

Aus der medizinischen Klinik für Kardiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Evaluierung von Biomarkern der endothelialen Dysfunktion bei
Patienten mit akuten kardiovaskulären Symptomen in der
Notaufnahme

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Janina Karoline Elisabeth Stiefel

aus Heidelberg

Datum der Promotion: 04.09.2015

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt (deutsch)	5
Abstrakt (englisch)	7
1 Einleitung	9
1.1 Das akute Koronarsyndrom.....	9
1.1.1 Epidemiologie und Definition	9
1.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie	11
1.1.3 Diagnostik	14
1.1.4 Risikostratifizierung und therapeutische Konsequenz bei ACS.....	19
1.2 Biomarker.....	22
1.2.1 PLGF und sFlt-1	22
1.2.2 PLGF und sFlt-1 als Marker bei kardiovaskulären Erkrankungen	24
1.3 Zielsetzung	27
2 Methoden und Studienpopulation	28
2.1 Studienprotokoll	28
2.2 Studienkollektiv	28
2.3 Studienablauf.....	29
2.3.1 Schematischer Ablauf der Studie	29
2.3.2 Probengewinnung und Probenlogistik	30
2.3.3 Datenerhebung und Dokumentation.....	30
2.3.4 Diagnose.....	31
2.3.5 Follow-up und Monitoring	32
2.4 Biomarker Bestimmung	32
2.4.1 Die Bestimmung von Troponin I	32
2.4.2 Messung der Biomarker PLGF und sFlt-1	33
2.4.2.1 Reagenzien.....	34
2.4.2.2 2-Schritt ARCHITECT Mikropartikelimmunoassay	34
2.4.2.3 Immunoassay zur Bestimmung von PLGF	35
2.4.2.4 Immunoassay zur Bestimmung von sFlt-1	35
2.5 Statistische Auswertung	35
3 Ergebnisse	37
3.1 Charakteristika des Patientenkollektives und Basisdaten	37
3.1.1 Patientencharakteristika.....	37
3.1.2 Klinische Untersuchungen	40

Inhaltsverzeichnis

3.2	Biomarker.....	43
3.2.1	sFlt-1 und PLGF als diagnostischer Marker	43
3.2.1.1	sFlt-1 und PLGF in Relation zu den Leitsymptomen	43
3.2.1.2	sFlt-1 und PLGF in Relation zu nicht-ACS Hauptdiagnosen.....	45
3.2.1.3	sFlt-1 und PLGF in Relation zu den Hauptdiagnosen des ACS	47
3.2.1.3.1	sFlt-1 und PLGF in Relation zu der Hauptdiagnose NSTEMI.....	49
3.2.1.3.2	sFlt-1 und PLGF in Relation zum Troponin I	50
3.2.1.4	sFlt-1 und PLGF in Relation zur KHK und Koronarsklerose.....	53
3.2.2	sFlt-1 und PLGF als Marker zur Risikostratifizierung.....	55
3.2.2.1	Die Relation von sFlt-1 und PLGF zu klinischen Parametern und Symptomen 55	
3.2.2.2	Die Relation von sFlt-1, PLGF und Heparin	55
3.2.2.2.1	sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten mit ACS ohne Heparinisierung	57
3.2.2.2.2	Schweregrad der KHK und Koronarsklerose bei Patienten ohne Heparinisierung	60
3.2.3	sFlt-1 und PLGF als prognostische Marker	62
3.2.3.1	Die Relation von sFlt-1 und PLGF mit den Endpunkten Rehospitalisierung und Überleben	62
4	Diskussion	64
4.1	Diskussion der Methoden.....	64
4.1.1	Studiendesign	64
4.1.2	Subgruppenanalyse und Generalisierbarkeit	66
4.2	Diskussion der Ergebnisse	66
4.2.1	sFlt-1 und PLGF in Hinblick auf die Leitsymptome und bei nicht-ACS Diagnosen 66	
4.2.2	sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS	68
4.2.3	Der Einfluss von Heparin auf sFlt-1 und PLGF.....	69
4.2.4	sFLT und PLGF als Marker zur Diagnostik des NSTEMI	70
4.2.5	sFlt-1 und PLGF zur Risikostratifizierung.....	72
4.2.6	sFlt-1 und PLGF als prognostische Marker	74
4.2.7	Limitationen der Studie	75
5	Schlussfolgerung.....	77
6	Zusammenfassung.....	78
7	Literaturverzeichnis.....	80

Inhaltsverzeichnis

8	Anhang	87
8.1	Abkürzungsverzeichnis	87
8.2	Tabellenverzeichnis.....	90
8.3	Abbildungsverzeichnis	92
8.4	Eidesstattliche Versicherung	94
8.5	Lebenslauf	95
8.6	Danksagung	97

Abstrakt

Abstrakt (deutsch)

Hintergrund und Ziel

Biomarker, die im Zusammenhang mit dem Grad der Koronarsklerose und der endothelialen Dysfunktion stehen können und bereits vor dem Stadium der Zellnekrose messbar sind, wurden in Bezug auf das akute Koronarsyndrom in den letzten Jahren vermehrt erforscht. Der Wachstumsfaktor Placental growth faktor (PLGF) und sein löslicher Rezeptor FMS-like Tyrosinkinase-1 (sFlt-1) sind Marker der Gefäßinflammation und der damit einhergehenden endothelialen Dysfunktion. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem diagnostischen und prognostischen Nutzen der o.g. Marker in Bezug auf das akute Koronarsyndrom (ACS) und im Besonderen im Hinblick auf die Diagnose des Nicht- ST- Hebungsinfarkt (NSTEMI) und der Differenzierung zwischen Patienten mit Akutem Koronarsyndrom ohne ST-Hebungen (NSTE-ACS). Zudem wurde der Einfluss von Heparin auf sFlt-1 und PLGF berücksichtigt.

Methoden

Bei 537 Patienten, die sich mit dem Leitsymptom Brustschmerz oder Dyspnoe in der Notaufnahme der Charité Berlin, Campus Virchow-Klinikum und Campus Mitte vorstellten, wurden bei Aufnahme Blut entnommen und ihre klinischen Daten gesammelt. Nach drei Monaten erfolgte ein Follow-up.

Ergebnisse

Insgesamt hatten 189 Patienten die Enddiagnose ACS, davon hatten 21,0 % (n=113) die Diagnose instabile AP, 10,8 % (n=58) die Diagnose NSTEMI und 3,4 % (n=18) die Diagnose STEMI.

STEMI Patienten hatten signifikant erhöhte sFlt-1 und PLGF Werte (sFlt-1 (pg/ml) 7832 (3674/12463); PLGF (pg/ml) 26,29 (23,40/33,80))* , aber auch Patienten mit NSTEMI (sFlt-1 (pg/ml) 872 (297/6596); PLGF (pg/ml) 22,22 (17,70/27,06))* und IAP (sFlt-1 (pg/ml) 276 (231/6437); PLGF (pg/ml) 19,69 (16,96/23,64))* wiesen im Vergleich zu nicht-ACS Patienten erhöhte Werte auf. Alle Subgruppen des ACS, außer der PLGF Wert bei Patienten mit IAP, lagen mit ihren medianen Werten über dem ermittelten Cut-off der 95. Perzentile (sFlt-1 260 pg/ml, PLGF 20,87 pg/ml) einer gesunden Referenzpopulation.

Bei Patienten, die initial ein negatives Troponin I aufwiesen, konnte mit Hilfe von PLGF und sFlt-1 ein NSTEMI bereits nach einer Blutentnahme mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden. So zeigte die Kombination der einzelnen Marker mit Troponin I einen negativen prädiktiven Wert von 98,7 % für PLGF und 100% für sFlt-1. Zudem konnte gezeigt werden, dass Heparin die Höhe der PLGF und sFlt-1 Werte beeinflusst und nach Heparinabgabe deutlich erhöhte Werte gemessen werden.

Abstrakt

Schlussfolgerung

PLGF und sFlt-1 sind vielversprechende Biomarker bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen und besitzen diagnostischen und prognostischen Nutzen. Weitere prospektive, interventionelle Studien zum klinischen Potential von PLGF und sFlt-1 sind aufgrund unserer Daten gerechtfertigt.

***(Daten als Median, 25. Perzentile und 75. Perzentile)**

Abstrakt (englisch)

Background and aim

Biomarkers which are related to the degree of atherosclerosis and the endothelial dysfunction and which could be measured before the stadium of cell necrosis, have been in focus of recent cardiovascular research. Placental growth factor (PLGF) and its soluble receptor FMS-like Tyrosinkinase-1 (sFlt-1) are biomarkers of vascular inflammation and the associated endothelial dysfunction.

The aim of this study was to evaluate the diagnostic and prognostic value of PLGF and sFlt-1 for the diagnosis of acute coronary syndrome (ACS). We focused on patients with non-ST-elevation- myocardial infarction (NSTEMI) and the differentiation from patients with non-ST-elevation- acute coronary syndrome (NSTEMI-ACS). Heparin, as a potential influencing factor, was taken into account.

Methods

In this prospective study, 537 consecutive patients with cardiac chest pain or dyspnea were recruited from the emergency department at Charité Berlin, Campus Virchow-Klinikum and Campus Mitte. Blood samples were collected at admission and clinical data were documented. A follow-up at three months was completed.

Results

In total, 189 patients with the diagnosis ACS were included, 21,0 % (n=113) with the diagnosis unstable angina pectoris (UAP), 10,8 % (n=58) with the diagnosis NSTEMI and 3,4% (n=18) with the diagnosis STEMI.

STEMI patients had significantly higher sFlt-1 und PLGF values (sFlt-1 (pg/ml) 7832 (3674/12463); PLGF (pg/ml) 26,29 (23,40/33,80))* , but patients with NSTEMI (sFlt-1 (pg/ml) 872 (297/6596); PLGF (pg/ml) 22,22 (17,70/27,06))* and IAP (sFlt-1 (pg/ml) 276 (231/6437); PLGF (pg/ml) 19,69 (16,96/23,64))* also had higher values of the measured biomarkers in comparison to non-ACS patients. All median values in ACS-patients, except for the PLGF value of patients with IAP, were higher than the 95th. percentile cut-off value (sFlt-1 260 pg/ml, PLGF 20,87 pg/ml) of a healthy reference population.

In patients with initially negative troponin I at admission, we were able to rule out an NSTEMI with a negative predictive value of 98,7 % for PLGF and 100% for sFlt-1. Furthermore we were able to show that heparin influences the values of PLGF and sFlt-1, as values of those markers were higher after the application of heparin.

Abstrakt

Conclusion

PLGF and sFlt-1 are promising biomarkers for patients with cardiovascular diseases and might be of diagnostic and prognostic value. Further prospective and interventional studies on the clinical value of PLGF and sFlt-1 are justified.

***(Data as median, 25. percentile und 75. percentile)**

1 Einleitung

1.1 *Das akute Koronarsyndrom*

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind in den industrialisierten Ländern aktuell die führende Todesursache.¹ Die Koronare Herzerkrankung (KHK) stellt in diesem Erkrankungsspektrum eine der häufigsten Erkrankungen dar und ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden.^{1,2} Patienten mit einer stabilen KHK können im Vergleich zu Patienten mit akuter KHK lange Zeit asymptomatisch sein oder Beschwerden treten nur unter größerer Belastung auf. KHK-Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom (ACS), bei welchen eine myokardiale Ischämie auf Grund einer koronaren Minderperfusion lebensbedrohliche Folgen haben kann, sind hingegen instabil und benötigen eine schnelle Evaluation und Behandlung, um bleibende Schäden und Komplikationen zu vermeiden. Die Unterscheidung zwischen einer stabilen Angina pectoris und einem akuten Ereignis sowie die Evaluation des Risikoprofils eines Patienten bei ACS stellen eine tägliche klinische Herausforderung dar. Um eine optimale Patientenversorgung zu gewährleisten, muss eine an das aktuell bestehende Krankheitsbild angepasste Diagnostik und eine rasche und verlässliche Risikostratifizierung der betroffenen Patienten erfolgen.³

1.1.1 **Epidemiologie und Definition**

Kardiovaskuläre Erkrankungen verursachen aktuell weltweit 30% der Todesfälle. Mehr als 1 Million Patienten mit akutem Koronarsyndrom werden jährlich in den Vereinigten Staaten von Amerika stationär behandelt.⁴ In Deutschland werden jährlich ca. eine viertel Millionen Patienten mit einem ACS neu diagnostiziert.⁵ Beim ACS, dessen Leitsymptom oft der Brustschmerz ist, ist insbesondere eine rasche diagnostische Abklärung des Patienten hinsichtlich des Vorliegens eines akuten Myokardinfarktes notwendig, da dieser eine vitale Gefährdung darstellt. Ein akuter Myokardinfarkt liegt vor, wenn es im Zusammenhang mit klinischen Symptomen der Ischämie wie Angina pectoris oder Dyspnoe Hinweise auf eine myokardiale Nekrose gibt. Hinweise hierfür können z.B. ein Troponinanstieg über die 99. Perzentile sein, neu aufgetretene ST-Strecken-Veränderungen oder Linksschenkelblock im Elektrokardiogramm (EKG), neu aufgetretene Wandbewegungsstörungen in der Bildgebung oder ein gesicherter Thrombus der Koronararterien in der Koronarangiographie oder Autopsie.^{6,7} Mit Hilfe des EKGs können die Patienten zunächst in 2 Subgruppen eingeteilt werden: Patienten mit ST-Hebungen bzw. einem neu aufgetretenem Linksschenkelblock oder Patienten ohne diese EKG-Zeichen.⁸ Infarkte mit ST-Hebungen werden daher als ST-Streckenhebungs-

Einleitung

Myokardinfarkt (STEMI; engl.: ST elevation myocardial infarction) klassifiziert. ACS ohne ST-Hebungen oder Linksschenkelblock (LSB), werden zunächst als „Nicht-ST-Streckenhebungs-Akutes Koronarsyndrom“ (NSTEMI-ACS) klassifiziert. NSTEMI-ACS Patienten müssen daraufhin mit weiteren diagnostischen Mitteln abgeklärt werden. Patienten, die trotz Abwesenheit von ST-Hebungen einen Myokardinfarkt aufweisen, werden als Patienten mit nicht-ST-Streckenhebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI; engl.: non ST elevation myocardial infarction) klassifiziert.⁹ Klinisch unterscheidet man 5 verschiedene Infarkttypen^{6,10,11}:

- Typ 1:** Spontaner Myokardinfarkt aufgrund einer Ischämie, die auf ein primär koronares Ereignis wie Plaqueruptur, Einreißen oder Dissektion zurückzuführen ist.
- Typ 2:** Ischämiebedingter Myokardinfarkt, z.B. bei Koronarspasmen, Koronarembolien, Arrhythmien, Anämie, Hypertonie oder Hypotonie
- Typ 3:** Plötzlicher Herztod evtl. mit vorausgegangenen Symptomen, die auf eine Myokardischämie hinweisen (autoptischer Nachweis)
- Typ 4a:** Myokardinfarkt im Zusammenhang mit perkutaner kardialer Intervention
- Typ 4b:** Myokardinfarkt durch Stentthrombose, dokumentiert durch Angiografie oder Autopsie
- Typ 5:** Myokardinfarkt im Rahmen einer koronaren Bypassoperation (CABG)

Eine weitere Subgruppe des NSTEMI-ACS stellt die instabile Angina pectoris (IAP) dar. Bei der IAP kommt es im Gegensatz zum NSTEMI nicht zum myokardialen Zelluntergang. Sie liegt definitionsgemäß dann vor, wenn entweder eine Ruheangina, die länger als 10 Minuten anhält, eine neu aufgetretene starke Angina pectoris oder eine Crescendoangina besteht, ohne dass myokardiale Nekrosemarker (insbesondere kardiales Troponin) im Blut erhöht nachweisbar sind.^{3,12} In Europa liegt die Inzidenz eines NSTEMI-ACS bei 3/1000 pro Jahr. Das initiale Mortalitätsrisiko eines NSTEMI-ACS ist im Vergleich zum STEMI geringer, gleicht sich nach sechs Monaten an und verdoppelt sich wegen des höheren Alters und vermehrter Komorbiditäten von NSTEMI-ACS Patienten nach vier Jahren im Vergleich zu STEMI Patienten.¹¹

Die stabile Angina pectoris hingegen ist definiert als reproduzierbarer Brust- oder Armschmerz, der mit physischem oder psychischem Stress assoziiert ist und durch körperliche Ruhe oder sublinguale Nitratgabe innerhalb von 10 Minuten rückläufig ist.^{3,12,13}

Zu den Differentialdiagnosen des NSTEMI-ACS gehören kardiale Erkrankungen, die nicht gefäßbedingt sind wie z.B. die Myokarditis oder eine Vielzahl von nicht-kardialen Erkrankungen wie z.B. die Pneumonie, die auch mit den Symptomen Brustschmerz oder Luftnot einhergehen.

Einleitung

1.1.2 Ätiologie und Pathophysiologie

Die Entstehung der Plaque

Die Arteriosklerose bildet die pathophysiologische Grundlage der KHK. Die Entstehung der Arteriosklerose ist ein chronischer, multifaktorieller Prozess, der mit einer endothelialen Dysfunktion beginnt.¹⁴

Die „Fatty streaks“ stellen die initiale Läsion der Arteriosklerose dar.¹⁵ Dies sind oxidierte Lipoproteine, die zu Veränderungen in der Gefäßwand führen. Oxidativ modifizierte Low-density-Lipoproteine (LDL) verstärken die Adhäsion von Leukozytenadhäsionsmolekülen und führen zur Akkumulation von Leukozyten in der arteriosklerotischen Läsion. Die Akkumulation von Lipoproteinen in der Gefäßwand induziert die Entstehung eines entzündlichen Prozesses.¹⁵ Mononukleäre Phagozyten dringen in die Intima ein und differenzieren sich zu Makrophagen, die sich in lipidbeladene sogenannte Schaumzellen umwandeln. Gehen diese lipidbeladenen Makrophagen zu Grunde, entsteht in ausgereiften Plaques ein lipidreicher Kern, auch „nekrotisches Zentrum“ genannt. Zytokine wie Interleukin(IL)-1, Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α) und Wachstumsfaktoren wie plättchenabhängiger Wachstumsfaktor (PDGF) und Fibroblasten-Wachstumsfaktor tragen zur Entwicklung der Plaque bei.¹⁴

PDGF regt glatten Muskelzellen in der Gefäßwand (Vascular smooth muscle cell, VSMC) des Plaquebereiches an, von der Media in die Intima zu wandern. Matrixmetalloproteinase (MMP) und Lipoproteinlipase (LPL) aktivieren die Proliferation der VSMC und deren synthetische Aktivität. So wird vermehrt extrazelluläre Matrix produziert, welche sich in der Intima ansammelt.¹⁶ Der Aufbau von Bindegewebe in den Läsionen, welches aus der extrazellulären Matrix stammt, findet typischer Weise im fortgeschrittenen Stadium der Arteriosklerose statt.¹⁴ Dieser aktive Veränderungsprozess der Gefäßstruktur und des Gefäßaufbaus durch Zellwachstum und Zelltod, Zellmigration sowie Auf- und Abbau von extrazellulärer Matrix ist Grundlage des vaskulären Remodellings. Mit der durch beschriebene Veränderungen bedingten Größenzunahme der Plaque kommt es im Verlauf primär kompensatorisch zu einer Zunahme des Gefäßdurchmessers durch eine Hypertrophie der glatten Muskelzellen und einer Intimaproliferation, um die ausreichende Blutversorgung zu gewährleisten. Im fortgeschrittenen Stadium der Arteriosklerose nimmt mit zunehmender Größe des Plaques und Schädigung der Gefäßwand die vasodilatatorische Kapazität und der Lumendurchmesser des Gefäßes wieder ab.^{16,17}

Im weiteren Verlauf der Formierung einer Plaque kommt es zur Ausbildung einer fibrösen Kappe, deren Dicke mit der Stabilität der Plaque im Zusammenhang steht. Die Stabilität der Plaque wird zudem durch das Gleichgewicht zwischen inflammatorischen und reparativen

Einleitung

Prozessen beeinflusst.¹⁶ MMP aktiviert inflammatorische Prozesse, welche die stabilisierende, fibröse Kappe erodieren (Plaquerosion). Zudem wird durch Interferon-gamma, das durch T-Zellen produziert wird, und IL-1 und TNF- α die Synthese von Kollagen in den VSMC inhibiert. Als Folge dieser Prozesse wird die fibröse Kappe dünner und es entstehen Erosionen in der Plaquesoberfläche, welche das Risiko für eine Plaqueruptur steigern. Größere Erosionen in der Plaquesoberfläche oder die Ruptur der Plaque führen zur Freisetzung von stark thrombogenen Substanzen in der Gefäßwand (Tissue Faktor, Lipide, Kollagen, Fibronectin, vonWillebrand-Faktor).¹⁸ Es kommt zur Thrombozytenaggregation im Plaquebereich, welche eine Aktivierung der Gerinnungskaskade nach sich zieht. Dieses Aufbrechen der fibrösen Kappe wird als Plaqueruptur bezeichnet.¹⁸ Nachdem die Gerinnungskaskade aktiviert wurde, kommt es zu einer Thrombusbildung mit akutem (Teil-) Verschluss des betroffenen Gefäßes.¹⁶ Während dieser Entwicklung von der endothelialen Dysfunktion bis zur Plaqueruptur werden unterschiedliche Entzündungsmarker und Biomarker freigesetzt.¹⁹ Libby und Theroux beschreiben die Möglichkeit, diese Marker in Kombination mit aktuellen diagnostischen Möglichkeiten zu kombinieren und somit neue Erkenntnisse über den pathophysiologischen Mechanismus der Arteriosklerose und der Plaquevulnerabilität zu gewinnen.²⁰ Das Verständnis über das Verhältnis von Plaquestabilität und -vulnerabilität hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen und Biomarker, die Hinweise auf dieses Verhältnis geben können, rücken in den Focus der Forschung.¹⁹⁻²¹ Libby et al. beschreiben die Identifizierung der Plaqueinstabilität als einen der neuen Ansatzpunkte in der Behandlung der koronaren Arteriosklerose.¹⁹

Abbildung 1 zeigt schematisch die Entstehung einer Plaque und der daran beteiligten Zellen, Botenstoffe und Biomarker.

Einleitung

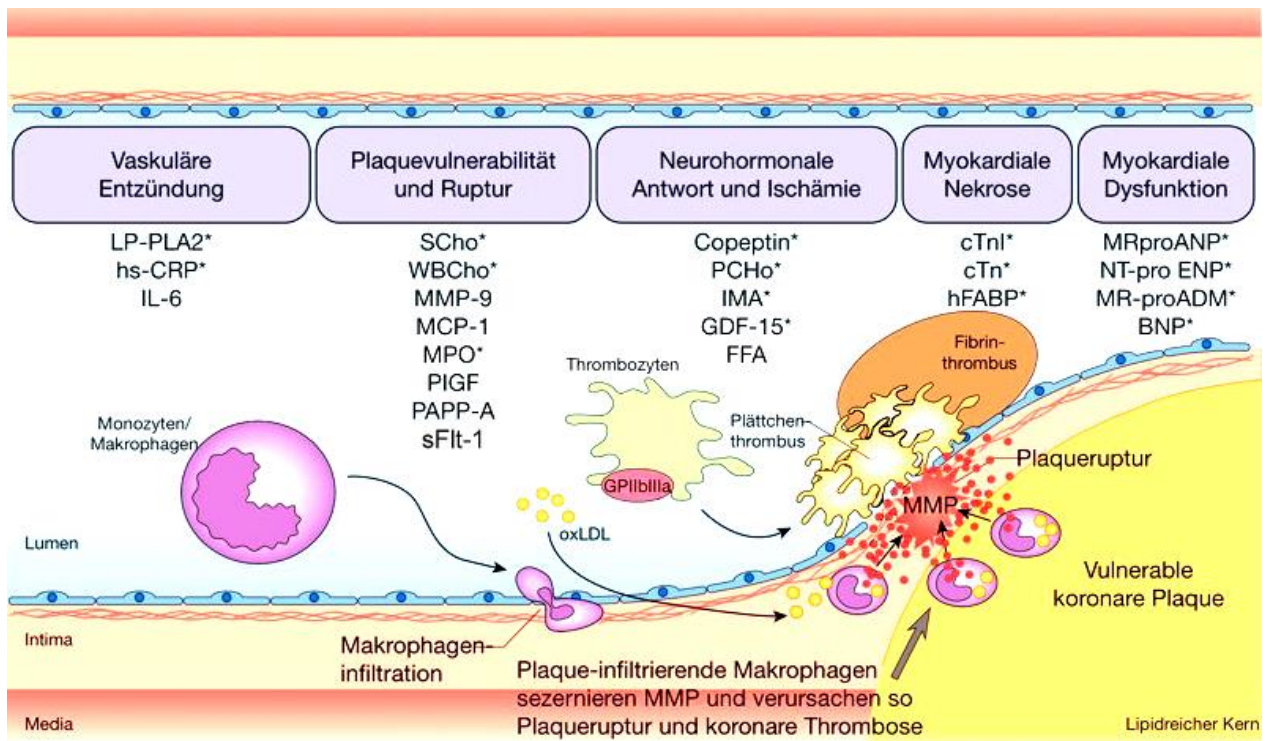


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entstehung einer arteriosklerotischen Plaque (modifiziert) ²²

Die myokardiale Ischämie

Wird der Durchmesser des Koronargefäßes durch einen arteriosklerotischen Plaque um über 50% verkleinert, kann die bedarfsgerechte Sauerstoffversorgung des Myokards in der von dem Koronargefäß versorgten Region unter Belastung nicht mehr gewährleistet werden. Ist der Gefäßdurchmesser über 80% reduziert, so kann der koronare Blutfluss bereits in Ruhe vermindert sein, und jede weitere Verengung des Gefäßes kann zu einer myokardialen Ischämie führen.¹⁴ Die Plaqueruptur oder (seltener) –Erosion mit nicht verschließendem Thrombus werden als häufigste Ursache für ein NSTEMI-ACS angenommen. Diese Minderperfusion verursacht eine Ischämie mit progredientem Zelluntergang.¹³

Dauert dieser Zustand mehrere Stunden an, so kann makroskopisch und mikroskopisch eine Infarkt Narbe nachgewiesen werden. Damit es zum irreversiblen Zelltod kommt, muss eine Ischämie mindestens 2-4 Stunden vorliegen. Diese Zeitspanne ist abhängig von der kollateralen Durchblutung, der Sensitivität der Myozyten, dem Grad der Minderperfusion und den individuellen Voraussetzungen des Patienten. Der Heilungsprozess bis zu einer abgeheilten Infarkt Narbe dauert in der Regel 5-6 Wochen.⁶ Wird der Blutfluss in der betroffenen Koronararterie z.B. durch eine Koronarintervention wieder hergestellt, kann der Zelluntergang gestoppt und so das Infarktgebiet verkleinert werden.²³⁻²⁵

Einleitung

Der Einfluss von Risikofaktoren

Die Entstehung von Arteriosklerose wird durch bestimmte Faktoren begünstigt. Typische Risikofaktoren von kardiovaskulären Erkrankungen sind der arterielle Hypertonus, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie (hohes LDL-Cholesterin und niedriges HDL-Cholesterin), Nikotinabusus, familiäre Belastung oder die genetische Prädisposition.^{5,15} Die Zusammenschau aller Risikofaktoren, das allgemeine Risikoprofil, ist hier der Evaluation der einzelnen Risikofaktoren überlegen.

Zudem zeigen Studien, dass weitere, bisher nicht so bekannte Risikoprädiktoren, das allgemeine kardiovaskuläre Risiko besser abschätzen lassen: hierzu gehören erhöhte Triglycerin-Werte, insbesondere Triglycerinreiche Lipoproteinrückstände, Apolipoproteine, Antikörper gegen oxidiertes LDL, Homocystein und das hochsensitive CRP.¹⁶

1.1.3 Diagnostik

Im klinischen Alltag ist das NSTEMI-ACS durch eine Vielfalt von Symptomen charakterisiert, die eine schnelle Diagnose erschweren können.¹¹ Die Diagnostik bei Verdacht auf NSTEMI-ACS dient einerseits der Differenzierung zwischen NSTEMI, IAP und anderen Differentialdiagnosen, andererseits der Risikostratifizierung dieser Patienten, um den Therapieplan dementsprechend anzupassen.

Nach den Leitlinien 2011 der Europäischen Society of Cardiology (ESC)¹¹ und nach der 2012 von Thygesen et al. neusten Definition eines Myokardinfarktes⁶, liegt der Verdacht auf ein NSTEMI-ACS vor, wenn bei Patienten mit Brustschmerzen oder anderen kardiovaskulären Symptomen eine persistierende oder dynamische ST-Senkung, T-Wellen-Abnormitäten oder unauffällige bzw. unspezifische EKG-Veränderungen gefunden werden. Die Diagnostik des ACS erfolgt heute typischerweise auf der (häufig wie an der Charité zertifizierten) Chest Pain Unit. Dabei kommen neben der Anamneseerhebung, körperlichen Untersuchung und EKG-Ableitung vor allem biochemische Marker (vor allem kardiales Troponin) und häufig die Echokardiographie sowie die Koronarangiographie zum Einsatz. Ziel ist es, einen akuten Myokardinfarkt zu erkennen oder auszuschließen.³ Klinisch sind hier insbesondere der Myokardinfarkt Typ 1 und 2 von Bedeutung, da diese Patienten durch eine genaue und rasche Diagnostik und Therapie profitieren können.

Abbildung 2 zeigt schematisch den klinischen Ablauf, wenn Patienten sich mit dem Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom vorstellen.

Einleitung

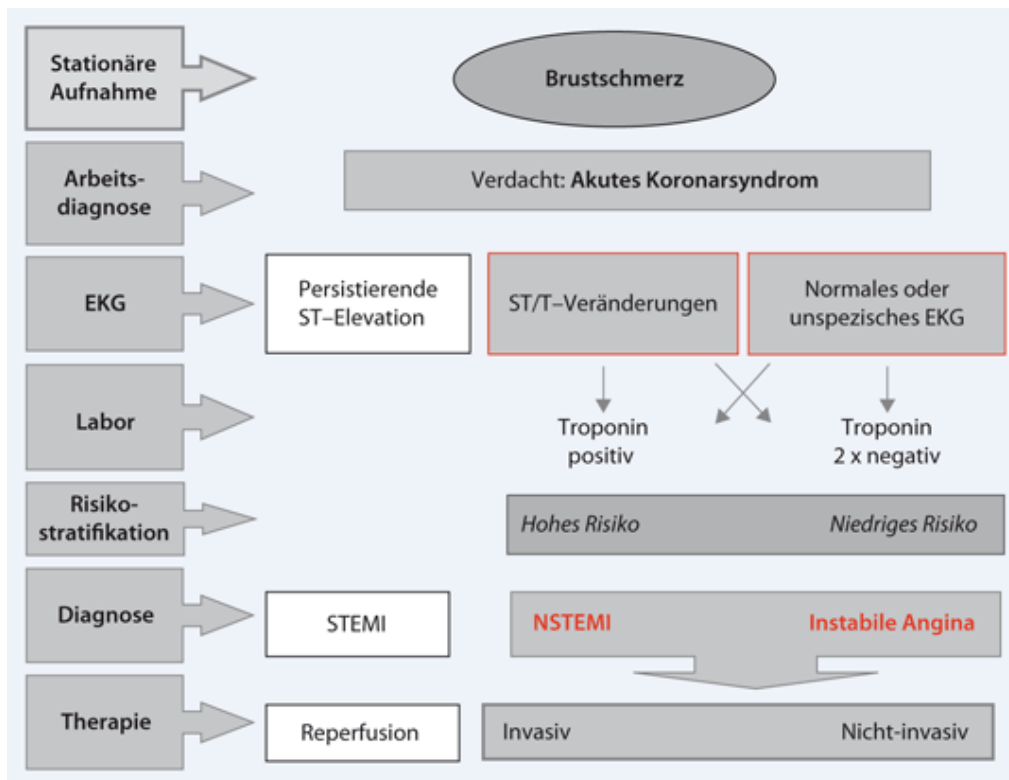


Abbildung 2: Schematischer Ablauf bei Patienten mit Verdacht auf ACS²⁶

Risikoeinschätzung

Erste Maßnahme zur Beurteilung von Patienten mit einem möglichen NSTEMI-ACS ist die Abschätzung der Wahrscheinlichkeit, ob eine KHK die Ursache der vorliegenden Symptome ist. Nach den Leitlinien des American College of Cardiology (ACC) und der American Heart Association (AHA) sind Merkmale für eine hohe Wahrscheinlichkeit eine klinische Vorgeschichte mit pektanginösen Beschwerden, eine bereits angiographisch gesicherte KHK, ein vorangegangener Myokardinfarkt, eine dekompensierte Herzinsuffizienz, neu aufgetretene Veränderung im EKG und erhöhte biochemische Marker. Eine mittlere Wahrscheinlichkeit für eine KHK liegt bei einem Alter von über 70 Jahren, männlichem Geschlecht, Diabetes mellitus, bekannter peripherer arterieller oder zerebrovaskulärer Erkrankung und älteren EKG-Veränderungen vor.^{3,27}

Zur genaueren Risikoabschätzung wurden in den letzten Jahre drei Algorithmen zur Risikoeinschätzung für ein ischämisches Ereignis entwickelt: der Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI)-Score, der Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE)-Score und der HEART-Score. Der GRACE-Score sagt die Sterbewahrscheinlichkeit voraus und setzt sich aus acht Risikofaktoren zusammen: Alter, Killip-Klasse, Systolischer Blutdruck, ST-Strecken-Veränderungen, Herzstillstand im Rahmen des Ereignisses, Serum-Kreatinin-Level, positive Herzenzyme und Herzfrequenz.²⁸ Anhand dieser Faktoren wird eine Punktzahl zwischen 1 und

Einleitung

327 Punkten berechnet. Anhand dieser Punktzahl werden die Patienten in drei Risikogruppen eingeteilt (Tabelle 1).

Tabelle 1: GRACE-Score für NSTEMI-ACS ^{29,30}

Risikoniveau	GRACE – Score (Punkte)	Sterblichkeitswahrscheinlichkeit im Krankenhaus (%)
Niedrig	1-108	< 1
Mittel	109-140	1-3
Hoch	141- 327	> 3

Der HEART-Score, basiert auf den Daten der SCORE-Studie - Systematic COronary Risk Evaluation.³¹ Daten von 12 Kohortenstudien in Europa von Patienten mit unterschiedlichem kardiovaskulärem Risiko wurden hier zusammengefasst. Durch die Zusammenschau der Risikofaktoren Alter, Geschlecht, Rauchstatus, systolischer Blutdruck und Gesamtcholesterin wird das 10-Jahres Risiko für eine letale kardiovaskuläre Erkrankung eingeschätzt.³¹ Der TIMI-Score beinhaltet folgende Faktoren zur Risikoberechnung für ein kardiovaskuläres Ereignis innerhalb der nächsten 14 Tage: Alter ≥ 65 Jahre, ≥ 3 kardiovaskuläre Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Rauchen, arterieller Hypertonus, positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen, LDL < 40 mg/dl), bekannte Koronarstenose $\geq 50\%$, Aspirin-Einnahme innerhalb der letzten 7 Tage, ≥ 2 Episoden schwerer Angina pectoris innerhalb der letzten 24 Stunden, ST-Veränderungen im EKG über 0,5mm und erhöhte kardiale Biomarker.^{32,33} Diese drei Scores erstellen durch die Zusammenschau verschiedener (Risiko-) Faktoren ein Risikoprofil des Patienten, welches einzelnen Parametern überlegen ist. Sie können so zur genaueren Risikoeinschätzung genutzt werden und therapeutische Konsequenzen nach sich ziehen.⁴ Aufgrund der Empfehlung in den europäischen Leitlinien wird an der Charité der GRACE-Score in der klinischen Praxis als Standard verwendet.

Zur genaueren Klassifizierung des Leitsymptoms Brustschmerz wurden diverse Klassifikationsschemata eingeführt. Die Schwere einer Angina wird durch das Klassifikationsschema der Canadian Cardiovascular Society (CCS) beschrieben.³⁴ Zusätzlich zur CCS-Klassifikation kann zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit des Patienten die New York Heart Association (NYHA)-Klassifikation³⁴ genutzt werden. Zur weiteren Risikoeinschätzung und –stratifizierung kann die Killip-Klasse des Patienten bestimmt werden, die die Einschätzung des Schweregrads einer akuten Herzinsuffizienz anhand klinischer Symptome zulässt.

Einleitung

Symptome und körperliche Untersuchung

Die klassische Anamnese eines ACS-Patienten umfasst die Beschreibung akuter pektanginöser Beschwerden, die oft von Dyspnoe begleitet werden. Pektanginöse Beschwerden sind retrosternale Schmerzen, die typischerweise in Arme, Rücken, Nacken, Kiefer oder in das Epigastrium (besonders bei Frauen) ausstrahlen können.³ Besteht eine Belastungsangina, sollte diese nach Beendigung der Belastung innerhalb von einer bis fünf Minuten, in absoluter Ruhe oder mit sublingualem Nitroglycerin abklingen. Ist dies nicht der Fall besteht der Verdacht auf ein ACS.³⁵

Die körperliche Untersuchung ist Teil jeder klinischen Ersteinschätzung. Auskultation von Herz und Lunge, aber auch eine Untersuchung auf Zeichen für eine Herzinsuffizienz sowie kardiale Risikofaktoren stehen hier im Vordergrund.³⁵

Elektrokardiogramm

Das EKG ist das erste Mittel der Wahl um Patienten mit einem ACS zu differenzieren. Bei klinischem Erstkontakt sollte bei jedem Patienten ein 12-Kanal EKG geschrieben und innerhalb von 10 min durch einen qualifizierten Arzt befundet werden. Ein STEMI ist durch eine im EKG neu aufgetretenen ST-Streckenveränderungen in zwei benachbarten Extremitätenableitungen von über 0,1 mV, in zwei benachbarten Brustwandableitungen von über 0,2 mV oder einem neu aufgetretener Linksschenkelblock charakterisiert.^{5,36} Bei 30-50% der Patienten mit gesichertem ACS zeigt das Ruhe-EKG typische Veränderungen, wie die ST-Streckenhebung oder -senkung und/oder negative T-Wellen. Patienten mit akutem Brustschmerz, die einen akuten Myokardinfarkt entwickeln, zeigen allerdings nur in 30-40 % der Fälle bei Aufnahme in die Notaufnahme bereits typische EKG-Veränderungen.³⁷ Nach den aktuellen Leitlinien der ESC von 2011 sollte bei unauffälligem 12-Kanal EKG standardmäßig die erweiterten linkspräkordialen Ableitungen V₇-V₉ und die rechtspräkordialen Ableitungen V_{R3} und V_{R4} angefertigt werden.¹¹

Biochemische Marker

Die Bestimmung des Routinelabors (Blutbild, Elektrolyte, Schilddrüsenwerte, Nierenparameter, Glucose) kann erste Hinweise für nicht-kardiale Ursachen liefern und die Bestimmung von zusätzlichen Parametern wie z.B. von D-Dimeren, kann zum Ausschluss wichtiger Differentialdiagnosen wie einer Lungenarterienembolie genutzt werden.³⁸

Bei Verdacht auf ein ACS erfolgt die sofortige Bestimmung des kardialen Markers Troponin (cTn). Kardiales Troponin ist Teil des kontraktiles Apparates der Herzmuskelzelle und wird bei einer Myokardnekrose ins Blut freigesetzt.³⁹ Die Bestimmung von kardialem Troponin T oder Troponin I wird standardmäßig durchgeführt und muss bei negativem Befund nach sechs

Einleitung

Stunden wiederholt werden.⁵ Ist keine Erhöhung des Troponins über die 99te Perzentile einer gesunden Referenzpopulation nachweisbar, kann sechs Stunden bis zur zweiten Blutabnahme keine endgültige Diagnose gestellt werden. Die Einführung des hochsensitiven Troponintestes (hs-Troponin) erlaubt diese zeitliche Grauzone auf drei Stunden zu reduzieren. Allerdings lassen sich mit diesem sensitiven Assay auch vermehrt erhöhte Troponinwerte bei Patienten mit anderen Erkrankungen als einem ACS nachweisen, als dies bei konventionellen Assays der Fall war. Der zeitliche Verlauf der Troponinwerte und die Unterscheidung zwischen einem chronischen oder akut erhöhten Troponinwert gewinnen hier an Relevanz.¹¹ Dennoch stellt diese zeitliche Grauzone im klinischen Alltag bis heute ein großes Problem dar, da durch die Heterogenität der Patientengruppen mit Verdacht auf ein ACS die Risikoeinschätzung und -stratifizierung nicht ausreichend möglich ist. Die Bestimmung neuer Biomarker wie z.B. Copeptin kann hier zum Einsatz kommen, um eine bessere und schnellere Diagnostik und Therapieeinleitung (bzw. -vermeidung) zu ermöglichen.^{22,40} Marker, die in dieser Prozesskette eine instabile Situation früher detektieren können und somit ein früheres Handeln ermöglichen, stehen im Focus der aktuellen Forschung.

Echokardiographie

Die Echokardiographie kann zum Nachweis einer systolischen Dysfunktion oder regionaler Wandbewegungsstörungen genutzt werden. Dies kann diagnostisch bei nicht eindeutigen EKG-Veränderungen und zur Risikoeinschätzung helfen.³⁷ Weiterhin dient die Echokardiographie der differentialdiagnostischen Abklärung und kann Zeichen der Lungenarterienembolie, der Aortendissektion, eines Perikardergusses und höhergradiger Vitien aufdecken. Weitere nicht invasive Verfahren wie das CT oder MRT können bei entsprechenden Fragestellungen und bei geeigneten Patienten genutzt werden, haben aber den Nachteil, nicht bettseitig eingesetzt werden zu können.¹¹

Koronarangiographie

Die Koronarangiographie ist als invasives Verfahren nach wie vor der Goldstandard zur Diagnostik der KHK mit hoher diagnostischer Zuverlässigkeit.³⁵ Sie stellt die Lumina der Koronararterien dar und kann eine relevante koronare Arteriosklerose bildlich nachweisen oder ausschließen, sowie den Schweregrad der Läsion ermitteln.³⁵ Die Koronarangiographie stellt zudem eine Verbindung zwischen diagnostischem und therapeutischem Verfahren dar. Mittels Angioplastie und Einlage von Stents kann während des Kathetereingriffs zur diagnostischen Koronarangiographie therapeutisch gehandelt werden. Nach den aktuellen Leitlinien wird jeder Patient, der sich mit einem STEMI klinisch vorstellt, nach Möglichkeit sofort einer angiographischen Untersuchung und Behandlung der Koronararterien unterzogen.³⁶ Ist dies

Einleitung

innerhalb der ersten 120 Minuten nach erstem medizinischem Kontakt nicht möglich, ist eine Lyse-Therapie anzustreben.^{8,41} Patienten mit NSTEMI-ACS sollten nach den neusten Richtlinien bei sehr hoher Risikoeinschätzung direkt einer Herzkatheteruntersuchung zugeführt werden. NSTEMI-ACS Patienten mit mittlerem und niedrigem Risiko können zunächst eine nicht-invasive Diagnostik erhalten.^{12,42}

1.1.4 Risikostratifizierung und therapeutische Konsequenz bei ACS

Patienten mit NSTEMI-ACS sind eine heterogene Gruppe hinsichtlich Risiko und Prognose. Bei klinischem Verdacht auf ein NSTEMI-ACS, sollte umgehend die Risikoklasse des Patienten eruiert werden, damit therapeutische Maßnahmen diesem Risiko entsprechend ergriffen werden können. NSTEMI-ACS Patienten werden anhand ihres Risikos in 3 Gruppen eingeteilt, welche das weitere therapeutische Vorgehen bestimmen. Man unterscheidet zwischen hohem, intermediärem und niedrigem Risiko.⁴ Zur Risikostratifizierung sollte das klinische Bild des Patienten, EKG und Biomarker genutzt werden. Zusätzlich werden bestimmte Hochrisikokriterien (Tabelle 2) sowie die bereits oben beschriebenen Risikoscores (GRACE-, TIMI- und HEART- Score) genutzt, um therapeutische Maßnahmen zu planen.

Zusätzlich zur genannten Risikostratifizierung wird die Verwendung des „CRUSADE bleeding risk scores“ empfohlen, um das Risiko einer Blutung bei NSTEMI-ACS Patienten abzuschätzen. Das Risiko für eine Blutung beeinflusst therapeutische Maßnahmen insbesondere hinsichtlich der Auswahl der antithrombozytären Therapie und Antikoagulation, der eingesetzten Dosis der Medikamente, als auch den Bedarf an intravenösen Zugangswegen im Falle einer Koronarangiographie.⁴² Dieser Score setzt sich aus verschiedenen Patientenparametern wie Hämatokrit, Kreatinin-clearance, Blutdruck und Herzfrequenz sowie (Risiko-) Faktoren wie Diabetes mellitus, weibliches Geschlecht, Zeichen einer Herzinsuffizienz und bekanntes Gefäßleiden zusammen.¹¹

Tabelle 2: Hochrisikokriterien mit Indikation zur invasiven Therapie bei NSTEMI-ACS¹¹

Primäre Kriterien	-Relevanter Anstieg oder Abfall des Troponins (Grenzwerte abhängig von der Sensitivität des verwendeten Assay) -Dynamische Veränderungen der ST-Strecke oder T-Welle (symptomatisch oder klinisch stumm)
Sekundäre Kriterien	-Diabetes mellitus -Niereninsuffizienz (eGFR <60 ml/min/1,73m ²) -Eingeschränkte linksventrikuläre Funktion (Ejektionsfraktion <40%)

Einleitung

Sekundäre Kriterien (Fortsetzung)	-Frühe Postinfarktangina -Kurz zurückliegende PCI -Zurückliegende ACB-Operation -Mittlerer bis hoher GRACE Risk Score
--------------------------------------	--

Die medikamentöse Therapie mit Nitraten sublingual oder intravenös, Sauerstoff bei einer Sauerstoffsättigung < 90% und Morphin intravenös oder subkutan bei starken Schmerzen, sollte bei Verdacht auf ein ACS zeitnah entsprechend Tabelle 3 begonnen werden.

Tabelle 3: Initiale Therapie bei V.a. ACS¹¹

Sauerstoff	Insufflation von 4-8 l/min, wenn Sauerstoffsättigung < 90%
Nitrate	Sublingual oder intravenös (Vorsicht bei Blutdruck systolisch < 90 mmHg)
Morphin	3-5 mg i.v. oder subkutan, in Abhängigkeit zur Schmerzintensität

Wenn die Diagnose eines ACS wahrscheinlich erscheint (unabhängig von der Risikogruppe), sollte mit folgender medikamentöser Therapie entsprechend Tabelle 4 begonnen werden:

Tabelle 4: Medikamentöse Therapie falls ein ACS wahrscheinlich erscheint¹¹

Acetylsalicylsäure	Initiale Dosis 150–300 mg p.o. in einer nicht magensaftresistenten Form, dann 75–100 mg/Tag
P2Y12-Inhibitor	Startdosis Ticagrelor (180 mg, danach 2x 90 mg/Tag) oder Clopidogrel (300-600 mg, danach 75 mg/Tag) (Zusätzliche Gabe von Protonenpumpeninhibitoren bei positiver Ulcusanamnese oder gastrointestinaler Blutung in der Eigenanamnese)
Antikoagulation	Abhängig vom weiteren Vorgehen (invasiv/ nicht invasiv) und Blutungsrisiko: - Fondaparinux s.c. 2,5 mg/Tag - Enoxaparin s.c. 2-mal 1 mg/kgKG/Tag - Unfraktioniertes Heparin i.v.-Bolus 60–70 IE/kgKG (maximal 5000 IE), dann eine Dauerinfusion von 12–15 IE/kgKG (maximal 1000 IE/h), - Bivalirudin ist nur bei Patienten mit einer geplanten invasiven Strategie Indiziert
Betablocker	Bei Tachykardie oder Hypertonie ohne Zeichen der Herzinsuffizienz

Einleitung

Patienten mit hohem Risiko profitieren zusätzlich zur medikamentösen Therapie von einer schnellen Revaskularisierung mittels perkutaner Koronarintervention (PCI).¹² Patienten mit mittlerem oder niedrigem Risiko können initial mit einer konservativen Therapiestrategie behandelt werden.⁴

Ist die Diagnose STEMI gesichert, wird nach den aktuellen Richtlinien eine PCI durchgeführt oder bei nicht möglicher Durchführung, der Patient mittels Lyse-Therapie oder Bypass-Operation therapiert.⁴¹ Besteht die Verdachtsdiagnose eines NSTEMI-ACS muss je nach individuellem Risiko des Patienten entschieden werden, wie schnell eine Koronarangiographie mit nachfolgender Revaskularisation erforderlich ist. Man unterscheidet zwischen einer dringlich invasiven Strategie (< 120 min), einer früh invasiven Strategie (< 24 h), einer invasiven Strategie (<72 h) oder einer primär konservativen Strategie (keine oder elektive Koronarangiographie).⁴² Parallel wird eine medikamentöse Therapie je nach Profil des Patienten begonnen (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Medikation zur Langzeittherapie des ACS¹¹

Betablocker	bei allen Patienten mit reduzierter LV-Funktion (LV-EF \leq 40%)
ACE-Hemmer	- bei allen Patienten ohne Kontraindikationen - innerhalb 24 h bei allen Patienten mit LV-EF \leq 40% oder Herzinsuffizienz, Diabetes, Hypertonie, Niereninsuffizienz
Angiotensinrezeptorblocker	bei Patienten mit Intoleranz gegen ACE-Hemmer
Statine	Zielwert LDL-Cholesterin <70 mg/dl (<1,8 mmol/l), so früh wie möglich nach der Klinikaufnahme

Die Revaskularisierung mittels PCI oder Bypass-Operation hat ein symptomatisches und ein prognostisches Ziel. Sind die Kriterien für eine PCI erfüllt, können okkludierte bzw. stenosierte Arterien mit der Ballon-Angioplastie aufgedehnt und gegebenenfalls mit einem einfachen oder Medikament-freisetzenden Stent (bare-metal oder drug-eluting) offengehalten werden. Sind Patienten aus anatomischen Gründen oder medizinischer Indikation nicht für eine perkutane Revaskularisierung geeignet, ist eine Bypass-Operation zu erwägen.⁴²

Dieses Prozedere stellt allerdings trotz des diagnostischen und therapeutischen Vorteils des Herzkatheters gegenüber anderen Verfahren, immer noch keine vollständig zufriedenstellende Strategie dar, da einige Patienten mit V.a. NSTEMI-ACS, die mittels Herzkatheter untersucht werden, keine oder nur geringe Veränderungen der Koronararterien zeigen.⁵ Die potentielle

Einleitung

Nutzung von neuen Biomarkern zur Diagnosestellung und Risikostratifizierung gewinnt daher immer mehr an klinischer Bedeutung.

1.2 Biomarker

Biomarker im hier verwendeten engeren Sinne, sind Zellen, Gene oder Moleküle (z. B. Proteine oder Proteinfragmente), die im Blut gemessen werden und diagnostische und prognostische Informationen über den aktuellen Status der zu untersuchenden Krankheit liefern.⁴³ Neben den Nekrosemarkern Troponin I und Troponin T, die mittels eines konventionellen, oder hochsensitiven Assays gemessen werden, sind in Bezug auf das akute Koronarsyndrom besonders in den letzten Jahren Wachstumsfaktoren erforscht worden. Zentralen Forschungsschwerpunkt bildet das vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktoren (VEGF)-System.⁴⁴ Der Wachstumsfaktor Placental growth factor (PLGF) und sein löslicher Rezeptor FMS-like Tyrosinkinase-1 (sFlt-1) nehmen unter den Wachstumsfaktoren als diagnostische und prognostische Marker und therapeutisches Ziel eine besondere Position ein.

1.2.1 PLGF und sFlt-1

Die menschlichen vaskulären Wachstumsfaktoren (VEGF) sind miteinander verwandte Proteine: VEGF-A, VEGF-B und PLGF sind hauptsächlich am Wachstum von neuen Blutgefäßen beteiligt (Angiogenese), VEGF-C und VEGF-D am Wachstum lymphatischer Gefäße.⁴⁴ Zudem stimuliert VEGF die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) und Prostaglandin I² (PGI²) in endothelialen Zellen, verstärkt die Gefäßpermeabilität und stimuliert das Wachstum und verhindert die Apoptose von endothelialen Zellen.⁴⁵

PLGF wurde ursprünglich in plazentarem Gewebe gefunden.^{46,47} Es trägt zur vaskulären Homöostase bei⁴⁸ und spielt damit physiologisch bei der Angiogenese, besonders während der Embryonalzeit, eine wichtige Rolle.⁴⁹ Die Vermittlung angiogenetischer Prozesse durch VEGF und PLGF ist durch die zwei Zelloberflächen-Rezeptoren Flt-1 und KDR reguliert.^{50,51}

Die Tyrosinkinase Flt-1 wurde ebenfalls ursprünglich in plazentarem Gewebe gefunden und später als Rezeptor für VEGF-A und -B und PLGF identifiziert.⁵² Flt-1 wird zudem besonders in endothelialen Zellen, glatten Muskelzellen der Gefäßwände und Monozyten gefunden.^{53,54} sFlt-1 ist die gespleißte lösliche Form der Tyrosinkinase und die Form des Flt-1 Rezeptors, die im Blut frei zirkuliert.⁵⁵ sFlt-1 bindet mit hoher Affinität Wachstumsfaktoren^{48,56,57} und senkt somit im Blut frei zirkulierendes PLGF und VEGF.

Abbildung 3 zeigt schematisch das Funktionsprinzip von PLGF, VEGF, Flt-1 und sFlt-1.

Einleitung

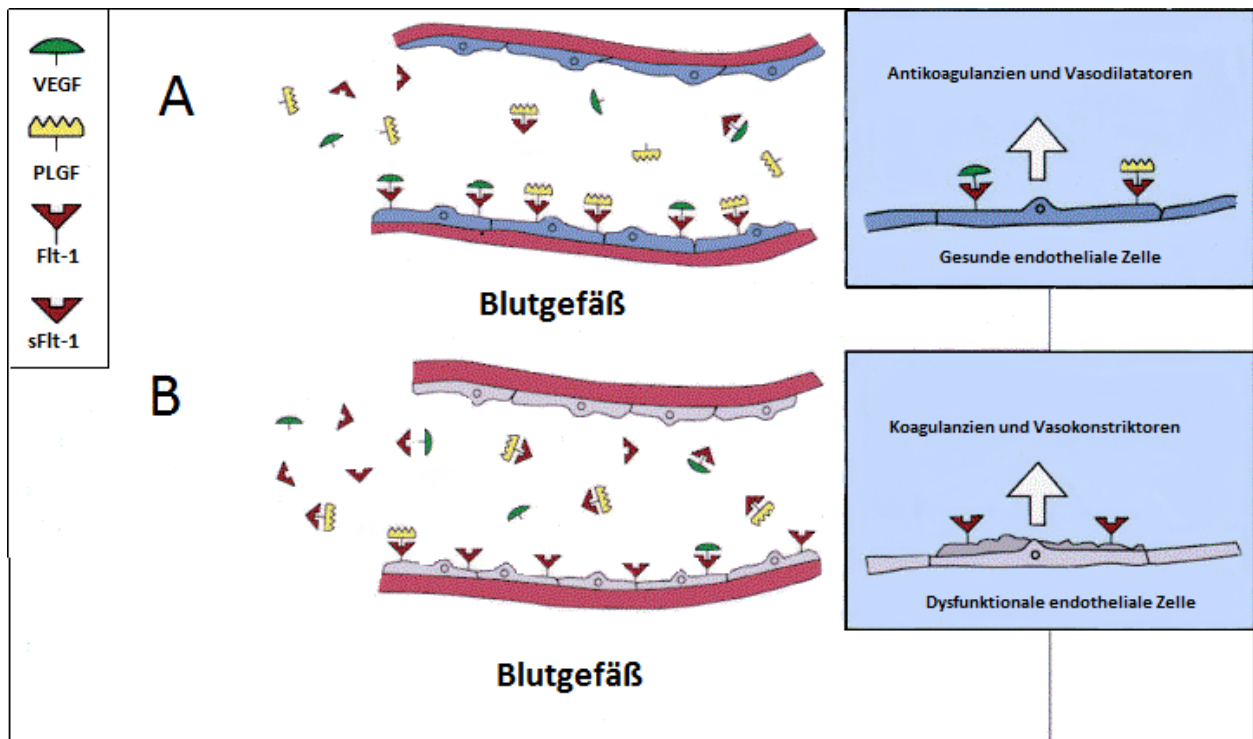


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Wirkmechanismus von PLGF, VEGF und deren Rezeptoren Flt-1 und sFlt-1 an endothelialen Zellen (Modifiziert nach Karumanchi et al. 2005) ⁵⁸

A: sFlt-1 ist im Blut in physiologischer Menge vorhanden, VEGF und PLGF binden an den endothelialen Flt-1-Rezeptor

B: sFlt-1 ist im Blut erhöht, VEGF und PLGF werden vermehrt von sFlt-1 gebunden und können nicht mehr am Flt-1 Rezeptor wirken

Ursprünglich wurde sFlt-1 als prädiktiver Marker bei Präeklampsie entdeckt. Mehrere Forschungsgruppen konnten zeigen, dass bei Schwangeren mit Präeklampsie erhöhte sFlt-1 Konzentrationen und gleichzeitig verminderte VEGF und PLGF Konzentrationen im Blut gefunden werden konnten.⁵⁹⁻⁶⁶ Maynard et al. beschrieben, dass es durch diese erhöhte Sekretion von s-Flt-1 durch die Plazenta, zirkulierendes VEGF und PLGF gebunden wurde und es zur endothelialen Dysfunktion, Bluthochdruck und Proteinurie kam.⁵⁹ Im Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass sich diese systemischen Auswirkungen auch bei nicht-Schwangeren zeigten, wenn eine erhöhte s-Flt-1 Konzentration im Blut nachgewiesen werden konnte.⁵⁹ Epidemiologisch gibt es Hinweise, dass kardiovaskuläre Risikofaktoren wie arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, ein hoher Bodymaß-Index oder kardiovaskuläre Erkrankungen in der Familie, mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung einer Präeklampsie in der Schwangerschaft einhergehen.⁶⁷ Diese Erkenntnisse unterstützen die Hypothese, dass der vaskulären Dysfunktion bei der Pathogenese der Präeklampsie eine entscheidende Rolle zukommt.⁶⁷ Studien konnten zeigen, dass eine erhöhte sFlt-1/PLGF Ratio mit der Diagnose Präeklampsie gut korreliert^{68,69} und mit der Schwere des Verlaufs assoziiert ist.⁷⁰ Die

Einleitung

Möglichkeit diese Ratio zur Risikostratifizierung von Schwangeren mit einer möglichen Präeklampsie zu nutzen,⁷⁰ legt nahe, die Bedeutung dieser Biomarker auch bei anderen mit endothelialer Dysfunktion einhergehenden (kardio-)vaskulären Erkrankungen zu untersuchen und zur Diagnose und Risikostratifizierung auch bei diesen Krankheiten einzusetzen.

In diesem Zusammenhang konnten Studien zu Tumorerkrankungen^{71,72}, choroidaler Neovaskularisation⁷³, Schlaganfall⁷⁴, renaler Dysfunktion⁷⁵ und hämatologischen Erkrankungen⁷⁶ ebenfalls einen Zusammenhang von sFlt-1 und PLGF mit diesen Erkrankungen zeigen. Eine Veränderung der sFlt-1 Konzentration im Blut kann aber auch durch andere Faktoren beeinflusst sein. Lieb et al. beobachten in ihrer Studie einen Einfluss von verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren auf VEGF und sFlt-1. So waren erhöhte VEGF Werte mit abdomineller Adipositas, Hypertension, Rauchen und dem metabolischem Syndrom assoziiert.⁴⁵ Erhöhte sFlt-1 Werte konnten bei Männern und im höheren Lebensalter gefunden werden, eine negative Assoziation zeigte sich bei Rauchern und der glomerulären Filtrationsrate. Ein Einfluss von sFlt-1 auf Gefäßstruktur oder -Funktion konnte nicht nachgewiesen werden.⁴⁵

Die Verabreichung von Heparin ist ein weiterer Faktor, der die sFlt-1 Konzentration im Blut beeinflussen kann.⁷⁷⁻⁷⁹ So konnte ein Heparin-Bindeprotein am Flt-1-Rezeptor identifiziert werden.⁷⁷ sFlt-1 wird durch Gabe von Heparin freigesetzt, da Heparin kompetitiv am Heparin-Bindeprotein bindet.⁷⁹ Die Heparinase agiert hier als ein möglicher Regulator für die Freisetzung von sFlt-1.⁷⁸ Searle et al. beschrieben einen 50-fachen Anstieg von sFlt-1 kurz nach der Applikation von Heparin bei Patienten mit Koronarer Herzkrankheit vor elektiver PCI.⁷⁹ Einen Einfluss von Heparin auf PLGF konnten Steppich et al. in ihrer Studie jedoch nicht nachweisen. Sie beschrieben allerdings eine Korrelation der PLGF Werte mit der Höhe des applizierten Kontrastmittels während der PCI.⁸⁰ Diese Ergebnisse konnten auch im Tiermodell bestätigt werden.⁸⁰ Diese Erkenntnisse sollten bei der Interpretation der sFlt-1 und PLGF Werte in einem kardiovaskulären Patientenkollektiv berücksichtigt werden, um eine Fehlinterpretation der Biomarker zu vermeiden.

1.2.2 PLGF und sFlt-1 als Marker bei kardiovaskulären Erkrankungen

In den letzten Jahren wurde zu PLGF und sFlt-1 bei kardiovaskulären Erkrankungen geforscht. Studien wurden sowohl zu den einzelnen Markern, als auch zu deren gemeinsamen Auftreten und deren Abhängigkeit zueinander bei kardiovaskulären Erkrankungen durchgeführt.

Studien zu PLGF konnten zeigen, dass durch dessen pro-angiogenetische Wirkung die Ausbildung von Kollateralgefäßen im Myokard stimuliert wird und es die Hypertrophie von Kardiomyozyten fördert.^{81,82} Eine experimentelle Studie an menschlichen Kardiomyozyten

Einleitung

zeigte, dass Hypoxie zu einer vermehrten Ausschüttung von PLGF in Kardiomyozyten führte und so den kardialen Heilungsprozess nach Ischämie begünstigte.⁸³ Neben diesem pro-angiogenetischen Effekt beschrieben andere Studien einen ungünstigen Zusammenhang zwischen PLGF und dem ACS. Khurana et al. stellten im Tiermodell durch PLGF eine vermehrte Aufnahme von Makrophagen in die Plaques und eine Verdickung der Intima im frühen Stadium der Arteriosklerose fest.⁸⁴ Dieses Plaqueswachstum stand auch eng im Verhältnis mit der Plaquevulnerabilität. Eine weitere Studie konnte zeigen, dass PLGF die Neovaskularisation im arteriosklerotischen Plaque fördert und somit Plaqueswachstum, Plaqueinblutung und -ruptur und somit Thrombusbildung fördert. Erhöhte PLGF Werte waren in dieser Studie ein erhöhtes Risiko für die Vulnerabilität eines arteriosklerotischen Plaque.⁸⁵ Cassidy et al. konnten zeigen, dass physiologisch höhere PLGF Werte in einer gesunden (weiblichen) Patientenpopulation mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit einhergingen.⁸⁶ Einige Studien konnten erhöhte Plasmawerte von PLGF als unabhängigen Marker für kardiovaskuläre Komplikationen und erhöhter Mortalität bei Patienten mit Verdacht auf ein ACS identifizieren.^{87,88} Eine Korrelation von PLGF mit kardialen Nekrosefaktoren konnte nicht nachgewiesen werden.⁸⁷ Bei negativem Troponin I konnten allerdings erhöhte PLGF Werte auf das erhöhte kardiale Risiko der Patienten hinweisen.⁸⁷ Zudem konnten hier höhere PLGF Werte bei Patienten mit instabiler Angina pectoris im Gegensatz zu Patienten mit stabiler Angina pectoris nachgewiesen werden.⁸⁷ Steppich et al. beschrieb eine Korrelation zwischen der Höhe des PLGF Werts und dem Ausmaß der Arteriosklerose.⁸⁰ Weitere klinische Studien konnten zeigen, dass PLGF alleine und in Kombination mit anderen Biomarkern zur Risikostratifizierung genutzt werden kann. Erhöhte PLGF Werte konnten Patienten mit erhöhtem Kurzzeitrisko (<30 Tage) für kardiovaskuläre Komplikationen identifizieren⁸⁷⁻⁸⁹ und zeigten eine schlechtere Langzeitprognose (>30 Tage) in Hinsicht für kardiale Ereignisse.⁸⁸

sFlt-1 steht mit PLGF in vielen Studien direkt im Zusammenhang. Bisher konnten Studien zeigen, dass meist erhöhte sFlt-1 Werte bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom gefunden wurden. Diese Erkenntnis machten sich Luttun et al. in ihrem Tiermodell zunutze. Sie zeigten, dass Antikörper (anti-Flt-1) gegen sFlt-1 das Wachstum von fortgeschrittenen arteriosklerotischen Läsionen um ca. 25% reduzieren. Dieser Effekt wurde der verminderten Makrophageninfiltration in die arteriosklerotischen Läsionen zugeschrieben. Plaqueswachstum und -vulnerabilität wurden so vermindert.⁹⁰

Chung et al. konzipierten eine Studie, die den sFlt-1 Level von gesunden Probanden mit Patienten mit chronischer KHK, ACS und akutem Myokardinfarkt verglich. Patienten mit ACS

Einleitung

wiesen signifikant höhere sFlt-1 Werte auf.⁹¹ Eine Studie von Onoue et al. zeigte, dass Patienten mit akutem Myokardinfarkt bei Aufnahme höhere sFlt-1 Werte aufwiesen als die gesunde Kontrollgruppe, Messungen der Biomarker nach 14 Tagen und sechs Monaten zeigten keinen deutlichen Unterschied mehr zwischen den untersuchten Gruppen.⁹² Hochholzer et al. konnten zeigen, dass die kombinierte Messung von sFlt-1 und Troponin I im Gegensatz zur alleinigen Troponin I Messung eine signifikante Verbesserung der diagnostischen Genauigkeit bei Verdacht auf einen akuten Myokardinfarkt liefern kann. Der negative prädiktive Wert für die Diagnose AMI betrug 98% nach einer einzigen Blutabnahme bei Aufnahme der Patienten ins Krankenhaus.⁹³ Kapur et al. zeigten in ihrer Studie, dass Patienten mit akutem koronarem Verschluss (ACO) bei Aufnahme zu 100% sFlt-1 Werte über der 99. Perzentile aufwiesen, wobei zu diesem Zeitpunkt nur 57% der Patienten erhöhte Kreatinkinase MB (CK-MB) und 85% erhöhte hochsensitive Troponin I (hs-TnI) Werte hatten. sFlt-1 Werte waren bei diesen Patienten im Vergleich zu Patienten mit stabiler AP oder nicht-ACS Patienten signifikant erhöht. Patienten mit NSTEMI oder instabiler AP zeigten auch erhöhte sFlt-1 Werte. Zusätzlich konnten sie zeigen, dass sFlt-1 Werte bereits nach 60 Minuten nach Symptombeginn signifikant angestiegen waren, im Vergleich zu den Biomarkern CK-MB und hs-TnI, die erst nach 120 Minuten nach Symptombeginn signifikant erhöht waren. Kapur et al. argumentierten anhand dieser Daten, dass sFlt-1 besonders in den ersten 120 Minuten nach Symptombeginn eine diagnostische Relevanz als Biomarker haben könnte. Dies konnte zusätzlich durch Ergebnisse im Tiermodell belegt werden, die zeigten, dass sFlt-1 signifikant innerhalb von 30 Minuten nach koronarem Verschluss anstieg.⁹⁴

Searle et al. konnten signifikant erhöhte sFlt-1 Werte bei Troponin I negativen Patienten vor und nach elektiver PCI messen, die nach dem Eingriff einen Myokardinfarkt Typ 4a entwickelten. Dieser Unterschied wurde kurzfristig durch den starken sFlt-1 Anstieg nach Heparinabgabe überdeckt, zeigte sich aber nach Abfall des Peaks nach sechs Stunden nach PCI wieder signifikant.⁹⁵

Die Studie von Onoue et al. beschrieb signifikant höhere sFlt-1 Werte bei Aufnahme von Patienten, die im klinischen Verlauf eine akute Herzinsuffizienz entwickelten und eine maschinelle Herz-Kreislauf-Unterstützung benötigten. Zusätzlich konnte in dieser Studie eine signifikante Korrelation zwischen der Höhe des sFlt Werts bei Aufnahme und der Länge des Krankenhausaufenthalts nachgewiesen werden.⁹²

Insgesamt zeigt die aktuelle Datenlage, dass PLGF und sFlt-1 Biomarker der endothelialen Dysfunktion darstellen, die als frühe Marker zur Differenzierung von Patienten mit ACS dienen können und bereits bei (drohender) myokardialer Ischämie ansteigen. Das diagnostische und

Einleitung

prognostische Potential dieser Marker, die bereits vor dem Stadium der Zellnekrose messbar sind, bietet die Möglichkeit, Risiko-Patienten mit Verdacht auf ein ACS ggf. früher zu identifizieren und eine bessere Stratifizierung und raschere Therapieeinleitung zu ermöglichen.

1.3 Zielsetzung

Der Nutzen von PLGF und sFlt-1 als diagnostische und prognostische Marker bei Patienten mit akuten kardiovaskulären Symptomen ist noch nicht ausreichend geklärt. Der etablierte Biomarker Troponin hat trotz immer höherer Genauigkeit mittels des hochsensitiven Assays immer noch eine zu große zeitliche Grauzone und zeigt nur den eingetretenen, nicht aber den drohenden Myokardschaden an. Hier können neuartige Biomarker wie PLGF und sFlt-1 von Nutzen sein, die Marker der endothelialen Dysfunktion darstellen und bereits vor Ischämiebedingter Zellnekrose erhöht sind. Das Intervall von Symptombeginn bis zu einer endgültigen Diagnose könnte somit verkürzt werden. Zusätzlich muss geklärt werden, ob PLGF und sFlt-1 prognostische Informationen liefern, die zur Risikostratifizierung und Prognoseabschätzung eines Patienten genutzt werden können.

Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit folgenden Fragestellungen:

1. Können PLGF und sFlt-1 als diagnostische Marker zur Differenzierung der verschiedenen Entitäten bei Patienten mit Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom eingesetzt werden?
2. Können PLGF und sFlt-1 bei Patienten mit akuten kardiovaskulären Symptomen, die initial kein erhöhtes Troponin I haben, nach bereits einer Blutabnahme die Diagnosegenauigkeit oder den Ausschluss eines NSTEMI verbessern?
3. Können PLGF und sFlt-1 als prognostische Marker bei Patienten mit kardiovaskulären Symptomen, das Mortalitätsrisiko oder das Risiko für eine Rehospitalisierung vorhersagen?

2 Methoden und Studienpopulation

2.1 Studienprotokoll

Die folgende Analyse wurde am gesamten Patientenkollektiv (n=537) der BIC-2 Studie (Biomarkers in Cardiology-2) durchgeführt. Die BIC-2 Studie ist eine prospektive, bizenrische klinische Studie, die Blutproben von akut erkrankten Patienten mit den Symptomen Luftnot und Brustschmerz auf verschiedene Parameter untersucht. Alle Patienten die sich entweder mit dem Leitsymptom Dyspnoe oder Brustschmerz in der Notaufnahme der Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte oder Campus Virchow Klinikum vorstellten, erhielten im Rahmen der Routineblutabnahme bei Aufnahme eine zusätzliche Blutprobenentnahme.

Die Teilnahme an der BIC-2 Studie erfolgte nach strenger Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien und der Vorlage der schriftlichen Einverständniserklärung des Patienten. Der jeweilige Patient wurde sorgfältig über den Ablauf der Studie informiert und die Möglichkeit, die Zustimmung ohne Nennung von Gründen, jederzeit zurück zu ziehen. Die BIC-2 Studie wurde unter Berücksichtigung der ICH-GCP-Kriterien (International Conference of Harmonisation Guideline for Good Clinical Practice) durchgeführt.⁹⁶ Alle Personen, die an der Studie mitgewirkt haben, haben die Deklaration von Helsinki und ihre Amendments zur Kenntnis genommen und sich verpflichtet, diese nach bestem Wissen und Gewissen zu beachten.⁹⁷ Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité Campus Virchow Klinikum genehmigt (Ethikvotum Nr. EA2/030/07 vom 22.03.2007).

2.2 Studienkollektiv

Es wurden insgesamt 546 Patienten in die BIC-2 Studie eingeschlossen. Für die Analyse der vorliegenden Arbeit wurden 537 Patienten untersucht. Neun Patienten wurden wegen vorzeitigem Austritt aus der Studie oder bestehender Ausschlusskriterien von der Analyse ausgeschlossen. Die eingeschlossenen Patienten wurden vom Februar 2008 bis zum August 2010 in den Notaufnahmen der Charité- Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum und Campus Mitte rekrutiert. Alle Patienten, die mit den Symptomen Dyspnoe oder Brustschmerz die Notaufnahmen aufsuchten, waren potentiell für die Studie geeignet. Der behandelte Arzt informierte die Studienärzte, die nach Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien und schriftlicher Einverständniserklärung, den Patienten in die Studie einschlossen.

Für die Studie galten folgende Ein- und Ausschlusskriterien:

Methoden

Einschlusskriterien

- Grund für Aufsuchung der Notaufnahme sind die Symptome Dyspnoe und/oder Brustschmerz
- Patient ist ≥ 18 Jahre und fähig Einverständniserklärung zu unterschreiben

Ausschlusskriterien

- $Hb \leq 10$ mg/dl
- Lebenserwartung ≤ 6 Monate
- Schockzustand
- Minderjährigkeit
- Unterbringung in einer Anstalt auf gerichtliche oder behördliche Anordnung

Wurden alle Ein- und Ausschlusskriterien eingehalten, wurde der Patient unabhängig von der Verdachtsdiagnose in die Studie eingeschlossen (siehe Abbildung 4).

2.3 Studienablauf

2.3.1 Schematischer Ablauf der Studie

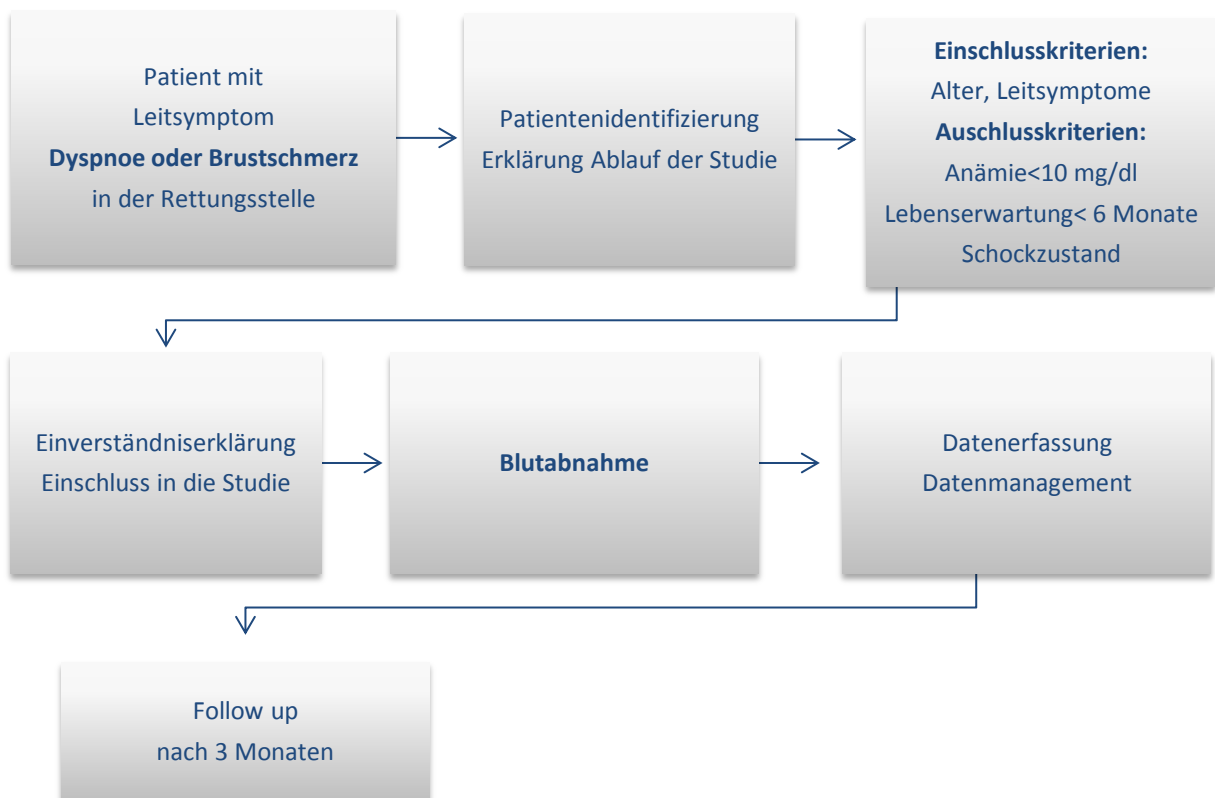


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Studienablaufs der BIC-2 Studie

2.3.2 Probengewinnung und Probenlogistik

Vor Einschluss eines Patienten wurde für jede Studiennummer eine Studientüte mit den nötigen Utensilien gepackt. Die Tüte enthielt Vakuum-Röhrchen, die mit der jeweiligen Patienten-Identifikationsnummer (Patienten-ID) versehen waren und einen Laborbegleitschein für die Blutabnahme, auf dem nach Einschluss der Name, das Geburtsdatum und die Patienten-ID eingetragen wurden. Auf dem Laborbegleitschein wurde jeder Schritt von der Blutabnahme bis zur Lagerung mit Uhrzeit und Datum dokumentiert und von der ausführenden Person unterschrieben. Die Kryoboxen zur Lagerung der Aliquots und die beschrifteten Aliquots (Patienten-ID- plus 1 bis 6 für 1. bis 6. Aliquot) befanden sich ebenfalls in der Studientüte.

Die Blutentnahme erfolgte durch medizinisches Fachpersonal der Notaufnahmen der Charité, Campus Virchow Klinikum oder Campus Mitte, durch Studienärzte oder angeleitete Mitarbeiter der Arbeitsgruppe BIC-2. Jede Blutentnahme erfolge nach demselben klinischen Standard.

Es wurden insgesamt 40ml venöses Blut aus der Cubitalvene im Rahmen der Routineblutabnahme zusätzlich entnommen. Die Blutentnahme bestand insgesamt aus folgenden Proben: 2x 2,0ml EDTA (Vollblutprobe), 8.5ml EDTA Plasma (PPT), 5 ml EDTA Plasma (PPT), 6 ml Citratplasma, 8ml Lithium Heparin Plasma (PST), 8,5ml Serum (SST).

Nach Abnahme der Blutprobe wurden die beiden EDTA Röhrchen für 30 min bei Raumtemperatur gelagert und dann bei -20° C eingefroren. Die restlichen Röhrchen wurden bis zur Zentrifugation im Kühlkissen aufbewahrt. Insgesamt wurde für 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen und 2 ° C zentrifugiert. Zur Lagerung wurden jeweils 200 µl Serum in sechs Aliquots mit einem Fassungsvermögen von 500 µl (von der Firma Nerbe Plus, Nr. 05-642-0100) pipettiert und das sechste Aliquot mit dem Restmaterial aufgefüllt. Im Anschluss wurden diese ebenfalls bei -20° C tiefgefroren. Innerhalb von zwei Wochen wurden alle Proben im Zentrallabor des Virchow Klinikums der Charité- Universitätsmedizin Berlin bei -80° C gelagert. Zur Pseudonymisierung wurde für jeden Patienten eine Nummer (Patienten- ID) vergeben. Zur Standardisierung der einzelnen Schritte wurden Standard Operating Procedures (SOP) erstellt, die von jedem beteiligten Mitarbeiter einzuhalten waren.

2.3.3 Datenerhebung und Dokumentation

Folgende Daten wurden im Rahmen der Studie mittels eines Fragebogens erhoben:

- Klinische Basisdaten (Alter, Größe, Gewicht, Anamnese, körperlicher Untersuchungsbefund, Herzfrequenz und Blutdruck nach 5 min sitzend in Ruhe, Atemfrequenz, Sauerstoffsättigung, Temperatur)

Methoden

- im Rahmen der Routineversorgung wurde in der Notaufnahme bei jedem Patienten direkt bei der Aufnahme ein 12-Kanal-EKG geschrieben und
- Standard-Routinelaborbefunde

Nach dem aktuellen klinischen Standard zum Zeitpunkt der Studie wurde jeder Patient nach den kardialen Scores NYHA, Killip, CCS, Braunwald und retrospektiv nach dem GRACE-Score klassifiziert. NYHA- und CCS-Score wurde vom behandelnden Arzt erhoben, die Killip-Klassifikation und der Braunwald-Score wurde vom Studienmitarbeiter anhand der klinischen Daten erstellt. Der GRACE-Score wurde zum Zeitpunkt der Datenauswertung errechnet.

Mit der Einverständniserklärung wurde für jeden Patienten ein standardisierter Datenbogen erstellt, der alle Basisdaten, anamnestische und klinische Daten, die im Bezug zu kardialen Erkrankungen stehen, erfasste. Der Erste-Hilfe Bogen, Befunde und Daten die während des klinischen Aufenthalts und möglicherweise innerhalb des Follow-up Zeitraums bei einem erneuten stationären Aufenthalt erhoben wurden, wurden gesammelt und in ein elektronisches Datenerfassungs-System (eCRF) übertragen.

Der eCRF ist in sechs Abschnitte unterteilt. Abschnitt A (Enrolment) dokumentiert den Einschluss der Patienten, mit den dazugehörigen Daten. Abschnitt B (medical history) erfasst die Basisdaten, Risikofaktoren, Krankengeschichte und aktuelle Medikation des Patienten. Abschnitt C dokumentiert die Ergebnisse der klinischen Untersuchung und der Blutuntersuchung des Patienten bei Aufnahme. Abschnitt D beinhaltet die durchgeführten Therapiemaßnahmen während des Krankenhausaufenthalts. Abschnitt E erfasst die Diagnosen der Patienten bei Entlassung aus dem Krankenhaus. Abschnitt F erfasst alle gesammelten Daten aus dem Follow-up (FU).

2.3.4 Diagnose

Die Enddiagnosen wurden am Ende des Dokumentationsprozess in folgende Gruppen zusammengefasst: Akutes Koronarsyndrom (Subgruppen: STEMI, NSTEMI, instabile Angina pectoris), chronische koronare Herzkrankheit, akute und chronische Herzinsuffizienz, plötzlicher Herztod, Vorhofflimmern, andere kardiale Erkrankungen, Lungenarterienembolie, COPD/Asthma, Hypertension und andere nicht-kardiale Erkrankungen. Die Enddiagnose wurde retrospektiv nach Durchsicht sämtlicher vorhandener Krankenhaus-Daten durch einen unabhängigen Facharzt für Innere Medizin/Kardiologie der Universitätsmedizin Charité gestellt, der gegenüber den Biomarker-Ergebnissen verblindet war.

2.3.5 Follow-up und Monitoring

Es wurde ein telefonisches 3-Monats-Follow-Up durchgeführt. Dabei wurde nach Rehospitalisation oder Tod innerhalb der ersten drei Monate nach Einschluss in die Studie gefragt. War der Patient innerhalb dieses Zeitraums in stationärer Behandlung, wurde die Krankenakte nach erneuter mündlicher Einwilligung des Patienten angefordert und die für das Follow-up benötigten Daten gesammelt und in den eCRF eingetragen. Konnte ein Patient telefonisch nicht erreicht werden, wurde ein standardisierter Brief mit Antwortbogen an die Patienten verschickt. Der Patient hatte daraufhin die Möglichkeit das Studienteam telefonisch zu kontaktieren oder den Antwortbogen per Post zurückzusenden. Adressat war das Studiensekretariat der Internistischen Notaufnahme der Charité, Campus Virchow Klinikum. Bei Patienten die weder telefonisch noch per Brief kontaktiert werden konnten, wurde beim angegebenen Hausarzt oder dem Einwohnermeldeamt nach neuen Kontaktdaten bzw. Todesdatum gefragt. Patienten, zu denen keine Kontaktaufnahme möglich war wurden im eCRF als „verloren“ gekennzeichnet. Das Follow Up konnte bei 511 Patienten (95%) vollständig durchgeführt werden.

Im Zeitraum vom April 2010 bis November 2010 wurde durch die Firma Mercura Institut für medizinische Forschung ein unabhängiges Monitoring der Studiendaten durchgeführt. Es wurden die Eingabe aller Basisdaten der 546 Patienten überprüft und zusätzlich eine Vollmonitoring von 25 zufällig ausgewählten Datensätzen pro 100 Patienten durchgeführt.

2.4 Biomarker Bestimmung

Die Bestimmung der Biomarker PLGF und s-Flt-1 wurde aus Serum, das aus 8,5 ml venösem Blut gewonnen wurde, durchgeführt. Die Bestimmung von Troponin I erfolgte aus 3ml Lithium-Heparin-Blut in der klinischen Routine.

2.4.1 Die Bestimmung von Troponin I

Die Bestimmung von Troponin I erfolgte in der Notaufnahme routinemäßig aus Lithium Heparin-Blut durch den Stratus CS Analyser (Siemens Healthcare). Der Cut-off Wert liegt bei $\geq 0.1 \mu\text{g/l}$, Werte die darüber lagen, wurden als positiv gewertet.

2.4.2 Messung der Biomarker PLGF und sFlt-1

Die quantitative Messung der Biomarker PLGF und s-Flt-1 wurden mit einem 2-Schritt Mikropartikelimmunoassay durchgeführt. Beide Immunoassays waren ARCHITECT Prototypen der Firma Abbott (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL).

Die allgemeine Funktionsweise eines Mikropartikelimmunoassays ist wie folgt: Mikropartikel sind chemisch an monoklonale Antikörper gebunden. Diese binden das zu messende Medium. Der Mikropartikel/Antikörper-Komplex wird nun durch Hinzugeben eines zweiten spezifischen Antikörpers, der eine fluoreszierende Domäne trägt, detektiert. Der spezifische Antikörper kann nur an Mikropartikel/Antikörper-Komplexe binden und steht somit relativ im Verhältnis zum entsprechend zu messenden Analyt. Durch eine chemische Reaktion wird elektromagnetische Strahlung erzeugt. Diese wird im Bereich des ultravioletten und sichtbaren Lichtes emittiert. Die Konzentration des zu messenden Analyt wird im relativen Vergleich zu einer kalibrierten Standard-Kurve von bekannten Konzentrationen des zu messenden Analyt bestimmt.⁹⁸

Der schematische Ablauf des Assays ist in Abbildung 5 dargestellt. Die Durchführung erfolgt nach den Richtlinien des Herstellers.

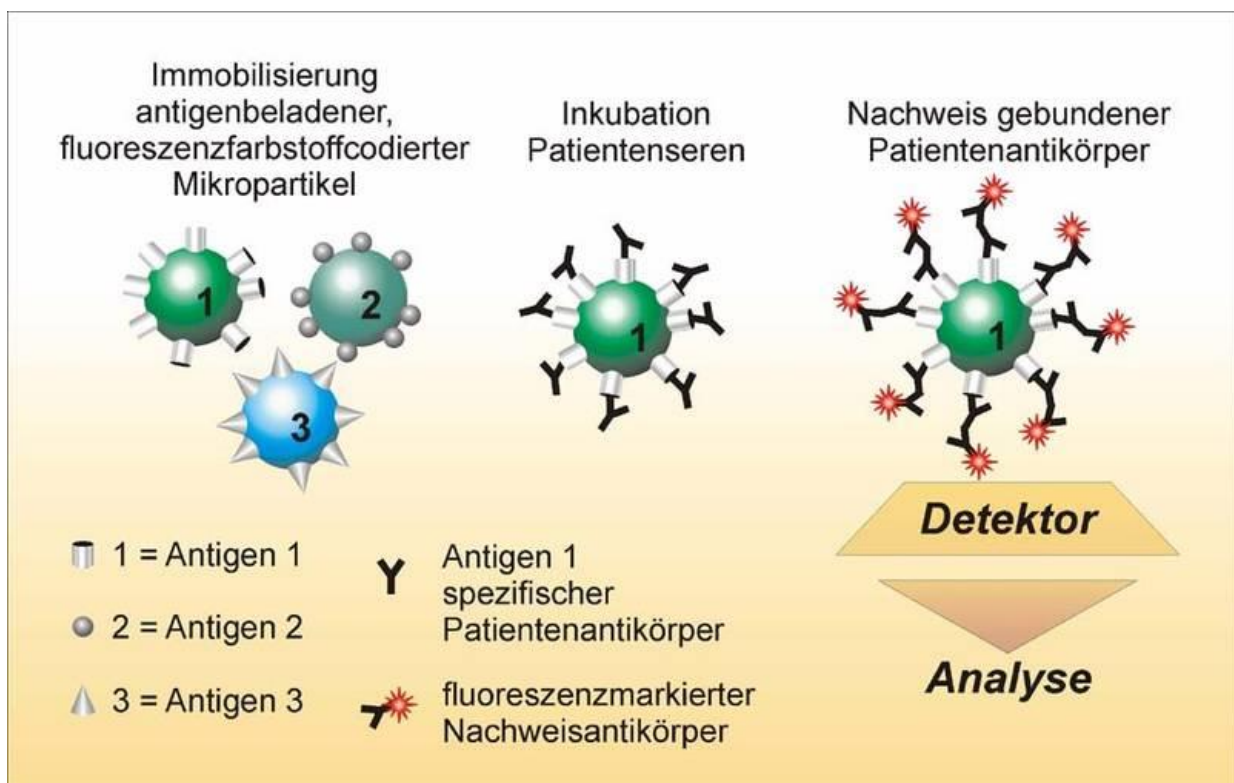


Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Mikropartikelimmunoassays⁹⁸

2.4.2.1 Reagenzien

Für den Immunoassay zur Bestimmung von PLGF und sFlt-1 werden folgende Reagenzien benötigt:

Mikropartikel: Anti-PLGF beschichtete paramagnetische Mikropartikel (Maus, monoklonal) und Anti-sFlt-1 Antikörper beschichtet paramagnetische Mikropartikel (Maus, monoklonal) in Tris-Pufferlösung mit Proteinstabilisator (Rind), Konservierungsmittel (PLGF): Pro Clin[®] 300, Konservierungsmittel (S-Flt): Pro Clin[®] 950.

Konjugat: Akridinum- markiertes Anti-PLGF Konjugat (Maus, monoklonal) und Anti-sFlt-1 Antikörper Konjugat (Maus, monoklonal) in MES Puffer mit Proteinstabilisator (Rind). Konservierungsmittel: Pro Clin[®] 300

ARCHITECT Kalibrator PLGF Kit (6L08A – F): Kalibrator A in MES Puffer mit Proteinstabilisator (Rind). Kalibrator B bis F mit PLGF (Rekombinant) in MES Puffer mit Proteinstabilisator (Rind). Konservierungsmittel: ProClin[®] 300

ARCHITECT Kalibrator sFlt-1 Kit (6L93A – F): Kalibrator A in Phosphatpuffer mit Proteinstabilisator (Rind), Kalibrator B bis F mit sFlt-1 (Rekombinant) in Phosphatpuffer mit Proteinstabilisator (Rind). Konservierungsmittel: ProClin[®] 950

Kontroll Reagenz: PLGF (Rekombinant) in MES Puffer mit Proteinstabilisator (Rind). Konservierungsmittel: ProClin[®] 300 oder sFlt-1 (Rekombinant) in Phosphatpuffer mit Proteinstabilisator (Rind). Konservierungsmittel: ProClin[®] 950

Pre-Triggerlösung: Pre-Triggerlösung mit 1,32% Wasserstoffperoxid

Triggerlösung: Triggerlösung mit 0,35 mol/l Natriumhydroxid

Waschpuffer: Waschpuffer mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung. Konservierungsmittel: Antibakterieller Zusatz

2.4.2.2 2-Schritt ARCHITECT Mikropartikelimmunoassay

Die Proben (75 µl) werden mit einem Mikropartikel-Reagenz (50 µl) und Verdünnungsmittel (90 µl) automatisch gemischt. Diese Mischung wird für 18 Minuten bei 37° Celsius im ARCHITECT Analyser inkubiert. Mikropartikel werden mit dem ARCHITECT Wasch-Pufferlösung abgewaschen und dann für vier Minuten mit der Tracer-Substanz (50 µl) vermischt. Nach einem zweiten Waschgang werden Pre-Trigger- und Trigger-Substanz hinzugefügt und das chemilumineszente Signal gemessen. In dieser Form benötigt der ARCHITECT 2000i Assay 25 Minuten und hat eine maximale Durchlaufzeit von 200 Tests pro Stunde.⁹⁹

2.4.2.3 Immunoassay zur Bestimmung von PLGF

Der Immunoassay zur Messung von PLGF, misst die ungebundene Isoform PLGF-1. Es besteht eine mögliche Messbreite von 1 bis 1500 pg/ml, der Konzentrationsbereich in dem akkurat gemessen werden kann, liegt zwischen 18-1200 pg/ml. Die Inter- und Intraassay-Variation beläuft sich auf 4% bis 6.7% und 1.8% bis 6.7%.

Das ARCHITECT-PLGF Assay ist ein 2-Schritt Mikropartikelimmunoassay um PLGF im menschlichen Serum mit Hilfe eines Chemilumineszenz-Micropartikel-Immunoassays (CMIA) nachzuweisen. Im ersten Schritt werden Probe, Verdünnungslösung und anti-PLGF monoklonale Antikörper-bedeckte Micropartikel zusammen gemischt. Vorhandenes PLGF in der Probe bindet an die monoklonalen Antikörper-bedeckte Micropartikel. Nach Inkubation und Waschschrift wird im zweiten Schritt ein Acridinium-gekennzeichneter anti-PLGF monoklonaler Antikörper - Konjugat hinzugegeben. Nach einer weiteren Inkubation und Wäsche werden Pre-Trigger- und Trigger- Substanz hinzugefügt. Die nun eintretende Chemilumineszenz-Reaktion wird in relativen Licht-Einheiten (RLE) gemessen. Je höher die Konzentration von PLGF in der Probe ist, desto mehr RLE werden gemessen.

2.4.2.4 Immunoassay zur Bestimmung von sFlt-1

Der sFlt-1 Immunoassay misst sowohl freies als auch gebundenes sFlt-1. Der mögliche Messbereich beläuft sich von 15 bis 50000 pg/ml, eine akkurate Messung ist im Konzentrationsbereich von 150-7200 pg/ml möglich. Die Inter- und Intraassay-Variation variiert von 1.3% bis 5.2% und 1.9% bis 5.9%.

Das ARCHITECT sFlt-1 Immunoassay ist ein 2-Schritt Mikropartikelimmunoassay um sFlt-1 im menschlichen Serum mit Hilfe von CMIA nachzuweisen. Die einzelnen Schritte erfolgen wie bereits beim PLGF Immunoassay beschrieben identisch mit anti-sFlt-1 monoklonalen Antikörper-bedeckten Mikropartikeln.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Statistical Package for Social Science Version 19 (SPSS IBM) für Windows. Numerische Daten wurden als Median mit 25. und 75. Perzentilen dargestellt, kategoriale Variablen als relative bzw. absolute Häufigkeit. Die relative Häufigkeit ist dargestellt als valide Prozent, also als Proportion der Patienten mit validen Werten. Für nominale Merkmale wurde als Signifikanztest der Chi-Quadrat-Test nach Pearson verwendet. Für metrische Daten wurde die Signifikanz bei nicht normalverteilten Daten mit dem Mann-Whitney-Test und dem Kruskal-Wallis Test berechnet. Die ROC-Kurven

Methoden

(Receiver Operator Characteristics-Kurven) wurden für die Berechnung der Fläche unter der ROC-Kurve (AUC= area under the curve) zur Darstellung der diskriminierenden Eigenschaften der untersuchten Biomarker hinsichtlich Diagnose und Prognose berechnet. Die Sensitivität und Spezifität, sowie prädiktive Werte von PLGF und sFlt-1 wurden anhand der Standardformeln aus Kreuztabellen berechnet. Die Daten wurden grafisch als Box-Plots dargestellt. Die Whisker stellen die Werte dar, die sich innerhalb des 1,5-fachen Interquartilabstands befinden. Als Ausreißer gelten die Werte, die sich zwischen dem 1,5- und 3-fachen Interquartilabstand darstellen. Die Werte, die größer als der 3-fache Interquartilabstand sind, werden als Extremwerte bezeichnet. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika des Patientenkollektives und Basisdaten

3.1.1 Patientencharakteristika

Insgesamt wurden 537 Patienten ausgewertet. Das Durchschnittsalter lag bei 66 (Interquartilsabstände: 56-73) Jahren und die Geschlechterverteilung lag bei 62,6% (n=336) männlichen und 37,4% (n=201) weiblichen Patienten. Insgesamt wurden 189 Patienten mit der Enddiagnose ACS in die Studie eingeschlossen, davon hatten 21,0 % (n=113) eine instabile AP, 10,8 % (n=58) die Diagnose NSTEMI und 3,4 % (n=18) die Diagnose STEMI. Die Häufigkeit aller Hauptdiagnosen des Patientenkollektives ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Verteilung der Hauptdiagnosen nach ihrer Häufigkeit

Enddiagnosen	Anzahl der Patienten (n) (n=537)	Prozent (%)
IAP	113	21,0
Nicht kardialer Brustschmerz	85	15,8
NSTEMI	58	10,8
Arterieller Hypertonus	51	9,5
Akute Herzinsuffizienz	48	8,9
Vorhofflimmern	35	6,5
COPD/Asthma	44	8,2
Pneumonie	27	5,0
STEMI	18	3,4
Andere	18	3,4
Andere kardiale Erkrankungen	21	3,9
Lungenarterienembolie	11	2,0
Chronische Herzinsuffizienz	6	1,1
Chronische Koronare Herzerkrankung	2	0,4

Mit dem Leitsymptom Dyspnoe stellten sich insgesamt 56,8% (n=305) der Patienten vor, 43,2% (n=232) der Patienten zeigten das Leitsymptom Brustschmerz.

Patientencharakteristika, Risikofaktoren, laborchemischen Parameter und die Endpunkte Tod und Rehospitalisierung im Vergleich zwischen Patienten mit IAP, NSTEMI und STEMI sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Ergebnisse

Der arterielle Hypertonus mit 69,6% (n=373) und die Hyperlipidämie mit 52,5% (n=281) waren die häufigsten Risikofaktoren. In der Gruppe der IAP-Patienten zeigte sich der Risikofaktor „positive Familienanamnese“ mit 41,4% (n=46) im Vergleich zu den anderen Gruppen als besonders hoch.

Insgesamt wurden innerhalb des Follow-up Zeitraumes von 3 Monaten 17,0% der Patienten rehospitalisiert (n=87) und 3,7% der Patienten verstarben (n=20). Patienten, deren medizinischer Verlauf nicht nachverfolgt werden konnte galten als „Lost to Follow-up“. Dies betraf hinsichtlich der Rehospitalisierung 26 Patienten (4,8%) und hinsichtlich der Mortalität 3 Patienten (0,6%).

Tabelle 7: Patientencharakteristika

	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p- Wert
Klinische Charakteristika					
Geschlecht männlich % (n)	62,6 (336)	66,7 (12)	63,8 (37)	74,3 (84)	0,023
Alter (Jahre) *	66 (56/73)	62 (49/68)	71 (64/77)	67 (59/73)	0,007
Herzfrequenz (/min)*	80 (69/97)	83 (66/96)	79 (70/91)	71 (61/80)	0,002
Blutdruck systolisch (mmHg)*	140 (126/157)	139 (117/149)	146 (132/163)	140 (125/160)	0,214
Blutdruck diastolisch (mmHg)*	82 (71/91)	83 (70/96)	83 (75/94)	79 (71/87)	0,106
BMI (Gewicht kg/ Größe m ²)*	27 (24/31)	28 (27/32)	27 (24/30)	27 (25/32)	0,099
GFR (MDRD)*	69,92 (55,55/86,01)	80,47 (51,07/102,75)	67,49 (55,64/80,11)	68,90 (58,41/81,37)	0,213
Risikofaktoren					
Diabetes mellitus % (n)	26,6 (142)	27,8 (5)	36,2 (21)	27,7 (31)	0,009
Arterieller Hypertonus % (n)	69,6 (373)	88,9 (16)	70,7 (41)	78,8 (89)	0,074
Hyperlipidemie % (n)	52,5 (281)	66,7 (12)	58,6 (34)	67,3 (76)	0,004
Positive Familienanamnese % (n)	26,8 (143)	22,2 (4)	13,8 (8)	41,4 (46)	0,003
Nikotinabusus % (n)					0,195
Raucher	30,0 (160)	55,6 (10)	22,4 (13)	28,3 (32)	
Ex-Raucher	32,0 (171)	11,1 (2)	32,8 (19)	33,6 (38)	
Laborchemische Parameter					
CK (U/l)*	97 (67/151)	183 (115/266)	133 (84/207)	96 (67/128)	<0,001
Troponin I (ug/ml)*	0,01 (0,00/0,06)	0,25 (0,08/1,26)	0,31 (0,14/0,76)	0,01 (0,00/0,02)	<0,001
Cholesteroll (mg/l)*	181 (148/208)	158, 117, 210 (n=3)	236, 172, 252 (n=3)	181 (142/210)	0,266
LDL (mg/dl)*	102 (84/136)	89 (69/129)	140 (103/191)	103 (80/127)	0,100
HDL (mg/dl)*	44 (34/59)	33 (31/38)	43 (33/49)	45 (35/50)	0,150
Hb (g/dl)*	14,1 (12,9/14,9)	14,4 (14,1/14,9)	13,9 (12,4/14,6)	14,3 (13,3/15,0)	0,053

Ergebnisse

(Fortsetzung)	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p- Wert
aPTT*	35 (31/45)	52 (31/124)	37 (33/107)	35 (32/51)	0,152
Kreatinin (mg/dl)*	0,98 (0,82/1,21)	0,90 (0,77/1,20)	0,96 (0,86/1,17)	1,01 (0,85/1,19)	0,369
Endpunkte					
Rehospitalisierung % (n)	17,0 (87) Lost n=26	17,6 (3) Lost n=1	16,1 (9) Lost n=2	19,8 (21) Lost n=7	0,859
Tod % (n)	3,7 (20) Lost n=3	0,0 (0) Lost n=0	3,4 (2) Lost n=0	0,9 (1) Lost n=0	0,202

BMI= Body Mass Index; IQA=Interquartilsabstand; GFR= Glomuläre Filtrationsrate; CK= Creatinkinase; LDL= Low density lipid; HDL= High density lipid; Hb= Hämoglobin; aPTT= partielle Thromboplastinzeit. * Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Die Stadien I bis IV der NYHA-Klassifikation waren im gesamten Patientenkollektiv etwa gleich vertreten (Tabelle 8). Das Stadium IV der CCS-Klassifikation war im gesamten Patientenkollektiv mit 32,1% (n=168) im Vergleich zu den anderen Stadien am stärksten vertreten. Der GRACE-Score lag im Median im Gesamtkollektiv bei 113 (IQR: 89/ 135) Punkten. Bei Patienten mit einem NSTEMI lag der GRACE-Score mit 132 (116/155) im Median am höchsten.

Tabelle 8:NYHA/CCS-Klassifikation und GRACE-Score

	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p-Wert
NYHA I % (n)	22,3 (118)	43,8 (7)	24,1 (14)	28,3 (32)	0,032
NYHA II % (n)	27,3 (144)	25,0 (4)	27,6 (16)	26,5 (39)	0,993
NYHA III % (n)	28,8 (152)	6,3 (1)	22,4 (13)	31,0 (35)	0,127
NYHA IV % (n)	21,6 (114)	25,0 (4)	25,9 (15)	14,2 (16)	0,178
CCS I % (n)	17,4 (91)	12,5 (2)	8,6 (5)	7,2 (8)	<0,001
CCS II % (n)	11,8 (62)	12,5 (2)	12,1 (7)	13,5 (15)	0,553
CCS III % (n)	10,1 (53)	6,3 (1)	20,7 (12)	18,0 (20)	0,033
CCS IV % (n)	32,1 (168)	68,8 (11)	46,6 (27)	59,5 (66)	<0,001
GRACE- Score	113 (89/135)	126 (110/147)	132 (116/155)	107 (87/126)	<0,001

NYHA = New York Heart Association; CCS = Canadian Cardiovascular Society; GRACE = Global Registry of Acute Coronary Events.

Im Folgenden sind die wichtigsten kardialen Vor- und Begleiterkrankungen des Patientenkollektives beschrieben (Tabelle 9). Patienten mit der Diagnose IAP und NSTEMI zeigten im Vergleich zu den Patienten mit STEMI häufiger Vorerkrankungen. Die KHK ist mit

Ergebnisse

45,3 % (n=243) die häufigste Vorerkrankung unter allen Patienten, 33,2% (n=178) aller Patienten hatten bereits in der Vorgeschichte einen Myokardinfarkt.

Tabelle 9: Kardiale Vorerkrankungen/Begleiterkrankung

	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p-Wert
Vorbestehende KHK % (n)	45,3 (243)	22,2 (4)	60,3 (35)	77,0 (87)	<0,001
Z.n. MI % (n)	33,2 (178)	16,7 (3)	46,6 (27)	60,2 (68)	<0,001
Z.n. Schlaganfall % (n)	9,9 (53)	5,6 (1)	6,9 (4)	10,6 (12)	0,895
PAVK % (n)	7,3 (39)	5,6 (1)	13,8 (8)	9,7 (11)	0,271
Renale Vorerkrankung % (n)	20,0 (107)	5,6 (1)	17,2 (10)	19,5 (22)	0,725

KHK = Koronare Herzkrankheit; MI = Myokardinfarkt; PAVK = Periphere arterielle Verschlusskrankheit.

Die aktuelle Hausmedikation der Patienten zeigte, dass Patienten der Gruppe IAP und NSTEMI mehr kardiale Medikamente einnahmen (Tabelle 10). ASS und Statine waren hier die häufigsten Medikamente. Plättchenaggregationshemmer wie Clopidogrel und Nitrate wurden in der Gruppe der STEMI Patienten nicht eingenommen.

Tabelle 10: Medikamente bei Aufnahme

	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p-Wert
ASS % (n)	44,5 (239)	16,7 (3)	60,3 (35)	70,8 (80)	<0,001
Statine % (n)	42,6 (226)	33,3 (6)	56,9 (33)	67,3 (76)	<0,001
Clopidogrel % (n)	14,8 (79)	0,0 (0)	17,5 (10)	34,8 (39)	<0,001
Nitrate % (n)	11,0 (59)	0,0 (0)	19,0 (11)	20,4 (23)	<0,001
ACE- Hemmer % (n)	42,9 (230)	33,3 (6)	41,4 (24)	55,4 (62)	0,024
β-Blocker % (n)	55,5 (298)	61,1 (11)	63,8 (37)	74,3 (84)	<0,001

ASS = Acetylsalicylsäure; ACE-Hemmer = Angiotensin Converting Enzym Hemmer

3.1.2 Klinische Untersuchungen

Bei 99,6% (n= 535) der Patienten wurde bei Aufnahme ein 12-Kanal EKG geschrieben, bei 45,6% (n=245) der Patienten wurde eine Echokardiographie durchgeführt (Tabelle 11). Bei 2 Patienten wurde kein EKG dokumentiert. Beide Patienten stellten sich mit dem Leitsymptom Dyspnoe vor und hatten pulmonale Enddiagnosen (Pneumonie, Asthma bronchiale).

In der EKG Auswertung zeigte sich, dass 78,8% (n= 423) Patienten einen Sinusrhythmus hatten, Patienten mit einem NSTEMI litten etwas vermehrt an Vorhofflimmern (12, 3% (n=7)). Insgesamt zeigten 6 Patienten ST-Hebungen im initialen EKG, welche final nicht als STEMI

Ergebnisse

adjudiziert wurden. Von diesen hatten 3 Patienten ST-Hebungen welche auf eine alte Infarkt Narbe zurückzuführen waren und weitere 3 Patienten zeigten keine Infarkt-typischen ST-Hebungen. Zwei Patienten zeigten im initialen Aufnahme-EKG keine ST-Hebungen, sondern erst zu einem späteren Zeitpunkt in einem Folge-EKG, so dass diese erst später der Gruppe STEMI zugeordnet wurden. Die Gruppen STEMI, NSTEMI und IAP wurden dem entsprechend final anhand der Entlassungsdiagnosen erstellt.

Im Echo hatten insgesamt 19,7% (n=106) der Patienten eine diastolische Dysfunktion, die durchschnittliche LVEF lag bei 55%.

Tabelle 11: Klinische Untersuchungen

	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p- Wert
EKG					
Sinusrhythmus % (n)	78,8 (423)	94,4 (17)	80,7 (46)	90,2 (101)	0,004
Vorhofflimmern % (n)	14,7 (78)	5,6 (1)	12,3 (7)	6,3 (7)	0,009
Schrittmacherrhythmus % (n)	3,4 (18)	0,0 (0)	18 (1)	1,8 (2)	0,393
ST-Hebung % (n)	7,1 (38)	88,9 (16)**	3,2 (2)***	3,5 (4)**	<0,001
ST-Senkung % (n)	10,1 (54)	33,3 (6)	17,2 (10)	9,7 (11)	0,012
AV-Block % (n)	6,4 (34)	16,7 (3)	12,1 (7)	8,8 (10)	0,084
Linksschenkelblock % (n)	7,9 (42)	0,00 (0)	8,6 (5)	10,6 (12)	0,235
Rechtsschenkelblock % (n)	7,5 (40)	0,00 (0)	13,8 (8)	12,4 (14)	0,019
Echokardiographische Daten					
LVEF (%)*	55 (45/65)	50 (45/55)	50 (37,5/60)	60 (50/65)	0,013
LVEDD (mm)*	47,0 (43,0/52,75)	46 (43,25/48,0)	49,0 (43,0/54,5)	47,0 (43,0/52,0)	0,313
IVSDd*	12 (11/14)	12 (11/14,5)	13 (11/14)	12 (11/14)	0,940
Linker Vorhof (mm)*	41 (38/47)	40 (39/45)	43,5 (40/46,75)	41,5 (37/46)	0,409
Rechtsventrikuläre Funktion (eingeschränkt) % (n)	7,1 (38)	0,0 (0)	8,6 (5)	3,5 (4)	0,110
Diastolische Dysfunktion % (n)	19,7 (106)	44,4 (8)	32,8 (19)	23,0 (26)	0,333
Perikarderguss % (n)	3,2 (17)	5,6 (1)	3,4 (2)	3,5 (4)	0,007
Vorangegangene LVEF (%)*	60	65 (65/65)	55 (50/65)	60 (50/65)	0,628

AV-Block = Atrioventrikulärer Block; LVEF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion; LVEDD = Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser; IVSDd = interventrikuläres Septum diastolischer Diameter. *Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile. ** ST-Hebungen im initialen Aufnahme-EKG. * 6 Patienten mit ST-Hebungen im initialen EKG, welche final nicht als STEMI adjudiziert wurden.**

Ergebnisse

Bei 45,1% (n=242) der Patienten wurde eine Koronarangiographie durchgeführt (Tabelle 12). Bei 53,7% (n=130) dieser Patienten mit Koronarangiographie wurde während der Untersuchung eine PCI durchgeführt. Auffällig zeigt sich auch, dass in der Gruppe der Patienten mit IAP 71,7% (n=81) der Patienten eine Koronarangiographie erhielten. Mit 73,5% (n=83) hatte diese Gruppe auch am häufigsten bereits ein oder mehrmals vorrausgegangene Koronarinterventionen erhalten (Tabelle 12).

Tabelle 12: Allgemeine Daten zur interventionellen Therapie bei V.a. ACS

	Alle Patienten (n=537)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	p-Wert
Koronarangiographie % (n)	45,1 (242)	100,0 (18)	91,4 (53)	71,7 (81)	<0,001
PCI durchgeführt % (n)	24,2 (130)	94,4 (17)	82,8 (48)	46,0 (52)	<0,001
Z.n. PCI % (n)	43,2 (232)	22,2 (4)	48,3 (28)	73,5 (83)	<0,001
PCI durchgeführt % (n) in Patienten mit Koronarangiographie	53,7 (130/242)	94,4 (17/18)	90,6 (48/53)	64,2 (52/81)	<0,001

Tabelle 13 erfasst die Daten die während der Koronarangiographie erhoben wurden. In der Gruppe von Patienten mit durchgeführter Koronarangiographie (n=242), wurde eine KHK mit einem betroffenen Gefäß am häufigsten diagnostiziert (46,1% (n=105)). 40,4% (n=92) aller Patienten mit Koronarangiographie zeigten dabei keine interventionsbedürftige Läsion, bei 15,0% (n=34) der Patienten mit Koronarangiographie wurde mittels PCI eine Läsion, bei 61,7% (n=140) der Patienten wurden zwei oder mehr Läsionen behandelt. Bei Patienten mit STEMI und NSTEMI wurden am häufigsten zwei oder mehr Stents während der PCI eingesetzt, bei Patienten mit IAP wurde häufiger nur ein Stent gesetzt. Patienten mit der Diagnose STEMI zeigten die niedrigste LVEF mit einem Median von 45%; die mediane LVEF aller Patienten lag bei 55%.

Tabelle 13: Daten der Koronarangiographie

	Alle Patienten (n=242)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=53)	IAP (n=81)	p-Wert
Anzahl der betroffenen Koronargefäße % (n)					
0	40,4 (92)	0,0 (0)	7,7 (4)	25,3 (19)	<0,001
1	46,1 (105)	83,3 (15)	69,2 (36)	58,7 (44)	<0,001
2	13,6 (31)	16,7 (3)	15,4 (8)	14,7 (11)	<0,129
3	1,3 (3)	0,0 (0)	3,8 (2)	1,3 (1)	<0,271
4	0,9 (2)	0,0 (0)	3,8 (2)	0,0 (0)	<0,078

Ergebnisse

(Fortsetzung)	Alle Patienten (n=242)	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=53)	IAP (n=81)	p-Wert
Anzahl der therapierten Läsionen % (n)					
0	23,3 (53)	0,0 (0)	3,9 (2)	9,3 (7)	<0,001
1	15,0 (34)	22,2 (4)	19,6 (10)	14,7 (11)	0,437
>2	61,7 (140)	77,8 (14)	76,5 (39)	76,0 (57)	<0,001
Anzahl der gesetzten Stents % (n)					
0	46,2 (102)	0,0 (0)	19,6 (10)	29,7 (22)	<0,001
1	26,0 (63)	26,7 (4)	35,3 (18)	44,6 (33)	<0,001
>2	25,3 (56)	73,3 (11)	45,1 (23)	25,7 (19)	<0,001
LVEF (%)*	55 (40/60)	45 (37,5/55)	50 (41,25/55)	60 (47,5/65)	<0,001
LVEDP (mmHg)*	18 (13/25)	20 (14/23)	21 (14/27)	17 (12/24)	0,223

LVEF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion; LVEDP = Linksventrikulärer enddiastolischer Druck. * Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

3.2 Biomarker

3.2.1 sFlt-1 und PLGF als diagnostischer Marker

3.2.1.1 sFlt-1 und PLGF in Relation zu den Leitsymptomen

Die Biomarkerwerte für sFlt-1 und PLGF bei Aufnahme lagen bei allen 537 Patienten vor. Der mediane sFlt-1 Wert lag bei 335 pg/ml (Interquartilsabstand: 243-1846 pg/ml), der mediane Wert für PLGF war 20 pg/ml (Interquartilsabstand: 16-25 pg/ml).

Patienten, die mit dem Leitsymptom Brustschmerz in die Studie eingeschlossen wurden, zeigten im Vergleich zu den Patienten mit dem Leitsymptom Dyspnoe einen signifikant höheren sFlt-1 Wert von 480 (238/7315) pg/ml ($p < 0,001$) (siehe Tabelle 14). Patienten, welche sowohl Dyspnoe als auch Brustschmerz hatte, wurden entsprechend der führenden Symptomatik zugeordnet.

Tabelle 14: sFlt-1 und PLGF bei den klinischen Leitsymptomen der Studie

	Brustschmerz (n=232)	Dyspnoe (n=305)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	480 (238/7315)	318 (247/637)	<0,001
PLGF (pg/ml)	19,96 (17,50/25,02)	19,96(15,71/25,38)	0,313

Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 6 zeigt die Boxplots für sFlt-1 innerhalb der Gruppen mit den Leitsymptomen Brustschmerzen und Dyspnoe, Abbildung 7 zeigt dies für PLGF.

Ergebnisse

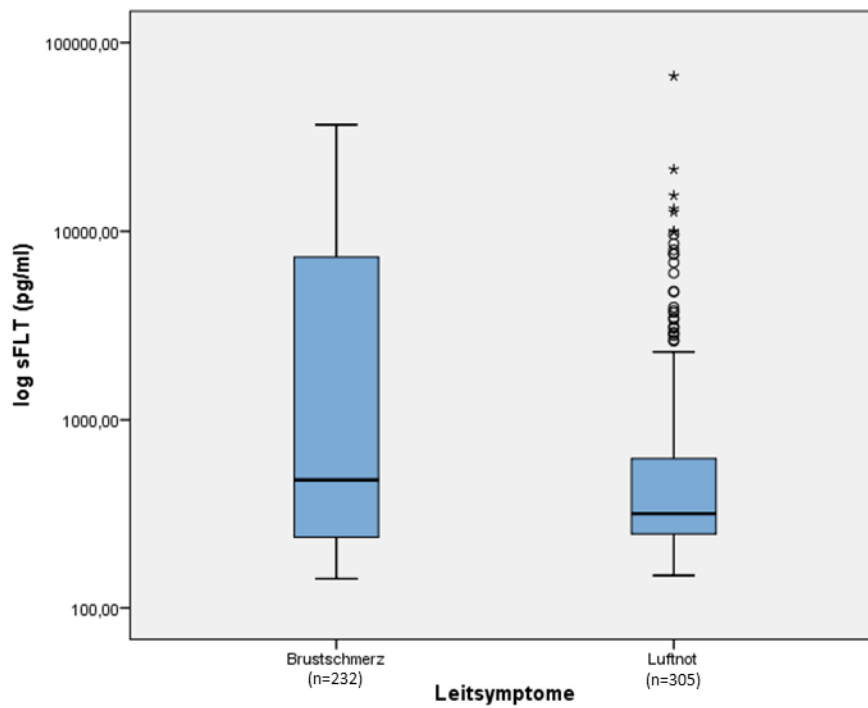


Abbildung 6: s-Flt-1 in Abhängigkeit zum Leitsymptom Dyspnoe und Brustschmerz; logarithmische Skala

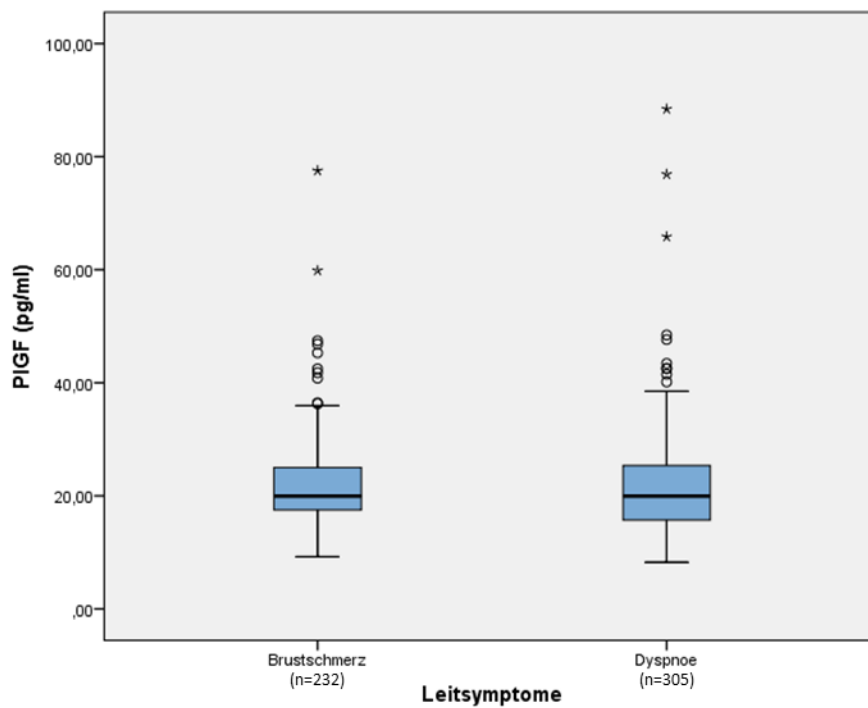


Abbildung 7: PLGF in Abhängigkeit zu den Leitsymptomen Dyspnoe und Brustschmerz

Ergebnisse

3.2.1.2 sFlt-1 und PLGF in Relation zu nicht-ACS Hauptdiagnosen

Im Folgenden werden die sFlt-1 und PLGF Werte der Patienten mit allen anderen Hauptdiagnosen ausgenommen der Diagnosen des ACS dargestellt. Dabei zeigt sich, dass besonders Patienten mit anderen kardiovaskulären Diagnosen erhöhte Werte der untersuchten Biomarker zeigten. Wichtige, differenzialdiagnostisch weniger akute Diagnosegruppen, wie z.B. der arterielle Hypertonus, Vorhofflimmern oder die Diagnosegruppe COPD/Asthma zeigten dagegen im Median niedrigere Werte (Tabelle 15).

Tabelle 15: sFlt-1 und PLGF Werte bei anderen Hauptdiagnosen

	n	sFlt-1 (pg/ml)	PLGF (pg/ml)
Akute Herzinsuffizienz	48	836 (450/6840)	21,62 (12,34/24,99)
Chronische Herzinsuffizienz	6	373 (258/487)	14,32 (11,78/19,16)
Andere kardiale Erkrankung	21	1512 (359/ n.v.)	20,53 (19,98/ n.v.)
Vorhofflimmern	35	328 (264/790)	19,14 (13,81/22,42)
Lungenarterienembolie	11	591 (278/1632)	25,15 (16,19/34,00)
COPD/Asthma	44	294 (251/326)	19,85 (15,62/25,13)
Arterieller Hypertonus	51	261 (222/870)	19,16 (16,00/21,43)
Pneumonie	27	343 (251/538)	25,40 (16,57/33,10)
Nicht-kardialer Brustschmerz	85	253 (209/968)	17,67 (14,90/21,55)
Andere	18	334 (260/524)	26,51 (21,00/32,24)

n.v.= nicht vorhanden. Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 8 und 9 veranschaulichen als Boxplots die sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten in Relation zu den Hauptdiagnosen.

Ergebnisse

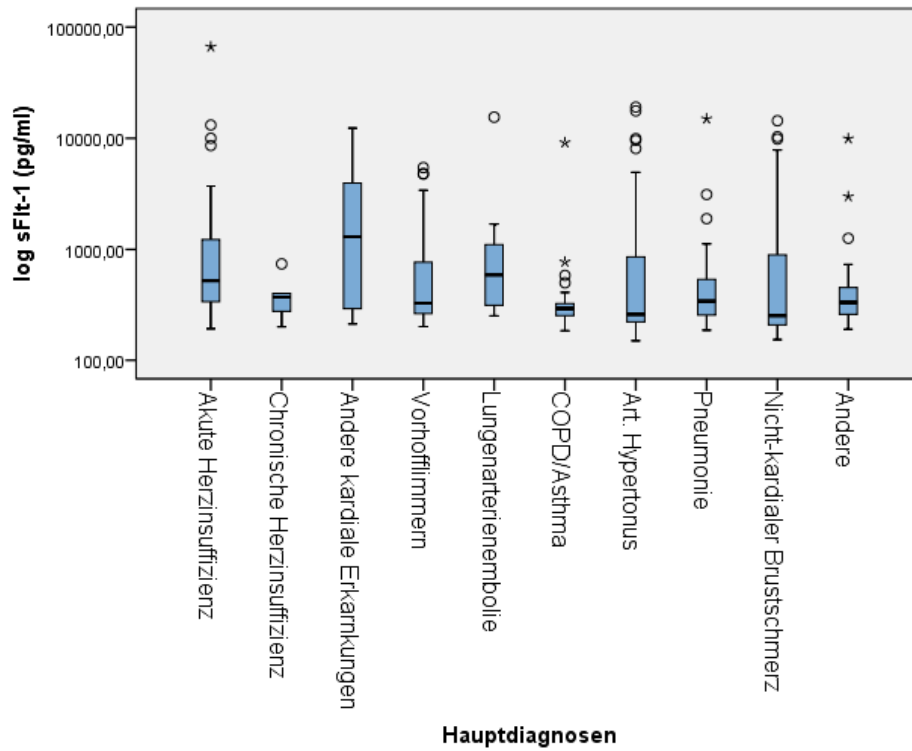


Abbildung 8: sFlt-1 in Abhängigkeit zu allen nicht-ACS Hauptdiagnosen; logarithmische Skala
(Akute Herzinsuffizienz n=48; Chronische Herzinsuffizienz n=6; Andere kardiale Erkrankungen n=21;
Vorhofflimmern n= 35; Lungenarterienembolie n=11; COPD/Asthma n=44; Arterieller Hypertonus n=51;
Pneumonie n=27; Nicht-kardialer Brustschmerz n=85, Andere n=18)

Ergebnisse

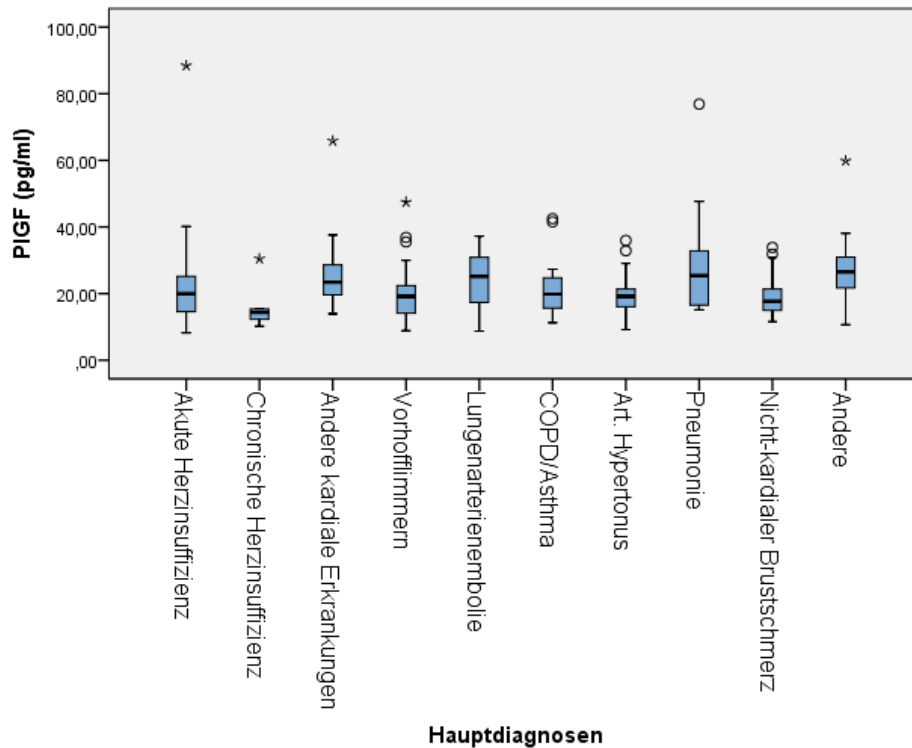


Abbildung 9: PLGF in Abhängigkeit zu allen nicht-ACS Hauptdiagnosen

(Akute Herzinsuffizienz n=48; Chronische Herzinsuffizienz n=6; Andere kardiale Erkrankungen n=21; Vorhofflimmern n= 35; Lungenarterienembolie n=11; COPD/Asthma n=44; Arterieller Hypertonus n=51; Pneumonie n=27; Nicht-kardialer Brustschmerz n=85, Andere n=18)

3.2.1.3 sFlt-1 und PLGF in Relation zu den Hauptdiagnosen des ACS

Patienten mit ACS hatten höhere sFLT Werte als Patienten mit anderen Diagnosen. Unter den ACS-Diagnosen zeigten Patienten mit STEMI die höchsten medianen sFLT Werte, der Überlappungsbereich zu Patienten mit IAP und NSTEMI war jedoch sehr groß. Bezüglich der PLGF Werte (Abbildung 11) war der Überlappungsbereich zwischen allen Diagnosegruppen sehr groß. Höchste Werte zeigten auch hier Patienten mit STEMI (Tabelle 16).

Tabelle 16: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS

	STEMI (n=18)	NSTEMI (n=58)	IAP (n=113)	Andere (n=348)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	7832 (3674/12463)	872 (297/6596)	276 (231/6437)	310 (242/772)	<0,001
PLGF (pg/ml)	26,29 (23,40/33,80)	22,22 (17,70/27,06)	19,69 (16,96/23,64)	19,54 (15,70/25,13)	<0,001

Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 10 und Abbildung 11 zeigen Boxplots der sFlt-1 Werte bei Patienten mit UAP, NSTEMI und STEMI im Vergleich zu Patienten mit anderen Diagnosen.

Ergebnisse

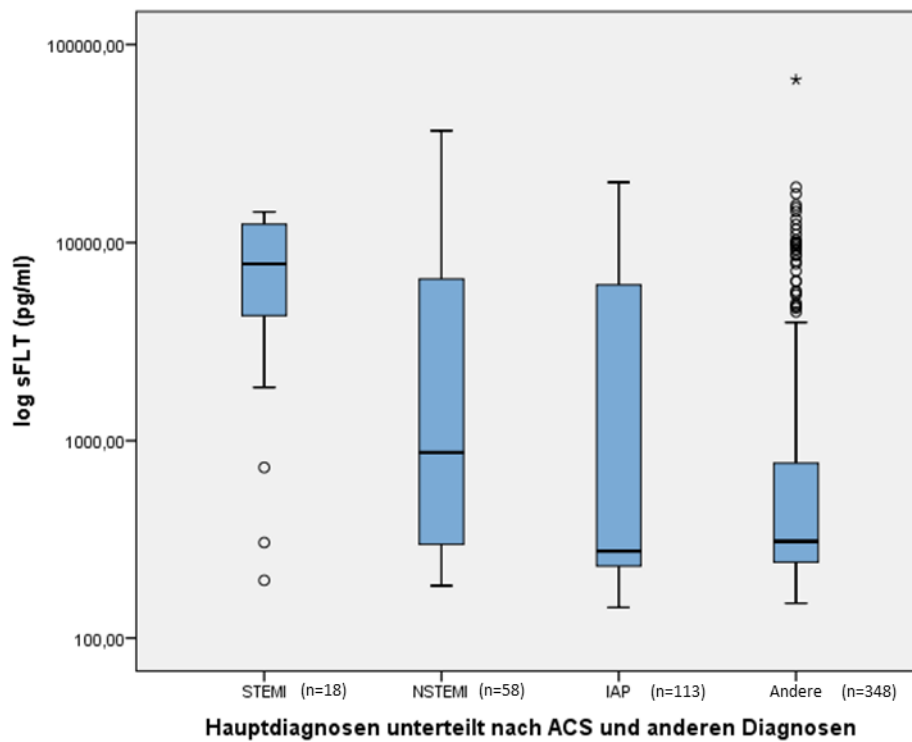


Abbildung 10: sFlt-1 Werte der Diagnosen des ACS und im Vergleich zu allen anderen Hauptdiagnosen; logarithmische Skala

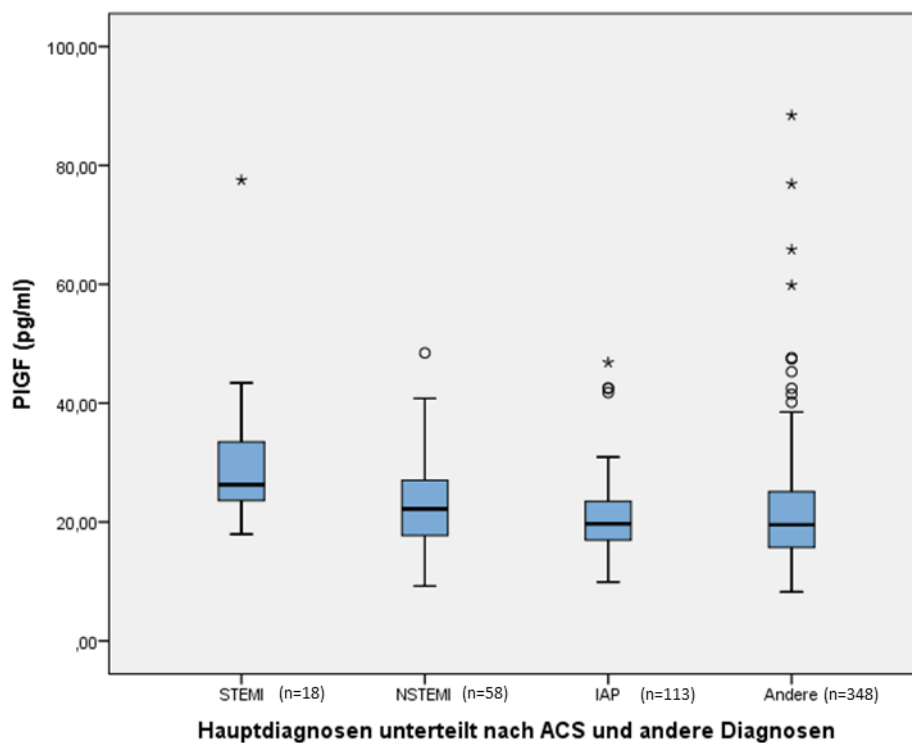


Abbildung 11: PLGF Werte der Diagnosen des ACS und im Vergleich zu allen anderen Hauptdiagnosen

Ergebnisse

Der Cut-off (95. Perzentile) für PLGF und sFlt-1 wurde bei 300 gesunden Probanden ermittelt (BIC-1 Studie). Für sFlt-1 betrug der Wert 260 pg/ml und für PLGF lag er bei 20,87 g/ml.

Unter Verwendung dieser Cut-off Werte, lag der mediane sFlt-1 Wert bei Patienten mit STEMI, NSTEMI und IAP über dieser Grenze, der mediane PLGF Wert nur bei STEMI und NSTEMI Patienten.

Auch wenn STEMI Patienten die höchsten Biomarkerwerte innerhalb der Subgruppenanalyse der ACS Patienten aufwiesen, führten wir auf Grund der bereits ausreichenden Diagnosezeichen die durch das EKG gegeben sind und der bereits kleinen Fallzahl der STEMI Gruppe (n=18) bei der ersten Subgruppenanalyse, keine weitere Analyse für diese Patientengruppe durch.

3.2.1.3.1 sFlt-1 und PLGF in Relation zu der Hauptdiagnose NSTEMI

Die ROC Kurven Analyse für die Diagnose NSTEMI zeigt eine AUC von 0,656 für sFlt-1 und 0,581 für PLGF (Abbildung 12).

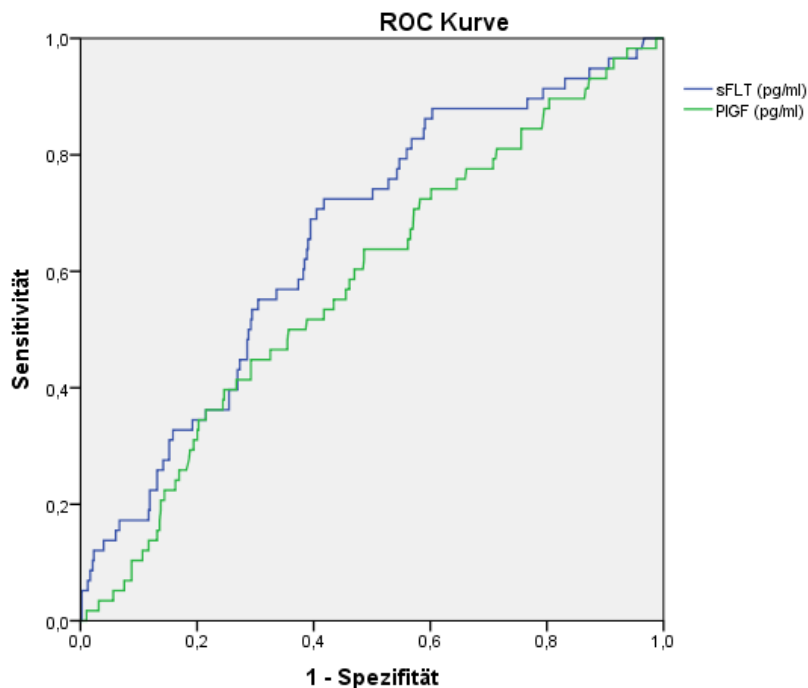


Abbildung 12: ROC-Kurven Analyse für sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit NSTEMI

Die diagnostische Wertigkeit beider Marker allein für die Diagnose NSTEMI sowie in Kombination mit kardialen Troponin I ist in Tabelle 17 dargestellt.

Ergebnisse

Tabelle 17: Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert für sFlt-1 und PLGF alleine und in Kombination mit Troponin I

	sFLT alleine	PLGF alleine	sFLT bei Troponin negativen	sFLT bei Troponin positiven	PLGF bei Troponin negativen	PLGF bei Troponin positiven
Sensitivität (%)	87,9	55,2	100	85,7	62,5	53,1
Spezifität (%)	33,8	56,6	38,2	11,3	58,4	41,5
Positiver prädiktiver Wert (PPW) (%)	13,6	13,3	3,3	47,2	3,0	45,6
Negativer prädiktiver Wert (NPW) (%)	95,9	91,3	100	46,2	98,7	48,9

Hier zeigt sich ein negativer prädiktiver Wert von sFlt-1 bei Troponin I negativen Patienten von 100% und von PLGF von 98,7%. Die Anzahl der in die Analyse berücksichtigten Patienten ist in den einzelnen Gruppen allerdings sehr klein. Diese kleinen Fallzahlen bedingen sich durch die mehrfache Unterteilung der Patienten in Subgruppen in Abhängigkeit zu dem ermittelten Cut-off einer Normalpopulation. So hatten z.B. nur 8 Patienten, welche initial Troponin negativ waren, einen erhöhten sFlt-1 Wert über dem Referenzwert und einen NSTEMI als Enddiagnose und nur 5 Patienten einen erhöhten PLGF Wert über dem Referenzwert und die Enddiagnose NSTEMI.

3.2.1.3.2 sFlt-1 und PLGF in Relation zum Troponin I

Insgesamt hatten 18,6% der Patienten ein positives Troponin I $\geq 0,1 \mu\text{g/l}$. Tabelle 18 zeigt die Werte für sFlt-1 und PLGF für diese Patientengruppen. Patienten mit einem positiven Troponin I hatten einen signifikant höheren sFlt-1 Wert ($p < 0,001$). Die Korrelation zwischen sFlt-1 und Troponin I betrug 0,279 ($p < 0,001$), die Korrelation zwischen PLGF und Troponin I 0,125 ($p < 0,001$).

Tabelle 18: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit positivem und negativem Troponin I

	Troponin I $< 0,1 \mu\text{g/l}$ (n=390)	Troponin I $\geq 0,1 \mu\text{g/l}$ (n=100)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	295 (235/1356)	745 (311/6358)	$< 0,001$
PLGF (pg/ml)	19,51 (16,11/24,76)	22,34 (16,31/26,44)	0,066

Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Ergebnisse

Betrachtet man die Gruppe aller initial Troponin I negativen Patienten und unterteilt diese nochmal in die Untergruppen „NSTEMI“ und „kein NSTEMI“ zeigt sich hier ein signifikanter Unterschied der sFlt-1 Werte nicht jedoch der PLGF Werte (sFlt-1 $p=0,002$; PLGF $p=0,085$) (Tabelle 19).

Tabelle 19: sFlt-1 und PLGF bei initial Troponin I negativen Patienten mit und ohne NSTEMI

	NSTEMI (n= 8)	Kein NSTEMI (n=382)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	4057 (877/16497)	292 (235/1218)	0,002
PLGF (pg/ml)	24,77 (19,20/29,26)	19,43 (16,11/24,67)	0,085

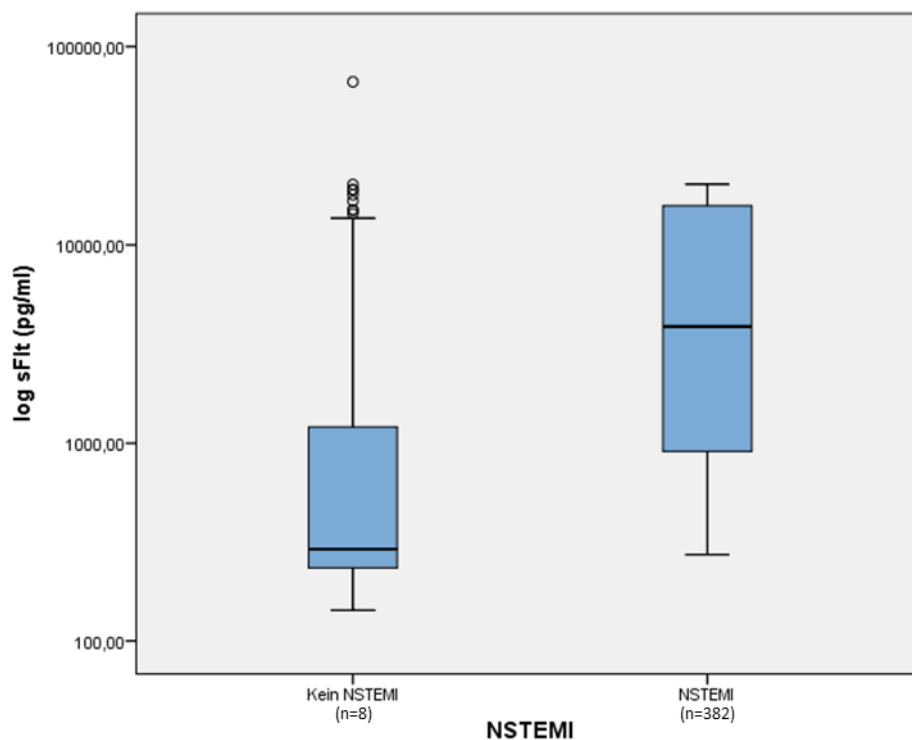


Abbildung 13: sFlt-1 bei Patienten mit negativem Troponin I bei Aufnahme mit und ohne NSTEMI; logarithmische Skala

Ergebnisse

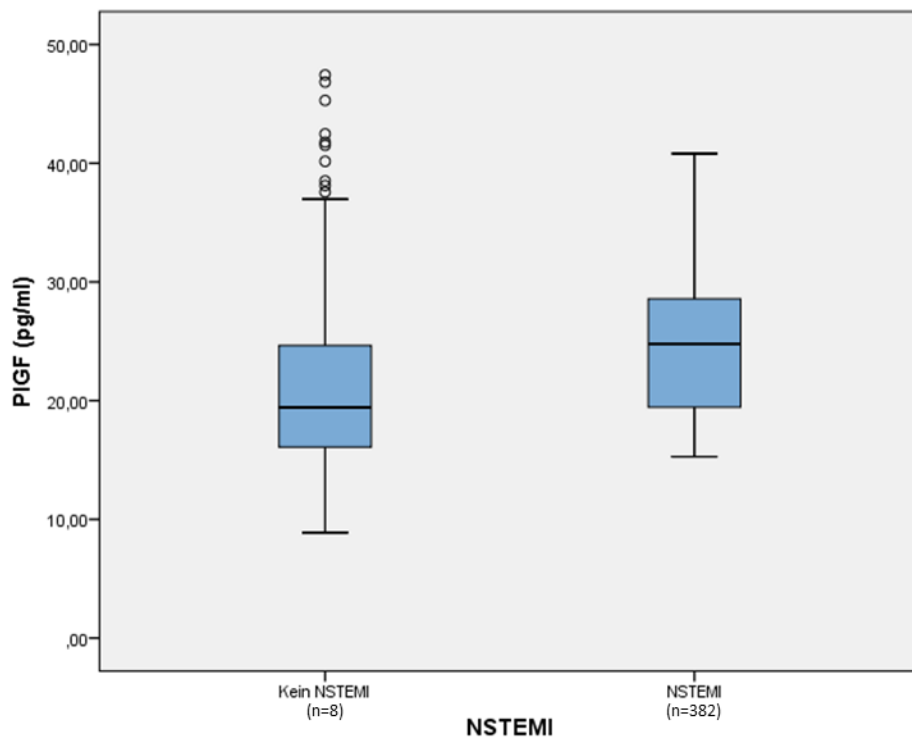


Abbildung 14: PLGF bei Patienten mit negativem Troponin I bei Aufnahme mit und ohne NSTEMI

In der ROC-Kurvenanalyse zeigt sich hier eine AUC für sFlt-1 von 0,819 und für PLGF von 0,678.

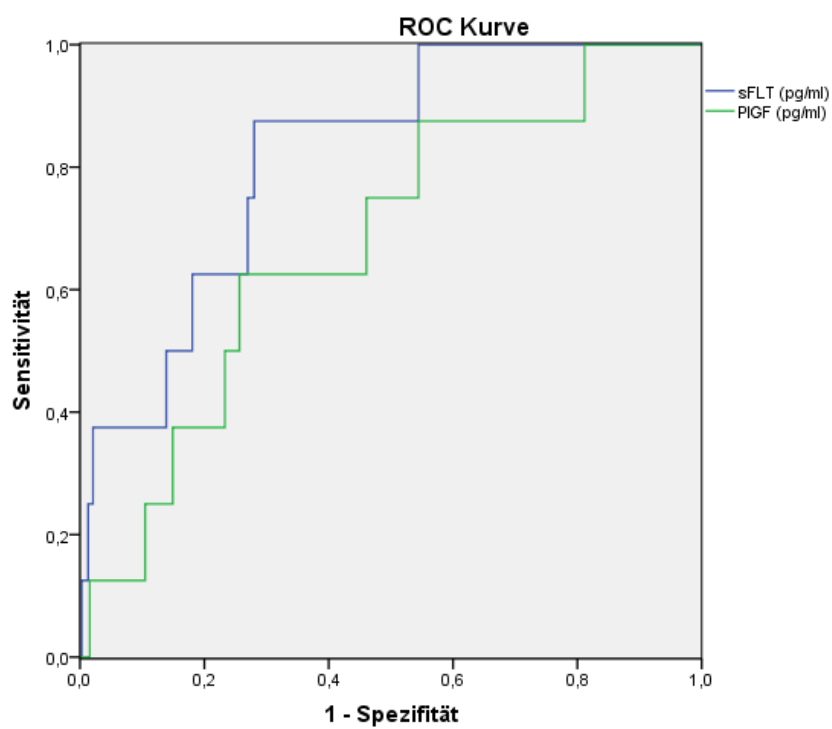


Abbildung 15: ROC-Kurve für alle initial Troponin I negativen Patienten mit der Enddiagnose NSTEMI

Ergebnisse

3.2.1.4 sFlt-1 und PLGF in Relation zur KHK und Koronarsklerose

Bei Betrachtung der Biomarkerwerte des Patientenkollektivs aufgeteilt nach Patienten mit und ohne koronare Läsion (Stenose $\geq 50\%$) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede der sFlt-1 und PLGF Werte der Patientengruppen. (sFlt-1 $p=0,605$; PLGF $p=0,181$) (Tabelle 20).

Tabelle 20: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit und ohne koronare Läsionen

	Koronare Läsion (n=53)	Keine Koronare Läsion (n=174)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	413 (260/6036)	468 (288/5198)	0,605
PLGF (pg/ml)	20,96 (17,38/26,01)	19,61 (15,97/23,97)	0,181

Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Bei der Untersuchung der sFlt-1 und PLGF Werte der Patienten aufgeteilt nach den Stadien der KHK, zeigt sich innerhalb der 3 Stadien kein offensichtlicher Unterschied zwischen den Gruppen ($p=0,367$), die höchsten Werte beider Marker wiesen Patienten mit einer KHK-1 auf (Tabelle 21).

Tabelle 21: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und aufgeteilt nach den 3 Stadien der KHK

	Koronarsklerose (n=4)	Keine Koronarsklerose (n=42)	KHK-1 (n=37)	KHK-2 (n=53)	KHK-3 (n=104)	p-Wert
sFlt-1	4219 (296/10252)	744 (288/5107)	1100 (294/6720)	526 (257/8015)	359 (245/3324)	0,367
PLGF	26,73 (19,85/57,59)	19,49 (15,59/23,45)	22,79 (18,81/27,61)	21,35 (17,22/25,91)	20,12 (16,98/25,78)	0,132

Daten zu Patienten mit keine Angaben nicht dargestellt. KHK= Koronare Herzkrankheit. Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 16 und 17 zeigen die Boxplots für sFlt-1 und PLGF der Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der Patienten aufgeteilt nach den Stadien der KHK 1-3.

Ergebnisse

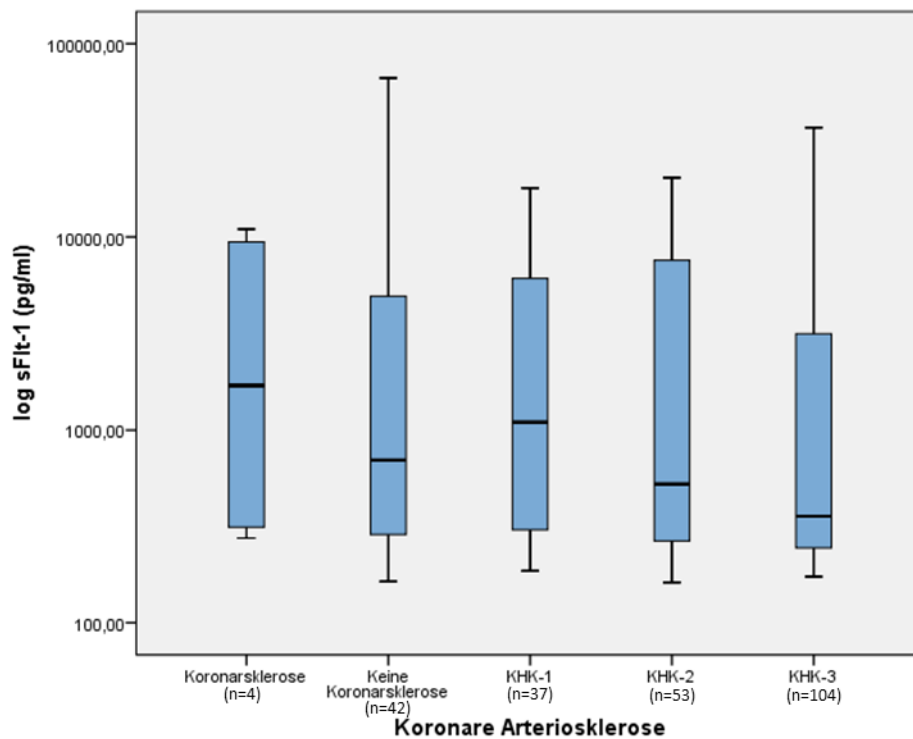


Abbildung 16: sFlt-1 bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und aufgeteilt nach den 3 Stadien der KHK; logarithmische Skala

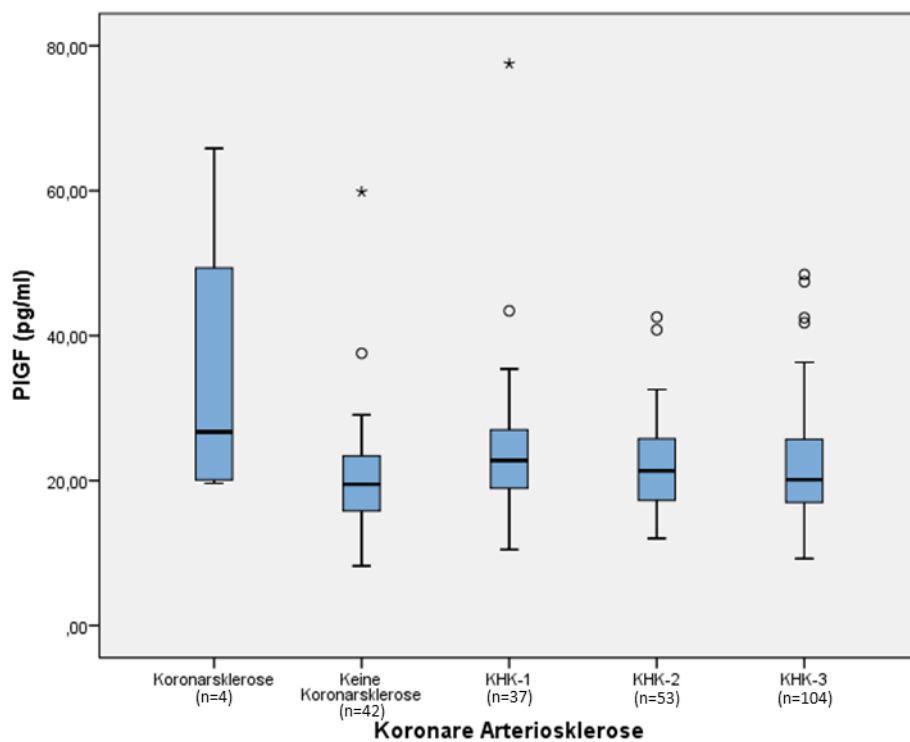


Abbildung 17: PLGF bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und aufgeteilt nach den 3 Stadien der KHK

3.2.2 sFlt-1 und PLGF als Marker zur Risikostratifizierung

3.2.2.1 Die Relation von sFlt-1 und PLGF zu klinischen Parametern und Symptomen

Die Untersuchung der PLGF und sFlt-1 Werte im Zusammenhang mit der CCS-Klassifikation und der NYHA-Klassifikation zeigte einen signifikanten Unterschied der sFlt-1 Werte der Patienten des Stadiums IV der CCS-Klassifikation ($p < 0,001$) und des Stadiums IV der NYHA-Klassifikation ($p = 0,002$). Auffällig zeigt sich hier, dass die sFlt-1 Werte der Patienten, die nach der CCS-Klassifikation sich im Stadium IV befanden, um ein vielfaches höher waren (sFlt-1 1267 (253/6683) pg/ml), als Werte der Patienten des Stadiums IV der NYHA-Klassifikation (sFlt-1 415 (282/1789) pg/ml) (Tabelle 22 und 23).

Tabelle 22: sFlt-1 und PLGF bei den vier Stadien der CCS-Klassifikation

	CCS I (n=91)	CCS II (n=62)	CCS III (n=53)	CCS IV (n= 168)
sFlt-1 (pg/ml)	281 (219/750)	267 (225/419)	277 (235/1994)	1267 (253/6683)
PLGF (pg/ml)	20,03 (16,14/25,39)	18,40 (15,46/24,55)	19,83 (16,95/24,84)	21,11 (18,03/25,97)

Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

Tabelle 23: sFlt-1 und PLGF bei den vier Stadien der NYHA-Klassifikation

	NYHA I (n=118)	NYHA II (n=144)	NYHA III (n=152)	NYHA IV (n=114)
sFlt-1 (pg/ml)	299 (223/6274)	273 (227/1005)	329 (255/769)	415 (282/1789)
PLGF (pg/ml)	19,34 (16,10/24,58)	19,16 (15,89/24,20)	20,28 (16,60/25,58)	21,90 (15,68/26,29)

Daten als Median mit 25. und 75. Perzentile.

In der Korrelationsanalyse von sFlt-1 mit Kreatinin (Korrelationskoeffizient 0,133) zeigt sich keine Korrelation der Werte, hingegen zeigte die Korrelationsanalyse von sFlt-1 mit der GFR (MDRD) eine starke negative Korrelation (Korrelationskoeffizient -0,877).

Die Korrelation von sFlt-1 und dem GRACE-Score war gering mit einem Korrelationskoeffizient von 0,251. Der Korrelationskoeffizient von PLGF und dem GRACE-Score lag bei 0,225.

3.2.2.2 Die Relation von sFlt-1, PLGF und Heparin

Patienten, welche bereits auf dem Notarztwagen (NAW) und somit vor der Studienblutentnahme Heparin verabreicht bekommen hatten (n=104), zeigten im Median stark erhöhte sFlt-1 Werte (3064 (1225/8335) pg/ml) im Vergleich zu nicht-heparinisierten Patienten (n=428; $p < 0,001$). Der Biomarker PLGF war ebenfalls bei heparinisierten Patienten erhöht ($p < 0,001$) (Tabelle 24).

Ergebnisse

Patienten, welche zwar mit dem NAW transportiert wurden, aber bei welchen unbekannt war, ob sie bereits auf dem NAW Heparin erhielten oder nicht wurden von dieser Analyse ausgeschlossen (n=5).

Tabelle 24: sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten mit und ohne Heparinabgabe vor der Blutentnahme

	Heparin im NAW erhalten (n=104)	Kein Heparin im NAW erhalten bzw. nicht mit NAW transportiert (n=428)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	3064 (1225/8335)	286 (235/550)	<0,001
PLGF (pg/ml)	22,92 (19,48/28,04)	19,19 (15,63/24,37)	<0,001

Daten als Median und 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 18 und 19 zeigen die Boxplots für sFlt-1 und PLGF in Abhängigkeit zum Heparin.

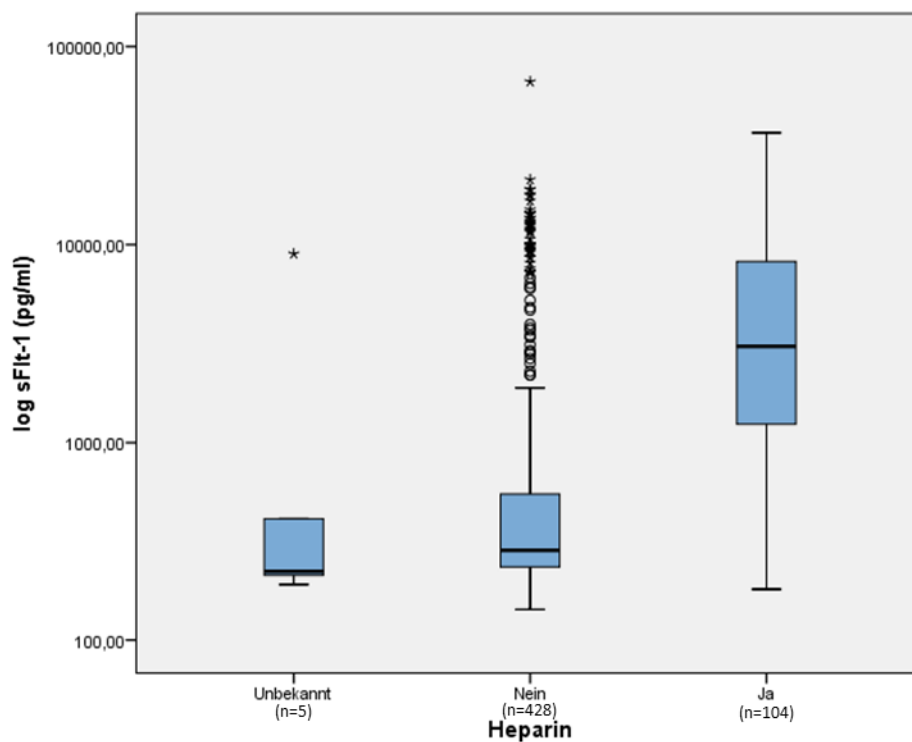


Abbildung 18: sFlt-1 bei Patienten mit und ohne Heparinabgabe vor der Studienblutentnahme; logarithmische Skala

Ergebnisse

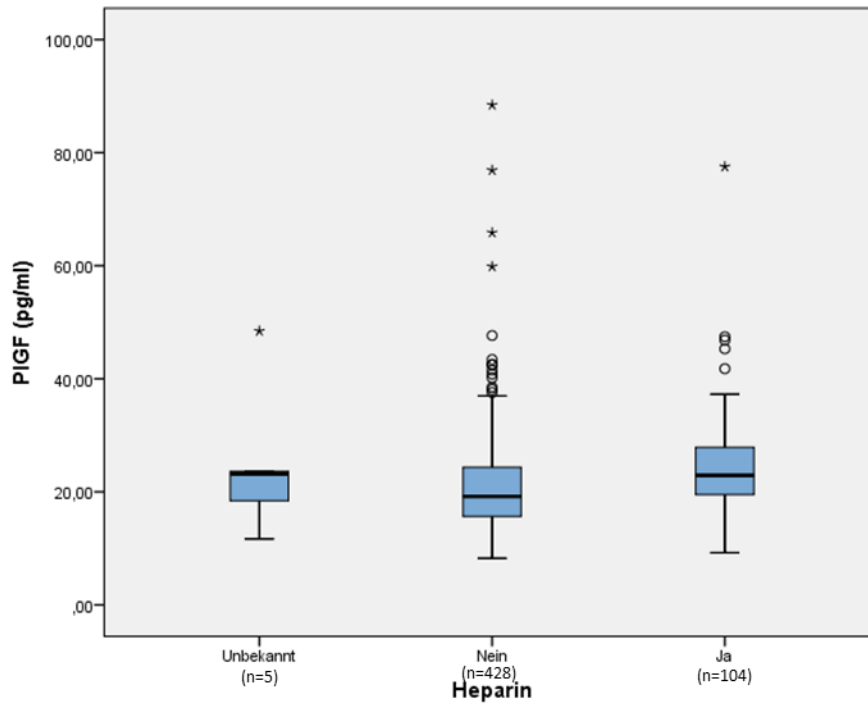


Abbildung 19: PLGF bei Patienten mit und ohne Heparin-gabe vor der Studienblutentnahme

19,4% (n=104) der Patienten hatten bereits vor der Studienblutentnahme Heparin erhalten. Studien konnten zeigen, dass eine Heparin-gabe sFlt-1 und PLGF Werte verändern kann.⁷⁷⁻⁷⁹ Da die Biomarkerwerte stark von der Heparin-gabe beeinflusst waren, wurden diese 104 Patienten von den folgenden Analysen ausgeschlossen.

3.2.2.2.1 sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten mit ACS ohne Heparinisierung

Nach Ausschluss der Patienten, die im NAW Heparin verabreicht bekamen (n=104) sowie der Patienten mit NAW-Transport und unklarer Heparin-gabe (n=5) blieben 428 Patienten, welche vor der Studienblutentnahme kein Heparin erhalten hatten. Bei diesen Patienten, zeigten sich deutlich erhöhte sFlt-1 Werte bei Patienten mit STEMI (sFlt-1: 5.271 pg/ml). Allerdings liegt die ausgewertete Fallzahl mit n=6 sehr niedrig. Der mediane sFlt-1 Wert bei Patienten mit NSTEMI liegt nach Ausschluss heparinisierter Patienten (n=104) fast um die Hälfte niedriger (827 pg/ml versus 403 pg/ml) als zuvor, aber immer noch deutlich über dem ermittelten Cut-off von 260 pg/ml (Tabelle 25).

Ergebnisse

Tabelle 25: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS und anderen Diagnosen im Vergleich ohne Heparin-gabe vor Blutentnahme

	STEMI (n=6)	NSTEMI (n=38)	IAP (n=83)	Andere Diagnosen (n=301)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	5271 (278/1359)	403 (274/3465)	252 (224/380)	287 (238/502)	0,006
PLGF (pg/ml)	24,95 (20,50/30,69)	21,63 (16,49/26,64)	18,94 (16,53/22,81)	19,13 (15,36/24,61)	0,018

Daten als Median und 25. und 75. Perzentile.

Betrachtet man die Enddiagnose NSTEMI, bei den Patienten die kein Heparin vor der Blutabnahme verabreicht bekommen hatten, zeigt sich hier eine signifikante Erhöhung der sFlt-1 ($p=0,005$) und PLGF Werte ($p=0,062$) bei Patienten mit NSTEMI ($n=38$) im Vergleich zu Patienten ohne NSTEMI ($n=390$) (Tabelle 26).

Tabelle 26: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit und ohne NSTEMI ohne Heparin-gabe vor Blutentnahme

	NSTEMI (n=38)	Keine NSTEMI (n=390)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	403 (274/3465)	278 (234/504)	0,005
PLGF (pg/ml)	21,63 (16,49/26,64)	19,09 (15,57/24,20)	0,062

Daten als Median und 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 20 und 21 zeigen die Boxplots für PLGF und sFlt-1 Werte bei Patienten mit NSTEMI ($n=38$) und ohne NSTEMI ($n=390$) ohne vorherige Heparin-gabe.

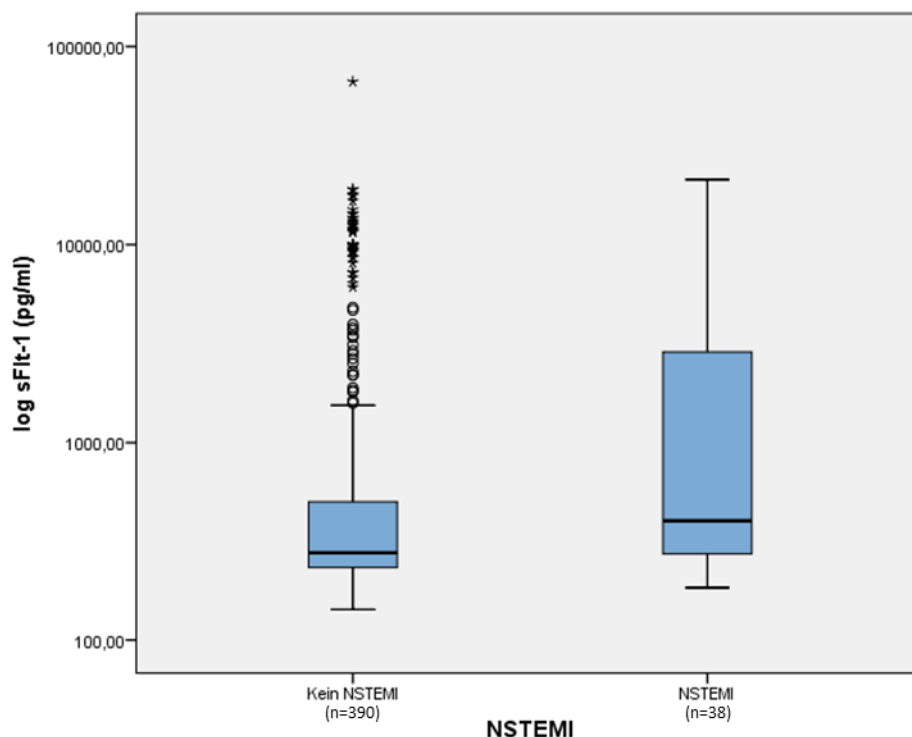


Abbildung 20: sFlt-1 bei Patienten mit NSTEMI und ohne NSTEMI ohne vorherige Heparin-gabe; logarithmische Skala

Ergebnisse

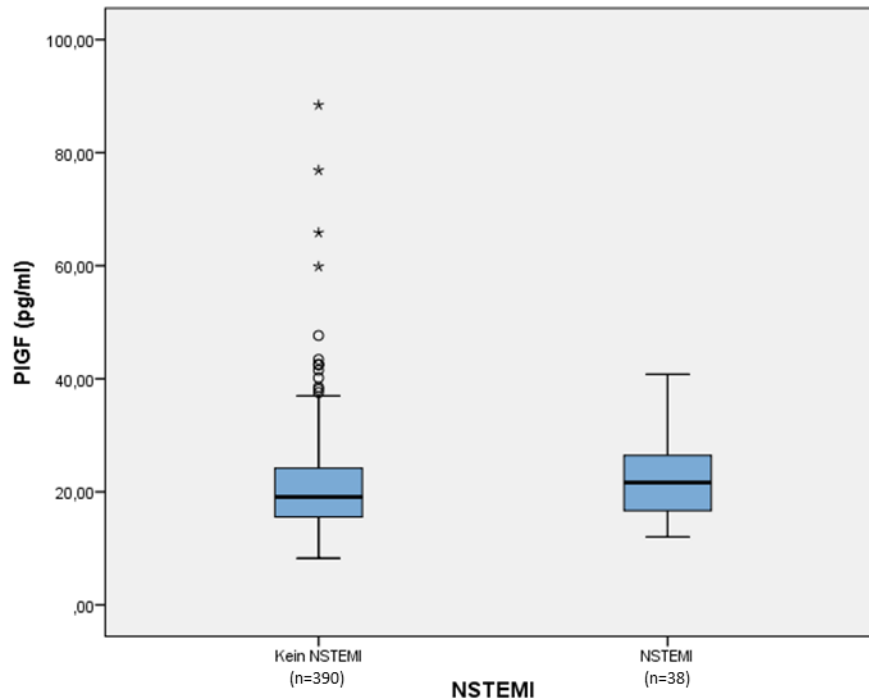


Abbildung 21: PLGF bei Patienten mit NSTEMI und ohne NSTEMI ohne vorherige Heparinabgabe

Die AUC für sFlt-1 für die Enddiagnose NSTEMI, bei Patienten die vor der Blutentnahme kein Heparin erhalten haben (n=38), beträgt 0,638 und für PLGF 0,592 (Abbildung 22).

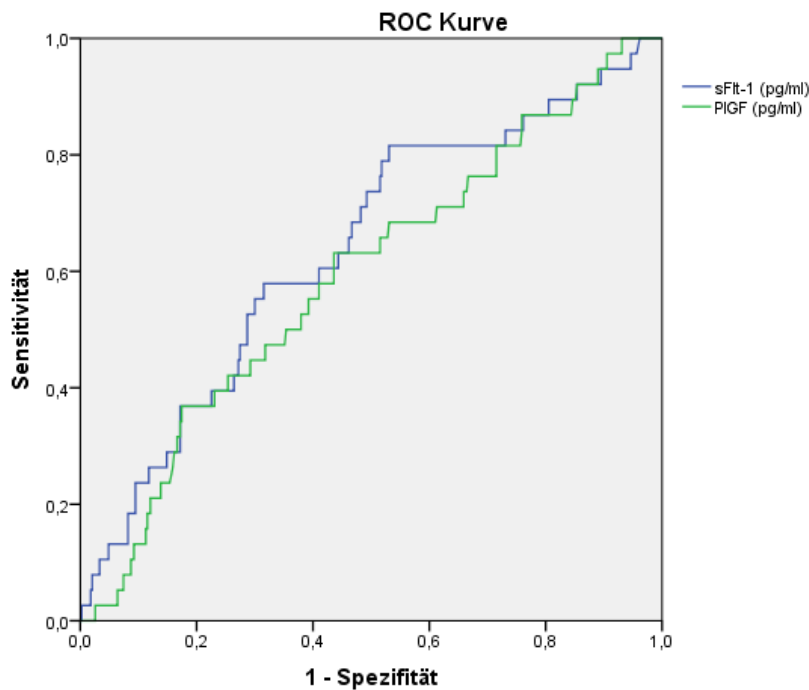


Abbildung 22: ROC-Kurven Analyse bei Patienten mit NSTEMI ohne Heparinabgabe vor der Blutentnahme

Ergebnisse

Betrachtet man die Gruppe aller initial Troponin I negativen Patienten ohne initiale Heparin-gabe (n=393) zeigt sich eine AUC von 0,832 für sFlt-1 und 0,828 für PLGF (Abbildung 23).

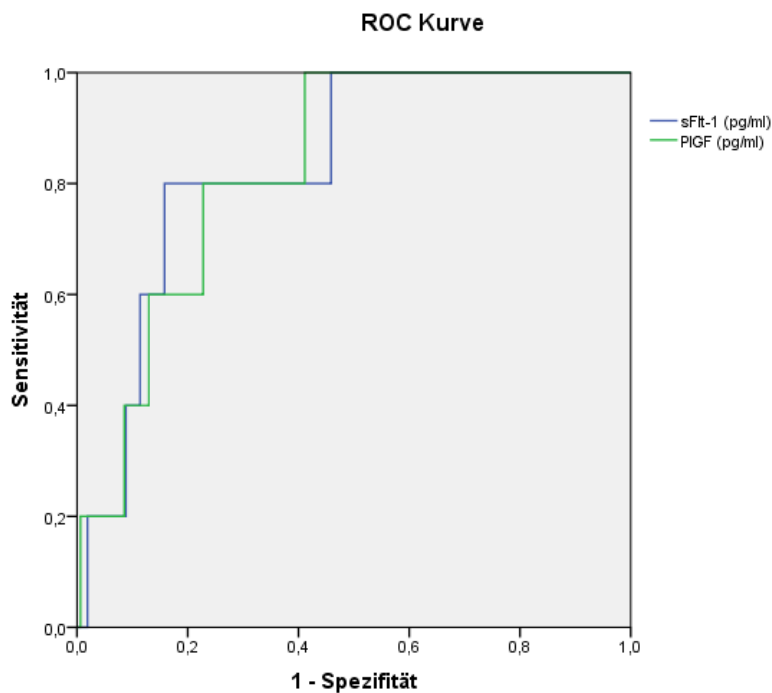


Abbildung 23: ROC-Kurve für alle initial Troponin I negativen Patienten zur Diagnose NSTEMI. Patienten mit Heparin-gabe vor der Studienblutentnahme ausgeschlossen.

3.2.2.2 Schweregrad der KHK und Koronarsklerose bei Patienten ohne Heparinisierung

Ein signifikanter Unterschied der sFlt-1 Werte in Bezug auf die Koronarsklerose konnte auch nach dem Ausschluss der Patienten, die Heparin vor der Blutentnahme erhalten haben, nicht nachgewiesen werden. Die sehr geringe Fallzahl (n=3) muss bei der Beurteilung in Betracht gezogen werden. Tabelle 27 zeigte die Daten zu sFlt-1 und PLGF:

Tabelle 27: PLGF Werte bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne vorherige Heparin-gabe

	Koronarsklerose (n=3)	Keine Koronarsklerose (n=31)	KHK-1 (n=25)	KHK-2 (n=37)	KHK-3 (n=74)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	359 (275/8079)*	369 (264/4673)	390 (265/6720)	295 (233/6153)	280 (236/413)	0,187
PLGF (pg/ml)	32,87 (20,58/65,82)*	19,36 (14,69/23,40)	21,01 (16,85/25,46)	20,29 (15,63/25,67)	19,69 (16,29/22,76)	0,212

Daten als Median und 25. und 75. Perzentile. * Daten als Median (Minimum/Maximum)

Ergebnisse

Abbildung 24 und 25 zeigen die dazugehörigen Boxplots für PLGF und sFlt-1 bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne Heparin-gabe vor der Blutentnahme.

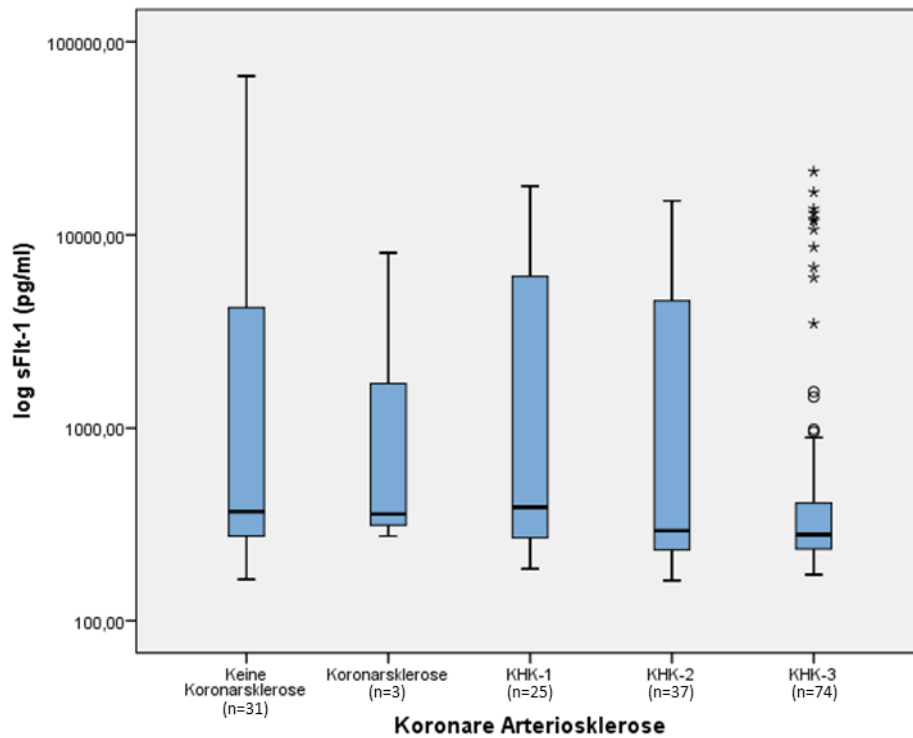


Abbildung 24: sFlt-1 Werte bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne Heparin-gabe vor der Blutentnahme; logarithmische Skala

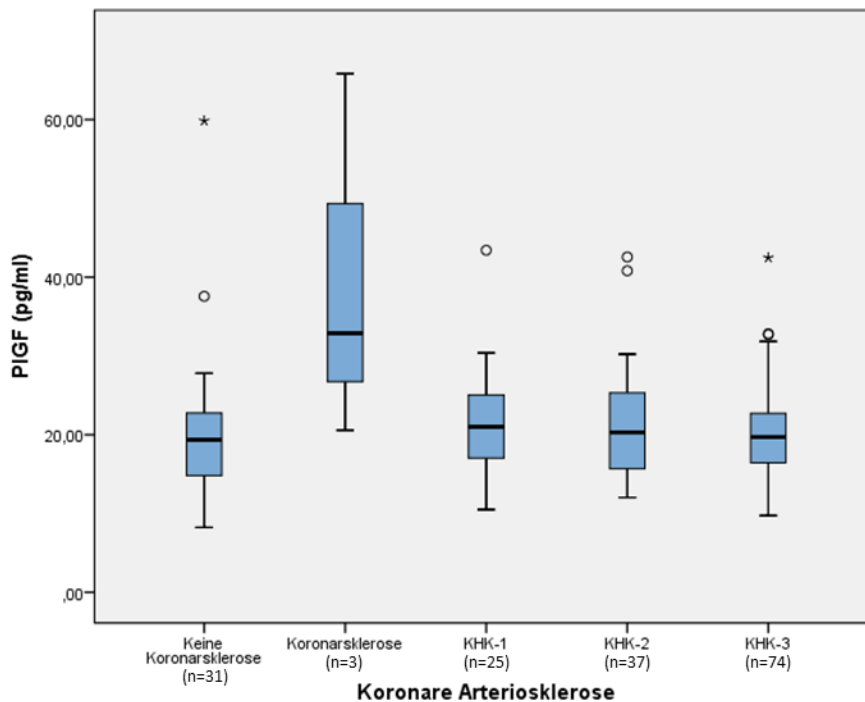


Abbildung 25: PLGF Werte bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne Heparin-gabe vor der Blutentnahme

3.2.3 sFlt-1 und PLGF als prognostische Marker

3.2.3.1 Die Relation von sFlt-1 und PLGF mit den Endpunkten Rehospitalisierung und Überleben

Es konnte bei 511 Patienten eine Follow up nach 3 Monaten durchgeführt werden. Für 4,8% (n=26) der Patienten konnte nicht erfasst werden, ob sie rehospitalisiert worden waren, diese waren dementsprechend „Lost to Follow-up“ hinsichtlich des Endpunktes Rehospitalisierung. Für 23 dieser Patienten konnte im Melderegister der Endpunkt Tod jeglicher Ursache erfasst werden, so dass lediglich 3 Patienten (0,6%) „Lost to Follow-up“ hinsichtlich dieses Endpunktes waren. Die Rehospitalisierungsrate innerhalb des Patientenkollektives betrug 17,0% (n=87), 13 Patienten aus der Gruppe der Patienten mit IAP (n=113), ein Patient aus der Gruppe STEMI (n=18) und drei Patienten der Gruppe NSTEMI (n=58) wurden erneut stationär wegen eines ACS behandelt. 3,7% (n=20) der Patienten verstarben.

sFlt-1 und PLGF Werte dieser Patientengruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied (Tabelle 28).

Tabelle 28: sFlt-1 und PLGF in Relation zur Rehospitalisierung der Patienten

	Rehospitalisation (n=87)	Keine Rehospitalisation (n=424)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	343 (246/1863)	350 (246/1863)	0,910
PLGF (pg/ml)	17,84 (14,69/ 25,33)	19,98 (16,60/25,33)	0,072

Daten als Median und 25. und 75. Perzentile.

Die Untersuchung der sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten, die innerhalb des Studienzeitraums verstorben sind, zeigte numerisch höhere sFlt-1 und PLGF Werte innerhalb dieser Gruppe im Vergleich zu den Überlebenden (Tabelle 29). Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant.

Tabelle 29: sFlt-1 und PLGF in Relation zum Überleben der Patienten

	Überleben (n=482)	Tod (n=23)	p-Wert
sFlt-1 (pg/ml)	332 (242/ 1876)	466 (275/1130)	0,589
PLGF (pg/ml)	19,86 (16,03/ 25,08)	23,76 (17,87/25,96)	0,124

Daten als Median und 25. und 75. Perzentile.

Abbildung 26 und 27 zeigen die Boxplots der sFlt-1 und PLGF Werte bei verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten.

Ergebnisse

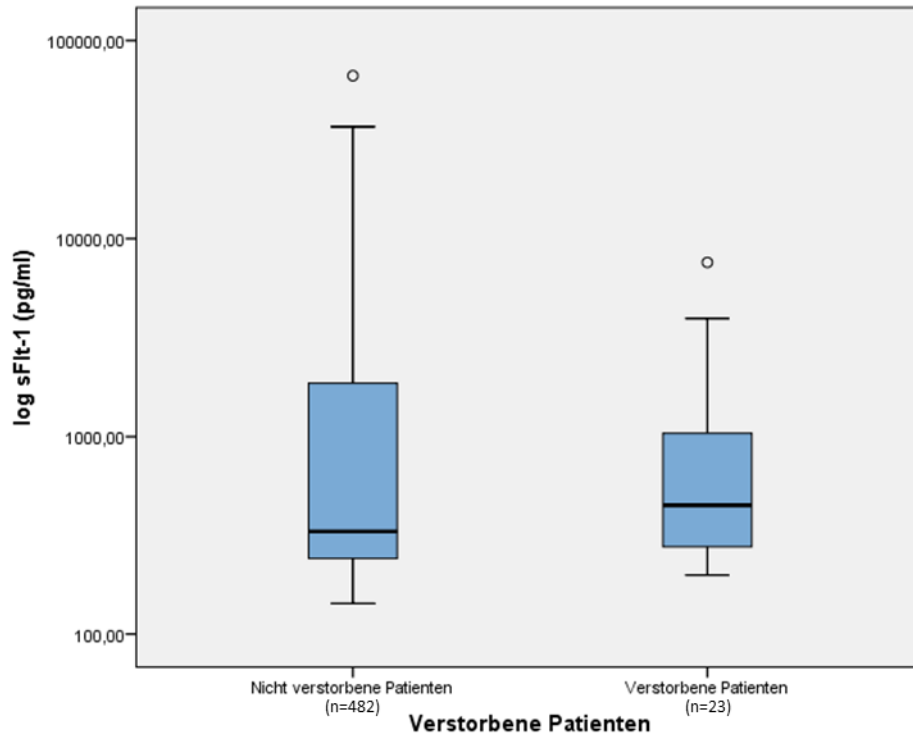


Abbildung 26: sFlt-1 bei überlebenden und verstorbenen Patienten; logarithmische Skala

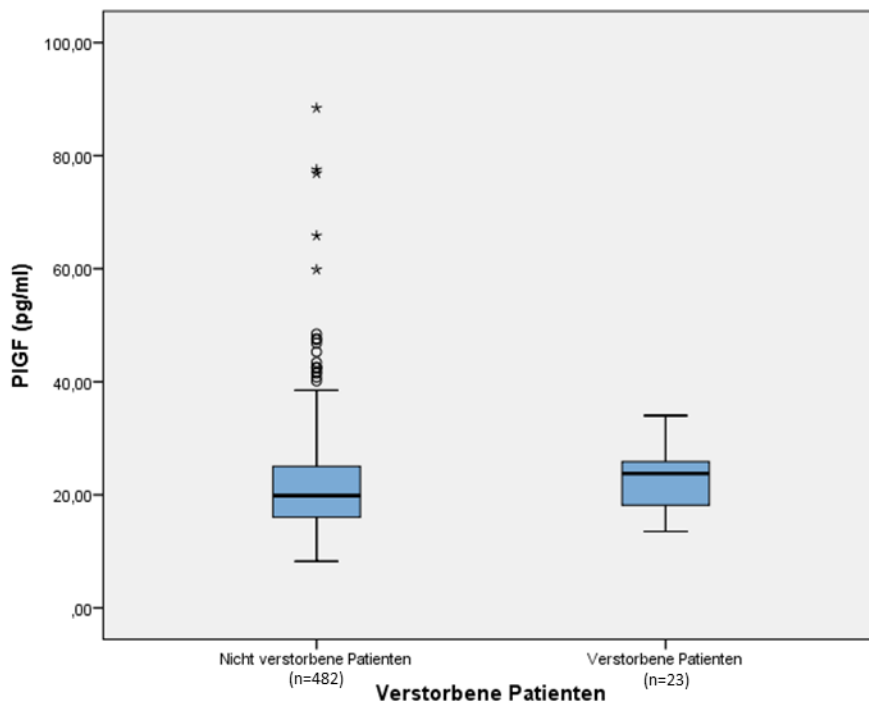


Abbildung 27: PLGF bei überlebenden und verstorbenen Patienten

4 Diskussion

In der vorliegenden prospektiven Studie wurden 537 unselektierte Patienten mit den Leitsymptomen Dyspnoe und/oder Brustschmerz einer internistischen Notaufnahme hinsichtlich der diagnostischen Wertigkeit der Biomarker PLGF und sFlt-1 für die Diagnose eines ACS und insbesondere des NSTEMI untersucht. Gegenstand der Analyse waren außerdem die Risikostratifizierung sowie Prognose anhand genannter Biomarker in diesem Patientenkollektiv mit kardiovaskulären Leitsymptomen. Zusammenfassend ergaben sich die folgenden Hauptergebnisse:

1. PLGF und sFlt-1 sind bei Patienten mit ACS, insbesondere bei Patienten mit STEMI und NSTEMI, erhöht.
2. PLGF und sFlt-1 haben möglicherweise einen diagnostischen Nutzen für die Differenzialdiagnostik des NSTEMI bei Patienten mit initial negativem Troponin I mit einer hohen Fläche unter der ROC-Kurve (AUC von 0,832 für sFlt-1 und 0,828 für PLGF) und einem hohen negativen prädiktiven Wert (für sFlt-1 von 100%, PLGF von 98,7%).
3. sFlt-1 und PLGF können möglicherweise zur Risikostratifizierung von Patienten mit ACS eingesetzt werden, da Patienten, die nach der CCS-Klassifikation sich im Stadium IV befanden, um ein vielfaches höhere sFlt-1 Werte zeigten (sFlt-1 1267 (253/6683) pg/ml), als Patienten des Stadiums IV der NYHA-Klassifikation (sFlt-1 415 (282/1789) pg/ml).
4. Nach Heparinabgabe zeigen sich erhöhte sFlt-1 und PLGF Werte.
5. PLGF und sFlt-1 könnten eventuell prognostische Relevanz hinsichtlich des Endpunktes der Mortalität haben. Hinsichtlich der Vorhersage des Endpunktes Rehospitalisierung sind die genannten Biomarker prognostisch eher nicht relevant.

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Studiendesign

Studienkollektiv

Betrachtet man die Enddiagnosen des untersuchten Patientenkollektives, zeigt sich, dass der Anteil der Patienten mit akutem Koronarsyndrom am größten ist. Insgesamt ergibt sich jedoch eine sehr heterogene Mischung aus anderen kardialen und nicht kardialen Enddiagnosen. Viele vorangegangene Studien zu den untersuchten Biomarkern haben sich auf den Einschluss von

Diskussion

Patienten mit ACS oder einem hohen klinischen Verdacht auf ACS beschränkt, so wurde ein Patientenkollektiv mit deutlich höherer kardialer Morbidität selektiert.^{85,87-89,92,94} Unsere Studie erfasst ein typisches Patientenkollektiv einer Notaufnahme, um eine „realistische“ Situation des klinischen Alltags widerzuspiegeln. Das Verhältnis zwischen STEMI, NSTEMI und IAP Patienten war im von uns untersuchten Kollektiv gut vergleichbar zu den bereits in der Literatur für ein kardiovaskuläres Patientenkollektiv in einer Notaufnahme vorbeschriebenen Zahlen.⁹³

Patientencharakteristika

Die Patientencharakteristika der in die Studie eingeschlossenen Patienten sind für ein kardiovaskuläres Patientenkollektiv repräsentativ und stimmen mit dem in der Literatur beschriebenen Risikoprofil überein.¹⁰⁰ Betrachtet man Parameter wie die Geschlechterverteilung und Risikofaktoren wie Alter, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie, BMI, Rauchen und Diabetes mellitus, zeigen sich eindeutig erhöhte Parameter bzw. ein gehäuftes Vorkommen im Vergleich zu einer Normalpopulation.

STEMI Patienten nahmen im Vergleich zu Patienten mit NSTEMI weniger Medikamente ein und hatten weniger Vorerkrankungen. Patienten mit NSTEMI waren im Durchschnitt älter und hatten ein häufigeres Vorkommen von Komorbiditäten. Der Grace-Score lag in dieser Patientengruppe mit 132 Punkten im Durchschnitt am höchsten. Diese Ergebnisse passen zu der in der Literatur beschriebenen höheren Morbidität und der damit verbundenen langfristig höheren Mortalität bei Patienten mit NSTEMI.^{11,100}

Einschlusskriterien

Die Leitsymptome Brustschmerz und Dyspnoe werden individuell unterschiedlich wahrgenommen und sind schwer zu objektivieren. Stellt sich ein Patient mit Brustschmerzen vor, muss sich der Arzt anhand der aktuellen oder anamnestischen Angaben des Patienten ein Bild des beschriebenen Schmerzes anhand der angegebenen Schmerzqualität und -intensität machen.

Dyspnoe kann anhand der Sauerstoffsättigung, pCO² und Atemfrequenz eher objektiviert werden, ist aber bei Werten im Normalbereich ebenfalls nur anamnestisch zu klassifizieren. So ist die Einschätzung, welches Leitsymptom ein Patient hat und ob er für die Teilnahme an der Studie geeignet ist, der Einschätzung des beurteilenden Arztes und eindeutig subjektiven Kriterien unterworfen.

Follow-up

Der Zeitraum von 3 Monaten als Follow-up ist im Vergleich zu anderen Studien kurz.^{87-89,93} Ereignisse, die nach diesem Zeitraum eintraten wurden nicht dokumentiert. Die Fallzahl für den Endpunkt Tod ist mit n=20 sehr gering und ist daher nur bedingt aussagekräftig. Eine größere

Diskussion

Fallzahl wäre erforderlich, um die Tendenz der prognostischen Aussagekraft der untersuchten Biomarker im Hinblick auf die Mortalität zu bestätigen.

4.1.2 Subgruppenanalyse und Generalisierbarkeit

Die Studie wurde mit dem Ziel konzipiert, ein möglichst repräsentatives kardiovaskuläres Patientenkollektiv zu untersuchen. Auf Grund der Vielfältigkeit der Differentialdiagnosen des ACS waren einzelne Differentialdiagnosen seltener und die Ergebnisse für diese selteneren Diagnosen sind damit weniger übertragbar.

Um die Aussagekraft von PLGF und sFlt-1 für Patienten mit ACS zu prüfen, wurde das Patientenkollektiv in weitere Subgruppen unterteilt. Einzelne Subgruppen geringe Fallzahlen, so dass eine Verzerrung der Ergebnisse nicht auszuschließen ist.

Die Patienten für diese Studie wurden lediglich an einem Zentrum mit zwei Standorten rekrutiert. Es handelt sich um die Notaufnahmen eines großen, innerstädtisch gelegenen Universitätskrankenhauses. Die Ergebnisse sind dementsprechend möglicherweise in ihrer Übertragbarkeit auf andere Standorte limitiert, was anhand der Patientencharakteristika jedoch leicht feststellbar wäre.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 sFlt-1 und PLGF in Hinblick auf die Leitsymptome und bei nicht-ACS Diagnosen

sFlt-1 und PLGF in Hinblick auf die Leitsymptome

Patienten, die sich mit dem Leitsymptom Brustschmerz in der Notaufnahme vorstellten, hatten leicht erhöhte sFlt-1 Werte im Vergleich zu Patienten mit Dyspnoe. Diese Beobachtung ist möglicherweise durch den bei bestehender Angina pectoris erhöhten Grad an Koronarsklerose bedingt. Ist der Durchmesser des Koronargefäßes um über 50% durch eine Plaque verkleinert, kann die bedarfsgerechte Sauerstoffversorgung des Myokards in diesem Bereich unter Belastung nicht mehr gewährleistet werden¹⁴ und es kann zur Angina pectoris Symptomatik kommen. Erhöhte sFlt-1 Werte spiegeln hier eventuell den bereits höheren Grad der endothelialen Dysfunktion bei diesen Patienten wieder.

sFlt-1 und PLGF bei anderen kardialen und vaskulären Erkrankungen außer ACS

Unsere Studie zeigt, dass Erkrankungen wie Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen oder der arterielle Hypertonus neben dem ACS einen großen Anteil der Enddiagnosen in einem kardiovaskulären Studienkollektiv ausmachen. Diese Ergebnisse sind mit in der Literatur beschriebenen Daten vergleichbar.¹⁰¹ Die nicht kardialen Brustschmerzen waren nach dem ACS in

Diskussion

unserer Studie mit 15,8% die häufigste Enddiagnose. Hochholzer et al., sowie weitere Studien, zeigten vergleichbare Ergebnisse.^{87,93}

Ein Zusammenhang von sFlt-1 und PLGF mit dem akuten Koronarsyndrom konnte bereits in einigen Studien gezeigt werden. Studien zu anderen kardialen und vaskulären Diagnosen gibt es allerdings bisher wenige. Betrachtet man die sFlt-1 Werte der Patienten unserer Studie, die kein ACS als Enddiagnose hatten, zeigt sich, dass Patienten mit anderen kardialen und vaskulären Erkrankungen ebenfalls erhöhte Werte aufwiesen. Patienten, bei denen eindeutig eine kardiale Symptomatik ausgeschlossen werden konnte (z.B. nicht-kardialer Brustschmerz), hatten hingegen niedrigere Werte, die auch unter dem ermittelten Cut-off der 95. Perzentile lagen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die bereits bestehende endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen sein, ohne dass bei diesen die Diagnose eines manifesten ACS gestellt werden konnte. Auffällig zeigte sich jedoch, dass bei Patienten mit „akuter Herzinsuffizienz“, neben den Patienten mit der Enddiagnose „andere kardiale Erkrankungen“, die höchsten sFlt-1 Werte nachweisbar waren. Hintergrund könnte sein, dass die koronare Herzkrankheit die Hauptursache der Herzinsuffizienz ist.¹⁰² Darüber hinaus wäre vorstellbar, dass auch die akute Herzinsuffizienz mit einer verstärkten endothelialen Dysfunktion einhergeht.

sFlt-1 und PLGF bei akuter Herzinsuffizienz

Unsere Ergebnisse zeigen, dass unter den Nicht-ACS Diagnosen, Patienten mit der Enddiagnose „akute Herzinsuffizienz“ stark erhöhte sFlt-1 Werte aufweisen. PLGF war nicht erhöht. Patienten mit „chronischer Herzinsuffizienz“ lagen zwar über dem Cut-off der 95. Perzentile, hatten aber im Median ein deutlich niedrigeres sFlt-1 als Patienten mit „akuter Herzinsuffizienz“. Die Fallzahl der Patienten mit „chronischer Herzinsuffizienz“ war mit 6 Patienten allerdings klein.

Ky et al. beschrieben eine Erhöhung des sFlt-1 Wertes bei Patienten mit akuter Herzinsuffizienz in Abhängigkeit zum Schweregrad der Herzinsuffizienz, unabhängig ob sie ischämischer oder nicht-ischämischer Pathogenese war.¹⁰³ Eine weitere Studie konnte allerdings nur einen Zusammenhang mit sFlt-1 bei ischämisch bedingter Herzinsuffizienz nachweisen.¹⁰⁴

Vorovich et al. beschrieben in ihrer neuesten Studie eine starke Assoziation zwischen erhöhten sFlt-1 Werten und dem Risiko für eine Rehospitalisierung aufgrund kardialer Komplikationen, insbesondere bei Patienten mit nicht-ischämischer Herzinsuffizienz, aber auch bei ischämischer Ätiologie. Eine Assoziation mit PLGF konnte nicht nachgewiesen werden.¹⁰⁵ Hinweise aus der Grundlagenforschung zeigen einen Zusammenhang von erhöhtem sFlt-1 und peripartaler Kardiomyopathie. Patten et. al. zeigten im Mausmodell und in einer klinischen Studie, dass Mäuse bzw. Patientinnen mit peripartal erhöhten sFlt-1 Werten ein gesteigertes Risiko hatten eine Kardiomyopathie und Herzinsuffizienz zu entwickeln. Patientinnen, mit Präeklampsie und

Diskussion

erhöhten sFlt-1 Werten zeigten zudem eine kardiale Dysfunktion, die auch im Mausmodell bestätigt werden konnte.¹⁰⁶ Die Zusammenschau der Studien lässt vermuten, dass erhöhtes sFlt-1 vermutlich zu einer zunehmenden Einschränkung der Angiogenese und somit zum Schwund des mikrovaskulären Versorgungssystems des Herzens führt. Dies stützt die These, dass erhöhte sFlt-1 Werte zur Dekompensation einer (bestehenden) Herzinsuffizienz beitragen.¹⁰⁵ Die Patienten mit Herzinsuffizienz unserer Studie wurden nicht nach ischämischer oder nicht-ischämischer Ätiologie getrennt. Die Ergebnisse zeigen jedoch, dass Patienten mit akuter (dekompenzierter) Herzinsuffizienz nachweisbar erhöhte sFlt-1 Werte haben, welches die o.g. These stützt. Demnach wäre dann sFLT nicht nur ein Marker sondern evtl. auch ein Faktor dieser Erkrankung, was in weiteren Studien zu klären wäre.

4.2.2 sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS

Insgesamt hatten Patienten mit STEMI signifikant höhere sFlt-1 Werte im Vergleich zu Patienten mit NSTEMI und IAP. Diese Beobachtung konnte bereits durch mehrere Studien in der Literatur belegt werden.⁹²⁻⁹⁴ Kapur et al. beschrieben in ihrer Studie eine erhöhte sFlt-1 Ausschüttung nach akutem Koronarverschluss.⁹⁴ Sie konnten die höchsten sFlt-1 Werte direkt nach Symptombeginn messen. Allerdings wurde in dieser Studie die Gabe antikoagulatorischer Medikamente, wie Heparin, nicht berücksichtigt. Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die sFlt-1 Werte zwar durch Heparin beeinflusst werden, Patienten mit STEMI jedoch unabhängig davon deutlich die höchsten sFlt-1 Werte unter den ACS-Patienten aufweisen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte der in der Studie von Kapur et al. beschriebene Effekt der zeitlich direkten Ausschüttung von sFlt-1 nach totalem Verschluss eines Koronargefäßes sein. Im Mausmodell konnten sie zeigen, dass es auch durch Hypoxie zu einer vergleichsweise schnellen, aber doch etwas zeitversetzten Ausschüttung von sFLT-1 nach erst 30 min kam.⁹⁴ Dies könnte die niedrigeren sFlt-1 Werte bei NSTEMI Patienten, die meistens keinen totalen Verschluss einer Koronararterie durch einen Thrombus erleiden, im Vergleich zu STEMI Patienten mit erklären. Hypoxie scheint ein weiterer Faktor zu sein, der insbesondere den Marker PLGF beeinflussen kann.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Dies könnte eine ergänzende Erklärung für die höchsten PLGF Werte bei Patienten mit STEMI sein, die durch den totalen Verschluss eines Gefäßes den größten akuten Sauerstoffmangel am Myokard erleiden. Patienten mit NSTEMI zeigten in unsere Studie zudem niedrigere, aber immer noch deutlich über dem ermittelten Cut-off liegende sFlt-1 und PLGF Werte, Patienten mit IAP lagen mit den Werten im Median nur knapp über dem Cut-off von sFlt-1 und unterhalb des errechneten Cut-off von PLGF. Viele Studien zeigten bereits einen Zusammenhang zwischen erhöhten sFlt-1 und PLGF Werten und Patienten mit ACS im

Diskussion

Allgemeinen oder nach „akutem Myokardinfarkt“, allerdings wurde oft keine Subgruppenanalyse hinsichtlich der einzelnen Gruppen des ACS durchgeführt.^{88,89,91,92,109} Heeschen et al. konnten im Speziellen erhöhte PLGF Werte bei Patienten mit NSTEMI und IAP im Vergleich zu Patienten mit stabiler AP messen.⁸⁷ Unsere Daten zeigen, dass alle Gruppen des ACS mit den Werten über dem Cut-off von sFlt-1 aus einer Normalpopulation lagen. Eine Unterscheidung zwischen Patienten mit stabiler und instabiler AP scheint anhand des sFlt-1 Wertes daher möglich, ist aber aufgrund der nur geringen Überschreitung des Cut-off Wertes nicht eindeutig. Diese erhöhten Biomarkerwerte könnten ein Hinweis für den höheren Grad der endothelialen Dysfunktion und die damit verbundene erhöhte Plaquevulnerabilität von ACS Patienten im Vergleich zu Patienten mit stabiler AP oder kardial gesunden Patienten sein. Weitere Hinweise hierfür liefert die Studie von Lu et al., die einen Zusammenhang zwischen Plaquevulnerabilität und Höhe der sFlt-1 und PLGF Werte zeigte.⁸⁵

In der Literatur werden unterschiedliche pathophysiologischen Entitäten von STEMI und NSTEMI beschrieben.^{110,111} Der Ansatz der Plaquevulnerabilität könnte hierfür eine Erklärung sein: demnach besteht bei NSTEMI Patienten häufig ein höherer Grad der Arteriosklerose, aber das Ereignis, welches zum Myokardinfarkt führt, wird oft durch einen nicht verschließenden Thrombus verursacht.^{13,16,112-114} Wie im Folgenden beschrieben wird, kann vermutlich durch die untersuchten Biomarker nicht der Grad der Arteriosklerose gemessen, sondern die Ausprägung der endothelialen Dysfunktion zum oder kurz vor dem Zeitpunkt des kardialen Ereignisses. Dies lässt vermuten, dass das Gleichgewicht zwischen PLGF und sFlt-1 relativ schnell beeinflussbar ist und auf Einflüsse wie Hypoxie, Heparin-gabe oder Ruptur einer Plaque reagiert.

4.2.3 Der Einfluss von Heparin auf sFlt-1 und PLGF

Die Literatur zeigt, dass auch Heparin einen Einfluss auf die Freisetzung von sFlt-1 hat.^{77,79,95} In Anlehnung an diese Ergebnisse wurden in einer Subgruppenanalyse Patienten, die vor der studienbedingten Blutabnahme Heparin erhielten, ausgeschlossen. Dementsprechend wurden Patienten ohne vorherige Heparin-gabe separat analysiert.

Unsere Ergebnisse bestätigen, dass Heparin sFlt-1 und PLGF erhöht. Steppich et al. konnten in ihrer Studie, keinen Einfluss von Heparin auf PLGF messen.⁸⁰ Diese Studie betrachtete allerdings nur die PLGF Werte von gesunden Probanden vor und nach Heparin-gabe und nicht von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen.

Wir untersuchten die sFlt-1 und PLGF Werte vor und nach Heparin-gabe und führten eine Subgruppenanalyse zwischen den ACS- Patienten mit den Gruppen STEMI, NSTEMI und IAP durch. Die Analyse der sFlt-1 Werte zwischen den einzelnen Diagnosen des ACS zeigte, dass

Diskussion

STEMI Patienten nach Heparin-Gabe sehr stark erhöhte, aber auch ohne Heparin-Gabe immer noch signifikant erhöhte sFlt-1 Werte im Vergleich zu Patienten mit IAP und NSTEMI aufweisen. Patienten mit NSTEMI hatten im Vergleich nach Ausschluss der Patienten, die Heparin erhalten haben, im Median um fast die Hälfte niedrigere sFlt-1 Werte als zuvor.

Diese Ergebnisse lassen einen Einfluss von Heparin auf PLGF und sFlt-1 vermuten. Diese Vermutung deckt sich auch mit den Ergebnissen von Searle et al., die eine reaktive Erhöhung der sFLT-1 und PLGF Werte bei kardiovaskulären Patienten nach Heparin-Gabe messen konnten und dadurch eine Verschiebung/Erhöhung der sFlt-1/PLGF Ratio in Richtung eines anti-angiogenetischen Zustandes vermuteten. Dieser anti-angiogenetische Zustand der Zellen wird durch eine vermehrte sFlt-1 Freisetzung begünstigt und diese vermehrte Ausschüttung beeinflusst somit das endotheliale Gleichgewicht.⁷⁹ Diese These postuliert somit nicht nur eine reine Erhöhung der Werte durch Heparin, sondern impliziert auch, dass antikoagulatorische Medikamente wie Heparin einen generellen Einfluss auf die endotheliale Funktion haben und einen anti-angiogenetischen Status induzieren könnten. Dieser Ansatz könnte bei Erkrankungen mit gestörter Angiogenese wie Präeklampsie, malignen Neoplasien oder koronarer Herzkrankheit von Bedeutung sein. Die Studie von Sela et al. stützt diese These, indem sie die Retention und systemische Freisetzung von sFlt-1 durch Heparin und dessen Regulierung durch die Heparinase beschreibt.⁷⁸ Dieses in der Literatur beschriebene Phänomen, dass Heparin kurzfristig die sFlt-1 Werte für zwölf bis 24 Stunden stark beeinflussen kann und sFlt-1 Werte bis zu einem 50-fachen erhöht sein können, wird durch unsere Ergebnisse ebenfalls gestützt.^{79,92,95} Eine Interpretation der sFlt-1, aber auch PLGF Werte, kurz nach Heparin-Gabe ist deshalb nicht möglich.

4.2.4 sFLT und PLGF als Marker zur Diagnostik des NSTEMI

Unsere Ergebnisse zeigen, dass sFlt-1 und PLGF nur gering mit dem kardialen Nekrosemarker Troponin I korrelieren. Dies wurde ebenfalls in mehreren klinischen Studien gezeigt.^{87,93} Der Grund hierfür könnte in der frühen Freisetzung von PLGF und sFlt-1 während des Prozesses der endothelialen Dysfunktion, bevor das Stadium der Zellnekrose erreicht wird, liegen. PLGF und sFlt-1 sind somit keine Nekrosemarker, sondern sind eher als Biomarker der endothelialen Dysfunktion und Gefäßinflammation zu werten, die Angiogenese anregen, mitogen sowie chemotaktisch wirken.¹¹⁵ Diese Eigenschaften führen zur erhöhten Aufnahme von inflammatorischen Zellen, wie Monozyten und Leukozyten, in die Gefäßwand und damit in die Plaques. Dies führt zu erhöhter Plaquevulnerabilität, dann möglicherweise zur Plaqueruptur und damit zum akuten kardiovaskulären Ereignis.¹¹⁵ Allerdings zeigten auch Patienten mit positivem

Diskussion

Troponin I Wert signifikant höhere sFlt-1 Werte im Vergleich zu Patienten mit negativem Troponin I. Dies könnte mit dem bereits höheren Grad der Inflammation bzw. der Störung des Gleichgewichtes der endothelialen Funktion nach Plaqueruptur in diesem Patientenkollektiv zusammenhängen.

Unsere Ergebnisse zeigten außerdem, dass unter den initial Troponin I negativen Patienten eine signifikante Erhöhung der sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten mit NSTEMI zu beobachten war. Diese Daten implizieren, dass sFlt-1 als möglicher Zusatzmarker zur Differenzierung von Patienten mit ACS genutzt und so ggf. schneller die Verdachtsdiagnose für einen NSTEMI gestellt bzw. ausgeschlossen werden könnte. Diese Zusatzinformation könnte den Zeitrahmen bis zur Initiierung einer medikamentösen Therapie sowie bis zur Durchführung einer Koronarangiographie, bzw. zur Entlassung, verkürzen. Des Weiteren, könnte die Entscheidung für bzw. gegen eine Koronarangiographie beeinflusst werden: Laut Literatur profitieren insbesondere Patienten mit einem kardiovaskulären Hochrisikoprofil von einer Koronarangiographie und nachfolgender PCI.¹²

Zudem ist wichtig zu beachten, dass die Blutabnahme zum frühesten Zeitpunkt bei Aufnahme des Patienten in die Notaufnahme erfolgte. Dies erlaubt die Schlussfolgerung, diese Ergebnisse im klinischen Alltag nutzen zu können und impliziert, dass sFlt-1 ein früher diagnostischer Biomarker für NSTEMI sein könnte. Diese Hypothese wird bestätigt durch die Studie von Kapur et al., welche zeigte, dass sFlt-1 in den ersten zwei Stunden nach Symptombeginn am höchsten zu messen war.⁹⁴ Dieser frühe Anstieg von sFlt-1 nach Symptombeginn könnte auch ein Ansatzpunkt sein, Patienten mit IAP und ausgeprägter endothelialer Dysfunktion zu identifizieren, die im Verlauf ein höheres Risiko zur Progression zu einem NSTEMI haben. Betrachtet man den Grad der endothelialen Dysfunktion als Marker für das Risiko eines kardiovaskulären Ereignisses, könnte man hier Patienten, mit höheren Werten und damit einem höheren Risiko möglicherweise früher erkennen und von den Patienten unterscheiden, die eine IAP mit schwächer ausgeprägter endothelialer Dysfunktion haben. Daten die zeigen, dass Patienten mit IAP und erhöhten sFlt-1 Werten ein erhöhtes Risiko haben, einen NSTEMI im Verlauf zu entwickeln, gibt es aktuell nicht. Allerdings zeigt eine Studie die Korrelation zwischen der Höhe des zirkulierenden sFlt-1 und dem Myokardialen Performance Index (MPI).¹⁰⁶ Dieser spiegelt zwar nur den Grad der kardialen Dysfunktion wieder, lässt aber wie bereits weiter oben beschrieben vermuten, dass auch diese mit dem Grad der endothelialen Dysfunktion zusammenhängt. Unsere Daten zeigten einen medianen sFlt-1 Wert knapp oberhalb des Cut-off Wertes der 95. Perzentile. Patienten der Gruppe IAP, die weit oberhalb dieses Cut-

Diskussion

off liegen, könnten möglicherweise nach dieser Hypothese von einer weiterführenden Diagnostik und ggf. intensivierten Therapie profitieren.

Die AUC für die Diagnose NSTEMI zeigte für die einzelnen Marker alleine eine mäßige Sensitivität und Spezifität (Abb. 9). Kombiniert man die Marker mit dem etablierten kardialen Biomarker Troponin I, zeigt sich eine AUC von 0,832 für die kombinierte Messung mit sFlt-1 und eine AUC von 0,828 für PLGF. Es zeigte sich ein negativer prädiktiver Wert von 100 % für sFlt-1 in Kombination mit Troponin I und von 98,7% für PLGF kombiniert mit Troponin I. Allerdings muss die geringe Fallzahl, der in dieser Analyse berücksichtigten Patienten, in die Bewertung dieser Daten miteinfließen. Hochholzer et al. beschrieben einen ähnlich hohen negativen prädiktiven Wert für sFlt-1 und Troponin I in Kombination, allerdings nur für die Diagnose des akuten Myokardinfarkts (keine Differenzierung zwischen NSTEMI und STEMI).⁹³ PLGF und sFlt-1 alleine sind als Marker zur NSTEMI-Diagnostik also nicht ausreichend, aber in Kombination mit Troponin I könnten sie nützliche Zusatzinformationen zum Ausschluss eines NSTEMI bereits nach der initialen Blutentnahme liefern. Der zusätzliche Nutzen von PLGF und sFlt-1 in Kombination mit einem hochsensitiven Troponin-Assay bleibt unklar und bedarf weiterer Forschung.

Studien zum Biomarker Copeptin zeigten allerdings den Bedarf an weiteren Biomarkern neben dem Troponin zum frühen Ausschluss eines Myokardinfarkts, insbesondere dem NSTEMI. Reichlin et al. konnte einen negativ prädiktiven Werte (NPV) von 99,7% bei Werten unter den festgelegten Cut-off Werten von Troponin I und Copeptin in Kombination zeigen.⁴⁰ Dieser hohe NPV konnte auch in weiteren Studien bestätigt werden.^{116,117} In der Kombination mit hochsensitiven Troponinassays zeigt Copeptin zudem weiter einen zusätzlichen Nutzen.¹¹⁷⁻¹¹⁹ Diese Ergebnisse könnten Rückschlüsse auch auf den zusätzlichen Nutzen des hochsensitiven Troponin-Assay's in Kombination mit sFlt-1 und PLGF zulassen.

Insgesamt zeigt sich, dass eine Kombination aus verschiedenen Biomarkern, insbesondere der Marker, die früh und ggf. schon vor dem Stadium der Zellnekrose messbar sind, in Zukunft immer mehr an Bedeutung gewinnen werden, da sie es ermöglichen, Patienten besser in (Risiko-) Gruppen zu unterteilen und somit eine effizientere klinische Versorgung gewährleistet werden könnte.

4.2.5 sFlt-1 und PLGF zur Risikostratifizierung

Die NYHA- und CCS- Klassifikation werden zur klinischen Einschätzung bei Patienten, die sich mit kardiovaskulären Symptomen vorstellen, genutzt. Betrachtet man die Biomarkerwerte in Strata der verschiedenen Stadien dieser Scores, zeigt sich, dass Patienten, die anhand der Scores

Diskussion

das höchste Risiko aufwiesen, auch die höchsten Biomarkerwerte zeigten. Besonders Patienten des Stadium IV der CCS-Klassifikation, aber auch der NYHA-Klassifikation, zeigten erhöhte sFlt-1 Werte. Die NYHA-Klassifikation steht klinisch eher im Zusammenhang mit der Herzinsuffizienz und die erhöhten sFlt-1 Werte bei Patienten des NYHA-Stadiums IV, sind am wahrscheinlichsten, wie oben bereits diskutiert, Marker der kardialen Dysfunktion bedingt u.a. durch die endotheliale Dysfunktion dieser Patienten. Nakamura et al. beschrieben in ihrer Studie PLGF Erhöhungen in Abhängigkeit der NYHA-Klasse. Das untersuchte Patientenkollektiv hatte eine ischämische Kardiomyopathie, so dass die Beeinflussung der Werte durch die kardiale Dysfunktion zu vermuten ist.¹⁰⁴

Betrachtet man die sFlt-1 Werte der einzelnen Stadien der CCS-Klassifikation genauer, zeigt sich keine graduelle Erhöhung der Werte in Abhängigkeit zu den Stadien, sondern eine sprunghaft starke Erhöhung in Stadium IV, im Vergleich zu Stadium I-III. Diese Ergebnisse bestätigen die Vermutung, dass sFlt-1 nicht den Schweregrad der Erkrankung widerspiegeln, sondern lediglich auf ein ACS hinweisen kann. Es lässt sich daraus schließen, dass erst ab einem gewissen Schweregrad der Erkrankung die endotheliale Dysfunktion durch die untersuchten Marker messbar wird. Klinisch passt dies zu unseren Ergebnissen, da das CCS- Stadium IV den Übergang von der stabilen AP zum ACS widerspiegelt. Dies lässt vermuten, dass zu diesem Zeitpunkt die endotheliale Funktion soweit aus dem Gleichgewicht gebracht ist, dass sFlt-1 rapide ansteigt und die endotheliale Dysfunktion erstmals messbar macht. Diese Vermutung lässt sich durch die Erkenntnisse bestärken, dass deutlich erhöhte PLGF und sFlt-1 Werte bei Patienten mit STEMI, NSTEMI und IAP im Vergleich zu Patienten mit stabiler AP oder kardial gesunden Patienten zu finden sind.^{87,91-94}

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen beschreiben Steppich et al. in ihrer Studie eine Korrelation der PLGF Werte in Abhängigkeit zum Grad der KHK.⁸⁰ Die relativ kleine Fallzahl der untersuchten Patienten dieser Studie muss hier allerdings mit in Betracht gezogen werden.⁸⁰ Unsere Ergebnisse zeigten allerdings, dass lediglich PLGF und nicht sFlt-1 (nach Ausschluss der heparinisierten Patienten von der Analyse) bei dem Vorliegen einer Koronarsklerose erhöht war. Eine Unterscheidung zwischen einer koronaren Ein-, Zwei- oder Drei-Gefäßerkrankung konnte anhand der Werte nicht gemacht werden. Chung et al. konnten ähnliche Ergebnisse in ihrer Studie finden, ein Unterschied zwischen PLGF und VEGF wurde hier aber nicht gemacht. Dieses Erkenntnis könnte bei der Identifikation von Patienten helfen, die sich mit ACS-Symptomen vorstellen, letztendlich aber in der Koronarangiographie unauffällige Befunde zeigen (Cardiac Syndrom X). Auch bei NSTEMI-ACS Patienten wird in der Literatur beschrieben, dass in ca.15% der Fälle, die mittels Herzkatheter untersucht werden, keine oder nur geringe Veränderungen der

Diskussion

Koronararterien gefunden werden,⁵ so dass auch hier PLGF ggf. zusätzliche Informationen liefern könnte, die einerseits zur Indikationsstellung und andererseits zur Einschätzung des Schweregrades des Krankheitsbildes beitragen könnten.

Die zusätzliche Messung von sFlt-1 vor PCI kann zur Vorhersage des Risikos für einen PCI-assoziierten Myokardinfarkt Typ 4a genutzt werden. Dies zeigten Searle et al. in ihrer Studie, die signifikant erhöhte Werte bei gefährdeten Patienten vor PCI messen konnten.⁹⁵ Auch diese Studie unterstützt die These, dass erhöhtes sFlt-1 ein Parameter für die Plaquevulnerabilität darstellt und genutzt werden kann, das Risiko des Patienten für einen Myokardinfarkt vor und nach PCI besser einzuschätzen.

4.2.6 sFlt-1 und PLGF als prognostische Marker

Als primäre Endpunkte für die Evaluation der prognostischen Wertigkeit von sFlt-1 und PLGF wählten wir die Rehospitalisierung oder den Tod innerhalb von 3 Monaten nach Entlassung der Patienten aufgrund eines ACS. Die Daten zeigen keinen Zusammenhang zwischen Höhe der PLGF und sFlt-1 Werte mit einer Rehospitalisierung der Patienten in dem untersuchten Zeitraum. Patienten, die innerhalb eines Zeitraums von 3 Monaten nach einem ACS verstarben, hatten hingegen leicht, jedoch nicht signifikant, höhere PLGF und sFlt-1 Werte. In der Literatur wurde PLGF bereits als ein Marker für die Langzeit- (4 Jahre) und Kurzzeit-Prognose (30 Tage) kardialer Ereignisse beschrieben.⁸⁷⁻⁸⁹ Eine weitere Studie konnte höhere PLGF Werte in einem gesunden weiblichen Patientenkollektiv mit einer erhöhten Rate an kardiovaskulären Ereignissen nach 10 Jahren in Zusammenhang bringen, aber keine kurzfristigen prognostischen Eigenschaften finden.⁸⁶ Die Studie von Onoue et al. zeigte zudem, dass erhöhte sFlt-1 Werte die Schwere des Verlaufs und die Wahrscheinlichkeit für kardiovaskuläre Komplikationen nach akutem Myokardinfarkt vorhersagen können.⁹² Hochholzer et al. zeigten eine erhöhte 1-Jahres-Mortalität für Patienten, die mit den sFlt-1 und PLGF Werten über dem ermittelten Cut-off lagen.⁹³ All diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass erhöhte Werte der untersuchten Marker prognostisches Potential besitzen. Wir wählten einen kurzen Zeitraum für unser Follow-up, um die Relevanz unserer Ergebnisse für den klinischen Alltag in einer Notaufnahme nachzuweisen. Unsere Daten suggerieren, dass Patienten, die erhöhte sFlt-1 und PLGF Werte beim ersten Krankenhausaufenthalt hatten, möglicherweise von einer weiteren oder umfassenderen Therapie profitiert hätten, da ihr Risiko zu versterben erhöht war. Eine pathophysiologische Erklärung hierfür könnte eine Freisetzung von Vasokonstriktoren und Pro-Koagulogenen sein, die während des Prozesses der endothelialen Dysfunktion vermehrt freigesetzt werden. Wenn man davon ausgeht, dass sFlt-1 während oder kurz vor einem Myokardinfarkt genau diesen Prozess

Diskussion

begünstigt, wird der verursachende Thrombus vergrößert und die Vasokonstriktion führt zur weiteren Verschlechterung der allgemeinen kardialen Durchblutung.⁹² Dies könnte eine Erklärung für das höhere Mortalitätsrisiko bei Patienten mit erhöhten PLGF und sFlt-1 Werten sein.

Die Studie von Hochholzer et. al zeigte zudem, dass sFlt-1, im Gegensatz zu PLGF, als ein unabhängiger Marker für erhöhte Mortalität fungieren kann. Dies gilt selbst in Kombination mit einem hochsensitiven Troponin Assay. Weiter zeigten sie, dass sFlt-1 und PLGF auch den prognostischen Informationsgehalt anderer wichtiger prognostische Marker wie NT-pro-BNP erhöhen können.⁹³ Ähnliche Ergebnisse konnte die Studie von Glaser et al. zeigen, die eine Kombination aus PLGF, BNP und eGFR als beste Kombination für das 1-Jahres Mortalitätsrisiko identifizierten.⁸⁹ Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die Kombination verschiedener Marker in Hinblick auf die Prognosebeurteilung der Patienten dem Einzelparameter deutlich überlegen ist und eventuell längerfristig eine wichtige Rolle bei der Diagnostik- und Therapieplanung besonders gefährdeter Patienten spielen könnte. sFlt-1 und PLGF sind als Marker der Gefäßinflammation und endothelialen Dysfunktion, als früher Marker für ein ACS anzusiedeln. Unsere Ergebnisse zeigen, dass der Schweregrad der Erkrankung, wie bereits diskutiert, durch die Marker wahrscheinlich nicht zu eruieren ist, aber erhöhte Werte Hinweise auf die bedrohliche Plaqueinstabilität und Rupturgefahr geben können. Sie zeigen zudem, dass sFlt-1 und PLGF eventuell Hinweise auf ein erhöhtes Mortalitätsrisiko geben können. Eine Kombination mit anderen etablierten Markern scheint nach Studienlage jedoch sinnvoll und könnte das prognostische Potential von PLGF und sFlt-1 weiter erhöhen. Zudem sollten zukünftige Studien untersuchen, ob diese Marker geeignet sind, Patienten zu identifizieren, die von einer intensiveren Antikoagulation z.B. mit Rivaroxaban profitieren.¹²⁰

4.2.7 Limitationen der Studie

Die Probengewinnung erfolgte nach standardisiertem Protokoll (siehe Methodikteil). Trotz dieses Vorgehens sind Unterbrechungen der Kühlkette nicht auszuschließen und können Einfluss auf die gemessenen Biomarker genommen haben. Auch durch die Lagerung der Proben bei -80°C kann eine Proteindegeneration nicht ausgeschlossen werden. Eine vorangegangene Studien zeigte aber bereits, dass bei einmaligem Einfrieren und Auftauen des zu messenden Plasmas, keine Unterschiede des Markers PLGF zwischen frischem und tiefgefrorenem Plasma gemessen werden konnten,⁸⁷ so dass wir von einem allenfalls geringen Effekt durch Temperaturschwankungen auf unsere Ergebnisse ausgehen.

Diskussion

Für einen Teil der Analyse schlossen wir Patienten, die auf dem Notarztwagen Heparin erhalten hatten, von unseren Auswertungen aus. Auch wenn die Blutentnahme generell bei Aufnahme des Patienten in die Notaufnahme erfolgte, ist nicht auszuschließen, dass Patienten in Einzelfällen doch bereits vor der Probenentnahme in der Rettungsstelle Heparin erhalten haben, ohne dass diese Notfallmedikation bei der Übergabe des Patienten entsprechend zeitlich exakt dokumentiert war. Hierfür kommen allerdings nur eine geringe Anzahl der Patienten in Betracht, so dass kein wesentlicher Einfluss auf die Ergebnisse zu erwarten ist.

Letztendlich muss erwähnt werden, dass die Analyse der Daten unabhängig von bestehender Medikation, Alter und Risikofaktoren der Patienten erfolgte. In der Literatur kann man in Bezug darauf sehr unterschiedliche Beobachtungen finden. Es gibt Studien, die zeigten, dass diese Faktoren Einfluss auf die untersuchten Marker nehmen können,^{45,86,121} andere hingegen beschrieben keinen Einfluss auf PLGF und sFlt-1.^{87,88,94} Da die beschriebenen Effekte allerdings nur klein waren, gehen wir von keinem entscheidenden Effekt auf unsere Ergebnisse aus.

5 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass sFlt-1 und PLGF vor allem diagnostisches und geringer auch prognostisches Potential bei Patienten mit ACS besitzen. Insgesamt konnte gezeigt werden, dass sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS erhöht sind und im Besonderen bei Patienten mit NSTEMI sehr frühe Hinweise auf die Diagnose liefern können. Die Ergebnisse belegen außerdem, dass durch die Kombination der Marker mit Troponin I, die Diagnose eines NSTEMI bereits früh nach initialer Blutabnahme ausgeschlossen werden könnte. Die Vermeidung einer unnötigen medikamentösen oder invasiven Therapie und die Reduzierung unnötiger Krankenhausaufenthalte könnte so erzielt und damit die Kosten- und Personalbelastung, insbesondere in der Notaufnahme, verbessert werden.

Weiterhin zeigten unsere Ergebnisse, dass sFlt-1 und PLGF zur Risikostratifizierung und Prognoseeinschätzung bei Patienten bei ACS genutzt werden könnten, da erhöhte Biomarkerwerte mit einem höheren Grad der endothelialen Dysfunktion und demzufolge erhöhter Morbidität und Mortalität einhergingen.

Für Diagnosen wie das Cardiac Syndrom X könnten diese Marker die klinische Einschätzung des bestehenden Krankheitsbildes eventuell so verändern, dass im Interesse der betroffenen Patienten eine Koronarangiographie vermieden werden kann bzw. umgekehrt ergänzende Kriterien für diese Diagnose etabliert werden könnten.

Die Messung der untersuchten Biomarker wird allerdings im klinischen Alltag bisher routinemäßig nicht durchgeführt, da das Kosten-Nutzen-Verhältnis bisher noch unklar ist, die schnelle Verfügbarkeit nicht gewährleistet ist und eine ausreichende Anzahl prospektiver und interventioneller Studien fehlen. Der Einfluss von Heparin auf die untersuchten Marker ist hier mit in Betracht zu ziehen. Unsere Studie belegt, dass ein möglicher Nutzen der untersuchten Biomarker bei Patienten mit ACS zu verzeichnen ist und der Einsatz bei Patienten mit kardiovaskulären Symptomen wie Dyspnoe oder Brustschmerz klinisch relevant sein könnte, auch bevor eine definitive Diagnose gestellt wurde.

6 Zusammenfassung

Die Koronare Herzkrankheit stellt bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen eine der häufigsten Diagnosen dar und ist mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden.² Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom (ACS), bei welchen ein akuter Verschluss oder eine hochgradige koronare Minderperfusion lebensbedrohliche Folgen haben kann, sind potentiell instabil und benötigen eine schnelle Evaluation und Behandlung, um bleibende Schäden und Komplikationen zu vermeiden. Die Unterscheidung zwischen einer stabilen KHK und einem akuten Geschehen, sowie die Evaluation des Risikoprofils eines Patienten mit ACS, stellen eine tägliche klinische Herausforderung dar. Um eine optimale Patientenversorgung zu gewährleisten, muss eine akkurate Diagnostik und eine gute Risikostratifizierung der betroffenen Patienten erfolgen.³

Neben den Nekrosemarkern Troponin I und Troponin T sind in Bezug auf das akute Koronarsyndrom besonders in den letzten Jahren Wachstumsfaktoren (VEGF) erforscht worden, die im Zusammenhang mit dem Grad der Koronarsklerose und der endothelialen Dysfunktion stehen könnten. Zentraler Angriffspunkt ist das vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktoren-System, dessen Liganden und Rezeptoren Ziel für neue Therapieansätze bilden.⁴⁴ Der Wachstumsfaktor Placental growth factor (PLGF) und sein löslicher Rezeptor FMS-like Tyrosinkinase-1 (sFlt-1) nehmen unter den Wachstumsfaktoren als diagnostische und prognostische Marker bei Verdacht auf ein ACS eine besondere Position ein.

PLGF und sFlt-1 sind Marker der Gefäßinflammation und der damit einhergehenden endothelialen Dysfunktion. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem diagnostischen und prognostischen Nutzen der o.g. Marker in Bezug auf das ACS und im Besonderen mit der Diagnose des NSTEMI und der Differenzierung zwischen Patienten mit NSTEMI-ACS. Zudem wurde der Einfluss von Heparin auf sFlt-1 und PLGF berücksichtigt.

537 Patienten, die sich mit dem Leitsymptom Brustschmerz oder Dyspnoe in der Notaufnahme der Charité Berlin, Campus Virchow-Klinikum bzw. Mitte vorstellten, wurden in die Studie eingeschlossen. Insgesamt hatten 189 Patienten die Enddiagnose ACS, davon hatten 21,0 % (n=113) die Diagnose instabile AP, 10,8 % (n=58) die Diagnose NSTEMI und 3,4 % (n=18) die Diagnose STEMI. 17,0% (n=87) der Patienten wurde innerhalb des 3-Monats Follow-up rehospitalisiert, 3,7% (n=20) der Patienten verstarben.

PLGF und sFlt-1 können als diagnostische Marker für ein ACS behilflich sein. STEMI Patienten hatten signifikant erhöhte sFlt-1 und PLGF Werte, aber auch Patienten mit NSTEMI und IAP

Zusammenfassung

wiesen im Vergleich zu nicht-ACS Patienten erhöhte Werte auf und lagen mit ihren medianen Werten über dem ermittelten Cut-off der 95. Perzentile einer Referenzpopulation. Bei Patienten, die initial ein negatives Troponin I aufwiesen, konnte mit Hilfe von PLGF und sFlt-1 ein NSTEMI bereits nach einer Blutentnahme mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden. So zeigte die Kombination der einzelnen Marker mit Troponin I einen negativen prädiktiven Wert von 98,7 % für PLGF und 100% für sFlt-1. Zudem konnte gezeigt werden, dass Heparin die Höhe der PLGF und sFlt-1 Werte beeinflusst und nach Heparinabgabe deutlich erhöhte Werte gemessen werden.

sFlt-1 und PLGF können möglicherweise auch als prognostischer Marker bei Patienten mit ACS dienen. Erhöhte Werte wiesen auf ein gesteigertes Mortalitätsrisiko hin. Kein Nutzen war bezüglich der prognostischen Aussagekraft in Bezug auf eine erneute Rehospitalisation nachweisbar.

PLGF und sFlt-1 sind vielversprechende Biomarker bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen, werden aber bisher im klinischen Alltag nicht routinemäßig bestimmt. Weitere prospektive, interventionelle Studien zum klinischen Potential von PLGF und sFlt-1 sind aufgrund unserer Daten gerechtfertigt.

7 Literaturverzeichnis

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125(1):e2-e220.
2. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non ST-Elevation Myocardial Infarction): developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons: endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine. *Circulation*. 2007;116(7):e148-304.
3. Möckel M, Blankenberg S, Searl J, Giannitis E, Hamm C. Instabile Angina pectoris und Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt. In: Möckel M, ed. *Harrisons Kardiologie*. Vol 1. Ausgabe. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2010:452-477.
4. Hillis LD, Lange RA. Optimal management of acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009;360(21):2237-2240.
5. Hamm CW. Diagnose und Therapie des akutes Koronarsyndrom ohne ST-Streckenhebung (NST-ACS). 2009.
6. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(16):1581-1598.
7. N. Schofer H, C.W. Hamm BN, H.A. Katus H, M. Kelm D, S. Blankenberg, Hamburg. 3. Allgemeine Definition des Myokardinfarktes *ESC Pocket Guidelines*. 2012.
8. van de Werf F. Mangement of acute myocardial infarction in patients presenting ST-segment elevation. *European Heart Journal*. 2008;29:2909-2945.
9. Vollert J, Hamm C, Kardiologie AS, Möckel M. Prozessorientierte und standartisierte Umsetzung von DGK-Leitlinien- Vorgehen beim ST-Strecken-Hebungsinfarkt. *Der Kardiologe*: Springer Medizin Verlag; 2009.
10. http://www.herold-innere-medizin.de/pdf/KHK_und_Herzinfarkt.pdf.
11. S. Achenbach, S. Szardien, U. Zeymer, S. Gielen, C.W. Hamm. Kommentar zu den Leitliniender Europäischen Gesellschaftfür Kardiologie (ESC) zurDiagnostik und Therapie desakuten Koronarsyndroms ohnepersistierende ST-Streckenhebung. *Kardiologie*. Vol 6: Springer-Verlag; 2012:283–301.
12. Moser M. "Standard operating procedures" zur Umsetzung der Leitlinien beim Nicht-ST-Hebungsinfarkt. *Der Kardiologe*. Vol Band 4: Springer Verlag; 2010.
13. Dietz R. Harrison Innere Medizin Band 2. In: M.Dietel NS, M.Zeitz, ed. Vol 17. Auflage. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2008.
14. Kröger K. Pathogenese, Prävention und Behandlung der Atherosklerose. In: Möckel M, ed. *Harrisons Kardiologie*. 17.Auflage ed. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2010:372-386.
15. Insull W, Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med*. Vol 122. United States2009:S3-S14.
16. Singh RB, Mengi SA, Xu YJ, Arneja AS, Dhalla NS. Pathogenesis of atherosclerosis: A multifactorial process. *Exp Clin Cardiol*. 2002;7(1):40-53.
17. Rodriguez-Granillo GA, Serruys PW, Garcia-Garcia HM, et al. Coronary artery remodelling is related to plaque composition. *Heart*. 2006;92(3):388-391.
18. H. Hölschermann, H. Tillmanns, Bode C. Pathogenetische Mechanismendes akuten Koronarsyndroms *Hämostaseologie* 2006; 26: 99–103. 2006.

Literaturverzeichnis

19. Libby P. Atherosclerosis: disease biology affecting the coronary vasculature. *Am J Cardiol.* Vol 98. United States 2006:3Q-9Q.
20. Pathophysiology of Coronary Artery Disease -- Libby and Theroux 111 (25): 3481 -- Circulation.
21. Libby P. The Molecular Mechanisms of the Thrombotic Complications of Atherosclerosis. *J Intern Med.* 2008;263(5):517-527.
22. Searle J, Danne O, Muller C, Mockel M. Biomarkers in acute coronary syndrome and percutaneous coronary intervention. *Minerva Cardioangiol.* 2011;59(3):203-224.
23. Keeley EC, Hillis LD. Primary PCI for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med.* 2007;356(1):47-54.
24. Roberts WC. Relationship Between Coronary Thrombosis and Myocardial Infarction. *Mod Concepts Cardiovasc Dis.* 1972;41(2):7-10.
25. Specchia G, Ardissino D, Roberts WC. A symposium: thrombosis and thrombolysis in unstable angina. Introduction. *Am J Cardiol.* 1991;68(7):1B.
26. Hamm CW. Kommentar zu den Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) zur Diagnose und Therapie des akuten Koronarsyndroms ohne ST-Strecken-Hebung (NSTEMI-ACS) *Kardiologie.* 2009.
27. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, et al. 2011 ACCF/AHA Focused Update Incorporated Into the ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2011;123(18):e426-579.
28. Granger CB, Goldberg RJ, Dabbous O, et al. Predictors of hospital mortality in the global registry of acute coronary events. *Arch Intern Med.* 2003;163(19):2345-2353.
29. Mehta SR, Granger CB, Boden WE, et al. Early versus delayed invasive intervention in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2009;360(21):2165-2175.
30. http://www.outcomes-umassmed.org/grace/grace_risk_table.aspx.
31. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J.* 2003;24(11):987-1003.
32. Morrow DA, Antman EM, Charlesworth A, et al. TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: A convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation: An intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial substudy. *Circulation.* 2000;102(17):2031-2037.
33. Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, et al. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA.* 2000;284(7):835-842.
34. Comparative reproducibility and validity of systems for assessing cardiovascular functional class: advantages of a new specific activity scale -- Goldman et al. 64 (6): 1227 -- Circulation.
35. Janßen OE, Janßen OH. Ischämische Herzkrankheit. In: Möckel M, ed. *Harrisons Kardiologie.* 1. Auflage ed. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2010:426-451.
36. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2008;29(23):2909-2945.
37. Erhardt L, Herlitz J, Bossaert L, et al. Task force on the management of chest pain. *Eur Heart J.* 2002;23(15):1153-1176.
38. Hoepfer MM. Tiefe Beinvenenthrombose und Lungenembolie. In: M. Dietel NS, M. Zeitz, ed. *Harrisons Innere Medizin Band 2.* 17. Auflage ed. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2009:2033-2040.

Literaturverzeichnis

39. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 1996;335(18):1342-1349.
40. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, et al. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(1):60-68.
41. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2012;33(20):2569-2619.
42. 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)]. *G Ital Cardiol (Rome).* 2012;13(3):171-228.
43. Zakynthinos E, Pappa N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. *J Cardiol.* 2009;53(3):317-333.
44. Wu FT, Stefanini MO, Mac Gabhann F, Kontos CD, Annex BH, Popel AS. A systems biology perspective on sVEGFR1: its biological function, pathogenic role & therapeutic use. *J Cell Mol Med.* 2010;14(3):528-552.
45. Lieb W, Safa R, Benjamin EJ, et al. Vascular endothelial growth factor, its soluble receptor, and hepatocyte growth factor: clinical and genetic correlates and association with vascular function. *Eur Heart J.* 2009;30(9):1121-1127.
46. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Delli-Bovi P, Persico MG. Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to the vascular permeability factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(20):9267-9271.
47. Nagy JA, Dvorak AM, Dvorak HF. VEGF-A(164/165) and PlGF: roles in angiogenesis and arteriogenesis. *Trends Cardiovasc Med.* 2003;13(5):169-175.
48. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(22):10705-10709.
49. Khalil A, Muttukrishna S, Harrington K, Jauniaux E. Effect of antihypertensive therapy with alpha methyl dopa on levels of angiogenic factors in pregnancies with hypertensive disorders. *PLoS One.* 2008;3(7):e2766.
50. Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane A, et al. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. *Oncogene.* 1990;5(4):519-524.
51. Yamane A, Seetharam L, Yamaguchi S, et al. A new communication system between hepatocytes and sinusoidal endothelial cells in liver through vascular endothelial growth factor and Flt tyrosine kinase receptor family (Flt-1 and KDR/Flk-1). *Oncogene.* 1994;9(9):2683-2690.
52. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Delli-Bovi P, Persico MG. Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to the vascular permeability factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(20):9267-9271.
53. Kendall RL, Wang G, DiSalvo J, Thomas KA. Specificity of vascular endothelial cell growth factor receptor ligand binding domains. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;201(1):326-330.
54. Matthews W, Jordan CT, Wiegand GW, Pardoll D, Lemischka IR. A receptor tyrosine kinase specific to hematopoietic stem and progenitor cell-enriched populations. *Cell.* 1991;65(7):1143-1152.
55. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis.* 2006;9(4):225-230; discussion 231.

Literaturverzeichnis

56. de Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N, Williams LT. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science*. 1992;255(5047):989-991.
57. Kendall RL, Wang G, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;226(2):324-328.
58. Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int*. 2005;67(6):2101-2113.
59. Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111(5):649-658.
60. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(5):2348-2351.
61. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(11):5555-5563.
62. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(6):1541-1547; discussion 1547-1550.
63. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(1):177-182.
64. Levine RJ, Thadhani R, Qian C, et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *JAMA*. 2005;293(1):77-85.
65. Rana S, Karumanchi SA, Levine RJ, et al. Sequential changes in antiangiogenic factors in early pregnancy and risk of developing preeclampsia. *Hypertension*. 2007;50(1):137-142.
66. Romero R, Nien JK, Espinoza J, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med*. Vol 21. United States 2008:9-23.
67. Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr Res*. 2005;57(5 Pt 2):1R-7R.
68. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(2):161.e161-161.e111.
69. Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, et al. Automated assays for sVEGF R1 and PIGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(1):40.e41-47.
70. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, et al. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*. 2012;125(7):911-919.
71. Hatva E, Bohling T, Jaaskelainen J, Persico MG, Haltia M, Alitalo K. Vascular growth factors and receptors in capillary hemangioblastomas and hemangiopericytomas. *Am J Pathol*. 1996;148(3):763-775.
72. Escudero-Esparza A, Martin TA, Douglas-Jones A, Mansel RE, Jiang WG. PGF isoforms, PLGF-1 and PGF-2 and the PGF receptor, neuropilin, in human breast cancer: prognostic significance. *Oncol Rep*. 2010;23(2):537-544.

Literaturverzeichnis

73. Rakic JM, Lambert V, Devy L, et al. Placental growth factor, a member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44(7):3186-3193.
74. Chaballe L, Schoenen J, Franzen R. Placental growth factor: a tissue modelling factor with therapeutic potentials in neurology? *Acta Neurol Belg.* 2011;111(1):10-17.
75. Zakiyanov O, Kalousova M, Zima T, Tesar V. Placental growth factor in patients with decreased renal function. *Ren Fail.* 2011;33(3):291-297.
76. Schmidt T, Kharabi Masouleh B, Loges S, et al. Loss or Inhibition of Stromal-Derived PlGF Prolongs Survival of Mice with Imatinib-Resistant Bcr-Abl1(+) Leukemia. *Cancer Cell.* 2011;19(6):740-753.
77. Park M, Lee ST. The fourth immunoglobulin-like loop in the extracellular domain of FLT-1, a VEGF receptor, includes a major heparin-binding site. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;264(3):730-734.
78. Sela S, Natanson-Yaron S, Zcharia E, Vlodaysky I, Yagel S, Keshet E. Local retention versus systemic release of soluble VEGF receptor-1 are mediated by heparin-binding and regulated by heparanase. *Circ Res.* 2011;108(9):1063-1070.
79. Searle J, Mockel M, Gwosc S, et al. Heparin strongly induces soluble fms-like tyrosine kinase 1 release in vivo and in vitro--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(12):2972-2974.
80. Steppich BA, Kaufmann J, Sepp D, et al. Increased circulating placental growth factor during percutaneous coronary intervention is associated with applied radiocontrast agent. *Coron Artery Dis.* 2009;20(2):130-137.
81. Luttun A, Tjwa M, Moons L, et al. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med.* 2002;8(8):831-840.
82. Roncal C, Buyschaert I, Chorianopoulos E, et al. Beneficial effects of prolonged systemic administration of PlGF on late outcome of post-ischaemic myocardial performance. *J Pathol.* 2008;216(2):236-244.
83. Torry RJ, Tomanek RJ, Zheng W, Miller SJ, Labarrere CA, Torry DS. Hypoxia increases placenta growth factor expression in human myocardium and cultured neonatal rat cardiomyocytes. *J Heart Lung Transplant.* 2009;28(2):183-190.
84. Khurana R, Moons L, Shafi S, et al. Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. *Circulation.* 2005;111(21):2828-2836.
85. Lu YF, Lü SZ, Chen YD. Relationship between serum vasoactive factors and plaque morphology in patients with non-ST-segment elevated acute coronary syndrome. *Chin Med J (Engl).* 2010;123(2):193-197.
86. Cassidy A, Chiuve SE, Manson JE, Rexrode KM, Girman CJ, Rimm EB. Potential role for plasma placental growth factor in predicting coronary heart disease risk in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(1):134-139.
87. Heeschen C, Dimmeler S, Fichtlscherer S, et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA.* Vol 291. United States 2004:435-441.
88. Lenderink T, Heeschen C, Fichtlscherer S, et al. Elevated placental growth factor levels are associated with adverse outcomes at four-year follow-up in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(2):307-311.
89. Glaser R, Peacock WF, Wu AH, Muller R, Möckel M, Apple FS. Placental growth factor and B-type natriuretic peptide as independent predictors of risk from a multibiomarker panel in suspected acute coronary syndrome (Acute Risk and Related Outcomes Assessed With Cardiac Biomarkers [ARROW]) study. *Am J Cardiol.* 2011;107(6):821-826.
90. Luttun A, Tjwa M, Carmeliet P. Placental growth factor (PlGF) and its receptor Flt-1 (VEGFR-1): novel therapeutic targets for angiogenic disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;979:80-93.

Literaturverzeichnis

91. Chung NA, Makin AJ, Lip GY. Measurement of the soluble angiopoietin receptor tie-2 in patients with coronary artery disease: development and application of an immunoassay. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(7):529-535.
92. Onoue K, Uemura S, Takeda Y, et al. Usefulness of soluble Fms-like tyrosine kinase-1 as a biomarker of acute severe heart failure in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2009;104(11):1478-1483.
93. Hochholzer W, Reichlin T, Stelzig C, et al. Impact of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor serum levels for risk stratification and early diagnosis in patients with suspected acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2011;32(3):326-335.
94. Kapur NK, Heffernan KS, Yunis AA, et al. Elevated soluble fms-like tyrosine kinase-1 levels in acute coronary occlusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(2):443-450.
95. Searle J, Slagman A, Gwosc S, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFLT-1) predicts post-percutaneous coronary intervention (PCI) myocardial infarction (MI type 4a). *Biomarkers.* 2012;17(8):730-737.
96. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) adopts Consolidated Guideline on Good Clinical Practice in the Conduct of Clinical Trials on Medicinal Products for Human Use. *Int Dig Health Legis.* 1997;48(2):231-234.
97. World Medical Association Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical research involving human subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki (Finland), June 1964. Last Amendment by the WMA General Assembly, Seoul, Oktober 2008. <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/17c.pdf>.
98. A. R, P. R. *Immunoassay.* Heidelberg: Elsevier; 2007.
99. Brate EM, Finley DM, Grote J, et al. Development of an Abbott ARCHITECT cyclosporine immunoassay without metabolite cross-reactivity. *Clin Biochem.* 2010;43(13-14):1152-1157.
100. Herrett E, George J, Denaxas S, et al. Type and timing of heralding in ST-elevation and non-ST-elevation myocardial infarction: an analysis of prospectively collected electronic healthcare records linked to the national registry of acute coronary syndromes. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2013;2(3):235-245.
101. Mockel M, Searle J, Muller R, et al. Chief complaints in medical emergencies: do they relate to underlying disease and outcome? The Charité Emergency Medicine Study (CHARITEM). *Eur J Emerg Med.* 2013;20(2):103-108.
102. McMurray JJ, Pfeffer MA. Heart failure. *Lancet.* 2005;365(9474):1877-1889.
103. Ky B, French B, Ruparel K, et al. The vascular marker soluble fms-like tyrosine kinase 1 is associated with disease severity and adverse outcomes in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58(4):386-394.
104. Nakamura T, Funayama H, Kubo N, et al. Elevation of plasma placental growth factor in the patients with ischemic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2009;131(2):186-191.
105. Vorovich E, French B, Ky B, et al. Biomarker predictors of cardiac hospitalization in chronic heart failure: a recurrent event analysis. *J Card Fail.* 2014;20(8):569-576.
106. Patten IS, Rana S, Shahul S, et al. Cardiac angiogenic imbalance leads to peripartum cardiomyopathy. *Nature.* 2012;485(7398):333-338.
107. Green CJ, Lichtlen P, Huynh NT, et al. Placenta growth factor gene expression is induced by hypoxia in fibroblasts: a central role for metal transcription factor-1. *Cancer Res.* 2001;61(6):2696-2703.
108. Cao Y, Linden P, Shima D, Browne F, Folkman J. In vivo angiogenic activity and hypoxia induction of heterodimers of placenta growth factor/vascular endothelial growth factor. *J Clin Invest.* 1996;98(11):2507-2511.

Literaturverzeichnis

109. Iwama H, Uemura S, Naya N, et al. Cardiac expression of placental growth factor predicts the improvement of chronic phase left ventricular function in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(8):1559-1567.
110. Bode C, Zirlik A. STEMI and NSTEMI: the dangerous brothers. *Eur Heart J.* 2007;28(12):1403-1404.
111. Montalescot G, Dallongeville J, Van Belle E, et al. STEMI and NSTEMI: are they so different? 1 year outcomes in acute myocardial infarction as defined by the ESC/ACC definition (the OPERA registry). *Eur Heart J.* 2007;28(12):1409-1417.
112. Rott D, Leibowitz D. STEMI and NSTEMI are two distinct pathophysiological entities. *Eur Heart J.* 2007;28(21):2685; author reply 2685.
113. Rott D, Weiss AT, Chajek-Shaul T, Leibowitz D. ST-deviation patterns in recurrent myocardial infarctions. *Am J Cardiol.* 2006;98(1):10-13.
114. Hong YJ, Jeong MH, Choi YH, et al. Differences in intravascular ultrasound findings in culprit lesions in infarct-related arteries between ST segment elevation myocardial infarction and non-ST segment elevation myocardial infarction. *J Cardiol.* 2010;56(1):15-22.
115. Apple FS, Wu AH, Mair J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem.* 2005;51(5):810-824.
116. Maisel A, Mueller C, Neath SX, et al. Copeptin helps in the early detection of patients with acute myocardial infarction: primary results of the CHOPIN trial (Copeptin Helps in the early detection Of Patients with acute myocardial INfarction). *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(2):150-160.
117. Potocki M, Reichlin T, Thalmann S, et al. 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(7):558-565.
118. Balmelli C, Meune C, Twerenbold R, et al. Comparison of the performances of cardiac troponins, including sensitive assays, and copeptin in the diagnostic of acute myocardial infarction and long-term prognosis between women and men. *Am Heart J.* 2013;166(1):30-37.
119. Raskovalova T, Twerenbold R, Collinson PO, et al. Diagnostic accuracy of combined cardiac troponin and copeptin assessment for early rule-out of myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2014;3(1):18-27.
120. Mega JL, Braunwald E, Wiviott SD, et al. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012;366(1):9-19.
121. Chung NA, Lydakis C, Belgore F, Li-Saw-Hee FL, Blann AD, Lip GY. Angiogenesis, thrombogenesis, endothelial dysfunction and angiographic severity of coronary artery disease. *Heart.* 2003;89(12):1411-1415.

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ACE-Hemmer	Angiotensin Converting Enzym-Hemmer
ACC	American College of Cardiology
AHA	American Heart Association
Anti-sFlt-1	Antikörper gegen den Rezeptor sFlt-1
AP	Angina Pectoris
ASS	Acetylsalicylsäure
AUC	area under the curv
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
BIC-2	Biomarkers in Cardiology-2
BMI	Body mass index
CCS	Canadian Cardiovascular Society
CHF	Chronic Heart Failure
CK	Creatininkinase
CMIA	Chemilumineszent Micropartikel Immunoassay
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
DGK	Deutschen Gesellschaft für Kardiologie
eCRF	Electronic Case Report Form
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	European Society of Cardiology
Flt-1	FMS-Like Tyrosinkinase-1
FU	Follow Up
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GRACE-Score	Global Registry of Acute Coronary Events –Score
GP IIb/IIIa -Inhibitoren	Glykoprotein IIb/IIIa –Inhibitoren
Hb	Hämoglobin
HEART-Score	Daten des SCORE - Systematic COronary Risk Evaluation
HDL	High-Density-Lipoproteine
hs-Troponin	Hoch-Sensitives Troponin

Anhang

ICH-GCP	International Conference of Harmonisation- Guideline for Good Clinical Practice
ID	Identifikationsnummer
IL-1	Interleukin-1
IVSDd	interventrikuläres Septum diastolischer Durchmesser
i.v.	Intravenös
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-Density-Lipoproteine
LPL	Lipoproteinlipase
LVEDD	Links ventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVEDP	Left Ventricular Enddiastolic Pressure
LVEF	Left Ventricular Ejection Fraction
MI	Myokardinfarkt
MPI	Myokardialer Performance Index
MMP	Matrixmetalloproteinase
NAW	Notarzwagen
NPW	negative prädiktiver Wert
NSTE-ACE	Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndrome
NSTEMI	Non-ST-Elevation Myocardial Infarction
NYHA	New York Heart Association
n.v.	nicht vorhanden
OCC	Other Cardiac Condition
PAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCI	Percutaneous Coronary Intervention
PLGF	Placental Growth Factor
p.o.	per os
PPW	positiver prädiktiver Wert
RLE	relative Licht-Einheiten
ROC	Receiver operating characteristic
SCD	Sudden Cardiac Death
SOP	Standard Operating Procedures
SPSS	Statistical Package for Social Science
STEMI	ST-Elevation Myocardial Infarction
sFlt-1	Soluble FMS-Like Tyrosinkinase-1

Anhang

Tab.

Tabelle

TIA

transitorische ischämische Attacke

TIMI-Score

Trombolysis in Myocardial Infarction–Score

TNF- α

Tumornekrose-Faktor- α

TSH

Thyreoid-Stimulating Hormone

VEGF

Vascular Endothelial Growth Factor

VSMC

vascular smooth muscle cell

z. B.

zum Beispiel

Z. n.

Zustand nach

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: GRACE-Score für NSTEMI-ACS	16
Tabelle 2: Hochrisikokriterien mit Indikation zur invasiven Therapie bei NSTEMI-ACS	19
Tabelle 3: Initiale Therapie bei V.a. ACS	20
Tabelle 4: Medikamentöse Therapie falls ein ACS wahrscheinlich erscheint	20
Tabelle 5: Medikation zur Langzeittherapie des ACS	21
Tabelle 7: Verteilung der Hauptdiagnosen nach ihrer Häufigkeit	37
Tabelle 8: Patientencharakteristika	38
Tabelle 9: NYHA/CCS-Klassifikation und GRACE-Score	39
Tabelle 10: Kardiale Vorerkrankungen/Begleiterkrankung	40
Tabelle 11: Medikamente bei Aufnahme	40
Tabelle 12: Klinische Untersuchungen	41
Tabelle 13: Allgemeine Daten zur interventionellen Therapie bei V.a. ACS	42
Tabelle 14: Daten der Koronarangiographie	42
Tabelle 15: sFlt-1 und PLGF bei den klinischen Leitsymptomen der Studie	43
Tabelle 16: sFlt-1 und PLGF Werte bei anderen Hauptdiagnosen	45
Tabelle 17: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS	47
Tabelle 18: Sensitivität, Spezifität, positiver prädiktiver Wert und negativer prädiktiver Wert für sFlt-1 und PLGF alleine und in Kombination mit Troponin I	50
Tabelle 19: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit positivem und negativem Troponin I	50
Tabelle 20: sFlt-1 und PLGF bei initial Troponin I negativen Patienten mit und ohne NSTEMI	51
Tabelle 21: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit und ohne koronare Läsionen	53
Tabelle 22: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und aufgeteilt nach den 3 Stadien der KHK	53
Tabelle 23: sFlt-1 und PLGF bei den vier Stadien der CCS-Klassifikation	55
Tabelle 24: sFlt-1 und PLGF bei den vier Stadien der NYHA-Klassifikation	55
Tabelle 25: sFlt-1 und PLGF Werte bei Patienten mit und ohne Heparinabgabe vor der Blutentnahme	56
Tabelle 26: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit ACS und anderen Diagnosen im Vergleich ohne Heparinabgabe vor Blutentnahme	58
Tabelle 27: sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit und ohne NSTEMI ohne Heparinabgabe vor Blutentnahme	58
	90

Anhang

Tabelle 28: PLGF Werte bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne vorherige Heparin-gabe	60
Tabelle 29: sFlt-1 und PLGF in Relation zur Rehospitalisierung der Patienten	62
Tabelle 30: sFlt-1 und PLGF in Relation zum Überleben der Patienten	62

8.3 *Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entstehung einer arteriosklerotischen Plaque	13
Abbildung 2: Schematischer Ablauf bei Patienten mit Verdacht auf ACS	15
Abbildung 3: Schematische Darstellung des Wirkmechanismus von PLGF, VEGF und deren Rezeptoren Flt-1 und sFlt-1 an endothelialen Zellen	23
Abbildung 4: Schematische Darstellung des Studienablaufs der BIC-2 Studie	29
Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Mikropartikelimmunoassays	33
Abbildung 6: s-Flt-1 in Abhängigkeit zum Leitsymptom Dyspnoe und Brustschmerz	44
Abbildung 7: PLGF in Abhängigkeit zu den Leitsymptomen Dyspnoe und Brustschmerz	44
Abbildung 8: sFlt-1 in Abhängigkeit zu allen nicht-ACS Hauptdiagnosen	46
Abbildung 9: PLGF in Abhängigkeit zu allen nicht-ACS Hauptdiagnosen	47
Abbildung 10: sFlt-1 Werte der Diagnosen des ACS und im Vergleich zu allen anderen Hauptdiagnosen	48
Abbildung 11: PLGF Werte der Diagnosen des ACS und im Vergleich zu allen anderen Hauptdiagnosen	48
Abbildung 12: ROC-Kurven Analyse für sFlt-1 und PLGF bei Patienten mit NSTEMI	49
Abbildung 13: sFlt-1 bei Patienten mit negativem Troponin I bei Aufnahme mit und ohne NSTEMI	51
Abbildung 14: PLGF bei Patienten mit negativem Troponin I bei Aufnahme mit und ohne NSTEMI	52
Abbildung 15: ROC-Kurve für alle initial Troponin I negativen Patienten mit der Enddiagnose NSTEMI	52
Abbildung 16: sFlt-1 bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und aufgeteilt nach den 3 Stadien der KHK	54
Abbildung 17: PLGF bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und aufgeteilt nach den 3 Stadien der KHK	54
Abbildung 18: sFlt-1 bei Patienten mit und ohne Heparin-gabe vor der Studienblutentnahme	56
Abbildung 19: PLGF bei Patienten mit und ohne Heparin-gabe vor der Studienblutentnahme	57
Abbildung 20: sFlt-1 bei Patienten mit NSTEMI und ohne NSTEMI ohne vorherige Heparin-gabe	58
Abbildung 21: PLGF bei Patienten mit NSTEMI und ohne NSTEMI ohne vorherige Heparin-gabe	59
	92

Anhang

Abbildung 22: ROC-Kurven Analyse bei Patienten mit NSTEMI ohne Heparin-gabe vor der Blutentnahme	59
Abbildung 23: ROC-Kurve für alle initial Troponin I negativen Patienten zur Diagnose NSTEMI Patienten mit Heparin-gabe vor der Studienblutentnahme ausgeschlossen.	60
Abbildung 24: sFlt-1 Werte bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne Heparin-gabe vor der Blutentnahme	61
Abbildung 25: PLGF Werte bei Patienten mit und ohne Koronarsklerose und der 3 Stadien der KHK ohne Heparin-gabe vor der Blutentnahme	61
Abbildung 26: sFlt-1 bei überlebenden und verstorbenen Patienten	63
Abbildung 27: PLGF bei überlebenden und verstorbenen Patienten	63

Anhang

8.4 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Janina Stiefel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Evaluierung von Biomarkern der endothelialen Dysfunktion bei Patienten mit akuten kardiovaskulären Symptomen in der Notaufnahme“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

Datum 26.02.2015

Unterschrift

Anhang

8.5 *Lebenslauf*

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

Danksagung

Besonders herzlich danke ich Herrn Prof. Dr. Martin Möckel für die freundliche Bereitschaft, meine Promotionsarbeit zu betreuen und mir das vorliegende Thema zu überlassen.

Insbesondere danke ich auch Dr. med. Jörn Ole Vollert und Anna Slagman für deren intensive Betreuung und Unterstützung.

Ich danke auch Frau Dr. med. Julia Searle für die gute und intensive Zusammenarbeit und Hilfe bei der Datenbearbeitung während der Arbeit. Ebenfalls geht mein spezieller Dank für das Handling der Proben und die Messungen am ARCHITECT an Frau Janett Reiche und Herrn Fabian Holert.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Mitdoktoranden Frau Dr. Andrea Pinkowski, Frau Dr. Anne Brüning, Herrn Benjamin Karow und Herrn Toni Lauterbach für die gute und zuverlässige Zusammenarbeit der letzten Jahre bedanken.

Meinen Freunden und meiner Familie und insbesondere Felix Betzler danke ich für die Unterstützung und aufmunternden Worte während der gesamten Zeit der Arbeit.