

## **Habilitationsschrift**

# **Die Beurteilung der Belastungstoleranz des geschädigten Myokards anhand von Biomarkern**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von Dr. med. Olaf Schulz geboren  
am 11. November 1960

Eingereicht: Dezember 2012

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

- 1 Gutachter: Prof. Holger Thiele
- 2 Gutachter: Prof. Albrecht Elsässer

„Zweifel ist der Weisheit Anfang.“

*Aristoteles*

„Es gibt keine unbestrittenen Wahrheiten.“

*Voltaire (Wolfgang Kraus, „Denken mit Voltaire“ Diogenes 2005).*

„Hat sich der Mensch jemals zufrieden gegeben mit einem vollen Bauch? Er denkt, will die Naturkräfte beherrschen, schaut in die Zukunft... Je mehr sein Wissen anwächst, desto größere Aufgaben stellt er sich. Die Mannigfaltigkeit der Natur und die Entwicklungsfähigkeit der Menschen sind unendlich. Die Suche nach der Wahrheit ist ein Weg ohne Ende.“

*Heiner Rank in „Die Ohnmacht der Allmächtigen“, Verlag Das Neue Berlin 1974.*

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>Abstrakt</b> .....	4
<b>Abstract</b> .....	5
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	6
<b>1 Einleitung</b> .....	7
1.1 Lasttoleranz des geschädigten Myokards- klinische und prognostische Rolle .....	7
1.2 Objektivierung der Belastungstoleranz mittels Spiroergometrie .....	8
1.3 Biomarker zur Detektion der myokardialen Lasttoleranz und eines Belastungsrisikos ....	11
1.3.1 Natriuretische Peptide .....	11
1.3.2 Kardiale Troponine .....	15
1.3.3 Pregnancy-associated Plasma Protein-A (PAPP-A) .....	22
<b>2 Eigene Originalarbeiten</b> .....	24
2.1 Objektivierung der Belastbarkeit von Patienten mit höhergradigen asymptomatischen Klappenvitien und erhaltener systolischer Funktion des linken Ventrikels .....	24
2.2 Vergleich von (chronischen und akuten) lastabhängigen und lastunabhängigen Faktoren (strukturelle Herzerkrankung) sowie Covariablen auf den „Parameter der myokardialen Last“, N-terminal Pro-Brain natriuretic peptide (NT-proBNP).....	34
2.3 Toleranz einer symptomlimitierten sowie einer submaximalen Ausdauerbelastung während eines medizinischen Ergometertrainings von Patienten mit stabiler moderater systolischer Herzinsuffizienz anhand des Schädigungsmarkers kardiales Troponin I .....	44
2.4 Der Schädigungsmarker kardiales Troponin I sowie die Ischämie marker heart-type Fatty Acid Binding Protein und Glycogenphosphorylase BB bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit unter symptomlimitierter ergometrischer Belastung .....	53
2.5 Pregnancy-associated plasma protein A- ein Marker vulnerabler Plaques ist prognosebestimmend in Patienten mit stabilen Herzkrankheiten. Ergebnisse eines Assays auf Basis monoklonaler Antikörper .....	60
<b>3 Diskussion</b> .....	68
3.1 Die Belastbarkeit von Herz-Kreislauf-Patienten .....	68
3.2 NT-proBNP in Patienten mit asymptomatischen Klappenfehlern .....	71
3.3 Diagnostik der Myokardischämie .....	73
3.4 PAPP-A bei stabilen kardiovaskulären Erkrankungen .....	75
3.5 Validierung der von uns untersuchten Biomarker .....	75
<b>4 Zusammenfassung</b> .....	77
<b>5 Ausblick: Darstellung einer Auswahl themenbezogener Vorhaben</b> .....	79
5.1 Entwicklungen zur Beurteilung der Lasttoleranz .....	79
5.2 Entwicklungen der Erforschung von Biomarkern .....	79
<b>6 Literaturverzeichnis</b> .....	81
<b>Danksagung</b> .....	103
<b>Erklärung</b> .....	103

## Abstrakt

Die Bestimmung der objektiven Belastbarkeit ist eine klinisch und prognostisch bedeutsame Aufgabe bei der Betreuung stabiler kardiovaskulärer Patienten – mit Relevanz z.B. für die Gestaltung von beruflichen, sportlichen/trainingstherapeutischen und Alltagsbelastungen.

Bei unseren Untersuchungen an Patienten mit asymptomatischen höhergradigen Klappenvitien zeigte sich eine mit der als Goldstandard geltenden Spiroergometrie nachgewiesene objektive Belastungsintoleranz häufiger als eine Belastungsintoleranz nach Parametern, die in aktuellen Leitlinien für diese Erkrankungen vorgeschlagen wurden. Eine Risikogruppe mit Reduktion der Belastbarkeit in einen prognostisch bedeutsamen spiroergometrischen Wertebereich hinein konnte mit hochsensitivem kardialen Troponin T detektiert werden. Präoperative Spiroergometriebefunde halfen, das funktionelle Ergebnis einer Klappenoperation vorauszusagen.

Bei Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz stieg auf ergometrische Ausbelastung kardiales Troponin I in einer Subgruppe über den pathologischen Grenzwert und war mit höheren Spiegeln inflammatorischer Zytokine und einem schlechteren klinischen Verlauf assoziiert. Eine submaximale Ausdauertrainingssession war nicht mit solchen pathologischen Anstiegen verbunden. Letztgenannte Befunde konnten so die klinische Sicherheit einer Trainingstherapie für diese Patienten belegen.

Bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit führt eine kurzzeitige lastinduzierte Ischämie nicht zu Anstiegen des kardialen Troponin I. Ob später durch eine andere Arbeitsgruppe mit supersensitiv Assays gemessene Anstiege des Troponin I eine klinisch und/oder prognostisch relevante Myokardschädigung darstellen, ist derzeit noch offen.

Nach mehreren Studien an Patienten mit unterschiedlichen kardiovaskulären Erkrankungen konnten wir zusammen mit anderen Autoren 2006 als erste zeigen, dass sog. „low level“-Troponin I-Konzentrationen unterhalb der etablierten 99. Perzentile für Normalpersonen kardiale Schädigungen anzeigen. Dies konnten wir später durch Messungen mit einem hochsensitiven Assay für Troponin I bestätigen. Große Studien anderer Arbeitsgruppen wiesen inzwischen auch eine prognostische Bedeutsamkeit solcher Befunde nach.

Das als Marker für myokardialen Stress etablierte NT-proBNP stieg bei Patienten mit chronischer linksventrikulärer Druck- oder Volumenbelastung nur gering auf kurzzeitigen physischen oder katecholaminergen Stress. Die Werte waren durch Einfüsse der strukturellen kardialen Grundkrankheit und durch Covariablen überlagert. Rasche (lastinduzierte) NT-proBNP-Änderungen sind für eine Beurteilung des klinischen Verlaufs der Patienten daher eher nicht geeignet. Das dreifach höhere NT-proBNP bei Patienten mit mittels kardialem MRT nachgewiesener myokardialer Fibrose ist für diese Patientengruppe hinsichtlich seiner klinischen Bedeutung weiter abzuklären.

Bei Patienten mit stabilen kardiovaskulären Erkrankungen und Indikation für eine Herzkatheteruntersuchung waren Spiegel des als Marker eines vulnerablen Plaques bekannten Pregnancy-associated Plasma Protein A mit einer schlechteren Prognose hinsichtlich kardiovaskulärer und Gesamtsterblichkeit allein und in Kombination mit nichtfatalen Infarkten und Rehospitalisierungen verbunden. Nach weiteren Studien könnte dieser Marker zur besseren Indikationsstellung für eine Herzkatheteruntersuchung, aber auch zur Testung eines Risikos potentieller lastinduzierter kardiovaskulärer Ereignisse herangezogen werden.

Ein pathophysiologisch/klinisch gezielter Einsatz von Biomarkern konnte anhand unserer Ergebnisse zur Beurteilung einer myokardialen Last und Belastbarkeit, zum Nachweis v.a. myokardialer Schädigungen, aber auch evtl. zur Verhinderung lastinduzierter kardialer Ereignisse beitragen.

## Abstract

The objective evaluation of exercise tolerance is important for the management of patients with stable cardiovascular disease, especially for recommendations regarding their daily professional or recreational activities as well as for exercise training.

In patients with asymptomatic moderate to severe valvular heart disease we have demonstrated that a cardiopulmonary function test is a more sensitive approach to reveal exercise intolerance than stress test-parameters recommended in recent guidelines. Moreover, an at-risk group of patients in whom cardiopulmonary function test parameters were reduced into a prognostically important range could be predicted by resting values of high sensitive cardiac troponin T. Preoperative cardiopulmonary function findings predicted the functional outcome after heart-valve surgery.

In patients with stable systolic heart failure a short-term symptom-limited bicycle stress test induced an increase in cardiac troponin I. Exercise-induced increase of troponin I was associated with higher circulating levels of inflammatory cytokines as well as poorer outcome. A training session with endurance bicycle stress at a submaximal level, however, was not associated with those increases of cardiac troponin I. This finding confirms the clinical safety of carefully managed exercise training in patients with stable heart failure.

Patients with stable coronary artery disease, however, did not show an increase of cardiac troponin I after a symptom-limited bicycle stress test. The clinical importance of minor increases of cardiac troponins as observed by other working groups using super sensitive troponin assays remains to be defined.

After several studies in patients with various stable cardiovascular diseases, in 2006 we were the first to show, together with other working groups, that so-called low-level concentrations of cardiac troponin below the 99th percentile of healthy persons are indicative of myocardial injury. These data we confirmed later by using a non-commercial high sensitive assay for cardiac troponin I. Recently, other working groups showed the prognostic value of such low troponin concentrations in larger patient cohorts.

NT-proBNP is established as a marker of myocardial stress. However, in patients with chronic pressure- or volume-overload due to asymptomatic valvular heart disease this marker showed only marginal response to bicycle- or dobutamine-stress. NT-proBNP values were substantially influenced by parameters of the underlying structural heart disease as well as by other confounders. Based on our data, short-term (load-dependent) changes of NT-proBNP are not recommended to be used as markers for the clinical course of the disease. The importance of our findings of three-fold higher concentrations of NT-proBNP in patients with myocardial fibrosis detected by cardiac MRI warrant further studies.

Pregnancy-associated plasma protein A has been introduced as a marker of vulnerable plaques. In patients with stable cardiovascular disease and an indication for cardiac catheterisation, levels of this marker were associated with higher all-cause and cardiovascular mortality alone or in combination with non-fatal myocardial infarctions and rehospitalisation. After further studies, this marker could be used to improve decision-making regarding heart catheterisation as well as for prediction of potential exercise-induced cardiovascular events.

Our studies showed that a pathophysiologically as well as clinically guided use of biomarkers may be helpful for determining myocardial load, exercise tolerance, detecting potential myocardial injury and preventing exercise-induced cardiovascular events.

## **Abkürzungsverzeichnis** (kapitelübergreifend vorkommender Begriffe)

AUC	area under the curve
cTn (I, T)	kardiales Troponin (I, T)
EF	Ejektionsfraktion
hscTn (I, T)	hochsensitives cTn (I, T)
KHK	koronare Herzkrankheit
(NT-pro)BNP	(N-terminales Pro-)Brain natriuretic peptide
PAPP-A	Pregnancy-associated plasma protein A
ROC	receiver operator characteristic
VO <sub>2</sub> (peak, AT)	Sauerstoffverbrauch (auf der Belastungsspitze, an der anaeroben Schwelle)

# 1 Einleitung

## 1.1 Lasttoleranz des geschädigten Myokards: Klinische und prognostische Rolle

Die berufliche, sportliche oder die einfache Alltagsbelastbarkeit ist ein wesentlicher klinischer Parameter von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen. Sie wird neben der Prognose der Erkrankung besonders häufig hinterfragt. Einerseits werden typische kardiale Symptome wie Dyspnoe, Angina pectoris, Schwindel bzw. Herzrhythmusstörungen erst unter Belastungsbedingungen wahrgenommen, andererseits lassen aber die Intensität der Symptomatik und die Belastungsintensität, ab der diese Symptome auftreten nicht verlässlich Schlussfolgerungen über Schweregrad der Erkrankung bzw. Gefährdungsgrad zu.

Die Beurteilung der Belastbarkeit ist speziell für das körperliche Training bedeutsam, welches bei vielen Herzkrankheiten zunehmend empfohlen wird. Eine medizinische Trainingstherapie konnte für eine Reihe von Herzerkrankungen (z.B. Herzinsuffizienz (1-7), koronare Herzkrankheit (8-13) oder arterieller Hypertonus (14)) zumindest im Trend eine Prognoseverbesserung zeigen, wodurch in den letzten ca. 15 Jahren ein Paradigmenwechsel von Empfehlungen zur körperlichen Schonung hin zum körperlichen Training stattfand. Ein Erfolg körperlichen Trainings als nichtmedikamentöse Behandlung, v.a. bei breiter Anwendung nicht nur in selektierten Patientengruppen, dürfte maßgeblich davon abhängen, inwieweit Risikogruppen unter den Patienten bzw. spezielle Risikokonstellationen bei bestimmten Erkrankungen erkannt und entsprechend berücksichtigt werden.

Um einen prognostischen Nutzen erzielen zu können, sollte durch das Training weder ein bedeutsames kardiovaskuläres Ereignis auftreten, noch eine chronische kardiale Schädigung entstehen (15). Die „Zweischneidigkeit“ einer Trainingsbelastung bei Herz-Kreislaufkranken wird auch als „Exercise-Paradox“ bezeichnet (16) – das erhöhte Ereignisrisiko während der Belastungsausübung gegenüber dem langfristigen Nutzen eines Trainings. Die – auch durch Training erreichte – Fitness ist ein bedeutsamer Risikoparameter bei Gesunden (siehe aktuell (17-19) sowie als Übersicht (20-21)), und bei Herz-Kreislauf-Patienten (22).

Als Goldstandard für die Objektivierung der Leistungsfähigkeit gilt die Spiroergometrie – v.a. über die Ermittlung des maximalen Sauerstoffverbrauchs ( $VO_2$ ). Die ebenso mit dieser Methode bestimmte anaerobe Schwelle galt lange Zeit als Grenze für ein erhöhtes Risiko kardiovaskulärer Ereignisse bei Herz-Kreislauf-Patienten aufgrund der deutlichen neurohumoralen, insbesondere katecholaminergen Lastreaktion im anaeroben Bereich (23-24), mit der Folge nichtlinearer Anstiege hämodynamischer Parameter, des koronaren  $O_2$ -Bedarfs und einer cAMP-vermittelten myokardialen Reizung und Arrhythmogenese (s. (15)). Inzwischen gibt es bedeutsamere prognoserelevante Parameter ( $VO_{2AT}$ ,  $VE/VCO_2$ ; s. Kapitel 1.2), die auch in unseren Studien benutzt wurden.

Ein besonderes Augenmerk verdienen myokardiale Schädigungen – aus folgenden Gründen:

1. Die myokardiale Arbeit wird bereits in physiologischen Bedingungen zum limitierenden Faktor der Leistungsfähigkeit. Unter Belastung steigt das Schlagvolumen maximal um 30-50%, während die Herzfrequenz um das 2-3fache und die arteriovenöse  $O_2$ -Differenz um das 3-4fache (25) steigen können. Bei diversen kardiovaskulären Krankheitsbildern führen sowohl myokardiale Ausgangsveränderungen durch die Grundkrankheit als auch pathologische hämodynamische, neurohumorale Stressfaktoren zu unterschiedlicher Toleranz weiterer physischer Belastung. Letztere können die myokardialen Veränderungen evtl. noch perpetuieren.
2. Im Gegensatz zur intensiven Erforschung akuter lastinduzierter Ereignisse liegen kaum Untersu-

chungen vor, ob chronische bzw. repetitive Belastungen z.B. über eine Verstärkung pathologischer Umbauprozesse (sog. Remodelling) nicht in Einzelfällen eine Progredienz der Erkrankung bewirken können (s.Tab 1 in unserer Übersicht (15)).

Die Spiroergometrie ist technisch aufwendig, zeitkonsumierend und wird in der ambulanten Medizin daher nur in wenigen Einrichtungen durchgeführt. Zudem vermag sie nicht, die o.a. myokardialen Lastbedingungen und Veränderungen pathophysiologisch zu spezifizieren. Auch aus dieser Sicht ist die Erforschung geeigneter Biomarker sinnvoll, um bei erfolgreicher Reflexion der Belastbarkeit eine Spiroergometrie wenn nicht ersetzen, so zumindest über eine zusätzliche pathophysiologische Aufklärung v.a. der myokardialen Situation ergänzen zu können. Dabei sind Marker wünschenswert, die potentiell Belastung, Umbau und/oder Schädigung des Myokards anzeigen können.

Klinischer Fokus sind v.a. die Herzinsuffizienz aufgrund der myokardialen Vorschädigung sowie Vitienpatienten mit hämodynamischer Überlastung des linken Ventrikels, da bei Letzteren in besonderem Maße bei Nachweis einer Belastungsintoleranz Therapieentscheidungen (Klappenoperation) zu erwarten sind.

Biomarker könnten ebenso helfen, die Gefahr lastinduzierter Ereignisse zu erkennen. Der Beginn von Symptomen (Dyspnoe) und von Gefährdungen muss zeitlich nicht identisch sein. Einerseits ist bekannt, dass ein lastinduziertes Ereignis in einer bis dahin asymptomatischen Belastungsphase auftreten kann (26-27), andererseits wurde für mehrere Belastungsformen und Krankheitsbilder gezeigt, dass körperliches Training auch in ein symptominduzierendes Anstrengungsniveau hinein mit gewisser Sicherheit möglich ist (28).

Für Populationen im Alter von >35-40 Jahren und entsprechend erhöhter KHK-Prävalenz ist v.a. das koronare Risiko relevant – durch das Risiko einer ischämischen Myokardschädigung wie auch das Risiko eines akuten Ereignisses durch vulnerable koronare Plaques (29). Beide Aspekte der KHK werden in unseren Arbeiten behandelt. Die kardiovaskuläre Sicherheit bei der Teilnahme von über 35-/40-Jährigen, insbesondere von jenen mit vorbestehenden Herz-Kreislauf-Erkrankungen, an sportlichen Aktivitäten mit größerer Belastung (z.B. Marathon) wäre dadurch zu verbessern, da solche Sportveranstaltungen gelegentlich von fatalen Ereignissen begleitet werden (30). Die Bedeutung dieser Aufgabe zeigt sich an der Propagierung und praktischen Ausweitung von Breitensportaktivitäten unter Einschluß dieser Altersklassen.

Zusammenfassend besteht das Ziel unserer Arbeiten darin, die kardiovaskuläre Gefährdung von Patienten mit unterschiedlichen Herz-Kreislauf-Erkrankungen durch bestimmte Lastbedingungen, v.a. aber durch körperliche Belastungen genauer zu beschreiben und daraus Empfehlungen für berufliche, sportliche und Alltagsbelastungen abzuleiten. Insbesondere soll das bei vielen kardiovaskulären Erkrankungen aus sekundärpräventiven Überlegungen heraus empfohlene körperliche Training klinisch sicherer gemacht werden. In einigen speziellen Fällen (z.B. asymptotische Klappenfehler) sind durch besseren Nachweis einer objektiven Belastungsintoleranz Indikationen für spezifische Behandlungen (Klappenersatz) zu erhärten. Da das Gefährdungspotential potentieller lastinduzierter myokardialer Schäden in besonderem Maße noch unbekannt ist, wird dabei hierauf fokussiert.

## **1.2 Objektivierung der Belastungstoleranz mittels Spiroergometrie**

Die Spiroergometrie kann über den maximalen Sauerstoffverbrauch ( $VO_2\text{max}$ ) eine präzisere und besser reproduzierbare Quantifizierung einer Leistungsfähigkeit liefern als die Wattstufe einer herkömmlichen Ergometrie (31). Die  $VO_2$ -Werte bzw. die daraus abgeleiteten metabolischen Äquivalente (METs) korrelierten in verschiedenen untersuchten Populationen (sowohl in Feldstudien (32) als auch bei spe-



ziellen Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie z.B. Herzinsuffizienz (33-34), koronarer Herzkrankheit (22,35-37) oder kongenitalen Herzerkrankungen (38-39)) mit der Prognose.

Um objektiv, d. h. unabhängig von der Patientenmotivation zu sein, sollten die Parameter nicht erst im Abbruchmoment, sondern schon während der Belastung bestimmt werden. Von diesen Parametern haben sich für eine Prognosebeurteilung als bedeutsam erwiesen: die Atemeffizienz als Anstieg des (expiratorisch gemessenen) Atemvolumens VE pro Volumen des abgeatmeten CO<sub>2</sub> (VE/VCO<sub>2</sub>-slope) (40-41) sowie der Sauerstoffbedarf an der anaeroben Schwelle (VO<sub>2</sub>AT) (40). Inzwischen gibt es weitere spiroergometrische Parameter mit prognostischer Aussage (42-46), zum Zeitpunkt des Designs unserer Studie waren jedoch der VE/VCO<sub>2</sub>-slope und VO<sub>2</sub>AT relevant.

Bis dato sind für Krankheitsbilder mit diastolischer Dysfunktion/Herzinsuffizienz und erhaltener linksventrikulärer Ejektionsfraktion (EF) insbesondere prognoserelevante Parameter, die die Belastungstoleranz beschreiben, noch nicht untersucht ((47), S. 675). Dies trifft auch auf Patienten mit Herzklappenfehlern zu ((31), S. 335 sowie (21)). Unsere spiroergometrischen Untersuchungen wurden daher auf diese Krankheitsbilder fokussiert.

Für die Herzinsuffizienz mit erhaltener EF ist die Belastungstoleranz ein wichtiger unabhängiger klinischer Endpunkt. Klinische Verlaufsstudien auf Grundlage determinierter objektiver Belastungstoleranz sind als bevorstehende Aufgabe für diese Patientengruppe aktuell gefordert (48).

Die Grundzüge der Methodik der Spiroergometrie sind in aktuellen Leitlinien enthalten (49). Die Tag-zu-Tag-Variabilität von VO<sub>2</sub>peak beträgt bei gleichmotivierten Probanden unter 10% (31). Die Toleranz von Abweichungen für VO<sub>2</sub>, VCO<sub>2</sub>, Minutenventilation und RER liegt zwischen 3 und 6% (49).

Für unsere Untersuchungen trafen wir folgende Festlegungen: Das maximale Ventilationsvolumen (MVV) wurde über die Formel FEV1 x40 [l/min] (50) abgeschätzt. Um die kardialen Faktoren einer Belastungsintoleranz genauer analysieren zu können forderten wir den Ausschluss einer pulmonalen Belastungslimitierung nach folgenden Kriterien:

- Ausschluss einer bedeutsamen obstruktiven bzw. restriktiven Ruhe-Ventilationsstörung,
- eine Atemreserve (als maximales MVV minus dem maximalen Atemvolumen bei Belastung (VE<sub>max</sub>)) von  $\geq 20$  l/min bzw.  $\geq 20\%$  ((51), Übersicht -s. (52)).

Für die Ruhephase vor Belastung war ein respiratorischer Quotient (RER) von 0,8-0,9 gefordert.

Von den üblichen Belastungsformen wählten wir die Fahrradergometrie. Die Belastung wurde so konzipiert, dass sie symptomlimitiert ist. Alternativ war auch ein RER von  $>1,1$  (bzw.  $>1,15$  entsprechend (53-54)) als Ausbelastung und somit Abbruchkriterium (besser Mindestbelastung, die als adäquater Abbruch gewertet werden kann) akzeptiert.

Die stufenweise Belastungssteigerung (individuelle Wahl der ersten Wattzahl und der anschließenden inkrementalen Stufen) erfolgte so, dass eine Belastungsdauer von ca. 10-12min entsteht. Längere Belastungen können zu spezifischen peripher-muskulären Probleme führen, eine Erschöpfung ist dann nicht mehr kardiozirkulatorischer Genese (49).

In den Studien herangezogene Spiroergometrie-Parameter

### 1. VO<sub>2</sub>peak

VO<sub>2</sub>peak ist der Sauerstoffverbrauch, der an der höchst möglich gewesenen Belastungsstufe gemessen wird, die dem Ereignisrisiko und der Belastungstoleranz der Grundkrankheit Rechnung trägt. Er ist der am häufigsten verwendete und am umfänglichsten untersuchte Parameter zur Beurteilung der kardiopulmonalen Leistungsfähigkeit. Sein Normbereich liegt über 21-25ml/min/kg. Da VO<sub>2</sub>peak bei Männern 5-15% höher ist als bei Frauen und um 5-10% pro Lebensdekade fällt (55), haben sich Nomogramme mit Berücksichtigung von Alter und Geschlecht zur Beurteilung bewährt. Wir benutzten die von Gulati et al. (56). Der gemessene Wert in Relation zum aus dem Nomogramm abgeleiteten

wurde als VO<sub>2</sub>%predicted bezeichnet. Für Werte <85% ist eine prognostische Bedeutung (zuletzt für Frauen validiertes doppelt so hohes Mortalitätsrisiko) bekannt (56). Um bei Untersuchungen an v.a. älteren Patienten keine Spezifität der Beurteilung der Belastungstoleranz (z.B. durch einen individuell unterschiedlichen Trainingszustand) zu verlieren, wurden in unseren Untersuchungen empfohlene 80%predicted als Grenzwert einer normalen Belastungstoleranz definiert ((52), S.116). Bei klinischen Verlaufsuntersuchungen sind Änderungen um 1ml/min/kg bzw. um 8-10% als klinisch bedeutsam (oberhalb der Schwankungsbreite durch technische und biologische Variabilität) zu bezeichnen (51). Neben o.a. Einflussgrößen (Alter, Geschlecht, Körpergewicht) und (in pathologischen Fällen) Kompensationsmöglichkeiten (lastinadäquate Anstieg von Herzfrequenz u./o. O<sub>2</sub>-Extraktion mit resultierend normalem VO<sub>2</sub>peak) ist v.a. die Motivation des Probanden zu berücksichtigen.

Bei Herzinsuffizienz besteht bis  $\leq 20$ ml/min/kg eine lineare Korrelation mit der Prognose (57). Nach einer aktuellen Metaanalyse ist eine Verbesserung des VO<sub>2</sub> um 1 MET (um 3,5ml/min/kg) mit einer Abnahme der kardiovaskulären bzw. der Gesamtmortalität um 15 bzw. 13% assoziiert (20). Ein VO<sub>2</sub>peak  $\leq 14$ ml/min/kg war mit erheblich eingeschränkter Prognose verbunden (58-59). Diese Grenze zogen wir für die Definition einer prognostisch bedeutsamen Untergruppe heran (60).

## 2. VO<sub>2</sub>AT (VO<sub>2</sub>@ Anaerobic Threshold)

VO<sub>2</sub>AT gehört zu den in unseren Studien verwendeten Parametern, die nicht auf der Belastungsspitze, sondern während der inkrementalen Belastung erhoben werden, sich dadurch der Motivation des Patienten entziehen und so die Belastbarkeit objektiv charakterisieren.

Für VO<sub>2</sub>AT gibt es in der Literatur als Synonym die Bezeichnung ventilatorische Schwelle (21), wir benutzen die VO<sub>2</sub>AT-Definition nach dem Begründer der Spiroergometrie, K. Wasserman, als den zum Zeitpunkt der anaeroben Schwelle bestimmten VO<sub>2</sub>.

Trainingsphysiologisch gilt VO<sub>2</sub>AT als Dauerleistungsgrenze (moderate-intensity sustainable exercise) und beträgt etwa 50-65% von VO<sub>2</sub>peak (21,47). Werte  $\leq 11$ ml/min/kg gingen bei Patienten mit Herzinsuffizienz mit einer reduzierten Prognose einher (40). Dieser Wert wurde auch in unseren Studien als Grenze für den Nachweis einer objektiven prognoserelevanten Belastungsintoleranz herangezogen (60). Für unsere Studien musste dieser Grenzwert allerdings extrapoliert werden, da für die bei uns hauptsächlich untersuchten Patienten mit diastolischer Dysfunktion (49) bzw. mit Herzklappenerkrankungen (47) keine etablierten Grenzwerte vorliegen. Diese Extrapolation scheint nach ersten Daten aber zulässig zu sein. Patienten mit systolischer und diastolischer Dysfunktion zeigten eine vergleichbare Beeinträchtigung der aeroben Kapazität.

Bei der Bestimmung der anaeroben Schwelle im sog. Neun-Felder-Plot (aus Plot 5, 6 und 8) gaben wir dem Plot 5 (sog. V-slope) bei divergierenden Einzelanalysen im Einklang mit anderen (61-62) die Präferenz.

## 3. VE/VCO<sub>2</sub>slope

Die Beziehung der Ventilation (gemessen wird die Expiration VE) zur CO<sub>2</sub>-Produktion beschreibt atemphysiologisch die Atmungseffizienz, wird wie VO<sub>2</sub>AT im Belastungsverlauf gemessen und ist daher motivationsunabhängig. Der Normwert <30 (63) ist alters- und geschlechtsunabhängig.

Bei Herzinsuffizienz korreliert die Relation VE/VCO<sub>2</sub> mit dem Ausmaß der Dyspnoe, so dass die etablierte Weber-Klassifikation der Dyspnoe einer objektiven Schweregradstratifizierung anhand von VE/VCO<sub>2</sub>-Werten (Ventilatory Class) gegenübergestellt werden kann ((64) sowie (47), S. 674)).

Werte >34 gehen bei systolischer Herzinsuffizienz mit schlechter Prognose einher (40,64-65), für diastolische Herzinsuffizienz lag der Grenzwert mit  $\geq 33$  nahezu identisch (66). Für die von uns untersuchten Patientengruppen mit vorwiegender diastolischer Dysfunktion wurde der letztgenannte Grenzwert herangezogen. In einer Metaanalyse von Studien, die in multivariablen Analysen den prä-

diktiven Wert der wesentlichen spiroergometrischen Parameter verglich (41), zeigte sich bei Patienten mit systolischer wie auch in einer Arbeit bei diastolischer (66) Herzinsuffizienz, dass mit dem VE/VCO<sub>2</sub>slope eine Ereignisprädiktion eher noch besser gelingt als mit VO<sub>2</sub>peak.

In unseren Untersuchungen bestimmten wir den VE/VCO<sub>2</sub>slope unter Einbezug der gesamten Regressionskurve. Dies erlaubt eine noch bessere klinisch-prognostische Aussage als die herkömmliche Methode (65,67-68), nach der nur die linearen Abschnitte (bis zur ventilatorischen Schwelle) der VE/VCO<sub>2</sub>-Regressionskurve analysiert werden (49,67).

### **1.3. Chemische Biomarker zur Detektion der myokardialen Lasttoleranz und eines Belastungsrisikos.**

#### **1.3.1 Natriuretische Peptide**

In der klinischen Diagnostik werden die natriuretischen Peptide ANP, BNP, NT-proBNP sowie neuerdings auch das mittregionale proANP (69) genutzt. Nachfolgend wird v.a. auf das in unseren Studien gemessene NT-proBNP fokussiert.

Da aber NT-proBNP aus heutiger Sicht biologisch inaktiv (siehe (70)), also nur ein Marker ist, jedoch im stöchiometrischen Verhältnis von 1:1 zum BNP freigesetzt wird (siehe (71-72)), ist zum (patho)physiologischen Verständnis des Konzentrationsverhaltens von NT-proBNP die biologische Funktion von BNP zu betrachten.

Für unsere Untersuchungen war relevant, dass die BNP-Generation im Unterschied zu ANP (73) durch rasche Genexpression (innerhalb von Stunden (74)), ohne relevante Zwischenspeicherung erfolgt (75) und unter bestimmten Bedingungen rapide ansteigen kann (74,76). Als Hauptstimulus der Genregulation fand sich zunächst (wie für ANP) der atriale Druck (77), später auch die myokardiale Wandspannung (78-82) bzw. Dehnung des Myozyten (83-85).

Das wesentliche Wirkprofil besteht aus Diurese, Natriuresis sowie Vasodilatation ((86), s. auch (87)). Es erfolgt eine Inhibition von Endothelin-I (86), von Renin- (88), sowie direkt (89) und indirekt über die Inhibierung von Angiotensin II (90) auch der Aldosteronsynthese.

Wegen der kardial entlastenden Effekte gilt BNP traditionell als kardiales Akuthormon gegen ventrikuläre Überlastung (91). Somit wären natriuretische Peptide Markerkandidaten für die Detektion chronischer, aber auch akuter myokardialer Last. Da unsere Studie diese Lastabhängigkeit und ihre Limitation genauer analysiert, werden lastabhängige und -unabhängige Induktionsfaktoren nachfolgend ausführlicher betrachtet.

Einerseits liegen lastabhängige Befunde vor:

- Der klassische Befund der dehnungsinduzierten Freisetzung natriuretischer Peptide aus den Vorhöfen (83,92-93) bestätigte sich später experimentell (76,84-85,92,94-96), wie auch klinisch:
- bei Herzinsuffizienz Anstieg von BNPmRNA auf chronische kardiale Überlastung (78),
- auf Belastung Anstieg bei Herzinsuffizienz bzw. Vorhofflimmern (97-98),
- durch einen Myokardinfarkt experimentell nach Koronarligation (74) und klinisch (69).
- über die Wanddehnung durch Druck- bzw. Volumenlast (99). Korrelationen sind sowohl zur Ventrikelgröße des belasteten Herzens (100) als auch zum Füllungsdruck (101-102) beschrieben. Die mechanische Myokardüberlastung führt in einer Stunde zur BNP-Genexpression (94), eher durch myozytäre Dehnung als durch transmuralen Druck (103). Diese Daten sind relevant für unsere Studie an Patienten mit linksventrikulärer Druck- bzw. Volumenbelastung durch Herzklappenfehler.

Wie mechanische Stimuli in intrazelluläre Signale zur BNP-Expression umgewandelt werden, ist einschließlich der involvierten Transkriptionsfaktoren und posttranskriptionalen Modifikationen nicht

vollständig geklärt (104). Integrine werden als Mechanotransduktoren diskutiert (105), ebenso stress-aktivierte Ionenkanäle.

Andererseits gibt es Befunde einer lastunabhängigen Induktion:

So sind Elemente der strukturellen Herzkrankheit mit dem BNP-Spiegel assoziiert (106-107).

BNP wird v.a. als molekularer Marker der Hypertrophie bezeichnet (108), Beziehungen zur linksventrikulären Hypertrophie bzw. Masse sind gut belegt (106,109-116), aber nur bei pathologischer, nicht bei physiologischer (Sportherz-) Hypertrophie (117). Für unsere Studienfragestellung ist relevant, dass BNP als „early responsive gene“ schon in Frühstadien einer kardialen Last vor Ausbildung der Hypertrophie hochreguliert sein kann (118). Demnach wäre nicht die Hypertrophie selbst sondern die hypertrophieinduzierende Belastung Induktor der BNP-Generation. Aber bei Hypertrophie führen offensichtlich auch lastunabhängig Strukturproteine wie das Caveolin-3 zur Überexpression von mRNA von ANP und BNP (119). Möglicherweise ist die Assoziation zwischen BNP und Hypertrophie im Krankheitsverlauf über unterschiedliche (initial lastabhängige, später strukturelle) Faktoren begründet.

Für BNP besteht weiterhin eine Beziehung zur kardialen Fibrose: BNP- Sekretion aus und

BNP- Effekt in Fibroblasten (120), Entwicklung von Fibrose in Knockout-Mäusen für BNP (121). Dabei wirken die natriuretischen Peptide gegenregulatorisch (antihypertrophisch, antifibrotisch) ((120-126) sowie Übersicht (127)).

Zweifel an einer zumindest dominierenden Induktion der natriuretischen Peptide durch Wanddehnung waren auch daraus abzuleiten, dass prognoserelevante Anstiege der natriuretischen Peptide gleichsam bei Herzinsuffizienz und bei KHK gefunden wurden (s.u.). Auch die Anstiege bei KHK seien wanddehnungsinduziert (73,128-130). Klinisch ist jedoch bei (selbst akuter) KHK nicht eine solche Cavitätendilatation und Wanddehnung nachzuvollziehen, wie es bei Herzinsuffizienz der Fall ist, der postulierte Freisetzungsmechanismus daher zu hinterfragen. Hypoxie und chronisch morphologische Folgeveränderungen des linken Ventrikels bei schwerer KHK könnten hier z.B. eine Rolle spielen (131-132). Kürzlich wurde auch gezeigt, dass die Therapie von Patienten mit akutem Koronarsyndrom und hohen BNP-Spiegeln mit Hemmern des Renin-Angiotensin-Systems weder zur Abnahme der natriuretischen Peptide, noch zu klinisch-prognostischen Verbesserungen führte (133).

Reaktionen auf belastungsinduzierte hämodynamische Änderungen in unterschiedlichen Patientengruppen sind teilweise widersprüchlich (97-98,134), wie bereits in unserer Publikation (135) diskutiert. Andere Arbeiten verwiesen auf eine Diskrepanz zwischen minimalen Differenzen bzw. Änderungen der natriuretischen Peptide auf erhebliche Unterschiede bzw. Schwankungen der zentralen Hämodynamik (97,136-147). Bei hämodynamischer Instabilität war BNP kein Ersatz für einen Rechtsherzkatheter (144), eine prognostische Aussagekraft des BNP bestand unabhängig vom (nur schwach mit dem BNP korrelierenden) linksventrikulären Füllungsdruck (148).

Andererseits waren NT-proBNP-Änderungen parallel zur klinischen Änderung hinsichtlich ihrer Nutzbarkeit zur Prognosebeurteilung enttäuschend (149). Belastungsinduzierte Anstiege waren auch bei anderen gering, größere Anstiege bei Patienten wurden eher als physiologische denn als pathologische Reaktion gewertet (150).

Die Induktionsfaktoren mit unserer Arbeit genauer zu untersuchen begründet sich durch die bereits breite klinische Anwendung von NT-proBNP. In der Herzinsuffizienzdiagnostik zeigte sich ein deutlicherer Anstieg als beim BNP (151). Die resultierende bessere diagnostische Trennschärfe (152) fand sich allerdings nicht in klinisch stabilen Kohorten mit geringer Markerkonzentration (153).

Erhöhte Spiegel natriuretischer Peptide finden sich auch bei kardialen Vitien mit resultierender Druck- oder Volumenbelastung des linken Ventrikels (s. die aktuelle Übersicht (154)). Neben den chronischen Lastfaktoren bestehen bei diesen Erkrankungen gleichzeitig typische und zumeist deut-



werden (193-194), war zu vermuten, dass die natriuretischen Peptide auch die klinischen Erscheinungsbilder (körperliche Belastbarkeit, hämodynamische Last) dieser pathophysiologischen Größen abbilden. Daten liegen z.B. vor für:

- eine Dekompensation (195-196) bzw. Rekompensation (197) bei Herzinsuffizienz
- den Symptomstatus (s. Diskussion) und Verlauf (198) von Patienten mit Herzklappenfehlern.

Andere Arbeiten zeigten eine prognostische Aussagekraft von BNP unabhängig vom (nur schwach mit dem BNP korrelierenden) linksventrikulären Füllungsdruck (148). Desweiteren waren NT-proBNP-Änderungen parallel zur klinischen Änderung hinsichtlich ihrer Nutzbarkeit zur Prognosebeurteilung enttäuschend (149). Belastungsinduzierte Anstiege waren auch bei anderen gering, größere Anstiege bei Patienten wurden eher als physiologische denn als pathologische Reaktion gewertet (150).

#### Präanalytik

NT-proBNP ist relativ thermostabil, (199), unsere Lagerungsbedingungen (-40°C) und mehrere Auftauzyklen haben keinen signifikanten Einfluss auf die Messergebnisse. Als Medium kommt sowohl Serum als auch Plasma in Frage, zum Vergleich daraus bestimmter Werte existieren Umrechnungsformeln (siehe (199)). EDTA-Röhrchen können Messwerte ändern (82). Wir verwendeten Lithium-Heparin-Plasma-Röhrchen.

#### Analytik

Wir verwendeten das einzige kommerziell vertriebene Assay – das der Firma Roche mit dem Kit „proBNP“. Dieses Elektrochemoluminiszenz-Assay nutzt zwei polyklonale Antikörper, die an den Epitopen 1-21 und 39-50 ansetzen. Seine Charakteristika sind wie folgt:

- Normwerte: 68-112pg/ml= 8,2-13,3pmol/l (200)
- Detektionsgrenze 5,085pg/ml= 0,6pmol/L (199,201), analytische Breite bis 35000ng/L (199).
- Assaypräzision (VC) – im Niedrigwertebereich (bei 20,7pmol/L=175,42ng/L) 2,7%,
  - im hohen Wertebereich (bei 800pmol/L=6779,68ng/l ) 1,8%  
bzw. im Bereich 175-4962ng/L 3,2-2,4% (199)

Die Intra- bzw. Interobserver-Variabilität der von uns verwendeten Assayplattform Elecsys 2010 betrug 1,2-1,5% bzw. 4,4-5,0% (199). Der klinische Grenzbereich wird vom Hersteller mit 125pg/mL angegeben. Falsch-niedrige Werte könnten bei Glykosylierung der mittregionalen NT-proBNP-Abschnitte auftreten (202).

#### Covariable

Die analytische Variabilität ist zwar klein (s.o.), die biologische Variabilität für beide Marker jedoch groß (203-208), v.a. bei Langzeitverläufen. NT-proBNP-Änderungen müssen daher groß sein, um klinische Änderungen widerzuspiegeln (204,209), aktuell gilt als Grenzwert >30% (82). Daher ist die Betrachtung von Covariablen bedeutsam.

- 1) Frauen haben höhere Werte als Männer (durch die höhere Prävalenz der diastolischen Dysfunktion (210), den Einfluss der Östrogene (siehe (211)) bzw. die geringere Androgenkonzentration (212)).
- 2) NT-proBNP steigt wie BNP mit dem Alter (213) (evtl. durch die steigende Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen und die renale Funktion (214)).
- 3) Adipositas korreliert negativ mit natriuretischen Peptiden (evtl. wegen der höheren Sympathicusaktivität, eines gestörten Wasser-Salzhaushalts (163) oder des vermehrten NPR-C-Besatzes im Fettgewebe (211)).
- 4) Die Nierenfunktion, mit stärkerer Korrelation von NTpro-BNP als von BNP (215). Andere Autoren bezweifeln dies ((216), siehe auch (82,217)). Die prognostische Aussage bleibt unabhängig von der Präsenz einer Nierenerkrankung erhalten (218). Nierenfunktionsadaptierte Referenzwerte sind durch die National Academy of Clinical Biochemistry nicht etabliert (219). Relevant für unsere Untersu-

chungen an Patienten mit zumindest nahezu normaler Nierenfunktion ist, dass ein signifikanter Anstieg erst ab einer GFR von 60ml/min/1,7m angegeben wird.

### 1.3.2 Kardiale Troponine

Die kardialen Troponine (cTn) C, T und I sind regulatorische Proteine des Sarkomers.

In der Diagnostik werden cTnI und cTnT verwandt. Beide wurden lange als Marker für eine myokardiale Nekrose bezeichnet (220), sind heute aber besser als unspezifischer Marker einer myokardialen Schädigung (myocardial injury) (193,220-222) anzusehen. Die nächstfolgenden Darstellungen fokussieren auf zwei Aspekte:

1) Unsere Untersuchungen kardialer Troponine erfolgten in einem Zeitraum von ca. 10 Jahren, parallel zu einer rasanten Assayentwicklung. Zur Interpretation unserer Daten muß daher nicht nur die Nachweismethode per se, sondern v.a. die Methodenentwicklung (Analytik und klinische Wertigkeit der Daten der jeweils neueren Assays) erörtert werden.

2) Unsere Fragestellungen betrafen stabile Krankheitsbilder mit Befunden jeweils im Messbereich an der Detektionsgrenze, daher werden hier v.a. derzeit in Diskussion befindliche Freisetzungsmechanismen kleiner Troponinkonzentrationen und ihre klinische Bedeutung, insbesondere für hochsensitive Assays, dargelegt.

Die in kontemporären Assays verwendeten Antikörper detektieren v.a. zentrale Epitope des Aminosäuremoleküls, proteolytische Degradationen erfolgen dagegen eher am N- und am C-Terminus. Somit können die meisten Degradationsprodukte mit erfasst werden und diese scheinen auch pathophysiologisch bedeutsam zu sein (223). Dennoch gibt es für cTnI-Assays durch die unterschiedlichen Molekülformen eine 20-40fache Messvariabilität (224). Für cTnT gibt es nur einen Assay-Hersteller, allerdings ist das hochsensitive nicht an das kontemporäre cTnT-Assay harmonisiert (225).

Grundlage der Analytik ist eine quantitative Immunofluoreszenz (ELISA)-Technologie, inzwischen werden zur Präzisionsverbesserung mehrere Antikörper zum Capture- und Detektionsprozess des Analyts in einem Assay verwendet. Die Art der Antikörper variiert zwischen den Herstellern, zur Übersicht siehe (226). Trotz extrem hoher Spezifität gibt es in 1-2% falsch-positive Ergebnisse, hervorgerufen durch heterophile Antikörper (human-anti-mouse-antibodies HAMA) (227), Rheumafaktoren (228-229), Kreuzreaktionen mit anderen Blutkomponenten, v.a. in hämolytischen (230-231), ikterischen, lipämischen Proben (225), Gerinnsel, aber insbesondere eine Fibrininterferenz (225). Bei Hämolyse aus Erythrozyten freiwerdende Proteasen sowie kürzlich beschriebene cTn-Autoantikörper (232) könnten auch falsch-negative Ergebnisse induzieren. Die Rate der „Ausreißer“ scheint abzunehmen und lag aktuell zwischen 0,06 und 0,44% (233).

Ständige Assay-Weiterentwicklungen verbesserten v.a. die Sensitivität. Das in unseren Studien verwendete kontemporäre Assay für cTnI (Stratus CS<sup>®</sup>, Dade-Behring, später Siemens AG) implementierte z.B. die sog. Dendrimer-Technologie (234) zur besseren Exposition des Capture-Antikörpers an den Analyt. Die letzte Generation der sog. hochsensitiven (hs-)Assays beruhen auf Signalverstärkungen wie Fluoreszenz-Nanopartikel, Oligonucleotid-Tags, Poly-Konjugaten (226) mit resultierender Absenkung der Nachweishöhe um eine Potenz. Um eine weitere Potenz senkte sich die Detektionsgrenze durch das Hindurchleiten einzelner fluoreszierender Moleküle durch laserbestrahlte Kapillaren („capillary flow technique“ des Zept<sub>x</sub> Singulex Erenna<sup>®</sup>, Nanosphere)) (235). Weitere präkommerzielle hochsensitive Assays sind das Access hscTnI (Firma Beckman-Coulter), das wir für Messungen an stabilen Patienten vor Herzkatheteruntersuchung verwendeten (236), das hscTnT-Assay (Roche), das wir zu Untersuchungen an Patienten mit vitienbedingter Myokardbelastung heranzogen, die Assays Centaur TnIultra und Vista der Siemens AG, sowie cTnI Vitros (Ortho-Clinical Diagnostics).

Kriterien zur Definition eines hs-Assays sind jedoch nicht einheitlich (222,237). Empfohlen wurde als Kriterium eine cTn-Detektion in mindestens 50%, besser 90% der Normalpersonen (238). Eine vergleichende Beurteilung erlaubt auch eine vorgestellte Scorecard (239).

Qualitätscharakteristika: Neben der Detektionsgrenze bzw. dem Limit of Blank (s.(226)) sind für alle Assays die 99. Perzentile der Werte von Normalpersonen und die minimale Troponinkonzentration, bei der ein Variationskoeffizient (VK) von 10% eingehalten werden kann, relevant. Nach Performanceverbesserungen lag bei vielen Assays in den letzten Jahren die 10%VK an oder unter der 99. Perzentile. Daraufhin erfolgte die „Neudefinition des Myokardinfarktes“ von 2007 (220) mit Herabsetzung der Entscheidungsgrenze (cut off für Myokardinfarkt) von der Konzentrationsschwelle mit 10%VK auf die 99. Perzentile. Auch beim von uns verwendeten kontemporären Assay Stratus CS wurde die 99. Perzentile und die 10%VK mit 0,7 (240) bzw. 0,6µg/L (241) unter die ursprüngliche „Infarktgrenze“ von 0,1µg/L (für die Fachgesellschaft IFCC: (242)) gesetzt.

Für Kennwerte der wichtigsten Assays s. aktuelle Auflistung unter [www.IFCC.org](http://www.IFCC.org).

Kardiale Troponine sind v.a. als Infarktmarker geeignet:

1. Sie sind höchstgradig (gewebe)spezifisch und werden von anderen Genen reguliert als die skelettalen Troponine (siehe (243-244)). Es besteht faktisch keine Kreuzreaktion mit den skelettalen Isoformen, kaum mit anderen Proteinen (s.o.). Eine erst jüngst entdeckte Ausnahme ist die immunoreaktive Expression von cTnT (nicht cTnI) im Skelettmuskel bei einigen (seltenen) neuromuskulären Erkrankungen (245).

2. Kardiale Troponine haben eine exzellente Trennschärfe bzw. Signal-to-noise-ratio: Sie zirkulieren in Normalpersonen faktisch nicht (nur mit hochsensitiven Assays in minimaler Menge nachweisbar) im Blut, kommen aber 13mal mehr im Myokard vor als der vorherige Goldstandard zur Infarkt Diagnostik, die MB-Fraktion der Creatinkinase (CK-MB) (243).

Die cTnT und I wurden 1999 von der Chemischen (246), und 2000 von den kardiologischen Fachgesellschaften (247) als Infarktmarker anerkannt, die Definition des Myokardinfarktes ist sehr wesentlich auf einen Troponinanstieg über den Grenzwert ausgerichtet.

Bezogen auf das nachgewiesene Substrat der akuten ischämischen Schädigung, der Myokardnekrose, wurden die cTn daher zunächst auch als Nekrosemarker bezeichnet, ein Paradigma, das sich erst in den letzten Jahren zu ändern beginnt.

Mit Assays der 2. Generation und resultierender Verbesserung der Sensitivität wurden auch Schädigungen (zunächst: Nekrose) anderer, nichtkoronarer Genese durch die cTn detektiert (219,222,225). Hierzu zählten Anstiege bei Myokarditis (248-249), myokardialer Dekompensation (244,250-251), Lungenembolie (252-253), nach extremer körperlicher Belastung (254-255), physikalischer (z.B. Ablation) Myokardschädigung (256-257), bzw. toxischen Einwirkungen, z.B. auf Anthrazykline (258-260) oder (eigene Untersuchungen) auf exzessiven Alkoholkonsum (261).

In den letzten Jahren wurden sog. hochsensitive (hs-) Assays entwickelt mit einer 10-100fach höheren Sensitivität. Troponin war dadurch in vielen Patientengruppen häufiger messbar, was zwar die Spezifik reduziert (262), v.a. für die ursprüngliche Anwendung in der Infarkt Diagnostik (236,263-264), aber auch erhebliche Vorteile hat:

1. Es werden mehr Patienten mit klinisch-prognostischem Risiko erkannt (siehe (265)). Ist der klinische Hintergrund nach Symptomatik und EKG ein akutes Koronarsyndrom, wird durch hs-Assays bei mehr Patienten ein Myokardinfarkt detektiert (266-269) und die Diagnose kann früher gestellt werden (267-268,270-272). Dem Problem der eingeschränkten Spezifität wurde mit der „Neudefinition des Myokardinfarktes“ von 2007 (220) begegnet. Hier wurde nicht nur ein erhöhter Wert per se, sondern eine Kinetik i.S. eines „rise & fall“ mit mindestens einem Wert über der 99. Perzentile für die Diagnose



gefordert. Mit der „3. Universellen Definition des Myokardinfarktes“ von 2012 wurden diese Mindestanstiege z.B. für die Bewertung postinterventioneller bzw. postoperativer Befunde nochmals erhöht (273). Auch für andere Patientengruppen, z.B. Ältere über 70 Jahre, wird dies jetzt empfohlen (237,264).

2. Mit diesen Assays fanden sich messbare Troponinkonzentrationen bei vielen stabilen kardiovaskulärer Erkrankungen (274-278) und in erheblichem Maße auch bei kardial offensichtlich Gesunden (hier mit besonders sensitiven Assays in >90% der Fälle) (235,279-282). Diese Konzentrationen haben in den meisten Fällen wieder eine prognostische Bedeutung (274-278,283), liegen in stabilen Patientengruppen oft nahe der 99. Perzentile (237), dienen aber als Ausgangswert für den o.g. „rise & fall“ in akuten Situationen. Die Werte in den Normalpopulationen erlauben nunmehr die Bestimmung der biologischen Variabilität dieser Marker- als Voraussetzung, um das Ausmaß einer Änderung festzulegen, das als klinisch signifikant anzusehen ist (sog. reference change values) (284-287).

3. Ebenso konnte erstmals auch eine transitorische (und nach allen klinischen Befunden auch als nichtnekrotisierend zu bezeichnende) Myokardischämie als Ursache für kurzzeitige Troponinanstiege gesehen werden (288-289).

Die Entwicklung der Assays, der Nachweisgrenzen und der abgeleiteten wesentlichen Befunde ist tabellarisch aktuell bei Keller et al. ((267), Fig.) sowie bei Agewall ((222), Fig. 3) zu finden. Nachfolgend eine weitere Tabelle mit Einordnung der eigenen Untersuchungen:

**Tab.** Assayentwicklung und resultierende Befunde/Anwendungen [eigene Daten fett gedruckt]

<b>Assaygeneration</b>	<b>Substrat (Zellmorphologie)</b>	<b>klinisches Substrat/ Anwendung</b>
I	Nekrose (v.a. koronar)	AMI
II	Nekrose (auch nichtkoronar?)	schwere Erkrankungen (LAE, Myokarditis)
kontemporäre(III-IV)	?*	(chronische stabile Herzkrankheiten) <b>[1,2]</b>
	Nekrose (zytosolischer Pool )	(AMI: „rise & fall“) transitorischer Stress <b>[3,4]</b>
hochsensitive „hs“	?**	chronische stabile Herzkrankheiten <b>[5,6]</b> Bevölkerung (Gesunde/stabile Erkrankung)
supersensitive „ss“	physiol. Zellumsatz, Apoptose	Gesunde: detektierbar in >90%

\* Hypothese: partielle Sarkomermodifikation/nichtnekrotische Degradation, zytosolischer Pool

\*\* Hypothese: Apoptoserate, Myozytenumsatz, zytosolischer Pool, sarkolemmale „Blebs“,

AMI= akuter Myokardinfarkt, LAE= Lungenarterienembolie,

**[1]** vor Koronarangiographie: Patienten mit KHK oder hohem EDP/niedriger EF (290) neben (291-292)

**[2]** in Patienten mit Verdacht auf KHK: Detektion der KHK (293)

**[3,4]** in Patienten mit Herzinsuffizienz nach symptom-limitiertem Stress (294-295),  
nicht in Patienten mit KHK (293)

**[5,6]** in fast allen Patienten mit stabilen kardiovaskulären Erkrankungen (236,263)

Sowohl die gesteigerte Sensitivität als auch die nunmehr mögliche Festlegung (237) von „reference change values“ in der Ära der hs-Assays ließen die Hoffnung zu, validere Untersuchungen von Schädigungen auch durch transitorische, nichtnekrotisierende Einflüsse, z.B. unterschiedlicher myokardialer Last- und Belastungsbedingungen vorzunehmen.

Ein nichtnekrotischer Troponinanstieg ist zwar immer häufiger postuliert, aber nicht unumstritten (296). Mechanismen der Troponinliberation mit konsekutiver Messbarkeit in der Zirkulation sind primär aus experimentellen Settings beschrieben, ihre Relevanz für die Diagnostik bzw. Prognostikation (humaner) Krankheitsbilder ist bislang zumeist nicht geklärt:

1. koronar induzierte Nekrose: Diese ist pathologisch-molekularbiologisch am intensivsten abgeklärt, dabei korrelieren Troponinkonzentrationen mit der Infarktgröße wie auch mit der Prognose (266,297). Die Myokardzellnekrose geht einher mit einer proteolytischen Herauslösung und Fragmentierung der Troponinmoleküle aus dem Sarkomer und einer Exposition (zusammen mit dem geringen a priori existierenden zytosolischen Troponinpool) durch die ebenfalls zerstörte Zellmembran in extrazelluläre Räume und letztlich die Zirkulation. Dieser Prozess dauert, mit resultierender Messbarkeit erhöhter Werte, bis zu ca. 8 Tage. Gemessen werden intakte (Mono-, binäre bzw. ternäre) Moleküle wie auch proteolytische Fragmente, wie sie bereits bei schwerer Ischämie vor Nekrose entstehen (298).

2. nichtkoronare Schädigung mit wahrscheinlicher Nekrose: Bei schweren Krankheitsbildern (De-kompensation, Lungenarterienembolie) ist vorstellbar, dass schwere myokardiale Schädigungen ebenfalls zur Myokardnekrose führen (diskutiert in Studien mit kommerziellen (250,299), aber auch mit hochsensitiven Assays (274,300)). Toxische, inflammatorische Prozesse, neurohumorale Aktivierungen können ursächlich bzw. förderlich sein (265). Auch in solchen Settings zeigten Troponinwerte prognostische Einschränkungen (299,301-302).

3. Apoptose. Sie kommt auch in physiologischen Konditionen in geringem Maße vor, als Teil eines normalen Zell-Turnovers bzw. Teil normaler Reparationsprozesse wie z.B. der Ubiquitylierung. Eventuell sind dies die Quellen für die geringen Troponinkonzentrationen in Normalpersonen und wären Grundlage der (bis heute umstrittenen (303)) Annahme, dass diese Konzentrationen prognostisch bedeutungslos sind (304). Allerdings hat diese Hypothese zur Voraussetzung, dass die apoptotischen Prozesse im Myokard limitiert sind, denn sonst impliziert eine Apoptose eine so umfängliche Proteolyse, dass resultierende Troponinmolekülfragmente mit den jetzigen Assays nicht detektierbar wären. Die Apoptoserate kann pathologisch erhöht sein. Daran ist eine Vielzahl von Signaltransduktionswegen beteiligt. Die MAPK-getriggerte Erhöhung ist dabei evtl. verantwortlich für die Transition einer (kompensierten) Hypertrophie zur Herzinsuffizienz (305). Erhöhte Wandspannung geht ebenfalls mit einer erhöhten Apoptoserate einher, neben einer Autophagie sowie Proteolyse des kontraktilen Apparates (s. (265)). Troponinanstiegen solcher Apoptoseraten ist dann vermutlich eine prognostische Bedeutung beizumessen.

4. Eine umschriebene Proteolyse nur von Teilen der Sarkomerstruktur, z.B. von cTn. Ohne (vollständigen) Zelltod bewirken diese partiellen Sarkomerschäden aber eine funktionelle Beeinträchtigung (im Kontraktionsablauf) mit klinischen (Herzinsuffizienz) und prognostischen Folgen. Dies bewirkt z.B. Calpain. Seine Konzentration/proteolytische Wirkung auf cTn ist calciumabhängig. Entsprechend könnten viele Prozesse mit konsekutivem Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration zur isolierten Degradation von Troponin mit konsekutiver Konformationsänderung und Funktionsbeeinträchtigung des Sarkomers führen (306-307): Ischämie, Inflammation, Hypertrophie. Auch Belastungen/ mechanischer Stress führt über eine Integrinaktivierung via GC/cGMP zu intrazellulärem Calcium- und Calpainanstieg (308). Es wird postuliert, dass Calpain im Rahmen einer lastinduzierten Hypertrophiegenese als (Gegen-)Regulator über eine Stimulation von Pathways des Zelltodes agiert (s. aktuellen Review (309)). Dies könnte die höheren Troponinkonzentrationen bei Hypertrophie erklären (277,310-312). Troponinkonzentrationen, die auf einen solchen nichtnekrotischen Pathway (hypothetisch) bezogen wurden, gingen in der Regel ebenfalls mit prognostischen Einschränkungen einher (311,313-314).

5. Die o.a. Integrinaktivierung konnte aber auch mit einer Freisetzung von intaktem (nicht proteolytisch degradierten) cTn assoziiert werden (315). Dieser Umstand suggeriert, dass auf diesem Wege generiertes cTn zumindest in einigen Settings keine prognostische Bedeutung hat. Ein solcher Mechanismus käme als Erklärung der Befunde bei Marathoni ohne prognostische Beeinträchtigung infrage (316-317). Aber die Bedeutung freigesetzter Schädigungsmarker nach Extrembelastungen wird derzeit noch intensiv diskutiert (317-320).

6. Zur Erklärung der letztgenannten Situation wurden auch folgende troponinfreisetzende Prozesse herangezogen:

6.1 Die Freisetzung alleinig des 2-5% der Gesamttroponinmasse ausmachenden zytosolischen Pools ohne Veränderung des Sarkomers. So könnte eine detektierbare Troponinmenge in der Zirkulation erscheinen ohne Zerstörung des Sarkomers oder der gesamten Zelle, reversible Permeabilitätsveränderungen/Schädigungen der Zellmembran würden als Voraussetzung reichen (247,321-323). Allerdings sind weder diese Veränderungen der Myozytenmembran genauer bekannt (318,324), noch in klinischen Settings die genaue Herkunft des gemessenen cTn belegt. Obwohl naheliegend, bleibt entsprechend hypothetisch, inwieweit messbares cTn zytosolischer Herkunft eine geringere prognostische Bedeutsamkeit hat im Vergleich zu freigesetzten Konzentrationen vom vorher am kontraktiven Apparat gebundenen cTn.

6.2 Die Entwicklung sog. sarkolemmaler Blebs – eine spezielle Membranänderung als Erklärung von nichtnekrotischen Troponinfreisetzungen (325). Dies sind relativ rasch z.B. nach körperlicher Belastung (326) oder Ischämie (327) für 1-2 Tage auftretende Konformationsänderungen an der Zellmembranoberfläche. Ob die Entleerung der Blebs (sog. shedding) nur zytosolisches Troponin freisetzt oder diese Blebs auch aus dem Sarkomer losgelöstes cTn enthalten können, da sie auch bei Ischämie entstehen (327), ist unklar. Die Punkte 6.1. und 6.2. sind somit nicht zwangsläufig gekoppelt.

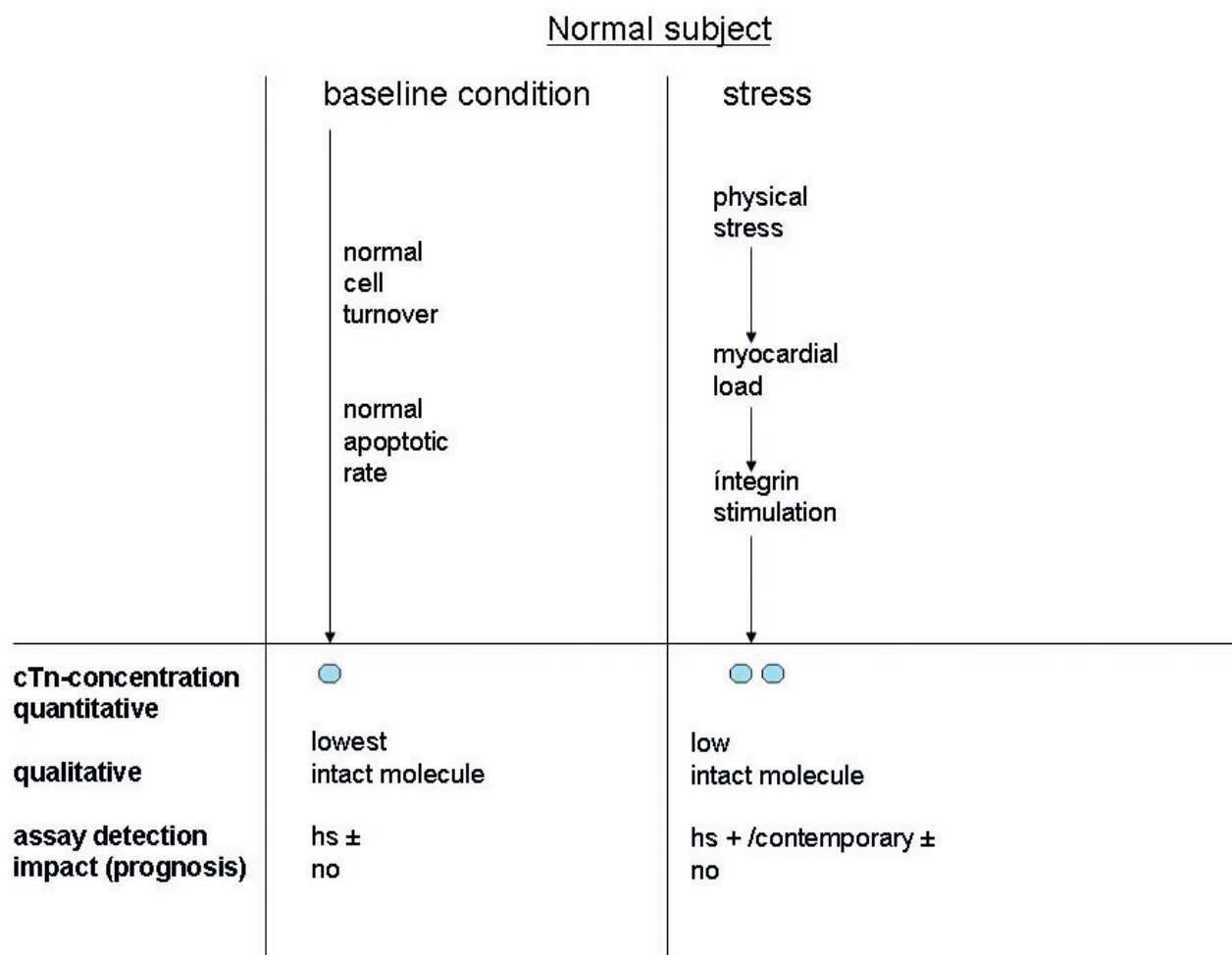
Neben den (hs-cTn-) Befunden an Normalpersonen (physiologischer Zellumsatz, niedrige Apoptoserate) sind Befunde nach schwerer körperlicher Belastung nicht durchgängig (318), aber zumeist (317,328) ohne weitere relevante Schädigungshinweise (z.B. echokardiographisch) erhoben, als reversibel gewertet und auf die o.a. Mechanismen bezogen worden. Entsprechend gehen rezente Übersichten (320,326,329) von einer klinisch-prognostischen Bedeutungslosigkeit aus – zumindest für offensichtlich herzgesunde Sportler.

Für Belastungen bei chronischer Herzinsuffizienz dagegen stellen wir nachfolgend Daten vor, die pathophysiologisch und prognostisch bedeutsam erscheinen (s. 2.3 bzw. (295)). Die Gegenüberstellung der Daten auf Extrembelastung bei Sportlern vs. denen nach symptomlimitierter Belastung bei Herzinsuffizienz weist auf einen anderen Aspekt hin, der vermutlich mehr in den Fokus der Forschungsaktivitäten geraten wird: Gleiche potentiell troponinfreisetzende Situationen (z.B. Last- und Belastungsbedingungen) können je nach Grunderkrankung und somit Ausgangssituation/Vorschädigung des Myokards unterschiedliche Freisetzungsmechanismen (s. Punkte 1.-7.) aus unterschiedlichen Quellen (z.B. Zytosol, Sarkomer) zugrunde haben, das detektierte cTn kann qualitativ unterschiedlich sein (ternär-/binär-komplex/solitär, dephosphoryliert, oxidiert, N-terminal acetyliert, destruiert ...). (s. Fig. 1).

Für die meisten Schädigungsprozesse ist vorstellbar, dass die jeweils stärkere Schädigung für den größeren Anteil des freigesetzten Troponins verantwortlich ist (z.B. bei Myokardinfarkt dominierend nekroseinduziert, die Troponinmenge aus basalen Zellumsatz, Apoptose wäre dann zu vernachlässigen). Deshalb ist für die meisten klinischen Fragestellungen (Fig. 1 b-d) eine gewisse Linearität zwischen Troponinkonzentration und Schädigung bzw. Prognose zugrunde zu legen und einer dichotomen Betrachtung der Ergebnisse vorzuziehen (292,310,330-332).

Darauf beruht auch die empfohlene Herangehensweise des „rise & fall“ zur Beurteilung akuter klinischer Situationen wie die Neudefinition des Myokardinfarkts (225). Im „low-level“ Bereich (präziser: dem neuen low-level-Bereich hochsensitiver Assays, Fig. 1a) kann aber für die Interpretation der jetzt erhältlichen Befunde evtl. relevanter sein, eher den dahinterliegenden Mechanismus und die Struktur des nachgewiesenen Troponins (v.a. intakt vs. destruiert) zu Rate zu ziehen als die Höhe der detektierten Konzentration. Obwohl zur qualitativen Charakterisierung der Troponine/Troponinfragmente neue Methoden entwickelt werden (Diffraktion MOLDI TF, MS; (333)), ist dies für eine breite Anwendung offensichtlich sehr aufwändig. Hier müssen zukünftige Studien ansetzen (s. Ausblick).

**Figure 1** cTnI liberation in different clinical situations (circles= intact, triangles= degraded molecules)



**Fig. 1a**

### Mild Disease

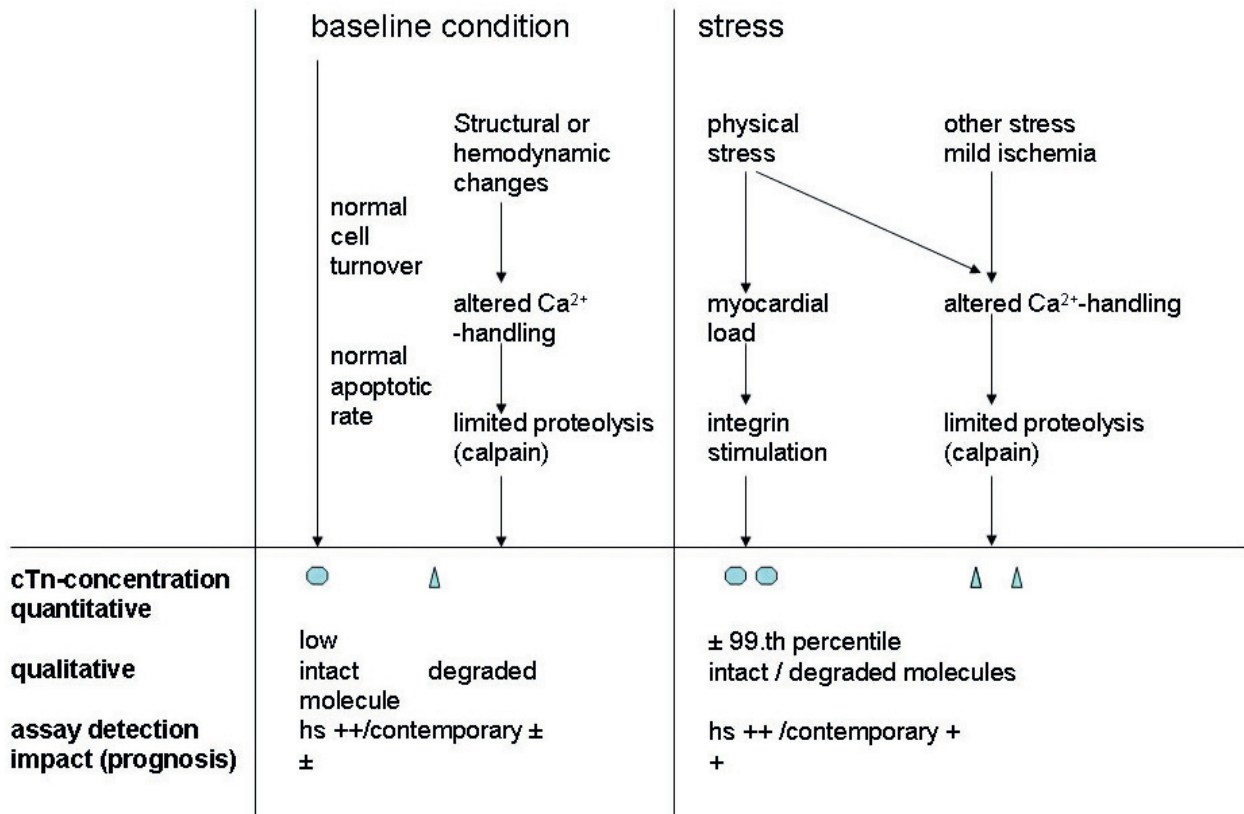


Fig. 1b

### Serious Disease

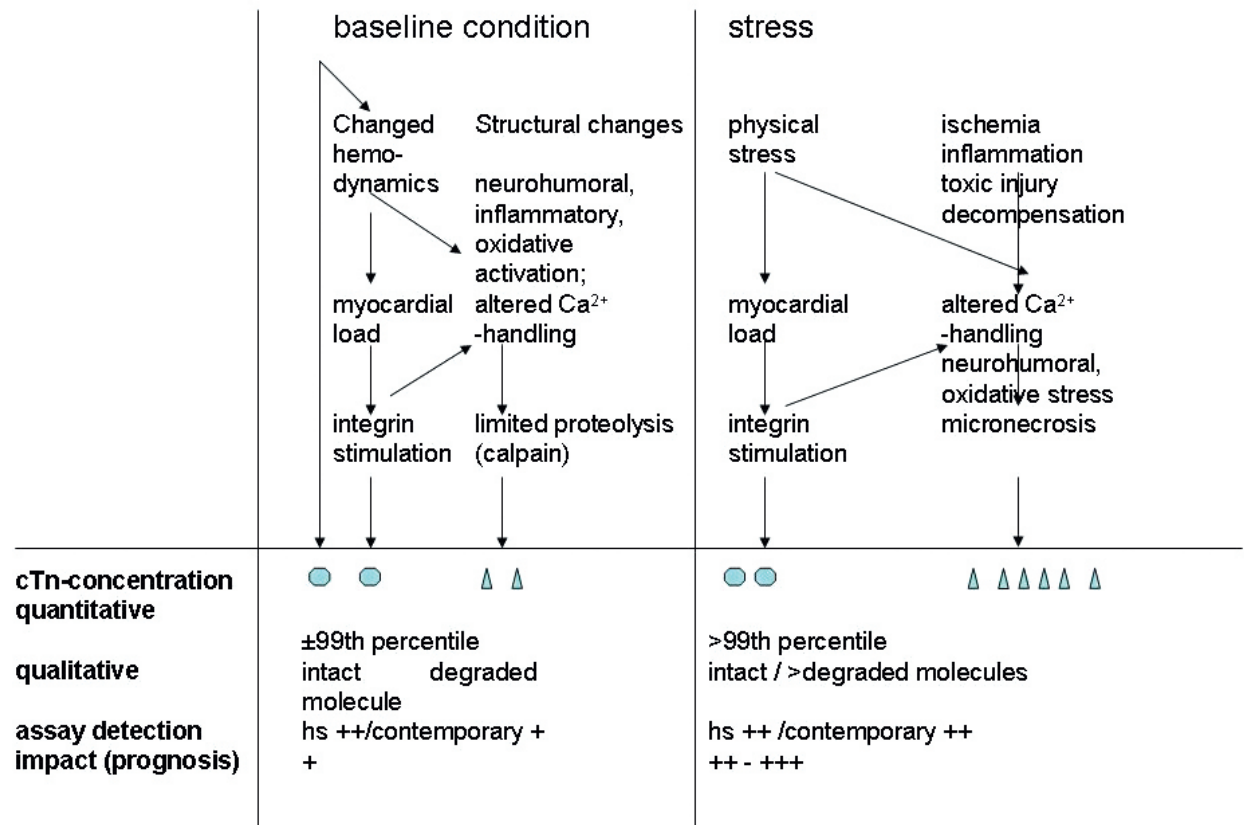
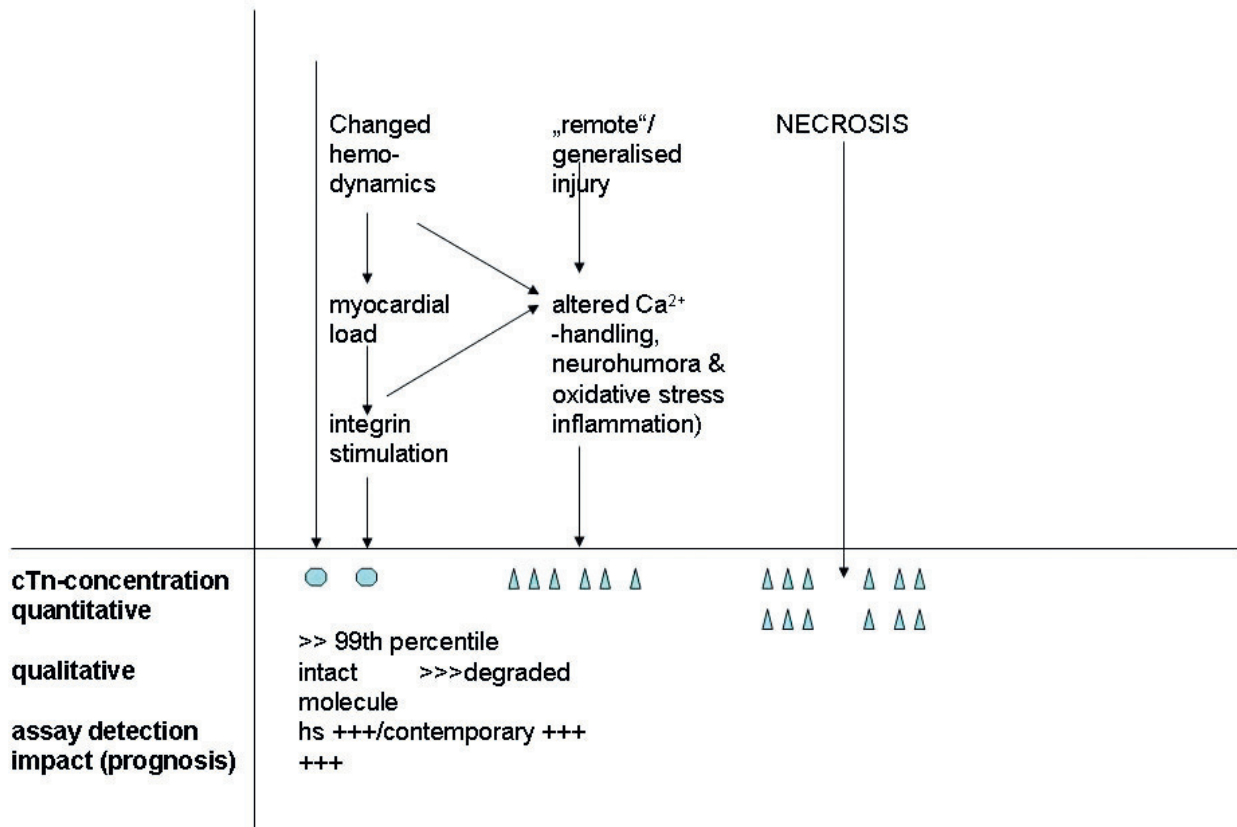


Fig. 1c

## Acute myocardial infarction



**Fig. 1d**

### **1.3.3 Pregnancy associated Plasma Protein-A (PAPP-A)**

#### Pathobiochemischer Hintergrund, Herkunft

PAPP-A ist eine Zink-bindende Matrix-Metalloproteinase (334). In biochemischer Hauptfunktion ist PAPP-A eine Protease der Insulin-like growth factor binding-Proteine (IGFBP) 4 (334-335) und 5. Die IGFBP5-Protease wird dabei als PAPP-A2 bezeichnet (336).

Bei Schwangeren fand man PAPP-A v.a. als Komplex mit dem „proform of eosinophil major basic protein“ (proMBP), welcher die proteolytische Aktivität von PAPP-A inhibiert, so dass der Komplex biologisch inaktiv ist bzw. bei Schwangeren als Protease-Inhibitor fungiert (337-338). Dies ist relevant, da die meisten aktuell verwendeten Assays freies und gebundenes PAPP-A messen (s.u.). Freies PAPP-A macht nur ca 1% der gesamten PAPP-A-Konzentration aus. Im akuten Koronarsyndrom dagegen scheint v.a. freies PAPP-A zu steigen (339-340). Gerade freies PAPP-A könnte daher ein Risikomarker sein und ist Nachweisziel neuer Assays (335). In Patienten mit stabiler Angina pectoris war ein hoher PAPP-A/proMBP-Quotient mit der Stenosekomplexität assoziiert (341). In Plaques erfolgt die Expression in Endothel- und in glatten Gefäßmuskelzellen (342). Diskutiert wird, ob auch Monozyten/Makrophagen PAPP-A exprimieren oder nur dort speichern (337).

Stimuliert wird die Genexpression offensichtlich durch inflammatorische Zytokine (343-344) sowie oxidativen Stress (337,343-344). Desweiteren kann Hypoxie die Bioaktivität von PAPP-A erhöhen (345-346).

#### Wirkmechanismen/Effekte von PAPP-A.

Substrat der PAPP-A-Aktivität sind die IGFBP-4 und -5 (s. (347), (348)). Biologisches Ziel ist letztlich IGF. Durch die PAPP-A-induzierte Proteolyse von IGFBP erhöht sich die ungebundene Fraktion dieses

Faktors. IGF, v.a. IGF-I hat, Insulin-ähnlich, glucosesenkende Effekte, ist aber auch Stimulator der Zellproliferation und Differenzierung (335,349). Auf diesem Wege kann PAPP-A (-IGF) neben einer potentiellen Rolle im akuten Stadium einer Gefäßerkrankung (Modifikation der Vulnerabilität eines Plaques) auch an der chronischen Erkrankungsphase (Progression der Atherosklerose) teilhaben.

Der Charakter der Einflüsse, insbesondere auf die Vulnerabilität, ist jedoch unklar (s. (349)):

Einerseits könnte PAPP-A über die atherogenen Effekte von IGF (334,350-351) proatherosklerotisch agieren ((352-354) und s. (349)). Dazu passen klinisch-morphologische Befunde wie die Assoziation von PAPP-A mit dem Nachweis von Carotiplaques in asymptomatischen Patienten mit Hyperlipoproteinämie (355) und mit dem Nachweis v.a. komplexer Koronarstenosen (341).

Andererseits wirkt das durch PAPP-A ansteigende IGF-1 auch gefäßprotektiv ((336,345) und s. (349)) sowie dem metabolischen Syndrom, v.a. der Glucoseintoleranz entgegen. Desweiteren wird PAPP-A-induzierte Zellproliferation und -Differenzierung (352) nicht nur mit Plaquewachstum, sondern auch mit Gewebereparationsprozessen assoziiert (356).

Dies widerspricht aber nicht der Markerfunktion von PAPP-A einer Plaquevulnerabilität- analog zu den natriuretischen Peptiden, welche selbst kardioprotektiv wirkend aber Marker einer schlechten Prognose bei Herzinsuffizienz oder akutem Koronarsyndrom (336,357) sind.

Bisherige klinische Studien demonstrierten Anstiege beim akuten Koronarsyndrom, dabei mehr beim ST-Hebungsinfarkt als bei NSTEMI oder instabiler Angina (342,358). Relevant sind auch Befunde, dass erhöhte PAPP-A-Spiegel bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, aber normalem Troponin ebenfalls mit schlechterer Prognose assoziiert waren (359-360). Bei stabiler Angina pectoris erwies sich PAPP-A als Prädiktor von Koronarstenosen >50% (361), von komplexen Stenosen (341) und der Gesamtmortalität (338,362).

Der Nachweis von PAPP-A gelingt über Enzym-Immunoassays (ELISA), in den meisten Studien wurden noch polyklonale Antikörper verwendet. Wir konnten ein neues, auf monoklonale Antikörper basierendes Assay verwenden. Dessen wesentliche Performancecharakteristika wurden kürzlich publiziert (356): Die Detektionsgrenze mit 95%igem Konfidenzintervall betrug 0,184 mIU/L, der Variationskoeffizient an zwei Kontrollspiegeln des Herstellers bei 4.82 und 12.67 mIU/l betrug 14,2 und 10,6%, die niedrigste Konzentration eines Variationskoeffizienten von 9,9% lag bei 1,73mIU/l.

Die Analytik wird weiter entwickelt. Eine Konzentrationsminderung durch Bindung an Heparin (363) wurde mit den letzten Assay- Iterationen der Firma beseitigt (persönliche Kommunikation A.S. Jaffe 2010). Bisherige Assays detektieren sowohl an proMBP gebundenes als auch freies PAPP-A (s. (356) bzw. (364)). Erste Ergebnisse mit einem Assay für freies, aktives PAPP-A liegen vor (335,365), deren Stellenwert ist aber noch zu prüfen.

## 2 Eigene Originalarbeiten

### 2.1 Objektivierung der Belastbarkeit von Patienten mit höhergradigen asymptomatischen Klappenvitien und erhaltener systolischer Funktion des linken Ventrikels

Es erfolgten Untersuchungen an Patienten mit höhergradigen asymptomatischen Klappenvitien und erhaltener systolischer Funktion des linken Ventrikels und an Patienten nach Aortenklappenersatz wegen höhergradiger Aortenstenose (60,366). Hier wird auf die maßgebliche Studie eingegangen (60).

Schulz O, Brala D, Bensch R, Berghoefer G, Kraemer J, Schimke I, Halle M, Jaffe AS.

**Exercise tolerance in asymptomatic patients with moderate-severe valvular heart disease and preserved ejection fraction**

**Arch Med Sci 2012 in press (nachfolgend Druckfahne)**

#### **Hintergrund**

Es besteht dringender Bedarf der Abklärung der objektiven Belastbarkeit bei Patienten mit diastolischer Dysfunktion, insbesondere bei Patienten mit Herzklappenfehlern (21,31,47-48). Bei Patienten mit höhergradigen Klappenfehlern und resultierender linksventrikulärer Druck- bzw. Volumenbelastung könnte die Analyse der Toleranz zusätzlicher körperlicher Belastung zur besseren Indikationsstellung zur Klappenkorrektur (367-369) beitragen.

#### **Ziel**

Charakterisierung der objektiven Belastbarkeit von Patienten mit höhergradiger Aortenstenose, Aorten- oder Mitralinsuffizienz mittels Spiroergometrie, Stressechokardiographie und Biomarker.

#### **Methode**

Untersuchung von 61 Patienten mit höhergradigen Klappenfehlern und 23 Kontrollpersonen mittels eines Doppelstressprotokolls aus Spiroergometrie und Stressechokardiographie. Messung von hscTnT vor und nach Ergometrie. Nachuntersuchung 1.5±0.9 Jahre nach Klappenersatz.

#### **Ergebnisse**

Während bei einem Belastungstest nach Leitlinien-Kriterien 26% der Patienten einen pathologischen Befund aufwiesen, demaskierte eine Spiroergometrie eine objektive Belastungsintoleranz in 59% der Patienten, 39% der Patienten wiesen dabei Werte auf, die bei Herzinsuffizienz mit einer schlechten Prognose einhergingen. In 43% der Patienten wurde stressechokardiographisch eine reduzierte kontraktile Reserve und in 62% erhöhte Füllungsdrucke nachgewiesen. Bei Kontrollpatienten zeigten sich solche Befunde signifikant seltener. Eine prognostisch bedeutsame Einschränkung der Belastungstoleranz kann mittels hscTnT detektiert werden (AUC 0.69; CI 0.55-0.81; p=0.015). Eine reduzierte Belastungstoleranz sagte ein schlechteres funktionelles Ergebnis der Klappenoperation voraus.

#### **Schlussfolgerung**

Bei Patienten mit asymptomatischen höhergradigen Klappenvitien finden sich eine spiroergometrisch eingeschränkte Belastbarkeit, eine reduzierte kontraktile Reserve und erhöhte Füllungsdrucke häufiger als in Leitlinien verwendete Kriterien eines pathologischen Stresstests. Ein höherer hscTnT-Wert ist mit einer prognostisch bedeutsam reduzierten Belastbarkeit assoziiert. Diese Befunde empfehlen sich für ein Follow-up vor eventueller Operation.

**Publikation:** 9 Seiten (nachfolgend Druckfahne; Daten auf Korrektheit überprüft)



## **2.2 Vergleich von (chronischen und akuten) lastabhängigen und lastunabhängigen Faktoren (strukturelle Herzerkrankung) sowie Covariablen auf den „Parameter der myokardialen Last“, N-terminal Pro-Brain natriuretic peptide (NT-proBNP)**

Schulz O, Rudolf A, Scheiner S, Schulz-Menger J, Berghoefer G, Bensch R, Kraemer J, Schimke I. **Influence of acute and chronic myocardial loading conditions, function, structural changes and extracardiac factors on NT-proBNP in asymptomatic patients with preserved ejection fraction** Clin Res Cardiol 2012; 100:57-65.

### **Hintergrund**

Natriuretische Peptide wie das NT-proBNP werden als Marker einer myokardialen Last bezeichnet (193). Anstiege dieser Biomarker wie z.B. bei akuter Herzinsuffizienz wurden auf diesen Mechanismus bezogen und zeigen dabei eine schlechte Prognose an.

Es nehmen Bemühungen zu, diesen Marker auch zur Verlaufsbeurteilung in chronischen Krankheitsstadien zu nutzen. Inwieweit Covariablen (z.B. Nierenfunktion) und zusätzliche Induktoren des NT-proBNP, wie myokardiale Hypertrophie oder Fibrose diese auf myokardiale Lastfaktoren bezogene Verlaufsbeurteilung überlappen können, ist unbekannt.

### **Ziel**

Vergleich der Einflüsse von Parametern einer akuten (symptomlimitierte Belastung, catecholaminerger Stress) sowie einer chronischen Belastung (Druck- und Volumenüberlastung durch stabile höhergradige Klappenfehler) mit denen der strukturellen Herzerkrankung (z.B. linksventrikuläre Dilatation, Hypertrophie oder Fibrose) sowie mit Covariablen (z.B. Nierenfunktion oder Körpermassenindex).

### **Methode**

Untersuchung von 15 Kontrollpersonen und 34 Patienten mit chronischer Druck- (Aortenstenose) oder Volumenbelastung (Aorten- oder Mitralsuffizienz) vor und nach einem Doppelstressprotokoll aus symptomlimitierter Ergometrie und Dobutaminstress-echokardiographie. Vergleich univariater Einflußfaktoren nach der Höhe der resultierenden NTproBNP-Anstiege sowie Analyse von unabhängigen Einflussfaktoren auf die NT-proBNP-Konzentration in multivariaten Analysen.

### **Ergebnisse**

Die Patienten mit Klappenfehlern und konsekutiver v.a. Druckbelastung des linken Ventrikels zeigten erhöhte NT-proBNP-Werte. Physische Belastungen oder catecholaminerger Stress haben nur einen marginalen Einfluß auf das NT-proBNP. In der univariaten Analyse waren Parameter der strukturellen Herzerkrankung bedeutsam, die stärkste Assoziation fand sich für den Nachweis einer myokardialen Fibrose im MRT ( $p < 0.01$ ). Multivariate Analysen zeigten den echokardiographisch abgeschätzten linksventrikulären Füllungsdruck, die Ejektionsraktion, das Vorhandensein einer Herzklappenerkrankung, Serum-Kreatinin und den Dobutaminstress als unabhängige Determinanten des NT-proBNP ( $p$  jeweils  $< 0.05$ )

### **Schlussfolgerung**

NT-proBNP erweist sich nicht als einfacher Surrogatmarker für eine myokardiale Last. Bei vorgesehener Nutzung dieses Biomarkers für chronische Verlaufsbeurteilungen von Patienten mit Herzinsuffizienz sind zusätzliche Einflussfaktoren wie die strukturelle Herzerkrankung (v.a. myokardiale Fibrose) und Co-Variablen (z.B. Nierenfunktion) maßgebend.

**Publikation:** 9 Seiten

## 2.3 Toleranz einer symptomlimitierten sowie einer submaximalen Ausdauerbelastung während eines medizinischen Ergometertrainings von Patienten mit stabiler moderater systolischer Herzinsuffizienz anhand des Schädigungsmarkers kardiales Troponin I

An Patienten mit stabiler moderater systolischer Herzinsuffizienz führten wir mehrere Untersuchungen durch (294-295). Es wird auf die maßgebliche Studie eingegangen (294).

Schulz O, Kromer A.

**Cardiac troponin I: a potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure**  
American Heart Journal 2002; 144:351-8.

### Hintergrund

Eine Empfehlung von klinisch zulässigen Belastungsumfängen für Patienten mit stabiler systolischer Herzinsuffizienz ist bislang nicht ausreichend evidenzbasiert. Die zunehmende Anwendung eines körperlichen Trainings als nichtmedikamentöses Therapieverfahren erfordert eine individuelle Risikoabschätzung. Kardiales Troponin I war ein Markerkandidat für diese Fragestellung aufgrund vorbekanntlich nachweisbarer Konzentrationsanstiege mittels Assays der kardial spezifischen zweiten Generation bei nichtischämischen Pathologien wie myokardiale Dekompensation (244,250), Inflammation (248-249), Toxizität (260,370), oder bei Extrembelastungen (254-255).

### Ziel

Objektivierung der Toleranz von Maximalbelastungen (symptomlimitiert) und Submaximalbelastungen (Ergometerausdauertraining) von Patienten mit stabiler moderater systolischer Herzinsuffizienz mittels hämodynamischer Evaluation und Messung von kardialem Troponin I

### Methode

Untersuchung von 36 Patienten mit stabiler systolischer Herzinsuffizienz und 10 Kontrollpersonen während einer symptomlimitierten Belastung auf einem Liegendergometer mit gleichzeitiger Messung der zentralen Hämodynamik mittels Rechtsherzkatheter sowie während einer 20-30minütigen Ergometertrainingssession mit einer Intensität von >80% der maximalen Herzfrequenz. Messung von cTnI vor und nach beiden Belastungen.

### Ergebnisse

Patienten mit Herzinsuffizienz zeigten einen signifikanten Anstieg des cTnI auf symptomlimitierte Belastung ( $p < 0,001$ ), in 6 Patienten (17%) an/über den Grenzwert des verwendeten Assays für einen Myokardinfarkt. Bei Trainingsbelastungen kam es zu keinem lastinduzierten Anstieg über diese prognostisch bedeutsame Grenze. Kontrollpersonen hatten nach jeder Belastungsform niedrigere Troponinkonzentrationen ( $p$  jew.  $< 0,05$ ) und nie einen Anstieg über den Grenzwert.

**Schlussfolgerung** Patienten mit stabiler Herzinsuffizienz zeigen nach symptomlimitierter Belastung Anstiege des kardialen Troponins in einen Wertebereich dieses Assays für einen sog. minimalen Myokardschaden, eine kleine Subgruppe zeigt dabei Anstiege in einen Bereich von über andere Studien nachgewiesener prognostischer Relevanz. Trainingsbelastungen in Intensitäten wie sie für eine medizinische Rehabilitation bzw. medizinisches Training angewandt werden, blieben ohne kritischen Troponinanstieg.

**Publikation:** 8 Seiten

## 2.4 Der Schädigungsmarker kardiales Troponin I sowie die Ischämie marker heart-type Fatty Acid Bind Protein und Glycogenphosphorylase BB bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit unter symptomlimitierter ergometrischer Belastung

Schulz O, Paul-Walter C, Lehmann M, Abraham K, Berghoefler G, Schimke I, Jaffe AS.

### **Usefulness of detectable levels of troponin, below the 99th percentile of the normal range, as a clue to the presence of underlying coronary artery disease**

American Journal of Cardiology 2007;100: 144:764-9.

#### **Hintergrund**

Bei inkonklusivem Belastungs-EKG von Patienten mit Verdacht auf koronarer Herzkrankheit ist oft ein zweiter Belastungstest mit bildgebenden Verfahren erforderlich. Eine Alternative könnte eine Ischämiedetektion während der Ergometrie mittels Biomarker sein. Kardiales Troponin I (cTnI) war ein Markerkandidat für diese Fragestellung aufgrund bekannter Anstiege bei instabiler Angina (371) sowie von uns beschriebener Anstiege bei symptomlimitierter Belastung von Patienten mit stabiler Herzinsuffizienz (294). Weitere Kandidaten wegen vorbeschriebener Anstiege bei akuter Ischämie waren das heart-type Fatty Acid Bind Protein (hFABP) (372) und die Glycogenphosphorylase BB (GPBB) (373-374).

#### **Ziel**

Klärung der Validität von cTnI, hFABP und GPBB in der Detektion einer belastungsinduzierten Myokardischämie bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit

#### **Methode**

Messung von cTnI, hFABP und GPBB vor und nach ergometrischer Belastung bei Patienten mit Verdacht auf Myokardischämie. Danach wurde eine Koronarangiographie durchgeführt und die Patienten in eine Gruppe mit stabiler koronarer Herzkrankheit (Koronarstenose  $\geq 70\%$ ,  $n=33$ ) und eine Kontrollgruppe (koronare Lumeneinengung  $< 50\%$ ,  $n=14$ ) eingeteilt. Nach  $37.5 \pm 7.3$  Monaten erfolgte eine Follow-up-Befragung.

#### **Ergebnisse**

Keiner der drei Biomarker stieg signifikant auf die kurzzeitige belastungsinduzierte Myokardischämie. Patienten mit koronarer Herzkrankheit hatten signifikant höhere cTnI-Werte, die jedoch unter dem cutoff für einen Myokardinfarkt lagen (Prädiktion einer KHK durch  $cTnI \geq 0,02 \text{ ng/ml}$ : AUC 0.81 (CI 0.68-0.94),  $p=0.001$ ). Eine cTnI-Konzentration  $\geq 0,02 \text{ ng/ml}$  war mit zukünftigen weiteren Revaskularisationsmaßnahmen während des Follow-up-Zeitraums assoziiert ( $p=0.008$ ), cTnI verbesserte die Prädiktion einer KHK durch die klassischen Risikofaktoren.

**Schlussfolgerung** Das mit einem kontemporären Assay gemessene Troponin I wie auch die potentiellen Ischämie marker hFABP und GPBB können die Performance eines Belastungstests zur Diagnostik einer stabilen KHK nicht verbessern. Niedrige Konzentrationen (über der Detektionsgrenze/unter der Entscheidungsgrenze für einen Myokardinfarkt) detektieren bei Patienten mit klinischem Verdacht auf Myokardischämie eine koronare Herzkrankheit und haben dabei auch eine prognostische Bedeutung.

**Publikation:** 6 Seiten

## 2.5 Pregnancy-associated plasma protein A- ein Marker vulnerabler Plaques ist prognosebestimmend in Patienten mit stabilen Herzkrankheiten. Ergebnisse eines Assays auf Basis monoklonaler Antikörper

Schulz O, Reinicke, M, Krämer J, Berghoefer G, Bensch R, Schimke I, Jaffe AS.

### **Pregnancy-associated plasma protein A values in patients with stable cardiovascular disease: Use of a new monoclonal antibody-based assay**

Clinica Chimica Acta 2011;412: 144:880-6.

#### **Hintergrund**

Für Patienten mit stabilen kardiovaskulären Erkrankungen ist die Suche nach Parametern eines Risikos zukünftiger Ereignisse eine aktuelle Aufgabe. Das Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) ist ein Marker, der mit vulnerablen Plaques assoziiert wird (354) und dabei v.a. bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom prognostische Aussagen treffen kann (359-360).

#### **Ziel**

Nutzung eines neuen, präkommerziellen Assays für PAPP-A zur Prüfung des prädiktiven Wertes dieses Markers für zukünftige v.a. kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit stabilen Herzerkrankungen vor Herzkatheterdiagnostik

#### **Methode**

Messung von PAPP-A nach ergometrischer Belastung und Echokardiographie vor invasiver Diagnostik bei 228 Patienten mit stabiler Herzkrankheit. Anhand der Koronarangiographie-Ergebnisse Gruppierung der Patienten nach Vorhandensein einer koronaren Herzkrankheit (Koronarstenose  $\geq 70\%$ , n=104), Präsenz einer komplexen (Typ 2B oder C; n=46) oder vulnerablen (Typ B mit irregulärer oder thrombushaltiger; n=68) Koronarläsion  $\geq 50\%$ . Nach  $1108 \pm 207$  Tagen erfolgte eine Follow-up-Befragung.

#### **Ergebnisse**

PAPP-A war nicht mit den o.g. angiographischen Koronarcharakteristika assoziiert. Die Follow-up-Untersuchung zeigte jedoch anhand von Receiver-operator Charakteristika und von Cox-proportional Hazard Modellen den prädiktiven Wert von PAPP-A für die Gesamtmortalität allein ( $p=0.01$ ) bzw. in Kombination mit nichtfatalem Myokardinfarkt ( $p=0.003$ ) oder mit nichtfatalem Myokardinfarkt oder Rehospitalisation ( $p=0.04$ ).

Die gleichzeitige Messung von hochsensitivem cTnI beeinflusste die Risikoprädiktion durch PAPP-A nicht, die Prädiktion bestätigte sich auch in Subgruppen mit häufigen Ereignissen (Männer, Patienten mit koronarer Herzkrankheit).

**Schlussfolgerung** Das mit einem präkommerziellen, monoklonalen Antikörper-basierten Assay gemessene PAPP-A ist ein unabhängiger Prädiktor zukünftiger Ereignisse bei Patienten mit stabilen kardiovaskulären Erkrankungen.

**Publikation:** 7 Seiten

## 3 Diskussion

### 3.1 Die Belastbarkeit von Herz-Kreislaufpatienten

In mehreren Studien zur Belastbarkeit von Herz-Kreislauf-Patienten fokussierten wir v.a. auf chronische, potentiell irreversible myokardiale Schädigungen.

Schädigungen durch (körperliche) Belastungen sind v.a. dann vorstellbar, wenn bereits eine myokardiale Vorschädigung/linksventrikuläre Dysfunktion besteht, offensichtlich aber auch bei Langzeitanwendung von Ausdauersport. Bei Letzterem zeigten sich eine Neigung zu späterem Vorhofflimmern (375) und zu rechtsventrikulären Veränderungen, die an eine rechtsventrikuläre Kardiomyopathie erinnern (376) und zu Kammertachykardien führen können (377).

Zunächst hatten wir Patienten mit Herzinsuffizienz/systolischer linksventrikulärer Dysfunktion untersucht. Eine belastungsinduzierte Myokardschädigung war zumindest für Subgruppen vorstellbar, da Therapiestrategien immer dann erfolgreich waren, wenn sie herzentlastend wirkten. So z.B. bei Anwendung mechanischer Unterstützungssysteme (Assist-Devices) bei terminaler Herzinsuffizienz – sowohl klinisch (378), hämodynamisch (379), als auch mechanistisch auf histologischer (380-381) wie auch molekularer Ebene (Übersicht z.B. in (382-383)), letztlich auch prognostisch (378).

Das gleiche Bild ergab sich für medikamentöse Therapiestrategien. Die Anwendung positiv-inotroper Substanzen, die aus myokardenergetischer Sicht eine Mehrbelastung darstellen konnten, ging mit erhöhter Sterblichkeit einher (384). Herzentlastende Präparatgruppen wie Hemmer des Renin-Angiotensin-Systems ((385) bzw. (386)), Betablocker (387) und einige Diuretica (Aldosteronantagonisten) (388) waren dagegen langfristig klinisch/prognostisch vorteilhaft.

Gleichzeitig reduzierten genannte Substanzklassen auch die für Patienten mit Herzinsuffizienz typische neurohumorale Aktivierung, die für deren Krankheitsprogression verantwortlich gemacht wird (389-390). In diesem Kontext halten wir unsere früheren Untersuchungsergebnisse an Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz für erwähnenswert. In Vorbereitung auf eine Herztransplantation nahmen wir bei diesen Patienten einen Test zur pulmonalen Drucksenkung mit dem Phosphodiesterasehemmer Enoximon vor (391). Für Enoximon war ein myokardenergetisch ausgeglichener Effekt durch etwa gleichstarke cGMP-vermittelte vasodilatatorische und myokardial positiv-inotrope Effekte vorbekannt (392). Aber selbst bei diesem myokardenergetischen Equilibrium fanden wir eine weitere Aktivierung neurohumoraler Systeme (Anstieg von Endothelin-I, Angiotensin-II und Noradrenalin), während später Johnson et al. (393) auf Vasodilatation mittels Nitroprussid Natrium und Diuretica eine Reduktion der Aktivität derselben Neurohormone sahen (signifikant für Noradrenalin und Endothelin-I, n.s. für Angiotensin-II). Wir glauben daher, mit unseren Daten eine weitere Erklärung für das Scheitern langfristig positiv-inotroper und damit myokardial belastender Therapieprinzipien bei Herzinsuffizienz geliefert zu haben.

War für Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz v.a. der Effekt einer pharmakologischen Myokardstimulation zu betrachten, dürfte bei moderater, stabiler Herzinsuffizienz eher die Frage der Toleranz körperlicher Belastungen von Bedeutung sein.

Da dynamische Ausdauerbelastungen kaum zu einem Anstieg bzw. sogar zum Abfall des peripheren vaskulären Widerstandes und somit der Nachlast führten (394), war diese Belastungsform zumindest aus dieser mechanischen (hämodynamischen) Betrachtungsebene heraus als vergleichsweise sicher (i.S. ausbleibender myokardialer Schädigung) zu postulieren. Völlig ungeklärt erschien uns diese Frage für andere Belastungsintensitäten und -formen (z. B. kurzzeitige inkrementale u.v.a. symptomlimitierte/„Aus-“Belastungen).

Wir verglichen daher bei Patienten mit chronischer moderater Herzinsuffizienz die Effekte einer symptomlimitierten Ausbelastung und einer submaximalen Belastung einer Trainingssession, wie sie üblicherweise in Rehabilitationseinrichtungen vorgenommen wird (294). Zum Nachweis einer myokardialen Schädigung nutzten wir das kardiale Troponin I, das als Marker auch offensichtlich nichtischämischer Myokardschädigungen bekannt war (244,248-250,370).

Wir sahen folgende Bedeutung unserer Ergebnisse auf beide Belastungsformen und -intensitäten: Einerseits stützen unsere Befunde nach submaximaler Ausdauerbelastung Beobachtungen, dass ein dosiertes körperliches Training bei stabiler moderater Herzinsuffizienz klinisch sicher (ohne Hinweis auf myokardiale Schädigung) ist. Das Ausbleiben geringer Troponinanstiege bei dieser Erkrankung erscheint klinisch relevant, da in Outcome-Studien anderer Autoren sowohl mit traditionellen (301) als auch mit hochsensitiven Assays (274,395) erhöhte Troponinkonzentrationen mit einer schlechteren Prognose assoziiert waren. Nach der Akkumulation positiver Ergebnisse eines körperlichen Trainings bei diversen kardiovaskulären Erkrankungen (305-317) kann Training als Therapie bzw. zumindest als sekundärpräventive Maßnahme von daher sicherer empfohlen werden. Dies entspricht auch von uns aktuell herausgegebenen Leitlinienempfehlungen (21).

Andererseits suggerieren die nach symptomlimitierter Belastung bei einigen Patienten beobachteten Troponinanstiege über den Grenzwert für einen Myokardinfarkt, dass auch im chronischen Stadium der Erkrankung (nach Ausschluss bedeutsamer Koronarstenosen bzw. Hinweisen auf eine Inflammation) durch diese Belastung myokardiale Schädigungen auftreten können, die immer dann klinisch bedeutsam werden könnten, wenn solche Belastungen in der Folgezeit repetitiv auftreten. Unsere weiteren Beobachtungen unterstützten diese Einschätzung: 1. die Troponinanstiege auf symptomlimitierte Belastung korrelierten mit der Serumkonzentration inflammatorischer Zytokine wie  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  und  $\text{IL-6}$  und 2. hatten die Patienten mit deutlichen Troponinanstiegen auch einen schlechteren klinischen Verlauf (295). Die Rolle einer lastinduzierten inflammatorischen Reaktion, verbunden mit einer Troponinfreisetzung, war vorher bereits tierexperimentell gezeigt worden (396). Sowohl die tierexperimentellen Daten als auch unsere Befunde bei stabiler Herzinsuffizienz lassen die Vermutung zu, dass im Unterschied zur Freisetzung kardialer Troponine während Extrembelastungen bei offensichtlich gesunden Leistungssportlern, für die bislang keine klinische Relevanz gefunden werden konnte (317,320), eine vergleichbare lastinduzierte Troponinliberation aus einem vorgeschädigten Muskel eine pathophysiologische und evtl. auch prognostische Bedeutung zukommt. Insofern sind diese Fragestellungen weiter aktuell und unsere Befunde können bei weiterer Bestätigung in der klinischen Betreuung der Patienten mit Herzinsuffizienz weiterhelfen: Es scheint auch nach unseren Befunden nicht hilfreich zu sein, Patienten mit stabiler Herzinsuffizienz hinsichtlich ihrer Alltagsbelastungen zu raten, dass eine Belastung möglich ist, „solange keine Dyspnoe auftritt“. Bei einigen Patienten könnte es möglich sein, dass eine Belastung auch „in eine Dyspnoe hinein“ ungefährlich ist, bei anderen Patienten könnten Schädigungen bereits vor einer Dyspnoegrenze auftreten.

Relevant ist in diesem Zusammenhang, dass nur ca. 30% der Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz zum Abbruchzeitpunkt eine Dyspnoe verspürt, häufiger geben Patienten eine Erschöpfung an und damit eine unspezifischere Antwort (Übersicht in (397)), wobei die Prognose der Patienten mit Dyspnoe deutlicher eingeschränkt zu sein scheint (398). Umgekehrt korrelierten Parameter, die bei der klinischen Evaluation der Herzinsuffizienz eine zentrale Bedeutung erlangt haben, wie die EF (399) und der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (400), nicht mit dem Grad der subjektiven Belastbarkeit. Dasselbe gilt für objektive Belastbarkeitsparameter wie  $\text{VO}_2\text{peak}$  mit der EF (401) und dem pulmonalkapillären Verschlussdruck (402). Eine Limitierung kann eher in der Peripherie (Skelett-

muskel, periphere Zirkulation) begründet sein (403-405), eine lastinduzierte Schädigung dagegen das pathophysiologische „Ausgangssubstrat“, das vorgeschädigte Myokard, betreffen.

Daher ist die weitere Erforschung mechanistischer Hintergründe lastinduzierter Schädigungen wie auch das Finden molekularer Marker, die in der Praxis einfach handhabbar sind, angezeigt. Die in unseren „Proof- of concept-Studien“ gefundenen wie auch zukünftigen Marker sind an einer großen Patientenzahl hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung zu überprüfen (s. auch „Ausblick“).

Bei Patienten mit höhergradigen Herzklappenfehlern ist die Abklärung der objektiven Belastbarkeit ebenfalls von Relevanz. Druck- und Volumenanstiege durch die vitienbedingt alterierte zentrale Hämodynamik für den linken Ventrikel stellen bereits eine chronische myokardiale Vorbelastung dar. Der Effekt von zusätzlichen repetitiven körperlichen Belastungen oder anderen Stressbedingungen ist aber nicht hinreichend bekannt. Durch die Mitarbeit bei der Erarbeitung einer nationalen Leitlinie zum körperlichen Training von Herz-Kreislauf-Patienten (Bjarnason-Wehrens B, Schulz O, et al. (21)) konnte festgestellt werden, dass Studien hierzu wie auch zum körperlichen Training bei diesen Patienten fehlen. Empfehlungen, wie weit sich solche Patienten belasten dürfen, haben auch in anderen Leitlinien nur die Evidenzklasse C, d.h. sind alleinig Expertenmeinung (s. auch (406)). Studien zur Gewährleistung von Anleitungen zur Alltagsbelastung wie auch zum Training sind daher auch für diese Patientengruppe gewünscht, da v.a. aus Gründen der kardiovaskulären Sekundärprävention auch vielen Patienten mit Herzklappenfehlern ein körperliches Training anzuraten wäre.

Bei höhergradigen asymptomatischen Klappenfehlern könnte der Objektivierung der Belastbarkeit eine weitere Bedeutung zukommen. Die Indikationsstellung zur Klappenkorrektur ist für höhergradige asymptomatische Klappenfehler aktuell in intensiver Diskussion:

Da ein Klappenersatz durch klappenrekonstruktive Maßnahmen mit geringerem Operationsrisiko ersetzt werden kann, verschiebt sich auch die Risikoabwägung zwischen dem für ein klinisches Ereignis bei unoperiertem Verlauf und dem Risiko des Eingriffs. Zunächst betraf dies Patienten mit rekonstruierbaren Defekten der Mitralklappe (407), neuerdings gibt es auch Bemühungen zur Entwicklung der Aortenklappenrekonstruktion (408). Hier könnten Provokations-(Belastungs-)tests helfen, neue Risikomarker zu finden, die die Indikationsstellung zur Klappenrekonstruktion erleichtern.

Bei Patienten mit höhergradiger Aortenstenose raten aktuelle Leitlinien bis auf in wenigen Fällen mit zusätzlichen Kriterien (z.B. Klappenöffnungsfläche  $<0,6\text{cm}^2$ , maximale transvalvuläre Flussgeschwindigkeit  $>5,5\text{m/sec}$ ) zu einem konservativen Vorgehen (409–410). Begründet wird dies mit einer jährlichen Ereignisrate ohne Operation von ca. 1%. Dem stehen aber andere Beobachtungen gegenüber: Bei Patienten mit mäßiger- schwerer asymptomatischer Aortenstenose in einem Schweregrad, der jenem unserer untersuchten Patientengruppe sehr nahe kommt, kam es nach einem Jahr in mehr als 30% der Fälle entweder zu einem Ereignis oder zur Operation (367). Die British Heart Valve Society verweist auf eine plötzliche Herztod-Rate von „bis zu 5%“ bei rigider Leitlinienumsetzung eines konservativen Vorgehens (368). Ein kürzlich publizierter multizentrischer Survey an 952 Patienten (369) zeigte sogar eine 1-Jahres-Sterblichkeit von unoperierten asymptomatischen Patienten von 22%. Der Autor verweist zusätzlich darauf, dass es bei der Mehrfachbeurteilung des Symptomstatus durch unterschiedliche Institutionen, wie in diesem Survey erfolgt, in 19% der durch die erstevaluierende Einrichtung als asymptotisch klassifizierten Patienten zu unklaren bzw. divergierenden Beurteilungen des Symptomstatus kam. Hintergrund ist sicherlich, dass die oft älteren Patienten durch Comorbiditäten oder reduzierte Selbstbeurteilungsfähigkeit Symptome der Aortenstenose gar nicht wahrnehmen. Eine Dissimulation (z.B. wegen Abneigung einer OP) spielt evtl. eine zusätzliche Rolle. Evtl. haben einige Patienten mit chronischer, langsam progredienter Erkrankung vergessen, was eine normale Belastbarkeit für sie ist. Aus diesen Gründen kam es zur Leitlinienempfehlung der Durchfüh-

rung von Belastungstests (409-410) und zur Erwägung einer OP, sollte dieser Test pathologisch ausfallen.

Unsere Studie (60) fußte auf der Hypothese, dass sich eine eingeschränkte Lasttoleranz speziell am bereits durch chronische Druck- oder Volumenlast beeinträchtigten linken Ventrikel zeigen sollte, wenn weitere Belastungen wie eine Ergometrie oder katecholaminerger Stress hinzukommen. Die von uns verwendeten Methoden Spiroergometrie, Stressechokardiographie und Messung von hscTnT zeigten nicht nur häufiger pathologische Befunde auf ergometrische Belastung als die Stresstestkriterien in aktuellen Leitlinien, sondern auch eine Risikogruppe mit besonders deutlich reduzierter Belastbarkeit und höherem hscTnT und weisen dabei auf pathophysiologische Mechanismen wie die kontraktile Reserve des Myokards und ein erhöhter Füllungsdruck hin.

In unserer monozentrischen Untersuchung kann fallzahlbedingt zwar nicht der direkte Beweis einer prognostischen Bedeutung dieser Befunde mit Ableitung einer OP-Indikation erbracht werden. Umso bedeutsamer ist aber die o.g. Subgruppe mit den risikoassoziierten Belastungsbefunden einzuschätzen. Diese Befunde empfehlen sich als Parameter für dringend benötigte prospektive Studien mit dem Ziel einer besseren OP-Planung. Sowohl im o.a. Survey (369) als auch in einer weiteren multizentrischen Untersuchung (411) war die Prognose bei asymptomatischer höhergradiger Aortenstenose mit Operation besser als ohne. Zum Herausarbeiten von Subgruppen, die am ehesten von dieser Operation profitieren, könnten daher unsere Belastungsbefunde berücksichtigt werden. Eine Messung des hscTnT-Ruhewertes könnte aufgrund seiner technisch einfachen Detektion von Patienten mit besonders deutlicher Belastungsintoleranz zusätzlich hilfreich sein.

Eine weitere Entscheidungshilfe zur Operation kann der Vergleich funktioneller Ergebnisse einer Klappenoperation bei asymptomatischer vs. symptomatischer Aortenstenose liefern. Dieser Frage stellten wir uns in einer weiteren Studie (366). Wir konnten zeigen, dass ein Klappenersatz bei asymptomatischen Aortenstenosen zur ähnlichen Verbesserung der (subjektiven) Belastbarkeit führt, wie bei Patienten mit symptomatischer Aortenstenose und somit traditioneller OP-Indikation. Es verbleibt aber eine Differenz in der (spiroergometrisch) objektivierten Belastbarkeit nach Operation in beiden Gruppen, was ebenfalls für einen Nutzen einer frühzeitigen OP im asymptomatischen Stadium spricht.

### **3.2 NT-proBNP in Patienten mit asymptomatischen Klappenfehlern**

Obwohl an Patienten mit asymptomatischen Klappenfehlern untersucht, hat unsere Studie zur Validierung des NT-proBNP eine praktische Bedeutung v.a. für Patienten mit Herzinsuffizienz:

Nach aktueller Klassifikation der Biomarker für Herzinsuffizienz (193) sind natriuretische Peptide ein Marker für myozytären Stress. In vielen Studien, z.B. zur Herzinsuffizienz (196,412) oder KHK (169,413), in denen natriuretische Peptide ein verlässlicher Risikomarker waren, wurden die Befunde interpretatorisch auf diesen Mechanismus (myozytäre Dehnung/Stress) bezogen.

In unserer Studie (135) konnten wir dagegen zeigen, dass die individuellen Konzentrationen natriuretischer Peptide als Integral der Induktion durch unterschiedliche Last-, funktionelle, strukturelle, wie auch extrakardiale Begleitfaktoren zu interpretieren sind. Für einige der 69 von uns getesteten potentiellen Einflussfaktoren waren bereits Assoziationen zur NT-proBNP-Konzentration vorbekannt. Das Besondere unserer Analyse ist die gleichzeitige Gegenüberstellung all dieser Faktoren, v.a. unterschiedlicher Last- und Belastungsfaktoren durch das verwendete Doppel-Stressprotokoll an Patienten mit unterschiedlicher chronischer Ausgangslast durch ein zugrundeliegendes Vitium. Durch unseren speziellen Ansatz in der univariaten Analyse, dass jeder Parameter anhand der resultierenden Menge an freigesetzten NT-proBNP zu vergleichen ist, konnten wir den Anteil der dem klinischen Sta-



tus zugrundeliegenden myokardialen Last (Hämodynamik, körperliche Belastung) an der situativen Konzentration von NT-proBNP herausarbeiten. Vor allem die Präsenz einer myokardialen Fibrose war mit (ca. dreifach) höheren NT-proBNP-werten verbunden. Später zeigten andere Autoren ähnliche Ergebnisse bei ischämischer Kardiomyopathie (414). Auch die multivariate Analyse fand neben lastbeschreibenden Parametern (E/E' als Parameter des Füllungsdrucks) noch andere unabhängige Prädiktoren der NT-proBNP-Konzentration, z.B. Parameter der systolischen Funktion (Gewebedoppler- S') und die Nierenfunktion. Mit diesen Befunden greifen wir in die aktuelle Bewertungsdiskussion dieses Biomarkers in der Literatur ein: An maßgeblicher Stelle wurde aktuell vorgeschlagen, natriuretische Peptide ohne Weiteres (als „no brainer“) als Surrogatmarker des linksventrikulären Füllungsdrucks zu verwenden (415). Die in unserer Studie aufgezeigten Parameter können aber individuell die Beziehung Füllungsdruck – NT-proBNP erheblich überlagern.

Die praktischen Konsequenzen unserer Ergebnisse erscheinen uns bedeutsam

1) für die zunehmenden Bestrebungen, natriuretische Peptide zur Verlaufsbeurteilung bei Herzinsuffizienz zu verwenden. Die prognostische Bedeutung der dabei gemessenen Konzentrationen ermunterte zu dieser Nutzung (416-419), ebenso zur Therapiesteuerung (416,420). In Deutschland ist im Herbst 2007 die Messung eines natriuretischen Peptids zur refinanzierten kassenärztlichen Leistung geworden. Nach Vorstellung der natriuretischen Peptide als myokardiale Stressmarker entwickelte sich der Anwendungsbedarf zur Charakterisierung des klinischen Verlaufs der Patienten in der ambulanten Medizin. Unser eher pathophysiologisch ausgerichtetes Studiendesign sollte dabei helfen, erhaltene Befunde komplex zu interpretieren und nicht, wie aktuell empfohlen (415), alleinig auf eine Schwankung der linksventrikulären Füllungsverhältnisse bzw. eine Neigung zu einer De-, respektive Rekompensation zu beziehen. Nach unserer Publikation erschienen inzwischen weitere Arbeiten, die unsere Interpretation erhärten: So war ein einmalig sechs Monate nach Infarkt gemessener Wert seriellen Messungen in der prognostischen Aussagekraft überlegen (421). Weniger die dekompensationsbedingten hämodynamischen Schwankungen, sondern der Komplex aus funktionellen (Füllungs-) Faktoren, dem postinfarziellen Remodeling und Begleitfaktoren (z.B. Nierenfunktion) dürften auch hier gemeinsam, prognosemodifizierend, in den 6-Monatswert eingehen. Einige aktuelle Studien mit natriuretischen Peptiden zur Therapiesteuerung konnten im Unterschied zu früheren Untersuchungen keinen Nutzen darstellen (422-423). Zu berücksichtigen sind auch die sehr hohen „reference change values“ (82): Biologische und analytische Variabilität erfordern NT-proBNP-Änderungen über 50% (82,211) oder gar 80% (424) des Ausgangswertes als Beleg einer klinischen Signifikanz.

2) für die Objektivierung von Symptomen bei Patienten mit Herzklappenfehlern. Leitliniengerecht ist die Präsenz von Symptomen bei mehreren Vitien höheren Schweregrades nicht nur für die Prognose des natürlichen Verlaufs der Erkrankung maßgeblich, sondern auch für die Entscheidung zur interventionellen/chirurgischen Korrektur. Der Objektivierung der Symptome durch geeignete Belastungstests oder durch Messungen von Biomarkern kommt daher bei diesen Patienten eine besondere Aufgabe zu. Das in unseren Studien verwendete Doppelstressprotokoll ist jetzt auch in der Literatur empfohlen worden (425), die Messung natriuretischer Peptide hat Einzug in die neuen Therapieleitlinien von 2012 gefunden (410). Natriuretische Peptide zeigten bei Aortenstenose höhere Konzentrationen bei symptomatischen vs. asymptomatischen Patienten (176,181,426-428), bei Patienten, die zukünftig symptomatisch werden (176,413) sowie einen graduierten Anstieg nach Schweregrad der Symptome (176,426-427,429). Der Symptomstatus beeinflusste die natriuretischen Peptide ebenso bei Aorteninsuffizienz (430-431) und Mitralinsuffizienz (183,432), zumeist in Korrelation mit Parametern, die den Schweregrad des Vitiums bzw. der Druck- und Volumenbelastung und der hämodynamischen Alterationen charakterisieren (183,430-431,433). Nach Risiko(neu)beurteilung der Patienten

durch die natriuretischen Peptide stehen, analog zu o.a. Ausführungen, nunmehr Studien aus, die belegen, dass bei Patienten, die leitliniengerecht noch nicht operiert werden müssten, eine OP auf Basis erhöhter Werte natriuretischer Peptide zur Prognoseverbesserung führt. Dennoch wird eine OP-Indikation auf dieser Grundlage bereits jetzt diskutiert (434). Bei unseren Patienten mit höhergradigen asymptomatischen Klappenfehlern (Kohorte von (60)) waren spiroergometrische Parameter aber mit hscTnT, nicht jedoch mit NT-proBNP assoziiert. NTproBNP zeigte in dieser Kohorte eher die kontraktile Reserve in der Dobutaminstressechokardiographie an (Daten nicht publiziert).

3) Ergometrische Ausbelastung sowie Dobutamin-Stress konnten – auch bei durch ein Vitium vorbelastetem Ventrikel – keine bedeutsamen zusätzlichen Anstiege induzieren. Dies lässt erwarten, dass NT-proBNP eher weniger zur Beurteilung einer Sicherheit/Toleranz bestimmter Belastungsintensitäten und -formen bei Herz-Kreislaufkrankungen, zur Determination von Trainingsprogrammen für diese Patienten etc. geeignet scheint. Letzteres deckt sich mit Ergebnissen anderer Autoren an College-Athleten (435).

4) Für bemerkenswert halten wir desweiteren unsere Ergebnisse, dass eine anhand eines Late Gadolinium Enhancements im kardialen MRT festgestellte myokardiale Fibrose bei Patienten mit höhergradigen asymptomatischen Herzklappenfehlern und erhaltener LV-Funktion mit einer ca. dreifach höheren NT-proBNP-Konzentration einherging, myokardiale Fibrose der stärkste univariate Prädiktor der NT-proBNP-Konzentration bei diesen Patienten war (135). Aufgabe zukünftiger klinischer Studien muss sein, die prognostische Bedeutung der Assoziation myokardiale Fibrose- NT-proBNP-Konzentration zu klären: Ist der NT-proBNP-Spiegel nur Marker der Fibrose, wäre eine schlechte Prognose zu erwarten, die o.a. Hinweise auf eine antifibrotische Funktion natriuretischer Peptide könnte auch umgekehrte prognostische Aussagen zulassen (s. Ausblick).

### **3.3 Diagnostik der Myokardischämie**

Die Diagnostik einer Myokardischämie nimmt bei Patienten mit entweder stabiler Angina pectoris oder einem komplexen kardiovaskulären Risikofaktorprofil und potentieller stummer Ischämie einen großen Umfang vor allem in der ambulanten Kardiologie ein. Der Nachweis einer Myokardischämie ist für diese Patienten prognostisch bedeutsam (siehe (436), S. 1353, (437-441) s. auch (442)), des Weiteren ist er neben einer medikamentös nicht hinreichend kuppierbaren Symptomatik die zweite leitliniengerechte Entscheidungsgrundlage für eine anschließende Invasivdiagnostik (443) und Intervention ((444), S.1356) im Falle des Nachweises einer signifikanten Koronarstenose. Nach Anamnese von Symptomen und kardiovaskulären Risikofaktoren beinhaltet die Diagnostik einen Belastungstest, üblicherweise mittels EKG, und, bei inkonklusiven Ergebnissen aufgrund seiner Sensitivität von nur 70% und Spezifität von nur 70-80% (443,445) anschließend einen zweiten Belastungstest mit bildgebenden Verfahren. Die dafür verwendeten Methoden (Stressechokardiographie, Myokardszintigraphie oder Stress-MRT) haben zwar nur eine halb so hohe diagnostische Fehlerquote (Performance zumeist 80-90% (55,446-448), sind aber mit nicht unerheblichen Kosten verbunden und bedeuten für den Patienten eine zweite Belastungsuntersuchung, die v.a. in der ambulanten Kardiologie (z.B. Überweisungen in nuklearmedizinische oder MRT-Institutionen) mit einer erheblichen Zeitverzögerung der Diagnosestellung einhergehen. Die Verbesserung der Performance eines ersten Belastungstests durch Hinzunahme von Biomarkern zum EKG wäre eine kostengünstige, das diagnostische Procedere abkürzende und vereinfachende Alternative.

Auch wenn in unserer Arbeit kein Biomarker gefunden wurde, der dieser Aufgabe gerecht wurde, halten wir die Fragestellung für weiterhin verfolgenswert.

Wir haben in unserer Publikation (293) erörtert, warum hFABP und GPBB das Potential hatten, eine kurzzeitige Ischämie zu detektieren. Dennoch fand sich für beide Marker kein Anstieg nach kurzzeitiger Ischämie. Die cTnI-Ergebnisse sind etwas anders zu diskutieren. Kardiale Troponine gelten noch immer v.a. als Nekrosemarker, sind auch bei den von uns verwendeten kontemporären Assays ein etablierter Marker für die Detektion (449) und prognostische Evaluation (371,450-451) des akuten Koronarsyndroms. Zusätzlich fanden sich Bezüge der cTnI-Werte zur Koronarmorphologie (452-453). Vorgestellte alternative Freisetzungsmechanismen (siehe Einleitung 1.3.2, aber auch klinische Bilder, die mit geringen, aber signifikanten Troponinanstiegen einhergingen (311) und dabei offen ließen, ob es sich hier durchgehend um „Mikronekrosen“ oder nichtnekrotische Myokardschädigungen handelt (s. Einleitung 1.3.2), sowie unsere eigenen Daten eines Anstiegs von mit dem gleichen Assay gemessenen cTnI nach symptomlimitierter Belastung von Patienten mit stabiler Herzinsuffizienz ließen die Vermutung zu, dass cTnI auch eine Rolle in der Detektion der stabilen KHK bzw. einer lastinduzierten Myokardischämie spielt. Während die Detektion einer stabilen KHK durch die signifikanten Gruppenunterschiede der cTnI-Ruhewerte gelang, war cTnI wie hFABP und GPBB nicht in der Lage, eine lastinduzierte Myokardischämie anzuzeigen. Erwähnenswert ist, dass ein Jahr später eine Arbeit erschien unter Verwendung eines hochsensitiven cTnT-Assays, mit dem ebenfalls kein Ischämienachweis erbracht werden konnte (454). Erst ein weiteres Jahr später gelang mit einem um etwa eine weitere Kommastelle sensibleren Assay für hscTnI (SingulexErenna<sup>®</sup>) eine Detektion einer szintigraphisch nachgewiesenen Myokardischämie (288), wobei die Autoren dieser Studie selbst darauf hinwiesen, dass die Anstiege nur moderat waren. Dasselbe gilt für den kürzlich erbrachten Nachweis von cTn im Koronarvenensinus während eines Pacings in Patienten mit KHK (289).

Einige Arbeiten ließen das ischämisch modifizierte Albumin (IMA) zum Markerkandidaten für Myokardischämie werden (455-456). Allerdings gelingt mit IMA offensichtlich nur der Nachweis einer Ischämie durch reduzierte O<sub>2</sub>-Zufuhr, nicht jedoch durch erhöhten O<sub>2</sub>-Bedarf – mehrere Studien mit Stress-Tests führten zum Abfall von IMA unabhängig von der Präsenz einer Myokardischämie (457-458). Erwähnenswert ist ebenso die Idee der Verwendung natriuretischer Peptide zum Ischämienachweis. Trotz positiver Ergebnisse (459-461) haben sich diese Marker hierfür in der Klinik nicht durchgesetzt, was sicherlich mit der fehlenden Spezifität dieses Markers zusammenhängt (siehe (82,462) sowie Diskussion 3.2). Daher ist es sicher notwendig, für die aufgeworfene klinische Fragestellung nach neuen Markern zu suchen (s. Ausblick).

Unsere Ergebnisse wären aber auch in dem Falle bedeutsam, wenn sensitive Ischämie- und myokardiale Schädigungsmarker auch zukünftig keinen signifikanten Gewebsschaden durch eine kurzfristige Ischämie detektieren würden: Sie unterstützen Daten, nach denen eine Trainingsbelastung in eine Myokardischämie hinein ohne negative Folgen blieb (28). Weitere pathophysiologisch wie auch prognostisch gesicherte Aussagen sind jedoch erforderlich,

1. bevor die bisherige level of evidence C- Empfehlung modifiziert werden kann, dass für eine Trainingsbelastung eine Herzfrequenz von maximal 10 Schlägen unter derjenigen, bei der in einer Ausbelastung eine Ischämie ausgelöst wurde, zulässig ist (s. (55), S. 1727);
2. um aktuelle Trainingsempfehlungen einerseits aufgrund ihres Nutzens (s. Einleitung 1.1), sowie (21), S.18 und (55), S. 1717-18) maximal ausweiten zu können, andererseits aber auch bei chronischer Anwendung klinisch sicherer zu gestalten.

### **3.4 PAPP-A bei stabilen kardiovaskulären Erkrankungen**

Unsere Studie zum Verhalten von Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) an Patienten mit stabilen kardiovaskulären Patienten ist zunächst in den Kontext der Risikostratifizierung bei stabiler KHK zu setzen.

Da eine flusslimitierende Stenose nicht gleichzeitig die vulnerable Läsion sein muss, die durch Aufbruch des Plaques zum akuten Koronarsyndrom führen kann (463-466), aber die Myokardischämie zur Entscheidung zur Intervention bei symptomatischer koronarer Herzkrankheit herangezogen wird, ist eine Intervention bei stabiler PCI nicht mit einer Prognoseverbesserung verbunden (467-469).

Entsprechend wachsen Bemühungen, vulnerable Läsionen zu detektieren. In erster Linie waren dies bildgebende Verfahren (470-474), die aber aufwendig und teuer sind. Eine hervorragende Alternative wären Biomarker, die eine Plaquevulnerabilität anzeigen. Wir sahen PAPP-A hierfür als einen Markerkandidaten aufgrund bekannter Assoziationen mit der Präsenz und der Komplexität von Koronarstenosen (341,361) wie auch mit der Gesamtmortalität (338,362) bei stabiler KHK. Dadurch, dass wir in unserer Arbeit zeigen konnten, dass prognostische Aussagen nicht nur für die Gesamtsterblichkeit sondern auch für die kardiovaskuläre Mortalität sowie die kombinierten Endpunkte der Mortalität mit nichtfatalen Infarkten und mit zukünftigen Hospitalisierungen gemacht werden konnten, erhärtet unsere Studie die Vorstellung von PAPP-A als Marker für den vulnerablen, gefährdeten kardiovaskulären Patienten.

Diese Ergebnisse sind aus mehreren Gründen von klinischer Bedeutung:

Trotz sukzessive verbesserter Detektionsmöglichkeiten vulnerabler Läsionen ist das Gesamtkonzept der Vulnerabilität noch nicht bewiesen (475). Dies gelänge nur durch Studien, bei denen gezeigt werden kann, dass eine spezielle Therapiestrategie (medikamentöse Passivierung, interventionelle Beseitigung) die auf vulnerable und nicht auf flusslimitierende Läsionen ausgerichtet ist, auch eine Prognoseverbesserung bei stabiler KHK bewirkt. Zukünftige prognosebeschreibende Studien an großen Populationen sollten mit geeigneten Biomarkern erfolgen, PAPP-A könnte sich auch nach unseren Daten, v.a. nach weiteren Assayentwicklungen, als Kandidat empfehlen (476). Folge könnte eine exaktere Prognosebeurteilung, eine Therapieplanung (z.B. Modifikation der Dosierung von Statinen) und eine Entscheidung über eine invasive Therapie sein. Die Verbesserung der Entscheidung zur invasiven Diagnostik wäre nicht nur von enormen klinischen sondern auch von gesundheitsökonomischem Nutzen.

Auch im Kontext des Themas der vorgelegten Habilitationsschrift sind die Ergebnisse unserer Untersuchung von PAPP-A von Bedeutung: Körperliche Belastungen werden als Trigger von Infarktereignissen gesehen (26-27). Als Hintergrund ist z.B. die Einwirkung einer höheren Schärtrate auf einen vulnerablen Plaque vorstellbar. Die Detektion vulnerabler Plaques durch Biomarker wie PAPP-A könnte sportinduzierte Ereignisse in der Population, in der die KHK Haupt-Ereignisursache ist (Sporttreibende ab 35-40 Jahre, s. (21)), reduzieren helfen. Sowohl Freizeitsport in dieser Bevölkerungsgruppe, als auch eine medizinische Trainingstherapie bei hohem kardiovaskulären Risikofaktorprofil oder mit gesicherter KHK könnten dadurch klinisch sicherer werden.

### **3.5 Validierung der von uns untersuchten Biomarker**

Unsere Studien haben auch zur Validierung der von uns untersuchten Biomarker beigetragen und das pathophysiologische Verständnis der zugrundeliegenden Freisetzungsmechanismen erweitert.

Einige die Validierung von NT-proBNP betreffenden Aspekte wurden bereits in der Diskussion un-

seres pathophysiologisch ausgerichteten Papers abgehandelt (135). Zu ergänzen ist, dass der in der Literatur häufig verwendete Bezug der natriuretischen Peptide nicht nur zur myokardialen Dehnung sondern auch zur Wandspannung hergestellt wurde ((70,78-81,94) bis aktuell s. (194,477)) und zwar der enddiastolischen (80-81,478) wie auch zur endsystolischen (479). Letzteres ist aber bereits umstritten (80). Wir hatten in unserer Publikation (135) beschreiben können, warum die Wandspannung eher keine führende pathophysiologische Determinante der natriuretischen Peptidkonzentrationen zu sein scheint.

Unsere Arbeiten trugen auch zur Validierung des kardialen Troponins bei. Parallel zur Laufzeit unserer klinischen Untersuchungen entwickelte sich die Laboranalytik erheblich. Wir begannen 1999 mit einem Assay der sog. 2. Generation, die bereits einen Fortschritt bezüglich Sensitivität und myokardialer Spezifität darstellte und im Folgenden noch weiterentwickelt wurde (verbesserte Iterationen der kommerziellen Assays). Später kamen die hochsensitiven Assays mit 10-100facher Sensitivität dazu. Wir denken, dass unsere Ergebnisse für die jeweils verwendete Assaygeneration insbesondere zum Verständnis und zur Interpretation der Troponinbefunde im sogenannten low-level-Bereich beitragen konnten.

Bei Belastungsuntersuchungen 1999/2000 an Patienten mit stabiler Herzinsuffizienz (294-295) und 2001/2003 an Patienten mit stabiler KHK (293) erfolgten cTnI-Messungen mit dem gleichen Assay (Stratus CS<sup>®</sup>) und brachten übergreifend folgende neue Erkenntnisse:

1) Im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe, deren Werte unter der Detektionsgrenze dieses Assays (0,02ng/ml) lagen, fanden sich für die jeweilige Patientengruppe detektierbare Konzentrationen (293,295), die Gruppenunterschiede waren jeweils signifikant. Diese reproduzierte Beobachtung an kleinen Kohorten veranlasste uns, eine weitere Studie vorzunehmen, bei der wir bei einer größeren Zahl von Patienten mit unterschiedlichen stabilen kardiovaskulären Erkrankungen nach Durchführung einer Ergometrie und Echokardiographie und vor Durchführung eines Linksherzkatheters cTnI bestimmten (290). Hier bestätigte sich, dass Patienten mit entweder einer signifikanten KHK (Kriterien wie in (293) oder einer deutlichen linksventrikulären Dysfunktion ( $EF \leq 40\%$  oder  $LVEDP > 20 \text{ mmHg}$ ) im Unterschied zu Patienten ohne bedeutsame strukturelle Herzkrankheit detektierbare cTnI-Konzentrationen aufweisen. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde kardiales Troponin nur bezüglich des Grenzwertes für einen Myokardinfarkt interpretiert (480-481). Zusammen mit einer im gleichen Jahr erschienenen Arbeit anderer Autoren (291) konnten wir zeigen, dass auch Troponinkonzentrationen im „low level-Bereich“ (zwischen Detektionsgrenze und Infarktgrenzwert) kardiovaskuläre Pathologien nachweisen können. Die größere Studie von Zethelius et al. (291) belegte zudem auch eine prognostische Bedeutung. Auch eine dritte Studie bestätigte das, allerdings befanden sich in der hier untersuchten Kohorte auch Patienten mit instabilen Krankheitsbildern (292). Somit konnten wir dazu beitragen, dass die Hypothese der nicht dichotomen sondern linearen Beziehung zwischen Troponinkonzentrationen und klinische Relevanz/Prognose (330) bewiesen wurde und auf den niedrigen Konzentrationsbereich, der zuvor eher als Messfehler- oder zumindest Normbereich galt, ausgeweitet wurde. Die Folgen für klinische Aussagen wurden von uns in einer Übersicht zusammengefasst ((482), s. Abb. 1) und in weiteren internationalen Übersichten reflektiert (483). Diese neuen Interpretationen sollten auch eine Hilfe sein für die klinische Nutzung der in dieser Zeit von mehreren Herstellern entwickelten hochsensitiven Troponinassays. Die deutlich verbesserte Sensitivität führt einerseits zur Erkennung einer größeren Zahl von Risikopatienten, andererseits werden immer mehr auch klinisch stabile (incl. noch klinisch stumme (484)) Pathologien detektiert. Daher haben wir (482) wie später andere (483) auf die eher wachsende Notwendigkeit eines Rückgriffs auf weitere klinische Daten der Patienten zur Interpretation der hscTn-Befunde verwiesen. Unsere spätere Studie mit einem hscTnI-

Assay an 222 stabilen Patienten mit unterschiedlichen kardiovaskulären Erkrankungen konnte diese Aussage bestätigen (236): hscTnI war in allen Patienten detektierbar. Die systolische Wandspannung, eine myokardiale Beeinträchtigung (systolische oder diastolische Dysfunktion), eine Koronarstenose  $\geq 70\%$ , aber auch das Serum-Kreatinin (trotz Ausschlusses einer mäßigen-schweren Niereninsuffizienz) waren unabhängige Prädiktoren der hscTnI-Konzentration.

2) In den Kohorten mit stabiler Herzinsuffizienz und mit stabiler KHK wurde cTnI mit dem kontemporären Assay auch nach Belastung gemessen. Während symptomlimitierte Belastung bei Patienten mit Herzinsuffizienz zum weiteren Anstieg von cTnI führte, teilweise über den Grenzwert für einen Myokardinfarkt, war dies bei Patienten mit KHK nicht der Fall.

Eine Hypothese war, dass die cTnI-Anstiege bei Herzinsuffizienz auch ohne Stenose in den großen epikardialen Koronarien ischämischer Genese sind – über eine lastinduzierte subendokardiale Ischämie (486), wie sie prinzipiell für Patienten mit Herzinsuffizienz bekannt ist (487-488). Da aber eine gesicherte Ischämieaktion bei Patienten mit nachgewiesenen signifikanten Koronarstenosen unter Verwendung des gleichen Assays nicht mit cTnI-Anstiegen assoziiert war, ist die ischämische Genese alleinig aus subendokardialer Ischämie bei den Patienten mit Herzinsuffizienz eher zu hinterfragen und nach weiteren Entstehungsmechanismen zu suchen. Unsere Studie bei Herzinsuffizienz zeigte eine Assoziation mit den inflammatorischen Zytokinen  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 (295). Auf experimentelle Befunde einer inflammatorischen Myokardreaktion und Freisetzung kardialer Troponine nach Belastung von Ratten (396) wurde bereits verwiesen. „Direkte“ lastabhängige Freisetzungsmechanismen kommen ebenso in Betracht. Eine Assoziation zum Preload konnte experimentell gezeigt werden (308), wir fanden ebenso eine Beziehung von hscTnI zur systolischen Wandspannung (236). Weitere Faktoren sind zu suchen, wie z.B. eine Assoziation mit der Apoptoserate (s. Ausblick).

## 4 Zusammenfassung

Die kardiozirkulatorische Leistungsfähigkeit/Fitness ist ein Prognoseparameter für sowohl Gesunde als auch Patienten mit Herzkreislauferkrankungen. Die objektive Belastbarkeit, d.h., nicht nur Bestimmung der Ausbelastung sondern auch Kenntnis von Risikofaktoren für ein lastinduziertes Ereignis bzw. Markern einer kardiovaskulären Schädigung, ist jedoch für eine Vielzahl von Erkrankungen ungenügend untersucht. Dies betrifft insbesondere eine potentielle myokardiale Schädigung durch chronische/repetitive Belastung bei kardialer Vorschädigung bzw. pathologischer chronischer hämodynamischer Last.

Als Goldstandard zur Bestimmung der kardiorespiratorischen Belastbarkeit gilt die Spiroergometrie. Diese Methode nutzten wir bei Patienten mit höhergradigen asymptomatischen Klappenvitien und konnten feststellen, dass bei diesen Patienten häufiger eine Belastungsintoleranz vorliegt, als es etablierte Leitlinienkriterien nachweisen konnten. Eine Stressechokardiographie deckte bei diesen Patienten zusätzlich eine reduzierte kontraktile Reserve und erhöhte echokardiographische Füllungsdruckparameter auf. Eine bei Patienten mit asymptomatischer Aortenstenose postoperativ wiederholte Spiroergometrie zeigte, dass bis auf ein höheres  $\text{VO}_2\%$ predicted die objektiven Belastbarkeitsparameter sich von denen von präoperativ symptomatischen Patienten nicht unterschieden und dieses funktionelle Ergebnis bei asymptomatischen Patienten durch die präoperative Spiroergometrie vorhergesagt werden kann. Aufgrund des Einschlusskriteriums einer Ejektionsfraktion  $\geq 50\%$  lie-

fern unsere Ergebnisse gleichzeitig Erkenntnisse über die noch wenig bekannte objektive Belastbarkeit von Patienten mit diastolischer Dysfunktion und erhaltener Ejektionsfraktion.

Einen wesentlichen Raum in unseren Studien nahmen Biomarker ein. Sie könnten eine technisch deutlich einfachere und kostengünstige Alternative zur Spiroergometrie oder eine Ergänzung in der Diagnostik der myokardialen Lasttoleranz und eines Belastungsrisikos darstellen. So konnten wir zeigen, dass das hochsensitive kardiale Troponin T eine Risikogruppe unter den Patienten mit asymptomatischen Klappenfehlern detektiert, die eine Einschränkung ihrer Belastbarkeit in einen nach anderen Studien prognostisch bedeutsamen Leistungsbereich hinein aufwiesen. Die reduzierte Belastbarkeit und die hscTnT-Spiegel in dieser Patientengruppe sollten bei der Verlaufsbeurteilung berücksichtigt werden. Es ist durch multizentrische Therapiestudien zu zeigen, welche Patienten von einer frühen, risikoarmen Operation im asymptomatischen Krankheitsstadium profitieren. Unsere spiroergometrischen und hscTnT-Werte bieten sich hier als Parameterkandidaten an.

Mit kontemporärem Assay gemessenes kardiales Troponin steigt bei einer Subgruppe von Patienten mit stabiler chronischer systolischer Herzinsuffizienz nach symptomlimitierter Belastung über den pathologischen Grenzwert. Diese Subgruppe zeigte erhöhte Spiegel inflammatorischer Zytokine und einen schlechteren klinischen Verlauf. Eine submaximale Belastung in einer Ausdauertrainingssession ging nicht mit solchen pathologischen Anstiegen einher. Dieses Ergebnis erscheint uns wichtig für den Beleg einer klinischen Sicherheit einer medizinischen körperlichen Trainingstherapie für Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz. Bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit dagegen fanden sich in einer weiteren Studie keine Anstiege des kardialen Troponin I, so dass daraus zu schlussfolgern war, dass kurzzeitige Myokardischämie nicht zu einer myokardialen Schädigung führt und umgekehrt, die Troponinanstiege bei Patienten mit Herzinsuffizienz ohne KHK evtl. nicht ischämiebedingt sind. Erst eine spätere Arbeit anderer Autoren mit sog. supersensitiven Troponinassays wies eine Troponinfreisetzung nach, die von den Autoren selbst als nur moderat eingeschätzt wurde und deren klinisch-prognostische Bedeutung noch offen ist. Unsere Troponinmessungen an Patienten mit stabilen kardiovaskulären Erkrankungen zeigten in mehreren Studien signifikant höhere Werte als die jew. Kontrollgruppe. Wir konnten daher zusammen mit anderen Autoren 2006 als erste zeigen, dass niedrige Troponinkonzentrationen unter der etablierten 99. Perzentile von Normalpersonen kardiale Schädigungen anzeigen – ein Befund, den wir mit Untersuchungen mit hochsensitivem Troponin I später bestätigen konnten, und der in späteren Studien anderer Arbeitsgruppen auch prognostisch bedeutsam war.

Unsere Messungen von NT-proBNP an Patienten mit asymptomatischen höhergradigen Klappen-erkrankungen zeigten, dass dieser als myokardialer Stressmarker geltende Biomarker kaum auf ergometrischen oder katecholaminergen Stress ansteigt, dafür aber deutliche Differenzen je nach mittels kardialen MRT nachgewiesener myokardialer Fibrose aufwies. Zukünftige Studien müssen das prognostische Potential dieser Anwendung des integrierten Biomarkerkonzepts zeigen. Kurzzeitige lastinduzierte Schwankungen dieses Markers sind offensichtlich durch Einflüsse der strukturellen Herzkrankheit und weiteren Kovariablen überlagert. Der Einsatz dieses Markers für Verlaufsbeurteilungen mit sich ändernder myokardialer Last muss nach unseren Ergebnissen kritisch hinterfragt werden.

In einer Patientengruppe stabiler kardiovaskulärer Erkrankungen vor Herzkatheter ging das als Marker eines vulnerablen Plaques etablierte Pregnancy-associated Plasma-Protein A mit einer schlechten Prognose hinsichtlich kardiovaskulärer und Gesamtmortalität allein und in Kombination mit nichtfatalen Infarkten und Rehospitalisationen einher. Weitere Studien sollen helfen, diesen Marker zukünftig zur besseren Auswahl einer invasiven Diagnostik- und Therapiestrategie zu nutzen, evtl. auch zur Selektion von Patienten mit potentiellem Ereignisrisiko während körperlicher/sportlicher Belastungen.

## **5 Ausblicke (Aus der Sicht eigener themenbezogener Vorhaben)**

### **5.1 Entwicklungen zur Beurteilung einer Lasttoleranz**

Das Verständnis einer Triggerung von sportinduzierten Ereignissen bei Patienten mit Herz-Kreislauf-erkrankungen ist noch immer ungenügend. Viele inzwischen bekannte Induktoren z.B. eines plötzlichen Herztodes sind nicht zwingend belastungsabhängig. Ein Schutz vor Ereignissen, die sich während Ausübung körperlicher Belastung entwickeln, ist daher aktuell nur über die grundsätzliche Beeinflussung des Risikoprofils der Grunderkrankung vorstellbar, nicht über die Ausschaltung belastungsinduzierter Prozesse (s. unsere Übersicht (15)). Ein besserer Schutz vor lastinduzierten koronaren Ereignissen ist über die Detektion vulnerabler Plaques und sich anschließende Plaquestabilisierungsstrategien zu erhoffen. So möchten auch wir an unsere Arbeiten zum PAPP-A (489) durch ein Folgeprojekt über IGFBP-Fragmente in Kooperation mit Arbeitsgruppen aus Finnland und den USA anknüpfen.

Auch unsere Daten über Belastungseffekte auf vorgeschädigtes Myokard (294-295) sowie aktuelle Mitteilungen über rechtsventrikuläre Veränderungen (376) nach Ausdauersport sind Anlass für Folgeuntersuchungen. Hier soll zukünftig z.B. an unsere Befunde des Myokardumbaus (Fibrose, in Assoziation mit hohen NT-proBNP-spiegeln (135)) angeknüpft werden (Hypothese einer Lastinduktion der Fibrose und Abklärung der klinischen Bedeutung bei Patienten mit Aortenstenose).

Eine spezielle Aufgabe soll sein, unsere Ergebnisse der objektiven Belastungsintoleranz bei Patienten mit asymptomatischen Klappenvitien bezüglich ihrer prognostischen Bedeutung abzuklären. Anstelle einer (aus unserer Infrastruktur heraus nicht organisierbaren) multizentrischen Studie an einer großen Fallzahl möchten wir unsere jährlichen Follow-up-Untersuchungen über einen längeren Beobachtungszeitraum nutzen, um neben den Parameter-Absolutwerten (Spiroergometrie, Gewebedoppler und Biomarker) auch deren Änderungen über den präoperativen Beobachtungszeitraum heranzuziehen, ähnlich den Arbeiten anderer Arbeitsgruppen zur Herzinsuffizienz (421,490).

### **5.2 Entwicklung der Erforschung von Biomarkern**

Unsere bisherigen Studien betrafen insbesondere die kardialen Troponine. Die sog. „low-level-Konzentrationen“ diskret über der Detektionsgrenze bei stabilen kardiovaskulären Erkrankungen offenbaren Unterschiede nach Schwere der Erkrankung zunächst bei Verwendung kontemporärer Assays (290,293,295), später auch mit hochsensitiven Assays ((60,236). Insbesondere bei hochsensitiven Assays mit detektierbarem Troponin bei nahezu jedem Probanden kommt es möglicherweise für eine prognostische Aussage nicht nur auf die Menge, sondern auch auf die Mechanismen der Troponinfreisetzung an (s. Einführung). In unserer Patientengruppe mit linksventrikulärer Druck- und Volumenüberlastung sollen Induktorkandidaten wie strukturelle Herzbefunde (s. (277), inflammatorische Zytokine (s.(396) und unsere Ergebnisse (295)), die myokardiale Wandspannung (siehe (308) und unsere Untersuchungen (236)), aber auch die Apoptose (siehe (491-492)) in Kooperation mit einer Arbeitsgruppe aus Rochester MN, USA untersucht werden (s. (493)).

Weitere Biomarkerkandidaten haben das Potential, zur Beurteilung einer Last- und Belastungstoleranz herangezogen zu werden. Hierzu zählen das Adrenomedullin (Expriemierung stress- bzw. ischämieabhängig (494), Stimulation durch Druck- und Volumenüberlastung (495), Prognoserelevanz (496-497)), das Zytokin der Interleukin-1-Rezeptorfamilie, ST-2 (vermehrte Expriemierung bei myozy-



tärem Stretch (193), in Relation zur Wandspannung nach Infarkt (498), zur diastolischen Last (499) mit prognostischer Bedeutsamkeit (498,500-503)) und das Zytokin der TGF- $\beta$ -Superfamilie GDF15 (Induktion stressabhängig, in Korrelation zur subjektiven und objektiven Belastbarkeit bei kongenitalen Vitien (504) als Prognostikator der Mortalität (503,505)).

Zur Beurteilung der Belastungstoleranz ist der Ausschluss einer myokardialen Ischämie maßgeblich. Für die Anwendung von Biomarkern ist aktuell konstatiert worden, dass bis dato noch kein valider Marker für eine Myokardischämie existiert (506), auch unsere Untersuchungen von hFABP und GP BB verliefen nicht weiterhelfend (293).

Neue diagnostische Methoden mit proteomischen Biomarkern werden das Spektrum von Biomarkerkandidaten noch erweitern (506-508), eine bessere Vorstellung der weiteren Entwicklungen ist aber v.a. erhaltbar, wenn das breite Spektrum der „-omics“ betrachtet wird: Neben Genomics auch Proteomics (509), Metabolomics (510), Pharmacogenomics (511), Transcriptomics (512). Exemplarisch sollen hierzu die Mikro-RNA genannt sein: nichtkodierende RNA-Abschnitte, die an der Regulation der Genexpression teilhaben (s. (513)). Ihr diagnostisches Potential zeigte sich bspw. zu solchen Fragestellungen, die auch im Fokus unserer eigenen Arbeiten standen: zur Herzinsuffizienz (514-516), nach vtumbedingter hämodynamischer Belastung (516) oder zur Plaqueruptur (517). Evtl. stellt gerade eine Kombination aus Mikro-RNA und „traditionellen“ Biomarkern eine Chance für zukünftige diagnostische Verbesserungen dar.

Zu erwähnen ist an dieser Stelle das Konzept der sogenannten „integrated“ Biomarker im Sinne einer Kombination von Labormarkern mit technischen Markern, insbesondere aus der bildgebenden Diagnostik (509,518-520). In diesem Kontext sind auch unsere Befunde an asymptomatischen Patienten mit Klappenfehlern zu sehen: Eine mittels late gadolinium-enhancement im MRT dargestellte myokardiale Fibrose war mit ca. dreifach höheren NT-proBNP-Werten verbunden (135), was relevant ist, wenn man die prognostische Bedeutsamkeit des NTproBNP in dieser Patientengruppe berücksichtigt (176). Diese Befundkonstellation dient auch als Beispiel, wie Pathologien zukünftig detektiert werden können vor Entwicklung von Symptomen und funktioneller Dekompensation – eine Aufgabe, die sich moderne Biomarker mit den Belastungstests teilen.

Für alle neuen Entwicklungen sind sowohl grundlagenwissenschaftliche Studien erforderlich, als auch multizentrische Studien, die die prognostische Bedeutsamkeit belegen. Beide Felder sind in unserer Infrastruktur nicht möglich. Es wird aber gleichzeitig gefordert, dass neue Biomarker vor ihrem Einsatz in großen (Prognose)studien zunächst gegen präzise Erkrankungsphänotypen validiert sein müssen (521). Diesen Arbeitsschritt hatten wir uns in mehreren zurückliegenden Studien zur Aufgabe gemacht, (60,135) und hier sehen wir auch das Feld unserer zukünftigen Arbeit.

## 6 Literatur

1. Stewart S, Marley JE, Horowitz JD. Effects of a multidisciplinary, home-based intervention on unplanned readmissions and survival among patients with chronic congestive heart failure: a randomised controlled study. *Lancet* 1999;354:1077-83.
2. McAlister FA, Lawson FM, Teo KK, Armstrong PW. A systematic review of randomized trials of disease management programs in heart failure. *Am J Med* 2001;110:378-84.
3. Stewart S, Horowitz JD. Home-based intervention in congestive heart failure: long-term implications on readmission and survival. *Circulation* 2002;105:2861-6.
4. Piepoli MF, Davos C, Francis DP, Coats AJ. Exercise training meta-analysis of trials in patients with chronic heart failure (ExTraMATCH). *BMJ* 2004;328:189.
5. O'Connor CM, Whellan DJ, Lee KL, et al. Efficacy and safety of exercise training in patients with chronic heart failure: HF-ACTION randomized controlled trial. *JAMA* 2009;301:1439-50.
6. Flynn KE, Pina IL, Whellan DJ, et al. Effects of exercise training on health status in patients with chronic heart failure: HF-ACTION randomized controlled trial. *JAMA* 2009;301:1451-9.
7. Belardinelli R, Georgiou D, Cianci G, Purcaro A. 10-year exercise training in chronic heart failure: a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1521-8.
8. Vanhees L, Fagard R, Thijs L, Amery A. Prognostic value of training-induced change in peak exercise capacity in patients with myocardial infarcts and patients with coronary bypass surgery. *Am J Cardiol* 1995;76:1014-9.
9. Belardinelli R, Paolini I, Cianci G, Piva R, Georgiou D, Purcaro A. Exercise training intervention after coronary angioplasty: the ETICA trial. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1891-900.
10. Taylor RS, Brown A, Ebrahim S, et al. Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* 2004;116:682-92.
11. Hambrecht R, Walther C, Mobius-Winkler S, et al. Percutaneous coronary angioplasty compared with exercise training in patients with stable coronary artery disease: a randomized trial. *Circulation* 2004;109:1371-8.
12. Clark AM, Hartling L, Vandermeer B, McAlister FA. Meta-analysis: secondary prevention programs for patients with coronary artery disease. *Ann Intern Med* 2005;143:659-72.
13. Lawler PR, Filion KB, Eisenberg MJ. Efficacy of exercise-based cardiac rehabilitation post-myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J* 2011;162:571-584 e2.
14. Fagard RH. Exercise is good for your blood pressure: effects of endurance training and resistance training. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33:853-6.
15. Schulz O, Dursch M. From bench to bicycle. Risk assessment in connection with sports activities and exercise programs in the primary and secondary prevention of cardiovascular diseases. *Herz* 2003;28:359-73.
16. Maron BJ. The paradox of exercise. *N Engl J Med* 2000;343:1409-11.
17. Berry JD, Willis B, Gupta S, et al. Lifetime risks for cardiovascular disease mortality by cardiorespiratory fitness levels measured at ages 45, 55, and 65 years in men the cooper center longitudinal study. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1604-10.
18. Gupta S, Rohatgi A, Ayers CR, et al. Cardiorespiratory fitness and classification of risk of cardiovascular disease mortality. *Circulation* 2011;123:1377-83.
19. Lee DC, Sui X, Artero EG, et al. Long-term effects of changes in cardiorespiratory fitness and body mass index on all-cause and cardiovascular disease mortality in men: the aerobics center longitudinal study. *Circulation* 2011;124:2483-90.
20. Kodama S, Saito K, Tanaka S, et al. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA* 2009;301:2024-35.
21. Bjarnason-Wehrens B, Schulz O, Gielen S, et al. Leitlinie körperliche Aktivität zur Sekundärprävention und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen. *Clin Res Cardiol* 2009;4:1-44.
22. Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med* 2002;346:793-801.
23. Schneider DA, McGuiggin ME, Kamimori GH. A comparison of the blood lactate and plasma catecholamine thresholds in untrained male subjects. *Int J Sports Med* 1992;13:562-6.

24. Dickhuth HH, Yin L, Niess A, et al. Ventilatory, lactate-derived and catecholamine thresholds during incremental treadmill running: relationship and reproducibility. *Int J Sports Med* 1999;20:122-7.
25. Saltin B. Physiological effects of physical conditioning. *Medicine and Science in Sports* 1969;1:50-6.
26. Mittleman MA, Maclure M, Tofler GH, Sherwood JB, Goldberg RJ, Muller JE. Triggering of acute myocardial infarction by heavy physical exertion. Protection against triggering by regular exertion. Determinants of Myocardial Infarction Onset Study Investigators. *N Engl J Med* 1993;329:1677-83.
27. Willich SN, Lewis M, Lowel H, Arntz HR, Schubert F, Schroder R. Physical exertion as a trigger of acute myocardial infarction. Triggers and Mechanisms of Myocardial Infarction Study Group. *N Engl J Med* 1993;329:1684-90.
28. Noel M, Jobin J, Marcoux A, Poirier P, Dagenais GR, Bogaty P. Can prolonged exercise-induced myocardial ischaemia be innocuous? *Eur Heart J* 2007;28:1559-65.
29. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005;111:3481-8.
30. Kim JH, Malhotra R, Chiampas G, et al. Cardiac arrest during long-distance running races. *N Engl J Med* 2012;366:130-40.
31. Arena R, Myers J, Williams MA, et al. Assessment of functional capacity in clinical and research settings: a scientific statement from the American Heart Association Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention of the Council on Clinical Cardiology and the Council on Cardiovascular Nursing. *Circulation* 2007;116:329-43.
32. Kokkinos P, Myers J, Faselis C, et al. Exercise capacity and mortality in older men: a 20-year follow-up study. *Circulation* 2010;122:790-7.
33. Myers J. Exercise capacity and prognosis in chronic heart failure. *Circulation* 2009;119:3165-7.
34. O'Neill JO, Young JB, Pothier CE, Lauer MS. Peak oxygen consumption as a predictor of death in patients with heart failure receiving beta-blockers. *Circulation* 2005;111:2313-8.
35. Snader CE, Marwick TH, Pashkow FJ, Harvey SA, Thomas JD, Lauer MS. Importance of estimated functional capacity as a predictor of all-cause mortality among patients referred for exercise thallium single-photon emission computed tomography: report of 3,400 patients from a single center. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:641-8.
36. Kavanagh T, Mertens DJ, Hamm LF, et al. Peak oxygen intake and cardiac mortality in women referred for cardiac rehabilitation. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:2139-43.
37. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, et al. Functional capacity impairment in patients with coronary artery disease: prevalence, risk factors and prognosis. *Cardiology* 2003;100:207-15.
38. Giardini A, Specchia S, Berton E, et al. Strong and independent prognostic value of peak circulatory power in adults with congenital heart disease. *Am Heart J* 2007;154:441-7.
39. Inuzuka R, Diller GP, Borgia F, et al. Comprehensive use of cardiopulmonary exercise testing identifies adults with congenital heart disease at increased mortality risk in the medium term. *Circulation* 2012;125:250-9.
40. Gitt AK, Wasserman K, Kilkowski C, et al. Exercise anaerobic threshold and ventilatory efficiency identify heart failure patients for high risk of early death. *Circulation* 2002;106:3079-84.
41. Poggio R, Arazi HC, Giorgi M, Miriuka SG. Prediction of severe cardiovascular events by VE/VCO<sub>2</sub> slope versus peak VO<sub>2</sub> in systolic heart failure: a meta-analysis of the published literature. *Am Heart J* 2010;160:1004-14.
42. Leite JJ, Mansur AJ, de Freitas HF, et al. Periodic breathing during incremental exercise predicts mortality in patients with chronic heart failure evaluated for cardiac transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:2175-81.
43. Guazzi M, Arena R, Ascione A, Piepoli M, Guazzi MD. Exercise oscillatory breathing and increased ventilation to carbon dioxide production slope in heart failure: an unfavorable combination with high prognostic value. *Am Heart J* 2007;153:859-67.
44. Sun XG, Hansen JE, Beshai JF, Wasserman K. Oscillatory breathing and exercise gas exchange abnormalities prognosticate early mortality and morbidity in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1814-23.
45. Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR. Peak exercise oxygen pulse and prognosis in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2004;93:588-93.
46. Davies LC, Wensel R, Georgiadou P, et al. Enhanced prognostic value from cardiopulmonary exercise testing in chronic heart failure by non-linear analysis: oxygen uptake efficiency slope. *Eur Heart J* 2006;27:684-90.
47. Arena R, Sietsema KE. Cardiopulmonary exercise testing in the clinical evaluation of patients with heart and lung disease. *Circulation* 2011;123:668-80.
48. Holland DJ, Kumbhani DJ, Ahmed SH, Marwick TH. Effects of treatment on exercise tolerance, cardiac function, and mortality in heart failure with preserved ejection fraction a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1676-86.
49. Balady GJ, Arena R, Sietsema K, et al. Clinician's Guide to cardiopulmonary exercise testing in adults: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010;122:191-225.

50. Campbell SC. A comparison of the maximum voluntary ventilation with the forced expiratory volume in one second: an assessment of subject cooperation. *J Occup Med* 1982;24:531-3.
51. Keteyian SJ. Cardiopulmonary function test beyond VO<sub>2</sub>. AHA-meeting, Chicago 2010, Session "Cardiopulmonary function test" 15.11.2010 2010.
52. Ingle L. Prognostic value and diagnostic potential of cardiopulmonary exercise testing in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008;10:112-8.
53. Mancini D, Lejemtel T, Aaronson K. Peak VO<sub>2</sub>: a simple yet enduring standard. *Circulation* 2000;101:1080-2.
54. Mezzani A, Corra U, Bosimini E, Giordano A, Giannuzzi P. Contribution of peak respiratory exchange ratio to peak VO<sub>2</sub> prognostic reliability in patients with chronic heart failure and severely reduced exercise capacity. *Am Heart J* 2003;145:1102-7.
55. Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, et al. Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 2001;104:1694-740.
56. Gulati M, Black HR, Shaw LJ, et al. The prognostic value of a nomogram for exercise capacity in women. *N Engl J Med* 2005;353:468-75.
57. Francis DP, Shamim W, Davies LC, et al. Cardiopulmonary exercise testing for prognosis in chronic heart failure: continuous and independent prognostic value from VE/VCO<sub>2</sub> slope and peak VO<sub>2</sub>. *Eur Heart J* 2000;21:154-61.
58. Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH, Jr., Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation* 1991;83:778-86.
59. Stelken AM, Younis LT, Jennison SH, et al. Prognostic value of cardiopulmonary exercise testing using percent achieved of predicted peak oxygen uptake for patients with ischemic and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:345-52.
60. Schulz O, Brala D, Bensch R, et al. Exercise tolerance in asymptomatic patients with moderate-severe valvular heart disease and preserved ejection fraction. *Arch Med Sci* 2012;in press.
61. Beaver WL, Wasserman K, Whipp BJ. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 1986;60:2020-7.
62. Wasserman K, Hansen J, Sue D. Principles of exercise Testing and Interpretation. 3rd edition ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams And Wilkins, 1999.
63. Wasserman K, Beaver WL, Whipp BJ. Gas exchange theory and the lactic acidosis (anaerobic) threshold. *Circulation* 1990;81:1114-30.
64. Arena R, Myers J, Abella J, et al. Development of a ventilatory classification system in patients with heart failure. *Circulation* 2007;115:2410-7.
65. Tabet JY, Beauvais F, Thabut G, JM T, Logeart D, Cohen-Solal A. A critical appraisal of the prognostic value of the VE/VCO<sub>2</sub> slope in chronic heart failure. *Eur J Cardiovasc Prevention Rehab* 2003;10:267-272.
66. Guazzi M, Myers J, Arena R. Cardiopulmonary exercise testing in the clinical and prognostic assessment of diastolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1883-90.
67. Arena R, Myers J, Aslam SS, Varughese EB, Peberdy MA. Technical considerations related to the minute ventilation/carbon dioxide output slope in patients with heart failure. *Chest* 2003;124:720-7.
68. Arena R, Myers J, Guazzi M. The clinical and research applications of aerobic capacity and ventilatory efficiency in heart failure: an evidence-based review. *Heart Fail Rev* 2008;13:245-69.
69. Khan SQ, Dhillon O, Kelly D, et al. Plasma N-terminal B-Type natriuretic peptide as an indicator of long-term survival after acute myocardial infarction: comparison with plasma midregional pro-atrial natriuretic peptide: the LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide) study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1857-64.
70. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail* 2004;6:257-60.
71. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet* 2003;362:316-22.
72. LaPointe MC. Molecular regulation of the brain natriuretic peptide gene. *Peptides* 2005;26:944-56.
73. Sumida H, Yasue H, Yoshimura M, et al. Comparison of secretion pattern between A-type and B-type natriuretic peptides in patients with old myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1105-10.
74. Hama N, Itoh H, Shirakami G, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 1995;92:1558-64.
75. Onuoha GN, Nicholls DP, Patterson A, Beringer T. Neuropeptide secretion in exercise. *Neuropeptides* 1998;32:319-25.

76. Mantymaa P, Vuolteenaho O, Marttila M, Ruskoaho H. Atrial stretch induces rapid increase in brain natriuretic peptide but not in atrial natriuretic peptide gene expression in vitro. *Endocrinology* 1993;133:1470-3.
77. Doyama K, Fukumoto M, Takemura G, et al. Expression and distribution of brain natriuretic peptide in human right atria. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1832-8.
78. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994;90:195-203.
79. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, et al. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1993;87:464-9.
80. Vanderheyden M, Goethals M, Verstreken S, et al. Wall stress modulates brain natriuretic peptide production in pressure overload cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2349-54.
81. Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, et al. B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:742-8.
82. Thygesen K, Mair J, Mueller C, et al. Recommendations for the use of natriuretic peptides in acute cardiac care: a position statement from the Study Group on Biomarkers in Cardiology of the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. *Eur Heart J* 2012;33:2001-6.
83. Edwards BS, Zimmerman RS, Schwab TR, Heublein DM, Burnett JC, Jr. Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor. *Circ Res* 1988;62:191-5.
84. Ogawa T, Linz W, Stevenson M, et al. Evidence for load-dependent and load-independent determinants of cardiac natriuretic peptide production. *Circulation* 1996;93:2059-67.
85. Magga J, Vuolteenaho O, Tokola H, Marttila M, Ruskoaho H. Involvement of transcriptional and post-transcriptional mechanisms in cardiac overload-induced increase of B-type natriuretic peptide gene expression. *Circ Res* 1997;81:694-702.
86. Kohno M, Yokokawa K, Horio T, Yasunari K, Murakawa K, Takeda T. Atrial and brain natriuretic peptides inhibit the endothelin-1 secretory response to angiotensin II in porcine aorta. *Circ Res* 1992;70:241-7.
87. Daly C, Fox K, Henein M. Natriuretic peptides in the diagnosis of heart disease—first amongst equals? *Int J Cardiol* 2002;84:107-13.
88. Oelkers W, Kleiner S, Bahr V. Effects of incremental infusions of atrial natriuretic factor on aldosterone, renin, and blood pressure in humans. *Hypertension* 1988;12:462-7.
89. Ito T, Yoshimura M, Nakamura S, et al. Inhibitory effect of natriuretic peptides on aldosterone synthase gene expression in cultured neonatal rat cardiocytes. *Circulation* 2003;107:807-10.
90. Harris PJ, Thomas D, Morgan TO. Atrial natriuretic peptide inhibits angiotensin-stimulated proximal tubular sodium and water reabsorption. *Nature* 1987;326:697-8.
91. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, et al. Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an “emergency” cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* 1995;96:1280-7.
92. Kinnunen P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Mechanisms of atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. *Endocrinology* 1993;132:1961-70.
93. Bruneau BG, Piazza LA, de Bold AJ. BNP gene expression is specifically modulated by stretch and ET-1 in a new model of isolated rat atria. *Am J Physiol* 1997;273:H2678-86.
94. Magga J, Marttila M, Mantymaa P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Brain natriuretic peptide in plasma, atria, and ventricles of vasopressin- and phenylephrine-infused conscious rats. *Endocrinology* 1994;134:2505-15.
95. Dagnino L, Lavigne JP, Nemer M. Increased transcripts for B-type natriuretic peptide in spontaneously hypertensive rats. Quantitative polymerase chain reaction for atrial and brain natriuretic peptide transcripts. *Hypertension* 1992;20:690-700.
96. Kohno M, Horio T, Yoshiyama M, Takeda T. Accelerated secretion of brain natriuretic peptide from the hypertrophied ventricles in experimental malignant hypertension. *Hypertension* 1992;19:206-11.
97. Steele IC, McDowell G, Moore A, et al. Responses of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide to exercise in patients with chronic heart failure and normal control subjects. *Eur J Clin Invest* 1997;27:270-6.
98. Kjaer A, Appel J, Hildebrandt P, Petersen CL. Basal and exercise-induced neuroendocrine activation in patients with heart failure and in normal subjects. *Eur J Heart Fail* 2004;6:29-39.
99. Cheung BM, Kumana CR. Natriuretic peptides—relevance in cardiovascular disease. *Jama* 1998;280:1983-4.

100. Qi W, Mathisen P, Kjekshus J, et al. Natriuretic peptides in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* 2001;142:725-32.
101. Haug C, Metzeler A, Kochs M, Hombach V, Grunert A. Plasma brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide concentrations correlate with left ventricular end-diastolic pressure. *Clin Cardiol* 1993;16:553-7.
102. Maeda K, Tsutomoto T, Wada A, Hisanaga T, Kinoshita M. Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker of high left ventricular end-diastolic pressure in patients with symptomatic left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 1998;135:825-32.
103. Lewis BS, Makhoul N, Dakak N, et al. Atrial natriuretic peptide in severe heart failure: response to controlled changes in atrial pressures during intravenous nitroglycerin therapy. *Am Heart J* 1992;124:1009-16.
104. Tokola H, Hautala N, Marttila M, et al. Mechanical load-induced alterations in B-type natriuretic peptide gene expression. *Can J Physiol Pharmacol* 2001;79:646-53.
105. Brancaccio M, Hirsch E, Notte A, Selvetella G, Lembo G, Tarone G. Integrin signalling: the tug-of-war in heart hypertrophy. *Cardiovasc Res* 2006;70:422-33.
106. Struthers A, Lang C. The potential to improve primary prevention in the future by using BNP/N-BNP as an indicator of silent 'pancardiac' target organ damage: BNP/N-BNP could become for the heart what microalbuminuria is for the kidney. *Eur Heart J* 2007;28:1678-82.
107. Shah KB, Kop WJ, Christenson RH, et al. Natriuretic peptides and echocardiography in acute dyspnoea: implication of elevated levels with normal systolic function. *Eur J Heart Fail* 2009;11:659-67.
108. White M, Rouleau JL, Hall C, et al. Changes in vasoconstrictive hormones, natriuretic peptides, and left ventricular remodeling soon after anterior myocardial infarction. *Am Heart J* 2001;142:1056-64.
109. Weber M, Arnold R, Rau M, et al. Relation of N-terminal pro B-type natriuretic peptide to progression of aortic valve disease. *Eur Heart J* 2005;26:1023-30.
110. Goetze JP, Mogelvang R, Maage L, et al. Plasma pro-B-type natriuretic peptide in the general population: screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction. *Eur Heart J* 2006;27:3004-10.
111. Mogelvang R, Goetze JP, Schnohr P, et al. Discriminating between cardiac and pulmonary dysfunction in the general population with dyspnea by plasma pro-B-type natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1694-701.
112. Hildebrandt P, Boesen M, Olsen M, Wachtell K, Groenning B. N-terminal pro brain natriuretic peptide in arterial hypertension—a marker for left ventricular dimensions and prognosis. *Eur J Heart Fail* 2004;6:313-7.
113. Kohno M, Horio T, Yokokawa K, et al. Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in essential hypertension. *Am J Med* 1992;92:29-34.
114. Nishikimi T, Yoshihara F, Morimoto A, et al. Relationship between left ventricular geometry and natriuretic peptide levels in essential hypertension. *Hypertension* 1996;28:22-30.
115. Karagiannis A, Tziomalos K, Zamboulis C. Plasma B-type natriuretic peptide is related to left ventricular mass in hypertensive patients. *Eur Heart J* 2004;25:1967.
116. Yamamoto K, Burnett JC, Jr., Jougasaki M, et al. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension* 1996;28:988-94.
117. Almeida SS, Azevedo A, Castro A, et al. B-type natriuretic peptide is related to left ventricular mass in hypertensive patients but not in athletes. *Cardiology* 2002;98:113-5.
118. Magga J, Vuolteenaho O, Tokola H, Marttila M, Ruskoaho H. B-type natriuretic peptide: a myocyte-specific marker for characterizing load-induced alterations in cardiac gene expression. *Ann Med* 1998;30 Suppl 1:39-45.
119. Horikawa YT, Panneerselvam M, Kawaraguchi Y, et al. Cardiac-specific overexpression of caveolin-3 attenuates cardiac hypertrophy and increases natriuretic Peptide expression and signaling. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2273-83.
120. Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK, et al. Brain natriuretic Peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res* 2002;91:1127-34.
121. Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, et al. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:4239-44.
122. Cao L, Gardner DG. Natriuretic peptides inhibit DNA synthesis in cardiac fibroblasts. *Hypertension* 1995;25:227-34.
123. Ogawa Y, Tamura N, Chusho H, Nakao K. Brain natriuretic peptide appears to act locally as an antifibrotic factor in the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 2001;79:723-9.
124. Tamamori M, Ito H, Hiroe M, Marumo F, Hata RI. Stimulation of collagen synthesis in rat cardiac fibroblasts by exposure to hypoxic culture conditions and suppression of the effect by natriuretic peptides. *Cell Biol Int* 1997;21:175-80.

125. Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ. Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1990;86:1690-7.
126. Burnett JC, Jr., Olson TM. Natriuretic peptides and myocardial structure: insights from population genetics. *Hypertension* 2007;49:765-6.
127. Kuhn M. Structure, regulation, and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on guanylyl cyclase-A. *Circ Res* 2003;93:700-9.
128. Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:571-88.
129. Laukkanen JA, Kurl S, Ala-Kopsala M, et al. Plasma N-terminal fragments of natriuretic propeptides predict the risk of cardiovascular events and mortality in middle-aged men. *Eur Heart J* 2006;27:1230-7.
130. Kyriakides ZS, Markianos M, Michalis L, Antoniadis A, Nikolaou NI, Kremastinos DT. Brain natriuretic peptide increases acutely and much more prominently than atrial natriuretic peptide during coronary angioplasty. *Clin Cardiol* 2000;23:285-8.
131. Hopkins WE, Chen Z, Fukagawa NK, Hall C, Knot HJ, LeWinter MM. Increased atrial and brain natriuretic peptides in adults with cyanotic congenital heart disease: enhanced understanding of the relationship between hypoxia and natriuretic peptide secretion. *Circulation* 2004;109:2872-7.
132. Goetze JP. Coronary artery disease, heart failure, and cardiac natriuretic peptides in the middle. *Eur Heart J* 2005;26:2603-4.
133. Scirica BM, Morrow DA, Bode C, et al. Patients with acute coronary syndromes and elevated levels of natriuretic peptides: the results of the AVANT GARDE-TIMI 43 Trial. *Eur Heart J* 2010;31:1993-2005.
134. McNairy M, Gardetto N, Clopton P, et al. Stability of B-type natriuretic peptide levels during exercise in patients with congestive heart failure: implications for outpatient monitoring with B-type natriuretic peptide. *Am Heart J* 2002;143:406-11.
135. Schulz O, Rudolph A, Scheiner S, et al. Influence of acute and chronic myocardial loading conditions, function, structural changes and extracardiac factors on NT-proBNP in asymptomatic patients with preserved ejection fraction. *Clin Res Cardiol* 2011;100:57-65.
136. Rockman HA, Wachhorst SP, Mao L, Ross J, Jr. ANG II receptor blockade prevents ventricular hypertrophy and ANF gene expression with pressure overload in mice. *Am J Physiol* 1994;266:H2468-75.
137. Moe GW, Grima EA, Wong NL, Howard RJ, Armstrong PW. Plasma and cardiac tissue atrial and brain natriuretic peptides in experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:720-7.
138. Koch A, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J* 2006;27:861-6.
139. Detaint D, Messika-Zeitoun D, Chen HH, et al. Association of B-type natriuretic peptide activation to left ventricular end-systolic remodeling in organic and functional mitral regurgitation. *Am J Cardiol* 2006; 97:1029-34.
140. Parsonage WA, Galbraith AJ, Koerbin GL, Potter JM. Value of B-type natriuretic peptide for identifying significantly elevated pulmonary artery wedge pressure in patients treated for established chronic heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2005;95:883-5.
141. Forfia PR, Watkins SP, Rame JE, Stewart KJ, Shapiro EP. Relationship between B-type natriuretic peptides and pulmonary capillary wedge pressure in the intensive care unit. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1667-71.
142. Vasan RS. Expanding indications for natriuretic peptides: importance of better new (research) protocols. *Am Heart J* 2004;148:743-6.
143. Tang WH, Girod JP, Lee MJ, et al. Plasma B-type natriuretic peptide levels in ambulatory patients with established chronic symptomatic systolic heart failure. *Circulation* 2003;108:2964-6.
144. O'Neill JO, Bott-Silverman CE, McRae AT, 3rd, et al. B-type natriuretic peptide levels are not a surrogate marker for invasive hemodynamics during management of patients with severe heart failure. *Am Heart J* 2005;149:363-9.
145. Barletta G, Stefani L, Del Bene R, et al. Effects of exercise on natriuretic peptides and cardiac function in man. *Int J Cardiol* 1998;65:217-25.
146. Nicholson S, Richards M, Espiner E, Nicholls G, Yandle T. Atrial and brain natriuretic peptide response to exercise in patients with ischaemic heart disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1993;20:535-40.
147. Kato M, Kinugawa T, Ogino K, et al. Augmented response in plasma brain natriuretic peptide to dynamic exercise in patients with left ventricular dysfunction and congestive heart failure. *J Intern Med* 2000; 248:309-15.
148. Rogers RK, May HT, Anderson JL, Muhlestein JB. Prognostic value of B-type natriuretic peptide for cardiovascular events independent of left ventricular end-diastolic pressure. *Am Heart J* 2009;158:777-83.

149. Masson S, Latini R, Anand IS, et al. Prognostic value of changes in N-terminal pro-brain natriuretic peptide in Val-HeFT (Valsartan Heart Failure Trial). *J Am Coll Cardiol* 2008;52:997-1003.
150. Maeder MT, Staub D, Surnier Y, et al. Determinants of absolute and relative exercise-induced changes in B-type natriuretic peptides. *Int J Cardiol* 2011;147:409-15.
151. Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Doughty RN, Espiner EA. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;47:287-96.
152. Emdin M, Passino C, Prontera C, et al. Comparison of brain natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal ProBNP for early diagnosis of heart failure. *Clin Chem* 2007;53:1289-97.
153. Costello-Boerrigter LC, Boerrigter G, Redfield MM, et al. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide in the general community: determinants and detection of left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:345-53.
154. Steadman CD, Ray S, Ng LL, McCann GP. Natriuretic peptides in common valvular heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2034-48.
155. Maisel AS, Peacock WF, McMullin N, et al. Timing of immunoreactive B-type natriuretic peptide levels and treatment delay in acute decompensated heart failure: an ADHERE (Acute Decompensated Heart Failure National Registry) analysis. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:534-40.
156. Januzzi JL, van Kimmenade R, Lainchbury J, et al. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients: the International Collaborative of NT-proBNP Study. *Eur Heart J* 2006;27:330-7.
157. Sakhuja R, Green S, Oestreicher EM, et al. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and troponin T for prediction of mortality in acute heart failure. *Clin Chem* 2007;53:412-20.
158. Mueller C. B-type natriuretic peptides and the general practitioner. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1702-3.
159. Masson S, Latini R, Anand IS, et al. Direct Comparison of B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and Amino-Terminal proBNP in a Large Population of Patients with Chronic and Symptomatic Heart Failure: The Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) Data. *Clin Chem* 2006;52:1528-38.
160. Richards AM, Doughty R, Nicholls MG, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: prognostic utility and prediction of benefit from carvedilol in chronic ischemic left ventricular dysfunction. Australia-New Zealand Heart Failure Group. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1781-7.
161. Macheret F, Boerrigter G, McKie P, et al. Pro-B-type natriuretic peptide(1-108) circulates in the general community plasma determinants and detection of left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1386-95.
162. von Haehling S, Jankowska EA, Morgenthaler NG, et al. Comparison of midregional pro-atrial natriuretic peptide with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in predicting survival in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1973-80.
163. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2004;350:655-63.
164. Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, Glasziou P. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *Bmj* 2005;330:625.
165. Kwan G, Isakson SR, Beede J, Clopton P, Maisel AS, Fitzgerald RL. Short-term serial sampling of natriuretic peptides in patients presenting with chest pain. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1186-92.
166. Jernberg T, Stridsberg M, Venge P, Lindahl B. N-terminal pro brain natriuretic peptide on admission for early risk stratification of patients with chest pain and no ST-segment elevation. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:437-45.
167. Weber M, Bazzino O, Navarro Estrada JL, et al. N-terminal B-type natriuretic Peptide assessment provides incremental prognostic information in patients with acute coronary syndromes and normal troponin T values upon admission. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1188-95.
168. Bassan R, Potsch A, Maisel A, et al. B-type natriuretic peptide: a novel early blood marker of acute myocardial infarction in patients with chest pain and no ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2005;26:234-40.
169. Windhausen F, Hirsch A, Sanders GT, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide for additional risk stratification in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome and an elevated troponin T: an Invasive versus Conservative Treatment in Unstable coronary Syndromes (ICTUS) substudy. *Am Heart J* 2007;153:485-92.
170. Mega JL, Morrow DA, De Lemos JA, et al. B-type natriuretic peptide at presentation and prognosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: an ENTIRE-TIMI-23 substudy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:335-9.
171. Omland T, Richards AM, Wergeland R, Vik-Mo H. B-type natriuretic peptide and long-term survival in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;95:24-8.



172. Schnabel R, Lubos E, Rupprecht HJ, et al. B-type natriuretic peptide and the risk of cardiovascular events and death in patients with stable angina: results from the AtheroGene study. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:552-8.
173. Ndrepepa G, Braun S, Niemoller K, et al. Prognostic value of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with chronic stable angina. *Circulation* 2005;112:2102-7.
174. Kragelund C, Gronning B, Kober L, Hildebrandt P, Steffensen R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med* 2005;352:666-75.
175. Bibbins-Domingo K, Gupta R, Na B, Wu AH, Schiller NB, Whooley MA. N-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiovascular events, and mortality in patients with stable coronary heart disease. *Jama* 2007;297:169-76.
176. Gerber IL, Stewart RA, Legget ME, et al. Increased plasma natriuretic peptide levels reflect symptom onset in aortic stenosis. *Circulation* 2003;107:1884-90.
177. Monin JL, Lancellotti P, Monchi M, et al. Risk score for predicting outcome in patients with asymptomatic aortic stenosis. *Circulation* 2009;120:69-75.
178. Lim P, Monin JL, Monchi M, et al. Predictors of outcome in patients with severe aortic stenosis and normal left ventricular function: role of B-type natriuretic peptide. *Eur Heart J* 2004;25:2048-53.
179. Nessmith MG, Fukuta H, Brucks S, Little WC. Usefulness of an elevated B-type natriuretic Peptide in predicting survival in patients with aortic stenosis treated without surgery. *Am J Cardiol* 2005;96:1445-8.
180. Gerber IL, Legget ME, West TM, Richards AM, Stewart RA. Usefulness of serial measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide plasma levels in asymptomatic patients with aortic stenosis to predict symptomatic deterioration. *Am J Cardiol* 2005;95:898-901.
181. Bergler-Klein J, Klaar U, Heger M, et al. Natriuretic peptides predict symptom-free survival and postoperative outcome in severe aortic stenosis. *Circulation* 2004;109:2302-8.
182. Pizarro R, Bazzino OO, Oberti PF, et al. Prospective validation of the prognostic usefulness of brain natriuretic peptide in asymptomatic patients with chronic severe mitral regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1099-106.
183. Yusoff R, Clayton N, Keevil B, Morris J, Ray S. Utility of plasma N-terminal brain natriuretic peptide as a marker of functional capacity in patients with chronic severe mitral regurgitation. *Am J Cardiol* 2006; 97:1498-501.
184. Kucher N, Printzen G, Goldhaber SZ. Prognostic role of brain natriuretic peptide in acute pulmonary embolism. *Circulation* 2003;107:2545-7.
185. ten Wolde M, Tulevski II, Mulder JW, et al. Brain natriuretic peptide as a predictor of adverse outcome in patients with pulmonary embolism. *Circulation* 2003;107:2082-4.
186. Ishii J, Nomura M, Ito M, et al. Plasma concentration of brain natriuretic peptide as a biochemical marker for the evaluation of right ventricular overload and mortality in chronic respiratory disease. *Clin Chim Acta* 2000;301:19-30.
187. Wozakowska-Kaplon B. ANP and B-type peptide: Twins or kins? A different predictive value in atrial fibrillation Natriuretic peptides: Useful biomarkers in predicting the possibility of restoration and maintenance of sinus rhythm in patients with atrial fibrillation undergoing cardioversion? (IJC-D-09-01605). *Int J Cardiol* 2009.
188. Hussein AA, Saliba WI, Martin DO, et al. Plasma B-type natriuretic Peptide levels and recurrent arrhythmia after successful ablation of lone atrial fibrillation. *Circulation* 2011;123:2077-82.
189. Mollmann H, Weber M, Elsasser A, et al. NT-ProBNP predicts rhythm stability after cardioversion of lone atrial fibrillation. *Circ J* 2008;72:921-5.
190. De Sutter J, De Bacquer D, Cuypers S, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentration predicts coronary events in men at work: a report from the BELSTRESS study. *Eur Heart J* 2005;26:2644-9.
191. Daniels LB, Laughlin GA, Clopton P, Maisel AS, Barrett-Connor E. Minimally elevated cardiac troponin T and elevated N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in older adults: results from the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:450-9.
192. Korngold EC, Januzzi JL, Jr., Gantzer ML, Moorthy MV, Cook NR, Albert CM. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide and high-sensitivity C-reactive protein as predictors of sudden cardiac death among women. *Circulation* 2009;119:2868-76.
193. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med* 2008;358:2148-59.
194. Kim HN, Januzzi JL, Jr. Natriuretic Peptide testing in heart failure. *Circulation* 2011;123:2015-9.
195. Choi EY, Ha JW, Kim JM, et al. Incremental value of combining systolic mitral annular velocity and time difference between mitral inflow and diastolic mitral annular velocity to early diastolic annular velocity for differentiating constrictive pericarditis from restrictive cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr* 2007;20:738-43.

196. van Kimmenade RR, Januzzi JL, Jr., Ellinor PT, et al. Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1217-24.
197. Nishii M, Inomata T, Takehana H, et al. Prognostic utility of B-type natriuretic peptide assessment in stable low-risk outpatients with nonischemic cardiomyopathy after decompensated heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:2329-35.
198. Moura LM, Ramos SF, Kristensen SD, Pinto FJ, Barros IM, Rocha-Goncalves F. Rosuvastatin slows the development of diastolic dysfunction in calcific aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2012;21:463-72.
199. Collinson PO, Barnes SC, Gaze DC, Galasko G, Lahiri A, Senior R. Analytical performance of the N terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) assay on the Elecsys 1010 and 2010 analysers. *Eur J Heart Fail* 2004;6:365-8.
200. Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: new neurohormonal predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:1921-9.
201. Rodeheffer RJ. Measuring plasma B-type natriuretic peptide in heart failure: good to go in 2004? *J Am Coll Cardiol* 2004;44:740-9.
202. Hammerer-Lercher A, Halfinger B, Sarg B, et al. Analysis of circulating forms of proBNP and NT-proBNP in patients with severe heart failure. *Clin Chem* 2008;54:858-65.
203. Wu AH, Smith A, Apple FS. Optimum blood collection intervals for B-type natriuretic peptide testing in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2004;93:1562-3.
204. Wu AH. Serial testing of B-type natriuretic peptide and NTpro-BNP for monitoring therapy of heart failure: the role of biologic variation in the interpretation of results. *Am Heart J* 2006;152:828-34.
205. Kupchak P, Wu AH, Ghani F, Newby LK, Ohman EM, Christenson RH. Influence of imprecision on ROC curve analysis for cardiac markers. *Clin Chem* 2006;52:752-3.
206. Gruson D, Rousseau MF, de Coninck V, Ahn SA, Ketelslegers JM. Influence of sampling and storage conditions on B-type natriuretic peptide immunoreactivity for 3 automated assays. *Clin Chem* 2006;52:766-7.
207. Takeda Y, Suzuki S, Kimura G. Within-person variation of the plasma concentration of B-type natriuretic peptide: safety range in stable patients with heart failure. *Am Heart J* 2009;157:97-101.
208. Frankenstein L, Remppis A, Frankenstein J, et al. Variability of N-terminal probrain natriuretic peptide in stable chronic heart failure and its relation to changes in clinical variables. *Clin Chem* 2009;55:923-9.
209. Schou M, Gustafsson F, Kjaer A, Hildebrandt PR. Long-term clinical variation of NT-proBNP in stable chronic heart failure patients. *Eur Heart J* 2007;28:177-82.
210. O'Mahony MS, Sim MF, Ho SF, Steward JA, Buchalter M, Burr M. Diastolic heart failure in older people. *Age Ageing* 2003;32:519-24.
211. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:2357-68.
212. Lam CS, Cheng S, Choong K, et al. Influence of sex and hormone status on circulating natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:618-26.
213. Hildebrandt P, Collinson PO, Doughty RN, et al. Age-dependent values of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide are superior to a single cut-point for ruling out suspected systolic dysfunction in primary care. *Eur Heart J* 2010;31:1881-9.
214. Schou M, Gustafsson F, Kistorp CN, Corell P, Kjaer A, Hildebrandt PR. Effects of body mass index and age on N-terminal pro brain natriuretic peptide are associated with glomerular filtration rate in chronic heart failure patients. *Clin Chem* 2007;53:1928-35.
215. McCullough PA, Omland T, Maisel AS. B-type natriuretic peptides: a diagnostic breakthrough for clinicians. *Rev Cardiovasc Med* 2003;4:72-80.
216. van Kimmenade RR, Januzzi JL, Jr., Bakker JA, et al. Renal clearance of B-type natriuretic peptide and amino terminal pro-B-type natriuretic peptide a mechanistic study in hypertensive subjects. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:884-90.
217. deFilippi CR, Christenson RH. B-type natriuretic peptide (BNP)/NT-proBNP and renal function: is the controversy over? *Clin Chem* 2009;55:1271-3.
218. deFilippi CR, Seliger SL, Maynard S, Christenson RH. Impact of renal disease on natriuretic peptide testing for diagnosing decompensated heart failure and predicting mortality. *Clin Chem* 2007;53:1511-9.
219. Wu AH, Jaffe AS, Apple FS, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines: use of cardiac troponin and B-type natriuretic peptide or N-terminal proB-type natriuretic peptide for etiologies other than acute coronary syndromes and heart failure. *Clin Chem* 2007;53:2086-96.

220. Thygesen K, Alpert JS, White HD, et al. Universal definition of myocardial infarction: Kristian Thygesen, Joseph S. Alpert and Harvey D. White on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38.
221. de Lemos JA, Rohatgi A. Separating the contenders from the pretenders: competitive high-throughput biomarker screening in large population-based studies. *Circulation* 2010;121:2381-3.
222. Agewall S, Giannitsis E, Jernberg T, Katus H. Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J* 2011;32:404-11.
223. Zhang P, Kirk JA, Ji W, et al. Multiple reaction monitoring to identify site-specific troponin I phosphorylated residues in the failing human heart. *Circulation* 2012;126:1828-37.
224. Christenson RH, Duh SH, Apple FS, et al. Toward standardization of cardiac troponin I measurements part II: assessing commutability of candidate reference materials and harmonization of cardiac troponin I assays. *Clin Chem* 2006;52:1685-92.
225. Thygesen K, Mair J, Katus H, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2010;31:2197-204.
226. Panteghini M. Assay-related issues in the measurement of cardiac troponins. *Clin Chim Acta* 2009;402:88-93.
227. Jaffe AS. Testing the wrong hypothesis: the failure to recognize the limitations of troponin assays. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:999-1001.
228. Ward G, McKinnon L, Badrick T, Hickman PE. Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. *Am J Clin Pathol* 1997;108:417-21.
229. Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem* 1999;45:942-56.
230. Florkowski C, Wallace J, Walmsley T, George P. The effect of hemolysis on current troponin assays—a confounding preanalytical variable? *Clin Chem* 2010;56:1195-7.
231. Bais R. The effect of sample hemolysis on cardiac troponin I and T assays. *Clin Chem* 2010;56:1357-9.
232. Goser S, Andrassy M, Buss SJ, et al. Cardiac troponin I but not cardiac troponin T induces severe autoimmune inflammation in the myocardium. *Circulation* 2006;114:1693-702.
233. Pretorius CJ, Dimeski G, O'Rourke PK, et al. Outliers as a cause of false cardiac troponin results: investigating the robustness of 4 contemporary assays. *Clin Chem* 2011;57:710-8.
234. Singh P, Moll F, 3rd, Lin SH, et al. Starburst dendrimers: enhanced performance and flexibility for immunoassays. *Clin Chem* 1994;40:1845-9.
235. Wu AH, Fukushima N, Puskas R, Todd J, Goix P. Development and preliminary clinical validation of a high sensitivity assay for cardiac troponin using a capillary flow (single molecule) fluorescent detector. *Clin Chem* 2006;52:2157-9.
236. Schulz O, Reinicke M, Berghoefer GH, et al. High-sensitive cardiac troponin I (hs-cTnI) values in patients with stable cardiovascular disease: an initial foray. *Clin Chim Acta* 2010;411:812-7.
237. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, et al. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2012;33:2252-2257.
238. Wu A, Collinson P, Jaffe A, Morrow D. High-sensitivity cardiac troponin assays: what analytical and clinical issues need to be addressed before introduction into clinical practice? Interview by Fred S. Apple. *Clin Chem* 2010;56:886-91.
239. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem* 2009;55:1303-6.
240. Christenson RH, Cervelli DR, Bauer RS, Gordon M. Stratus CS cardiac troponin I method: performance characteristics including imprecision at low concentrations. *Clin Biochem* 2004;37:679-83.
241. Altinier S, Mion M, Cappelletti A, Zaninotto M, Plebani M. Rapid measurement of cardiac markers on Stratus CS. *Clin Chem* 2000;46:991-3.
242. Panteghini M, Pagani F, Yeo KT, et al. Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations. *Clin Chem* 2004;50:327-32.
243. Tanasijevic MJ, Antman EM. Diagnostic performance of cardiac troponin I in suspected acute myocardial infarction: implications for clinicians. *Am Heart J* 1999;137:203-6.
244. Missov E, Calzolari C, Pau B. Circulating cardiac troponin I in severe congestive heart failure. *Circulation* 1997;96:2953-8.
245. Jaffe AS, Vasile VC, Milone M, Saenger AK, Olson KN, Apple FS. Diseased skeletal muscle a noncardiac source of increased circulating concentrations of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1819-24.
246. Wu AH, Apple FS, Gibler WB, Jesse RL, Warshaw MM, Valdes R, Jr. National Academy of Clinical Biochemistry

- Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104-21.
247. Murphy AM, Kogler H, Georgakopoulos D, et al. Transgenic mouse model of stunned myocardium. *Science* 2000;287:488-91.
  248. Lauer B, Niederau C, Kuhl U, et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1354-9.
  249. Smith SC, Ladenson JH, Mason JW, Jaffe AS. Elevations of cardiac troponin I associated with myocarditis. Experimental and clinical correlates. *Circulation* 1997;95:163-8.
  250. La Vecchia L, Mezzena G, Ometto R, et al. Detectable serum troponin I in patients with heart failure of nonmyocardial ischemic origin. *Am J Cardiol* 1997;80:88-90.
  251. Setsuta K, Seino Y, Takahashi N, et al. Clinical significance of elevated levels of cardiac troponin T in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 1999;84:608-11, A9.
  252. Konstantinides S, Geibel A, Olschewski M, et al. Importance of cardiac troponins I and T in risk stratification of patients with acute pulmonary embolism. *Circulation* 2002;106:1263-8.
  253. Lankeit M, Friesen D, Aschoff J, et al. Highly sensitive troponin T assay in normotensive patients with acute pulmonary embolism. *Eur Heart J* 2010;31:1836-44.
  254. Ohba H, Takada H, Musha H, et al. Effects of prolonged strenuous exercise on plasma levels of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in healthy men. *Am Heart J* 2001;141:751-8.
  255. Rifai N, Douglas PS, O'Toole M, Rimm E, Ginsburg GS. Cardiac troponin T and I, echocardiographic [correction of electrocardiographic] wall motion analyses, and ejection fractions in athletes participating in the Hawaii Ironman Triathlon. *Am J Cardiol* 1999;83:1085-9.
  256. Madrid AH, del Rey JM, Rubi J, et al. Biochemical markers and cardiac troponin I release after radiofrequency catheter ablation: approach to size of necrosis. *Am Heart J* 1998;136:948-55.
  257. Joglar JA, Kessler DJ, Welch PJ, et al. Effects of repeated electrical defibrillations on cardiac troponin I levels. *Am J Cardiol* 1999;83:270-2, A6.
  258. Missov E, Calzolari C, Davy JM, Leclercq F, Rossi M, Pau B. Cardiac troponin I in patients with hematologic malignancies. *Coron Artery Dis* 1997;8:537-41.
  259. Lipshultz SE, Rifai N, Sallan SE, et al. Predictive value of cardiac troponin T in pediatric patients at risk for myocardial injury. *Circulation* 1997;96:2641-8.
  260. Cardinale D, Sandri MT, Martinoni A, et al. Left ventricular dysfunction predicted by early troponin I release after high-dose chemotherapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:517-22.
  261. Zagrosek A, Messroghli D, Schulz O, Dietz R, Schulz-Menger J. Effect of Binge Drinking on the Heart as Assessed by Cardiac Magnetic Resonance Imaging. *Jama* 2010;304:1328-1330.
  262. Pfflin A. Highly sensitive cardiac troponin I assay leads to lowered specificity. *Clin Chem* 2009;55:1749.
  263. Januzzi JL, Jr., Bamberg F, Lee H, et al. High-sensitivity troponin T concentrations in acute chest pain patients evaluated with cardiac computed tomography. *Circulation* 2010;121:1227-34.
  264. Gassenmaier T, Buchner S, Birner C, et al. High-sensitive Troponin I in acute cardiac conditions: Implications of baseline and sequential measurements for diagnosis of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2012;222:116-22.
  265. Januzzi JL, Jr., Filippatos G, Nieminen M, Gheorghiade M. Troponin elevation in patients with heart failure: on behalf of the third Universal Definition of Myocardial Infarction Global Task Force: Heart Failure Section. *Eur Heart J* 2012;33:2265-71.
  266. Apple FS, Smith SW, Pearce LA, Ler R, Murakami MM. Use of the Centaur TnI-Ultra assay for detection of myocardial infarction and adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2008;54:723-8.
  267. Keller T, Zeller T, Peetz D, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2009;361:868-77.
  268. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med* 2009;361:858-67.
  269. Bonaca M, Scirica B, Sabatine M, et al. Prospective evaluation of the prognostic implications of improved assay performance with a sensitive assay for cardiac troponin I. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2118-24.
  270. Kavsak PA, MacRae AR, Yerna MJ, Jaffe AS. Analytic and clinical utility of a next-generation, highly sensitive cardiac troponin I assay for early detection of myocardial injury. *Clin Chem* 2009;55:573-7.

271. Apple FS, Pearce LA, Smith SW, Kaczmarek JM, Murakami MM. Role of monitoring changes in sensitive cardiac troponin I assay results for early diagnosis of myocardial infarction and prediction of risk of adverse events. *Clin Chem* 2009;55:930-7.
272. Kurz K, Giannitsis E, Becker M, Hess G, Zdunek D, Katus HA. Comparison of the new high sensitive cardiac troponin T with myoglobin, h-FABP and cTnT for early identification of myocardial necrosis in the acute coronary syndrome. *Clin Res Cardiol* 2011;100:209-15.
273. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Third Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation* 2012;126:2020-2035.
274. Latini R, Masson S, Anand IS, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation* 2007;116:1242-9.
275. Omland T, de Lemos JA, Sabatine MS, et al. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease. *N Engl J Med* 2009;361:2538-47.
276. Alehagen U, Dahlstrom U, Rehfeld JF, Goetze JP. Prognostic assessment of elderly patients with symptoms of heart failure by combining high-sensitivity troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide measurements. *Clin Chem* 2010;56:1718-24.
277. Rosjo H, Andreassen J, Edvardsen T, Omland T. Prognostic usefulness of circulating high-sensitivity troponin T in aortic stenosis and relation to echocardiographic indexes of cardiac function and anatomy. *Am J Cardiol* 2011;108:88-91.
278. Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, et al. Prognostic value of sensitive troponin T in patients with stable and unstable angina and undetectable conventional troponin. *Am Heart J* 2011;161:68-75.
279. Clerico A, Fortunato A, Ripoli A, Prontera C, Zucchelli GC, Emdin M. Distribution of plasma cardiac troponin I values in healthy subjects: pathophysiological considerations. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:804-8.
280. Venge P, Johnston N, Lindahl B, James S. Normal plasma levels of cardiac troponin I measured by the high-sensitivity cardiac troponin I access prototype assay and the impact on the diagnosis of myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1165-72.
281. Wu AH, Lu QA, Todd J, Moecks J, Wians F. Short- and long-term biological variation in cardiac troponin I measured with a high-sensitivity assay: implications for clinical practice. *Clin Chem* 2009;55:52-8.
282. Wu AH, Agee SJ, Lu QA, Todd J, Jaffe AS. Specificity of a high-sensitivity cardiac troponin I assay using single-molecule-counting technology. *Clin Chem* 2009;55:196-8.
283. Koenig W, Breitling LP, Hahmann H, Wusten B, Brenner H, Rothenbacher D. Cardiac troponin T measured by a high-sensitivity assay predicts recurrent cardiovascular events in stable coronary heart disease patients with 8-year follow-up. *Clin Chem* 2012;58:1215-24.
284. Vasile VC, Saenger AK, Kroning JM, Jaffe AS. Biological and analytical variability of a novel high-sensitivity cardiac troponin T assay. *Clin Chem* 2010;56:1086-90.
285. Vasile VC, Saenger AK, Kroning JM, Klee GG, Jaffe AS. Biologic variation of a novel cardiac troponin I assay. *Clin Chem* 2011;57:1080-1.
286. Agarwal SK, Avery CL, Ballantyne CM, et al. Sources of variability in measurements of cardiac troponin T in a community-based sample: the atherosclerosis risk in communities study. *Clin Chem* 2011;57:891-7.
287. Frankenstein L, Wu AH, Hallermayer K, Wians FH, Jr., Giannitsis E, Katus HA. Biological variation and reference change value of high-sensitivity troponin T in healthy individuals during short and intermediate follow-up periods. *Clin Chem* 2011;57:1068-71.
288. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischaemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J* 2009;30:162-9.
289. Turer AT, Addo TA, Martin JL, et al. Myocardial ischemia induced by rapid atrial pacing causes troponin T release detectable by a highly sensitive assay: insights from a coronary sinus sampling study. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57:2398-405.
290. Schulz O, Kirpal K, Stein J, et al. Importance of low concentrations of cardiac troponins. *Clin Chem* 2006; 52:1614-5.
291. Zethelius B, Johnston N, Venge P. Troponin I as a predictor of coronary heart disease and mortality in 70-year-old men: a community-based cohort study. *Circulation* 2006;113:1071-8.
292. Waxman DA, Hecht S, Schappert J, Husk G. A model for troponin I as a quantitative predictor of in-hospital mortality. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1755-62.

293. Schulz O, Paul-Walter C, Lehmann M, et al. Usefulness of detectable levels of troponin, below the 99th percentile of the normal range, as a clue to the presence of underlying coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2007;100:764-9.
294. Schulz O, Kromer A. Cardiac troponin I: a potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure. *Am Heart J* 2002;144:351-8.
295. Schulz O, Sigusch HH. Impact of an exercise-induced increase in cardiac troponin I in chronic heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2002;90:547-50.
296. White HD. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2406-8.
297. Giannitsis E, Steen H, Kurz K, et al. Cardiac magnetic resonance imaging study for quantification of infarct size comparing directly serial versus single time-point measurements of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51:307-14.
298. McDonough JL, Arrell DK, Van Eyk JE. Troponin I degradation and covalent complex formation accompanies myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 1999;84:9-20.
299. Giannitsis E, Muller-Bardorff M, Kurowski V, et al. Independent prognostic value of cardiac troponin T in patients with confirmed pulmonary embolism. *Circulation* 2000;102:211-7.
300. Pascual-Figal DA, Casas T, Ordonez-Llanos J, et al. Highly sensitive troponin T for risk stratification of acutely destabilized heart failure. *Am Heart J* 2012;163:1002-10.
301. Sato Y, Yamada T, Taniguchi R, et al. Persistently increased serum concentrations of cardiac troponin t in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy are predictive of adverse outcomes. *Circulation* 2001;103:369-74.
302. Horwich TB, Patel J, MacLellan WR, Fonarow GC. Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure. *Circulation* 2003;108:833-8.
303. Wu AH, Jaffe AS. The clinical need for high-sensitivity cardiac troponin assays for acute coronary syndromes and the role for serial testing. *Am Heart J* 2008;155:208-14.
304. De Lemos JA, Morrow D, deFilippi CR. Highly sensitive troponin assays and the cardiology community: a love/hate relationship? *Clin Chem* 2011;57:826-9.
305. Haq S, Choukroun G, Lim H, et al. Differential activation of signal transduction pathways in human hearts with hypertrophy versus advanced heart failure. *Circulation* 2001;103:670-7.
306. Atsma DE, Bastiaanse EM, Jerzewski A, Van der Valk LJ, Van der Laarse A. Role of calcium-activated neutral protease (calpain) in cell death in cultured neonatal rat cardiomyocytes during metabolic inhibition. *Circ Res* 1995;76:1071-8.
307. van der Laarse A. Hypothesis: troponin degradation is one of the factors responsible for deterioration of left ventricular function in heart failure. *Cardiovasc Res* 2002;56:8-14.
308. Feng J, Schaus BJ, Fallavollita JA, Lee TC, Canty JM, Jr. Preload induces troponin I degradation independently of myocardial ischemia. *Circulation* 2001;103:2035-7.
309. Patterson C, Portbury AL, Schisler JC, Willis MS. Tear me down: role of calpain in the development of cardiac ventricular hypertrophy. *Circ Res* 2011;109:453-62.
310. Eggers KM, Lind L, Ahlstrom H, et al. Prevalence and pathophysiological mechanisms of elevated cardiac troponin I levels in a population-based sample of elderly subjects. *Eur Heart J* 2008;29:2252-8.
311. de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA* 2010;304:2503-12.
312. DeFilippi C, Seliger SL, Kelley W, et al. Interpreting Cardiac Troponin Results from High-Sensitivity Assays in Chronic Kidney Disease without Acute Coronary Syndrome. *Clin Chem* 2012;58:1342-51.
313. deFilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, et al. Association of serial measures of cardiac troponin T using a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults. *JAMA* 2010;304:2494-502.
314. Saunders JT, Nambi V, de Lemos JA, et al. Cardiac troponin T measured by a highly sensitive assay predicts coronary heart disease, heart failure, and mortality in the atherosclerosis risk in communities study. *Circulation* 2011;123:1367-76.
315. Hessel MH, Atsma DE, van der Valk EJ, Bax WH, Schalij MJ, van der Laarse A. Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *Pflugers Arch* 2008;455:979-86.
316. Scharhag J, Herrmann M, Urhausen A, Haschke M, Herrmann W, Kindermann W. Independent elevations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac troponins in endurance athletes after prolonged strenuous exercise. *Am Heart J* 2005;150:1128-34.

317. Giannitsis E, Roth HJ, Leithauser RM, Scherhag J, Beneke R, Katus HA. New Highly Sensitivity Assay Used to Measure Cardiac Troponin T Concentration Changes During a Continuous 216-km Marathon. *Clin Chem* 2009;55: 590-2.
318. Neilan TG, Januzzi JL, Lee-Lewandrowski E, et al. Myocardial injury and ventricular dysfunction related to training levels among nonelite participants in the Boston marathon. *Circulation* 2006;114:2325-33.
319. Thompson PD, Apple FS, Wu A. Marathoner's heart? *Circulation* 2006;114:2306-8.
320. Shave R, Baggish A, George K, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:169-76.
321. Ogawa S, Gerlach H, Esposito C, Pasagian-Macaulay A, Brett J, Stern D. Hypoxia modulates the barrier and coagulant function of cultured bovine endothelium. Increased monolayer permeability and induction of procoagulant properties. *J Clin Invest* 1990;85:1090-8.
322. Usatyuk PV, Natarajan V. Role of mitogen-activated protein kinases in 4-hydroxy-2-nonenal-induced actin remodeling and barrier function in endothelial cells. *J Biol Chem* 2004;279:11789-97.
323. Wu AH, Ford L. Release of cardiac troponin in acute coronary syndromes: ischemia or necrosis? *Clin Chim Acta* 1999;284:161-74.
324. Wu AH. Cardiac troponin: friend of the cardiac physician, foe to the cardiac patient? *Circulation* 2006;114:1673-5.
325. Hickman PE, Potter JM, Aroney C, et al. Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis. *Clin Chim Acta* 2010;411:318-23.
326. Lippi G, Banfi G. Exercise-related increase of cardiac troponin release in sports: An apparent paradox finally elucidated? *Clin Chim Acta* 2010;411:610-1.
327. Hickman PE, Potter JM, Aroney C, et al. Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis. *Clin Chim Acta* 2009.
328. Mingels A, Jacobs L, Michielsen E, Swaanenburg J, Wodzig W, van Dieijen-Visser M. Reference population and marathon runner sera assessed by highly sensitive cardiac troponin T and commercial cardiac troponin T and I assays. *Clin Chem* 2009;55:101-8.
329. Herrmann M, Scharhag J, Miclea M, Urhausen A, Herrmann W, Kindermann W. Post-race kinetics of cardiac troponin T and I and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in marathon runners. *Clin Chem* 2003;49:831-4.
330. Antman EM. Troponin measurements in ischemic heart disease: more than just a black and white picture. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:987-90.
331. Kontos MC, Shah R, Fritz LM, et al. Implication of different cardiac troponin I levels for clinical outcomes and prognosis of acute chest pain patients. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:958-65.
332. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007;53:552-74.
333. Lin Y, Fu Q, Zhu J, Miller JM, Van Eyk JE. Development of a qualitative sequential immunoassay for characterizing the intrinsic properties of circulating cardiac troponin I. *Clin Chem* 2010;56:1307-19.
334. Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, et al. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3149-53.
335. Gyrupe C, Christiansen M, Oxvig C. Quantification of proteolytically active pregnancy-associated plasma protein-A with an assay based on quenched fluorescence. *Clin Chem* 2007;53:947-54.
336. Conti E, Volpe M, Carrozza C, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A and acute coronary syndromes: cause or consequence? *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1583-4; author reply 1584-5.
337. Qin QP, Wittfooth S, Pettersson K. Measurement and clinical significance of circulating PAPP-A in ACS patients. *Clin Chim Acta* 2007;380:59-67.
338. Consuegra-Sanchez L, Fredericks S, Kaski JC. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2009;203:346-52.
339. Qin QP, Kokkala S, Lund J, Tamm N, Voipio-Pulkki LM, Pettersson K. Molecular distinction of circulating pregnancy-associated plasma protein A in myocardial infarction and pregnancy. *Clin Chem* 2005;51:75-83.
340. Wittfooth S, Qin QP, Lund J, et al. Immunofluorometric point-of-care assays for the detection of acute coronary syndrome-related noncomplexed pregnancy-associated plasma protein A. *Clin Chem* 2006;52:1794-801.
341. Cosin-Sales J, Christiansen M, Kaminski P, et al. Pregnancy-associated plasma protein A and its endogenous inhibitor, the proform of eosinophil major basic protein (proMBP), are related to complex stenosis morphology

- in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004;109:1724-8.
342. Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001;345:1022-9.
  343. Resch ZT, Oxvig C, Bale LK, Conover CA. Stress-activated signaling pathways mediate the stimulation of pregnancy-associated plasma protein-A expression in cultured human fibroblasts. *Endocrinology* 2006;147:885-90.
  344. Conover CA, Bale LK, Harrington SC, Resch ZT, Overgaard MT, Oxvig C. Cytokine stimulation of pregnancy-associated plasma protein A expression in human coronary artery smooth muscle cells: inhibition by resveratrol. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;290:C183-8.
  345. Conti E, Carrozza C, Capoluongo E, et al. Insulin-like growth factor-1 as a vascular protective factor. *Circulation* 2004;110:2260-5.
  346. Glerup S, Boldt HB, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Giudice LC, Oxvig C. Proteinase inhibition by proform of eosinophil major basic protein (pro-MBP) is a multistep process of intra- and intermolecular disulfide rearrangements. *J Biol Chem* 2005;280:9823-32.
  347. Boldt HB, Conover CA. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A): a local regulator of IGF bioavailability through cleavage of IGFBPs. *Growth Horm IGF Res* 2007;17:10-8.
  348. Conover CA, Bale LK, Overgaard MT, et al. Metalloproteinase pregnancy-associated plasma protein A is a critical growth regulatory factor during fetal development. *Development* 2004;131:1187-94.
  349. Crea F, Andreotti F. Pregnancy associated plasma protein-A and coronary atherosclerosis: marker, friend, or foe? *Eur Heart J* 2005;26:2075-6.
  350. Laursen LS, Overgaard MT, Weyer K, et al. Cell surface targeting of pregnancy-associated plasma protein A proteolytic activity. Reversible adhesion is mediated by two neighboring short consensus repeats. *J Biol Chem* 2002;277:47225-34.
  351. Bayes-Genis A, Conover CA, Schwartz RS. The insulin-like growth factor axis: A review of atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 2000;86:125-30.
  352. Parker A, Gockerman A, Busby WH, Clemmons DR. Properties of an insulin-like growth factor-binding protein-4 protease that is secreted by smooth muscle cells. *Endocrinology* 1995;136:2470-6.
  353. Che W, Lerner-Marmarosh N, Huang Q, et al. Insulin-like growth factor-1 enhances inflammatory responses in endothelial cells: role of Gab1 and MEKK3 in TNF-alpha-induced c-Jun and NF-kappaB activation and adhesion molecule expression. *Circ Res* 2002;90:1222-30.
  354. Sangiorgi G, Mauriello A, Bonanno E, et al. Pregnancy-associated plasma protein-a is markedly expressed by monocyte-macrophage cells in vulnerable and ruptured carotid atherosclerotic plaques: a link between inflammation and cerebrovascular events. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2201-11.
  355. Beaudoux JL, Burc L, Imbert-Bismut F, et al. Serum plasma pregnancy-associated protein A: a potential marker of echogenic carotid atherosclerotic plaques in asymptomatic hyperlipidemic subjects at high cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:e7-10.
  356. Kavsak PA, Wang X, Henderson M, Ko DT, MacRae AR, Jaffe AS. PAPP-A as a marker of increased long-term risk in patients with chest pain. *Clin Biochem* 2009;42:1012-8.
  357. Bonaca MP, Scirica BM, Sabatine MS, et al. Prospective evaluation of pregnancy-associated plasma protein-a and outcomes in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:332-8.
  358. Iversen KK, Teisner AS, Teisner B, et al. Pregnancy associated plasma protein A, a novel, quick, and sensitive marker in ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2008;101:1389-94.
  359. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Simoons ML, Zeiher AM. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:229-37.
  360. Lund J, Qin QP, Ilva T, et al. Circulating pregnancy-associated plasma protein a predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003;108:1924-6.
  361. Cosin-Sales J, Kaski JC, Christiansen M, et al. Relationship among pregnancy associated plasma protein-A levels, clinical characteristics, and coronary artery disease extent in patients with chronic stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2005;26:2093-8.
  362. Elesber AA, Conover CA, Denktas AE, et al. Prognostic value of circulating pregnancy-associated plasma protein levels in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J* 2006;27:1678-84.
  363. Terkelsen CJ, Oxvig C, Norgaard BL, et al. Temporal course of pregnancy-associated plasma protein-A in



- angioplasty-treated ST-elevation myocardial infarction patients and potential significance of concomitant heparin administration. *Am J Cardiol* 2009;103:29-35.
364. Consuegra-Sanchez L, Petrovic I, Cosin-Sales J, Holt DW, Christiansen M, Kaski JC. Prognostic value of circulating pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and proform of eosinophil major basic protein (pro-MBP) levels in patients with chronic stable angina pectoris. *Clin Chim Acta* 2008;391:18-23.
  365. Lund J, Wittfooth S, Qin QP, et al. Free vs total pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) as a predictor of 1-year outcome in patients presenting with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2010;56:1158-65.
  366. Schulz O, Brala D, Bensch R, et al. Aortic valve replacement in asymptomatic and symptomatic patients with preserved left ventricular ejection fraction. *J Heart Valve Dis* 2012;21:576-83.
  367. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med* 2000;343:611-7.
  368. McCann GP, Steadman CD, Ray SG, Newby DE. Managing the asymptomatic patient with severe aortic stenosis: randomised controlled trials of early surgery are overdue. *Heart* 2011;97:1119-1121.
  369. Bach DS. Prevalence and characteristics of unoperated patients with severe aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2011;20:284-91.
  370. Lipshultz SE, Rifai N, Dalton VM, et al. The effect of dexrazoxane on myocardial injury in doxorubicin-treated children with acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:145-53.
  371. Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreymann G, Berger J, Meinertz T. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *N Engl J Med* 1997;337:1648-53.
  372. Nakata T, Hashimoto A, Hase M, Tsuchihashi K, Shimamoto K. Human heart-type Fatty Acid-binding protein as an early diagnostic and prognostic marker in acute coronary syndrome. *Cardiology* 2003;99:96-104.
  373. Mair J. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB to diagnose ischaemic myocardial damage. *Clin Chim Acta* 1998;272:79-86.
  374. Krause EG, Rabitzsch G, Noll F, Mair J, Puschendorf B. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of myocardial ischaemic injury and infarction. *Mol Cell Biochem* 1996;160-161:289-95.
  375. Mont L, Sambola A, Brugada J, et al. Long-lasting sport practice and lone atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2002;23:477-82.
  376. La Gerche A, Burns AT, Mooney DJ, et al. Exercise-induced right ventricular dysfunction and structural remodelling in endurance athletes. *Eur Heart J* 2012;33:998-1006.
  377. Ector J, Ganame J, van der Merwe N, et al. Reduced right ventricular ejection fraction in endurance athletes presenting with ventricular arrhythmias: a quantitative angiographic assessment. *Eur Heart J* 2007;28:345-53.
  378. Dandel M, Weng Y, Siniawski H, et al. Heart failure reversal by ventricular unloading in patients with chronic cardiomyopathy: criteria for weaning from ventricular assist devices. *Eur Heart J* 2011;32:1148-60.
  379. Naidu SS. Novel percutaneous cardiac assist devices: the science of and indications for hemodynamic support. *Circulation* 2011;123:533-43.
  380. Drakos SG, Kfoury AG, Hammond EH, et al. Impact of mechanical unloading on microvasculature and associated central remodeling features of the failing human heart. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:382-91.
  381. Wohlschlaeger J, Levkau B, Brockhoff G, et al. Hemodynamic support by left ventricular assist devices reduces cardiomyocyte DNA content in the failing human heart. *Circulation* 2010;121:989-96.
  382. Hall JL, Fermin DR, Birks EJ, et al. Clinical, molecular, and genomic changes in response to a left ventricular assist device. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:641-52.
  383. Perrino C, Schroder JN, Lima B, et al. Dynamic regulation of phosphoinositide 3-kinase-gamma activity and beta-adrenergic receptor trafficking in end-stage human heart failure. *Circulation* 2007;116:2571-9.
  384. Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *N Engl J Med* 1991;325:1468-75.
  385. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). The CONSENSUS Trial Study Group. *N Engl J Med* 1987;316:1429-35.
  386. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, et al. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial—the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet* 2000;355:1582-7.
  387. Waagstein F, Bristow MR, Swedberg K, et al. Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy (MDC) Trial Study Group. *Lancet* 1993;342:1441-6.

388. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999;341:709-17.
389. Packer M. The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:248-54.
390. Givertz MM, Braunwald E. Neurohormones in heart failure: predicting outcomes, optimizing care. *Eur Heart J* 2004;25:281-2.
391. Schulz O, Mitrovic V, Schonburg M, Thormann J. High-dose enoximone to evaluate reversibility of pulmonary hypertension: is there a diagnostic value of neurohormonal measurements? *Am Heart J* 1999;137:887-94.
392. Hasenfuss G, Holubarsch C, Heiss HW, et al. Myocardial energetics in patients with dilated cardiomyopathy. Influence of nitroprusside and enoximone. *Circulation* 1989;80:51-64.
393. Johnson W, Omland T, Hall C, et al. Neurohormonal activation rapidly decreases after intravenous therapy with diuretics and vasodilators for class IV heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1623-9.
394. Hambrecht R, Gielen S, Linke A, et al. Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure: A randomized trial. *Jama* 2000;283:3095-101.
395. Masson S, Anand I, Favero C, et al. Serial Measurement of Cardiac Troponin T Using a Highly Sensitive Assay in Patients With Chronic Heart Failure: Data From 2 Large Randomized Clinical Trials. *Circulation* 2012;125:280-288.
396. Chen Y, Serfass RC, Mackey-Bojack SM, Kelly KL, Titus JL, Apple FS. Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *J Appl Physiol* 2000;88:1749-55.
397. Jones NL, Killian KJ. Exercise limitation in health and disease. *N Engl J Med* 2000;343:632-41.
398. Chase P, Arena R, Myers J, et al. Prognostic usefulness of dyspnea versus fatigue as reason for exercise test termination in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2008;102:879-82.
399. Franciosa JA, Park M, Levine TB. Lack of correlation between exercise capacity and indexes of resting left ventricular performance in heart failure. *Am J Cardiol* 1981;47:33-9.
400. Fink LI, Wilson JR, Ferraro N. Exercise ventilation and pulmonary artery wedge pressure in chronic stable congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1986;57:249-53.
401. Cohen-Solal A, Logeart D, Guiti C, Dahan M, Gourgon R. Cardiac and peripheral responses to exercise in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 1999;20:931-45.
402. Maeder MT, Thompson BR, Brunner-La Rocca HP, Kaye DM. Hemodynamic basis of exercise limitation in patients with heart failure and normal ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:855-63.
403. Clark AL, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Exercise limitation in chronic heart failure: central role of the periphery. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1092-102.
404. Hambrecht R, Adams V, Erbs S, et al. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2003;107:3152-8.
405. Hambrecht R, Adams V, Gielen S, et al. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure and increased expression of inducible nitric oxide synthase in the skeletal muscle. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:174-9.
406. Mellwig KP, van Buuren F, Gohlke-Baerwolf C, Bjornstad HH. Recommendations for the management of individuals with acquired valvular heart diseases who are involved in leisure-time physical activities or competitive sports. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008;15:95-103.
407. Fedak PW, McCarthy PM, Bonow RO. Evolving concepts and technologies in mitral valve repair. *Circulation* 2008;117:963-74.
408. Aicher D, Holz A, Feldner S, Kollner V, Schafers HJ. Quality of life after aortic valve surgery: Replacement versus reconstruction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011;142:e19-24.
409. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, et al. 2008 focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease). Endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:e1-142.
410. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012): The Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 2012;33:2451-96.

411. Brown ML, Pellikka PA, Schaff HV, et al. The benefits of early valve replacement in asymptomatic patients with severe aortic stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;135:308-15.
412. Tschope C, Kasner M, Westermann D, Gaub R, Poller WC, Schultheiss HP. The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur Heart J* 2005;26:2277-84.
413. Kragelund C, Gronning B, Omland T, et al. Is N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) a useful screening test for angiographic findings in patients with stable coronary disease? *Am Heart J* 2006;151:712 e1-712 e7.
414. Henkel DM, Glockner J, Miller WL. Association of myocardial fibrosis, B-type natriuretic peptide, and cardiac magnetic resonance parameters of remodeling in chronic ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2012;109:390-4.
415. Maisel A. Natriuretic peptide-guided therapy for heart failure. Ready for “battle” or too “scarred” by the challenges of trial design? *J Am Coll Cardiol* 2010;55:61-64.
416. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000;355:1126-30.
417. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, et al. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation* 2003;107:1278-83.
418. Miller WL, Hartman KA, Burritt MF, et al. Serial biomarker measurements in ambulatory patients with chronic heart failure: the importance of change over time. *Circulation* 2007;116:249-57.
419. Pascual-Figal DA, Domingo M, Casas T, et al. Usefulness of clinical and NT-proBNP Monitoring for prognostic guidance in destabilized heart failure outpatients. *Eur Heart J* 2008.
420. Jourdain P, Jondeau G, Funck F, et al. Plasma brain natriuretic peptide-guided therapy to improve outcome in heart failure: the STARS-BNP Multicenter Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1733-9.
421. Franke J, Frankenstein L, Schellberg D, et al. Is there an additional benefit of serial NT-proBNP measurements in patients with stable chronic heart failure receiving individually optimized therapy? *Clin Res Cardiol* 2011;100:1059-67.
422. Pfisterer M, Buser P, Rickli H, et al. BNP-guided vs symptom-guided heart failure therapy: the Trial of Intensified vs Standard Medical Therapy in Elderly Patients With Congestive Heart Failure (TIME-CHF) randomized trial. *Jama* 2009;301:383-92.
423. Eurlings LW, van Pol PE, Kok WE, et al. Management of chronic heart failure guided by individual N-terminal pro-B-type natriuretic peptide targets: results of the PRIMA (Can PRO-brain-natriuretic peptide guided therapy of chronic heart failure IMprove heart fAilure morbidity and mortality?) study. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:2090-100.
424. Miller WL, Hartman KA, Grill DE, Burnett JC, Jr., Jaffe AS. Only large reductions in concentrations of natriuretic peptides (BNP and NT-proBNP) are associated with improved outcome in ambulatory patients with chronic heart failure. *Clin Chem* 2009;55:78-84.
425. Pibarot P, Dumesnil JG. Improving assessment of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:169-80.
426. Weber M, Arnold R, Rau M, et al. Relation of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide to severity of valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol* 2004;94:740-5.
427. Weber M, Hausen M, Arnold R, et al. Prognostic value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for conservatively and surgically treated patients with aortic valve stenosis. *Heart* 2006;92:1639-44.
428. Wagner JA, Stork S, Weidemann F, et al. Natriuretic peptides and myocardial oxygen supply-to-demand ratio in patients with aortic stenosis. *Eur J Clin Invest* 2007;37:463-71.
429. Prasad N, Bridges AB, Lang CC, et al. Brain natriuretic peptide concentrations in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* 1997;133:477-9.
430. Gerber IL, Stewart RA, French JK, et al. Associations between plasma natriuretic peptide levels, symptoms, and left ventricular function in patients with chronic aortic regurgitation. *Am J Cardiol* 2003;92:755-8.
431. Eimer MJ, Ekery DL, Rigolin VH, Bonow RO, Carnethon MR, Cotts WG. Elevated B-type natriuretic peptide in asymptomatic men with chronic aortic regurgitation and preserved left ventricular systolic function. *Am J Cardiol* 2004;94:676-8.
432. Sutton TM, Stewart RA, Gerber IL, et al. Plasma natriuretic peptide levels increase with symptoms and severity of mitral regurgitation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:2280-7.
433. Detaint D, Messika-Zeitoun D, Avierinos JF, et al. B-type natriuretic peptide in organic mitral regurgitation: determinants and impact on outcome. *Circulation* 2005;111:2391-7.

434. Salehian O, Chan KL. Should brain natriuretic peptides be measured in patients with aortic valve disease? *Eur Heart J* 2005;26:951-2.
435. Daniels LB, Allison MA, Clopton P, et al. Use of natriuretic peptides in pre-participation screening of college athletes. *Int J Cardiol* 2008;124:411-4.
436. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, et al. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2006;27:1341-81.
437. Erne P, Schoenenberger AW, Burckhardt D, et al. Effects of percutaneous coronary interventions in silent ischemia after myocardial infarction: the SWISSI II randomized controlled trial. *JAMA* 2007;297:1985-91.
438. Zellweger MJ, Kaiser C, Brunner-La Rocca HP, et al. Value and limitations of target-vessel ischemia in predicting late clinical events after drug-eluting stent implantation. *J Nucl Med* 2008;49:550-6.
439. Hachamovitch R, Di Carli MF. Methods and limitations of assessing new noninvasive tests: Part II: Outcomes-based validation and reliability assessment of noninvasive testing. *Circulation* 2008;117:2793-801.
440. Hachamovitch R, Rozanski A, Shaw LJ, et al. Impact of ischaemia and scar on the therapeutic benefit derived from myocardial revascularization vs. medical therapy among patients undergoing stress-rest myocardial perfusion scintigraphy. *Eur Heart J* 2011;32:1012-24.
441. Lee DS, Verocai F, Husain M, et al. Cardiovascular outcomes are predicted by exercise-stress myocardial perfusion imaging: Impact on death, myocardial infarction, and coronary revascularization procedures. *Am Heart J* 2011;161:900-7.
442. Friedewald VE, Boden WE, Stone GW, Yancy CW, Roberts WC. The editor's roundtable: role of percutaneous coronary intervention and drug-eluting stents in patients with stable coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2011;108:1417-25.
443. Dietz R, Rauch B. [Guidelines for diagnosis and treatment of chronic coronary heart disease. Issued by the executive committee of the German Society of Cardiology—Heart Circulation Research in cooperation with the German Society for Prevention and Rehabilitation of Cardiac Diseases and the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery]. *Z Kardiol* 2003;92:501-21.
444. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, et al. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2006;27:1341-81.
445. Trappe HJ, Lollgen H. [Guidelines for ergometry. German Society of Cardiology—Heart and Cardiovascular Research]. *Z Kardiol* 2000;89:821-31.
446. Tavel ME. Stress testing in cardiac evaluation : current concepts with emphasis on the ECG. *Chest* 2001;119:907-25.
447. Smart SC, Bhatia A, Hellman R, et al. Dobutamine-atropine stress echocardiography and dipyridamole sestamibi scintigraphy for the detection of coronary artery disease: limitations and concordance. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1265-73.
448. Greenwood JP, Maredia N, Younger JF, et al. Cardiovascular magnetic resonance and single-photon emission computed tomography for diagnosis of coronary heart disease (CE-MARC): a prospective trial. *Lancet* 2012;379:453-60.
449. Apple FS, Falahati A, Paulsen PR, Miller EA, Sharkey SW. Improved detection of minor ischemic myocardial injury with measurement of serum cardiac troponin I. *Clin Chem* 1997;43:2047-51.
450. Polanczyk CA, Lee TH, Cook EF, et al. Cardiac troponin I as a predictor of major cardiac events in emergency department patients with acute chest pain. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:8-14.
451. Solomon DH, Stone PH, Glynn RJ, et al. Use of risk stratification to identify patients with unstable angina likeliest to benefit from an invasive versus conservative management strategy. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:969-76.
452. Okamoto K, Takano M, Sakai S, et al. Elevated troponin T levels and lesion characteristics in non-ST-elevation acute coronary syndromes. *Circulation* 2004;109:465-70.
453. Ohtani T, Ueda Y, Shimizu M, et al. Association between cardiac troponin T elevation and angiographic morphology of culprit lesion in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2005;150:227-33.
454. Kurz K, Giannitsis E, Zehelein J, Katus HA. Highly sensitive cardiac troponin T values remain constant after brief exercise- or pharmacologic-induced reversible myocardial ischemia. *Clin Chem* 2008;54:1234-8.

455. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuyzen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J* 2001;141:985-91.
456. Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, et al. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clin Chem* 2003;49:581-5.
457. van der Zee PM, Verberne HJ, van Straalen JP, et al. Ischemia-modified albumin measurements in symptom-limited exercise myocardial perfusion scintigraphy reflect serum albumin concentrations but not myocardial ischemia. *Clin Chem* 2005;51:1744-6.
458. Sbarouni E, Georgiadou P, Theodorakis GN, Kremastinos DT. Ischemia-modified albumin in relation to exercise stress testing. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2482-4.
459. Foote RS, Pearlman JD, Siegel AH, Yeo KT. Detection of exercise-induced ischemia by changes in B-type natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1980-7.
460. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, et al. Acute changes in circulating natriuretic peptide levels in relation to myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1988-95.
461. Win HK, Chang SM, Raizner M, et al. Percent change in B-type natriuretic peptide levels during treadmill exercise as a screening test for exercise-induced myocardial ischemia. *Am Heart J* 2005;150:695-700.
462. McCord J, Nowak RM, Jacobsen G, et al. B-Type Natriuretic Peptide Levels in Patients in the Emergency Department With Possible Heart Failure and Previous Stable Angina Pectoris and/or Healed Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2005;96:1370-3.
463. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1988;12:56-62.
464. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease? *Circulation* 1988;78:1157-66.
465. Jespersen L, Hvelplund A, Abildstrom SZ, et al. Stable angina pectoris with no obstructive coronary artery disease is associated with increased risks of major adverse cardiovascular events. *Eur Heart J* 2012;33:734-44.
466. Marzilli M, Merz CN, Boden WE, et al. Obstructive coronary atherosclerosis and ischemic heart disease: an elusive link! *J Am Coll Cardiol* 2012;60:951-6.
467. Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, et al. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med* 2007;356:1503-16.
468. Schomig A, Mehilli J, de Waha A, Seyfarth M, Pache J, Kastrati A. A meta-analysis of 17 randomized trials of a percutaneous coronary intervention-based strategy in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:894-904.
469. Trikalinos TA, Alsheikh-Ali AA, Tatsioni A, Nallamothu BK, Kent DM. Percutaneous coronary interventions for non-acute coronary artery disease: a quantitative 20-year synopsis and a network meta-analysis. *Lancet* 2009;373:911-8.
470. Ambrose JA. In search of the "vulnerable plaque": can it be localized and will focal regional therapy ever be an option for cardiac prevention? *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1539-42.
471. Aziz K, Berger K, Claycombe K, Huang R, Patel R, Abela GS. Noninvasive detection and localization of vulnerable plaque and arterial thrombosis with computed tomography angiography/positron emission tomography. *Circulation* 2008;117:2061-70.
472. Vancraeynest D, Pasquet A, Roelants V, Gerber BL, Vanoverschelde JL. Imaging the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1961-79.
473. Camici PG, Rimoldi OE, Gaemperli O, Libby P. Non-invasive anatomic and functional imaging of vascular inflammation and unstable plaque. *Eur Heart J* 2012;33:1309-17.
474. Rathore S, Terashima M, Matsuo H, et al. Association of coronary plaque composition and arterial remodelling: a optical coherence tomography study. *Atherosclerosis* 2012;221:405-15.
475. Lindahl B. Are there really biomarkers of vulnerable plaque? *Clin Chem* 2012;58:151-3.
476. Saenger AK, Jaffe AS. Biomarkers of vulnerable plaque: can better ways to quantitate Pregnancy-Associated Plasma Protein A (PAPP-A) help? *Clin Biochem* 2012;45:517-8.
477. Berger R, Moertl D, Peter S, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide-guided intensive patient management in addition to multidisciplinary care in chronic heart failure. A 3-arm, prospective, randomized pilot study. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:645-53.

478. Niizuma S, Iwanaga Y, Yahata T, et al. Impact of left ventricular end-diastolic wall stress on plasma B-type natriuretic peptide in heart failure with chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Clin Chem* 2009;55:1347-53.
479. Ikeda T, Matsuda K, Itoh H, et al. Plasma levels of brain and atrial natriuretic peptides elevate in proportion to left ventricular end-systolic wall stress in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* 1997;133:307-14.
480. Panteghini M, Gerhardt W, Apple FS, Dati F, Ravkilde J, Wu AH. Quality specifications for cardiac troponin assays. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:175-9.
481. Apple FS, Jesse RL, Newby LK, et al. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice Guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007;53:547-51.
482. Schulz O, Schimke I. [Recent assay developments for cardiac troponins. Are we sensitive enough to recognize the high sensitives?]. *Herz* 2008;33:526-31.
483. Jaffe AS. Chasing troponin: how low can you go if you can see the rise? *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1763-4.
484. Nadir MA, Rekhraj S, Wei L, et al. Improving the primary prevention of cardiovascular events by using biomarkers to identify individuals with silent heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:960-8.
485. Katus HA, Giannitsis E, Jaffe AS. Interpreting changes in troponin—clinical judgment is essential. *Clin Chem* 2012;58:39-43.
486. Del Carlo CH, O'Connor CM. Cardiac troponins in congestive heart failure. *Am Heart J* 1999;138:646-53.
487. Parodi O, De Maria R, Oltrona L, et al. Myocardial blood flow distribution in patients with ischemic heart disease or dilated cardiomyopathy undergoing heart transplantation. *Circulation* 1993;88:509-22.
488. Shannon RP, Komamura K, Shen YT, Bishop SP, Vatner SF. Impaired regional subendocardial coronary flow reserve in conscious dogs with pacing-induced heart failure. *Am J Physiol* 1993;265:H801-9.
489. Schulz O, Reinicke M, Kramer J, et al. Pregnancy-associated plasma protein A values in patients with stable cardiovascular disease: use of a new monoclonal antibody-based assay. *Clin Chim Acta* 2011;412:880-6.
490. Masson S, Anand I, Favero C, et al. Serial Measurement of Cardiac Troponin T Using a Highly Sensitive Assay in Patients with Chronic Heart Failure: Data from Two Large Randomized Clinical Trials. *Circulation* 2011.
491. Cheng W, Li B, Kajstura J, et al. Stretch-induced programmed myocyte cell death. *J Clin Invest* 1995;96:2247-59.
492. Moorjani N, Ahmad M, Catarino P, et al. Activation of apoptotic caspase cascade during the transition to pressure overload-induced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1451-8.
493. Agosto M, Azrin M, Singh K, Jaffe AS, Liang BT. Serum caspase-3 p17 fragment is elevated in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: a novel observation. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:220-1.
494. Smith JG, Newton-Cheh C, Hedblad B, et al. Distribution and correlates of midregional proadrenomedullin in the general population. *Clin Chem* 2009;55:1593-5.
495. Nagaya N, Satoh T, Nishikimi T, et al. Hemodynamic, renal, and hormonal effects of adrenomedullin infusion in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2000;101:498-503.
496. Dhillon OS, Khan SQ, Narayan HK, et al. Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin levels taken on admission and discharge in non-ST-elevation myocardial infarction: the LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide) II study. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:125-33.
497. Maisel A, Mueller C, Nowak RM, et al. Midregion Prohormone Adrenomedullin and Prognosis in Patients Presenting With Acute Dyspnea Results From the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) Trial. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1057-67.
498. Sabatine MS, Morrow DA, Higgins LJ, et al. Complementary roles for biomarkers of biomechanical strain ST2 and N-terminal prohormone B-type natriuretic peptide in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circulation* 2008;117:1936-44.
499. Bartunek J, Delrue L, Van Durme F, et al. Nonmyocardial production of ST2 protein in human hypertrophy and failure is related to diastolic load. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:2166-74.
500. Pascual-Figal DA, Ordóñez-Llanos J, Tornel PL, et al. Soluble ST2 for predicting sudden cardiac death in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2174-9.
501. Shah KB, Kop WJ, Christenson RH, et al. Prognostic Utility of ST2 in Patients with Acute Dyspnea and Preserved Left Ventricular Ejection Fraction. *Clin Chem* 2011;57:874-82.
502. Januzzi JL, Jr., Rehman S, Mueller T, van Kimmenade RR, Lloyd-Jones DM. Importance of biomarkers for long-term mortality prediction in acutely dyspneic patients. *Clin Chem* 2010;56:1814-21.

503. Wang TJ, Wollert KC, Larson MG, et al. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress: the framingham heart study. *Circulation* 2012;126:1596-604.
504. Norozi K, Buchhorn R, Yasin A, et al. Growth differentiation factor 15: an additional diagnostic tool for the risk stratification of developing heart failure in patients with operated congenital heart defects? *Am Heart J* 2011;162:131-5.
505. Daniels LB, Clopton P, Laughlin GA, Maisel AS, Barrett-Connor E. Growth-differentiation factor-15 is a robust, independent predictor of 11-year mortality risk in community-dwelling older adults: the rancho bernardo study. *Circulation* 2011;123:2101-10.
506. Gerszten RE, Carr SA, Sabatine M. Integration of proteomic-based tools for improved biomarkers of myocardial injury. *Clin Chem* 2010;56:194-201.
507. Gerszten RE, Asnani A, Carr SA. Status and prospects for discovery and verification of new biomarkers of cardiovascular disease by proteomics. *Circ Res* 2011;109:463-74.
508. Ping P, Chan DW, Srinivas P. Advancing cardiovascular biology and medicine via proteomics: Opportunities and present challenges of cardiovascular proteomics. *Circulation* 2010;121:2326-8.
509. Piran S, Liu P, Morales A, Hershberger RE. Where genome meets phenome: rationale for integrating genetic and protein biomarkers in the diagnosis and management of dilated cardiomyopathy and heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:283-9.
510. Shah SH, Kraus WE, Newgard CB. Metabolomic profiling for the identification of novel biomarkers and mechanisms related to common cardiovascular diseases: form and function. *Circulation* 2012;126:1110-20.
511. Scirica BM. Acute coronary syndrome: emerging tools for diagnosis and risk assessment. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1403-15.
512. Heidecker B, Kittleson MM, Kasper EK, et al. Transcriptomic biomarkers for the accurate diagnosis of myocarditis. *Circulation* 2011;123:1174-84.
513. Fazi F, Nervi C. MicroRNA: basic mechanisms and transcriptional regulatory networks for cell fate determination. *Cardiovasc Res* 2008;79:553-61.
514. Montgomery RL, Hullinger TG, Semus HM, et al. Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure. *Circulation* 2011;124:1537-47.
515. Ramani R, Vela D, Segura A, et al. A micro-ribonucleic Acid signature associated with recovery from assist device support in 2 groups of patients with severe heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:2270-8.
516. Gurha P, Abreu-Goodger C, Wang T, et al. Targeted Deletion of MicroRNA-22 Promotes Stress-Induced Cardiac Dilation and Contractile Dysfunction. *Circulation* 2012;125:2751-61.
517. O'Sullivan JF, Martin K, Caplice NM. Microribonucleic acids for prevention of plaque rupture and in-stent restenosis: "a finger in the dam". *J Am Coll Cardiol* 2011;57:383-9.
518. Jaffe AS. Key issues in the developing synergism between cardiovascular imaging and biomarkers. *Clin Chem* 2008;54:1432-42.
519. Wang TJ. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation* 2011;123:551-65.
520. Truong QA, Bayley J, Hoffmann U, et al. Multi-marker strategy of natriuretic peptide with either conventional or high-sensitivity troponin-T for acute coronary syndrome diagnosis in emergency department patients with chest pain: from the "Rule Out Myocardial Infarction using Computer Assisted Tomography" (ROMICAT) trial. *Am Heart J* 2012;163:972-979 e1.
521. de Lemos JA, McGuire DK. Biomarkers in clinical trials: can we move from fortune telling to disease profiling? *Circulation* 2011;124:663-5.

## Danksagung

Ich danke den Lehrern, die mich durch ihr Vorbild, ihr Denken zur wissenschaftlichen Arbeit inspirierten – v.a. die Herren Professores Wladimir A. Almasov, Hermann Fiehring, Rainer Dietz und Allan S. Jaffe.

Ich danke denen, die mich bei dieser Arbeit begleiteten und unterstützten – v.a. Prof. Allan S. Jaffe, Prof. Jeanette Schulz-Menger, Debora Brala, Markus Reinicke, Prof. Ingolf Schimke und Prof. Wilhem Haverkamp.

Zutiefst danke ich denen, für die ich, in Verantwortung stehend, zu wenig Zeit fand und die mir dennoch verziehen – meine Kinder Julia und Alexander, meine Eltern Marianne und Hans-Georg Schulz.

## Erklärung

§4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

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

---

Ort, Datum

---

Unterschrift



# **Habilitationsschrift**

## **Die Beurteilung der Belastungstoleranz des geschädigten Myokards anhand von Biomarkern**

Dr. med. Olaf Schulz

Dr. med. Olaf Schulz **Habilitationsschrift**