch stabil in den letzten 4 Wochen: anamnestisch (NYHA-Klassifikation) sowie keine Hospitalisierungen

Einschlusskriterien HFpEF

Die Einschlusskriterien für die Gruppe HFpEF sind:

- Vorliegen einer HFpEF (modifiziert nach Paulus et al.⁴): Baseline-Echokardiografie mit folgenden Befunden:
 - LVEF \geq 50% und:
 - Hospitalisation mit der Diagnose Herzinsuffizienz \leq 12 Monate und $E/e' > 8$ oder $E' < 8$ cm/s (medialer Mitralanulus)
 - oder
 - BNP \geq 100pg/ml oder NT-proBNP \geq 300pg/ml innerhalb der vorausgehenden 6 Monate
 - oder
 - LAVI (linksatrialer Volumenindex) > 28 ml/m² und $E/e' > 8$ oder $E' < 8$ cm/s (medialer Mitralanulus)
 - oder
 - Systolischer pulmonalarterieller Druck (PAPsys) > 40 mmHg und $E/e' > 8$ oder $E' < 8$ cm/s (medialer Mitralanulus)
- Durchführbarkeit einer ergometrischen Belastungsuntersuchung
- Sinusrhythmus
- VO_2 unter Belastung < 20 ml/kg/min

Einschlusskriterien HFrEF

Die Einschlusskriterien für die Gruppe HFrEF sind:

- Reduzierte Ejektionsfraktion in der transthorakalen Echokardiographie: LVEF \leq 45%
- NYHA I - III
- Optimierte individuelle Therapie der Herzinsuffizienz
- Keine intravenöse Applikation von Inotropika oder diuretischer Medikation sieben Tage vor dem Screening

Einschlusskriterien aHt

Die Einschlusskriterien für die Gruppe aHt sind:

- Diagnose einer arteriellen Hypertonie mindestens 6 Monate vor Studienteilnahme bei Ausschluss einer strukturellen Herzerkrankung: EF $>$ 55% und keine Hinweise auf HFpEF gemäß den oben genannten Kriterien
- Klinisch kein Hinweis auf eine koronare Herzerkrankung
- Durchführbarkeit einer ergometrischen Belastungsuntersuchung
- Stabile medikamentöse Therapie der arteriellen Hypertonie mindestens 4 Wochen vor Studienteilnahme
- Systolischer Blutdruck während der Screening-Visite $<$ 140mmHg unter antihypertensiver Medikation.

Einschlusskriterien Diabetische Nephropathie DN

Die Einschlusskriterien für die Gruppe DN sind:

- Diabetes mellitus Typ II
- GFR $<$ 90ml/min/1,73m² (CKD-EPI)
- Bekannte Diagnose einer Diabetischen Nephropathie oder
- Nephropathie mit
 - Makroalbuminurie (UACR $>$ 300mg/g Kreatinin) oder
 - Mikroalbuminurie (UACR 30-300 mg/g Kreatinin)

Ausschlusskriterien

Für alle Patienten der Studie gelten folgende Ausschlusskriterien:

- Geschäftsunfähigkeit

- Symptomatische koronare Herzerkrankung/Angina pectoris mit Canadian Cardiovascular Society grading of angina pectoris von > II
- Kürzlich zurückliegende Koronarintervention < 4 Wochen oder geplante Intervention/aortokoronare Bypass-Operation
- Myokardinfarkt innerhalb der letzten 3 Monate
- Schlaganfall innerhalb der letzten 3 Monate
- Relevantes Klappenvitium > II Grades
- Hypertrophe obstruktive oder infiltrative Kardiomyopathie (z.B.: Amyloidose)
- Komplexe kongenitale Herzerkrankung
- Aktive Myokarditis
- Signifikante Lungenerkrankung nach Ermessen des Prüfarztes
- Höhergradige Herzrhythmusstörungen nach Ermessen des Prüfarztes
- Geplante Änderung der Begleitmedikation während der Durchführung der Studie
- Geplante oder Zustand nach Herztransplantation
- Cardiac Resynchronisation Therapy implantiert innerhalb der letzten 3 Monate
- Implantierbarer Kardioverter/Defibrillator oder Herzschrittmacher-Implantation innerhalb der letzten 4 Wochen
- Unkontrollierte Hyper-/Hypotension (systolischer Blutdruck > 180mmHg oder diastolischer Blutdruck > 95mmHg)
- Teilnahme an einem Rehabilitationsprogramm
- Bekannte maligne Erkrankung oder eine Erkrankung mit einer Lebenserwartung < 1 Jahr
- Anämie mit Hämoglobin < 10mg/dl
- Unbehandelte klinisch signifikante Erkrankung der Schilddrüse

2.3 Visite 1 und 2

Nach Zuordnung zur Studiengruppe folgten die Visite 1 und 2 mit einem Abstand von minimal 4 Tagen und maximal 14 Tagen (median 7 Tage), in welchen jeweils wiederholt kardiologische Messverfahren durchgeführt worden sind. Zu den durchgeführten Messverfahren gehören: EndoPath (Messung der Volumenveränderung an einem Finger nach vorübergehender Stauung des Arms als Surrogatparameter für die Endothel-

funktion), NICOM (nicht-invasive Messung der Herzauswurfleistung mittels Bioreaktanz), 6-Minuten-Gehtest, Spirometrie, Spiroergometrie und eine Blutentnahme. Vor den Untersuchungen fanden jeweils eine detaillierte Anamnese sowie eine körperliche Untersuchung statt, welche das Ziel hatte einen klinisch stabilen Zustand sicherzustellen. Tabelle 1 zeigt die Kriterien für einen klinisch stabilen Zustand. Alle Studienteilnehmer sollten am Tag der Blutentnahme nüchtern sein und zuvor weder Tabak noch Koffein konsumiert haben. Die Regelmedikation der Studienteilnehmer konnte wie gewohnt eingenommen werden mit Ausnahme von Nitraten.

Das Blut, aus welchem die Biomarker bestimmt worden sind, wurde jeweils nach der Anamnese und der körperlichen Untersuchung entnommen. Alle weiteren Untersuchungen wurden nach der Blutentnahme durchgeführt. Am Tag der Visite 1 wurden zudem Fragebögen zu der Lebensqualität und dem Gesundheitszustand ausgefüllt: EuroQol 5 Dimensionen-Fragebogen (EQ-5D) und Short Form Gesundheitsfragebogen (SF-36).

Kriterien für einen klinisch stabilen Zustand im Beobachtungszeitraum

- Detaillierte Anamnese
 - keine Alteration der Symptome
 - kein Abweichen in der NYHA-Klassifikation
 - keine Infektionen
 - keine kardiovaskulären Ereignisse
- Körperliche Untersuchung
 - Ödeme, inspiratorische Rasselgeräusche, gestaute Jugularvenen: keine Änderung im Untersuchungsbefund
 - Blutdruck: keine Blutdruckdifferenz im MAP > 25mmHg zwischen Visite 1 und Visite 2
 - Gewicht (kein Gewichtsunterschied > 1kg zwischen Visite 1 und Visite 2)

2.4 Messung Biomarker

Nach Abnahme der Blutentnahmeröhrchen wurden diese pseudonymisiert und in einem -80°C Kühlschranks gelagert. Der -80°C Kühlschrank wird regelmäßig von der kardiologischen Studienambulanz auf Einhalten der Temperaturgrenze kontrolliert. Alle

Biomarker wurden zentral in einem Corelab (MLM Medical Labs GmbH, Moenchengladbach, Germany) bestimmt. Das Corelab war zu allen klinischen Daten verblindet. Zu dem jeweils verwendeten Assay wurde die analytische Variabilität (CVa – analytischer Coefficient of variation = analytische Variabilität) vom Corelab zur Verfügung gestellt. Die gemittelte CVa wurde aus dem Report des Assays entnommen. In Tabelle 2 sind die verwendeten Assay mit dem bereitgestellten CVa aufgelistet.

Tabelle 2: Analytische Varianz (CVa) der Biomarker-Assays

Biomarker	Assay	CVa
NT-proBNP	Electrochemoluminescence Immunoassay, Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Germany)	1,5%
Galectin-3	Quantikine Human Galectin-3 Immunoassay, R&D Systems (Minneapolis, USA)	5,6%
sST2	Quantikine ELISA for Human ST2/IL-1 R4, R&D Systems (Minneapolis, USA)	3,0%
hsTnT	Electrochemiluminescence Immunoassay, Roche Diagnostics (Mannheim, Germany)	1,2%
Copeptin	Brahms Copeptin Kryptor, Brahms (Hennigsdorf, Germany)	4,2%
NGAL	Kidney Panel 5 (human) 1 Kit, Meso Scale Discovery (Rockville, MD, USA)	9,4%

2.5 Statistik

Zur Berechnung der Varianz zwischen zwei quantitativen Messungen werden die Methoden von Fraser und Harris verwendet⁴. Der Coefficient of variation (CV) beschreibt das Verhältnis der Standardabweichung (SD) zu dem Mittelwert (Mean). Auf zwei Messungen an zwei Zeitpunkten angewendet ergibt sich der total coefficient of variation (CVt) für ein Individuum. Um den CVt der Studiengruppe zu bestimmen wurde der quadratische Mittelwert aus den individuellen CVt berechnet.

$$CVt = SD / Mean$$

Der CVt beinhaltet die analytische Variabilität (CVa) sowie die individuelle biologische Variabilität (CVi). Zur Bestimmung der intra-individuellen Variabilität wird die vom Assay entstehende CVa (siehe Tabelle 2) abgezogen:

$$CVi = (CVt^2 - CVa^2)^{1/2}$$

Zur klinischen Anwendung des CVi wird der Reference Change Value (RCV) verwendet. Der RCV bildet die CVa und CVi ab und gibt die kleinste prozentuale Konzentrationsänderung an, welche für eine biologisch signifikante Änderung notwendig ist⁸². Es wird ein Z-Wert von 1,96 verwendet, welcher ein Konfidenzintervall von 95% beschreibt.

$$RCV = Z \times 2^{1/2} \times (CVa^2 + CVi^2)^{1/2}$$

Eine Konzentrationsänderung von seriellen Biomarkermessungen ist statistisch signifikant, wenn das Delta größer als der RCV ist.

Der Gruppenvergleich wurde mit dem One-way-ANOVA-Test berechnet. Mit einem p-Wert < 0,05 wurde der Unterschied als signifikant angenommen. Für normalverteilte Werte wird der Mittelwert mit Konfidenzintervall angegeben, für nicht-normalverteilte Werte wird der Median mit Quartilen verwendet.

Alle Berechnungen wurden mit der Software Prism 8 (GraphPad Software) und Excel durchgeführt. Die Diagramme wurden mit Prism 8 erstellt.

3 Ergebnisse

3.1 Demographie

Im Zeitraum von August 2014 bis September 2015 wurden 171 Patienten für EndoCEC gescreent. Von den 171 Patienten haben 101 die Einschlusskriterien erfüllt bzw. Ausschlusskriterien nicht erfüllt und konnten in die EndoCEC-Studie eingeschlossen werden. Von den 101 Patienten waren die Proben von 5 Patienten nicht für die Bestimmung der Biomarker verwertbar. Die 5 Patienten wurden deshalb für die Biomarker-Substudie ausgeschlossen. Die Kohorte für die Biomarker-Substudie setzte sich wie folgt zusammen:

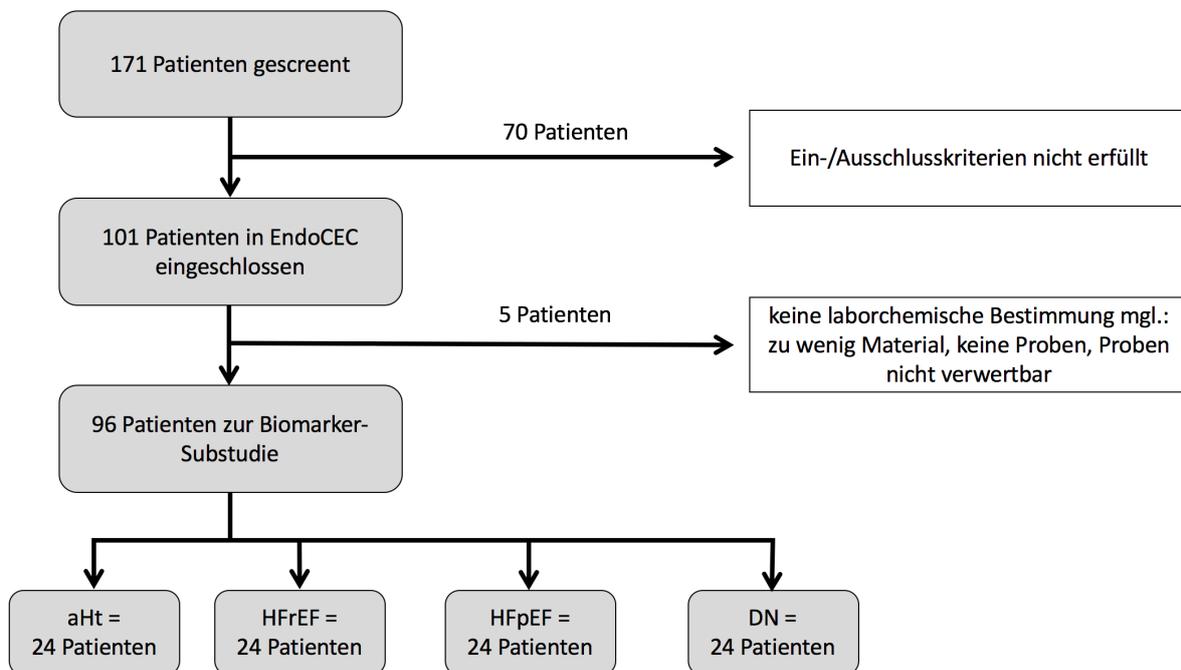


Abbildung 2: Kohorte Biomarker Substudie.

aHt = arterieller Hypertonus. HFpEF = Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion, HFrEF = Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion, DN = Diabetische Nephropathie, EndoCEC = Name der prospektiven Studie.

Für die Biomarker hsTnT, NT-proBNP, Galectin-3 und Copeptin konnte aufgrund einer Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze des Assays (LLOD – Lower Limit of Detection) oder aufgrund von Messfehlern bei wenigen Patienten keine Bestimmung erfolgen. Die Tabelle 3 zählt die Patienten auf, bei welchen eine quantitative Bestimmung des jeweiligen Biomarkers möglich war. Bei den gelisteten Patienten in Klammern

konnte keine quantitative Bestimmung erfolgen. Eine Verwendung der Probe zur Berechnung der biologischen Variabilität ist ohne quantitative Bestimmung des Biomarkers nicht möglich.

Tabelle 3: Patienten mit quantitativer Bestimmung über der LLOD

In Klammern ist die Anzahl an Patienten ohne quantitative Konzentrationsbestimmung angegeben.

	aHt (n = 24)	HFrEF (n = 24)	HFpEF (n = 24)	DN (n = 24)
NT-proBNP	20 (-4)	24	24	24
Galectin-3	24	24	22 (-2)	20 (-4)
sST-2	24	24	24	24
hsTnT	14 (-10)	22 (-2)	21 (-3)	24
Copeptin	24	24	24	23 (-1)
NGAL	24	24	24	24

NT-proBNP < 23ng/l. hsTnT < 3ng/l. Galectin-3 und Copeptin: keine quantitative Bestimmung durch Messfehler des Assays.

Die demographischen Daten der Studienpopulation sind in der Tabelle 4 zusammengefasst. Die Charakteristika der Studienkohorte werden in den vier Studiengruppen, bestehend aus jeweils 24 Patienten, dargestellt.

Tabelle 4: Charakteristika Studienkohorte

Charakteristikum	HFrEF	HFpEF	aHt	DN
n	24	24	24	24
Alter in Jahren	62 ±11	69 ±8	59 ±7	70 ±9
Frauen	20%	42%	42%	13%
RRsys (mmHg)	128 ±22	135 ±20	130 ±13	140 ±19
RRdia (mmHg)	78 ±12	78 ±9	86 ±8	79 ±12
Herzfrequenz (bpm)	69 ±8	70 ±12	69 ±10	74 ±16
BMI (kg/m ²)	29 ±4	28 ±4	29 ±6	31 ±5
Diabetes mellitus	7 (29%)	10 (42%)	5 (21%)	24 (100%)
Raucher aktuell	8 (32%)	2 (8%)	2 (8%)	5 (21%)

HF, NYHA				
keine HF	0 (0%)	0 (0%)	24 (100%)	6 (25%)
I	6 (25%)	5 (21%)	0 (0%)	2 (8%)
II	13 (54%)	16 (67%)	0 (0%)	9 (38%)
III	5 (21%)	3 (13%)	0 (0%)	7 (29%)
Echokardiographie				
LVEF	35 ±7	58 ±5	62 ±5	53 ±10
e/é	14,0 ± 7,3	11,7 ± 4,9	10,6 ± 3,0	11,2 ± 4,8
E/A	1,2 ± 0,6	1,3 ± 0,9	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,7
Medikation				
Schleifendiuretikum	18 (75%)	5 (21%)	5 (21%)	16 (67%)
ACE-Hemmer/ARB	23 (96%)	21 (88%)	23 (96%)	23 (96%)
Beta-blocker	24 (92%)	19 (79%)	7 (29%)	19 (79%)
MRA	11 (46%)	4 (17%)	2 (8%)	3 (12,5%)
Labor				
Kreatinin (mmol/l)	0,9 (0,8 / 1,2)	0,8 (0,8 / 1,3)	0,8 (0,6 / 1,0)	1,4 (1,1 / 2,1)
eGFR (ml/min)	76 ± 19	75 ± 15	85 ± 10	51 ± 21
LDL-Cholesterin	103 (79 / 129)	98 (78 / 118)	134 (117 / 152)	90 (72 / 120)
HbA1C (%)	5,8 (5,5 / 6,3)	5,9 (5,6 / 6,2)	5,5 (5,3 / 6,0)	7,2 (6,5 / 7,8)
NT-proBNP (ng/l)	511 (196 / 1297)	217 (84 / 351)	76 (45 / 107)	355 (230 / 1969)

Werte sind angegeben als Mittelwert ± Standardabweichung, Median mit dem 1. und 3. Quartil oder Häufigkeiten als n (mit Anteil in %).

RRsys = systolischer Blutdruck, RRdia = diastolischer Blutdruck, bpm = Herzschläge pro Minute, n = Anzahl, BMI = Body Mass Index, NYHA = New York Heart Association Score, LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion, ACE-Hemmer = Medikamente mit Hemmung des Angiotensin Converting Enzyms, ARB = Angiotensin-II Rezeptorblocker, MRA = Aldosteron-Rezeptorantagonisten, eGFR = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate.

Die Herzinsuffizienzgruppen HF_rEF und HF_pEF glichen sich in der klinischen Ausprägung mit einem durchschnittlichen NYHA-Score von 2,0 und 1,9. Entsprechend der Einschlusskriterien lag die mediane LVEF mit 35% bei den HF_rEF-Patienten deutlich unter der LVEF der HF_pEF-Patienten mit 58%. Die Medikation der HF_rEF- und HF_pEF-

Gruppen war vergleichbar, mit dem Unterschied, dass in der HF_rEF-Gruppe deutlich häufiger (75% zu 21%) Schleifendiuretika verwendet wurden.

In der Studiengruppe Diabetische Nephropathie war das mediane Alter (70 Jahre) sowie der BMI (31kg/m²) der Höchste unter den Studiengruppen. Die eingeschränkte Nierenfunktion stellte sich mit einer medianen GFR von 51ml/min dar und bei bestehenden Diabetes mellitus Typ 2 lag der mediane HbA1C bei 7,2%. Für die Studiengruppe DN ist hervorzuheben, dass bei einem relevanten Teil Anzeichen einer Herz-erkrankung vorlagen. Der durchschnittliche NYHA-Score war 1,7, das mediane NT-proBNP war mit 355ng/l deutlich erhöht. Die mediane LVEF war mit 53% nur leichtgradig eingeschränkt.

3.2 Biomarker - Konzentrationen

In Tabelle 5 sind die Konzentrationen der Biomarker in den vier Studiengruppen aufgeführt. Angegeben ist der Median mit den Quartilen 1 und 3.

Tabelle 5: Biomarker Konzentrationen

	HF _r EF	HF _p EF	aHt	DN	p-Wert
NT-proBNP (ng/l)	511 (196 / 1297)	217 (84 / 351)	76 (45 / 107)	355 (230 / 1969)	< 0.0001
Galectin-3 (ng/ml)	7,0 (5,7 / 9,4)	6,7 (5,0 / 8,6)	6,6 (5,2 / 7,7)	8,5 (6,8 / 11,8)	< 0.0001
sST2 (pg/l)	14,0 (10,9 / 18,6)	15,0 (12,1 / 18,3)	14,2 (11,8 / 20,3)	17,6 (14,3 / 19,8)	0.695
hsTnT (ng/l)	14,4 (7,1 / 22,3)	7,3 (5,7 / 11,3)	5,8 (4,6 / 7,6)	27,1 (12,1 / 37,2)	< 0.0001
NGAL (ng/ml)	203 (152 / 249)	211 (154 / 247)	165 (141 / 228)	301 (226 / 507)	< 0.0001
Copeptin (pmol/l)	6,6 (3,6 / 19,9)	7,2 (4,1 / 10,4)	5,7 (3,4 / 9,5)	18,5 (9,7 / 30,2)	< 0.0001

Die Konzentrationen werden als Median angegeben, in Klammern sind die Quartile 1 und 3 angegeben.

3.3 Biologische Variabilität

In der Tabelle 6 wird der CV_i (= BV) und der RCV aller untersuchten Biomarker in den vier Studiengruppen angegeben. Die CV_i der jeweiligen Biomarker wurde in den Studiengruppen verglichen.

Tabelle 6: CVi und RCV der Biomarker in den Studiengruppen.

Biomarker	CVi (=BV)					RCV			
	HFrEF	HFpEF	aHt	DN	p-Wert	HFrEF	HFpEF	aHt	DN
NT-proBNP	24%	28%	36%	25%	0.52	67%	77%	100%	70%
Galectin-3	18%	8%	7%	7%	0.44	53%	27%	26%	25%
sST2	11%	10%	12%	8%	0.75	32%	29%	34%	24%
hsTnT	14%	15%	22%	12%	0.80	40%	42%	61%	33%
NGAL	13%	14%	12%	8%	0.96	45%	46%	41%	34%
Copeptin	23%	33%	42%	19%	0.01	66%	92%	117%	55%

CVi = intra-individueller Variationskoeffizient (= biologische Variabilität), RCV = Reference change value

In der Abbildung 3 werden die Unterschiede der BV im Gruppenvergleich veranschaulicht. Der CVi wird als Dezimalzahl auf der y-Achse angegeben.

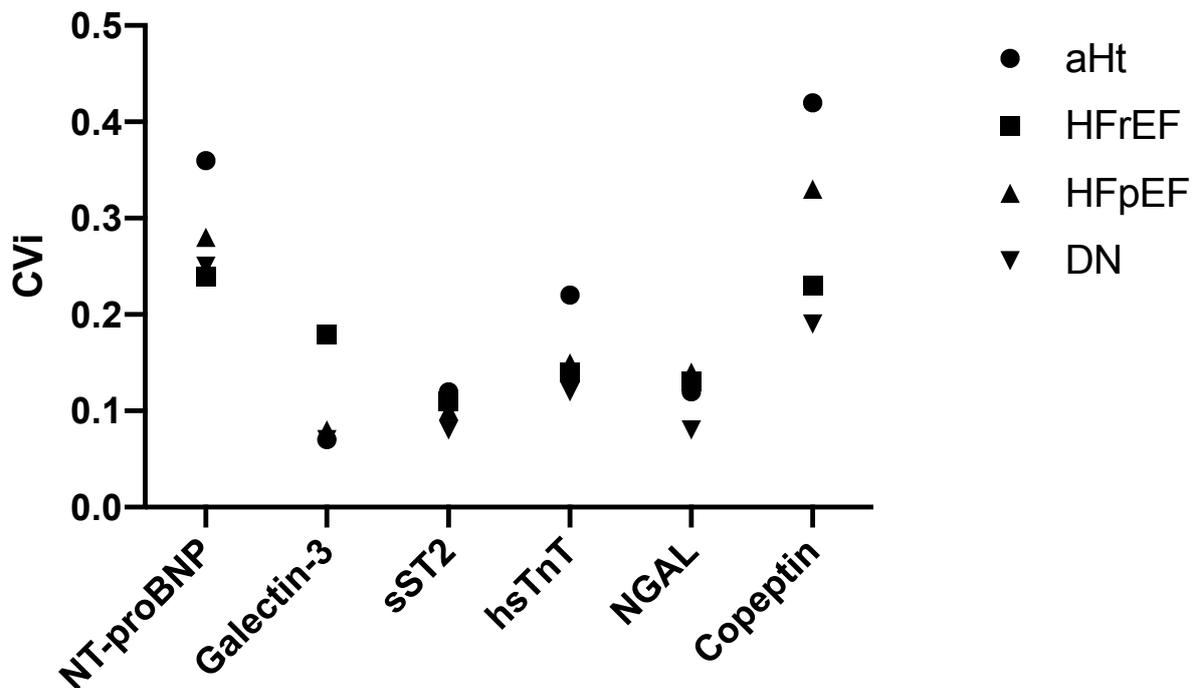


Abbildung 3: BV in den Studiengruppen.

CVi = biologische Variabilität, aHt = arterielle Hypertonie, HFrEF = Herzinsuffizienz

mit eingeschränkter Ejektionsfraktion, HFpEF = Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion, DN = Diabetische Nephropathie.

Der Biomarker NT-proBNP hatte in der Gruppe aHt die größte BV (36%) und in der Gruppe HFrEF die geringste BV (24%). Für HFrEF (24%) und HFpEF (28%) war der Unterschied der BV gering. In der Gruppe DN, in welcher ebenfalls ein relevanter Anteil herzkrank war, war die BV mit 25% zu den HF-Gruppen vergleichbar gering.

Für den Biomarker Galectin-3 war die BV in den Gruppen aHT (7%), HFpEF (10%) und DN (7%) vergleichbar gering. Deutlich höher war hingegen die BV für die Gruppe HFrEF (18%).

Die BV von sST2 unterschied sich mit der höchsten BV in der Gruppe aHT (12%) und der geringsten BV in der Gruppe DN (8%) kaum. Die Unterschiede waren ebenfalls statistisch nicht signifikant. Die BV für NGAL war zwischen den Gruppen ebenfalls vergleichbar und gering (von 8% bis 14%).

Für den Biomarker hsTnT konnte in den Gruppen HFrEF, HFpEF und DN eine vergleichbar geringe BV bestimmt werden. Die höchste BV von hsTnT wurde in der Gruppe aHt (22%) gemessen.

Deutlich unterschieden sich die BVs in den Studiengruppen für Copeptin. Mit der höchsten bestimmten BV in der Gruppe aHT (42%) und einer BV von 19% in der Gruppe DN war ebenfalls die BV-Differenz zwischen Krankheitsgruppen bei Copeptin am höchsten. Die Unterschiede der BV von Copeptin in den Studiengruppen waren statistisch signifikant.

4 Diskussion

Wesentliche Ergebnisse

1. In dieser Arbeit wird die BV von NT-proBNP, hsTnT, Galectin-3, sST2, Copeptin, und NGAL in Patienten mit HFrEF, HFpEF, aHt und DN bestimmt. Erstmals wird die BV der Biomarker in HFpEF-Patienten beschrieben. Ebenfalls neu ist die Beschreibung der BV von Copeptin. Zur besseren Interpretation von seriellen Biomarkermessungen sind genauere Kenntnisse zur BV der Biomarker von großem analytischem Nutzen, sowohl im klinischen Alltag als auch in der Planung von Biomarkerstudien.

2. Im Vergleich der BV der Biomarker in den Studiengruppen hat sich allein die BV von Copeptin signifikant unterschieden. Im Gruppenvergleich der anderen Biomarker haben sich zum Teil deutliche Differenzen zwischen der minimalen und maximalen BV gezeigt, welche statistisch im Vergleich nicht signifikant waren. Für einen Gruppenvergleich der BV in den Studiengruppen ist die Patientenzahl zu gering. Die Gestaltung der Studie war primär die BV in den Studiengruppen zu bestimmen.

NT-proBNP

Erstmals wird in dieser Arbeit die BV von NT-proBNP in HFpEF-Patienten beschrieben (28%), welche mit der BV in HFrEF-Patienten (24%) vergleichbar ist. Dieses Studienergebnis gibt damit eine Evidenz, die BV von HFrEF-Patienten ebenfalls auf HFpEF-Patienten anzuwenden^{90,91,92,93}. Mit NT-proBNP als Teil der europäischen und amerikanischen Leitlinien und häufiger Verwendung von seriellen Biomarkermessungen in der klinischen Routine stellt das Ergebnis eine wichtige Information zur Interpretation der seriellen Messungen dar²¹.

Die in dieser Studie bestimmten BVs (min. 24%, max. 36%) liegen in dem Rahmen der zuvor in der Literatur publizierten wöchentlichen BVs für NT-proBNP, wie Meijers et al. mit 22% in stabilen HFrEF-Patienten oder Wu et al mit 35% in gesunden Probanden^{90,91,92,93}. Interessant ist, dass die BV von NT-proBNP in der multimorbiden Studiengruppe DN nicht höher ist. Eine Niereninsuffizienz und Diabetes mellitus scheinen die BV von NT-proBNP nicht in einem größeren Ausmaß zu beeinflussen.

Wie bei Meijers et al. im Vergleich zwischen stabilen HF-Patienten und gesunden Probanden sind in dieser Studie die Unterschiede der BV in den Studiengruppen statistisch nicht signifikant⁹¹. Auffällig ist jedoch die hohe Differenz von 11% zwischen der geringsten (HF_{rEF}, 24%) und der größten BV (aHt, 36%). Die in Vorstudien ermittelte BVs mit wöchentlichem Messintervall unterscheiden sich ebenfalls um bis zu 22%^{90,91,92}. Eine Erklärung hierzu gibt es bislang nicht. Der Gruppenvergleich in dieser Arbeit zeigt, dass in Patienten ohne Herzerkrankung (Gruppe aHt) die BV höher ist. Eine Tendenz, welche sich ebenfalls bei Meijers et al. zeigt (25% in Gesunden im Vergleich zu 22% in HF). NT-proBNP wird als Reaktion auf eine erhöhte Volumenbelastung des Herzens ausgeschüttet. Als idealer Biomarker zum Verlaufsmonitoring würde eine Konzentrationsänderung von NT-proBNP ebenfalls eine Änderung der Volumenbelastung bedeuten. In Vorstudien konnten darüber hinaus Stimuli einer Konzentrationsänderung von NT-proBNP gezeigt werden: paroxysmales Vorhofflimmern¹⁰⁷, Angina pectoris¹⁰⁸, veränderte Salzzufuhr¹⁰⁹, Veränderungen der Herzfrequenz¹¹⁰ und Infektionen¹¹¹. Für die Studienpopulation könnte ein Vorliegen physiologischer Stimuli zu der BV beitragen. Möglicherweise haben Veränderungen der Herzfrequenz oder der Salzzufuhr größeren Einfluss auf die relative Konzentrationsänderung bei Patienten ohne strukturelle Herzerkrankung und bedingen damit eine höhere BV in Patienten mit aHt.

Um die unterschiedlichen BVs besser zu verstehen und um Einflussfaktoren auf die BV zu identifizieren, sind weitere Studien mit entsprechendem Studiendesign notwendig.

hsTnT

hsTnT ist ein sensitiver und spezifischer Marker für eine Myokardschädigung⁴². In HF-Patienten kann die Myokardschädigung durch eine myokardiale Ischämie bei KHK oder unabhängig davon durch pathophysiologische HF-Prozesse wie neurohumorale Überstimulation, Inflammation oder Apoptose bedingt sein^{22,48,49}.

Die in der Literatur beschriebenen BVs werden durch die Ergebnisse dieser Arbeit (BV in DN = 12%, BV in aHt = 22%) validiert^{86,99}. Meijers et al. haben in HF_{rEF}-Patienten eine höhere BV (11%) als in gesunden Probanden 16% gefunden⁹¹. Gleicher Unterschied wurde ebenfalls in den Arbeiten von Frankenstein et al. gefunden^{86,94}. Simultan

ist in dieser Arbeit die BV in Patienten mit aHt und Ausschluss einer strukturellen Herz-erkrankung höher (22%) als in den HF-Gruppen (HFrEF 14% und HFpEF 15%) und der multimorbiden DN-Gruppe (12%). Eine KHK ist bei HFrEF-Patienten die häufigste Genese³. Mit der Vorstellung einer fluktuierenden koronaren Durchblutung wäre in der Gruppe HFrEF eine höhere BV zu erwarten. Die im Vergleich niedrigere BV in Patienten mit HFrEF ist daher ein überraschendes Ergebnis. Frankenstein et al. haben gezeigt, dass die BV bei Patienten mit hsTnT-Konzentrationen unterhalb der 99.-Perzentile des Assays (< 14ng/l) eine höhere BV haben¹¹². Eine Korrelation zwischen der hsTnT-Konzentration und der BV konnte jedoch im zeitlichen Verlauf nicht gefunden werden⁸⁶.

Einschränkend ist für das Ergebnis zur BV in aHt-Patienten in dieser Arbeit zu erwähnen, dass dessen Reliabilität eingeschränkt ist. In der Studiengruppe aHt war die hsTnT-Konzentration in 10 Proben unterhalb des LLOD des Assays. Ohne quantitative Konzentrationsbestimmung konnten die Patienten nicht zur Generierung der BV verwendet werden. Mit 14 Patienten ist in der aHt-Gruppe die Reliabilität zur Generierung der BV am geringsten. Nach einer Powerberechnung anhand von Konfidenzintervallen von Røraas et al. ist in der genannten Konstellation die Wahrscheinlichkeit die BV zu bestimmen 80%¹¹³.

Ebenso bemerkenswert ist die niedrige BV von hsTnT in der DN-Studiengruppe (12%), welche vergleichbar mit der bekannten wöchentlichen BV in Dialysepatienten (7,9%) ist⁹⁶. Höhere hsTnT-Konzentrationen sind unabhängig mit einer verschlechterten Nierenfunktion und einem Diabetes mellitus assoziiert¹¹⁴. Dennoch ist in Patienten mit Diabetes mellitus und Niereninsuffizienz die BV von hsTnT nicht erhöht.

Abschließend ist mit Betrachtung des RCV in HFpEF- (42%), HFrEF- (40%) und multimorbiden Patientin mit DN (33%) eine hsTnT-Dynamik über 50% innerhalb einer Woche nicht mit der biologischen Variabilität zu erklären. Eine wöchentliche hsTnT-Dynamik von 50% sollte folgend als klinisch signifikanter Myokardschaden beurteilt werden.

sST2

Die BV von sST2 unterscheidet sich nicht zwischen HFrEF, HFpEF, DN und aHt und ist in allen Krankheitsgruppen gering mit minimal 8% bis maximal 12%. Damit werden die berichteten BVs in gesunden Probanden und stabilen HFrEF-Patienten bestätigt^{88, 91,97,115}. sST2 ist ein Biomarker für myokardialen Stress und Mediator von myokardialer

Remodellierung und Fibrosierung¹¹⁶. Mit einem RCV von 32% in HFrEF-Patienten und 29% in HFpEF-Patienten ist bereits eine geringe wöchentliche Konzentrationsänderung als klinisch signifikant zu bewerten. Mit einer RCV von 24% gilt für die multimorbide DN-Gruppe dazu keine Einschränkung.

Mit der geringen und konsistenten BV von sST2 in Vorstudien als auch in den Studiengruppen dieser Arbeit zeigt sich analytische Wert von sST2 zum Verlaufsmonitoring.

Galectin-3

Galectin-3 hat eine vergleichbar niedrige BV in den Gruppen aHt (7%), HFpEF (8%) und DN (7%), welche sich ebenfalls mit den wöchentlichen BVs zu gesunden oder HF-Probanden der Literatur deckt^{88,99}. Als Ausreißer ist die BV in HFrEF in dieser Arbeit mit 18% mehr als doppelt so hoch als in den Vergleichsgruppen. Für gesunde Probanden wurde eine vergleichbar hohe BV von Mueller et al. beschrieben (20%)⁸⁸. Schindler et al. hingegen haben deutlich geringere BVs für Galectin-3 in Gesunden (5,5%) und HF-Patienten (7,7%) bestimmt⁹⁹. Eine offensichtliche methodische Erklärung für die Differenz der BV in Vorstudien gibt es nicht. In dieser Arbeit ist Galectin-3 der einzige Marker, welcher eine in der Gruppe HFrEF eine höhere BV hat. Galectin-3 ist ein Biomarker der myokardialen Fibrosierung und Remodellierung⁶³. sST2 zeigt in dieser Arbeit keinen Ausreißer in der HFrEF-Gruppe. Eine Erklärung für die abweichende BV von Galectin-3 ergibt sich aus dieser Arbeit nicht. Deshalb sind für Galectin-3 weitere Untersuchungen notwendig, um die divergierende BV besser zu verstehen und um Faktoren zu identifizieren, welche die BV von Galectin-3 beeinflussen.

Copeptin

Copeptin wird als Reaktion auf Hypovolämie und Änderungen der Plasmaosmolarität freigesetzt⁶⁷. Obwohl sich der Nutzen von seriellen Copeptin Messungen sowie das Potential zum Therapiemonitoring gezeigt hat, gab es zuvor keine Daten zur BV von Copeptin^{70,71,72}. In dieser Arbeit wird erstmals die BV von Copeptin in Patienten mit HFrEF, HFpEF, aHt und DN beschrieben. Die BV von Copeptin ist hoch und unterscheidet sich signifikant zwischen den Studiengruppen (19% - 42%). Besonders hoch ist die BV von Copeptin in Patienten mit aHt. Die hohe BV in der aHt-Gruppe kann

möglicherweise durch den größeren Einfluss von physiologischen Stimuli wie Änderungen der Flüssigkeits- oder Salzzufuhr auf die relative Änderung der Copeptin-Konzentration erklärt werden.

Die hohe und divergente BV von Copeptin sollte in der Interpretation von Konzentrationsänderungen in seriellen Messungen berücksichtigt werden.

NGAL

NGAL hat eine niedrige und konsistente BV in Patienten mit HFrEF, HFpEF, aHt und DN. In dieser Arbeit wird erstmalig die BV von NGAL in Patienten mit HFrEF und HFpEF beschreiben. Die BV in der Studiengruppe DN ist mit 8% niedriger als die zuvor in Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ermittelte BV (16%)¹⁰⁰. Studien zu NGAL im Urin haben in gesunden Probanden deutlich höhere BVs gemessen (27% bzw. 80%)^{101,102}. Plasma-NGAL zeigt sich daher analytisch NGAL im Urin überlegen. NGAL ist ein Biomarker für die Schädigung der Nierentubuli¹¹⁷. Die Nierentubuli sind vulnerabler gegenüber einer Hypoxie als der renale Kortex, welcher für die GFR verantwortlich ist¹¹⁷. In der HF kann eine initial kompensatorisch erhöhte glomeruläre Hyperfiltration die hypoxische renale Schädigung erst verspätet durch die eGFR angezeigt werden¹¹⁷. In HF-Patienten mit und ohne Niereninsuffizienz konnte für Plasma-NGAL im Vergleich zur eGFR ein größerer prognostischer Wert gezeigt werden¹¹⁸. Die niedrige und in den Studiengruppen konsistente BV zeigt die gute Anwendbarkeit von NGAL in HF-Patienten.

Limitationen

Diese Arbeit hat Limitationen. Røraas et al. haben auf Grundlage von Konfidenzintervallen in Relation zur Anzahl der Probanden, Anzahl der Blutentnahmen und der Ratio zwischen analytischer und intra-individueller biologischer Variation eine Powerberechnung für die Bestimmung des Coefficient of Variation durchgeführt¹¹³. Unsere Studie hat 2 Blutentnahmen, die Ratio zwischen der CVa und CVi war bei allen Biomarkern weit unter 0,5 und mit mind. 20 Probanden pro Gruppe hat diese Arbeit eine Wahrscheinlichkeit von 0,88 den CVt zu bestimmen.

Im Vergleich der BV in den Studiengruppen zeigen sich zum Teil deutliche Differenzen, welche statistisch nicht signifikant sind. Für einen Gruppenvergleich der BV ist eine

größere Anzahl an Patienten notwendig.

Diese Studie eignet sich durch die Patientenzahl sowie der Zusammensetzung der Studiengruppen nicht um Einflussfaktoren auf die BV zu identifizieren. Nicht nur Patienten in der Studiengruppe aHt sind in der Studienkohorte an einem arteriellen Hypertonus erkrankt. Gleiches gilt für Diabetes mellitus und Niereninsuffizienz in der Studiengruppe DN (vgl. Tabelle Studienkohorte). Wie im Ergebnisteil beschrieben, bestehen bei einem relevanten Teil der Studiengruppe DN Hinweise auf eine Herzerkrankung.

Die in der Arbeit beschriebene BV ist auf eine Woche beschränkt (medianes Messintervall 7 Tage). Eine Aussage zu der BV der Biomarker in einem kürzeren oder längeren Zeitraum ist durch diese Arbeit nicht möglich.

Die Proben sind bis zur Messung unter definierten analytischen Bedingungen aufbewahrt worden. Die analytische Variabilität des jeweiligen Assays wurde durch das Correlab aus zuvor bestimmten Probekonzentrationen gestellt. Eine für jede Konzentration in der Studie bestimmte analytische Variabilität des jeweiligen Assays wäre methodisch genauer. Unabhängig davon ist die analytische Variabilität der verwendeten Assays deutlich unter den unter anderem von Fraser und Harris formulierten analytischen Zielen^{80,119}.

Konklusion

In dieser Arbeit wird die wöchentliche BV von NT-proBNP, Galectin-3, sST2, hsTnT, Copeptin und NGAL in Patienten mit HFpEF, HFpEF, aHt und NGAL beschrieben, was eine bessere Interpretation von seriellen Biomarkermessungen in HFpEF-Patienten sowie multimorbiden Patienten ermöglicht. Um die sowohl in der Literatur als auch in unserer Studie sich unterscheidenden BVs der untersuchten Biomarker besser zu verstehen und Einflussfaktoren der BV zu identifizieren sind nachfolgende Studien notwendig.

5 Literaturverzeichnis

1. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola V-P, 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, Filippatos G, McMurray JJV, Aboyans V, Achenbach S, Agewall S, Al-Attar N, Atherton JJ, Bauersachs J, John Camm A, Carerj S, Ceconi C, Coca A, Elliott P, Erol Ç, Ezekowitz J, Fernández-Golfín C, Fitzsimons D, Guazzi M, Guenoun M, Hasenfuss G, Hindricks G, Hoes AW, Jung B, Jaarsma T, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, Konstantinides S, Lainscak M, Lancellotti P, Lip GYH, Maisano F, Mueller C, Petrie MC, Piepoli MF, Priori SG, Torbicki A, Tsutsui H, van Veldhuisen DJ, Windecker S, Yancy C, Zamorano JL, Zamorano JL, Aboyans V, Achenbach S, Agewall S, Badimon L, Barón-Esquivias G, Baumgartner H, Bax JJ, Bueno H, Carerj S, Dean V, Erol Ç, Fitzsimons D, Gaemperli O, Kirchhof P, Kolh P, Lancellotti P, Lip GYH, Nihoyannopoulos P, Piepoli MF, Ponikowski P, Roffi M, Torbicki A, Vaz Carneiro A, Windecker S, Sisakian HS, Isayev E, Kurlianskaya A, Mullens W, Tokmakova M, Agathangelou P, Melenovsky V, Wiggers H, Hassanein M, Uuetoa T, Lommi J, Kostovska ES, Juillière Y, Aladashvili A, Luchner A, Chrysohoou C, Nyolczas N, Thorgeirsson G, Marc Weinstein J, Di Lenarda A, Aidargaliyeva N, Bajraktari G, Beishenkulov M, Kamzola G, Abdel-Massih T, Celutkienė J, Noppe S, Cassar A, Vataman E, Abir-Khalil S, van Pol P, Mo R, Straburzynska-Migaj E, Fonseca C, Chioncel O, Shlyakhto E, Otasevic P, Goncalvesová E, Lainscak M, Díaz Molina B, Schaufelberger M, Suter T, Yilmaz MB, Voronkov L, Davies C. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failureThe 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(27):2129–200.
2. WRITING COMMITTEE MEMBERS, Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJV, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WHW, Tsai EJ, Wilkoff BL, American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure:

a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation* 2013;128(16):e240-327.

3. McMurray JJV, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Køber L, Lip GYH, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Rønnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A, Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology, Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, McDonagh T, Sechtem U, Bonnet LA, Avraamides P, Ben Lamin HA, Brignole M, Coca A, Cowburn P, Dargie H, Elliott P, Flachskampf FA, Guida GF, Hardman S, Jung B, Merkely B, Mueller C, Nanas JN, Nielsen OW, Orn S, Parissis JT, Ponikowski P, ESC Committee for Practice Guidelines. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012;14(8):803–69.
4. Heo S, Doering LV, Widener J, Moser DK. Predictors and effect of physical symptom status on health-related quality of life in patients with heart failure. *Am J Crit Care* 2008;17(2):124–32.
5. Lesman-Leegte I, Jaarsma T, Coyne JC, Hillege HL, Van Veldhuisen DJ, Sanderman R. Quality of life and depressive symptoms in the elderly: a comparison between patients with heart failure and age- and gender-matched community controls. *J Card Fail* 2009;15(1):17–23.
6. Roger VL, Weston SA, Redfield MM, Hellermann-Homan JP, Killian J, Yawn BP, Jacobsen SJ. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *JAMA* 2004;292(3):344–50.
7. Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, Benjamin EJ, Kupka MJ, Ho KKL, Murabito JM, Vasan RS. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med* 2002;347(18):1397–402.

8. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Franco S, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Huffman MD, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Magid D, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, McGuire DK, Mohler ER, Moy CS, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Schreiner PJ, Sorlie PD, Stein J, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB, American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2013;127(1):e6–245.
9. Sanders-van Wijk S, van Empel V, Davarzani N, Maeder MT, Handschin R, Pfisterer ME, Brunner-La Rocca H-P, TIME-CHF investigators. Circulating biomarkers of distinct pathophysiological pathways in heart failure with preserved vs. reduced left ventricular ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2015;17(10):1006–14.
10. McMurray JJV. Clinical practice. Systolic heart failure. *N Engl J Med* 2010;362(3):228–38.
11. Shah AM, Mann DL. In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science. *Lancet* 2011;378(9792):704–12.
12. 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(3):251–9.
13. Dokainish H, Nguyen JS, Bobek J, Goswami R, Lakkis NM. Assessment of the American Society of Echocardiography-European Association of Echocardiography guidelines for diastolic function in patients with depressed ejection fraction: an echocardiographic and invasive haemodynamic study. *Eur J Echocardiogr* 2011;12(11):857–64.
14. 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(40):3297–317.

15. Paulus WJ, Tschöpe C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, Marino P, Smiseth OA, De Keulenaer G, Leite-Moreira AF, Borbély A, Edes I, Handoko ML, Heymans S, Pezzali N, Pieske B, Dickstein K, Fraser AG, Brutsaert DL. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28(20):2539–50.
16. Caballero L, Kou S, Dulgheru R, Gonjilashvili N, Athanassopoulos GD, Barone D, Baroni M, Cardim N, Gomez de Diego JJ, Oliva MJ, Hagendorff A, Hristova K, Lopez T, Magne J, Martinez C, de la Morena G, Popescu BA, Penicka M, Ozyigit T, Rodrigo Carbonero JD, Salustri A, Van De Veire N, Von Bardeleben RS, Vinereanu D, Voigt J-U, Zamorano JL, Bernard A, Donal E, Lang RM, Badano LP, Lancellotti P. Echocardiographic reference ranges for normal cardiac Doppler data: results from the NORRE Study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015;16(9):1031–41.
17. Hogg K, Swedberg K, McMurray J. Heart failure with preserved left ventricular systolic function; epidemiology, clinical characteristics, and prognosis. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(3):317–27.
18. Lee DS, Gona P, Vasan RS, Larson MG, Benjamin EJ, Wang TJ, Tu JV, Levy D. Relation of disease pathogenesis and risk factors to heart failure with preserved or reduced ejection fraction: insights from the framingham heart study of the national heart, lung, and blood institute. *Circulation* 2009;119(24):3070–7.
19. Bhuiyan T, Maurer MS. Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Persistent Diagnosis, Therapeutic Enigma. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 2011;5(5):440–9.
20. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69(3):89–95.
21. Morrow David A., de Lemos James A. Benchmarks for the Assessment of Novel Cardiovascular Biomarkers. *Circulation* 2007;115(8):949–52.
22. van Kimmenade RRJ, Januzzi JL. Emerging Biomarkers in Heart Failure. *Clin*

Chem 2012;58(1):127–38.

23. Sarhene M, Wang Y, Wei J, Huang Y, Li M, Li L, Acheampong E, Zhengcan Z, Xiaoyan Q, Yunsheng X, Jingyuan M, Xiumei G, Guanwei F. Biomarkers in heart failure: the past, current and future. *Heart Fail Rev* 2019;24(6):867–903.
24. Nadar SK, Shaikh MM. Biomarkers in Routine Heart Failure Clinical Care. *Card Fail Rev* 2019;5(1):50–6.
25. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *European Journal of Heart Failure* 2004;6(3):257–60.
26. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Colvin MM, Drazner MH, Filippatos GS, Fonarow GC, Givertz MM, Hollenberg SM, Lindenfeld J, Masoudi FA, McBride PE, Peterson PN, Stevenson LW, Westlake C. 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *J Am Coll Cardiol* 2017;70(6):776–803.
27. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJV, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WHW, Tsai EJ, Wilkoff BL. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013;62(16):e147–239.
28. Velagaleti Raghava S., Gona Philimon, Larson Martin G., Wang Thomas J., Levy Daniel, Benjamin Emelia J., Selhub Jacob, Jacques Paul F., Meigs James B., Tofler Geoffrey H., Vasan Ramachandran S. Multimarker Approach for the Prediction of Heart Failure Incidence in the Community. *Circulation* 2010;122(17):1700–6.
29. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000;355(9210):1126–30.

30. Pfisterer M, Buser P, Rickli H, Gutmann M, Erne P, Rickenbacher P, Vuillomenet A, Jeker U, Dubach P, Beer H, Yoon S-I, Suter T, Osterhues HH, Schieber MM, Hilti P, Schindler R, Brunner-La Rocca H-P, TIME-CHF Investigators. BNP-guided vs symptom-guided heart failure therapy: the Trial of Intensified vs Standard Medical Therapy in Elderly Patients With Congestive Heart Failure (TIME-CHF) randomized trial. *JAMA* 2009;301(4):383–92.
31. Eurlings LWM, van Pol PEJ, Kok WE, van Wijk S, Lodewijks-van der Bolt C, Balk AHMM, Lok DJA, Crijns HJGM, van Kraaij DJW, de Jonge N, Meeder JG, Prins M, Pinto YM. Management of chronic heart failure guided by individual N-terminal pro-B-type natriuretic peptide targets: results of the PRIMA (Can PRO-brain-natriuretic peptide guided therapy of chronic heart failure IMprove heart fAilure morbidity and mortality?) study. *J Am Coll Cardiol* 2010;56(25):2090–100.
32. Persson H, Erntell H, Eriksson B, Johansson G, Swedberg K, Dahlström U. Improved pharmacological therapy of chronic heart failure in primary care: a randomized Study of NT-proBNP Guided Management of Heart Failure--SIGNAL-HF (Swedish Intervention study--Guidelines and NT-proBNP AnaLysis in Heart Failure). *Eur J Heart Fail* 2010;12(12):1300–8.
33. Karlström P, Alehagen U, Boman K, Dahlström U, UPSTEP-study group. Brain natriuretic peptide-guided treatment does not improve morbidity and mortality in extensively treated patients with chronic heart failure: responders to treatment have a significantly better outcome. *Eur J Heart Fail* 2011;13(10):1096–103.
34. Januzzi JL, Rehman SU, Mohammed AA, Bhardwaj A, Barajas L, Barajas J, Kim H-N, Baggish AL, Weiner RB, Chen-Tournoux A, Marshall JE, Moore SA, Carlson WD, Lewis GD, Shin J, Sullivan D, Parks K, Wang TJ, Gregory SA, Uthamalingam S, Semigran MJ. Use of amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide to guide outpatient therapy of patients with chronic left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2011;58(18):1881–9.
35. Jourdain P, Jondeau G, Funck F, Gueffet P, Le Helloco A, Donal E, Aupetit JF, Aumont MC, Galinier M, Eicher JC, Cohen-Solal A, Juillière Y. Plasma brain natriuretic peptide-guided therapy to improve outcome in heart failure: the STARS-BNP Multicenter Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(16):1733–9.

36. Berger R, Moertl D, Peter S, Ahmadi R, Huelsmann M, Yamuti S, Wagner B, Pacher R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide-guided, intensive patient management in addition to multidisciplinary care in chronic heart failure a 3-arm, prospective, randomized pilot study. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(7):645–53.
37. Lainchbury JG, Troughton RW, Strangman KM, Frampton CM, Pilbrow A, Yandle TG, Hamid AK, Nicholls MG, Richards AM. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide-guided treatment for chronic heart failure: results from the BAT-TLESCARRED (NT-proBNP-Assisted Treatment To Lessen Serial Cardiac Readmissions and Death) trial. *J Am Coll Cardiol* 2009;55(1):53–60.
38. Shah MR, Califf RM, Nohria A, Bhapkar M, Bowers M, Mancini DM, Fiuzat M, Stevenson LW, O'Connor CM. The STARBRITE trial: a randomized, pilot study of B-type natriuretic peptide-guided therapy in patients with advanced heart failure. *J Card Fail* 2011;17(8):613–21.
39. Anguita M, Esteban F, Castillo JC, Mazuelos F, López-Granados A, Arizón JM, Suárez De Lezo J. [Usefulness of brain natriuretic peptide levels, as compared with usual clinical control, for the treatment monitoring of patients with heart failure]. *Med Clin (Barc)* 2010;135(10):435–40.
40. Troughton RW, Frampton CM, Brunner-La Rocca H-P, Pfisterer M, Eurlings LWM, Erntell H, Persson H, O'Connor CM, Moertl D, Karlström P, Dahlström U, Gaggin HK, Januzzi JL, Berger R, Richards AM, Pinto YM, Nicholls MG. Effect of B-type natriuretic peptide-guided treatment of chronic heart failure on total mortality and hospitalization: an individual patient meta-analysis. *Eur Heart J* 2014;35(23):1559–67.
41. Spoletini I, Coats AJS, Senni M, Rosano GMC. Monitoring of biomarkers in heart failure. *Eur Heart J Suppl* 2019;21(Suppl M):M5–8.
42. Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kübler W. Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21(12):1349–53.
43. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, Biedert S, Schaub N, Buerge C, Potocki M, Noveanu M, Breidthardt T, Twerenbold R, Winkler K, Bingisser R, Mueller C. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med* 2009;361(9):858–67.

44. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD, Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *J Am Coll Cardiol* 2018;72(18):2231–64.
45. Kurz K, Giannitsis E, Zehelein J, Katus HA. Highly sensitive cardiac troponin T values remain constant after brief exercise- or pharmacologic-induced reversible myocardial ischemia. *Clin Chem* 2008;54(7):1234–8.
46. Fishbein MC, Wang T, Matijasevic M, Hong L, Apple FS. Myocardial tissue troponins T and I. An immunohistochemical study in experimental models of myocardial ischemia. *Cardiovasc Pathol* 2003;12(2):65–71.
47. Chow SL, Maisel AS, Anand I, Bozkurt B, de Boer RA, Felker GM, Fonarow GC, Greenberg B, Januzzi JL, Kiernan MS, Liu PP, Wang TJ, Yancy CW, Zile MR, American Heart Association Clinical Pharmacology Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Functional Genomics and Translational Biology; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2017;135(22):e1054–91.
48. Horwich TB, Patel J, MacLellan WR, Fonarow GC. Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure. *Circulation* 2003;108(7):833–8.
49. Latini R, Masson S, Anand IS, Missov E, Carlson M, Vago T, Angelici L, Barlera S, Parrinello G, Maggioni AP, Tognoni G, Cohn JN, Val-HeFT Investigators. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation* 2007;116(11):1242–9.
50. Hudson MP, O'Connor CM, Gattis WA, Tasissa G, Hasselblad V, Holleman CM, Gaulden LH, Sedor F, Ohman EM. Implications of elevated cardiac troponin T in

ambulatory patients with heart failure: a prospective analysis. *Am Heart J* 2004;147(3):546–52.

51. Perna ER, Macin SM, Canella JPC, Augier N, Stival JLR, Cialzeta JR, Pitzus AE, Garcia EH, Obregón R, Brizuela M, Barbagelata A. Ongoing myocardial injury in stable severe heart failure: value of cardiac troponin T monitoring for high-risk patient identification. *Circulation* 2004;110(16):2376–82.

52. Tentzeris I, Jarai R, Farhan S, Perkmann T, Schwarz MA, Jakl G, Wojta J, Huber K. Complementary role of copeptin and high-sensitivity troponin in predicting outcome in patients with stable chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011;13(7):726–33.

53. Sato Y, Yamada T, Taniguchi R, Nagai K, Makiyama T, Okada H, Kataoka K, Ito H, Matsumori A, Sasayama S, Takatsu Y. Persistently increased serum concentrations of cardiac troponin t in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy are predictive of adverse outcomes. *Circulation* 2001;103(3):369–74.

54. Ather S, Hira RS, Shenoy M, Fatemi O, Deswal A, Aguilar D, Ramasubbu K, Bolos M, Chan W, Bozkurt B. Recurrent low-level troponin I elevation is a worse prognostic indicator than occasional injury pattern in patients hospitalized with heart failure. *Int J Cardiol* 2013;166(2):394–8.

55. Metra M, Nodari S, Parrinello G, Specchia C, Brentana L, Rocca P, Fracassi F, Bordonali T, Milani P, Danesi R, Verzura G, Chiari E, Dei Cas L. The role of plasma biomarkers in acute heart failure. Serial changes and independent prognostic value of NT-proBNP and cardiac troponin-T. *Eur J Heart Fail* 2007;9(8):776–86.

56. Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7(10):827–40.

57. Ky B, French B, McCloskey K, Rame JE, McIntosh E, Shahi P, Dries DL, Tang WHW, Wu AHB, Fang JC, Boxer R, Sweitzer NK, Levy WC, Goldberg LR, Jessup M, Cappola TP. High-sensitivity ST2 for prediction of adverse outcomes in chronic heart failure. *Circ Heart Fail* 2011;4(2):180–7.

58. Anand IS, Rector TS, Kuskowski M, Snider J, Cohn JN. Prognostic value of soluble ST2 in the Valsartan Heart Failure Trial. *Circ Heart Fail* 2014;7(3):418–26.

59. Gaggin HK, Szymonifka J, Bhardwaj A, Belcher A, De Berardinis B, Motiwala S, Wang TJ, Januzzi JL. Head-to-head comparison of serial soluble ST2, growth differentiation factor-15, and highly-sensitive troponin T measurements in patients with chronic heart failure. *JACC Heart Fail* 2014;2(1):65–72.
60. Gaggin HK, Motiwala S, Bhardwaj A, Parks KA, Januzzi JL. Soluble concentrations of the interleukin receptor family member ST2 and β -blocker therapy in chronic heart failure. *Circ Heart Fail* 2013;6(6):1206–13.
61. de Boer RA, Yu L, van Veldhuisen DJ. Galectin-3 in Cardiac Remodeling and Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep* 2010;7(1):1–8.
62. de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur J Heart Fail* 2009;11(9):811–7.
63. Lok DJA, Van Der Meer P, de la Porte PWB-A, Lipsic E, Van Wijngaarden J, Hillege HL, van Veldhuisen DJ. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol* 2010;99(5):323–8.
64. de Boer RA, Lok DJA, Jaarsma T, van der Meer P, Voors AA, Hillege HL, van Veldhuisen DJ. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med* 2011;43(1):60–8.
65. van der Velde AR, Gullestad L, Ueland T, Aukrust P, Guo Y, Adourian A, Muntendam P, van Veldhuisen DJ, de Boer RA. Prognostic value of changes in galectin-3 levels over time in patients with heart failure: data from CORONA and COACH. *Circ Heart Fail* 2013;6(2):219–26.
66. Edelmann F, Holzendorf V, Wachter R, Nolte K, Schmidt AG, Kraigher-Krainer E, Duvinage A, Unkelbach I, Düngen H-D, Tschöpe C, Herrmann-Lingen C, Halle M, Hasenfuss G, Gelbrich G, Stough WG, Pieske BM. Galectin-3 in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results from the Aldo-DHF trial. *Eur J Heart Fail* 2015;17(2):214–23.
67. Chatterjee K. Neurohormonal activation in congestive heart failure and the role of vasopressin. *Am J Cardiol* 2005;95(9A):8B-13B.

68. Kelly D, Squire IB, Khan SQ, Quinn P, Struck J, Morgenthaler NG, Davies JE, Ng LL. C-terminal provasopressin (copeptin) is associated with left ventricular dysfunction, remodeling, and clinical heart failure in survivors of myocardial infarction. *J Card Fail* 2008;14(9):739–45.
69. Zhong Y, Wang R, Yan L, Lin M, Liu X, You T. Copeptin in heart failure: Review and meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2017;475:36–43.
70. Vetrone F, Santarelli S, Russo V, Lalle I, De Berardinis B, Magrini L, Di Stasio E, Salerno G, Cardelli P, Piccoli A, Codognotto M, Mion MM, Plebani M, Vettore G, Castello LM, Avanzi GC, Di Somma S. Copeptin decrease from admission to discharge has favorable prognostic value for 90-day events in patients admitted with dyspnea. *Clin Chem Lab Med* 2014;52(10):1457–64.
71. Voors AA, von Haehling S, Anker SD, Hillege HL, Struck J, Hartmann O, Bergmann A, Squire I, van Veldhuisen DJ, Dickstein K, OPTIMAAL Investigators. C-terminal provasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study. *Eur Heart J* 2009;30(10):1187–94.
72. Miller WL, Grill DE, Struck J, Jaffe AS. Association of hyponatremia and elevated copeptin with death and need for transplantation in ambulatory patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2013;111(6):880–5.
73. Loncar G, von Haehling S, Tahirovic E, Inkrot S, Mende M, Sekularac N, Lainscak M, Apostolovic S, Putnikovic B, Edelmann F, Wachter R, Dimkovic S, Waagstein F, Gelbrich G, Düngen H-D. Effect of beta blockade on natriuretic peptides and copeptin in elderly patients with heart failure and preserved or reduced ejection fraction: results from the CIBIS-ELD trial. *Clin Biochem* 2012;45(1–2):117–22.
74. van Veldhuisen DJ, Ruilope LM, Maisel AS, Damman K. Biomarkers of renal injury and function: diagnostic, prognostic and therapeutic implications in heart failure. *Eur Heart J* 2016;37(33):2577–85.
75. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associ-

ated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365(9466):1231–8.

76. Prognostic utility of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with acute heart failure: the NGAL Evaluation Along with B-type... - PubMed - NCBI [Internet]. [cited 2020 May 6]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Eur+J+Heart+Fail2011%3B13%3A846%E2%80%9393851>.

77. Alvelos M, Lourenço P, Dias C, Amorim M, Rema J, Leite AB, Guimarães JT, Almeida P, Bettencourt P. Prognostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute heart failure. *Int J Cardiol* 2013;165(1):51–5.

78. Damman K, Masson S, Hillege HL, Maggioni AP, Voors AA, Opasich C, van Veldhuisen DJ, Montagna L, Cosmi F, Tognoni G, Tavazzi L, Latini R. Clinical outcome of renal tubular damage in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2011;32(21):2705–12.

79. Wu AHB. Serial testing of B-type natriuretic peptide and NTpro-BNP for monitoring therapy of heart failure: The role of biologic variation in the interpretation of results. *American Heart Journal* 2006;152(5):828–34.

80. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1989;27(5):409–37.

81. Simundic A-M, Bartlett WA, Fraser CG. Biological variation: a still evolving facet of laboratory medicine. *Ann Clin Biochem* 2015;52(Pt 2):189–90.

82. Miller WL, Jaffe AS. Biomarkers in heart failure: the importance of inconvenient details. *ESC Heart Fail* 2016;3(1):3–10.

83. Ricós C, Iglesias N, García-Lario J-V, Simón M, Cava F, Hernández A, Perich C, Minchinela J, Alvarez V, Doménech M-V, Jiménez C-V, Biosca C, Tena R. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem* 2007;44(Pt 4):343–52.

84. Canadell NI, Petersen PH, Jensen E, Ricós C, Jørgensen PE. Reference change values and power functions. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2004;42(4):415–22.

85. Schou M, Gustafsson F, Nielsen PH, Madsen LH, Kjaer A, Hildebrandt PR.

Unexplained week-to-week variation in BNP and NT-proBNP is low in chronic heart failure patients during steady state. *Eur J Heart Fail* 2007;9(1):68–74.

86. Frankenstein L, Remppis A, Giannitis E, Frankenstein J, Hess G, Zdunek D, Doesch A, Zugck C, Katus HA. Biological variation of high sensitive Troponin T in stable heart failure patients with ischemic or dilated cardiomyopathy. *Clin Res Cardiol* 2011;100(8):633–40.

87. Schimmel AM, Barents M, de Jongste MJ, Römer JW, Steward RN, Muskiet FA. High Intraindividual Variation of N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide in Urine of Patients with Stable Chronic Heart Failure: Comparison with Plasma. *Clin Chem* 2016;62(2):407–8.

88. Wu AHB, Wians F, Jaffe A. Biological variation of galectin-3 and soluble ST2 for chronic heart failure: implication on interpretation of test results. *Am Heart J* 2013;165(6):995–9.

89. Wu AHB. Biological and analytical variation of clinical biomarker testing: implications for biomarker-guided therapy. *Curr Heart Fail Rep* 2013;10(4):434–40.

90. Bruins S, Fokkema MR, Römer JWP, Dejongste MJL, van der Dijs FPL, van den Ouweland JMW, Muskiet FAJ. High intraindividual variation of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. *Clin Chem* 2004;50(11):2052–8.

91. Meijers WC, van der Velde AR, Muller Kobold AC, Dijck-Brouwer J, Wu AH, Jaffe A, de Boer RA. Variability of biomarkers in patients with chronic heart failure and healthy controls. *Eur J Heart Fail* 2017;19(3):357–65.

92. Wu AHB, Smith A, Wieczorek S, Mather JF, Duncan B, White CM, McGill C, Katten D, Heller G. Biological variation for N-terminal pro- and B-type natriuretic peptides and implications for therapeutic monitoring of patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 2003;92(5):628–31.

93. Melzi d’Eril G, Tagnochetti T, Nauti A, Klersy C, Papalia A, Vadacca G, Moratti R, Merlini G. Biological variation of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in healthy individuals. *Clin Chem* 2003;49(9):1554–5.

94. Frankenstein L, Wu AHB, Hallermayer K, Wians FH, Giannitsis E, Katus HA.

Biological variation and reference change value of high-sensitivity troponin T in healthy individuals during short and intermediate follow-up periods. *Clin Chem* 2011;57(7):1068–71.

95. Täger T, Giannitsis E, Greve K, Fröhlich H, Müller-Hennessen M, Vafaie M, Katus HA, Frankenstein L, Biener M. Long-term biological variation of high-sensitivity cardiac troponin T using minimal important differences and reference change values in stable outpatients with cardiovascular disease. *Clin Biochem* 2019;67:7–11.

96. Fahim MA, Hayen AD, Horvath AR, Dimeski G, Coburn A, Tan K-S, Johnson DW, Craig JC, Campbell SB, Hawley CM. Biological variation of high sensitivity cardiac troponin-T in stable dialysis patients: implications for clinical practice. *Clin Chem Lab Med* 2015;53(5):715–22.

97. Dieplinger B, Januzzi JL, Steinmair M, Gabriel C, Poelz W, Haltmayer M, Mueller T. Analytical and clinical evaluation of a novel high-sensitivity assay for measurement of soluble ST2 in human plasma--the Presage ST2 assay. *Clin Chim Acta* 2009;409(1–2):33–40.

98. Piper S, deCoursey J, Sherwood R, Amin-Youssef G, McDonagh T. Biologic Variability of Soluble ST2 in Patients With Stable Chronic Heart Failure and Implications for Monitoring. *The American Journal of Cardiology* 2016;118(1):95–8.

99. Schindler EI, Szymanski JJ, Hock KG, Geltman EM, Scott MG. Short- and Long-term Biologic Variability of Galectin-3 and Other Cardiac Biomarkers in Patients with Stable Heart Failure and Healthy Adults. *Clin Chem* 2016;62(2):360–6.

100. Carter JL, Parker CT, Stevens PE, Eaglestone G, Knight S, Farmer CKT, Lamb EJ. Biological Variation of Plasma and Urinary Markers of Acute Kidney Injury in Patients with Chronic Kidney Disease. *Clin Chem* 2016;62(6):876–83.

101. Delanaye P, Rozet E, Krzesinski J-M, Cavalier E. Urinary NGAL measurement: biological variation and ratio to creatinine. *Clin Chim Acta* 2011;412(3–4):390.

102. Helmersson-Karlqvist J, Arnlöv J, Larsson A. Day-to-day variation of urinary NGAL and rational for creatinine correction. *Clin Biochem* 2013;46(1–2):70–2.

103. McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. *N Engl J Med* 1971;285(26):1441–6.

104. Thrainsdottir IS, Aspelund T, Thorgeirsson G, Gudnason V, Hardarson T, Malmberg K, Sigurdsson G, Rydén L. The association between glucose abnormalities and heart failure in the population-based Reykjavik study. *Diabetes Care* 2005;28(3):612–6.
105. MacDonald MR, Petrie MC, Varyani F, Ostergren J, Michelson EL, Young JB, Solomon SD, Granger CB, Swedberg K, Yusuf S, Pfeffer MA, McMurray JJV, CHARM Investigators. Impact of diabetes on outcomes in patients with low and preserved ejection fraction heart failure: an analysis of the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) programme. *Eur Heart J* 2008;29(11):1377–85.
106. Smith DH, Thorp ML, Gurwitz JH, McManus DD, Goldberg RJ, Allen LA, Hsu G, Sung SH, Magid DJ, Go AS. Chronic kidney disease and outcomes in heart failure with preserved versus reduced ejection fraction: the Cardiovascular Research Network PRESERVE Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2013;6(3):333–42.
107. Tsuchida K, Tanabe K. Influence of paroxysmal atrial fibrillation attack on brain natriuretic peptide secretion. *J Cardiol* 2004;44(1):1–11.
108. Goetze JP, Christoffersen C, Perko M, Arendrup H, Rehfeld JF, Kastrup J, Nielsen LB. Increased cardiac BNP expression associated with myocardial ischemia. *FASEB J* 2003;17(9):1105–7.
109. Lang CC, Coutie WJ, Khong TK, Choy AM, Struthers AD. Dietary sodium loading increases plasma brain natriuretic peptide levels in man. *J Hypertens* 1991;9(9):779–82.
110. Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Trawinski J, Pedersen F. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart* 2003;89(7):745–51.
111. Hoffmann U, Brueckmann M, Bertsch T, Wiessner M, Liebetrau C, Lang S, Haase KK, Borggrefe M, Huhle G. Increased plasma levels of NT-proANP and NT-proBNP as markers of cardiac dysfunction in septic patients. *Clin Lab* 2005;51(7–8):373–9.

112. Frankenstein L, Wu AHB, Hallermayer K, Wians FH, Giannitsis E, Katus HA. Biological variation and reference change value of high-sensitivity troponin T in healthy individuals during short and intermediate follow-up periods. *Clin Chem* 2011;57(7):1068–71.
113. Røraas T, Petersen PH, Sandberg S. Confidence intervals and power calculations for within-person biological variation: effect of analytical imprecision, number of replicates, number of samples, and number of individuals. *Clin Chem* 2012;58(9):1306–13.
114. Dubin RF, Li Y, He J, Jaar BG, Kallem R, Lash JP, Makos G, Rosas SE, Soliman EZ, Townsend RR, Yang W, Go AS, Keane M, deFilippi C, Mishra R, Wolf M, Shlipak MG, The CRIC Study Investigators. Predictors of high sensitivity cardiac troponin T in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study in the chronic renal insufficiency cohort (CRIC). *BMC Nephrology* 2013;14(1):229.
115. Mueller T, Jaffe AS. Soluble ST2--analytical considerations. *Am J Cardiol* 2015;115(7 Suppl):8B-21B.
116. Weinberg EO, Shimpo M, De Keulenaer GW, MacGillivray C, Tominaga S, Solomon SD, Rouleau J-L, Lee RT. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* 2002;106(23):2961–6.
117. Packer M. Why do the kidneys release renin in patients with congestive heart failure? A nephrocentric view of converting-enzyme inhibition. *Eur Heart J* 1990;11 Suppl D:44–52.
118. van Deursen VM, Damman K, Voors AA, van der Wal MH, Jaarsma T, van Velthuisen DJ, Hillege HL. Prognostic value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin for mortality in patients with heart failure. *Circ Heart Fail* 2014;7(1):35–42.
119. Jaffe AS, Apple FS, Morrow DA, Lindahl B, Katus HA. Being rational about (im)precision: a statement from the Biochemistry Subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Foundation/American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the definition of myocardial infarction. *Clin Chem* 2010;56(6):941–3.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Simon Litmeier, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Biologische Variabilität von Biomarkern der Herzinsuffizienz, engl. Biological variation of biomarkes in heart failure, 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 Erstbetreuer, 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 un-
wahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Simon Litmeier hatte folgenden Anteil an der Publikation:

Weisrock F, Fritschka M, Beckmann S, **Litmeier S**, Wagner J, Tahirovic E, Radenovic S, Zelenak C, Hashemi D, Busjahn A, Krahn T, Pieske B, Dinh W, Düngen H-D. Reliability of peripheral arterial tonometry in patients with heart failure, diabetic nephropathy and arterial hypertension. *Vascular Medicine*. 2017;22(4):292-300.

Beitrag im Einzelnen:

Die Publikation baut auf den Ergebnissen der EndoCEC-Studie auf. Die EndoCEC-Studie ist eine prospektive, monozentrische Beobachtungsstudie mit dem Ziel die Reliabilität von kardiologischen Messverfahren zu untersuchen. Die organisatorische Durchführung der Endo-CEC-Studie wurde anteilig von mir übernommen. Unter anderem habe ich Patienten rekrutiert, Blutproben abgenommen und weiterverarbeitet sowie die Studienmessungen durchgeführt. Einen Teil der Daten habe ich in die elektronische Datenbank übertragen.

An der Publikation habe ich mich maßgeblich an der inhaltlichen, formellen und sprachlichen Korrektur beteiligt.

Unterschrift des Doktoranden

Lebenslauf

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

Publikationsliste

Publikationen:

Litmeier S, Prüss H, Witsch E, Witsch J. Initial serum thyroid peroxidase antibodies and long-term outcomes in SREAT. *Acta Neurol Scand.* 2016 Dec;134(6):452-457. doi: 10.1111/ane.12556. Epub 2016 Jan 12. PMID: 26757046.

Weisrock F, Fritschka M, Beckmann S, **Litmeier S**, Wagner J, Tahirovic E, Radenovic S, Zelenak C, Hashemi D, Busjahn A, Krahn T, Pieske B, Dinh W, Düngen H-D. Reliability of peripheral arterial tonometry in patients with heart failure, diabetic nephropathy and arterial hypertension. *Vascular Medicine.* 2017;22(4):292-300.

Nolte CH, von Rennenberg R, **Litmeier S**, Scheitz JF, Leistner DM, Blankenberg S, Dichgans M, Katus H, Petzold GC, Pieske B, Regitz-Zagrosek V, Wegscheider K, Zeiher AM, Landmesser U, Endres M. PRediction of acute coronary syndrome in acute ischemic Stroke (PRAISE) - protocol of a prospective, multicenter trial with central reading and predefined endpoints. *BMC Neurol.* 2020 Aug 27;20(1):318. doi: 10.1186/s12883-020-01903-0. PMID: 32854663; PMCID: PMC7450553.

Kongressbeiträge

S. Litmeier, F. Weisrock, M. Fritschka, S. Beckmann, J. Wagner, E. Tahirovic, S. Radenovic, A. Busjahn, W. Dinh, H.-D. Düngen. Reliability of biomarkers (Nt-proBNP, Gal-3, NGAL, hsTnT, AVP, ST-2, MDA) in patients with HFrEF, HFpEF, diabetic nephropathy and arterial hypertension. 4th World Congress on Acute Heart Failure, Paris, 29.04 – 02.05.2017

F. Weisrock, M. Fritschka, S. Beckmann, **S. Litmeier**, J. Wagner, E. Tahirovic, S. Radenovic, C. Zelenak, D. Hashemi, A. Busjahn, T. Krahn, B. Pieske, W. Dinh, H.-D. Düngen (Berlin, Wuppertal). Reliability of Peripheral Arterial Tonometry for Assessment of Endothelial Function in Patients with Heart Failure with Preserved and Reduced EF, Diabetic Nephropathy and Arterial Hypertension. 83. Jahrestagung der DGK, Mannheim, 19. bis 22.04.2017;

J. Wagner, M. Farinnaci, S. Beckmann, **S. Litmeier**, F. Weisrock, M. Fritschka, S. Radenovic, E. Tahirovic, D. Hashemi, W. Dinh, H.-D. Düngen (Berlin, Wuppertal). Test-retest-reliability of circulating endothelial and endothelial progenitor cells in peripheral blood in patients with heart failure, diabetic nephropathy and arterial hypertension. 83. Jahrestagung der DGK, Mannheim, 19. bis 22.04.2017;

F. Weisrock, M. Fritschka, S. Beckmann, **S. Litmeier**, J. Wagner, E. Tahirovic, S. Radenovic, C. Zelenak, D. Hashemi, A. Busjahn, T. Krahn, B. Pieske, W. Dinh, H.-D. Düngen. Reliability of Peripheral Arterial Tonometry for Assessment of Endothelial Function in Patients with Heart Failure with Preserved and Reduced EF, Diabetic Nephropathy and Arterial Hypertension. 4th World Congress on Acute Heart Failure, Paris, 29.04 bis 02.05.2017;

J. Wagner, M. Farinnaci, S. Beckmann, **S. Litmeier**, F. Weisrock, M. Fritschka, S. Radenovic, E. Tahirovic, D. Hashemi, W. Dinh, H.-D. Düngen. Test-retest-Reliability of explorative measurement of CEC and EPC from peripheral blood in patients with systolic and diastolic heart failure, diabetic nephropathy and arterial hypertension. 4th World Congress on Acute Heart Failure, Paris, 29.04 bis 02.05.2017

Genderhinweis

In dieser Arbeit wurde allein aus Gründen der Lesbarkeit die männliche Form verwendet. Mit jeder unspezifisch verwendeten Personenbezeichnung sind die Geschlechter gleichermaßen bedacht.

Danksagung

Diese Arbeit ist durch die geschätzte Unterstützung bestimmter Personen möglich geworden.

Ich danke allen Probandinnen und Probanden der EndoCEC-Studie, welche sich die Zeit für die wissenschaftliche Fragestellung genommen haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Hans-Dirk Düngen für die Ermöglichung dieser Dissertation und die Überlassung dieses interessanten Themas. Ich danke ihm, dass er für mich in der gesamten Zeit ein wichtiger und hilfreicher Ansprechpartner war. Ich möchte mich zudem bei der kardiologischen Studienambulanz am CVK für die wertvolle organisatorische Hilfe bedanken.

Ein großes Dankeschön gilt ebenfalls meinen Mitdoktoranden. Die große Kollegialität und die gegenseitige Unterstützung haben wesentlich zur erfolgreichen Durchführung der Studie beigetragen.

Zuletzt danke ich meiner Freundin, meiner Familie und meinen Freunden für die langjährige Unterstützung und Zuversicht.