

Aus dem Arbeitsbereich Notfallmedizin/Rettungsstellen (CVK, CCM)  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

C-reaktives Protein beim akuten Myokardinfarkt:  
Kinetik, prognostische Bedeutung und Etablierung einer  
spezifischen Apherese in einem porcinen Infarktmodell

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Anna Slagman  
aus Düsseldorf

DATUM DER PROMOTION: 09.09.2016

# INHALT

Titelblatt .....	1
Abstrakt Deutsch .....	4
Abstrakt Englisch.....	6
Einführung .....	7
Zielstellung .....	8
Methodik und Ergebnisse Teilprojekt 1 (Publikationen 1 und 2).....	9
Methodik und Ergebnisse Teilprojekt 2 (Publikation 3).....	11
Diskussion .....	15
Inflammation und „Remodeling“ nach akutem Myokardinfarkt .....	15
C-reaktives Protein: Risikomarker und pathogener Faktor.....	16
C-reaktives Protein als Target therapeutischer Interventionen .....	17
Schlussfolgerungen .....	20
Literaturverzeichnis .....	21
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	27
Druckexemplare der ausgewählten Publikationen.....	29
Publikation 1 .....	29
Publikation 2.....	30
Publikation 3.....	45
Publikation 3 Supplement.....	55
Lebenslauf.....	61
Publikationen.....	62
Veröffentlichungen:.....	62
Vorträge.....	65
Poster .....	66
Eidesstattliche Versicherung .....	68
Danksagung.....	69

C-reaktives Protein beim akuten Myokardinfarkt:  
Kinetik, prognostische Bedeutung und Etablierung einer  
spezifischen Apherese in einem porcinen Infarktmodell

Zusammenfassung

Anna Slagman, MSc Epidemiology

# ABSTRAKT DEUTSCH

## EINLEITUNG

Im Rahmen von inflammatorischen Prozessen im Anschluss an einen akuten Myokardinfarkt kommt dem C-reaktiven Protein (CRP) als Modulator der initialen Immunreaktion über das Komplementsystem eine wichtige Bedeutung zu. Studien zeigten, dass nicht nur die Prognose der Patienten sondern auch die Größe der Infarktnarbe, signifikant mit der peripheren CRP-Konzentration assoziiert ist. Tierexperimentelle Arbeiten konnten bestätigen, dass eine Blockierung von CRP geeignet ist, die Infarktnarbe signifikant zu reduzieren.

## METHODIK UND ERGEBNISSE

In Teilprojekt 1 der vorgelegten Arbeit wurde ein porcines Infarktmodell zur spezifischen Depletion von CRP mittels Plasmapherese etabliert (Publikation 1) und die Auswirkung der Behandlung auf die mittels MRT ermittelte Infarktgröße, Funktionsparameter des Herzens und die Narbenmorphologie untersucht (Publikation 2). Es konnte gezeigt werden, dass zirkulierendes CRP mittels Bindung an sepharosegekoppeltes Phosphorylcholin erfolgreich gesenkt werden konnte und dass diese Reduktion sich im Vergleich zu einer mit Scheinapherese behandelten Gruppe vorteilhaft auf die Größe der resultierenden Infarktnarbe auswirkt (Proof of Principle).

In Teilprojekt 2 der vorliegenden Arbeit wurde die CRP-Kinetik bei Patienten mit hochgradigem Verdacht auf akuten Myokardinfarkt auf dem Notarztwagen und in der Notaufnahme untersucht. Es zeigten sich diagnoseunabhängig erhöhte Werte 12-36 Stunden nach Aufnahme der Patienten und das prognostische Potential von CRP zur Vorhersage von kardiovaskulären Ereignissen konnte bestätigt werden.

## SCHLUSSFOGERUNGEN

Durch die erfolgten Experimente konnten eine erfolgreiche CRP-Depletion, sowie eine vorteilhafte Auswirkung dieser auf die Größe der resultierenden Infarktnarbe gezeigt werden. In weiteren Studien sollte die demonstrierte Assoziation zwischen spezifischer CRP-Abreicherung und der Größe der Infarktnarbe sowie der kardialen Funktion beim Menschen bestätigt und an größeren Fallzahlen, insbesondere auch im Vergleich zu einer nur nach Standardtherapie behandelten Gruppe, untersucht werden. Da ein CRP-

Anstieg erst spät nach Ischämiebeginn nachweisbar ist, sollten in klinischen Studien geeignete Parameter für die frühzeitige Identifikation einer vulnerablen Patientenpopulation, welche von einer Anwendung des entwickelten Verfahrens profitieren könnten, evaluiert werden.

# ABSTRACT ENGLISH

## INTRODUCTION

C-reactive protein (CRP), as a complement dependent mediator of the initial immune response, has an important role in inflammatory processes following acute myocardial infarction. Several studies have shown that CRP does not only provide prognostic information but is also associated with infarct size and cardiac function. In animal experiments in rats and rabbits it was shown, that therapeutic reduction of CRP-levels seems to influence the size of a developing scar after myocardial infarction as well as functional cardiac parameters.

## METHODS AND RESULTS

In the first part of this work a porcine infarction model for the specific depletion of CRP was developed. CRP was depleted via plasmapheresis in a specific adsorber containing sepharose-coupled phosphorylcholine (publication 1). It was shown that the procedure was eligible to significantly reduce circulating CRP-levels and that it had a favorable effect on infarct size, as assessed by cardio-MRI, and cardiac function as compared to a sham-treated control group (publication 2).

In the second part, the temporal release pattern of CRP was investigated in patients with a high suspicion of acute myocardial infarction on the ambulance and in the Emergency Department. CRP-values were elevated after 12-36 hours and the prognostic potential of CRP for the prediction of cardiovascular events was confirmed.

## CONCLUSIONS

We were able to provide the proof of principle that CRP was successfully reduced by selective plasmapheresis. The developed therapeutic measure was also shown to favorably influence infarct size and cardiac function. Following studies should investigate the therapeutic potential of CRP to confirm the association between specific CRP-depletion and infarct size as well as cardiac function in humans and should involve more individuals and also a comparison to a standard-care group without sham procedure. As CRP rises late after onset of ischemia it might be helpful to evaluate other parameters for the preselection of a vulnerable patient population that could profit from specific CRP-reduction.

# EINFÜHRUNG

Nach Angaben des statistischen Bundesamtes waren Herz-Kreislaufkrankungen mit 354.493 Todesfällen die häufigste Todesursache im Jahr 2013 und verursachten die höchsten Krankheitskosten (37 Milliarden Euro) im Jahr 2008 [1 2]. Der akute Myokardinfarkt lag mit 52.044 Todesfällen an Platz zwei der zugrundeliegenden Herz-Kreislaufkrankungen und führte zur vollstationären Behandlung von 221.013 Personen im Jahr 2013 [3]. Die leitliniengerechte Therapie des akuten Myokardinfarktes beruht neben der initialen Linderung der Symptome auf der zügigen mechanischen und/oder pharmakologischen Revaskularisierung der betroffenen Koronararterien mit dem Ziel der Begrenzung der myokardialen Ischämiedauer [4-6]. In experimentellen und klinischen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen Ischämiedauer, Okklusionslokalisierung sowie Kollateralisierung und sowohl der Infarktgröße, als auch der Prognose der Patienten gezeigt werden [7-10]. Der initiale Infarktbereich wird im Rahmen der Reperfusionsschädigung ( „Reperfusion injury“ ) durch das Zugrundegehen Ischämie-geschädigter Myozyten vergrößert [11]. Inflammatorische Prozesse, insbesondere im Randbereich des initial geschädigten Gewebes, wurden als weiterer Einflussfaktor auf die Infarktgröße beschrieben [12 13]. C-reaktives Protein (CRP) ist ein kurzes Pentraxin, welches als Reaktion auf eine Interleukin-6 Stimulation in der Leber im Rahmen der humoralen unspezifischen Abwehrreaktion synthetisiert wird [14]. Die CRP-Konzentration im peripheren Blut steigt im Rahmen eines akuten Infarktgeschehens an und hat prognostische Bedeutung [15-17]. Tierexperimentelle Studien demonstrierten eine Vergrößerung des initialen myokardialen und zerebralen Infarktareas durch erhöhte CRP-Konzentrationen nach akuter Ischämie und Reperfusion [12 18-21]. Weitere Arbeiten an Ratten zeigten, dass eine Blockierung von CRP durch vor Myokardinfarktinduktion administriertes 1,6-bis(Phosphocholine)-Hexan (bis(PC)-H) geeignet war, den Infarktbereich nach 5 Tagen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant zu verkleinern [20]. Therapeutische Maßnahmen zu einer zielgerichteten Reduktion von CRP könnten auf Basis dieser Ergebnisse geeignet sein, die Infarktgröße nach stattgehabtem Myokardinfarkt zu reduzieren und damit möglicherweise das Outcome der Patienten positiv zu beeinflussen.

# ZIELSTELLUNG

## PRIMÄRES FORSCHUNGSZIEL

- Etablierung eines porcinen Tierversuchsmodelles zur spezifischen Depletion von C-reaktivem Protein nach akutem Myokardinfarkt mittels Plasmapherese (Teilprojekt 1)

## SEKUNDÄRE FORSCHUNGSZIELE

- Untersuchung der Wirksamkeit einer spezifischen Abreicherung von C-reaktivem Protein im Rahmen einer Plasmapherese zur Reduktion der Konzentration des peripher zirkulierenden C-reaktiven Proteins (Teilprojekt 1)
- Untersuchung der Auswirkung einer spezifischen Abreicherung von C-reaktivem Protein auf die mittels Magnetresonanztomographie ermittelte Infarktgröße und auf Funktionsparameter des Herzens (Teilprojekt 1) – *Proof of Principle*
- Charakterisierung der Kinetik von C-reaktivem Protein bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (Teilprojekt 2)
- Analyse der prognostischen Wertigkeit von C-reaktivem Protein bei Patienten mit Verdacht auf akuten Myokardinfarkt zur Vorhersage von kardiovaskulären Ereignissen während des Indexaufenthaltes und nach 180 Tagen (Teilprojekt 2)

# METHODIK UND ERGEBNISSE TEILPROJEKT 1 (PUBLIKATIONEN 1 UND 2)

PUBLIKATION 1: Etablierung eines porcinen Infarktmodelles mit spezifischer CRP-Apherese (Specific Removal of C-Reactive Protein by Apheresis in a Porcine Cardiac Infarction Model: [22])

PUBLIKATION 2: Erfolgreiche Depletion von C-reaktivem Protein mittels selektiver Plasmapherese in einem porcinen Infarktmodell (Selective Apheresis of C-Reactive Protein: A New Therapeutic Option in Myocardial Infarction; [23])

ÜBERSICHT: In Teilprojekt 1 wurde ein experimentelles Infarktmodell am Schwein mit anschließender spezifischer CRP-Apherese anhand mehrerer Versuchsreihen etabliert (Publikation 1; [22]). Zu diesem Zweck wurden initial Akutversuche an sechs Tieren durchgeführt um die zu verwendenden Techniken zu etablieren und zu standardisieren. Diese Versuche wurden binnen eines Tages durchgeführt und mit der Euthanasie der Tiere beendet. Anschließend wurden Versuche an 10 Tieren durchgeführt. Im Rahmen dieser Versuche wurde das geplante 14-tägige Versuchsprogramm getestet und optimiert. In 5 von 10 Tieren wurde eine experimentelle CRP-Plasmapherese eingesetzt (Experimentelle Gruppe) und in 5 Tieren wurde eine Scheinapherese ohne CRP-Depletion durchgeführt (Kontrollgruppe). Es wurden vergleichende Daten zum zeitlichen Verlauf etablierter und experimenteller Biomarker, sowie zur mittels MRT ermittelten Infarktgröße und zu Funktionsparametern des Herzens gewonnen und ausgewertet (Publikation 2; [23]).

METHODIK: Für alle Tierexperimente wurden weibliche Schweine der Deutschen Landrasse mit einem initialen Körpergewicht von 35-50 kg verwendet. Die experimentellen Arbeiten wurden in der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Das Protokoll (Reg. No.: 0283/07) wurde von den ansässigen Tierschutzbeauftragten, wie auch vom Landesamt für Gesundheit und Soziales, geprüft und bewilligt. Im Rahmen der durchgeführten Versuche wurde folgender 2-wöchiger Tierversuchsplan etabliert: Experimenteller Myokardinfarkt mit anschließender Infarktgrößenbestimmung mittels MRT an Tag 1, spezifische CRP-Plasmapherese durch einen experimentellen Adsorber über Bindung an

Phosphorylcholin-gekoppelte Sepharose in der experimentellen Gruppe bzw. Scheinplasmapherese (ohne spezifischen CRP-Adsorber) in der Kontrollgruppe an Tag 2 und 3, erneute Infarktgrößenbestimmung mittels MRT an Tag 14 mit anschließender Euthanasie der Tiere und Entnahme von Gewebeproben. Eine Übersicht zum Versuchsablauf bietet Abbildung 1 in Publikation 1 [22].

ERGEBNISSE: Es konnte gezeigt werden, dass alle Tiere als Reaktion auf die experimentell induzierte Ischämie des Myokards einen Anstieg des kardialen Biomarkers Troponin zeigten und die Prozedur zu einer reproduzierbaren Infarktgröße von circa zehn Prozent in allen Tieren führte [23]. Durch die spezifische CRP-Plasmapherese konnte das peripher zirkulierende CRP effektiv gesenkt werden (Abbildung 1 in Publikation 2: [23]). Zusätzlich wurde die per MRT gemessene mittlere Infarktgröße bei diesen Tieren signifikant von  $11,0 \pm 0,8\%$  auf  $7,5 \pm 0,6\%$  reduziert ( $p=0,003$ ). Im Vergleich zu diesen Werten zeigte sich bei Tieren, welche eine Scheinapherese ohne die spezifische Abreicherung von CRP erhielten, eine mittlere, nicht signifikante, Vergrößerung des Infarktgebietes von  $8,5 \pm 0,9\%$  auf  $10,1 \pm 2,7\%$  ( $p=0,260$ ). Erste makroskopische Betrachtungen der Narbenmorphologie zeigten eine überwiegend aufgelockerte Narbenstruktur in Tieren der mittels CRP-Apherese behandelten Gruppe im Vergleich zu kompakterem, transmuralen Narbengewebe bei Tieren der Kontrollgruppe (Abbildung 2 und 3 in [23]). Hinsichtlich der mittels MRT ermittelten Funktionsparameter des Herzens zeigte sich verglichen mit Tag 1 (LVEF  $53,5 \pm 2,0\%$ ) eine im Mittel signifikant gesteigerte links-ventrikuläre Ejektionsfraktion nach 14 Tagen in Tieren der interventionellen Gruppe (LVEF  $57,6 \pm 2,4\%$ ;  $p=0,019$ ). Im Vergleich dazu zeigten Tiere der Kontrollgruppe eine schlechtere links-ventrikuläre Funktion nach 14 Tagen (LVEF  $46,2 \pm 2,7\%$ ;  $p=0,007$ ).

## METHODIK UND ERGEBNISSE TEILPROJEKT 2 (PUBLIKATION 3)

PUBLIKATION 3: Kinetik von C-reaktivem Protein bei Patienten mit Akutem Myokardinfarkt (Temporal Release Pattern of Copeptin and Troponin in Patients with Acute Myocardial Infarction and Suspected Acute Coronary Syndrome; [24])

ÜBERSICHT: In Teilprojekt 2 wurden der zeitliche Verlauf der peripheren CRP-Konzentration, sowie die Kinetik weiterer kardiovaskulärer Biomarker bei Patienten mit und ohne akuten Myokardinfarkt verglichen.

METHODIK: Der zeitliche Verlauf der Konzentration der untersuchten Biomarker wurde an 93 Patienten mit Verdacht auf das Vorliegen eines Akuten Koronarsyndroms untersucht [24]. Bei diesen Patienten wurden die kardiovaskulären Biomarker (Troponin, Copeptin, CRP, Myoglobin) zu sechs Blutentnahmezeitpunkten (auf dem Notarztwagen, bei Aufnahme und nach 2, 4, 6 und 12-36 Stunden) in peripherem venösem Blut (Lithium-Heparin Plasma) gemessen und der zeitliche Verlauf der Biomarker bei spontanem akutem Myokardinfarkt im Vergleich zu anderen Diagnosen untersucht. Des Weiteren wurde der diagnostische und prognostische Vorhersagewert anhand der Fläche unter der Receiver operating characteristics Kurve (ROC-Kurve) vergleichend analysiert. Als prognostischer Parameter wurde ein kombinierter Endpunkt für das Auftreten von schwerwiegenden kardialen Ereignissen (major adverse cardiac events - MACE) während des initialen Aufenthaltes, sowie nach 180 Tagen ausgewertet. Dieser beinhaltete die einzelnen Endpunkte: Tod, Reinfarkt, erneute Angina Pectoris, Wiederbelebung, lebensbedrohliche Arrhythmien, perkutane Koronarintervention und koronare Bypassoperation.

ERGEBNISSE: Die Infarktprävalenz in dem untersuchten Patientenkollektiv mit hochgradigem Verdacht auf das Vorliegen eines Akuten Koronarsyndroms (ACS) war 39,8% (n=37) für einen Myokardinfarkt mit ST-Strecken Hebungen im EKG (STEMI – ST-elevation myocardial infarction) und 21,5% (n=20) für einen Myokardinfarkt ohne diese EKG-Veränderungen (NSTEMI – non ST-elevation myocardial infarction). 21,5% (n=20) der Patienten hatten eine instabile Angina Pectoris (UAP) und bei 17,2% (n=16) waren andere nicht-ACS-Diagnosen ursächlich für die initiale Symptomatik. Hochsensitiv gemessenes Troponin (hsTnT) zeigte bei Patienten mit Akutem Myokardinfarkt

eine steigende Kinetik im zeitlichen Verlauf mit maximalen Werten zum letzten Blutentnahmezeitpunkt nach 12-36 Stunden (Abbildung S1 in Publikation 3: [24]). Die maximal gemessene Troponinkonzentration war im Median etwas höher bei Patienten mit STEMI (Median 2.422ng/L; IQR: 1.068-4.251 ng/L) im Vergleich zu Patienten mit NSTEMI (Median 1.242 ng/L; IQR: 269-2.733 ng/L;  $p=0,035$ ). Die gemessene CRP-Konzentration zeigte bei Patienten mit und ohne akutem Myokardinfarkt einen signifikant ansteigenden Verlauf ( $p=0,003$ ) mit initialen medianen Werten von 3,5 mg/L (IQR: 1,5-7,9 mg/L) für NSTEMI, 3,8 mg/L (IQR: 2,1-7,3 mg/L) für STEMI, 3,9 mg/L (IQR: 2,1-7,3 mg/L) für UAP und 3,0 mg/L (2,3-6,4 mg/L) für andere Diagnosen. Maximale Werte zeigten sich nach 12-36 Stunden für alle Diagnosegruppen: 9,1 mg/L (IQR: 5,1-14,6 mg/L) für NSTEMI, 7,6 mg/L (IQR: 5,5-16,4 mg/L) für STEMI, 5,8 mg/L (IQR: 20-177 mg/L) und 85 mg/L (IQR: 51-189 mg/L) für andere Diagnosen. Dieser Verlauf zeigte sich unabhängig von der zugrundeliegenden Diagnose (Abbildung 1 in diesem Manuskript und Abbildung S2 in Publikation 3: [24]) und war nicht signifikant unterschiedlich in Abhängigkeit von der Diagnose ( $p=0,390$ ).

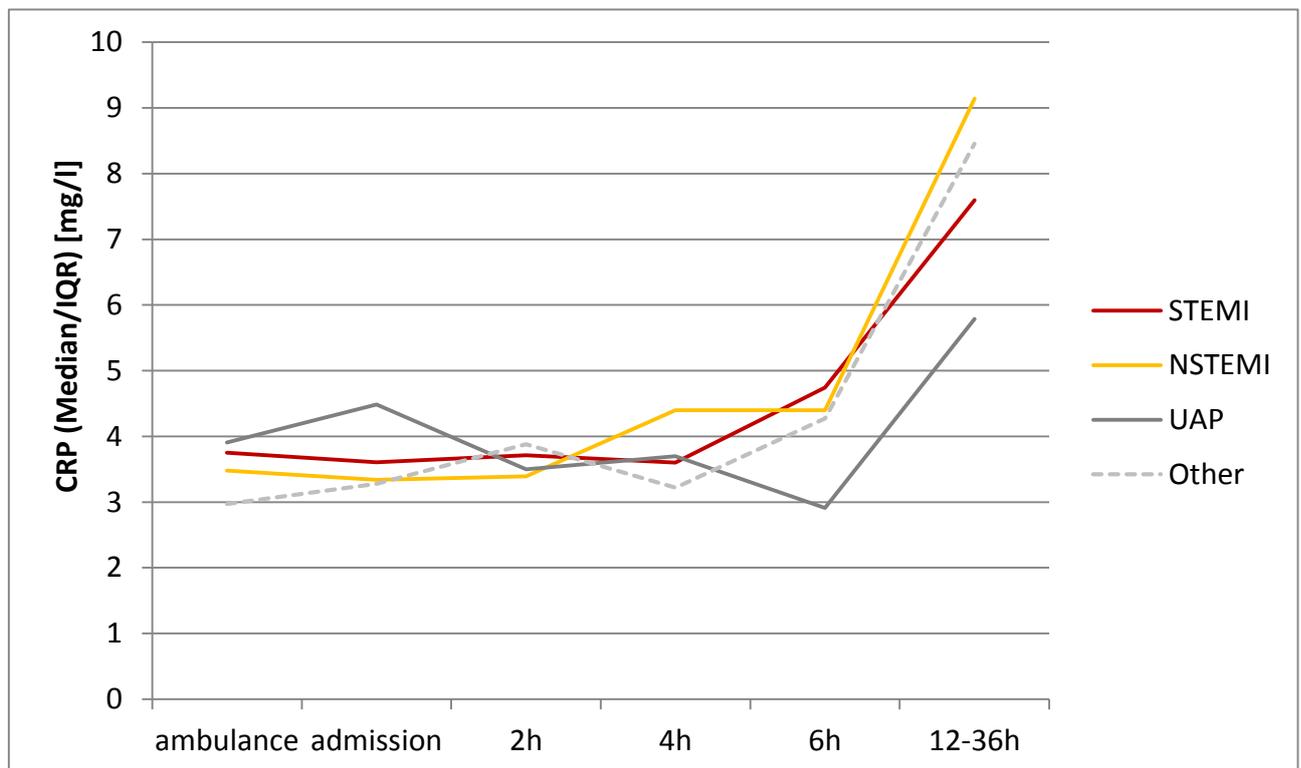


Abbildung 1: Mediane CRP-Werte zu verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Diagnosesubgruppen. Abkürzungen: CRP – C-reactive protein; NSTEMI – non ST-elevation myocardial infarction; STEMI – ST-elevation myocardial infarction; UAP – unstable angina pectoris

Die prognostische Wertigkeit der Biomarker ist in Abbildung 2 und 3 dargestellt. MACE traten in 20,4% (n=19) der Patienten während des initialen Aufenthaltes und in 65,5% (n=57) binnen 180 Tagen auf. Die CRP-Konzentration zeigte im Vergleich zu den Konzentrationen der ebenfalls prognostisch aussagekräftigen Biomarkern hsTnT und Copeptin den höchsten prognostischen Nutzen zur Vorhersage von MACE während des Indexaufenthaltes zu allen Blutentnahmezeitpunkten (Abbildung 2 in diesem Manuskript). Copeptin erzielte bessere Werte als CRP zur Vorhersage der 180-Tage Prognose zu den frühen Blutentnahmezeitpunkten, jedoch nicht nach 4 und 6 Stunden (Abbildung 3). Die hochsensitiv gemessene TnT-Konzentration zeigte den geringsten prognostischen Wert in dem untersuchten Patientenkollektiv. Die prognostische Vorhersagekraft von CRP für Ereignissen während des Indexaufenthaltes, wie auch nach 180 Tagen, war zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten stabil mit einer Fläche unter der ROC-Kurve zwischen 0,6 und 0,7.

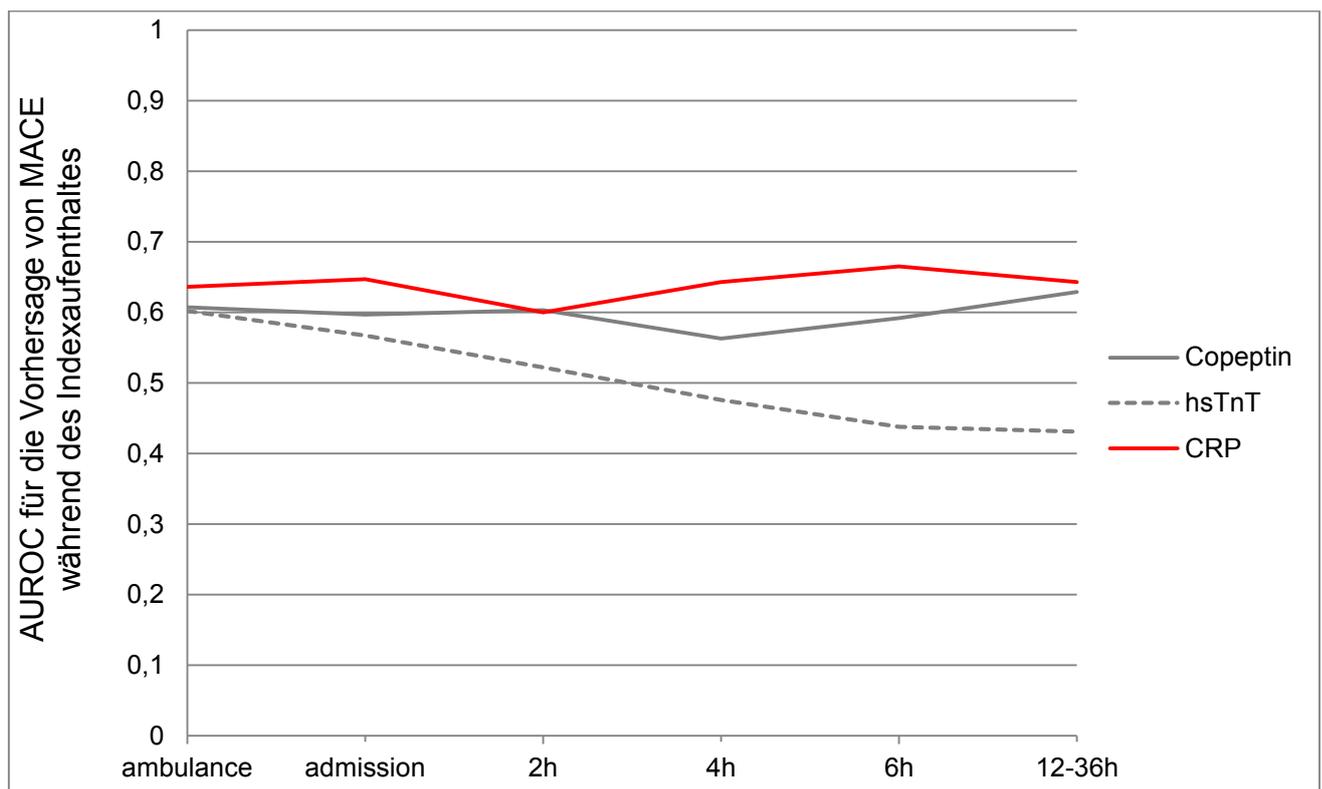


Abbildung 2: Fläche unter der ROC-Kurve zu verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten für hochsensitiv gemessenes Troponin, Copeptin und CRP für die Vorhersage von intra-hospitalen patientenbezogenen Endpunkten (MACE). Abkürzungen: AUROC – Fläche unter der Receiver operating characteristics Kurve; CRP – C-reactive protein; hsTnT – hochsensitiv gemessenes Troponin T; MACE – major adverse cardiac events.

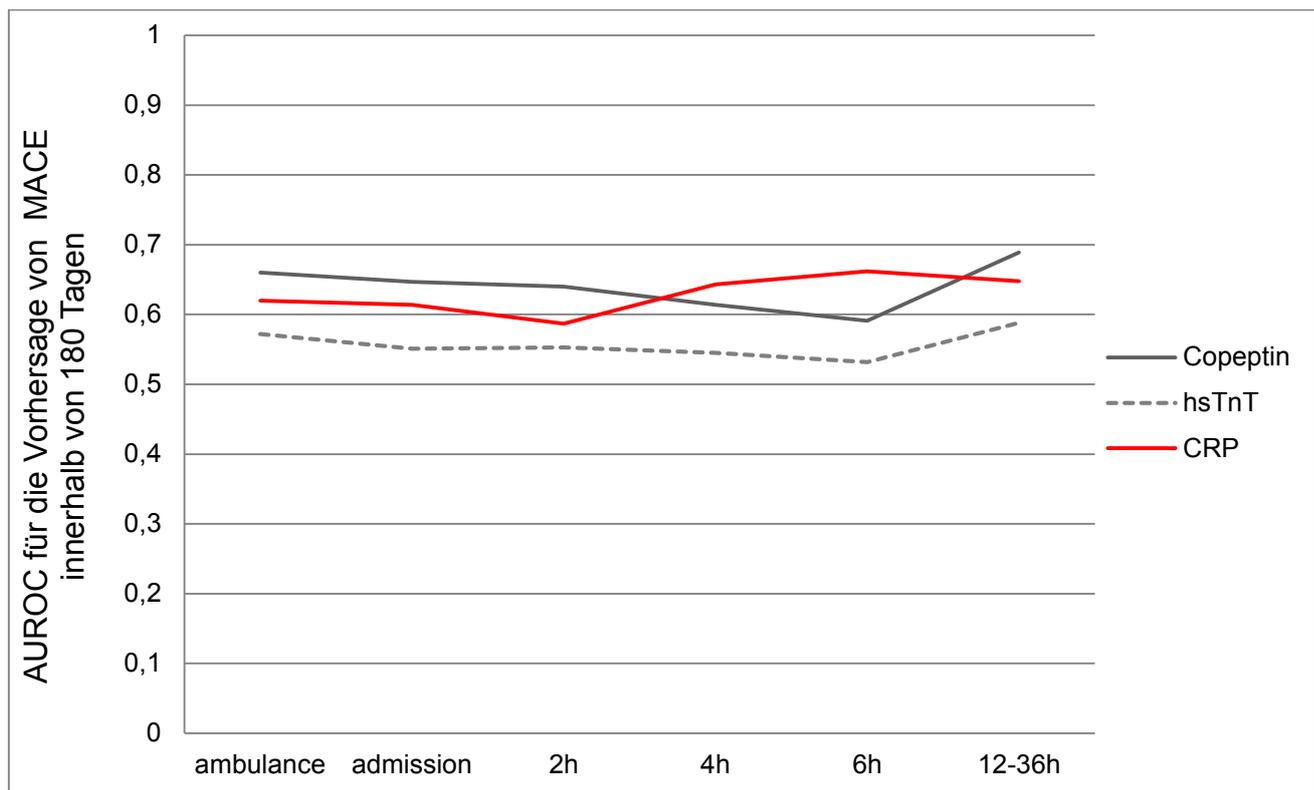


Abbildung 3: Fläche unter der ROC-Kurve zu verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten für hoch-sensitiv gemessenes Troponin, Copeptin und CRP für die Vorhersage von patientenbezogenen Endpunkten (MACE) innerhalb von 180 Tagen. Abkürzungen: AUROC – Fläche unter der Receiver operating characteristics Kurve; CRP – C-reactive protein; hsTnT – hochsensitiv gemessenes Troponin T; MACE – major adverse cardiac events.

# DISKUSSION

In den jeweiligen Teilprojekten dieser Arbeit wurde CRP als Risikomarker sowie potentielles pathogenes Agens (Risikofaktor) und therapeutisches Ziel im Rahmen eines akuten myokardialen Infarktgeschehens untersucht. In Teilprojekt 1 wurde ein porcines Tierversuchsmodell zur spezifischen Depletion von peripher zirkulierendem CRP nach akutem Myokardinfarkt entwickelt (Publikation 1) und der „Proof of Principle“ zur erfolgreichen Senkung des peripher zirkulierenden CRP sowie zur Reduktion der myokardialen Infarktgröße bei Tieren der experimentellen Gruppe erbracht (Publikation 2). In Teilprojekt 2 wurde die Kinetik von CRP innerhalb der ersten 12-36 Stunden nach Aufnahme bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt im Vergleich zu Patienten mit anderen Diagnosen dargestellt, sowie die prognostische Bedeutung von CRP untersucht (Publikation 3).

## INFLAMMATION UND „REMODELING“ NACH AKUTEM MYOKARDINFARKT

Eine Verbesserung der therapeutischen Strategien nach einem akuten Myokardinfarkt ist einerseits, insbesondere bei Patienten mit ST-Streckenhebungsinfarkt (STEMI), mit einer Reduktion der Letalität assoziiert. Andererseits konnte parallel ein Anstieg der Herzinsuffizienz als Folgeerkrankung des akuten Myokardinfarktes beobachtet werden [25 26]. Bei der Entstehung der postinfarziellen Herzinsuffizienz wird neben der Größe des infarzierten Bereiches, der Schweregrad des Infarktes und der Infarktlokalisierung unter anderem auch dem „Remodeling“, welches nach der Wiederherstellung des koronaren Blutflusses auftreten kann, große Bedeutung zugemessen [27]. Cohn et al. definierten „Remodeling“ als eine Veränderung der ventrikulären Struktur und Funktion, welche sich klinisch in einer „Dilatation der Ventrikel, einer myokardialen Hypertrophie und einer verschlechterten kardialen Funktion“ äußert [27 28]. Neben genannten Faktoren ist auch das Ausmaß der inflammatorischen Reaktion bzw. der inflammatorische Status des Patienten als ursächlich für das Auftreten solcher ungünstigen Prozesse beschrieben worden [27]:

Durch die ischämische Schädigung der Kardiomyozyten während des akuten Infarktes werden intrazelluläre Strukturen, intrazelluläre Makromoleküle, sowie Bestandteile geschädigter extrazellulärer Matrix, freigesetzt. Diese triggern eine unspezifische Immunreaktion mit dem Ziel der Entfernung von irreversibel geschädigten Zellbestandteilen im nekrotischen Bereich des infarzierten Areals [29]. Diese unter

pathophysiologischen Aspekten primär nützliche Reaktion trägt durch eine fehlende Limitation zur Entstehung des ventrikulären „Remodeling“ bei:

Bei überschießender oder verlängerter inflammatorischer Reaktion kommt es zusätzlich im Randbereich der Infarktzone zur Aktivierung von pro-apoptotischen Vorgängen und zur Infiltration mit inflammatorischen Zellen. Diese Vorgänge verursachen letztlich eine Schädigung oder fehlende Regeneration des noch vitalen oder lediglich reversibel geschädigten Myokardgewebes und tragen zur Vergrößerung des myokardialen Narbenbereiches über das ursprüngliche Infarktareal hinaus bei [29]. Dementsprechend ist das Ausmaß der lokalen inflammatorischen Reaktion maßgeblich für den Verlauf des „Remodeling“ im Anschluss an das akute Infarktgeschehen und mit der Größe einer sich entwickelnden Infarktnarbe assoziiert [17 30 31].

Zu den begünstigenden Faktoren für das Auftreten des „Remodeling“ und einer überschießenden inflammatorischen Reaktion zählen neben oben genannten auch das Auftreten mikrovaskulärer Obstruktion oder intramyokardialer Blutungen im Zusammenhang mit einer Reperfusionsschädigung [32]. Mikrovaskuläre Obstruktionen, welche während der Reperfusion auftreten, können durch Kapillarkollaps, die Embolie von Thrombusbestandteilen oder die Freisetzung von vasoaktiven oder inflammatorischen Mediatoren bedingt sein [33]. Das Ausmaß der Reperfusionsschädigung kann bis zu 50% der späteren Infarktnarbe ausmachen [33].

## C-REAKTIVES PROTEIN: RISIKOMARKER UND PATHOGENER FAKTOR

CRP ist im Rahmen von kardiovaskulären Ereignissen nicht nur als Prädiktor bekannt und zur Risikoeinschätzung empfohlen [15-17 34 35], sondern auch als möglicherweise ursächlich für die Progression der Atherosklerose und das Auftreten akuter Myokardinfarkte beschrieben worden [30 36]. In Publikation 3 konnte gezeigt werden, dass CRP bei Patienten mit Verdacht auf einen akuten Myokardinfarkt unabhängig von der zugrundeliegenden Diagnose nach 12-36 Stunden erhöhte Konzentrationen aufweist und zu allen Zeitpunkten prognostisches Potential hat [24]. Diese Ergebnisse decken sich mit anderen Studien zur CRP-Kinetik nach akutem Myokardinfarkt, welche ebenfalls einen Anstieg innerhalb der ersten Stunden nach Myokardinfarkt, sowie einen beginnenden Abfall der Konzentration nach ca. 72h beschrieben haben [37-41]. Ein CRP-Anstieg nach akutem Myokardinfarkt ist im Rahmen einer systemischen inflammatorischen Reaktion zu erklären: Durch die ischämische Schädigung im

infarzierten Areal kommt es zu einer lokalen inflammatorischen Reaktion, in deren Geschehen pro-inflammatorische Zytokine (Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ )) von Makrophagen ausgeschüttet werden. Durch die Stimulation peripher zirkulierenden IL-6 kommt es in der Leber zur Synthese und Ausschüttung von CRP als einem Akute Phase Protein. Als ein Molekül der Gruppe der kurzen Pentraxine, ist CRP in der Lage kalziumabhängig mit verschiedenen Liganden in Zelldetritus und bei ischämischer Schädigung frei werdenden Bestandteilen extrazellulärer Matrix zu interagieren [42 43]. Insbesondere eine Bindung an freiwerdende Phosphorylcholinreste von Phospholipiddoppelmembranen wird diskutiert. Nach der Bindung an, durch die ischämische Schädigung freigewordene, Liganden für CRP kommt es durch eine Konformitätsänderung zur Aktivierung des Komplementsystems [16 44-47]. Die CRP-vermittelte Komplementaktivierung initiiert nun unter anderem die Einwanderung von Monozyten und neutrophilen Granulozyten in den infarzierten Bereich [16 30 31 45 48]. In Studien wurde beobachtet, dass die Höhe des peripher zirkulierenden CRP mit der Infarktgröße, persistierenden mikrovaskulären Obstruktion und dem Outcome der Patienten korreliert [13 45]. Haahr-Pedersen et al. konnten zeigen, dass das durch CRP vermittelte Ausmaß der Komplementaktivierung nicht nur mit der Infarktgröße, sondern ebenfalls mit der kardialen Funktion bei Patienten nach PCI assoziiert war [44].

## C-REAKTIVES PROTEIN ALS TARGET THERAPEUTISCHER INTERVENTIONEN

Tierexperimentelle Studien demonstrierten eine Vergrößerung des initialen myokardialen und zerebralen Infarktareas durch erhöhte CRP-Konzentrationen nach akuter Ischämie und Reperfusion [12 18-21] und schlussfolgerten einen kausalen Einfluss von CRP auf die Größe einer entstehenden Infarktnarbe. Vor diesem Hintergrund wurde auch die spezifische Inhibition der CRP-vermittelten Komplementaktivierung nach akutem Myokardinfarkt zum Ziel therapeutischer Interventionen. Pepys et al. administrierten 1,6-bis(Phosphocholine)-Hexan (bis(PC)-H) vor Induktion eines akuten Myokardinfarktes und Verabreichung von humanem CRP in Ratten um CRP spezifisch zu inhibieren. Der Infarktbereich nach 5 Tagen war bei behandelten Tieren im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant verkleinert [20]. Weitere tierexperimentelle Arbeiten an Ratten zeigten, dass die Verabreichung von Cyclophosphamid während einer 30-minütigen myokardialen Ischämie ebenfalls zur

einer signifikanten Größenreduktion der Infarkt Narbe führte und zusätzlich eine signifikante Verbesserung der linksventrikulären Funktion im Vergleich zu einer Kontrollgruppe beobachtet werden konnte [49]. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Verabreichung von Cyclophosphamid geeignet sei, das Ausmaß einer CRP-vermittelten Reperfusionsschädigung zu reduzieren. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass sowohl ischämische, als auch chemische, akute und späte Präkonditionierung vor Reperfusion dazu beiträgt, CRP effektiv zu senken und das Ausmaß der CRP-Reduktion wiederum mit der Konzentration kardialer Enzyme, der Infarktgröße und der Mortalität der Versuchstiere korreliert [20 21 49].

Im Rahmen eigener wissenschaftlichen Arbeiten konnte ein Tierversuch zur spezifischen CRP-Depletion in einem porcinen Infarktmodell etabliert werden (Publikation 1; [22]). Ein porcines Infarktmodell wurde gewählt, da diese Großtiermodelle durch die Vergleichbarkeit des kardiovaskulären Systems zur translationalen Erforschung kardiovaskulärer Erkrankungen gut etabliert sind [50] und zudem die pathophysiologische Funktion von CRP im Rahmen der unspezifischen Immunreaktion zwischen Mensch und Schwein vergleichbar ist [51]. Des Weiteren bot das Großtiermodell im Schwein durch das höhere Blutvolumen die Möglichkeit, CRP durch ein extrakorporales Plasmaphereseverfahren spezifisch abzureichern. Dennoch ergaben sich hinsichtlich des Versuchsprotokolls modellbedingte Limitationen: So konnte eine Plasmapheresebehandlung der Tiere auf Grund des Anästhesieregimes erst 18 Stunden nach Induktion des akuten Myokardinfarktes durchgeführt werden und ein ursprünglich geplanter dritter Plasmapheresezyklus wurde von den Versuchstieren nicht toleriert. Trotz dieser Einschränkungen konnte eine erfolgreiche Depletion von CRP gezeigt werden. Neben der erfolgreichen Depletion von CRP in mittels spezifischer Plasmapherese behandelten Tieren konnte zusätzlich ein vorteilhafter Effekt dieser Behandlung auf das myokardiale Infarktareal sowie die kardiale Funktion demonstriert werden (Publikation 2, [23]). Die Ergebnisse bisheriger Kleintiermodelle zur Auswirkung einer Blockade von CRP auf die Größe des Infarkt Narbenareals konnten somit auch für das Großtiermodell und das von uns eingesetzte Verfahren einer CRP-Depletion mittels Plasmapherese reproduziert werden [20 21 49]. CRP wurde durch das eingesetzte Verfahren nicht vollständig eliminiert, jedoch zu beiden Behandlungszyklen im Mittel signifikant reduziert. Dies erscheint insbesondere vor dem Hintergrund der pathophysiologischen Rolle von CRP im postinfarziellen

Myokardgeschehen sinnvoll, da eine vollständige Elimination von CRP und damit eine mögliche Blockade der initialen Immunreaktion zu einer verlängerten oder verspäteten inflammatorischen Reaktion führen und damit die nützliche Umstrukturierung des Infarktareals zu einer bindegewebigen Narbe verhindern oder verzögern könnte. In diesem Sinne könnte auch die vollständige Depletion von CRP zur Entstehung von „Remodeling“ beitragen [27]. Im Rahmen der durchgeführten Versuche ergaben sich erste Hinweise darauf, dass das angewandte Therapieverfahren zusätzlich zu einer veränderten Narbenmorphologie mit einer im Vergleich zu unbehandelten Tieren aufgelockerten Narbenstruktur beitragen könnte. Jedoch sind diese Ergebnisse durch die geringe Fallzahl, eine hohe Variabilität und fehlende histopathologische Untersuchungen limitiert.

Weitere Limitationen hinsichtlich des gewählten Modells ergeben sich vor allem aus der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Patienten und aus der mangelnden Möglichkeit einer Verblindung der Versuche. Die Übertragbarkeit auf den Menschen ist insbesondere durch den Umstand eingeschränkt, dass es sich um ein Infarktmodell in gesunden, jungen Tieren mit naiven Koronargefäßen handelt. Patienten mit akutem Myokardinfarkt und insbesondere mit STEMI sind in der Regel durch Risikofaktoren und Komorbiditäten vorbelastet [52 53]. Des Weiteren ließen sich in dem gewählten Versuchsmodell keine, in Patienten mit nativem Myokardinfarkt jedoch prävalente, atherosklerotischen Veränderungen der Koronargefäße und damit bereits vorliegende inflammatorische Prozesse abbilden. Im Gegenteil wurden die Tiere hinsichtlich möglicherweise vorliegender akuter Infektionen vorbehandelt um die Vergleichbarkeit der Versuchsgruppen untereinander zu gewährleisten, so dass bei den Versuchstieren zu Beginn der Versuche explizit keine erhöhte Inflammation vorlag.

Zukünftige Forschung sollte auf den Zeitpunkt einer antiinflammatorischen Therapie nach Myokardinfarkt, sowie die Identifikation einer vulnerablen Patientenpopulation fokussieren. Erste Ergebnisse zeigen, dass anhaltend hohe Konzentrationen von MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) geeignet sein könnten, Patienten zu identifizieren, die von einer intensivierten antiinflammatorischen Therapie und damit möglicherweise von einer spezifischen CRP-Plasmapherese profitieren [54 55].

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

CRP ist ein guter Risikomarker zu allen Zeitpunkten im Postinfarktgeschehen und ein potentieller Risikofaktor in der Entstehung des kardialen „Remodeling“ und damit ebenfalls für ein schlechtes Outcome von Patienten. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Tierversuche konnten zeigen, dass eine spezifische Depletion von CRP mittels Plasmapherese im Großtiermodell am Schwein machbar und mit einer Verkleinerung der myokardialen Infarktnarbe im Vergleich zu Ausgangswerten assoziiert ist (Proof of Principle). Therapeutische Maßnahmen zu einer zielgerichteten Reduktion von CRP könnten auf Basis unserer Ergebnisse geeignet sein, die Infarktgröße nach stattgehabtem Myokardinfarkt zu reduzieren und damit ggf. das Outcome der Patienten positiv zu beeinflussen. In zukünftigen klinischen Studien an Patienten mit akutem Myokardinfarkt und an größeren Fallzahlen sollte dieser Zusammenhang, insbesondere auch im Vergleich zu einer nur nach Standardtherapie behandelten Gruppe, bestätigt werden.

## LITERATURVERZEICHNIS

1. Bundesamt S. Todesursachen in Deutschland 2013. Fachserie 12 2014; **Reihe 4**
2. Bundesamt S. Krankheitskosten 2002, 2004, 2006, 2008 Fachserie 12 2010; **Reihe 7.2**
3. Bundesamt S. Grunddaten der Krankenhäuser 2013. Fachserie 12 2014;**6.1.1**
4. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, et al. [ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)]. *Giornale italiano di cardiologia* 2012;**13**(3):171-228 doi: 10.1714/1038.11322[published Online First: Epub Date]].
5. Task Force on the management of STsegmentESoC, Steg PG, James SK, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European heart journal* 2012;**33**(20):2569-619 doi: 10.1093/eurheartj/ehs215[published Online First: Epub Date]].
6. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, et al. [2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization]. *Kardiologia polska* 2014;**72**(12):1253-379 doi: 10.5603/KP.2014.0224[published Online First: Epub Date]].
7. Redel A, Jazbutyte V, Smul TM, et al. Impact of ischemia and reperfusion times on myocardial infarct size in mice in vivo. *Experimental biology and medicine* 2008;**233**(1):84-93 doi: 10.3181/0612-RM-308[published Online First: Epub Date]].
8. Berger PB, Ellis SG, Holmes DR, Jr., et al. Relationship between delay in performing direct coronary angioplasty and early clinical outcome in patients with acute myocardial infarction: results from the global use of strategies to open occluded arteries in Acute Coronary Syndromes (GUSTO-IIb) trial. *Circulation* 1999;**100**(1):14-20
9. Francone M, Bucciarelli-Ducci C, Carbone I, et al. Impact of primary coronary angioplasty delay on myocardial salvage, infarct size, and microvascular damage in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: insight from cardiovascular magnetic resonance. *Journal of the American College of Cardiology* 2009;**54**(23):2145-53 doi: 10.1016/j.jacc.2009.08.024[published Online First: Epub Date]].

10. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, et al. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977;**56**(5):786-94
11. McAlindon E, Bucciarelli-Ducci C, Suleiman MS, et al. Infarct size reduction in acute myocardial infarction. *Heart* 2015;**101**(2):155-60 doi: 10.1136/heartjnl-2013-304289[published Online First: Epub Date]].
12. Barrett TD, Hennan JK, Marks RM, et al. C-reactive-protein-associated increase in myocardial infarct size after ischemia/reperfusion. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2002;**303**(3):1007-13 doi: 10.1124/jpet.102.040600[published Online First: Epub Date]].
13. Orn S, Manhenke C, Ueland T, et al. C-reactive protein, infarct size, microvascular obstruction, and left-ventricular remodelling following acute myocardial infarction. *European heart journal* 2009;**30**(10):1180-6 doi: 10.1093/eurheartj/ehp070[published Online First: Epub Date]].
14. Vilahur G, Badimon L. Biological actions of pentraxins. *Vascular pharmacology* 2015 doi: 10.1016/j.vph.2015.05.001[published Online First: Epub Date]].
15. Casas JP, Shah T, Hingorani AD, et al. C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review. *Journal of internal medicine* 2008;**264**(4):295-314 doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.02015.x[published Online First: Epub Date]].
16. Nijmeijer R, Lagrand WK, Lubbers YT, et al. C-reactive protein activates complement in infarcted human myocardium. *The American journal of pathology* 2003;**163**(1):269-75 doi: 10.1016/S0002-9440(10)63650-4[published Online First: Epub Date]].
17. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *The Journal of clinical investigation* 2003;**111**(12):1805-12 doi: 10.1172/JCI18921[published Online First: Epub Date]].
18. Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, et al. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *The Journal of experimental medicine* 1999;**190**(12):1733-40
19. Gill R, Kemp JA, Sabin C, et al. Human C-reactive protein increases cerebral infarct size after middle cerebral artery occlusion in adult rats. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow*

- and Metabolism 2004;**24**(11):1214-8 doi:  
10.1097/01.WCB.0000136517.61642.99[published Online First: Epub Date]].
20. Pepys MB, Hirschfield GM, Tennent GA, et al. Targeting C-reactive protein for the treatment of cardiovascular disease. *Nature* 2006;**440**(7088):1217-21 doi: 10.1038/nature04672[published Online First: Epub Date]].
21. Valtchanova-Matchouganska A, Gondwe M, Nadar A. The role of C-reactive protein in ischemia/reperfusion injury and preconditioning in a rat model of myocardial infarction. *Life sciences* 2004;**75**(8):901-10 doi: 10.1016/j.lfs.2003.12.029[published Online First: Epub Date]].
22. Slagman AC, Bock C, Abdel-Aty H, et al. Specific removal of C-reactive protein by apheresis in a porcine cardiac infarction model. *Blood purification* 2011;**31**(1-3):9-17 doi: 10.1159/000320763[published Online First: Epub Date]].
23. Sheriff A, Schindler R, Vogt B, et al. Selective apheresis of C-reactive protein: a new therapeutic option in myocardial infarction? *Journal of clinical apheresis* 2015;**30**(1):15-21 doi: 10.1002/jca.21344[published Online First: Epub Date]].
24. Slagman A, Searle J, Muller C, et al. Temporal Release Pattern of Copeptin and Troponin T in Patients with Suspected Acute Coronary Syndrome and Spontaneous Acute Myocardial Infarction. *Clinical chemistry* 2015;**61**(10):1273-82 doi: 10.1373/clinchem.2015.240580[published Online First: Epub Date]].
25. Lewis EF, Moye LA, Rouleau JL, et al. Predictors of late development of heart failure in stable survivors of myocardial infarction: the CARE study. *Journal of the American College of Cardiology* 2003;**42**(8):1446-53
26. Ibanez B, Heusch G, Ovize M, et al. Evolving therapies for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of the American College of Cardiology* 2015;**65**(14):1454-71 doi: 10.1016/j.jacc.2015.02.032[published Online First: Epub Date]].
27. Frangogiannis NG. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. *Circulation research* 2012;**110**(1):159-73 doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.243162[published Online First: Epub Date]].
28. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *Journal of the American College of Cardiology* 2000;**35**(3):569-82

29. Fordjour PA, Wang Y, Shi Y, et al. Possible mechanisms of C-reactive protein mediated acute myocardial infarction. *European journal of pharmacology* 2015;**760**:72-80 doi: 10.1016/j.ejphar.2015.04.010[published Online First: Epub Date]].
30. Antonopoulos AS, Margaritis M, Lee R, et al. Statins as anti-inflammatory agents in atherogenesis: molecular mechanisms and lessons from the recent clinical trials. *Current pharmaceutical design* 2012;**18**(11):1519-30
31. Niessen HW, Krijnen PA, Visser CA, et al. Type II secretory phospholipase A2 in cardiovascular disease: a mediator in atherosclerosis and ischemic damage to cardiomyocytes? *Cardiovascular research* 2003;**60**(1):68-77
32. Ito H, Maruyama A, Iwakura K, et al. Clinical implications of the 'no reflow' phenomenon. A predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation* 1996;**93**(2):223-8
33. Frohlich GM, Meier P, White SK, et al. Myocardial reperfusion injury: looking beyond primary PCI. *European heart journal* 2013;**34**(23):1714-22 doi: 10.1093/eurheartj/ehs090[published Online First: Epub Date]].
34. Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, et al. Genetically elevated C-reactive protein and ischemic vascular disease. *The New England journal of medicine* 2008;**359**(18):1897-908 doi: 10.1056/NEJMoa0707402[published Online First: Epub Date]].
35. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2010;**122**(25):2748-64 doi: 10.1161/CIR.0b013e3182051bab[published Online First: Epub Date]].
36. Strang F, Schunkert H. C-reactive protein and coronary heart disease: all said--is not it? *Mediators of inflammation* 2014;**2014**:757123 doi: 10.1155/2014/757123[published Online First: Epub Date]].
37. Habib SS, Kurdi MI, Al Aseri Z, et al. CRP levels are higher in patients with ST elevation than non-ST elevation acute coronary syndrome. *Arquivos brasileiros de cardiologia* 2011;**96**(1):13-7
38. Piero Montorsi MV, Maria Antonietta Dessanai. Temporal profile of protein release in myocardial infarction. *Heart Metab.* 2009;**43**:31-35

39. Kushner I, Broder ML, Karp D. Control of the acute phase response. Serum C-reactive protein kinetics after acute myocardial infarction. *The Journal of clinical investigation* 1978;**61**(2):235-42 doi: 10.1172/JCI108932[published Online First: Epub Date]].
40. Liebetrau C, Hoffmann J, Dorr O, et al. Release kinetics of inflammatory biomarkers in a clinical model of acute myocardial infarction. *Circulation research* 2015;**116**(5):867-75 doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304653[published Online First: Epub Date]].
41. Dimitrijevic O, Stojcevski BD, Ignjatovic S, et al. Serial measurements of C-reactive protein after acute myocardial infarction in predicting one-year outcome. *International heart journal* 2006;**47**(6):833-42
42. Vilahur G, Badimon L. Biological actions of pentraxins. *Vascular pharmacology* 2015;**73**:38-44 doi: 10.1016/j.vph.2015.05.001[published Online First: Epub Date]].
43. Gershov D, Kim S, Brot N, et al. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *The Journal of experimental medicine* 2000;**192**(9):1353-64
44. Haahr-Pedersen S, Bjerre M, Flyvbjerg A, et al. Level of complement activity predicts cardiac dysfunction after acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *The Journal of invasive cardiology* 2009;**21**(1):13-9
45. Nijmeijer R, Krijnen PA, Assink J, et al. C-reactive protein and complement depositions in human infarcted myocardium are more extensive in patients with reinfarction or upon treatment with reperfusion. *European journal of clinical investigation* 2004;**34**(12):803-10 doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01425.x[published Online First: Epub Date]].
46. Mihlan M, Blom AM, Kupreishvili K, et al. Monomeric C-reactive protein modulates classic complement activation on necrotic cells. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2011;**25**(12):4198-210 doi: 10.1096/fj.11-186460[published Online First: Epub Date]].
47. Deban L, Jaillon S, Garlanda C, et al. Pentraxins in innate immunity: lessons from PTX3. *Cell and tissue research* 2011;**343**(1):237-49 doi: 10.1007/s00441-010-1018-0[published Online First: Epub Date]].

48. Baidoshvili A, Nijmeijer R, Lagrand WK, et al. Localisation of C reactive protein in infarcted tissue sites of multiple organs during sepsis. *Journal of clinical pathology* 2002;**55**(2):152-3
49. Wang QQ, Qiu YG, Zhu YJ, et al. Cyclophosphamide protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats: one of the therapeutic targets is high sensitivity C-reactive protein. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2009;**137**(4):991-6 doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.04.033[published Online First: Epub Date]].
50. McCall FC, Telukuntla KS, Karantalis V, et al. Myocardial infarction and intramyocardial injection models in swine. *Nature protocols* 2012;**7**(8):1479-96 doi: 10.1038/nprot.2012.075[published Online First: Epub Date]].
51. Duchene DA, Gallagher BL, Ratliff TL, et al. Systemic and cell-specific immune response to laparoscopic and open nephrectomy in porcine model. *Journal of endourology / Endourological Society* 2008;**22**(1):113-20 doi: 10.1089/end.2007.9859[published Online First: Epub Date]].
52. Dilip C, Cholamugath S, Baby M, et al. Prevalence of cardiovascular risk factors and management practices of acute coronary syndrome in a tertiary care hospital. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology* 2015;**26**(6):547-54 doi: 10.1515/jbcpp-2014-0055[published Online First: Epub Date]].
53. Kontos MC, Scirica BM, Chen AY, et al. Cardiac arrest and clinical characteristics, treatments and outcomes among patients hospitalized with ST-elevation myocardial infarction in contemporary practice: A report from the National Cardiovascular Data Registry. *American heart journal* 2015;**169**(4):515-22 e1 doi: 10.1016/j.ahj.2015.01.010[published Online First: Epub Date]].
54. de Lemos JA, Morrow DA, Blazing MA, et al. Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2007;**50**(22):2117-24 doi: 10.1016/j.jacc.2007.06.057[published Online First: Epub Date]].
55. Frangogiannis NG. The prognostic value of monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 in acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology* 2007;**50**(22):2125-7 doi: 10.1016/j.jacc.2007.08.027[published Online First: Epub Date]].

## ANTEILSERKLÄRUNG AN DEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN

Frau Anna Slagman ist seit 2008 als Doktorandin und seit 2010 als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Arbeitsbereich Notfallmedizin der Charité unter Leitung von Prof. Dr. med. Martin Möckel tätig. Frau Anna Slagman war im Rahmen ihrer Doktorarbeit wesentlich an der Planung, Durchführung, Auswertung und Veröffentlichung der Versuche, welche als Grundlage für Publikation 1 und 2 dienten, beteiligt. Im Rahmen ihrer wissenschaftlichen Tätigkeit hat Frau Anna Slagman weitere Manuskripte federführend erstellt und zur Publikation in internationalen Fachzeitschriften erfolgreich eingereicht. Auch als Koautorin war sie umfassend an der Erstellung und Revision von Manuskripten sowohl im Rahmen Ihrer Doktorarbeit, wie auch im Rahmen ihrer Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin beteiligt. Frau Slagman war zudem in weiteren tierexperimentellen Projekten und Workshops tätig.

Anna Slagman hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

### **Publikation 1:**

Anna Slagman, Christopher Bock, Hassan Abdel-Aty, Birgit Vogt, Frank Gebauer, Gunnar Janelt, Franziska Wohlgemuth, Rene Morgenstern, Gülcan Yapici, Astrid Puppe, Diethelm Modersohn, Dörte Mans, Timo Jerichow, Sascha Ott, Rudolf Kunze, Wieland Schrödl, Christina Janko, Martin Hermann, Joachim R. Kalden, Peter Kern, Hans Parsch, Michael Kirschfink, Jeanette Schulz-Menger, Rainer Röttgen, Juliane Unger, Ulrich Frei, Ralf Schindler, Martin Möckel, Ahmed Sheriff, „*Specific Removal of C-Reactive Protein by Apheresis in a Porcine Cardiac Infarction Model*“, Blood Purification, 2010 – **Impact Faktor: 1,521**

Beitrag im Einzelnen: Etablierung der für die Tierversuche verwendeten Methodik, verantwortlich für die Planung der praktischen Durchführung der Tierversuche; Mitarbeit bei der Auswertung und Interpretation der erhobenen Daten; Kritische Revision des Manuskriptes

## **Publikation 2:**

Ahmed Sheriff, Ralf Schindler, Birgit Vogt, Hassan Abdel-Aty, Juliane Unger, Christopher Bock, Frank Gebauer, Anna Slagman, Timo Jerichow, Dörte Mans, Gülcan Yapici, Gunnar Janelt, Malte Schröder, Rudolf Kunze, Martin Möckel, "*Selective Apheresis of C-Reactive Protein: A New Therapeutic Option in Myocardial Infarction*", Journal of Clinical Apheresis, 2015 – **Impact Faktor: 1,791**

Beitrag im Einzelnen: Etablierung, Planung und Durchführung der Tierversuche in Zusammenarbeit mit weiteren Mitarbeitern der Charité Arbeitsgruppen unter Leitung von Dr. Ahmed Sheriff, Prof. Dr. med. Ralf Schindler und Prof. Dr. med. Martin Möckel; mitverantwortlich für die Auswertung und Interpretation der erhobenen Daten; intensive kritische Revision des Manuskriptes

## **Publikation 3:**

Anna Slagman, Julia Searle, Christian Müller, Martin Möckel, "*Temporal Release Pattern of Copeptin and Troponin T in Patient with Suspected ACS and Spontaneous Acute Myocardial Infarction*", Clinical Chemistry, 2015 – **Impact Faktor: 7,911**

Beitrag im Einzelnen: Aufbereitung der Daten, Auswertung und Interpretation der Daten, Verfassen der Publikation, Corresponding Author

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

---

## VORGELEGTE PUBLIKATIONEN

### **Publikation 1:**

Anna Slagman, Christopher Bock, Hassan Abdel-Aty, Birgit Vogt, Frank Gebauer, Gunnar Janelt, Franziska Wohlgemuth, Rene Morgenstern, Gülcan Yapici, Astrid Puppe, Diethelm Modersohn, Dörte Mans, Timo Jerichow, Sascha Ott, Rudolf Kunze, Wieland Schrödl, Christina Janko, Martin hermann, Joachim R. Kalden, Peter Kern, Hans Parsch, Michael Kirschfink, Jeanette Schulz-Menger, Rainer Röttgen, Juliane Unger, Ulrich Frei, Ralf Schindler, Martin Möckel, Ahmed Sheriff, *Specific Removal of C-Reactive Protein by Apheresis in a Porcine Cardiac Infarction Model*, Blood Purification, 2010 – **Impact Faktor: 1,521**

<http://dx.doi.org/10.1159/000320763>

### **Publikation 2:**

Ahmed Sheriff, Ralf Schindler, Birgit Vogt, Hassan Abdel-Aty, Juliane Unger, Christopher Bock, Frank Gebauer, Anna Slagman, Timo Jerichow, Dörte Mans, Gülcan Yapici, Gunnar Janelt, Malte Schröder, Rudolf Kunze, Martin Möckel, *Selective Apheresis of C-Reactive Protein: A New Therapeutic Option in Myocardial Infarction*, Journal of Clinical Apheresis, 2015 – **Impact Faktor: 1,791**

<http://dx.doi.org/10.1002/jca.21344>

### **Publikation 3:**

Anna Slagman, Julia Searle, Christian Müller, Martin Möckel, *Temporal Release Pattern of Copeptin and Troponin T in Patient with Suspected ACS and Spontaneous Acute Myocardial Infarction*, Clinical Chemistry, 2015 – **Impact Faktor: 7,911**

<http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2015.240580>

# CURRICULUM VITAE

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

## PUBLIKATIONEN

Veröffentlichungen, Vorträge und Poster

### VERÖFFENTLICHUNGEN:

*(peer reviewed)*

**A. Slagman**, J. Searle, C. Müller, M. Möckel (2015). „Temporal Release Pattern of Copeptin and Troponin T in Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome and Spontaneous Acute Myocardial Infarction“, Clin Chem; DOI 10.1373/clinchem.2015.240580 – in press

**A. Slagman**, J. Searle, J. O. Vollert, C. Müller, R. Muller R. Somasundaram, M. Möckel. „Prediction of in-hospital mortality using routine parameters in unselected non-surgical Emergency Department patients: The EPICS-score – an observational study, Notfall- und Rettungsmedizin; DOI: 10.1007/s10049-015-0055-3 – in press

J. Searle, R. Müller, **A. Slagman**, C. Schäfer, T. Lindner, R. Somasundaram, U. Frei, M. Möckel (2015). "Überfüllung der Notaufnahmen." Notfall + Rettungsmedizin **4**: 306-315.

M. Möckel, R. Müller, J. Searle, **A. Slagman**, B. De Bruyne, P. Serruys, G. Weisz, K. Xu, F. Holert, C. Müller, A. Maehara, G. W. Stone (2015). "Usefulness of Beta2-microglobulin as a Predictor of All-cause and Non-culprit Lesionrelated Cardiovascular Events in Acute Coronary Syndromes (From the PROSPECT Study)." The American Journal of Cardiology.

M. Mockel, J. Searle, C. Hamm, **A. Slagman**, S. Blankenberg, K. Huber, H. Katus, C. Liebetrau, C. Muller, R. Muller, P. Peitsmeyer, J. von Recum, M. Tajsic, J. O. Vollert and E. Giannitsis (2015). "Early discharge using single cardiac troponin and copeptin testing in patients with suspected acute coronary syndrome (ACS): a randomized, controlled clinical process study." Eur Heart J **36**(6): 369-376.

M. Mockel, J. Searle, O. Hartmann, S. D. Anker, W. F. Peacock, A. H. Wu, A. Maisel, B. W. group, **A. Slagman**, J. O. Vollert, J. Papassotiriou, I. Anand, R. Christenson, L. B. Daniels, G. S. Filippatos, C. Hogan, N. Morgenthaler, C. Mueller, S. X. Neath, L. Ng, R. Nowak, M. Richards, S. Di Somma and P. Ponikowski (2013). "Mid-regional pro-adrenomedullin improves disposition strategies for patients with acute dyspnoea: results from the BACH trial." Emerg Med J **30**(8): 633-637.

M. Mockel, J. Searle, R. Muller, **A. Slagman**, H. Storchmann, P. Oestereich, W. Wyrwich, A. Ale-Abaei, J. O. Vollert, M. Koch and R. Somasundaram (2013). "*Chief complaints in medical emergencies: do they relate to underlying disease and outcome? The Charite Emergency Medicine Study (CHARITEM).*" Eur J Emerg Med **20**(2): 103-108.

J. Searle, M. Mockel, S. Gwosc, S. A. Datwyler, F. Qadri, G. I. Albert, F. Holert, A. Isbruch, L. Klug, D. N. Muller, R. Dechend, R. Muller, J. O. Vollert, **A. Slagman**, C. Mueller and F. Herse (2011). "*Heparin strongly induces soluble fms-like tyrosine kinase 1 release in vivo and in vitro--brief report.*" Arterioscler Thromb Vasc Biol **31**(12): 2972-2974.

J. Searle, **A. Slagman**, S. Gwosc, J. O. Vollert, F. Holert, C. Muller, R. Muller and M. Mockel (2012). "*Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFLT-1) predicts post-percutaneous coronary intervention (PCI) myocardial infarction (MI type 4a).*" Biomarkers **17**(8): 730-737.

J. Searle, **A. Slagman**, W. Maass and M. Mockel (2013). "*Cardiac monitoring in patients with electrical injuries. An analysis of 268 patients at the Charite Hospital.*" Dtsch Arztebl Int **110**(50): 847-853.

J. Searle, **A. Slagman**, M. Stockburger, J. O. Vollert, C. Muller, R. Muller and M. Mockel (2014). "*Use of copeptin in emergency patients with cardiac chief complaints.*" Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.

A. Sheriff, R. Schindler, B. Vogt, H. Abdel-Aty, J. K. Unger, C. Bock, F. Gebauer, **A. Slagman**, T. Jerichow, D. Mans, G. Yapici, G. Janelt, M. Schroder, R. Kunze and M. Mockel (2015). "*Selective apheresis of C-reactive protein: a new therapeutic option in myocardial infarction?*" J Clin Apher **30**(1): 15-21.

**A. Slagman**, J. Searle, J. O. Vollert, H. Storchmann, D. M. Buschenfelde, J. von Recum, D. Vlasny, A. Ale-Abaei, M. Koch, C. Muller, R. Muller, R. Somasundaram and M. Mockel (2015). "*Sex differences of troponin test performance in chest pain patients.*" Int J Cardiol **187**: 246-251.

**A. Slagman**, C. Bock, H. Abdel-Aty, B. Vogt, F. Gebauer, G. Janelt, F. Wohlgemuth, R. Morgenstern, G. Yapici, A. Puppe, D. Modersohn, D. Mans, T. Jerichow, S. Ott, R. Kunze, W. Schrod, C. Janko, M. Hermann, J. R. Kalden, P. Kern, H. Parsch, M. Kirschfink, J. Schulz-Menger, R. Rottgen, J. K. Unger, U. Frei, R. Schindler, M. Mockel and A. Sheriff (2011). "*Specific removal of C-reactive protein by apheresis in a porcine cardiac infarction model.*" Blood Purif **31**(1-3): 9-17.

J. von Recum, J. Searle, **A. Slagman**, J. O. Vollert, M. Endres, M. Mockel and M. Ebinger (2015). "*Copeptin: Limited Usefulness in Early Stroke Differentiation?*" Stroke Res Treat **2015**: 768401.

T. Lindner, **A. Slagman**, A. Senkin, M. Möckel, J. Searle (2015). „*Medical History of Elderly Patients in the Emergency Setting: Not an Easy Point-of-Care Diagnostic Marker*“ Emerg Med International **2015**: 490947

M. Vafaie\*, **A. Slagman\***, M. Möckel, C. Hamm, K. Huber, C. Müller, J. Vollert, S. Blankenberg, H. Katus, C. Liebetrau, E. Giannitsis, J. Searle (2015): "*Prognostic value of undetectable hs troponin T in suspected acute coronary syndrome*" Am J Med **2015**: 10.1016 \***Authors contributed equally**

J. Frick, **A. Slagman**, L. Lomberg, J. Searle, M. Möckel, T. Lindner (2015): "*Security Infrastructure in Emergency Departments: Results from an online survey of DGINA members*"

M. Schmiedhofer, J. Searle, **A. Slagman**, M. Möckel (2015): „*Inanspruchnahme zentraler Notaufnahmen: Qualitative Erhebung der Motivation von Patientinnen und Patienten mit nichtdringlichem Behandlungsbedarf*“

## VORTRÄGE

*Temporal release pattern of copeptin and troponin in patients with suspected ACS and spontaneous acute myocardial infarction*, **A Slagman**, J Searle, F Holert, C Müller, M Möckel, Congress of the American Heart Association, Scientific Sessions 2014, Chicago, Illinois, USA

*Diagnostic performance of hsTnT and POCT-TnT for the diagnosis of AMI in clinical routine*, **A Slagman**, J Searle, J von Recum, F Holert, D Meyer zum Bueschenfelde, C Müller, M Möckel, Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Mannheim, Deutschland

*Sex differences in troponin test performance and outcome in chest pain patients with acute myocardial infarction*, **A Slagman**, J Searle, J O Vollert, H Storchmann, D Meyer zum Büschenfelde, J von Recum, D Vlasny, A Ale-Abaei, M Koch, C Müller, R Müller, R Somasundaram, M Möckel, Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, , Mannheim, Deutschland

*Sex und Gender als Einflussfaktoren in klinischen Studien: Statistische und Epidemiologische Methoden*, **A Slagman**, Young Investigators Workshop - 4. Symposium Akute Kardiologie 2013, Berlin, Deutschland

*High-Sensitivity Troponin I Values Depend on Patient's Age and Gender - BIC-1: A Normal Ranges Study*; **A Slagman**, J Searle, C Mueller, R Muller, F Holert, JO Vollert, M Mockel, Congress of the American Heart Association, Scientific Sessions 2012, Los Angeles, California, USA

*Association of In-hospital Mortality and Chief Complaint in the Emergency Department* **A Slagman**, J Searle, R Müller, H Storchmann, P Oesterreich, W Wyrwich, J O Vollert, M Koch, R Somasundaram, M Möckel, Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie 2012, Mannheim, Deutschland

*Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) in emergency patients with acute dyspnea*, **A Slagman**, J Searle, F Holert, A Bruening, J O Vollert, R Muller, S Datwyler, C Mueller, M Möckel, Congress of the European Society of Cardiology 2011, Paris, Frankreich

## POSTER

*The effect of integrating the biomarker Copeptin into the process of managing patients with suspected ACS (BIC-8) – Protocol of the BIC-8 study, A Slagman, S Petrusch, J Searle, M Möckel, Global Research on Acute Condition Team 2011, Rom, Italien*

*Poorer outcome of patients with acute myocardial infarction and atypical symptoms in the ED, A Slagman, J Searle, J O Vollert, H Storchmann, P Oestereich, R Muller, M Koch, R Somasundaram, M Möckel, Congress of the American Heart Association, Scientific Sessions 2012, Los Angeles, California, USA*

*Early Identification of Postinterventional Type 4a Myocardial Infarction by Copeptin A Slagman, S Gwosc, J Searle, F Holert, J Struck, J O Vollert, C Muller, M Möckel, Congress of the American Heart Association, Scientific Sessions 2012, Los Angeles, California, USA*

*High-sensitive C-reactive protein as a prognostic marker in ED-patients with cardiac chief complaints, A Slagman, J Searle, T J Lauterbach, F Holert, J O Vollert, R Muller, M Stockburger, C Muller, M Möckel, Congress of the American Heart Association, Scientific Sessions 2012, Los Angeles, California, USA*

*Utilization of Diagnostic Procedures and Outcome in Patients with Acute Cardiac Chief Complaints in the ED, A Slagman, J Searle, J Vollert, M Stockburger, M Möckel, International Congress on Emergency Medicine 2012, Dublin, Irland*

*Differences Between Men and Women with Chest Pain in the Emergency Department, J Searle, A Slagman, R Muller, R. Somasundaram, M. Möckel, International Congress on Emergency Medicine 2012, Dublin, Irland*

*Procalcitonin in patients with acute dyspnea, M Möckel, A Slagman, C Müller, D Meyer zum Büschenfelde, J von Recum, M Stockburger, J O Vollert, J Searle, Acute Cardiovascular Care Association - Annual Meeting 2013, Madrid, Spanien*

*Predictors of intrahospital mortality in internal emergency department patients, A Slagman, J Searle, J O Vollert, R Somasundaram, R Muller, M Möckel, Acute Cardiovascular Care Association - Annual Meeting 2013, Madrid, Spanien*

*Exercise stress testing and high-sensitivity troponin in patients with suspected ischemic heart disease*, J Searle, D Gälke, **A Slagman**, J O Vollert, F Holert, C Müller, E Giannitsis, M Möckel, Acute Cardiovascular Care Association - Annual Meeting 2013, Madrid, Spanien

*Mortality and final diagnoses in patients with acute dyspnea*, A Slagman, J Searle, J O Vollert, R Muller, R Somasundaram, M Möckel, Acute Cardiovascular Care Association - Annual Meeting 2013, Madrid, Spanien

*Assoziation von Mortalität und Diagnose bei Patienten mit akuter Dyspnoe*, A Slagman, J Searle, J O Vollert, M Koch, R Somasundaram, M Möckel, Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie 2013, Mannheim, Deutschland

*Diagnostic performance of hsTnT and POCT-TnT in clinical routine*, A Slagman, J Searle, J von Recum, F Holert, D Meyer zum Bueschenfelde, C Müller, M Möckel, European Society of Cardiology 2014, Barcelona, Spanien

*Atrial Natriuretic Peptide as an additional Marker for Early Rule-out of Acute Myocardial Infarction*, A Slagman, J Searle, F Holert, J O Vollert, R Muller, M Stockburger, C Muller, M Möckel, Congress of the American Heart Association, Scientific Sessions 2014, Chicago, Illinois, USA

# EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

„Ich, Anna Slagman versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *C-reaktives Protein beim akuten Myokardinfarkt: Kinetik, prognostische Bedeutung und Etablierung einer spezifischen Apherese in einem porcinen Infarktmodell* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

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

Datum

---

Unterschrift

## DANKSAGUNG

Ich bedanke mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Martin Möckel für die langjährige und vertrauensvolle Zusammenarbeit und die Betreuung meiner Dissertation. Ich bedanke mich außerdem bei der wissenschaftlichen Arbeitsgruppe des Arbeitsbereiches Notfallmedizin der Charité für die Unterstützung und Beratung bei der Erstellung dieser Arbeit. Des Weiteren möchte ich mich bei Frau PD Dr. vet. med. Juliane Unger für die vielen praktischen Hinweise zur Durchführung der Experimente bedanken. Ich bedanke mich außerdem bei den Leitern und Wissenschaftlern der Arbeitsgruppen von Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Ralf Schindler und Dr. Ahmed Sheriff für die Zusammenarbeit im Rahmen der Experimente. Mein herzlichster Dank gilt meiner Familie, die mich stets liebevoll unterstützte.