

Aus dem
Charité Centrum 11 für Herz-, Kreislauf- und Gefäßmedizin
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie
Kommissarischer Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Haverkamp
Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Virchow-Klinikum

HABILITATIONSSCHRIFT

„Einsatz von Biomarkern zur Abschätzung der Prognose
kardiologischer Risikopatienten“

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. Dr. med. Stephan Haehling von Lanzener
aus Berlin

Eingereicht: April 2013

Dekanin: Frau Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Hugo Katus

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Bernhard Schieffer

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	6
1.1. Biomarker bei koronarer Herzkrankheit und myokardialer Ischämie	7
1.1.1. Copeptin	9
1.1.2. Pregnancy-associated Plasma Protein A	10
1.2. Biomarker bei Herzinsuffizienz	11
1.2.1. Natriuretische Peptide	14
1.2.2. Adrenomedullin	19
1.3. Zielsetzung und Beitrag dieser Arbeit	20
2. Eigene Arbeiten	22
2.1. Midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid als prädiktiver Marker der Mortalität bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit	22
2.2. Copeptin als prognostischer Marker für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit	24
2.3. Pregnancy-associated Plasma Protein A im Serum als prädiktiver Marker schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten, die wegen kardialer Brustschmerzen aufgenommen wurden	26
2.4. Midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid als prädiktiver Marker der Mortalität bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz	28
2.5. Mid-regionales pro-Adrenomedullin als prädiktiver Marker der Mortalität bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz	30
3. Diskussion	32
3.1. Assoziationsanalysen und Serumwerte der vermessenen Biomarker	33
3.2. Risikoabschätzung anhand von Biomarkern	37

3.3. Sensitivität, Spezifität und optimaler Cut-off	42
3.4. Klinische Konsequenzen der Risikostratifizierung	44
4. Zusammenfassung	45
5. Literaturverzeichnis	47
Danksagung	61
Erklärung	63

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin Conversions-Enzym
ADM	Adrenomedullin
ANOVA	Varianzanalyse
ANP	atriales natriuretisches Peptid
APO	Apoptose Antigen (Fas Rezeptor)
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve (Fläche unter der Kurve)
BACH	Biomarkers in Acute Heart Failure (Studie)
BNP	B-Typ natriuretisches Peptid
bzw.	beziehungsweise
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CK	Creatinkinase
CK-MB	Creatinkinase myokardiales Band
CNP	C-Typ natriuretisches Peptid
CRP	C-reaktives Protein
CT	C-terminal
CT-proET-1	C-terminales pro-Endothelin-1
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ET	Endothelin
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
HbA _{1c}	Hämoglobin A _{1c}
HF	heart failure
hFABP	heart-type fatty acid binding protein
HDL	high density lipoprotein (Lipoprotein mit hoher Dichte)
hs	high sensitivity (hochsensitiv)
ICD	Implantierbarer Cardioverter-Defibrillator
IU	International units
l	Liter
LDL	low density lipoprotein (Lipoprotein mit geringer Dichte)
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
m	Meter

MeSH	Medical Subject Heading
min	Minute
ml	Milliliter
MR	midregional
MR-proANP	Midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid
MR-proADM	Midregionales pro-Adrenomedullin
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
nmol	Nanomol
NPR	Natriuretisches Peptid-Rezeptor
NSTEMI	Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarkt
NT	N-terminal
NT-proANP	N-terminales pro-atriales natriuretisches Peptid
NT-proBNP	N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid
NYHA	New York Heart Association
OPTIMAAL	Optimal Trial in Myocardial Infarction with the Angiotensin II Antagonist Losartan (Studie)
PAI	Plasminogen Activator Inhibitor
PAMP	N-terminales pro-Adrenomedullin 20 Peptid
PAPP-A	Pregnancy-associated Plasma Protein A
pg	Pikogramm
pmol	Pikomol
ROC	receiver operator characteristic curve
vs.	versus

1. Einleitung

Die Verfügbarkeit von Biomarkern hat das Gesicht der Medizin nachhaltig verändert. Dies gilt in besonderem Maße für die Kardiologie und für Fragestellungen, die den kardiovaskulären Bereich betreffen, ist allerdings nicht auf diese Gebiete beschränkt. Der Begriff Biomarker wurde im Jahr 1989 als *Medical Subject Heading (MeSH)* Terminus eingeführt.¹ Eine Arbeitsgruppe des US-amerikanischen National Institute of Health, die *Biomarker Definitions Working Group*,² standardisierte die Definition im Jahr 2001 und fasst seither jeden biologischen Parameter als Biomarker auf, der objektiv quantifiziert oder evaluiert werden kann, um den Zustand normaler biologischer Prozesse, pathologischer Prozesse oder die Antwort auf eine therapeutische Intervention zu erfassen.³ Im weitesten Sinn umfassen Biomarker folglich Faktoren wie den Blutdruck, Enzymaktivitäten, Proteinkonzentrationen in Körperflüssigkeiten oder im Gewebe, die Expressionsprofile von mRNA, die Knochendichte, Eigenschaften der Gramfärbung oder auch ein elektrisches Potenzial.³ Stark vereinfacht kann gesagt werden, dass Biomarker Indikatoren der Krankheitsentwicklung (Risikomarker), des präklinischen oder klinischen Krankheitszustands oder des Krankheitsfortschreitens sind.^{1,4} Entsprechend können nach ihrer Bestimmung eine Reihe von unterschiedlichen Klassen von Biomarkern unterschieden werden (Tabelle 1).

Tabelle 1. Unterscheidung verschiedener Biomarkerklassen.^{1,2}

Biomarkerklasse	Zielsetzung
<i>Antecedent biomarker</i>	Bestimmung des Risikos, eine Krankheit zu entwickeln
<i>Screening biomarker</i>	Screening auf subklinische Erkrankung
<i>Diagnostic biomarker</i>	Erkennung manifester Erkrankung
<i>Staging biomarker</i>	Kategorisierung des Schweregrades der Erkrankung
<i>Prognostic biomarker</i>	Vorhersage des Krankheitsverlaufs

Daneben werden in der Literatur Typ 0-, Typ 1- und Typ 2-Biomarker unterschieden,^{1,2} obgleich diese Begriffe nicht einheitlich verwendet werden. Ein Typ 0-Biomarker ist demnach ein Biomarker, der dem natürlichen Verlauf einer Erkrankung folgt und mit bekannten klinischen Indices korreliert. Ein Typ 1-Biomarker dient demgegenüber der Erfassung des Erfolgs einer therapeutischen Intervention, und ein Typ 2-Biomarker dient als Surrogatendpunkt, z.B. in klinischen Studien.^{1,2}

Derartige Surrogatendpunkte können dabei helfen, in klinischen Studien die Sicherheit und Effektivität einer Therapie zu untersuchen. Veränderungen in der Ausprägung von Biomarkern als Surrogatparameter für sog. „harte“ Endpunkte wie Mortalität können innerhalb kürzerer Zeit als die tatsächlichen Ereignisse auftreten und somit helfen, die Studiendauer zu verkürzen und die Kosten zu reduzieren.¹ Der benutzte Biomarker sollte hierbei eine ebenso wichtige wie einzigartige Eigenschaft der untersuchten Krankheit reflektieren. Damit dient der Biomarker als unmittelbare und idealerweise kausale Verbindung mit dem klinischen Ereignis.⁴

1.1. Biomarker bei koronarer Herzkrankheit und myokardialer Ischämie

Die Geschichte der Entwicklung kardiovaskulärer Biomarker war zunächst eine des myokardialen Schadens. Der zuerst benutzte Test in der Diagnose des akuten transmuralen Myokardinfarktes kam in der Mitte der 1950-er Jahre auf;⁵ es handelte sich um die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), die heute Aspartat-Aminotransferase (ASAT) genannt wird.⁶ Ab 1959 wurden Teste entwickelt, die die Serumkonzentration der Creatinkinase (CK) messen konnten.⁶ Ab Mitte der 1960-er Jahre wurde begonnen, Teste für die Isoenzyme der CK zu entwickeln, dabei insbesondere für das myokardiale Band der CK (CK-MB).^{7,8} Der erste Test für das herzspezifische (kardiale) Troponin T wurde von Hugo A. Katus und Kollegen im Jahr 1989 vorgestellt.⁹ Ein Test für kardiales Troponin I wurde 1992 erstmals beschrieben.¹⁰ Ungefähr zur gleichen Zeit wurde auch ein Immunoassay für Myoglobin vorgestellt.¹¹ Diese Teste haben die Akutdiagnostik des Myokardinfarktes über viele Jahre dominiert, wobei Myoglobin aufgrund mangelnder Spezifität für den Herzmuskel inzwischen kaum noch benutzt wird. Im Jahr 2009 wurden hochsensitive Troponinteste vorgestellt, die die Diagnose des in der Zwischenzeit neu benannten Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarktes (NSTEMI) weiter verbessert haben und zunehmend in die klinische Routine eingeführt werden.^{12,13} Trotzdem bleibt das Problem des Troponin-blinden Intervalls, da auch der Anstieg der hochsensitiven Troponine bis zu drei Stunden nach Schmerzbeginn benötigt. Die aktuelle Entwicklung versucht daher, die Bestätigung der Diagnose des NSTEMI bereits im Zeitintervall vor der Nachweisbarkeit der Troponine zu erbringen. Ein interessanter Kandidat ist das Copeptin, das am C-terminalen Ende des Prohormons des

Vasopressins exprimiert und bei Stress ausgeschüttet wird. Erste Studien waren vielversprechend.^{14,15}

Eine Reihe von Biomarkern des kardiovaskulären Risikos sind bereits im täglichen klinischen Einsatz und helfen, Therapieentscheidungen zu treffen. Dazu gehören insbesondere die Lipoproteine mit hoher (HDL) bzw. niedriger (LDL) Dichte oder das glykosylierte Hämoglobin HbA_{1c}. Problematisch ist allerdings, dass bis zu der Hälfte der Patienten, die ein erstes schwerwiegendes kardiovaskuläres Ereignis erleiden, keine klassischen Risikofaktoren wie erhöhtes LDL-Cholesterin, gestörte Glukosetoleranz oder auch Bluthochdruck aufweisen.^{16,17} Folgerichtig wurde mit großem Aufwand nach Biomarkern gesucht, die unabhängig von klassischen Risikofaktoren helfen, Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko zu erkennen. Der dabei am besten untersuchte Parameter ist das C-reaktive Protein (CRP), das bereits 1930 von Tillett und Francis beschrieben wurde.¹⁸ Es handelt sich dabei um ein von der Leber synthetisiertes Akutphase-Protein, das mit dem von Pneumokokken exprimierten C-Polysaccharid reagiert. Inzwischen ist bekannt, dass der CRP-Wert bei vielen mit erhöhter inflammatorischer Aktivität assoziierten Zuständen ansteigt; entsprechend gilt der CRP-Wert als „Barometer“ der entzündlichen Gesamtaktivität.¹⁹ CRP ist dabei als distaler Faktor in der Hierarchie der inflammatorischen Kaskade anzusehen. Tatsächlich wird die Akute Phase durch Interleukin-6 angestoßen, und es erscheinen entsprechend eine große Zahl von in der Leber synthetisierten Akutphase-Proteinen wie Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) oder Fibrinogen, jedoch ist CRP am besten messbar, weil es geringeren intraindividuellen Schwankungen unterliegt und eine ausreichend lange Halbwertszeit aufweist.¹⁹ Ab 1996 wurde begonnen, Assays zu entwickeln, die auch kleinste Konzentrationen von CRP detektieren konnten. Dies führte zur Einführung der high sensitivity-CRP (hsCRP) Assays. Verschiedene Studien der primären und sekundären Prävention bestätigten wiederholt, dass das hsCRP unter einer großen Zahl von potenziellen Risikomarkern eine starke Vorhersagekraft bezüglich zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse hat.²⁰ Daneben wurden in verschiedenen Studien die kardialen Troponine I und T als Vorhersageparameter des kardiovaskulären Risikos eingesetzt, ebenso wie die natriuretischen Peptide B-Typ natriuretisches Peptid (BNP) und das Spaltprodukt seines Vorläufermoleküls N-terminales pro-B-Typ natriuretisches Peptid (NT-proBNP). Studien zeigen, dass

Aussagen bezüglich des kardiovaskulären Risikos sowohl hinsichtlich der primären als auch der sekundären Prävention möglich sind,^{21,22,23} wobei die Datenlage hier allerdings alles andere als eindeutig ist.^{24,25}

Eine große Zahl anderer potenzieller Biomarker der myokardialen Ischämie sind zwar beschrieben, zum Teil bis hin zur Entwicklung kommerziell erhältlicher Testassays, spielen aber in der Routinediagnostik in der Notaufnahme keine oder nur eine untergeordnete Rolle. Zu nennen sind hier die Glykogenphosphorylase, das ischämisch-modifizierte Albumin oder das heart-type fatty acid binding protein (hFABP).²⁶ Dazu ist anzumerken, dass die vorhandene Studienlage oftmals unbefriedigend ist, da die Studienpopulationen in vielen publizierten Arbeiten zu klein oder die Kontrollgruppen wenig geeignet waren. In anderen Fällen sind die Sensitivität und Spezifität zu gering.

1.1.1. Copeptin

Vasopressin, das auch als antidiuretisches Hormon bekannt ist, wird nach Synthese im Hypothalamus aus dem Hypophysenhinterlappen ins Plasma freigesetzt. Beim Menschen wird oft von Arginin-Vasopressin gesprochen, um es von Lysin-Vasopressin abzugrenzen, das bei einigen Säugetieren wie Flusspferden und Schweinen vorkommt.²⁷ Arginin-Vasopressin besteht aus neun Aminosäuren und spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Wasserhaushalts in der Niere. Wie viele andere Peptidhormone auch, wird Arginin-Vasopressin als Teil eines deutlich größeren Vorläuferpeptids, des Präprovasopressins, synthetisiert.²⁷ Da die Messung von Arginin-Vasopressin im Plasma aufgrund der Instabilität und Thrombozyten-Bindung des Peptids als unzuverlässig gilt,^{28,29} werden die Peptide Neurophysin II und Copeptin, die gleichfalls Teile des Präprovasopressins sind,³⁰ als Kandidaten für eine zuverlässigere Messung angesehen. Im Jahr 2006 wurde ein immunoluminometrischer Sandwich-Assay für die Messung von Copeptin vorgestellt, das als aussichtsreichster Kandidat gilt, da es in stöchiometrischen Mengen mit Arginin-Vasopressin freigesetzt wird.³¹ Die physiologische Funktion von Copeptin, so es eine gibt, ist unbekannt.

Das analytische Detektionslimit des Copeptin-Assays ist 1,7 pmol/l, sein Intraassay-Variationskoeffizient <20 % bei Proben, die mehr als 2,25 pmol/l des Analyten enthalten.³¹ Die Stabilität des Analyten beträgt bei Zimmertemperatur mindestens 7 Tage, bei 4°C mehr als 14 Tage. In einer gesunden Studienpopulation war Copeptin bei 97,5% der 359 Teilnehmer messbar.³¹ Der Medianwert betrug 4,2 pmol/l mit einer Spannweite von 1,0 – 13,8 pmol/l. Geeignete Matrices zur Messung von Copeptin sind EDTA-, Heparin- und Zitratplasma.³¹ Der Assay wurde in einer der hier vorgelegten Arbeiten verwendet.

1.1.2. Pregnancy-associated Plasma Protein A

Das Pregnancy-associated Plasma Protein A (PAPP-A) wurde ursprünglich im Jahre 1972 als eins von vier Proteinen im Serum Schwangerer beschrieben.³² PAPP-A ist eine Zink-bindende Matrix-Metalloproteinase, die in das Prozessieren der extrazellulären Matrix involviert ist.^{33,34} Während der Schwangerschaft wird es vom Synzytiotrophoblasten der Plazenta produziert und in das mütterliche Serum sezerniert, wo seine Konzentration bis zur Geburt kontinuierlich ansteigt.³⁵ Seine Konzentration ist bei fetalem Down-Syndrom reduziert, sodass es sich zum Screening auf Trisomie 21, aber auch zum Screening auf Trisomie 18 eignet.^{36,37} Im Jahr 2001 wurde erstmals gezeigt, dass PAPP-A auch für kardiovaskuläre Fragestellungen interessant sein könnte, da es in erodierten und rupturierten, jedoch nicht in stabilen atherosklerotischen Plaques exprimiert wird.³⁸ Eine Reihe kleinerer Studien hat seither gezeigt, dass PAPP-A zur Abschätzung des koronaren Risikos bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit interessant sein könnte.^{39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49}

Eine Reihe von Assays zur Detektion von PAPP-A sind im Handel; die meisten wurden für das fetale Screening entwickelt. Das analytische Detektionslimit des in der vorgelegten Arbeit benutzten Immunofluoreszenz-Assays liegt bei 4 mIU/l.⁵⁰ Der Intraassay-Variationskoeffizient beträgt ≤23 % bei Proben, die <50 mIU/l und ≤3 % bei Proben, die >300 mIU/l des Analyten enthalten. Der Interassay-Variationskoeffizient beträgt ≤3,5 %. Der Normalwert im Serum von Männern und nichtschwangeren Frauen ist im begleitenden Produkthandbuch mit <14 mIU/l angegeben. Während der Schwangerschaft finden sich nach der 14.

Schwangerschaftswoche im Median Werte von 5.178.000 mIU/l PAPP-A im Serum. Zur Messung sind Serum sowie Heparin- oder EDTA-Plasma geeignet.

1.2. Biomarker bei Herzinsuffizienz

Die Diagnose der Herzinsuffizienz bleibt der klinischen Beurteilung überlassen. Allerdings sind die Sensitivität und Spezifität der typischen klinischen Zeichen der Herzinsuffizienz, also Dyspnoe, das Vorhandensein von Ödemen oder ein erhöhter Jugularvenendruck oftmals unzureichend,⁵¹ sodass nach Biomarkern gesucht wurde, die die Diagnosefindung vereinfachen können. Da die neuroendokrine Aktivierung als eine der wesentlichen pathophysiologischen Veränderungen bei chronischer Herzinsuffizienz seit vielen Jahren bekannt ist, bieten sich hier mögliche Ansatzpunkte zur Entwicklung neuartiger Biomarker. Daneben beruhen die in den Leitlinien für Herzinsuffizienz⁵² aufgeführten Therapien in vielen Aspekten auf der Erkenntnis der fortschreitenden neuroendokrinen Aktivierung, und tatsächlich gehören Hemmstoffe des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und des sympathischen Nervensystems zu den wesentlichen Bausteinen der medikamentösen Therapie. Zu nennen sind hier Hemmstoffe des Angiotensin-Conversions-Enzyms (ACE-Hemmer), Aldosteron-Antagonisten oder auch Beta-Blocker. Die Mediatoren dieser Systeme, z.B. Renin, Aldosteron oder Noradrenalin, gehören jedoch nicht zu den routinemäßig erfassten Biomarkern, meist aufgrund geringer Sensitivität oder Spezifität oder gar beidem.⁵³ Die bereits 1984 von Jay N. Cohn im Sinne eines Biomarkers als prognostisch interessant vorgeschlagenen Serumspiegel von Noradrenalin⁵⁴ sind schon aufgrund der sehr aufwändigen Präanalytik nie wirklich in der Routinediagnostik angekommen und bleiben Spezialuntersuchungen vorbehalten. So muss der Patient vor Blutentnahme zur Bestimmung des Noradrenalinpiegels mindestens 30 Minuten ruhen, die Venenpunktion muss bereits am Beginn der Ruhephase erfolgen, und das abgenommene Blut muss sofort nach Entnahme gekühlt und zentrifugiert werden.²⁶ Es ist daher wenig verwunderlich, dass der Bestimmung anderer Biomarker, insbesondere der von Peptidhormonen, weitere Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Interessante Kandidaten in diesem Sinne sind die hormonellen Regulatoren des Gefäßtonus, zu denen Endothelin, Vasopressin und Neuropeptid Y zählen, die alle

vasokonstriktiv wirken, oder die natriuretischen Peptide und Adrenomedullin, die vasodilatatorisch wirken.⁵⁵

Neben präanalytischen Überlegungen muss natürlich auch die klinische Fragestellung genau definiert werden, die mit einem gegebenen Biomarker beantwortet werden soll. Diagnostische Aussagen dienen der Identifikation von Patienten mit einer bestimmten Erkrankung oder einem bestimmten Subtyp. Umgekehrt können Biomarker helfen, das Vorhandensein bestimmter Erkrankungen auszuschließen, wozu beispielsweise das D-Dimer bei Verdacht auf Lungenarterienembolie gut etabliert ist.⁵⁶ Einschränkend muss für die Kardiologie gesagt werden, dass diagnostische Biomarker meist nur eingesetzt werden, um eine klinisch gestellte Diagnose zu stützen oder zu verwerfen.⁵¹ Prognostische Aussagen, also Aussagen zur Risikostratifizierung, können demgegenüber helfen, Hochrisikopatienten zu identifizieren, die frühzeitig spezifischen Therapien zugeführt werden sollten. Auch hier muss einschränkend gesagt werden, dass für die meisten derartigen Fragestellungen in der Kardiologie regelhaft nur die klinische Untersuchung und apparative Untersuchungsergebnisse wie die Ermittlung der linksventrikulären Ejektionsfraktion oder die maximale Sauerstoffaufnahme herangezogen werden, etwa um zu entscheiden, ob ein Patient mit schwerer chronischer Herzinsuffizienz einer Transplantation zugeführt werden sollte.²⁶ Klinische Entscheidungspfade, die die Höhe des Serumspiegels eines bestimmten Biomarkers für derartige Überlegungen beinhalten, fehlen gegenwärtig. Mögliche Einsatzmöglichkeiten umfassen allerdings nicht nur die Entscheidung, ob eine Transplantation sinnvoll ist, sondern auch Entscheidungspfade hinsichtlich der Versorgung mit implantierbaren Kardioverter-Defibrillatoren (ICD), mit Mehrkammerschrittmachern zur kardialen Resynchronisations-Therapie (CRT), zum Einschluss in Telemedizin-Projekte (Home-Monitoring), zur Abschätzung von Kardiotoxizität bei Chemotherapie oder zur Abschätzung des Narkoserisikos.²⁶

Für den Kliniker stellt sich bei der Wahl des „richtigen“ Biomarkers zunehmend die Frage, welcher der geeignete für eine bestimmte Fragestellung ist. Die Zahl der beschriebenen Kandidaten ist mittlerweile enorm. Neben den noch zu besprechenden natriuretischen Peptiden, die bei akuter und chronischer Herzinsuffizienz bereits routinemäßig klinisch eingesetzt werden, wurde eine sehr

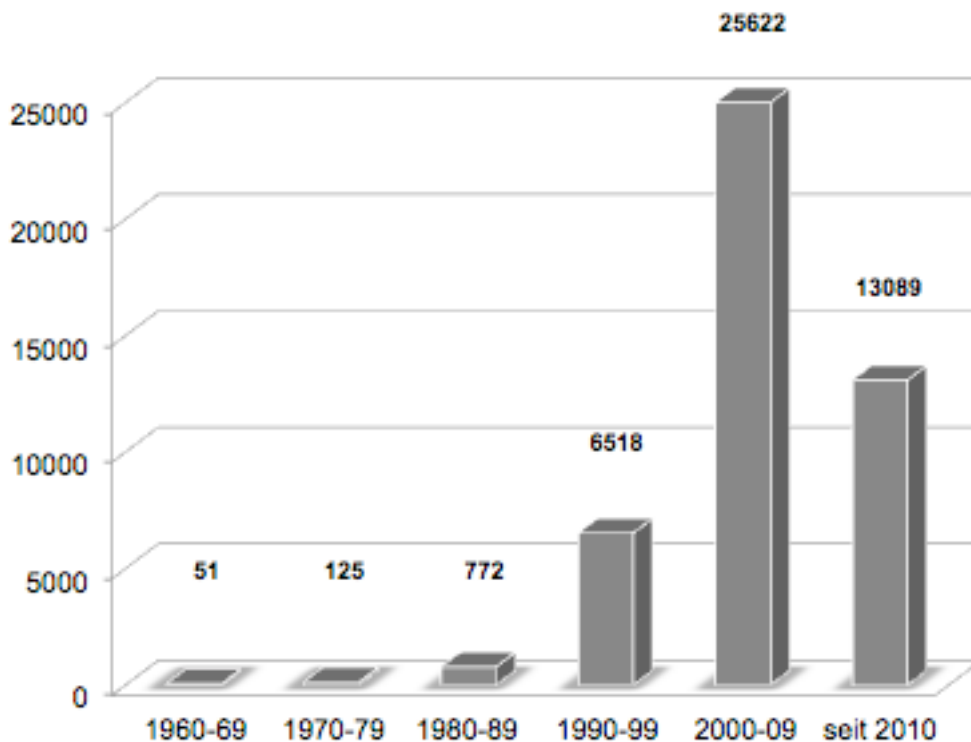
große Zahl von Biomarkern vorgeschlagen, deren klinische Erfassung bei diesen Krankheitsbildern sinnvoll sein könnte. Eugene Braunwald hat im Jahr 2008 eine Klassifikation der verschiedenen Biomarker vorgeschlagen,⁵⁷ die in Tabelle 2 dargestellt ist.

Tabelle 2. Biomarker bei Herzinsuffizienz. Modifiziert nach Braunwald.⁵⁷

Gruppe	Vertreter	
Inflammation	C-reaktives Protein	Fas (APO-1)
	Tumornekrose-Faktor- α	Interleukin 1, 6, 18
Oxidativer Stress	Oxidiertes LDL	Isoprostane in Urin und Plasma
	Myeloperoxidase	Malondialdehyd im Plasma
	Biopyrrine im Urin	
Extrazelluläres Matrix-Remodelling	Matrix-Metalloproteinasen	Propeptid des Prokollagen Typ I
	Tissue Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinasen	Plasma Prokollagen Typ III
Neurohormone	Noradrenalin	Aldosteron
	Renin	Arginin Vasopressin (Copeptin)
	Angiotensin II	Endothelin, CT-proET-1
Myozytenschädigung	Kardiales Troponin I oder T	hFABP
	Myosin Leichtkettenkinase I	CK-MB
Myozytenstress	BNP	MR-proANP
	NT-proBNP	ST2
	MR-proADM	
Neue Biomarker	Chromogranin	Adiponectin
	Galectin-3	Growth differentiation factor 15
	Osteoprotegerin	

Tatsächlich steigt die Anzahl der Kandidatenmarker weiter an, wie sich auch an der Publikationsaktivität auf diesem Gebiet ablesen lässt. Diese ist in Abbildung 1 dargestellt.

Abbildung 1. Anzahl der Einträge in PubMed pro Dekade zum Suchbegriff „(cardiac OR cardio* OR cardiovasc*) AND biomarker“ (Erfassungsdatum: 15.04.2013).⁵⁸



1.2.1. Natriuretische Peptide

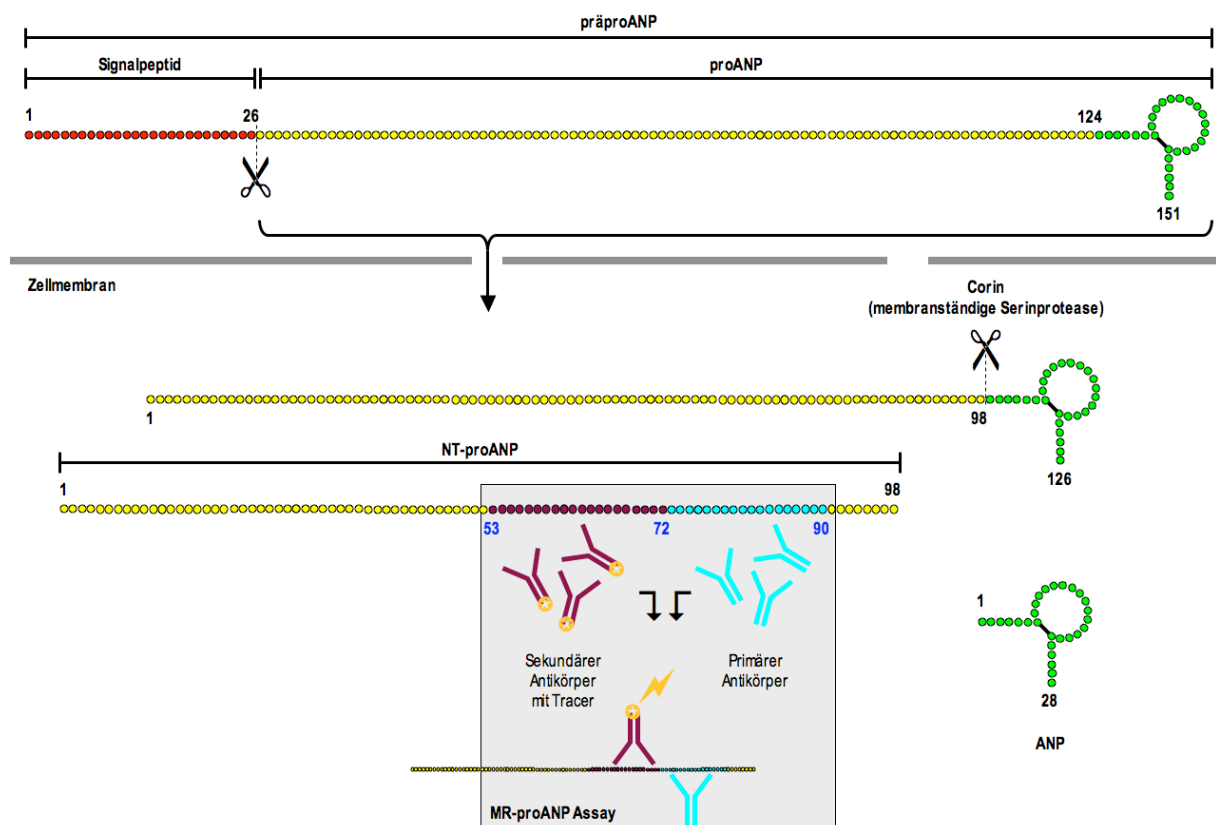
Die Geschichte des diagnostischen Einsatzes der natriuretischen Peptide bei medizinischen Fragestellungen begann durch Alfonso de Bold, der 1979 beschrieb, dass Granula, die er aus Vorhofmyokard isoliert hatte, Veränderungen in der Wasser- und Elektrolytbalance hervorrufen können.^{59,60} Folgearbeiten führten dazu, dass 1981 die Existenz eines „atrialen natriuretischen Faktors“ postuliert wurde.⁶¹ Im Verlauf der folgenden Jahre wurde ein entsprechendes Polypeptid sequenziert und synthetisiert und schließlich atriales natriuretisches Peptid (ANP) genannt.⁶² Im Jahr 1988 beschrieb die japanische Arbeitsgruppe um Hisayuki Matsuo ein „neues natriuretisches Peptid aus dem Schweinehirn“,⁶³ das entsprechend zunächst brain natriuretic peptide (BNP) genannt wurde. Als sich herausstellte, dass dieses Peptid beim Menschen vorwiegend aus dem Ventrikelmuskel freigesetzt wird, wurde es in Analogie zum ANP in B-Typ natriuretisches Peptid umbenannt.⁶² Dieselbe japanische Arbeitsgruppe, die schon BNP isoliert hatte, beschrieb 1990 erstmalig ein drittes Peptid der Gruppe, das sie aus dem Gehirn von Schweinen isoliert hatte. Es

wurde C-Typ natriuretisches Peptid genannt,⁶⁴ jedoch kommt ihm bisher keine relevante Rolle in der Alltagsdiagnostik zu.

Beide natriuretischen Peptide, ANP und BNP, werden als Präprohormone synthetisiert (Abbildung 2).⁶² Ein Signalpeptid wird bereits intrazellulär abgespalten. Nach Freisetzung ins Plasma wird das so entstandene Prohormon erneut gespalten, sodass aktives ANP und BNP zusammen mit einem jeweils zugehörigen N-terminalen Spaltprodukt entstehen: NT-proANP und NT-proBNP.⁶² Alle Spaltprodukte sind grundsätzlich durch entsprechende Testsysteme der Messung zugänglich, wobei die physiologischen Eigenschaften die Messbarkeit determinieren. Diese sind in Tabelle 3 zusammengefasst. BNP und sein N-terminales Spaltprodukt NT-proBNP galten lange Zeit als der Messung von ANP überlegen, vorrangig aufgrund der längeren Halbwertszeit von BNP, seiner rascheren Synthese, seiner Regulation auf Ebene der Gentranskription und seiner insgesamt größeren Menge infolge Produktion in den muskelstärkeren Ventrikeln.⁶⁵ Im Falle des ANP kommt erschwerend hinzu, dass proANP nach seiner Freisetzung aus dem Vorhofmyokard nicht nur in ein N-terminales (proANP₁₋₉₈) und ein C-terminales Fragment gespalten wird (proANP₉₉₋₁₂₆), sondern dass das funktionell inaktive N-terminale Fragment *in vivo* in drei weitere Peptidfragmente gespalten wird: proANP₁₋₃₀, proANP₃₁₋₆₇ und proANP₇₉₋₉₈.⁶⁵ Diese haben teilweise biologische Aktivität.⁶⁶ Beispielsweise hemmt proANP₃₁₋₆₇ eine ATPase im Sammelrohr der Niere, eine Eigenschaft, die reifem ANP fehlt.⁶⁷

Im Gegensatz zu BNP wird ANP konstitutiv exprimiert,⁵⁹ sodass ANP und seine Prohormone beim Gesunden etwa 98 % der natriuretischen Peptide in der Zirkulation ausmachen.⁶⁸ Nur 2 % davon sind reifes (aktives) ANP.⁶⁹ Da das N-terminale Fragment eine deutlich längere Plasma-Halbwertszeit hat als das aktive ANP, kann seine Bestimmung in der Analytik Vorteile haben. Die Entwicklung eines neuen Assays lag somit nahe und gelang in Form eines immunoluminometrischen Assays, dessen zwei Antikörper im Bereich der Aminosäuren 73-90 (primärer Antikörper) und 53-72 (sekundärer Antikörper) in der mittleren Region des NT-proANP binden.⁷⁰ Der Test wurde im Jahr 2004 publiziert und wird seit 2008 unter dem Namen mid-regional proANP (MR-proANP) kommerziell angeboten (Abbildung 2).⁷⁰

Abbildung 2. Intra- und extrazelluläre Prozessierung von präproANP. Bereits intrazellulär wird ein Signalpeptid aus 26 Aminosäuren abgespalten. Nach Freisetzung spaltet die membranständige Serinprotease Corin das entstandene proANP in NT-proANP und das aktive Peptidhormon ANP. Antikörper des Assays für MR-proANP (grauer Kasten unten) erkennen die mittlere Region des NT-proANP, ein Tracer am sekundären Antikörper dient der Messung. Modifiziert und erweitert nach Morgenthaler *et al.*⁷⁰ und Potter *et al.*⁷¹



Dieser neuartige Assay kam in zwei der hier vorgelegten Arbeiten zur Anwendung. Der Test für MR-proANP gilt als zuverlässig; sein unteres Detektionslimit beträgt 6,0 pmol/l, sein Intraassay-Variationskoeffizient <10 % bei Proben, die 23 – 3000 pmol/l enthalten und <20 % bei Proben, die 18,0 – 22,8 pmol/l des Analyten enthalten.⁹⁷ Die Stabilität des Analyten beträgt bei 4°C mehr als 48 Stunden. Bei 325 gesunden Probanden betrug der Medianwert 45 pmol/l mit einem 95 % Konfidenzintervall von 43,0 – 49,1 pmol/l.⁹⁷

Tabelle 3. Biochemische Eigenschaften der natriuretischen Peptide ANP und BNP. Modifiziert nach Kragelund und Omand⁶² sowie Azzazy und Christenson.⁶⁵ NPR-C, natriuretisches Peptid Rezeptor-C.

Charakteristikum	ANP	BNP
Syntheseort bei Gesunden	Vorhöfe	Vorhöfe und Ventrikel
Syntheseort bei Druck- bzw. Volumenüberlastung	Vorhöfe und Ventrikel	Vorhöfe und Ventrikel
Vorläuferpeptid	präproANP ₁₋₁₅₁	präproBNP ₁₋₁₃₄
Prohormon	proANP ₁₋₁₂₆	proBNP ₁₋₁₀₈
Biologisch aktive Form	ANP ₁₋₂₈	BNP ₁₋₃₂
Zirkulierende N-terminale Fragmente	NT-proANP (entspricht proANP ₁₋₉₈), proANP ₁₋₃₀ , proANP ₃₁₋₆₇ , proANP ₇₉₋₉₈	NT-proBNP (entspricht proBNP ₁₋₇₆), proBNP ₁₋₉₈
Genexpression	konstitutiv	induzierbar
Antwort der Gentranskription	langsam	schnell
Primäre Regulationsebene	Sekretion	Synthese
Speicherung der Vorläufermoleküle	atriale Granula	Freisetzung ohne vorherige Speicherung
Freisetzungsstimulus	transmurale Vorhofspannung	ventrikuläre Wandspannung
Clearance-Mechanismen	NPR-C, neutrale Endopeptidase	NPR-C, neutrale Endopeptidase
Plasma-Halbwertszeit	3 Minuten	21 Minuten
Physiologische Effekte	Natriurese, Vasodilatation, Inhibition des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, Antimitogenese	Natriurese, Vasodilatation, Inhibition des Aldosterons, Antimitogenese

Die Elimination der natriuretischen Peptide erfolgt durch mehrere Mechanismen. Von den drei bekannten Rezeptoren für natriuretische Peptide (NPR) vermitteln nur zwei (NPR-A und NPR-B) durch intrazelluläre Synthese einen Konzentrationsanstieg von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP).⁷² Der dritte Rezeptor, NPR-C, hat die primäre Funktion, natriuretische Peptide aus der Zirkulation zu entfernen, was durch Rezeptor-vermittelte Internalisierung und Degradierung geschieht.⁷³ Daneben tragen extrazelluläre Proteasen wie Nephilysin, aber auch die Sekretion in Körperflüssigkeiten wie den Urin zur Entfernung der natriuretischen Peptide bei.⁷³

Für BNP und NT-proBNP wird angenommen, dass ihre renale Clearance etwa 15-20 % beträgt, unabhängig davon, ob etwa eine Herzinsuffizienz vorliegt oder nicht.⁷⁴

Die Testung der natriuretischen Peptide ist gut validiert für die Diagnose der akuten Herzinsuffizienz. Eine erste kleinere Studie, die BNP zur Evaluation von Patienten mit akuter Dyspnoe untersuchte, erschien bereits 1994.⁷⁵ Die Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der Herzinsuffizienz aus dem Jahr 2012 listet erstmals die Möglichkeit, MR-proANP zum Ausschluss einer akuten Herzinsuffizienz bei Patienten, die wegen akuter Dyspnoe vorstellig werden, heranzuziehen.⁵² Der Schwellenwert liegt den Ergebnissen der Biomarker in ACute Heart failure (BACH) Studie⁷⁶ folgend, an der auch der Autor dieser Arbeit mitwirkte, bei 120 pmol/l. Dieser Wert mit einer Sensitivität von 97,0 % (95 % Konfidenz-Intervall 95,2 – 98,2 %) und einer Spezifität von 59,9 % (56,4 – 62,8 %) war dem Schwellenwert von 100 pg/ml für BNP hinsichtlich der korrekten Diagnose der akuten Herzinsuffizienz nicht unterlegen („non-inferior“).⁷⁶ Der Schwellenwert von 100 pg/ml für BNP entstammt dabei der Breathing Not Properly-Studie,⁷⁷ für die ähnlich wie für die BACH-Studie mehr als 1500 Patienten mit akuter Dyspnoe eingeschlossen worden waren. Für die chronische Herzinsuffizienz sind ausreichend große Studien mit adäquatem Studiendesign zur Errechnung entsprechender Schwellenwerte für MR-proANP derzeit noch nicht verfügbar. Im Gegensatz dazu zeigen die Leitlinien für BNP und NT-proBNP bereits gut validierte Schwellenwerte für die Diagnose zum Ein- bzw. Ausschluss einer chronischen Herzinsuffizienz.⁵²

Einsatzmöglichkeiten der natriuretischen Peptide umfassen neben den bereits beschriebenen diagnostischen Überlegungen auch Möglichkeiten zur Therapiemodifikation nach aktuell bestehenden Plasmawerten von BNP oder NT-proBNP, wobei die Ergebnisse nicht einheitlich sind und sich zahlreiche positive wie negative Studien finden.^{78,79} Daneben bietet sich die Möglichkeit, natriuretische Peptide als Screening-Werkzeug auf asymptomatische linksventrikuläre Dysfunktion einzusetzen, als Surrogatendpunkt in klinischen Studien oder als Hilfsmittel zur Risikostratifizierung von Patientengruppen mit hohem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse.⁸⁰

1.2.2. Adrenomedullin

Adrenomedullin (ADM) ist ein Peptidhormon mit einer Länge von 52 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 20,4 kDa.⁸¹ Es wurde 1993 erstmalig aus Phäochromozytom-Zellen isoliert und beschrieben.⁸² Seine Plasma-Halbwertszeit beträgt 22 Minuten. ADM wird als Präprohormon in verschiedenen Geweben synthetisiert, wobei das Myokard und das vaskuläre Endothel als Hauptquellen angesehen werden.⁸³ Daneben wird ADM unter anderem in vaskulären glatten Muskelzellen und in Zellen im Verdauungs-, Atmungs- und im endokrinen System exprimiert. In der Summe erfolgt die Synthese von ADM allerdings bevorzugt in den Geweben des kardiovaskulären Systems.⁸⁴ Seine Wirkung an der Gefäßwand beruht auf einer Veränderung der Kalziumsensitivität der vaskulären glatten Muskelzellen⁸⁵ sowie einer Verstärkung der Synthese von Stickstoffmonoxid.⁸⁶ Da es daneben aber auch die Synthese von Endothelin reduziert, beruhen seine hypotensiven Effekte sowohl auf einer direkten wie auch auf einer indirekten Vasodilatation.⁸⁷ Nach akutem Myokardinfarkt steigen die Plasmawerte von ADM frühzeitig an und erreichen innerhalb von 24 Stunden ihren Maximalwert.⁸⁸ Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz steigen die Werte mit zunehmender Schwere der Erkrankung, gemessen anhand der Einteilung der New York Heart Association (NYHA) Klassifikation, an.^{81, 89} Insgesamt scheint ADM den schädlichen pathophysiologischen Veränderungen, die bei zunehmender Herzinsuffizienz auftreten, entgegenzuwirken.⁸⁷ In dieser Hinsicht ist ADM den natriuretischen Peptiden vergleichbar.

Ähnlich wie die natriuretischen Peptide wird ADM als Präprohormon mit 185 Aminosäuren intrazellulär synthetisiert. Nach Abspaltung eines Signalpeptids entsteht proADM mit 164 Aminosäuren, aus dem nach weiterer Prozessierung zwei aktive Peptide entstehen: aktives ADM und N-terminales proADM 20 Peptid (PAMP).⁸⁴ Die hypotensive Wirkung von PAMP entsteht dabei durch Hemmung der Freisetzung von Noradrenalin aus sympathischen Nervenfasern.⁹⁰ Die Messung von ADM im Plasma ist erschwert durch mehrere Faktoren: die kurze Halbwertszeit von ADM, die Existenz eines Bindungsproteins im Plasma und die Tatsache, dass ADM in großem Maße unmittelbar nach seiner Freisetzung durch Rezeptorbindung parakrine oder autokrine Funktionen wahrnimmt.^{91, 92} Daher wurde ein

immunoluminometrischer Sandwichassay entwickelt, dessen zwei polyklonale Antikörper im Bereich der mittleren Region von proADM binden, die weder an der Peptidkette von aktivem ADM noch an der von PAMP beteiligt ist.⁹³ Dieser Test ist seit 2008 kommerziell erhältlich und misst das so genannte MR-proADM. Er hat ein analytisches Detektionslimit von 0,08 nmol/l und einen Intraassay-Variationskoeffizienten <20 % bei Proben, die mehr als 0,12 nmol/l des Analyten enthalten. Die Messung kann aus EDTA-, Heparin- oder Zitratplasma, jedoch nicht aus Serum erfolgen. Aus diesen Matrices kann MR-proADM noch zuverlässig vermessen werden, wenn die Probe bis zu drei Tage bei Zimmertemperatur, 14 Tage bei +4°C oder ein Jahr bei -20°C gelagert wurde. Bei 264 gesunden Probanden betrug der Mittelwert \pm Standardabweichung $0,33 \pm 0,07$ nmol/l, wobei die Werte von 0,10 – 0,64 nmol/l reichten.

1.3. Zielsetzung und Beitrag dieser Arbeit

Die vorliegende Arbeit widmet sich der Risikostratifizierung kardiologischer Risikopatienten, die in zwei großen Patientenkollektiven entweder wegen stabiler Angina pectoris bei koronarer Herzkrankheit, wegen vermutetem akuten Koronarsyndrom oder wegen klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz vorstellig wurden. Alle Patienten haben ein hohes Risiko, kurz- bis mittelfristig ein schwerwiegendes kardiovaskuläres Ereignis zu erleben. Das Ziel dieser Arbeit ist die Risikoabschätzung anhand neuartiger Biomarker für derartige Ereignisse; im Einzelnen werden untersucht:

- die Prädiktion der Gesamtmortalität bei Patienten mit stabiler Angina pectoris oder akutem Koronarsyndrom mittels MR-proANP;
- die Möglichkeiten der Vorhersage schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse mittels Serum-Copeptin bei Patienten mit stabiler Angina pectoris oder akutem Koronarsyndrom;
- die Rolle von PAPP-A in der Vorhersage schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit stabiler Angina pectoris oder akutem Koronarsyndrom;

- die Wertigkeit einer Einmalbestimmung von MR-proANP bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zur Abschätzung des Risikos, aus kardiovaskulärem Grund zu sterben;
- der Vorhersagewert einer Einmalbestimmung von MR-proADM bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zur Vorhersage des kardiovaskulären Sterberisikos.

2. Eigene Arbeiten

2.1. Midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid als prädiktiver Marker der Mortalität bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit

Stephan von Haehling, Jana Papassotiriou, Oliver Hartmann, Wolfram Doehner, Konstantinos Stellos, Tobias Geisler, Thomas Wurster, Andreas Schuster, René M. Botnar, Meinrad Gawaz, Boris Bigalke. Midregional pro-atrial natriuretic peptide as a prognostic marker for all-cause mortality in patients with symptomatic coronary artery disease. Clinical Science 2012; 123: 601-610.

Die Abschätzung der Prognose von Patienten nach akutem Koronarsyndrom wird neben dem klinischen Befund von Markern der myokardialen Schädigung, also Troponin I, Troponin T und CK dominiert. Gleichfalls wird die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten erneuter schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse bei diesen Patienten am ehesten anhand dieser Blutmarker abgeschätzt. Auch bei nur minimal erhöhten Troponin-Konzentrationen gelten die prognostischen Daten als robust.⁹⁴ Daneben haben die natriuretischen Peptide BNP und NT-proBNP sowie das hsCRP hier eine gewisse Rolle, obgleich ihr Einsatz zur prognostischen Einschätzung bei akutem Koronarsyndrom noch nicht zum klinischen Standard gehört. Deutlich weniger Daten liegen für Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit vor, obgleich einige Studien auch hier den Nutzen von BNP und NT-proBNP belegen konnten.^{95,96}

Wir testeten den prognostischen Wert des neuartigen Markers MR-proANP, der bei 2700 Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit gemessen wurde. Die Patienten wurden elektiv bei stabiler koronarer Herzkrankheit (51,3 %) oder aufgrund eines vermuteten akuten Koronarsyndroms (48,7 %) im Zeitraum zwischen Dezember 2007 und April 2009 mittels Koronarangiographie untersucht. Als primärer Endpunkt der Studie wurde die Gesamtmortalität nach 90 Tagen definiert („all-cause death“). Dieser trat bei 76 Patienten (2,8 %) auf. Als sekundärer Endpunkt wurde die Kombination aus erneutem Myokardinfarkt (n=98, 3,6 %), ischämischem Schlaganfall (n=19, 0,7 %) und Gesamtmortalität definiert; insgesamt wurde dieser Endpunkt bei 183 Patienten (6,8 %) beobachtet. MR-proANP wurde aus bei -80°C gefrorenen Serumproben mittels eines immunoluminometrischen Sandwich-Assays bestimmt. Das untere Detektionslimit des Assays ist 4,5 pmol/l,⁹⁷ der Medianwert bei Gesunden lag in einer vorhergehenden Untersuchung bei 45 pmol/l.⁹⁷

Das mittlere Alter der Patienten lag bei $68,3 \pm 11,2$ Jahren, 74,1 % der Studienpopulation waren männlich. Kardiovaskuläre Risikofaktoren waren im Vergleich zur Normalbevölkerung überproportional häufig vorhanden; 78,6 % der Studienteilnehmer hatten eine bekannte arterielle Hypertonie, 67,9 % eine Hyperlipidämie, 38,7 % waren aktive Raucher, 32,7 % hatten einen bekannten Diabetes mellitus und 20,4 % eine positive Familienanamnese hinsichtlich koronarer Herzkrankheit. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion lag bei $48,4 \%$ $\geq 60 \%$. Die mittlere glomeruläre Filtrationsfraktion lag bei $68,5 \pm 11,2$ ml/min/1,73 m², und 435 Patienten (16,1 %) hatten einen Kreatininwert oberhalb des geschlechtsspezifischen oberen Grenzwertes für normal.

Der Medianwert von MR-proANP lag bei 172 pmol/l mit einem Interquartilsabstand von 107 – 289 pmol/l. Der Schwellenwert mit der optimalen prognostischen Aussagekraft lag bei ≥ 236 pmol/l, definiert als das höchste Produkt aus Sensitivität und Spezifität in der Receiver-Operator Characteristic Curve. In der univariablen Analyse hinsichtlich des primären Endpunkts waren Alter, linksventrikuläre Pumpfunktion, Hyperlipidämie, die primäre Diagnose eines akuten Koronarsyndroms, Troponin I, CRP und MR-proANP prädiktiv. Hinsichtlich des sekundären Endpunktes galt dies für die linksventrikuläre Pumpfunktion, das Troponin I und das MR-proANP. Der prädiktive Wert von MR-proANP hinsichtlich des primären Endpunktes Gesamtmortalität war nach multivariabler Adjustierung höher (gemeinsamer χ^2 -Wert 90,3, $p < 0,0001$) als der von Troponin I (gemeinsamer χ^2 -Wert 31,0, $p = 0,0003$). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich bezüglich des sekundären Endpunktes, wo gleichfalls der prädiktive Wert von MR-proANP nach multivariabler Adjustierung höher (gemeinsamer χ^2 -Wert 78,9, $p < 0,0001$) war als der von Troponin I (gemeinsamer χ^2 -Wert 21,6, $p = 0,01$). Diese Ergebnisse konnten auch reproduziert werden, wenn die Gruppen von Patienten mit stabiler Angina pectoris und akutem Koronarsyndrom separat analysiert wurden.

Die Studie zeigt, dass MR-proANP einen unabhängigen Vorhersagewert besitzt hinsichtlich der Gesamtmortalität bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit. Dies gilt sowohl für Patienten mit stabiler Angina pectoris als auch für Patienten mit akutem Koronarsyndrom. Der optimale Schwellenwert bezüglich der Prognose lag in dieser Studienpopulation bei ≥ 236 pmol/l.

2.2. Copeptin als prognostischer Marker für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit

Stephan von Haehling, Jana Papassotiriou, Nils G. Morgenthaler, Oliver Hartmann, Wolfram Doehner, Konstantinos Stellos, Thomas Wurster, Andreas Schuster, Eike Nagel, Meinrad Gawaz, Boris Bigalke. *Copeptin as a prognostic factor for major adverse cardiovascular events in patients with coronary artery disease. International Journal of Cardiology 2012; 162: 27-32.*

Copeptin ist ein Peptid mit unbekannter Funktion, das den C-terminalen Teil des Vorläufermoleküls von Vasopressin bildet. Vasopressin, auch als antidiuretisches Hormon bekannt, wird aus dem Hypophysenhinterlappen während Stressreaktionen freigesetzt.⁹⁸ Erhöhte Plasmakonzentrationen und prognostische Aussagekraft wurden beschrieben bei akut exazerbierter chronisch obstruktiver Lungenerkrankung, Infektionen der unteren Atemwege, bei hämorrhagischem und septischem Schock und bei akutem Schlaganfall.⁹⁸ Andere Arbeiten haben gezeigt, dass die frühzeitige Bestimmung von Copeptin bei akutem Brustschmerz die Diagnose eines akuten Koronarsyndroms verbessern kann, da Copeptinwerte früher ansteigen und eine Diagnose im sog. Troponin-blinden Intervall ermöglichen.^{14,15} Tatsächlich kann es bei Patienten mit NSTEMI bis zur Diagnosefindung entsprechend der Kinetik der Troponine 3-6 Stunden bis zur Bestätigung der Diagnose dauern. Der vorgeschlagene optimale Schwellenwert für Copeptin beträgt 14 pmol/l¹⁴ und wird zeitlich deutlich früher erreicht als der der Troponine. Auch eine kombinierte Messung von Copeptin und Troponin könnte vorteilhaft sein.^{14,15} Die prognostische Wertigkeit der frühzeitigen Copeptinbestimmung ist unbekannt.

Wir untersuchten den prognostischen Wert der Copeptinbestimmung in einer Herzkatheterkohorte von 2700 Patienten, die alle entweder elektiv bei stabiler koronarer Herzkrankheit (51,3 %) oder aufgrund eines vermuteten akuten Koronarsyndroms (48,7 %) im Zeitraum zwischen Dezember 2007 und April 2009 stationär mittels Koronarangiographie untersucht worden waren. Blutproben zur Bestimmung von Copeptin wurden direkt nach der Ankunft in der Notaufnahme oder im Herzkatheterlabor abgenommen, je nachdem, wo die jeweilige Patientin oder der jeweilige Patient zuerst untersucht wurde. Bis zur Analyse mittels immunoluminometrischem Sandwich-Assay wurden die Proben bei -80°C gelagert. Das untere Detektionslimits dieses Assays liegt bei 5,0 pmol/l. Der Medianwert in einer früher beschriebenen gesunden Kontrollgruppe wurde mit 5,7 pmol/l

angegeben. Der primäre Endpunkt der Untersuchung war definiert als kombinierter Endpunkt aus erneutem akuten Myokardinfarkt (n=89, 3,3 %), ischämischem Schlaganfall (n=18, 0,7 %) und Gesamtmortalität (n=76, 2,8 %) innerhalb von 90 Tagen; er trat somit bei insgesamt 183 Patienten (6,8 %) auf.

Der Medianwert von Copeptin lag in der gesamten Studienpopulation bei 8,7 pmol/l, das 25. Perzentil bei 5,0 pmol/l, das 75. Perzentil bei 20,4 pmol/l. Hinsichtlich des Copeptin-Wertes im Plasma fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen (p=0,09). Interessanterweise zeigten sich auch keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit stabiler Angina pectoris und Patienten, die wegen eines akuten Koronarsyndroms aufgenommen worden waren (Median, Interquartilsabstand: 7,9 pmol/l, 5,0 – 19,1 pmol/l vs. 9,6 pmol/l, 5,0 – 21,5 pmol/l). Patienten, die einen primären Endpunkt erreichten, hatten höhere Copeptin-Werte als Patienten, die keinen Endpunkt erreichten (31,0 pmol/l, 7,4 – 158,0 pmol/l vs. 8,3 pmol/l, 5,0 – 18,5 pmol/l, p <0,0001). Die Copeptin-Werte waren signifikant höher in allen Kategorien des primären Endpunktes im Vergleich zu Patienten ohne derartigen Endpunkt (Varianzanalyse [ANOVA] p <0,0001, p <0,05 für alle Vergleiche vs. die Gruppe ohne Erreichen eines Endpunktes). In der univariablen Analyse zeigte sich, dass Copeptin den primären Endpunkt besser vorherzusagen vermag (χ^2 166,6, p <0,0001) als Troponin I (χ^2 =6,5, p=0,01), CK (χ^2 =0,0, p=0,93), CK-MB (χ^2 =0,5, p=0,50), Kreatinin (χ^2 =0,6, p=0,53) oder CRP (χ^2 =0,3, p=0,51). Der prädiktive Wert von Copeptin hinsichtlich des primären Endpunktes war nach multivariabler Adjustierung höher (gemeinsamer χ^2 =177,8, p<0,0001) als der von Troponin I (gemeinsamer χ^2 =28,6, p=0,004). Der Schwellenwert mit der optimalen prognostischen Aussagekraft lag bei $\geq 21,6$ pmol/l, definiert als das höchste Produkt aus Sensitivität und Spezifität in der Receiver-Operator Characteristic Curve.

Copeptin kann bei symptomatischer koronarer Herzkrankheit helfen, Patienten mit erhöhtem Risiko für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse innerhalb von 90 Tagen zu erkennen. Werte $\geq 21,6$ pmol/l zeigten optimale prognostische Aussagekraft. Bei der Analyse der in dieser Studie gemessenen Werte ist zu bedenken, dass die Patienten mit akutem Koronarsyndrom auch solche mit instabiler Angina pectoris umfassen, sodass die gemessenen Medianwerte niedriger sind als in einer Gruppe von Patienten mit Myokardinfarkt zu erwarten wäre.

2.3. Pregnancy-associated Plasma Protein A im Serum als prädiktiver Marker schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten, die wegen kardialer Brustschmerzen aufgenommen wurden

Stephan von Haehling, Wolfram Doehner, Ewa A. Jankowska, Piotr Ponikowski, Konstantinos Stellos, Valentina O. Puntmann, Eike Nagel, Stefan D. Anker, Meinrad Gawaz, and Boris Bigalke. Value of serum pregnancy-associated plasma protein A for predicting cardiovascular events among patients presenting with cardiac chest pain. Canadian Medical Association Journal 2013; 185: E295-E303.

Bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit ist die Risikoabschätzung hinsichtlich zukünftig auftretender schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse eine wesentliche ärztliche Aufgabe. In Ermangelung sensitiverer Parameter, werden hierzu in der Regel das klinische Bild, der Koronarbefund, der echokardiographische Befund, relevante Komorbiditäten oder die Biomarker CK und Troponin herangezogen.⁹⁹ Kürzlich vorgelegte Studien bescheinigen auch der Computertomographie-Koronarangiographie (Cardio-CT) einen unabhängigen prädiktiven Wert hinsichtlich der Vorhersage derartiger Ereignisse.^{100, 101} Andere Studien belegen einen prognostischen Wert für die Biomarker BNP, Myeloperoxidase und hsCRP.¹⁰² Biomarker, die nicht aus nekrotischem Myokardgewebe freigesetzt werden bzw. als indirektes Maß des myokardialen Stresses dienen, sondern unmittelbar aus dem vulnerablen Plaque freigesetzt werden, sind bislang in der klinischen Routine nicht verfügbar.

In einer Herzkatheterkohorte von 2568 Patienten testeten wir den prognostischen Wert einer einmaligen Bestimmung von PAPP-A im Serum hinsichtlich der Vorhersage schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse. PAPP-A ist eine Matrix-Metalloproteinase, die aus rupturierten oder instabilen atherosklerotischen Plaques freigesetzt wird. Bei den eingeschlossenen Patienten (mittleres Alter \pm Standardabweichung: 68 \pm 11 Jahre, 74 % männlich) wurde eines Koronarangiographie elektiv bei stabiler Angina pectoris (55 %) oder aufgrund eines akuten Koronarsyndroms (45 %) durchgeführt. Als primärer Endpunkt der Studie wurde ein kombinierter Endpunkt aus Stentthrombose, erneutem Myokardinfarkt, ischämischem Schlaganfall oder Tod aus kardiovaskulärem Grund innerhalb von 90 Tagen definiert. Dieser Endpunkt trat bei 203 (7,9 %) Patienten auf. PAPP-A wurde aus Serumproben bestimmt, die bei -80°C eingefroren waren. Die Bestimmung erfolgte mittels einer Immunfluoreszenz-Assays, dessen unteres Detektionslimit vom

Hersteller mit 4 mIU/l angegeben wird. Der Normalwert im Serum von Männern und nichtschwangeren Frauen liegt bei <14 mIU/l.

PAPP-A war bei allen Patienten im Serum detektierbar. Sein Mittelwert lag bei $24,6 \pm 50,2$ mIU/l mit einer Spannweite von 4,1 – 2154,4 mIU/l und einem Median von 14,0 mIU/l bei einem Interquartilsabstand von 15,9 mIU/l. Während sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern fand ($p=0,97$), hatten Patienten, die wegen akutem Koronarsyndrom vorstellig wurden, etwas höhere PAPP-A-Werte als Patienten mit stabiler Angina pectoris ($24,8 \pm 28,5$ versus $24,4 \pm 64,0$ mIU/l, $p=0,01$). Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (LVEF) hatten tendenziell höhere PAPP-A-Werte als Patienten mit normaler Pumpfunktion (LVEF <35% versus >60%: $30,3 \pm 35,3$ versus $22,8 \pm 26,0$ mIU/l, $p=0,003$). Die Werte von PAPP-A im Serum korrelierten mit den Serumwerten der CK ($r=0,065$, $p=0,002$) und des Troponin I ($r=0,04$, $p=0,046$), nicht jedoch mit dem Alter, dem Body Mass Index, dem Kreatinin oder dem Serumwert des CRP (alle $p>0,3$). Patienten, die während des Follow-up Zeitraums einen primären Endpunkt erreichten, hatten höhere Serumwerte von PAPP-A als solche, bei denen dies nicht der Fall war ($62,0 \pm 156,4$ versus $21,4 \pm 22,8$ mIU/l, $p<0,0001$). Kein signifikanter Unterschied fand sich hinsichtlich des PAPP-A-Wertes bei Patienten mit stabiler Angina pectoris und solchen mit akutem Koronarsyndrom. In der multivariablen Cox-Regression zeigte sich, dass PAPP-A ein unabhängiger Vorhersageparameter des primären Endpunktes blieb nach Adjustierung für Geschlecht, Alter, das Vorhandensein einer linksventrikulären Dysfunktion, das Vorhandensein eines akuten Koronarsyndroms, mehrere Komorbiditäten, CRP, CK, Troponin I und Kreatinin (Hazard pro Anstieg um eine Standardabweichung des PAPP-A im Serum: 1,96, 95 % Konfidenzintervall 1,74 – 2,21, $p<0,0001$). Andere unabhängige Prädiktoren des primären Endpunktes in der multivariablen Analyse blieben nur die Komorbiditäten Vorhofflimmern und Diabetes mellitus.

Die Studie zeigt, dass PAPP-A im Serum bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit ein starker, unabhängig prädiktiver Marker für das Risiko ist, innerhalb von 90 Tagen ein schwerwiegendes kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden.

2.4. Midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid als prädiktiver Marker der Mortalität bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz

Stephan von Haehling,* Ewa A. Jankowska,* Nils G. Morgenthaler,* Corrado Vassanelli, Luisa Zanolla, Piotr Rozentryt, Gerasimos S. Filippatos, Wolfram Doehner, Friedrich Koehler, Jana Papassotiriou, Dimitrios T. Kremastinos, Waldemar Banasiak, Joachim Struck, Piotr Ponikowski, Andreas Bergmann, Stefan D. Anker. *Comparison of midregional pro-atrial natriuretic peptide with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in predicting survival in patients with chronic heart failure. Journal of the American College of Cardiology 2007; 50: 1973-1980 (* geteilte Erstautorenschaft).*

Chronische Herzinsuffizienz ist eine Multisystemerkrankung mit schlechter Prognose. Trotz leitliniengerechter Therapie beträgt die mediane Lebenserwartung nach Erstdiagnose bei Männern 1,7 und bei Frauen 3,2 Jahre.¹⁰³ Die Leitlinien⁵² für die Diagnose und Therapie der Herzinsuffizienz der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie beschreiben, dass natriuretische Peptide die Diagnosefindung vereinfachen können, wenn sie zusätzlich zu Elektrokardiogramm und Röntgenbild des Thorax zum Einsatz kommen. Unabhängig davon hat eine große Zahl von Studien die Rolle des natriuretischen Peptids BNP und seiner Prozessierungsvariante NT-proBNP in der Risikostratifizierung von Patienten mit akuter^{104, 105} und chronischer^{106, 107} Herzinsuffizienz sowie bei Herzinsuffizienz mit erhaltener¹⁰⁸ und reduzierter^{106, 107} Ejektionsfraktion unterstrichen.

Wir untersuchten die prognostische Wertigkeit der Einmalmessung von MR-proANP bei 525 Patienten mit klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz, die in Kliniken in London (England), Wroclaw und Zabrze (Polen) sowie in Athen (Griechenland) untersucht wurden (Derivationskohorte). Die Mehrzahl der Patienten (85 %) waren klinisch im Stadium NYHA II-III, die übrigen verteilten sich auf die Stadien I und IV. Alle Patienten hatten eine eingeschränkte linksventrikuläre Ejektionsfraktion ≤ 45 % mit einem Mittelwert \pm Standardabweichung von 29 ± 8 %. Die Mehrzahl der Patienten (73 %) hatte eine ischämische Herzkrankheit und war männlichen Geschlechts (94 %). Der Mittelmedian mit Interquartilsabstand des NT-proBNP lag bei 1671 pg/ml (625 – 3933 pg/ml). Eine zweite Patientengruppe von 249 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz aus Verona (Italien) diente als Validierungskohorte. Auch hier war die Mehrzahl der Patienten den NYHA-Klassen II und III (89 %) zuzuordnen, 89 % waren männlich, 64 % hatten eine ischämische Herzkrankheit. Die mittlere

linksventrikuläre Ejektionsfraktion lag bei 32 ± 7 %, der Medianwert von NT-proBNP bei 560 pg/ml (229 – 1183 pg/ml).

In der Derivationskohorte lag der Medianwert von MR-proANP bei 241 pmol/l (142 – 430 pmol/l). Die Werte stiegen mit steigender NYHA-Klasse an. Während eines mittleren Beobachtungszeitraums von 28 Monaten starben 171 Patienten (33 %). MR-proANP blieb ein unabhängiger signifikanter Prädiktor des Überlebens auch nach Adjustierung hinsichtlich Alter, linksventrikulärer Ejektionsfraktion, NYHA-Klasse, Body Mass Index, Serumkreatinin und Serum-NT-proBNP (Hazard pro Anstieg um eine Standardabweichung von MR-proANP 1,35, 95 % Konfidenzintervall 1,17-1,57, $p=0.006$). Der optimale prognostische Schwellenwert zur Vorhersage der 12-Monats-Mortalität betrug 296 pmol/l mit einer Sensitivität von 74 % (95 % Konfidenzintervall 63,6 – 80,5 %) und einer Spezifität von 66 % (95 % Konfidenzintervall 61,4 – 70,8 %). Die Messung von MR-proANP erbrachte einen Zusatznutzen gegenüber der alleinigen Messung von NT-proBNP. In der Validierungskohorte betrug der Medianwert von MR-proANP 148 pmol/l (98,8 – 224,8 pmol/l). In dieser Gruppe verstarben 68 Patienten während des Follow up-Zeitraums. Der aus der Derivationskohorte berechnete Schwellenwert von 296 pmol/l blieb auch in der Validierungskohorte ein unabhängiger Prädiktor für das Überleben der Patienten.

MR-proANP ist ein unabhängig prädiktiver Parameter für das Überleben von Patienten mit klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz. Der optimale Schwellenwert zur Vorhersage der Mortalität ist ≥ 296 pmol/l.

2.5. Midregionales pro-Adrenomedullin als prädiktiver Marker der Mortalität bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz

Stephan von Haehling,* Gerasimos S. Filippatos,* Jana Papassotiriou,* Mariantonietta Cicoira, Ewa A. Jankowska, Wolfram Doehner, Piotr Rozentryt, Corrado Vassanelli, Joachim Struck, Waldemar Banasiak, Piotr Ponikowski, Dimitrios Kremastinos, Andreas Bergmann, Nils G. Morgenthaler, Stefan D. Anker. *Mid-regional pro-adrenomedullin as a novel predictor of mortality in patients with chronic heart failure. European Journal of Heart Failure 2010; 12: 484-491 (* geteilte Erstautorenschaft).*

Adrenomedullin und somit sein Prohormon wird vorrangig in den Geweben des kardiovaskulären Systems synthetisiert und freigesetzt, hier vor allem im Myokard und im vaskulären Endothel.^{83,84} Es hat vasodilatatorische Wirkung.⁸⁷ Da die chronische Herzinsuffizienz mit einer weiterhin sehr schlechten Prognose quo ad vitam assoziiert ist,¹⁰³ kommt der Identifikation von Risikopatienten eine große Bedeutung zu. Die Serumwerte von Adrenomedullin oder seinem Prohormon pro-Adrenomedullin, die bekanntermaßen mit steigender NYHA-Klasse ansteigen,⁵³ könnten hier zur Risikoabschätzung hinsichtlich des Sterberisikos geeignet sein.

Wir untersuchten den prognostischen Wert einer Einmalbestimmung von MR-proADM in einer Population von 501 Patienten mit klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz, die in Kliniken in London (England), Wroclaw und Zabrze (Polen), Athen (Griechenland) und Verona (Italien) rekrutiert wurden. Das mittlere Alter \pm Standardabweichung der Patienten lag bei 63 ± 11 Jahren, 92 % waren männlichen Geschlechts. Die meisten Patienten (83 %) waren im Stadium NYHA II-III mit einer medianen linksventrikulären Ejektionsfraktion von 31 % (Interquartilsabstand: 25 – 37 %). Die Patienten erhielten die leitliniengerechte medikamentöse Standardtherapie bei chronischer Herzinsuffizienz bestehend aus ACE-Hemmer oder Angiotensin-Rezeptor 1-Antagonist (91 %), Beta-Blocker (59 %), Spironolakton (24 %) und Schleifendiuretika (79 %). Der Medianwert von MR-proADM lag bei 0,64 nmol/l (0,49 – 0,87 nmol/l) und stieg mit steigender NYHA-Klasse an ($p < 0,0001$). Im Beobachtungszeitraum von 12 Monaten verstarben 70 Patienten (14 %). Patienten, die während dieser Zeit verstarben, hatten einen medianen MR-proADM-Wert im Plasma von 0,94 nmol/l (0,62 – 1,35 nmol/l) im Vergleich zu 0,60 nmol/l (0,48 – 0,82 nmol/l) bei Patienten, die überlebten ($p < 0,0001$). Nach multivariabler Adjustierung für NT-proBNP, LVEF, Kreatinin und NYHA-Klasse blieb MR-proADM ein unabhängiger

Risikoprädiktor für das Versterben innerhalb von 12 Monaten (Hazard pro Anstieg um einen Interquartilsabstand: 1,82, 95 % Konfidenzintervall 1,24 – 2,66, $p=0,002$). Andere unabhängige Prädiktoren für das Versterben in diesem Modell waren die LVEF ($p<0,0001$) und die NYHA-Klasse ($p=0,048$), jedoch nicht NT-proBNP, das Lebensalter oder das Kreatinin im Serum.

MR-proADM ist ein unabhängiger Vorhersageparameter für das Versterben von Patienten mit klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz innerhalb von 12 Monaten.

3. Diskussion

Herzerkrankungen führen nach wie vor die Statistik der Todesursachen an. Im Jahr 2011 starben in Deutschland 122.670 Menschen infolge einer koronaren Herzkrankheit oder eines akuten Myokardinfarktes, zusammen genommen mithin 14,4 % aller Todesfälle in diesem Jahr.¹⁰⁹ Zusätzlich wurden 45.428 Todesfälle (5,3 %) als Folge einer Herzinsuffizienz verzeichnet. Mit geschätzten Kosten von 450,00 Euro pro Einwohner im Jahr gehören Krankheiten des Kreislaufsystems in Deutschland zu den größten Kostentreibern im Gesundheitswesen.¹¹⁰ Die Möglichkeiten der primären Prävention von Herzkrankheiten wie der koronaren Herzkrankheit und der Herzinsuffizienz sind begrenzt auf die Bekämpfung des Übergewichts, des Bluthochdrucks und des Diabetes mellitus, auf Raucherentwöhnung, Änderung des Lebensstils und ähnliche Maßnahmen. Bei bereits manifester Erkrankung kommt der individuellen Risikoabschätzung hinsichtlich schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse eine besondere Bedeutung zu, da diese geeignet sein kann, die Mortalität zu senken und die Therapiekosten, bei der Herzinsuffizienz insbesondere infolge von wiederholten Krankenhauseinweisungen, zu reduzieren.

Biomarker wie die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Parameter MR-proANP, MR-proADM, PAPP-A und Copeptin können bei einer derartigen Risikoabschätzung wertvolle Dienste leisten. Zur Risikoabschätzung mittels eines kardiovaskulären Biomarkers muss allerdings eine ganze Reihe von Bedingungen erfüllt sein, die von Boissel¹¹¹ und Espeland¹¹² formuliert wurden: (1) Effektivität, also leichte Messbarkeit und Veränderung der Biomarkerkonzentration vor dem Erreichen eines klinischen Endpunktes, (2) Koppelung, also eine (zumindest theoretisch vorhandene) pathophysiologische Verbindung zwischen Biomarker und Erkrankung bzw. klinischem Endpunkt, (3) Deckung, also eine Assoziation zwischen Risiko oder Nutzen und einem klinischen Endpunkt.¹¹³ Auch wenn alle Bedingungen erfüllt sind, muss trotzdem beachtet werden, dass ein einzelner Biomarker als Surrogatendpunkt unter Umständen nicht in der Lage ist, alle Einflussfaktoren und Behandlungseffekte ausreichend abzubilden.¹¹³ Generell gilt ein Surrogatendpunkt als hilfreich, wenn er mindestens 50 % des Effekts eines Risikofaktors oder einer Intervention erklären kann.¹¹³

3.1. Assoziationsanalysen und Serumwerte der vermessenen Biomarker

Aufgrund der dargestellten Überlegungen wurde in den hier vorgelegten Arbeiten in allen Fällen eine Analyse des jeweils interessierenden Biomarkers zur Risikoabschätzung sowohl in nicht adjustierter, als auch in adjustierter Form durchgeführt. Dazu erfolgte zunächst die Klärung wesentlicher Einflussfaktoren mittels einfacher linearer, gefolgt von multipler linearer Regression, die dazu dient, den gemeinsamen linearen Einfluss mehrerer erklärender Variablen X auf eine abhängige Variable Y zu untersuchen.¹¹⁴ War hierbei die Annahme der Linearität verletzt, die eine Voraussetzung darstellt,¹¹⁴ erfolgte eine logarithmische Transformation der entsprechenden Daten. Hierbei zeigte sich, dass MR-proANP in der Gruppe der Patienten mit klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz nach multivariabler Adjustierung mit dem Kreatinin im Serum, der NYHA-Klasse, dem NT-proBNP im Serum und dem Patientenalter, jedoch nicht mit dem Geschlecht, der Ätiologie der Herzinsuffizienz und der LVEF assoziiert war. Tzikas *et al.* konnten in einer Gruppe von 1386 Patienten, die wegen akuten Brustschmerzes vorstellig wurden, eine moderate positive Korrelation von MR-proANP mit dem Alter der Patienten sowie eine moderate negative Korrelation mit der geschätzten glomerulären Filtrationsrate zeigen, wobei hier allerdings keine multivariable Adjustierung erfolgte.¹¹⁵ Im Wesentlichen stimmen diese Ergebnisse aber mit unseren Daten überein. Auch die Assoziation von MR-proANP mit NT-proBNP wurde bereits in der Literatur gezeigt und die Korrelation der beiden Marker gut belegt.^{116,117} Moertl *et al.* konnten in einer zwei Jahre nach unserer Arbeit vorgelegten Kohorte von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zeigen, dass die LVEF, die glomeruläre Filtrationsrate, das Geschlecht und die Anwesenheit von Ödemen unabhängige Prädiktoren des MR-proANP im Serum sind, während dies für das Patientenalter und den Body Mass Index nicht der Fall war.¹¹⁸ Zusammenfassend erscheint die Nierenfunktion den größten Einfluss auf die Serumwerte von MR-proANP zu haben; das Patientenalter hat variablen Einfluss, wobei allerdings das Durchschnittsalter der untersuchten Studienkohorte berücksichtigt werden muss.

Der Medianwert von MR-proANP lag in der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gruppe von Patienten mit koronarer Herzkrankheit bei 172 pmol/l mit einem Interquartilsabstand von 107 – 289 pmol/l. Es fand sich kein Unterschied bezüglich

des Serumwertes von MR-proANP zwischen Patienten mit stabiler Angina pectoris und Patienten mit akutem Koronarsyndrom. In der Gruppe der Patienten mit klinisch stabiler chronischer Herzinsuffizienz betrug der Medianwert demgegenüber 241 pmol/l bei einem Interquartilsabstand von 142 – 430 pmol/l und war somit erwartungsgemäß deutlich höher als bei den Patienten mit koronarer Herzkrankheit, von denen 48,4 % eine normale LVEF aufwiesen. In der BACH-Studie, der größten bisher durchgeführten prospektiven Biomarkeranalyse bei Patienten mit akuter Dyspnoe, in die 1641 Patienten eingeschlossen wurden, lag der Medianwert von MR-proANP bei Patienten, die den Follow-up Zeitraum von 90 Tagen überlebten, bei 160 pmol/l (Interquartilsabstand: 63 – 342 pmol/l). Patienten, die während dieser Zeit verstarben, hatten einen Medianwert von 439 pmol/l (174 – 755 pmol/l). Alehagen *et al.*¹¹⁹ zeigten, dass bei 470 älteren Patienten, die Symptome einer Herzinsuffizienz aufwiesen, der Medianwert von MR-proANP bei 119 pmol/l (Interquartilsabstand: 88 pmol/l) lag. Der deutlich niedrigere Medianwert kann seine Ursache in der Tatsache haben, dass nur 30,9 % der Patienten in dieser Arbeit eine LVEF unter 40 % oder eine echokardiographisch bestätigte diastolische Dysfunktion hatten.¹¹⁹ Ähnlich wie unsere Arbeit aus dem Jahr 2007, fanden Moertl *et al.* zwei Jahre später bei 797 mit chronischer Herzinsuffizienz bei Männern einen medianen MR-proANP-Wert von 269 pmol/l (Interquartilsabstand: 121 – 479 pmol/l), bei Frauen 217 pmol/l (117 – 405 pmol/l). Diese Werte sind somit in recht guter Übereinstimmung mit den von uns beschriebenen Werten, wobei die Patienten in der Arbeit von Moertl *et al.* etwas jünger und mit einem Anteil von 20 % in der NYHA-Klasse IV und 66 % mit hochgradig eingeschränkter LVEF auch ein fortgeschritteneres Stadium der Erkrankung aufwiesen.

Die Analyse der Einflussfaktoren von MR-proADM im Serum zeigte ganz ähnliche Ergebnisse wie die von MR-proANP. In der Kohorte von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz fand sich im Fall von MR-proADM eine Assoziation nach multivariabler Adjustierung für das Alter der Patienten, das Kreatinin im Serum und die NYHA-Klasse, jedoch nicht für die LVEF. Wenige Autoren haben sich derartigen Assoziationsanalysen gewidmet, obgleich die Kenntnis derartiger „Störgrößen“ der Analyse einen wichtigen Faktor in der täglichen klinischen Routine darstellt. Das weitgehende Fehlen von Daten hat seine wesentliche Ursache sicherlich vor allem in der Tatsache, dass MR-proADM ein neuer, erst seit sehr kurzer Zeit kommerziell

erhältlicher Marker ist. Tzikas *et al.*¹¹⁵ fanden in der bereits oben beschriebenen Gruppe von Patienten mit akutem Brustschmerz eine moderate positive Assoziation zwischen MR-proADM und dem Patientenalter sowie eine moderate negative Assoziation mit der geschätzten glomerulären Filtrationsrate, sodass diese Ergebnisse gleichfalls mit unseren Daten übereinstimmen. In unserer eigenen Arbeit zum MR-proADM bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz lag der Medianwert bei 0,64 nmol/l bei einem Interquartilsabstand von 0,49 – 0,87 nmol/l; die Streubreite der Gesamtkohorte lag bei 0,11 – 3,30 nmol/l. Diese Werte sind in guter Übereinstimmung mit anderen Studien. In der BACH-Studie zu Patienten mit akuter Dyspnoe lag der Medianwert von MR-proADM mit 0,88 nmol/l (Interquartilsabstand: 0,57 – 1,44 nmol/l) deutlich höher als bei den Patienten mit klinisch stabiler Herzinsuffizienz. Ähnliches gilt für die Arbeit von Cinar *et al.*, die 154 Patienten mit akuter Luftnot in der Notaufnahme untersuchten. Hier lag der Medianwert von MR-proADM bei 1,12 nmol/l mit einem Interquartilsabstand von 0,72 – 1,95 nmol/l. Adlbrecht *et al.*¹²⁰ zeigten bei 786 ambulant geführten Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, dass der Mittelwert von MR-proADM in den NYHA-Klassen I und II kombiniert bei $0,64 \pm 0,57$ nmol/l lag, in den NYHA-Klassen III und IV kombiniert bei $1,02 \pm 0,80$ nmol/l. Interessanterweise lag der Mittelwert der Gesamtkohorte identisch wie der Medianwert in unserer Studienkohorte bei 0,88 nmol/l mit einer Standardabweichung von 0,74 nmol/l. Zusammenfassend zeigt sich, dass die Plasmawerte von MR-proADM bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz deutlich höher sind als solche von gesunden Probanden. Die erhöhten Werte bei chronischer Herzinsuffizienz steigen bei akuter Dekompensation weiter an.

In der Arbeit zu Copeptin wurden nur univariable Korrelationsanalysen durchgeführt. Es zeigte sich, dass zwischen dem Serumspiegel von Copeptin und dem Patientenalter, dem Body Mass Index und der geschätzten glomerulären Filtrationsrate keine Beziehung bestand. Die Selektion der Variablen für die multivariable Analyse erfolgte daher nach den Ergebnissen der univariablen Analyse und aufgrund klinischer Überlegungen. Der Medianwert von Copeptin bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit lag bei 8,7 pmol/l mit einem Interquartilsabstand von 5,0 – 20,4 pmol/l. Die kurz nach unserer Arbeit publizierte Studie von Potocki *et al.*¹²¹ bei 1170 Patienten, die aufgrund der Verdachtsdiagnose akuter Myokardinfarkt aufgenommen wurden, zeigte, dass bei den 78 Patienten, bei

denen die Verdachtsdiagnose bestätigt wurde, deutlich höhere Copeptinspiegel auftraten als bei denen ohne Myokardinfarkt: 26 pmol/l (Interquartilsabstand: 9 – 71 pmol/l) vs. 7 pmol/l (4 – 16 pmol/l). Da die Serumwerte von Copeptin vor allem unmittelbar nach akutem Myokardinfarkt steigen, eine Analyse der Kinetik von Copeptin zeigte den Spitzenwert 30 Minuten nach Septalablation bei Patienten mit hypertropher obstruktiver Kardiomyopathie,¹²² sind die von uns gefundenen, vergleichsweise niedrigen Werte nicht erstaunlich. Mehr als 50 % der Patienten in unserer Studie wurden wegen stabiler Angina pectoris zur elektiven Koronarangiographie vorgestellt, die übrigen Patienten hatten die Verdachtsdiagnose akutes Koronarsyndrom, sodass Myokardinfarkte insgesamt nicht sehr häufig waren. Daneben erfolgte die Blutabnahme in der Notaufnahme oder im Herzkatheterlabor, sodass gerade bei letzterer Variante zeitliche Verzögerungen bis zur Blutabnahme möglich sind. Reichlin *et al.*¹⁴ zeigten, dass bei 487 Patienten mit der Verdachtsdiagnose Myokardinfarkt der Medianwert von Copeptin bei Bestätigung der Diagnose (n=81) bei 20,8 pmol/l (Interquartilsabstand: 7,9 – 60,6 pmol/l) lag im Vergleich zu 6,0 pmol/l (Interquartilsabstand nicht angegeben), wenn eine andere Diagnose gestellt wurde. Patienten mit ST-Strecken-Hebungsmyokardinfarkt hatten höhere Copeptin-Werte als solche mit NSTEMI. Der optimale Schwellenwert für die Bestätigung eines akuten Myokardinfarktes lag in dieser Arbeit bei 14,0 pmol/l.¹⁴ Ganz ähnliche Daten legten Keller *et al.*¹⁵ vor, die 1386 Patienten mit akutem Brustschmerz untersuchten, die sich in der Notaufnahme vorgestellt hatten. Der Medianwert von Copeptin aller Patienten lag hier bei 6,7 pmol/l (Interquartilsabstand: 3,3 – 16,5 pmol/l); die höchsten Werte fanden sich bei der Gruppe der Patienten mit akutem Myokardinfarkt mit einem Medianwert von 18,5 pmol/l (7,0 – 50,1 pmol/l).¹⁵

Die in der vorliegenden Studie zum PAPP-A gemessenen Werte sind mit anderen Arbeiten nur schwer vergleichbar, weil eine große Anzahl verschiedener Assays auf dem Markt verfügbar ist. Korrelationsanalysen wurden nicht durchgeführt. Der Medianwert von PAPP-A lag in der Gesamtstudienpopulation von Patienten mit koronarer Herzkrankheit bei 14,0 mIU/l (Interquartilsabstand: 9,3 – 25,2 mIU/l), der Mittelwert bei $24,6 \pm 50,2$ mIU/l, wobei sich die sehr große Streuung vor allem durch einen einzelnen Patienten erklärt, der einen Serumwert von 2154 mIU/l hatte und wenige Tage nach der Blutabnahme infolge eines ischämischen Schlaganfalls verstarb. Wichtig ist die Feststellung, dass sich hinsichtlich des Serumwertes keine

signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen fanden. Elesber *et al.*¹²³ beschrieben Medianwerte von PAPP-A von 4,0 mIU/l (Interquartilsabstand: 3,3 – 4,9 mIU/l), nachdem sie den Parameter in einer Kohorte von 103 Patienten mit stabiler Angina pectoris mittels eines Biotin-Tyramid-amplifizierten Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) untersucht hatten. Das Testverfahren in der Arbeit von Heeschen *et al.*,⁴⁰ ein Elektrochemilumineszenz-Assay, brachte einen medianen PAPP-A Wert von 9,3 mIU/l bei einer Spannweite von 0,2 – 105,4 mIU/l in einer Gruppe von Patienten mit akutem Koronarsyndrom. Neben dem Vorhandensein einer sehr großen Bandbreite von verschiedenen Assays verschiedener Hersteller, besteht noch die vielfach in der Literatur diskutierte Problematik, dass das PAPP-A, das während der Schwangerschaft vermehrt auftritt und das PAPP-A, das aus atherosklerotischen Plaques freigesetzt wird, nicht vollständig identisch sind.¹²⁴ Das in der Schwangerschaft vorrangig nachweisbare PAPP-A ist ein durch Disulfidbrücken mit proMBP (proform of eosinophil major basic protein) komplexiertes Heterotetramer,¹²⁵ während das außerhalb der Schwangerschaft auftretende PAPP-A unkomplexiert auftritt („freies PAPP-A“).^{124,126} Die Mehrheit der verfügbaren Testassays für PAPP-A ist für die Anwendung im ersten Trimester der Schwangerschaft gedacht, wobei die Messung in der 10. – 13. Woche der Schwangerschaft erfolgt, wo der Serumwert von PAPP-A langsam schrittweise ansteigt. Es wurde in der Vergangenheit argumentiert, dass die Messung des freien PAPP-A eine höhere Spezifität im akuten Koronarsyndrom haben könnte, allerdings sind derzeit keine entsprechenden, gut standardisierten Testassays verfügbar.¹²⁴

3.2. Risikoabschätzung anhand von Biomarkern

Die Risikoabschätzung bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen kann hinsichtlich der verschiedensten Ereignisse erfolgen. Die Definition derartiger Ereignisse muss davon abhängig gemacht werden, welches Ereignis als Risiko für die in der Studie untersuchten Patienten bewertet wird, aber auch davon, wie wahrscheinlich ein derartiges Ereignis im gegebenen Studienzeitraum ist. Gerade bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit, die sich elektiv einer Koronarangiographie unterziehen, sind kurzfristig, zum Beispiel innerhalb von 90 Tagen eintretende Ereignisse wie Todesfälle eher unwahrscheinlich. Auch die Zahl von Patienten, die nach einem akuten Koronarsyndrom innerhalb von 90 Tagen versterben, wird eher

gering sein. Mittel, diesem Umstand bei der Risikoprädiktion Rechnung zu tragen, sind die Untersuchung entsprechend großer Studienkollektive und die Definition eines kombinierten Endpunktes, der beispielsweise nicht nur kardiovaskuläre Todesfälle, sondern gleichzeitig auch das erneute Auftreten eines Myokardinfarktes und andere schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse wie einen ischämischen Schlaganfall umfasst. Daneben ist auch die Analyse der Gesamtmortalität anstelle der kardiovaskulären Mortalität möglich, wobei hier das Problem konkurrierender Risiken, zum Beispiel Tod durch Verkehrsunfall, berücksichtigt werden muss.¹²⁷ In den hier vorgelegten Arbeiten zu Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit wurde daher durchgängig ein kombinierter Endpunkt aus schwerwiegenden kardiovaskulären Ereignissen definiert, der an die pathophysiologischen Möglichkeiten des jeweiligen Markers angepasst war. Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ist das Sterberisiko unverhältnismäßig höher, mehr als 50 % der Patienten versterben innerhalb von fünf Jahren nach Diagnosestellung,¹⁰³ sodass wir die Analyse in den beiden hier vorgelegten Arbeiten zur Herzinsuffizienz auf die kardiovaskuläre Mortalität beschränken konnten. Zudem war der Beobachtungszeitraum in diesen Arbeiten deutlich länger als in den drei Studien zur symptomatischen koronaren Herzkrankheit; in der Arbeit zum MR-proANP im Mittel 28 Monate und in der Arbeit zum MR-proADM genau 12 Monate.

In allen hier vorgelegten Arbeiten erfolgte die Analyse der Überlebenszeit bzw. der Zeit bis zum Auftreten eines schwerwiegenden kardiovaskulären Ereignisses zunächst anhand der Kaplan-Meier Methode. Die wichtigste Idee dieses Verfahrens ist es, Beobachtungsintervalle anhand von Ereignissen zu definieren.¹²⁷ Ein neues Intervall beginnt, wenn ein Patient ein Ereignis erleidet, und es wird für jedes dieser Zeitintervalle die bedingte Wahrscheinlichkeit berechnet, kein Ereignis zu erleiden. Bei Patienten, bei denen kein Ereignis auftritt, wird von einer zensierten Beobachtungszeit gesprochen.¹²⁷ Die Ergebnisse der Kaplan-Meier Methode sind in den jeweiligen Arbeiten als Abbildung zur Illustration des jeweiligen Risikos dargestellt. Die genaue Analyse der Überlebensdaten erfolgte anhand des Cox-Regressionsmodells, auch als proportionales Hazard Modell bekannt, bei dem gleichzeitig der Effekt mehrerer Einflussgrößen auf die Zielvariable „zensierte Überlebenszeit“ untersucht wird.¹²⁸ Mit dem Hazard wird die Wahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit bezeichnet, dass eine Person innerhalb des Untersuchungszeitraums ein

Ereignis erleidet.¹²⁸ Als Faustregel gilt, dass zehn Ereignisse benötigt werden, um eine weitere Einflussgröße in das Modell einzuschließen. Der Einschluss von derartigen Einflussgrößen in das multivariable Modell kann aufgrund verschiedener Überlegungen erfolgen, zum Beispiel aufgrund eines statistisch signifikanten Einflusses auf die Zielvariable in der univariablen Analyse, wie dies durchgängig und bei allen hier untersuchten Markern für die Nierenfunktion der Fall war. Die Angabe des Hazards erfolgt dann kategoriell, zum Beispiel anhand einer Ordinalskala, also pro Klasse der Niereninsuffizienz oder über bzw. unter einem bestimmten Schwellenwert wie dem Median. Gleichwohl kann der Hazard auch pro Anstieg um eine Einheit berechnet werden. Im Falle einer nicht normalverteilten Einflussgröße muss bei Einschluss eine Transformation wie die Logarithmierung erfolgen, sodass das Kriterium der Normalverteilung erfüllt wird.¹²⁹ Da die Berechnung eines Hazards pro Anstieg um logarithmierte Einheiten dem Kliniker (und auch sonst jemandem) kaum hilft, erfolgt die Angabe des Hazards hier pro Anstieg um eine Standardabweichung oder um einen Interquartilsabstand, sodass sich die Ergebnisse leicht in reale Werte übersetzen lassen. Eine andere Möglichkeit, Variablen für das multivariable Modell auszuwählen besteht darin, solche Variablen einzuschließen, die als klinisch relevant eingestuft werden. Letztere Methode wurde in der hier vorgelegten Arbeit zum PAPP-A angewendet; in allen anderen Arbeiten wurde dem Einschluss nach dem Ergebnis der univariablen Analyse die Präferenz gegeben.

Mithilfe dieser Methodik konnten wir zeigen, dass MR-proANP ein unabhängiger Risikoprädiktor des primären Endpunktes bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit ist, einem kombinierten Endpunkt aus nichttödlichem Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod aus jedem Grund (Gesamtmortalität). Wichtig ist dabei zu betonen, dass diese Feststellung auch nach Adjustierung hinsichtlich der klinisch relevanten Variablen Patientenalter, Geschlecht, LVEF und der Anwesenheit der kardiovaskulären Risikofaktoren Bluthochdruck, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie, derzeitiger Nikotinmissbrauch und positive Familienanamnese hinsichtlich kardiovaskulärer Erkrankungen galt. Die Hinzunahme von Troponin I erhöhte die Vorhersagewahrscheinlichkeit gegenüber dem alleinigen klinischen Modell nur minimal, wie an der Zunahme des χ^2 -Wertes von 19,5 auf 21,6 ersichtlich ist. Demgegenüber erhöhte der Einschluss von MR-proANP in das klinische Modell

den χ^2 -Wert von 19,5 auf 78,9, was den erheblichen Gewinn des Modells durch MR-proANP unterstreicht. Keine vorhergehende Studie hatte Patienten mit akutem Koronarsyndrom eingeschlossen. Allerdings stimmen unsere Ergebnisse mit denen von Schnabel *et al.*¹³⁰ überein, die die prognostische Wertigkeit von 12 Biomarkern bei 1781 Patienten mit stabiler Angina pectoris untersuchten. In dieser Gruppe von Patienten erlitten 137 Patienten einen nichttödlichen Myokardinfarkt oder verstarben aus kardiovaskulärem Grund innerhalb von 3,6 Jahren. Die beste Vorhersagekraft hatten NT-proBNP, Growth differentiation factor-15, MR-proANP, der Nierenfunktionsmarker Cystatin C sowie MR-proADM. Auch Sabatine *et al.*¹³¹ konnten im selben Jahr unserer Veröffentlichung zeigen, dass MR-proANP bei 3717 Patienten mit stabiler Angina pectoris ein unabhängiger Risikoprädiktor für den kombinierten Endpunkt kardiovaskulärer Tod oder Krankenhausaufnahme wegen Herzinsuffizienz ist. Das multivariable Modell dieser Arbeitsgruppe war adjustiert hinsichtlich Lebensalter, Geschlecht, Gewicht, einer Reihe von kardiovaskulären Risikofaktoren, der Nierenfunktion, der Anwendung von kardiovaskulären Arzneimitteln, systolischem Blutdruck und vorhergehender Koronarinterventionen.¹³¹

Die Ergebnisse der BACH-Studie aufgreifend,¹¹⁷ schreiben Potocki *et al.*,¹³² dass MR-proADM alle anderen etablierten Marker auf die Plätze verweist, wenn es darum geht, Patienten mit dem höchsten Sterberisiko zu identifizieren, vor allem, wenn es um die 30-Tages-Mortalität geht. Auch in unserer Arbeit zum MR-proADM bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz war der Marker ein sehr starker Vorhersageparameter des kardiovaskulären Todes; NT-proBNP, das in der univariablen Analyse noch prädiktiv war, fiel nach multivariabler Adjustierung unter Einschluss von MR-proADM als nicht mehr statistisch signifikant heraus. In der BACH-Studie¹¹⁷ lag die Korrektheit, das 90-Tages-Überleben der Patienten mit akuter Herzinsuffizienz vorherzusagen, für MR-proADM bei 73 %, für BNP nur bei 62 %. In der adjustierten multivariablen Cox-Regression in der BACH-Studie war MR-proADM, jedoch nicht BNP oder NT-proBNP in der Lage, die Gesamtmortalität oder die kardiovaskuläre Mortalität vorherzusagen. Keiner dieser Biomarker war in der Lage, Rehospitalisierung zu prädiktieren, was entweder daran lag, dass das Ergebnis keine statistische Signifikanz erreichte oder dass das Ergebnis der Receiver-Operator Characteristic Curve mit einer Fläche unter der Kurve $<0,65$ als klinisch irrelevant angesehen wurde.¹¹⁷ Eine Reihe weiterer Studien hat sich der

prognostischen Wertigkeit von MR-proADM bei den verschiedensten Krankheitsbildern gewidmet und gefunden, dass das Peptid gute prognostische Aussagekraft besitzt bei Patienten mit AL Amyloidose,¹³³ ambulant erworbener Pneumonie¹³⁴ und auch bei Dialysepatienten.¹³⁵ Klip *et al.*¹³⁶ konnten in einer Substudie der OPTIMAAL Studie (Optimal Trial in Myocardial Infarction with the Angiotensin II Antagonist Losartan) hinsichtlich der Gesamtmortalität an 214 Patienten mit der Entwicklung einer Herzinsuffizienz nach akutem Myokardinfarkt zeigen, dass MR-proADM ein stärkerer prädiktiver Marker ist als BNP oder NT-proBNP (Fläche unter der Receiver-Operator Characteristic Curve 0,81 vs. 0,66 vs. 0,67, beide $p < 0,01$ vs. MR-proADM). Dieses Ergebnis hatte auch nach multivariabler Adjustierung bezüglich Lebensalter, Geschlecht, vorhergehendem Myokardinfarkt, bestehendem Diabetes mellitus, der geschätzten glomerulären Filtrationsrate und der Behandlungsgruppe in der OPTIMAAL-Studie Bestand.

Da Copeptin vor allem als diagnostischer Marker angesehen wird, sind bisher nur wenige Arbeiten zu seinem prognostischen Potenzial publiziert. Bereits 2009 erschien eine Arbeit, an der auch der Autor mitwirkte, die Copeptin-Werte in der bereits oben erwähnten Substudie der OPTIMAAL-Studie erfasste.¹³⁷ Hier wurden Copeptin-Werte von 224 Patienten vermessen und deren prognostische Wertigkeit bezüglich der Gesamtmortalität analysiert. Auch hier zeigte sich, dass Copeptin, ebenso wie MR-proADM, eine höhere prognostische Aussagekraft hat als BNP oder NT-proBNP. Eine multizentrische, prospektive Arbeit von Sanchez *et al.*¹³⁸ bei 377 Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne ST-Streckenhebung zeigte, dass Patienten, deren initialer Copeptin-Wert $>25,9$ pmol/l lag, eine höhere Mortalität innerhalb von 30 Tagen aufwiesen als Patienten mit einem niedrigeren Copeptin-Wert. Einschränkend muss darauf hingewiesen werden, dass diese Arbeit nicht über eine ausreichende Zahl von Endpunkten verfügte, nur 11 Patienten verstarben während des Beobachtungszeitraums, um adäquat multivariabel adjustieren zu können. Da Copeptin vor allem als Marker von (hämodynamischem) Stress angesehen wird und weniger als Marker der kardiovaskulären Funktion,¹³⁹ ist es kaum verwunderlich, dass erhöhte Werte auch bei anderen akuten Krankheitsbildern wie Pneumonie,¹⁴⁰ akuter Lungenblutung,¹⁴¹ Basalganglienblutung¹⁴² oder traumatischer Hirnverletzung¹⁴³ beschrieben wurden. Auch hier sind prognostische Assoziationen beschrieben, die aufgrund der eher geringen Fallzahlen sicherlich

noch einer Validierung bedürfen. Unsere Ergebnisse zu PAPP-A bestätigen und erweitern zuvor publizierte Studien. Eine Arbeit von Lund *et al.*,¹⁴⁴ bei der 200 Patienten untersucht wurden, die wegen akutem Koronarsyndrom behandelt wurden, zeigte, dass PAPP-A ebenso wie CRP unabhängig prädiktiv war hinsichtlich des kombinierten Endpunktes kardiovaskulärer Tod, Myokardinfarkt oder der Notwendigkeit einer koronaren Revaskularisation innerhalb von 6 Monaten. Heeschen *et al.*⁴⁰ analysierten PAPP-A Werte bei 547 Patienten mit akutem Koronarsyndrom und 644 Patienten mit akutem Brustschmerz und konnten zeigen, dass PAPP-A ein unabhängig prädiktiver Marker von Tod und Myokardinfarkt innerhalb von 6 Monaten ist. Alle zuvor durchgeführten Studien zum PAPP-A und der Vorhersage schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse hatten jedoch den Nachteil, dass die Anzahl von Patienten, die in die Studien eingeschlossen wurden, verhältnismäßig gering war. Unsere Arbeit kann damit den Weg zu einer prospektiven Studie ebnen, die die Vorhersage derartiger Ereignisse ermöglicht und gleichzeitig Perspektiven für neue Behandlungspfade ermöglicht.

3.3. Sensitivität, Spezifität und optimaler Cut-off

Sensitivität und Spezifität sind in erster Linie Begriffe zur Beschreibung diagnostischer Testmethoden. Danach ist die Sensitivität die Wahrscheinlichkeit, dass ein Test eine kranke Person korrekt als krank identifizieren wird.¹⁴⁵ Umgekehrt ist die Spezifität die Angabe der Wahrscheinlichkeit, dass ein Test eine nicht kranke Person korrekt als nicht krank identifizieren wird.¹⁴⁵ Die Receiver-Operator Characteristic Curve stellt eine Methode dar, um den besten Kompromiss zwischen Sensitivität und Spezifität zu errechnen, also einen optimalen Cut-off-Wert.¹⁴⁶ Diese Aussage ist wichtig, da eine erhöhte Sensitivität in aller Regel mit einer niedrigeren Spezifität erkauft wird. Letztlich lassen sich derartige Methoden auch auf prognostische Aussagen anwenden, also beispielsweise auf die Wahrscheinlichkeit, dass ein bestimmter Cut-off Wert korrekt Ereignisse im Follow-up vorhersagen wird; die Fläche unter der Receiver-Operator Kurve gibt Auskunft über das Potenzial des gegebenen Markers, da bei höherer Fläche unter der Kurve sowohl Sensitivität als auch Spezifität höher sein müssen als bei niedrigerer Fläche unter der Kurve. Ein Wert von 0,5 wird allgemein als ungenügend angesehen; er entspricht der Winkelhalbierenden in der Darstellung der Receiver-Operator Kurve. Green und

Swets beschrieben, dass die Fläche unter der Kurve genau der Wahrscheinlichkeit entspricht, mit der ein aus einem zufällig ausgewählten Kranken und einem zufällig ausgewählten Gesunden korrekt der Kranke identifiziert wird.¹⁴⁷

Wir berechneten für die Risikostratifizierung die Sensitivität, mit der ein Marker einen Patienten, dessen Plasmawert oberhalb eines errechneten Cut-off Wertes lag, während des Beobachtungszeitraums korrekt als Patienten mit einem Ereignis identifizieren würde. Gleichwohl berechneten wir die Spezifität, also die Wahrscheinlichkeit, dass ein Plasmawert unterhalb eines bestimmten Cut-off Wertes einen Patienten identifizieren würde, der kein Ereignis im Follow-up haben würde. Der optimale Cut-off Wert errechnete sich jeweils aus dem höchsten Produkt von Sensitivität und Spezifität. Bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit lag der Wert der Fläche unter der Receiver-Operator Kurve für MR-proANP diesbezüglich bei 0,73, für Troponin I bei nur 0,58, sodass MR-proANP dem Troponin I bezüglich prognostischer Aussagen überlegen war. Für das MR-proANP bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz errechneten wir die prognostische Sensitivität und Spezifität zu verschiedenen Zeitpunkten, nämlich nach 3, 6, 12, 24 und 48 Monaten. Die Werte der Fläche unter der Receiver-Operator Kurve bewegten sich zwischen 0,74 und 0,79, der optimale Cut-off Wert je nach Zeitpunkt zwischen 295 und 368 pmol/l. Nur zum Zeitpunkt 24 Monate war MR-proANP dem NT-proBNP hinsichtlich prognostischer Aussagen überlegen. Die Werte für die Fläche unter der Receiver-Operator Kurve können also für das MR-proANP hinsichtlich prognostischer Aussagen als akzeptabel, aber sicherlich nicht als hervorragend beurteilt werden. MR-proADM war dem NT-proBNP zu keinem Zeitpunkt des Follow-up hinsichtlich seiner Sensitivität und Spezifität überlegen; trotzdem zeigte die Cox-Regression, dass dem MR-proADM der Vorzug zur Identifikation von Risikopatienten zu geben ist. Copeptin war gleichfalls dem Troponin I hinsichtlich prognostischer Aussagen überlegen, wie sich an einer Fläche unter der Receiver-Operator Kurve von 0,68 verglichen mit 0,54 für das Troponin hinsichtlich des kombinierten Endpunktes erneuter Myokardinfarkt, Schlaganfall oder Tod zeigt.

3.4. Klinische Konsequenzen der Risikostratifizierung

Im klinischen Alltag kann die Serumkonzentration eines jeden Biomarkers nur hilfreich sein, wenn Behandlungspfade existieren, die bei der Betrachtung des Biomarkers helfen. Dies ist der Fall für das LDL-Cholesterin beim Patienten mit koronarer Herzkrankheit, das im Sinne einer Sekundärprävention auf <100 mg/dl gesenkt werden sollte.¹⁴⁸ Modifikationen sind nach dem individuellen Risikoprofil eines gegebenen Patienten möglich, zum Beispiel gilt beim Diabetiker, der gleichzeitig an einer koronaren Herzkrankheit leidet, ein Ziel-LDL-Cholesterin von <70 mg/dl als erstrebenswert.¹⁴⁸ Ähnliches gilt für das Erreichen von Ziel-Blutdruckwerten, die das Auftreten von Spät komplikationen verzögern oder verhindern sollen.¹⁴⁹

Derartige Überlegungen gelten in gleichem Maße für alle anderen Biomarker. Obwohl die Leitlinie zur Diagnose und Therapie der Herzinsuffizienz einen Cut-off Wert von MR-proANP von <120 pmol/l nennt,⁵² mit der nach der BACH-Studie bei Patienten mit akuter Dyspnoe eine akute Herzinsuffizienz ausgeschlossen werden kann, fehlen derartige Informationen hinsichtlich prognostischer Erwägungen. Kritisch muss angemerkt werden, dass auch die Berechnung eines optimalen Cut-off Wertes zwar Hinweise für ein erhöhtes Risiko schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse liefern kann, dass aber keine Behandlungspfade etabliert sind, die festlegen, wie mit einem bestimmten Patienten beim Vorliegen eines bestimmten MR-proANP Wertes zu verfahren sei. Derartige Behandlungspfade können sehr variabel sein; es kann sich um die Aufnahme auf eine Intensivstation handeln, aber auch um Empfehlungen bezüglich der Implantation von Geräten wie CRT oder ICD. Auch Therapieempfehlungen hinsichtlich der Medikation sind denkbar, aber auch hier fehlen prospektive Studien. Ohne derartige Studien ist die aus einer Biomarker-Konzentration gewonnene Information im klinischen Alltag kaum zu verwenden. Dies gilt derzeit in gleichem Maße für MR-proADM, Copeptin und auch PAPP-A. Studien, die die Entwicklung derartiger Behandlungspfade zum Ziel haben, befinden sich derzeit in Planung.

4. Zusammenfassung

Biomarker finden umfangreiche Anwendung in den verschiedensten Bereichen der klinischen Medizin. Die Kardiologie wurde lange Zeit von den Markern des myokardialen Schadens dominiert, insbesondere von der Testung auf die herzspezifischen Troponine, die seit 1992 verfügbar waren. Eine Reihe von Testen auf neuartige Biomarker wurde in den letzten Jahren verfügbar, insbesondere jeweils ein Assay für midregionales pro-atriales natriuretisches Peptid, für midregionales pro-Adrenomedullin und für Copeptin, das ein Peptid aus dem Präprovasopressin darstellt. Für das im fetalen Screening eingesetzte Pregnancy-associated Plasma Protein A ist bereits seit einiger Zeit ein gut validierter Assay verfügbar, jedoch ist seit kurzer Zeit bekannt, dass dieses Peptid auch aus instabilen Koronarplaques freigesetzt wird. Das Ziel dieser Arbeit war die Risikoprädiktion hinsichtlich schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse mittels der vier genannten Biomarker bei Patienten, die entweder unter koronarer Herzkrankheit oder unter chronischer Herzinsuffizienz litten. Studienabhängig wurden als schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse Tod aus kardiovaskulärem Grund, Tod aus jedem Grund, erneutes Auftreten eines akuten Myokardinfarktes, Stentthrombose oder Schlaganfall definiert.

Wir konnten zeigen, dass das midregionale pro-atriale natriuretische Peptid sowohl bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit als auch bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz einen von klinisch etablierten Parametern unabhängigen Biomarker zur Risikoprädiktion schwerwiegender Ereignisse darstellt. Bei koronarer Herzkrankheit war der Parameter dem Troponin I überlegen, bei chronischer Herzinsuffizienz konnte ein Zusatznutzen gegenüber dem N-terminalen B-Typ natriuretischen Peptid gezeigt werden. Midregionales pro-Adrenomedullin zeigte gleichfalls unabhängig prädiktiven Wert bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und war dem N-terminalen B-Typ natriuretischen Peptid überlegen. Copeptin war bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit ähnlich dem midregionalen pro-atrialen natriuretischen Peptid dem Troponin I hinsichtlich seines prädiktiven Wertes überlegen und zeigte sich unabhängig von klinisch etablierten Parametern nach multivariabler Adjustierung. Die Messung von Pregnancy-associated Plasma Protein A im Serum besaß Vorhersagekraft für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit und war in dieser Fähigkeit dem Troponin I deutlich überlegen.

Unsere Arbeiten konnten zeigen, dass Biomarker klinisch erfassten Parametern hinsichtlich der Risikostratifizierung überlegen und geeignet sind, Patienten mit hohem Risiko für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse zu identifizieren. Klinische Anwendungsmöglichkeiten für die Risikostratifizierung von kardiologischen Patienten sind in der Praxis zahllos vorhanden. Routinemäßig werden derartige Tests derzeit allerdings noch nicht durchgeführt, obwohl die Parameter den standardmäßig evaluierten klinischen Testungen wie der linksventrikulären Ejektionsfraktion oder dem Schweregrad der Herzinsuffizienz nach Einteilung der New York Heart Association deutlich überlegen sind. Allerdings fehlen derzeit klinische Entscheidungspfade, die dem Arzt im Alltag Hinweise für Therapieentscheidungen beim Vorliegen bestimmter Biomarkerkonzentrationen im Serum oder Plasma geben. Unsere Arbeiten haben hierzu erste Ansatzpunkte geliefert, die in klinischen Studien weiter entwickelt werden müssen.

5. Literaturverzeichnis

1. Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation* 2006;113:2335-2362.
2. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89-95.
3. Zhou H, Star RA, Yuen PS. Phases of biomarker development. In: Rosner MH, Okusa MD (editors). *Biomarkers in renal disease*. New York 2008: 5-19.
4. Fox N, Growdon JH. Biomarkers and Surrogates. *NeuroRx* 2004; 1: 181.
5. LaDue JS, Wróblewski F, Karmen A. Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. *Science* 1954; 120: 497-499.
6. Ladenson JH. A personal history of markers of myocyte injury. *Clin Chim Acta* 2007; 381: 3-8.
7. Christenson RH, Azzazy HM. Biomarkers of myocardial necrosis – past, present, and future. In: Morrow DA. *Cardiovascular biomarkers: pathophysiology and disease management*. Humana Press Incorporated, Totowa 2006: 3-25.
8. Wróblewski F, Ross C, Gregory K. Isoenzymes and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1960; 263: 531-536
9. Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kubler W. Enzyme linked immunoassay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21: 1349-1353.
10. Bodor GS, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin-I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992; 38: 2203-2214.
11. Silva Jr DP, Landt Y, Porter SE, Ladenson JH. Development and application of monoclonal antibodies to human cardiac myoglobin in a rapid fluorescence immunoassay. *Clin Chem* 1991; 37: 1356-1364.
12. Keller T, Zeller T, Peetz D, Tzikas S, Roth A, Czyz E, Bickel C, Baldus S, Warnholtz A, Fröhlich M, Sinning CR, Eleftheriadis MS, Wild PS, Schnabel RB, Lubos E, Jachmann N, Genth-Zotz S, Post F, Nicaud V, Tiret L, Lackner KJ, Münzel TF, Blankenberg S. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2009; 361: 868-877.

13. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, Biedert S, Schaub N, Buerge C, Potocki M, Noveanu M, Breidhardt 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: 858-867.
14. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, Laule K, Freidank H, Morgenthaler NG, Bergmann A, Potocki M, Noveanu M, Breidhardt T, Christ A, Boldanova T, Merki R, Schaub N, Bingisser R, Christ M, Mueller C. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 60-68.
15. Keller T, Tzikas S, Zeller T, Czyz E, Lillpopp L, Ojeda FM, Roth A, Bickel C, Baldus S, Sinning CR, Wild PS, Lubos E, Peetz D, Kunde J, Hartmann O, Bergmann A, Post F, Lackner KJ, Genth-Zotz S, Nicaud V, Tiret L, Münzel TF, Blankenberg S. Copeptin improves early diagnosis of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2096-2106.
16. Braunwald E. Shattuck lecture—cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med* 1997; 337: 1360-1369.
17. de Ferranti SD, Rifai N. C-reactive protein: a nontraditional serum marker of cardiovascular risk. *Cardiovasc Pathol* 2007; 16: 14-21.
18. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med* 1930; 52: 561-571.
19. Libby P. Inflammation in cardiovascular disease: the biological basis of inflammatory biomarkers. In: Morrow DA. *Cardiovascular biomarkers: pathophysiology and disease management*. Humana Press Incorporated, Totowa 2006: 207-221.
20. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-843.
21. Leistner DM, Klotsche J, Pieper L, Stalla GK, Lehnert H, Silber S, März W, Wittchen HU, Zeiher AM; DETECT Study Group. Circulating troponin as measured by a sensitive assay for cardiovascular risk assessment in primary prevention. *Clin Chem* 2012;58:200-208.
22. Olsen MH, Sehestedt T, Lyngbaek S, Hansen TW, Rasmussen S, Wachtell K, Torp-Pedersen C, Hildebrandt PR, Ibsen H. Urine albumin/creatinine ratio, high sensitivity C-reactive protein and N-terminal pro brain natriuretic peptide—three new cardiovascular risk markers – do they improve risk prediction and influence treatment? *Curr Vasc Pharmacol* 2010; 8: 134-139.
23. Kavsak PA, Xu L, Yusuf S, McQueen MJ. High-sensitivity cardiac troponin I measurement for risk stratification in a stable high-risk population. *Clin Chem* 2011; 57: 1146-1153.

24. Olsen MH, Hansen TW, Christensen MK, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K, Ibsen H, Torp-Pedersen C, Hildebrandt PR. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, but not high sensitivity C-reactive protein, improves cardiovascular risk prediction in the general population. *Eur Heart J* 2007; 28: 1374-1381.
25. McKie PM, Cataliotti A, Lahr BD, Martin FL, Redfield MM, Bailey KR, Rodeheffer RJ, Burnett JC Jr. The prognostic value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for death and cardiovascular events in healthy normal and stage A/B heart failure subjects. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2140-2147.
26. Haass M, Katus HA (Hrsg.). *Diagnostische Marker in der Kardiologie*. Bremen London Boston 2005, S. 34-48.
27. Ganong WF. Central regulation of visceral function. In: Ganong WF. *Review of medical physiology*. Appleton & Lange, Stamford 1999, S. 221-243.
28. Robertson GL, Mahr EA, Athar S, Sinha T. Development and clinical application of a new method for the radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma. *J Clin Invest* 1973; 52: 2340-2352.
29. Preibisz JJ, Sealey JE, Laragh JH, Cody RJ, Weksler BB. Plasma and platelet vasopressin in essential hypertension and congestive heart failure. *Hypertension* 1983; 5: 1129-1138.
30. Acher R, Chauvet J. Structure, processing and evolution of the neurohypophysial hormone-neurophysin precursors. *Biochimie* 1988; 70: 1197-1207.
31. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem* 2006; 52: 112-119.
32. Gall SA, Halbert SP. Antigenic constituents in pregnancy plasma which are undetectable in normal non-pregnant female or male plasma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1972; 42: 503-515.
33. Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ, Hays LG, Yates JR 3rd, Conover CA. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3149-3153.
34. Laursen LS, Overgaard MT, S.e R, Boldt HB, Sottrup-Jensen L, Giudice LC, Conover CA, Oxvig C. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) cleaves insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-5 independent of IGF: implications for the mechanism of IGFBP-4 proteolysis by PAPP-A. *FEBS Lett* 2001; 504: 36-40.
35. Conover CA. Key questions and answers about pregnancy-associated plasma protein-A. *Trends Endocrinol Metab* 2012; 23: 242-249.

36. Brizot ML, Hyett JA, Mckie AT, Bersinger NA, Farzaneh F, Nicolaides KH. Gene expression of human pregnancy-associated plasma protein-A in placenta from trisomic pregnancies. *Placenta* 1996; 17: 33-36.
37. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med*. 1999; 341: 461-467.
38. Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR Jr, Virmani R, Oxvig C, Schwartz RS. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001;345:1022-1029.
39. Cosin-Sales J, Christiansen M, Kaminski P, Oxvig C, Overgaard MT, Cole D, Holt DW, Kaski JC. Pregnancy-associated plasma protein A and its endogenous inhibitor, the proform of eosinophil major basic protein (proMBP), are related to complex stenosis morphology in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004; 109: 1724-1728.
40. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Simoons ML, Zeiher AM; CAPTURE Study Investigators. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 229-237.
41. Qin QP, Kokkala S, Lund J, Tamm N, Qin X, Lepäntalo M, Pettersson K. Immunoassays developed for pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in pregnancy may not recognize PAPP-A in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2006; 52: 398-404.
42. McCann CJ, Glover BM, Menown IB, Moore MJ, McEneny J, Owens CG, Smith B, Sharpe PC, Young IS, Adgey JA. Prognostic value of a multimarker approach for patients presenting to hospital with acute chest pain. *Am J Cardiol* 2009; 103: 22-28.
43. Hájek P, Macek M, Hladíková M, Houbová B, Alan D, Durdil V, Fiedler J, Malý M, Ostádal P, Veselka J, Krebsová A. Pregnancy-associated plasma protein A and proform eosinophilic major basic protein in the detection of different types of coronary artery disease. *Physiol Res* 2008; 57: 23-32.
44. Iversen KK, Dalsgaard M, Teisner AS, Schoos M, Teisner B, Nielsen H, Clemmensen P, Grande P. Usefulness of pregnancy-associated plasma protein A in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2009; 104: 1465-1471.
45. Iversen KK, Teisner AS, Teisner B, Kliem A, Thanning P, Nielsen H, Clemmensen P, Grande P. Pregnancy associated plasma protein A, a potential marker for vulnerable plaque in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Clin Biochem* 2009; 42: 828-834.

46. Iversen KK, Dalsgaard M, Teisner AS, Schoos M, Teisner B, Nielsen H, Grande P, Clemmensen P. Pregnancy-associated plasma protein-a, a marker for outcome in patients suspected for acute coronary syndrome. *Clin Biochem* 2010; 43: 851-857.
47. Etter C, Straub Y, Hersberger M, RaANz HR, Kistler T, Kiss D, WuANthrich RP, Gloor HJ, Aerne D, Wahl P, Klaghofer R, AmbuANhl PM. Pregnancy-associated plasma protein-A is an independent short-time predictor of mortality in patients on maintenance haemodialysis. *Eur Heart J* 2010; 31: 354-359.
48. Liu ZY, Zhang JY, Sun TW, Zhang YJ, Zhang L, Wang LX. Levels of pregnancy-associated plasma protein A in patients with coronary artery disease. *Clin Invest Med* 2008; 31: E85-E89.
49. Cosin-Sales J, Kaski JC, Christiansen M, Kaminski P, Oxvig C, Overgaard MT, Cole D, Holt DW. Relationship among pregnancy associated plasma protein-A levels, clinical characteristics, and coronary artery disease extent in patients with chronic stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2005; 26: 2093-2098.
50. B.R.A.H.M.S Aktiengesellschaft. PAPP-A Kryptor: Instructions for use. B.R.A.H.M.S Aktiengesellschaft 2008.
51. Dao Q, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Harrison A, Amirnovin R, Lenert L, Clopton P, Alberto J, Hlavin P, Maisel AS. Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent-care setting. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 379-385.
52. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Køber L, Lip GY, 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; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), 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; Document Reviewers, McDonagh T, Sechtem U, Bonet LA, Avraamides P, Ben Lamin HA, Brignole M, Coca A, Cowburn P, Dargie H, Elliott P, Flachskampf FA, Guida GF, Hardman S, lung B, Merkely B, Mueller C, Nanas JN, Nielsen OW, Orn S, Parissis JT, Ponikowski P. 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: 803-869.
53. Haass M. Kardiale Marker bei Herzinsuffizienz. In: Haass M, Katus HA. Diagnostische Marker in der Kardiologie. Uni-Med Science, Bremen London Boston 2005, S. 14-33

54. Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, Garberg V, Lura D, Francis GS, Simon AB, Rector T. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med* 1984; 311: 819-823.
55. Shimosawa T, Fujita T. Adrenomedullin and its related peptide. *Endocr J* 2005; 52: 1-10.
56. Konstantinides S. Clinical practice. Acute pulmonary embolism. *N Engl J Med* 2008; 359: 2804-2813.
57. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med* 2008; 358: 2148-2159.
58. <http://www.pubmed.gov> (aufgerufen am 17.04.2013).
59. Kragelund C, Omland T. Biology of natriuretic peptides. In: Morrow DA. *Cardiovascular biomarkers: pathophysiology and disease management*. Humana Press Incorporated, Totowa 2006: 3-25.
60. De Bold AJ. Heart atria granularity effects of changes in water-electrolyte balance. *Proc Soc Exp Biol Med* 1979; 161: 508-511.
61. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981; 28: 89-94.
62. Kragelund C, Omland T. Biology of natriuretic peptides. In: Morrow DA. *Cardiovascular biomarkers: pathophysiology and disease management*. Humana Press Incorporated, Totowa 2006: 347-372.
63. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332: 78-81.
64. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 863-870.
65. Azzazy HM, Christenson RH. B-type natriuretic peptide: physiologic role and assay characteristics. *Heart Fail Rev* 2003; 8: 315-320.
66. Vesely DL, Douglass MA, Dietz JR, Gower WR Jr, McCormick MT, Rodriguez-Paz G, Schocken DD. Three peptides from the atrial natriuretic factor prohormone amino terminus lower blood pressure and produce diuresis, natriuresis, and/or kaliuresis in humans. *Circulation* 1994; 90: 1129-1140.
67. Gunning ME, Brady HR, Otuechere G, Brenner BM, Zeidel ML. Atrial natriuretic peptide(31-67) inhibits Na⁺ transport in rabbit inner medullary collecting duct cells. Role of prostaglandin E₂. *J Clin Invest* 1992; 89: 1411-1417.
68. Vesely DL. Atrial natriuretic peptide prohormone gene expression: hormones and diseases that upregulate its expression. *IUBMB Life* 2002; 53: 153-159.

69. Winters CJ, Sallman AL, Baker BJ, Meadows J, Rico DM, Vesely DL. The N-terminus and a 4,000-MW peptide from the midportion of the N-terminus of the atrial natriuretic factor prohormone each circulate in humans and increase in congestive heart failure. *Circulation* 1989; 80: 438-449.
70. Morgenthaler NG, Struck J, Thomas B, Bergmann A. Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma. *Clin Chem* 2004; 50: 234-236.
71. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev* 2006;27:47-72.
72. Potter LR. Regulation and therapeutic targeting of peptide-activated receptor guanylyl cyclases. *Pharmacol Ther* 2011;130:71-82.
73. Potter LR. Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *FEBS J* 2011;278:1808-1817.
74. Mair J. Biochemistry of B-type natriuretic peptide – where are we now? *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1507-1514.
75. Davis M, Espiner E, Richards G, Billings J, Town I, Neill A, Drennan C, Richards M, Turner J, Yandle T. Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnoea. *Lancet* 1994; 343: 440-444.
76. Maisel A, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, Landsberg JW, Ponikowski P, Mockel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Clopton P, Filippatos GS, Di Somma S, Anand I, Ng L, Daniels LB, Neath SX, Christenson R, Potocki M, McCord J, Terracciano G, Kremastinos D, Hartmann O, von Haehling S, Bergmann A, Morgenthaler NG, Anker SD. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2062-2076.
77. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT, Wu AH, Clopton P, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Perez A, Kazanegra R, Herrmann HC, McCullough PA; Breathing Not Properly Multinational Study Investigators. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 161-167.
78. 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 BATTLESCARRED (NT-proBNP-Assisted Treatment To Lessen Serial Cardiac Readmissions and Death) trial. *J Am Coll Cardiol* 2009; 55: 53-60.
79. 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: 1733-1739.

80. Maisel A. Clinical use of natriuretic peptides for the diagnosis and management of heart failure. In: Morrow DA. Cardiovascular biomarkers: pathophysiology and disease management. Humana Press Incorporated, Totowa 2006: 387-408.
81. Weinberg EO, Lee RT. Novel markers of hemodynamic stress. In: Morrow DA. Cardiovascular biomarkers: pathophysiology and disease management. Humana Press Incorporated, Totowa 2006: 427-447.
82. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 192: 553-560.
83. Eto T, Kato J, Kitamura K. Regulation of production and secretion of adrenomedullin in the cardiovascular system. *Regul Pept* 2003; 112: 61-69.
84. Hamid SA, Baxter GF. Adrenomedullin: regulator of systemic and cardiac homeostasis in acute myocardial infarction. *Pharmacol Ther* 2005; 105: 95-112.
85. Kureishi Y, Kobayashi S, Nishimura J, Nakano T, Kanaide H. Adrenomedullin decreases both cytosolic Ca²⁺ concentration and Ca(2+)-sensitivity in pig coronary arterial smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212: 572-579.
86. Nuki C, Kawasaki H, Kitamura K, Takenaga M, Kangawa K, Eto T, Wada A. Vasodilator effect of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in rat mesenteric vascular beds. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 196: 245-251.
87. Shimosawa T, Fujita T. Adrenomedullin and its related peptide. *Endocr J* 2005; 52: 1-10.
88. Miyao Y, Nishikimi T, Goto Y, Miyazaki S, Daikoku S, Morii I, Matsumoto T, Takishita S, Miyata A, Matsuo H, Kangawa K, Nonogi H. Increased plasma adrenomedullin levels in patients with acute myocardial infarction in proportion to the clinical severity. *Heart* 1998; 79: 39-44.
89. Jougasaki M, Rodeheffer RJ, Redfield MM, Yamamoto K, Wei CM, McKinley LJ, Burnett JC Jr. Cardiac secretion of adrenomedullin in human heart failure. *J Clin Invest* 1996; 97: 2370-2376.
90. Shimosawa T, Ito Y, Ando K, Kitamura K, Kangawa K, Fujita T. Proadrenomedullin NH(2)-terminal 20 peptide, a new product of the adrenomedullin gene, inhibits norepinephrine overflow from nerve endings. *J Clin Invest* 1995; 96: 1672-1676.
91. Pio R, Martinez A, Unsworth EJ, Kowalak JA, Bengoechea JA, Zipfel PF, Elsasser TH, Cuttitta F. Complement factor H is a serum-binding protein for adrenomedullin, and the resulting complex modulates the bioactivities of both partners. *J Biol Chem* 2001; 276: 12292-12300.

92. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem* 2005; 51: 1823-1829.
93. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem* 2005; 51: 1823-1829.
94. Srivathsan K, Showalter J, Wilkens J, Hurley B, Abbas A, Loutfi H. Cardiovascular outcome in hospitalized patients with minimal troponin I elevation and normal creatine phosphokinase. *Int J Cardiol* 2004; 97: 221-224.
95. Omland T, Sabatine MS, Jablonski KA, Rice MM, Hsia J, Wergeland R, Landaas S, Rouleau JL, Domanski MJ, Hall C, Pfeffer MA, Braunwald E; PEACE Investigators. Prognostic value of B-Type natriuretic peptides in patients with stable coronary artery disease: the PEACE Trial. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 205-214.
96. Kistorp C, Raymond I, Pedersen F, Gustafsson F, Faber J, Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA* 2005; 293: 1609-1616.
97. Morgenthaler NG, Struck J, Thomas B, Bergmann A. Immunoluminometric assay for the midregion of pro-atrial natriuretic peptide in human plasma. *Clin Chem* 2004; 50: 234-236.
98. Nickel CH, Bingisser R, Morgenthaler NG. The role of copeptin as a diagnostic and prognostic biomarker for risk stratification in the emergency department. *BMC Med* 2012; 10: 17.
99. Madan P, Elayda MA, Lee VV, Wilson JM. Predicting major adverse cardiac events after percutaneous coronary intervention: the Texas Heart Institute risk score. *Am Heart J* 2008; 155: 1068-1074.
100. Aldrovandi A, Maffei E, Seitun S, Martini C, Berti E, Grilli R, Messalli G, Weustink AC, Mollet NR, Nieman K, Ardissino D, de Feyter PJ, Krestin GP, Cademartiri F. Major adverse cardiac events and the severity of coronary atherosclerosis assessed by computed tomography coronary angiography in an outpatient population with suspected or known coronary artery disease. *J Thorac Imaging* 2012; 27: 23-28.
101. Aldrovandi A, Maffei E, Palumbo A, Seitun S, Martini C, Brambilla V, Zuccarelli A, Tarantini G, Weustink AC, Mollet NR, Ruffini L, Crisi G, Ardissino D, de Feyter PJ, Krestin GP, Cademartiri F. Prognostic value of computed tomography coronary angiography in patients with suspected coronary artery disease: a 24-month follow-up study. *Eur Radiol* 2009; 19: 1653-1660.

102. Tang WH, Iqbal N, Wu Y, Hazen SL. Usefulness of cardiac biomarker score for risk stratification in stable patients undergoing elective cardiac evaluation across glycemic status. *Am J Cardiol* 2013; 111: 465-470.
103. Rickenbacher P. Herzinsuffizienz: Epidemiologie, Pathophysiologie. *Swiss Med Forum* 2001; 1/2: 4-9.
104. Logeart D, Thabut G, Jourdain P, Chavelas C, Beyne P, Beauvais F, Bouvier E, Solal AC. Predischarge B-type natriuretic peptide assay for identifying patients at high risk of re-admission after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 635-641.
105. Noveanu M, Breidthardt T, Potocki M, Reichlin T, Twerenbold R, Uthoff H, Socrates T, Arenja N, Reiter M, Meissner J, Heinisch C, Stalder S, Mueller C. Direct comparison of serial B-type natriuretic peptide and NT-proBNP levels for prediction of short- and long-term outcome in acute decompensated heart failure. *Crit Care* 2011; 15: R1.
106. Hartmann F, Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Anker SD, Amann-Zalan I, Hoersch S, Katus HA. Prognostic impact of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in severe chronic congestive heart failure: a substudy of the Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) trial. *Circulation* 2004; 110: 1780-1786.
107. Olsson LG, Swedberg K, Cleland JG, Spark PA, Komajda M, Metra M, Torp-Pedersen C, Remme WJ, Scherhag A, Poole-Wilson P; COMET Investigators. Prognostic importance of plasma NT-pro BNP in chronic heart failure in patients treated with a beta-blocker: results from the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET) trial. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 795-801.
108. Anand IS, Rector TS, Cleland JG, Kuskowski M, McKelvie RS, Persson H, McMurray JJ, Zile MR, Komajda M, Massie BM, Carson PE. Prognostic value of baseline plasma amino-terminal pro-brain natriuretic peptide and its interactions with irbesartan treatment effects in patients with heart failure and preserved ejection fraction: findings from the I-PRESERVE trial. *Circ Heart Fail* 2011; 4: 569-577.
109. Statistisches Bundesamt. Todesursachen. Wiesbaden 2013. <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html;jsessionid=FB20327FC07C8C56060F111832D02722.cae2>. Abgerufen am 10.03.2013.
110. Statistisches Bundesamt. Todesursachen. Wiesbaden 2013. <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Krankheitskosten/Tabellen/KrankheitsklassenGeschlecht.html>. Abgerufen am 10.03.2013.
111. Boissel JP. Standards for reporting clinical trials. *Clin Trials Metaanal* 1992; 28: 5-7.

112. Espeland MA, O'leary DH, Terry JG, Morgan T, Evans G, Mudra H. Carotid intimal-media thickness as a surrogate for cardiovascular disease events in trials of HMG-CoA reductase inhibitors. *Curr Control Trials Cardiovasc Med* 2005; 6: 3.
113. Puntmann VO. How-to guide on biomarkers: biomarker definitions, validation and applications with examples from cardiovascular disease. *Postgrad Med J* 2009; 85: 538-45.
114. Bender R, Ziegler A, Lange S. Multiple Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 2007; 132: e30-e32.
115. Tzikas S, Keller T, Ojeda FM, Zeller T, Wild PS, Lubos E, Kunde J, Baldus S, Bickel C, Lackner KJ, Münzel TF, Blankenberg S. MR-proANP and MR-proADM for risk stratification of patients with acute chest pain. *Heart* 2013; 99: 388-395.
116. Gegenhuber A, Struck J, Poelz W, Pacher R, Morgenthaler NG, Bergmann A, Haltmayer M, Mueller T. Midregional pro-A-type natriuretic peptide measurements for diagnosis of acute destabilized heart failure in short-of-breath patients: comparison with B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP. *Clin Chem* 2006; 52: 827-831.
117. Maisel A, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, Landsberg JW, Ponikowski P, Mockel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Clopton P, Filippatos GS, Di Somma S, Anand I, Ng L, Daniels LB, Neath SX, Christenson R, Potocki M, McCord J, Terracciano G, Kremastinos D, Hartmann O, von Haehling S, Bergmann A, Morgenthaler NG, Anker SD. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2062-2076.
118. Moertl D, Berger R, Struck J, Gleiss A, Hammer A, Morgenthaler NG, Bergmann A, Huelsmann M, Pacher R. Comparison of midregional pro-atrial and B-type natriuretic peptides in chronic heart failure: influencing factors, detection of left ventricular systolic dysfunction, and prediction of death. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53: 1783-1790.
119. Alehagen U, Dahlström U, Rehfeld JF, Goetze JP. Pro-A-type natriuretic peptide, proadrenomedullin, and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide used in a multimarker strategy in primary health care in risk assessment of patients with symptoms of heart failure. *J Card Fail* 2013; 19: 31-39.
120. Adlbrecht C, Hülsmann M, Strunk G, Berger R, Mörtl D, Struck J, Morgenthaler NG, Bergmann A, Jakowitsch J, Maurer G, Lang IM, Pacher R. Prognostic value of plasma midregional pro-adrenomedullin and C-terminal-pro-endothelin-1 in chronic heart failure outpatients. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 361-366.

121. Potocki M, Reichlin T, Thalmann S, Zellweger C, Twerenbold R, Reiter M, Steuer S, Bassetti S, Drexler B, Stelzig C, Freese M, Winkler K, Haaf P, Balmelli C, Hochholzer W, Osswald S, Mueller C. Diagnostic and prognostic impact of copeptin and high-sensitivity cardiac troponin T in patients with pre-existing coronary artery disease and suspected acute myocardial infarction. *Heart* 2012; 98: 558-565.
122. Liebetrau C, Nef H, Szardien S, Dörr O, Willmer M, Voss S, Troidl C, Hoffmann J, Rixe J, Rolf A, Hamm C, Möllmann H. Release kinetics of copeptin in patients undergoing transcatheter ablation of septal hypertrophy. *Clin Chem* 2013; 59: 566-569.
123. Elesber AA, Conover CA, Denktas AE, Lennon RJ, Holmes DR Jr, Overgaard MT, Christiansen M, Oxvig C, Lerman LO, Lerman A. Prognostic value of circulating pregnancy-associated plasma protein levels in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J* 2006; 27: 1678-1684.
124. Qin QP, Wittfooth S, Pettersson K. Measurement and clinical significance of circulating PAPP-A in ACS patients. *Clin Chim Acta* 2007; 380: 59-67.
125. Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Gleich GJ, Sottrup-Jensen L. Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 1993; 268: 12243-12246.
126. Wittfooth S, Qin QP, Lund J, Tierala I, Pulkki K, Takalo H, Pettersson K. Immunofluorometric point-of-care assays for the detection of acute coronary syndrome-related noncomplexed pregnancy-associated plasma protein A. *Clin Chem* 2006; 52: 1794-1801.
127. Ziegler A, Lange S, Bender R. Überlebensanalyse: Eigenschaften und Kaplan-Meier Methode. *Dtsch Med Wochenschr* 2007; 132: e36-e38.
128. Ziegler A, Lange S, Bender R. Überlebenszeitanalyse: Die Cox-Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 2007; 132: e42-e44.
129. Katz MH. Assumptions of multiple linear regression, multiple logistic regression, and proportional hazards analysis. In: Katz MH. *Multivariable analysis*. Cambridge University Press, Cambridge 2006: 38-67.
130. Schnabel RB, Schulz A, Messow CM, Lubos E, Wild PS, Zeller T, Sinning CR, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Kempf T, Wollert KC, Benjamin EJ, Lackner KJ, Münzel TF, Tiret L, Vasan RS, Blankenberg S. Multiple marker approach to risk stratification in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2010; 31: 3024-3031.
131. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Omland T, Sloan S, Jarolim P, Solomon SD, Pfeffer MA, Braunwald E. Evaluation of multiple biomarkers of cardiovascular stress for risk prediction and guiding medical therapy in patients with stable coronary disease. *Circulation* 2012; 125: 233-240.

132. Potocki M, Ziller R, Mueller C. Mid-regional pro-adrenomedullin in acute heart failure: a better biomarker or just another biomarker? *Curr Heart Fail Rep* 2012; 9: 244-251.
133. Palladini G, Barassi A, Perlini S, Milani P, Foli A, Russo P, Albertini R, Obici L, Lavatelli F, Sarais G, Casarini S, Moratti R, Melzi d'Eril GV, Merlini G. Midregional proadrenomedullin (MR-proADM) is a powerful predictor of early death in AL amyloidosis. *Amyloid* 2011; 18: 216-221.
134. Bello S, Lasierra AB, Mincholé E, Fandos S, Ruiz MA, Vera E, de Pablo F, Ferrer M, Menendez R, Torres A. Prognostic power of proadrenomedullin in community-acquired pneumonia is independent of aetiology. *Eur Respir J* 2012; 39: 1144-1155.
135. Gouya G, Sturm G, Lamina C, Zitt E, Freistätter O, Struck J, Wolzt M, Knoll F, Lins F, Lhotta K, Neyer U, Kronenberg F. The association of mid-regional pro-adrenomedullin and mid-regional pro-atrial natriuretic peptide with mortality in an incident dialysis cohort. *PLoS One* 2011; 6: e17803.
136. Klip IT, Voors AA, Anker SD, Hillege HL, Struck J, Squire I, van Veldhuisen DJ, Dickstein K; OPTIMAAL investigators. Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin in patients with heart failure after an acute myocardial infarction. *Heart* 2011; 97: 892-898.
137. 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: 1187-1194.
138. Sánchez M, Llorens P, Herrero P, Martín-Sánchez FJ, Piñera P, Miró O; on behalf of COPEP study investigators. The utility of copeptin in the emergency department as a predictor of adverse outcomes in non-ST-elevation acute coronary syndrome: the COPEP-PAO study. *Emerg Med J* 2013; DOI: 10.1136/emmermed-2012-201996 (im Druck).
139. Morawiec B, Kawecki D. Copeptin: a new marker in cardiology. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2013; 14: 19-25.
140. Kolditz M, Halank M, Schulte-Hubbert B, Bergmann S, Albrecht S, Höffken G. Copeptin predicts clinical deterioration and persistent instability in community-acquired pneumonia. *Respir Med* 2012; 106: 1320-1328.
141. Lin Q, Fu F, Chen H, Zhu B. Copeptin in the assessment of acute lung injury and cardiogenic pulmonary edema. *Respir Med* 2012; 106: 1268-1277.
142. Zhang X, Lu XM, Huang LF, Ye H. Copeptin is associated with one-year mortality and functional outcome in patients with acute spontaneous basal ganglia hemorrhage. *Peptides* 2012; 33: 336-341.

143. Yu GF, Huang Q, Dai WM, Jie YQ, Fan XF, Wu A, Lv Y, Li YP, Yan XJ. Prognostic value of copeptin: one-year outcome in patients with traumatic brain injury. *Peptides* 2012; 33: 164-169.
144. Lund J, Qin QP, Ilva T, Pettersson K, Voipio-Pulkki LM, Porela P, Pulkki K. Circulating pregnancy-associated plasma protein a predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003; 108: 1924-1926.
145. Simon D, Boring JR. Sensitivity, specificity, and predictive value. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Butterworths, Boston 1990: 49-54.
146. Carvajal DN, Rowe PC. Sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios. *Pediatr Rev* 2010; 31: 511-513.
147. Green DM, Swets JA. *Signal Detection Theory and Psychophysics*. Wiley, New York 1966.
148. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Filardi PP, Riccardi G, Storey RF, Wood D für das ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 2011; 32: 1769-1818.
149. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Struijker Boudier HA, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellems I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Kjeldsen SE, Erdine S, Narkiewicz K, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Cifkova R, Dominiczak A, Fagard R, Heagerty AM, Laurent S, Lindholm LH, Mancia G, Manolis A, Nilsson PM, Redon J, Schmieder RE, Struijker-Boudier HA, Viigimaa M, Filippatos G, Adamopoulos S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Bertomeu V, Clement D, Erdine S, Farsang C, Gaita D, Kiowski W, Lip G, Mallion JM, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Viigimaa M, Waeber B, Williams B, Zamorano JL. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007; 28: 1462-1536.

Danksagung

Mein Dank gilt einer großen Zahl von Menschen, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre. Herrn Prof. Dr. med. Wilhelm Haverkamp danke ich sehr herzlich für die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik zu verfassen, ebenso wie für sein Vertrauen und seine stetige Unterstützung. Ganz besonders danke ich Prof. Dr. Dr. med. Stefan Anker, da ohne seine Rückendeckung und unsere vielen, immer wieder auch kritischen Diskussionen diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Prof. Dr. med. Rainer Dietz und dem im Jahre 2009 unerwartet verstorbenen Prof. Philip Poole-Wilson gilt mein besonderer Dank, da ihre Hilfe in Berlin bzw. in London meine klinische und wissenschaftliche Ausbildung entscheidend mit geprägt hat.

Viele andere haben unmittelbar zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen, indem sie die Studien, die ihren Kern darstellen, mit gestaltet und geprägt haben. Dies gilt insbesondere für Prof. Dr. Dr. med. Wolfram Döhner und Prof. Dr. med. Boris Bigalke sowie die Mitarbeiter bzw. ehemaligen Mitarbeiter der Firma B.R.A.H.M.S Aktiengesellschaft, namentlich Dr. rer. nat. Andreas Bergmann, Dr. rer. nat. Joachim Struck, Oliver Hartmann und Dr. med. Nils Morgenthaler. Auch Dr. rer. nat. Jana Papassotiriou gilt mein besonderer Dank; ihr Tod im vergangenen Jahr hat mich sehr getroffen. Daneben gilt mein Dank den weiteren Wissenschaftlern, die unmittelbar zum Entstehen der Projekte dieser Arbeit beigetragen haben, namentlich Dr. Ewa Jankowska (Wroclaw, Polen), Dr. Piotr Rozentryt (Zabrze, Polen), Prof. Gerasimos Filippatos (Athen, Griechenland), Prof. Piotr Ponikowski (Wroclaw, Polen) und Dr. Mariantonietta Cicoira (Verona, Italien).

Den Mitarbeitern unserer Arbeitsgruppe danke ich für die stets angenehme Atmosphäre und die konstruktive Zusammenarbeit, namentlich Dr. med. Anja Sandek, Nicole Ebner, Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Jochen Springer, Cornelia Anker, Monika Diek, Miroslava Valentova, Tarek Bekfani und natürlich allen Doktoranden. Daneben wäre eine solche Arbeit auch nicht möglich ohne die aktive Teilnahme unserer Patienten und Probanden, denen gleichfalls meine Dankbarkeit gilt.

Nicht zuletzt danke ich meinem Sohn Nicholas, der mich oft entbehren musste. Meiner Mutter Ellen Haehling von Lanzener, Dr. rer. nat. Eugen Pantzke und dem Rest meiner Familie bin ich ebenso dankbar für ihre anhaltende Unterstützung.

Erklärung

§4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorliegende Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Datum

Unterschrift