

Die Bedeutung der Myeloperoxidase als positiver Prädiktor für die Mortalität nach akutem Koronarsyndrom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Christian Koch
aus Limburg

Gießen 2012

Aus dem medizinischen Zentrum für Innere Medizin

Klinik für Kardiologie und Angiologie

Direktor: Professor Dr. med. Christian Hamm

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen

1. Gutachter: Prof. Dr. med. M. Heidt

2. Gutachter: Prof. Dr. med. C. Hamm

Tag der Disputation: 09.11.2012

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
1.1	ALLGEMEINE EINFÜHRUNG	1
1.2	ARTERIOSKLEROSE UND KORONARE HERZERKRANKUNG	1
1.3	PATHOPHYSIOLOGIE DER ARTERIOSKLEROSE	2
1.4	INFLAMMATION UND KHK	3
1.5	ETABLIERTE KARDIALE BIOMARKER	5
1.6	THERAPIE DES ACS	6
1.7	RISIKOSTRATIFIZIERUNG VON PATIENTEN MIT ACS	7
1.8	MYELOPEROXIDASE UND KHK	8
1.8.1	LIPOPROTEINMODIFIKATION DURCH MYELOPEROXIDASE	10
1.8.2	STICKSTOFFMONOXID-STOFFWECHSEL UND ENDOTHELIALE DYSFUNKTION	11
1.8.3	PLAQUEINSTABILITÄT, PLAQUERUPTUR UND THROMBOGENITÄT	11
1.8.4	VENTRIKULÄRES REMODELLING	12
1.8.5	LIMITATIONEN VON MPO ALS KARDIALEM MARKER	13
1.9	MYELOPEROXIDASE UND RISIKOSTRATIFIZIERUNG DER KHK	14
2	<u>ZIELSETZUNG DER ARBEIT</u>	16
3	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	17
3.1	STUDIENDESIGN	17
3.2	KOLLEKTIV	17
3.2.1	EINSCHLUSSKRITERIEN	17
3.2.2	AUSSCHLUßKRITERIEN	17
3.3	STUDIENVERLAUF	17
3.3.1	AUFNAHME IM HERZKATHETER	18
3.3.2	KLINISCHER VERLAUF	18
3.3.3	6 MONATS KONTROLLE	18
3.4	MATERIAL	19
3.4.1	GERÄTE	19
3.4.2	REAGENZIEN	19
3.4.3	SOFTWARE	20
3.5	DATENERHEBUNG UND MESSMETHODEN	20

3.5.1	MYELOPEROXIDASE	20
3.5.2	ERHEBUNGSBOGEN	22
3.5.3	KLINISCHER VERLAUFSBOGEN	23
3.5.4	6 MONATS-KONTROLLBOGEN	24
3.6	STATISTIK	25
4	<u>ERGEBNISSE</u>	26
4.1	BASISDATEN	26
4.2	ZEITLICHER VERLAUF DER MPO-PLASMAKONZENTRATIONEN	27
4.3	VERGLEICH DER MPO-PLASMAKONZENTRATION ZWISCHEN ERSTER UND ZWEITER BLUTENTNAHME	29
4.4	GEMESSENE MPO-PLASMAKONZENTRATION UND KARDIALES RISIKO	31
4.5	MORTALITÄT BEI ERHÖHTEN MPO-WERTEN	33
4.6	MULTIVARIANZANALYSE	38
5	<u>DISKUSSION</u>	39
5.1	INFLAMMATION, PLAQUERUPTUR UND FREISETZUNGSKINETIK	39
5.2	DER EINFLUSS VON HEPARIN AUF DIE MPO	41
5.3	DIE PROGNOTISCHE BEDEUTUNG DER MPO BEIM ACS	42
5.4	LIMITATIONEN	44
5.5	AUSBLICK UND THERAPEUTISCHE ANSÄTZE	44
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	47
7	<u>SUMMARY</u>	48
8	<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	49
9	<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	51
10	<u>TABELLENVERZEICHNIS</u>	52
11	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	53
12	<u>ANHANG</u>	61
12.1	EIDESSTÄTTLICHE ERKLÄRUNG	61

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

Herz-Kreislauf-Erkrankungen und ihre Folgen, wie die koronare Herzkrankheit (KHK), Herzinfarkte und zerebrale Insulte sind in den westlichen Industrieländern die häufigste Todesursache (Mathers, Lopez et al. 2006). Im Jahr 2005 verstarben in Deutschland insgesamt 367.361 Menschen an den Folgen einer Herz-Kreislauf-Erkrankung. Dabei lag die Anzahl der akuten Myokardinfarkte bei 61.056 (7,4 %). 80.998 (9,8 %) waren auf eine chronisch ischämische Herzkrankheit und 47.939 (5,8 %) auf eine Herzinsuffizienz zurückzuführen (Statistisches Bundesamt 2010).

1.2 Arteriosklerose und koronare Herzerkrankung

Eine der Hauptursachen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist die Arteriosklerose. Im Jahre 2001 waren in Deutschland über 250000 Todesfälle direkt oder indirekt auf die Arteriosklerose zurückzuführen (Henderson 1996; Mathers, Lopez et al. 2006; Statistisches Bundesamt 2010).

Aufgrund dieser enormen klinischen Bedeutung nimmt die Pathogenese der Arteriosklerose seit jeher in der medizinischen Forschung einen hohen Stellenwert ein. So entwickelten sich im Laufe der Zeit unterschiedliche Hypothesen zur Entstehung dieser Krankheit.

Unter dem Begriff der koronaren Herzkrankheit (KHK) werden Krankheitsbilder zusammengefasst, die überwiegend durch eine Koronarsklerose und den dadurch bedingten myokardialen Sauerstoffmangel hervorgerufen werden. Neben dem akuten Myokardinfarkt zählen dazu die Angina pectoris (AP), die Koronarinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen, Wandbewegungsstörungen, Papillarmuskeldysfunktionen, sowie der plötzliche Herztod. Durch ihre pathogenetischen Gemeinsamkeiten werden unter dem Begriff des akuten Koronarsyndroms der Myokardinfarkt mit elektrokardiographisch gemessenen ST-Streckenhebungen (STEMI), der Myokardinfarkt ohne ST-Streckenhebungen (NSTEMI) und die instabile AP zusammengefasst (Weber

and Hamm 2007). Letztere werden auch als akute Koronarsyndrome ohne ST-Streckenhebung (NSTE-ACS) bezeichnet.

Bei der AP handelt es sich um ein durch eine Lumeneinengung der Koronararterie um etwa 60 % bis 75 % hervorgerufenen, gleichartig wiederkehrenden, retrosternales Druckgefühl oder thorakale Schmerzen. Diese, zu Beginn meist zeitlich begrenzte, stabile Symptomatik, kann in eine instabile Symptomatik, mit erhöhter Intensität und Frequenz, übergehen und schließlich bei einem totalen Verschluss eines Koronargefäßes zum Absterben des Myokards in diesem Versorgungsgebiet führen. Bedingt durch die wesentlich schlechtere Prognose, ist bei den akuten Koronarsyndromen eine aggressivere Therapie indiziert, als bei Patienten mit stabiler Angina pectoris bei chronischer koronarer Herzkrankheit (KHK) (Silber 2010; Hamm, Bassand et al. 2012). Beim akuten Myokardinfarkt mit ST-Hebungen sollte ohne Zeitverlust eine Reperfusionstherapie eingeleitet werden, um den irreversiblen Untergang von Herzmuskelgewebe so gering wie möglich zu halten (Kushner, Hand et al. 2009). Dieses ist von entscheidender, prognostischer Bedeutung.

Neben der klinischen Symptomatik und dem Elektrokardiogramm (EKG), kommt der Bestimmung der kardialen Marker Creatinkinase (CK), CK-MB, Myoglobin und Troponin eine große Bedeutung in der Diagnostik des akuten Koronarsyndroms (ACS) zu (Galvani, Ferrini et al. 2001). Insbesondere der Nachweis der kardialen Troponine, Troponin I (TNI) und Troponin T (TNT), im Blut wird heute zum Nachweis einer Schädigung der Herzmuskelzellen eingesetzt. Definitionsgemäß liegt ein Myokardinfarkt bei signifikanter Erhöhung der kardialen Marker vor (Alpert, Thygesen et al. 2008; Kushner, Hand et al. 2009).

Neben den etablierten kardialen Markern haben neuere Biomarker für vaskuläre Inflammation, Thrombozyten-Aktivierung, oxidativen Stress sowie der neurohormonellen Aktivierung, in den letzten Jahren großes wissenschaftliches Interesse erlangt und wesentlich zum erweiterten pathophysiologischen Verständnis des ACS beigetragen (Ridker, Brown et al. 2004).

1.3 Pathophysiologie der Arteriosklerose

Die pathophysiologische Grundlage der KHK und des ACS bildet nach dem heutigen Verständnis die Arteriosklerose. Heutzutage gelten arterielle Hypertonie,

Übergewicht, Hyperlipidämie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Rauchen, sowie genetische und konstitutionelle Faktoren als Risikofaktoren für die Entwicklung der Arteriosklerose (Schettler and Morl 1978).

Die Entstehung arteriosklerotischer Gefäßkrankheiten, von denen man bis vor wenigen Jahren annahm, dass sie die Folgen einer degenerativen Erkrankung höheren Lebensalter mit zunehmender Verfettung und nachfolgender Verkalkung der Arterien seien, scheint nach neueren Erkenntnissen vielmehr eine zentrale inflammatorische Komponente zu beinhalten (Ross 1999; Libby, Ridker et al. 2002; Libby 2006; Yip, Sun et al. 2006).

Dabei folgt der initialen Endothelverletzung eine Migration von Makrophagen in die subendotheliale Zonen der Gefäßwand, mit nachfolgender Anreicherung von Lipiden, durch deren Aufnahme die Monozyten als Schaumzellen imponieren (Faggiotto and Ross 1984). Das histologische Korrelat bilden dabei die sogenannten „fatty-streaks“, welche man als streifige Fetteinlagerungen in der Gefäßwand erkennen kann (Faggiotto and Ross 1984). Dabei stimulieren verschiedenste, von Endothelzellen und Monozyten produzierte Wachstumsfaktoren, die Proliferation von glatten Muskelzellen sowie die Synthese von extrazellulärer Matrix wie Kollagen und Proteoglykanen (Mach, Sauty et al. 1999; Libby, Ridker et al. 2002). Die Folge ist die Entstehung eines aus Stoffwechselprodukten, nekrotischem Material und Verkalkungen gebildeten fibrösen Plaques (Stemme, Faber et al. 1995; Libby, Ridker et al. 2002).

Das weitere Wachstum führt letztendlich zur Stenosierung des Gefäßes (Libby 2000). Kennzeichnend für das Fortschreiten der Erkrankung sind die zunehmende Instabilität des Plaques und die daraus resultierende Ruptur mit Aktivierung von Thrombozyten und der Kaskade der plasmatischen Gerinnung (Klein 2005). Dieser Vorgang verläuft stufenlos und erklärt somit die fließenden Übergänge zwischen instabiler Angina zum NSTEMI bzw. STEMI.

1.4 Inflammation und KHK

In den letzten Jahren richtete sich der Focus in der Erforschung der KHK auf die inflammatorischen Vorgänge bei der Arteriosklerose und KHK (Ross 1999). Dabei zeigte sich, dass neben den rein azellulären Lipidablagerungen auch inflammatorische

und immunologische Prozesse eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese der Arteriosklerose spielen (Young, Libby et al. 2002).

Die Inflammation scheint nicht nur bei der Plaquentstehung, sondern auch bei dessen Ruptur und der Entwicklung von thrombotischen Komplikationen eine entscheidende Rolle zu spielen (Libby 2006). Die zellulären Interaktionen zwischen Endothel und Leukozyten stellen dabei einen wesentlichen Faktor dar (Nagel, Resnick et al. 1994; Young, Libby et al. 2002).

Bereits zu Beginn der Artherogenese vermittelt das Endothel, durch selektive Adhäsionsmoleküle an der Zelloberfläche die Bindung von Leukozyten an die Gefäßwand. Eines der Adhäsionsmoleküle, welches Entzündungszellen wie Monozyten und T-Lymphozyten bindet, die sich in frühen arteriosklerotischen Läsionen finden, ist das vaskulärer Zelladhäsionsmolekül 1 (VCAM 1) (Nagel, Resnick et al. 1994; Libby, Ridker et al. 2002). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass auch Wachstumsfaktoren und Zytokine an der Atherogenese beteiligt sind (Robbie and Libby 2001). Dabei scheinen besonders Zytokine die Entstehung der Arteriosklerose zu koordinieren und damit die Ausbildung komplexer arteriosklerotischer Plaques zu fördern (Gordon, Reidy et al. 1990; Young, Libby et al. 2002).

Es wurde bereits gezeigt, dass es im Rahmen der inflammatorischen Prozesse zu einer lokalen Aktivierung von polymorphkernigen Granulozyten (PNM) kommt (De Servi, Mazzone et al. 1995; Naruko, Ueda et al. 2002; Libby 2006), deren vermehrte Degranulierung man während des ACS beobachtet (Jaremo, Hansson et al. 2000; Buffon, Biasucci et al. 2002). So gewinnt die Suche nach den Triggern für die inflammatorischen Reaktionen an Bedeutung und könnte möglicherweise einen Ansatzpunkt für neue Therapien darstellen (Libby, Ridker et al. 2002). Durch die Aktivierung und nachfolgende Degranulierung der PNM kommt es zur Freisetzung der, während der Granulozytenreifung synthetisierten und in sekretorischen Granula gespeicherten, MPO in den Extrazellulärraum (Klebanoff 1999).

Die genaue Bedeutung von MPO für die inflammatorische Komponente des ACS gilt es jedoch in weiterführenden Untersuchungen zu ergründen. Erste Ansätze durch Kombination von MPO mit anderen inflammatorischen Markern wie z.B. dem C-Reaktiven Protein (CRP) lieferten dabei teilweise widersprüchliche Ergebnisse.

1.5 Etablierte kardiale Biomarker

In der klinischen Routine werden seit Jahren biologische Marker zur Beurteilung und Differenzierung von Infarktpatient eingesetzt. Der koronaren Herzerkrankung liegen verschiedene pathophysiologische Veränderungen zugrunde. Zur Erkennung der koronaren Herzerkrankung werden Marker für Gefäßverletzungen, Thrombusbildung, Inflammation und Ischämie genutzt. Bei einem akuten Myokardinfarkt spielen die Marker des myokardialen Zellunterganges die wichtigste Rolle. Dazu gehören Kreatinkinase (CK), sowie das Isoenzym CK-MB, TNI, TNT und Myoglobin (Hamm 2002; Ridker, Brown et al. 2004; Weber and Hamm 2008). TNI und TNT sind Bestandteile des Troponinkomplexes, welcher sich auf dem dünnen Filament der kontraktilen Muskelfasern befindet. Die Diskriminierung gegenüber den in der Skelettmuskulatur vorkommenden Troponinen, erfolgt durch ihre spezifischen Aminosäuresequenzen, die durch Antikörper nachgewiesen werden können. Bei einem myokardialen Zelluntergang sind erhöhte Troponinkonzentrationen nach etwa 2 bis 3 Stunden, bei etwa einem Drittel der Patienten, im Blut nachweisbar. Diese bleiben im Verlauf etwa 7-10 Tage erhöht. Die Vorteile der Troponine als kardiale Marker bestehen in ihrer hohen Spezifität für Herzmuskelzellen und der Möglichkeit selbst ältere Infarkte zu detektieren und eine Aussage über die Infarktgröße treffen zu können. (Galvani, Ferrini et al. 2001; Hamm 2004; Weber and Hamm 2007). Eine Detektion eines neuerlichen Infarktes, nach erfolgtem kardialen Ereignis, ist jedoch nur mit zeitlicher Latenz möglich.

Ein weiterer Marker, ist die CK, welche etwa vier Stunden nach Ischämiebeginn nachweisbar ist. Die CK ist jedoch weniger spezifisch auf myokardiale Ischämien, da sie sich auch in der Skelettmuskulatur findet. Aus diesem Grund wird das Isoenzym CK-MB bestimmt, das ausschließlich im Herzmuskel vorkommt. Beträgt der Anteil der CK-MB an der CK-Gesamtkonzentration mehr als sechs Prozent, kann auf eine Schädigung des Herzmuskels geschlossen werden.

Das Myoglobin ist mit 2 bis 4 Stunden ein früher Marker des myokardialen Zellunterganges, mit einer hohen Sensitivität. Da es jedoch gleichermaßen in Herz- und Gefäßmuskel vorkommt, besitzt es nur eine geringe Spezifität. Deshalb sollte es in der klinischen Routine nie isoliert betrachtet werden.

Neben der Bestimmung der Nekrosemarker kann die Bestimmung des Brain Natriuretic Peptide (BNP), bzw. N-Terminal-pro Brain Natriuretic Peptide (NT-proBNP) zur Risikostratifizierung beim akuten Koronarsyndrom eingesetzt werden (Stein and Levin 1998; Markham and de Lemos 2005; Morrow, Sabatine et al. 2008; Weber and Hamm 2008; Ang, Wei et al. 2009).

Ebenfalls werden Entzündungsmarker zur Risikostratifizierung eingesetzt. Gerade das hoch sensitive C-reaktive Protein (hsCRP) scheint dabei zur Risikoabschätzung bei Patienten mit kardialem Risiko geeignet (Lenderink, Boersma et al. 2003; Apple, Pearce et al. 2007; Morrow, Sabatine et al. 2008; Weber and Hamm 2008; Heslop, Frohlich et al. 2010).

1.6 Therapie des ACS

Die Empfehlungen zur Therapie des akuten Koronarsyndroms sind in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie zusammengefasst (Silber 2010; Hamm, Bassand et al. 2011). Dabei wird in den Therapieempfehlungen grundsätzlich zwischen Patienten mit STEMI und NSTEMI im 12-Kanal-EKG unterschieden (Bassand, Hamm et al. 2007; Kushner, Hand et al. 2009; Silber 2010; Hamm, Bassand et al. 2011).

Die prähospitalen medikamentöse Therapie setzt dabei zum einen auf eine Verminderung des kardialen Sauerstoffverbrauchs, sowie auf die Hemmung der Thrombozytenaggregation (Kushner, Hand et al. 2009). Bei Patienten mit einem transmuralen Myokardinfarkt sollte schnellstmöglich eine Revaskularisierung durchgeführt werden (Kushner, Hand et al. 2009). Dabei unterscheidet man zwischen der perkutanen Koronarintervention (PCI) und der systemische Thrombolysetherapie.

Die systemische Thrombolysetherapie stellt heutzutage in Deutschland auf Grund eines gut ausgebauten Netzes von Herzkatheterlaboren mit 24-stündiger Bereitschaft und einem in Studien deutlicher gezeigten Überlebensvorteil der PCI (Tubaro and Sonia Petronio 2009) eine Rarität dar (Widimsky, Wijns et al. 2010). Dabei ist die Zeit von Symptombeginn bis zur Revaskularisierungstherapie ein wichtiger prognostischer Faktor (Inglese and Fantoni 2010).

Andererseits bedürfen Patienten mit einem NSTEMI oder einer instabilen Angina pectoris einer eindeutigen Risikostratifizierung, welche sich aus Symptomatik und kardiovaskulären Risikofaktoren zusammensetzt (Hamm, Bassand et al. 2011). Die Empfehlungen sehen vor, dass auch bei schwerer und konservativ therapierefraktärer Symptomatik eine Revaskularisierung innerhalb von zwei Stunden durchgeführt werden sollte und Patienten mit hohem Risikoprofil innerhalb von 72 Stunden koronarangiographiert werden sollten (Hamm, Bassand et al. 2011). Ebenso sollte eine weiterführende Therapie mittels Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonisten aufgrund der möglichen Nebenwirkungen nur Patienten mit einem hohem Risikoprofil vorbehalten bleiben (Nieuwlaat, Vermeer et al. 2004).

Eine weitere therapeutische Option stellt die aortokoronare Bypassoperation (ACB) dar. Die Indikationsstellung erfolgt hierbei in enger Kooperation zwischen Herzchirurgen und intervenziellen Kardiologen und orientiert sich an den derzeit gültigen Leitlinien. Die angiographisch gesicherte koronare 3 Gefäßkrankheit, sowie eine Hauptstammstenose von mehr als 50% stellen die häufigsten Operationsindikationen dar (Aupart, Neville et al. 2003).

Ebenso stellen frustrane Dilatationsversuche, wie auch unvorhergesehene Komplikationen während einer perkutanen transluminalen coronaren Angioplastie (PTCA), wie z.B. Dissektion einer Koronararterie mit drohendem Verschluss, Perforation und folgender Perikardtamponade, eine Operationsindikation dar. Weiterhin gelten In-Stent-Restenosen und kardiale Begleiterkrankungen, wie z.B. Herzklappenerkrankungen, Karotisstenosen und Vorderwandaneurysmen als Indikation zur operativen Versorgung (Aupart, Neville et al. 2003). Bei der Wahl der Operationsmethode stehen zum einen die klassische Technik mit Anwendung einer extrakorporalen Zirkulation und die sogenannte Off-Pump Methode zur Verfügung bei deren Anwendung am schlagenden Herzen operiert wird.

1.7 Risikostratifizierung von Patienten mit ACS

Zur Erfassung von Risikopatienten werden heutzutage im klinischen Alltag Marker für den kardialen Zelluntergang, Troponin I, Myoglobin und CKMB, eingesetzt (Weber and Hamm 2007; Jolobe 2008; Weber and Hamm 2008). Diese zeigen jedoch gerade bei Patienten mit NSTEMI nur eine unvollständige Einschätzung des akuten

Risikos, sowie der Langzeitprognose (Bhatt, Roe et al. 2004; Yan, Yan et al. 2007). Dies führte zur Einführung von Risikoscores welche durch Kombination von Risikofaktoren, klinischen Symptomen und Laborwerten eine bessere Risikobewertung erlauben.

Gerade bei Patienten mit NSTEMI bieten der Global Registry of Coronary Events (GRACE) Score, der Thrombolysis In Myocardial Infarction (TIMI) Score und der Receptor Suppression Using Integrilin Therapy Trial einen erweiterten prognostischen Wert (de Araujo Goncalves, Ferreira et al. 2005). So konnte gezeigt werden, dass der GRACE-Score in der Lage ist, die Mortalität, abhängig von der Form des ACS, über einen Zeitraum von 6 Monaten abzuschätzen (Eagle, Lim et al. 2004). Jedoch scheint bisher keiner der Risikoscores ein umfassendes Bild zu liefern. Gerade bei Patienten mit hohem Risiko scheinen die Risikoscores nur unvollständige Prognosen abgeben zu können (Gale, Manda et al. 2009).

Auch wurde gezeigt, dass der prognostische Wert nach ACS durch die Hinzunahme weiterer Parameter, wie Begleiterkrankungen und linksventrikulärer Ejektionsfraktion (LVEF), erhöht werden kann (Singh, Reeder et al. 2002). Jedoch fehlte bislang ein einfach zu bestimmender kardialer Marker mit hohem prognostischen Wert, welcher für alle Formen des ACS eine ausreichende prognostische Stärke besitzt.

1.8 Myeloperoxidase und KHK

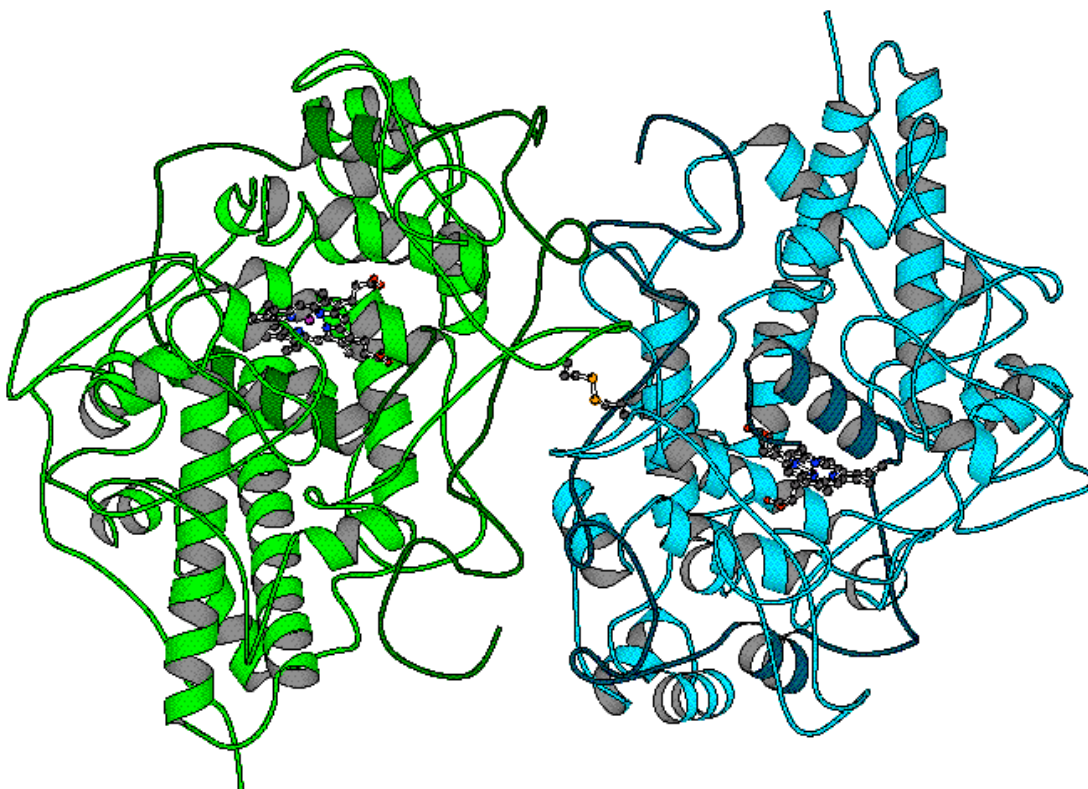
Die Myeloperoxidase (MPO) ist ein 150 kD großes, von aktivierten polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PNM) sezerniertes Enzym und wurde erstmals 1920 beschrieben (Graham 1920). Das Enzym wird von einem einzelnen Gen mit einer Größe von 11 kb kodiert, welches 11 Introns und 12 Exons enthält (Yamada, Hur et al. 1987). Das Gen ist lokalisiert auf dem langen Arm von Chromosom 17 (Weil, Rosner et al. 1987).

Synthetisiert wird MPO während der Granulozytenreifung im Knochenmark, noch bevor die Zellen die periphere Blutbahn erreichen (Eiserich, Baldus et al. 2002). 95 Prozent der zirkulierenden MPO werden in PNM produziert. Ebenso produzieren diverse Gewebsmakrophagen, wie etwa Kupffer'schen Sternzellen und Zellen der Mikroglia MPO. Es konnte gezeigt werden, dass auch in Nervenzellen von Alzheimer-Patienten MPO exprimiert wird (Green, Mendez et al. 2004). Im ersten Schritt wird

dabei ein 80 kD großes Protein synthetisiert, das durch enzymatische Umwandlung in seine aktive Form überführt wird (Olsen and Little 1984; Pinnix, Guzman et al. 1994; Nauseef, Cogley et al. 1996). Die Speicherung erfolgt in sekretorischen Granula, deren Freisetzung nach Phagozytenaktivierung in den Extrazellulärraum erfolgt (Klebanoff 1970). Während inflammatorischer Prozesse kann es in der systemischen Zirkulation vermehrt nachgewiesen werden (Klebanoff 1999).

Dabei wirkt es zum einen antimikrobiell durch die Freisetzung freier Radikale und katalysiert die Reaktion von Chlorid und Wasserstoff zu Chlorwasserstoff (Hampton, Kettle et al. 1996). Damit scheint es eine wichtige Funktion in der Immunantwort einzunehmen. In den Mittelpunkt des Interesses rückte die MPO nachdem erhöhte Konzentrationen in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen und die Rolle in der Oxygenierung von Lipoproteinen beschrieben wurde (Daugherty, Dunn et al. 1994) (Hazell, Arnold et al. 1996).

Abbildung 1: Die Proteinstruktur der Myeloperoxidase, Promise Database, University of Leeds, 1998.



1.8.1 Lipoproteinmodifikation durch Myeloperoxidase

Bei der Modifikation von Lipoproteinen bildet die MPO hypochlorige Säure (HOCl), ein starkes Oxidans und somit toxisches Molekül gegenüber Bakterien, Viren, Pilzen, Protozoen und Helminthen, gleichzeitig aber auch gegenüber körpereigenen Strukturen (Hazen, Hsu et al. 1996).

Es konnte gezeigt werden, dass die MPO-generierte HOCl auch als Oxidans der low-density-Lipoproteinen (LDL) und high-density-Lipoproteinen (HDL) dient (Hazen and Heinecke 1997; Leeuwenburgh, Hardy et al. 1997). Chloriertes und nitriertes LDL wird bevorzugt von Makrophagen aufgenommen, die sich dadurch zu proatherogenen Schaumzellen differenzieren (Hazen and Heinecke 1997; Leeuwenburgh, Hardy et al. 1997).

Die Anwesenheit von MPO und deren Oxidationsprodukte, der Markersubstanz Chlortyrosin, in arteriosklerotischen Läsionen der Gefäßwände, sowie LDL aus atheromatösen Läsionen konnte mehrfach nachgewiesen werden (Domigan, Charlton et al. 1995; Naruko, Ueda et al. 2002) (Daugherty, Dunn et al. 1994; Sugiyama, Okada et al. 2001; Sugiyama, Kugiyama et al. 2004).

Es wurde gezeigt, dass die MPO als Katalysator bei der Oxygenierung von LDL in der Gefäßwand eine wesentliche Rolle spielt (Hazen and Heinecke 1997). Die Aufnahme der oxidierten LDL-Partikel in die Makrophagen erfolgt durch eine Scavenger-Rezeptor vermittelte Endozytose, wodurch die Schaumzellen entstehen (Podrez, Febbraio et al. 2000).

Des Weiteren spielt die MPO eine wichtige Rolle bei der Modifikation von HDL. Es katalysiert dabei die Reaktion über Nitrifikation und Halogenierung von Thyrosin-Resten in Apolipoprotein A-I (Apo A-I) (Nicholls, Zheng et al. 2005). Dieses behindert die Elimination des Cholesterols aus dem Kreislauf (Bergt, Pennathur et al. 2004). Das Apolipoprotein-A1 ist ebenfalls von der Oxidation betroffen, was zu einem gestörten Cholesteroltransport führt (Bergt, Pennathur et al. 2004).

1.8.2 Stickstoffmonoxid-Stoffwechsel und endotheliale Dysfunktion

Heute ist bekannt, dass die MPO an der Entstehung der endothelialen Dysfunktion, der Generierung atherogener Lipoproteine, Initiation von Atheromen zur Plaqueruptur und zu gestörtem ventrikulären Remodelling beteiligt ist (Nicholls and Hazen 2005; Nicholls and Hazen 2009).

Der Stickstoffmonoxid (NO)-Stoffwechsel stellt dabei einen weiteren Angriffspunkt der MPO dar, da die MPO NO in pathophysiologisch-relevantem Ausmaß oxidiert (Eiserich, Baldus et al. 2002). Durch die mangelnde Bioverfügbarkeit des NO sinkt dessen vasodilatatorischer- sowie antiinflammatorischer Effekt (Abu-Soud and Hazen 2000). Dies konnte für Patienten nach myokardialer Ischämie und Reperfusion gezeigt werden (Baldus, Heitzer et al. 2004). Eine Voraussetzung zur MPO-vermittelten Reduktion der NO-Bioverfügbarkeit bildet hierbei die räumliche Nähe des Enzyms zum sehr kurzlebigen NO-Radikal (Baldus, Heitzer et al. 2004). Die MPO bindet nach Freisetzung aus aktivierten PMN an die Gefäßwand und akkumuliert im subendothelialen Raum (Baldus, Heitzer et al. 2004). Bei seiner Freisetzung muss das endothelial generierte NO diesen Raum passieren (Baldus, Heitzer et al. 2004).

Es konnte gezeigt werden, dass MPO eine besondere Affinität zum Fibronectin der extrazellulären Matrix aufweist, welches daher den Angriffspunkt für die oxidative Veränderungen durch MPO darstellt (Baldus, Eiserich et al. 2001). Weiterhin vermindert die HOCl-vermittelte Chlorierung von L-Arginin, dem Substrat der NO-Synthase, deren Aktivität, was zu einer zusätzlichen Verminderung der NO-Bioverfügbarkeit führt (Zhang, Reiter et al. 2001). Dieses bewirkt eine ausgeprägte Thrombogenität der koronaren Gefäße (Baldus, Heitzer et al. 2004).

1.8.3 Plaqueinstabilität, Plaqueruptur und Thrombogenität

Neben der bedeutenden Rolle der MPO für die Lipoproteinmodifikation und die Endothelschädigung scheint die MPO weiterhin an den Prozessen der Plaquestabilisierung, Plaqueruptur und den akuten koronaren Komplikationen ursächlich beteiligt zu sein (Hazen 2004). Der Myokardinfarkt stellt dabei die pathophysiologische Endstrecke der kardiovaskulären Veränderungen dar.

Dies zeigt sich auch im Nachweis ausgedehnter monozytärer Infiltrate und PMN in rupturierten und thrombosierten Plaques, welche für die MPO Ausschüttung verantwortlich sind (Hazen 2004). Eine Schädigung der extrazellulären Matrix des arteriosklerotischen Plaque erfolgt dabei über HOCl (Fu, Kassim et al. 2003). Die MPO-abhängige HOCl trägt im arteriosklerotischen Plaque durch Aktivierung der Matrixmetalloproteinase-7 mit Initiierung der Aktivierung, Apoptose und Ablösung von Endothelzellen zur Destabilisierung der Matrix und Ruptur des Plaques bei (Sugiyama, Kugiyama et al. 2004).

MPO fördert dabei, neben den wichtigen Funktionen in der Plaquentstehung, auch den Abbau der schützenden Kollagenschicht um den Plaque und erhöht dadurch die Rupturgefahr (Sugiyama, Okada et al. 2001).

Durch Inkubation von endothelialen Zellen mit MPO konnte die vermehrte Expression von tissue-growth-factor und damit eine erhöhte Thrombogenität der Zellen beobachtet werden (Nicholls and Hazen 2005). Dadurch wird der thrombogene Effekt einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit nochmals verstärkt (Nicholls and Hazen 2005).

1.8.4 Ventrikuläres Remodelling

Unter dem Begriff des Remodelling versteht man einen physiologischen Anpassungsprozess im Wachstum, sowie einen pathologischen Prozess z.B. nach Myokardinfarkt. Dabei kommt es zu Umbauprozessen, bei denen Größe, Form, und Funktion des Ventrikels durch mechanische, neurohumorale und genetische Faktoren reguliert werden (Gajarsa and Kloner 2011).

Neben der Bedeutung der MPO in der Entstehung und Ruptur des arteriosklerotischen Plaque ist ein Einfluss der MPO auf das ventrikuläre Remodelling nach ischämischer Schädigung nachweisbar (Askari, Brennan et al. 2003; Vasilyev, Williams et al. 2005).

Dabei kommt es nach Reperfusion des verschlossenen Gefäßes zu einer leukozytären Infiltration mit nachfolgender Inflammation und vermehrter MPO-Ausschüttung durch PMN (Askari, Brennan et al. 2003; Baldus, Heitzer et al. 2004). Diese führt zur Bildung freier Radikale und anderer zytotoxischer Substanzen, die über

eine Schädigung der Ionenkanäle an der Schädigung der myokardialen Kontraktilität mitwirken (Baldus, Heitzer et al. 2004).

Durch weitere Stimulation von PMN erfolgt die MPO abhängige Bildung von Superoxiden, welche in das infarzierte Areal ausgeschüttet werden (Baldus, Heitzer et al. 2004). Des Weiteren katalysiert die MPO die oxidative Inaktivierung von Plasmin-Aktiviator-Inhibitor-I (PAI-1) (Vasilyev, Williams et al. 2005). Die erhöhte Plasminaktivität bewirkt eine Migration von Entzündungszellen in das Infarktareal und eine Abnahme der extrazellulären Matrix. Dies führt zu einer gleichzeitigen Abnahme der ventrikulären Wandstärke, was über eine Erhöhung der Wandspannung langfristig in eine ventrikuläre Dilatation mündet (Askari, Brennan et al. 2003).

Es entsteht eine progrediente Herzinsuffizienz mit verminderter Ejektionsfraktion, sowie die Möglichkeit der Ausbildung von Erregungsleitungsstörungen. Diese Störungen des kardialen Reizleitungssystems können zur Entstehung unterschiedlicher Herzrhythmusstörungen führen und damit das weitere Outcome der Patienten entscheidend beeinflussen.

Untersuchungen an MPO-defizienten Mäusen ergaben, dass die Bildung toxischer Aldehyde durch die MPO-vermittelte Chlorierung von α -Aminosäuren mit einer verstärkten linksventrikulären (LV) Dilatation und einer verschlechterten LV-Funktion in MPO-kompetenten Tieren nach Myokardinfarkt signifikant erhöht war (Vasilyev, Williams et al. 2005).

Weiterhin wurde in klinischen Studien der Einfluss der MPO auf das ventrikuläre Remodelling nach ACS untersucht. Es zeigte sich bei Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie ebenfalls eine Korrelation zwischen erhöhten MPO-Plasmaspiegeln und eingeschränkter LV-Funktion (Rudolph, Rudolph et al. 2007).

1.8.5 Limitationen von MPO als kardialem Marker

Trotz der erwähnten Bedeutung von MPO für die Plaqueentstehung, Plaqueruptur und das ventrikuläre Remodelling ist es bisher nicht gelungen einen direkten Nachweis für die Beteiligung von MPO an der Entstehung der KHK zu liefern.

Im Gegenteil konnte im Experiment an MPO-defizienten Mäusen sogar eine protektive Wirkung gegen die Ausbildung von arteriosklerotischen Plaques gezeigt

werden (Brennan, Anderson et al. 2001). Dies zeigt, dass die genauen Mechanismen bei der Entstehung der Arteriosklerose und KHK noch nicht abschließend verstanden sind.

Ebenso ist MPO kein spezifischer Marker der KHK, da es als Enzym einen Bestandteil der angeborenen Immunantwort darstellt. In Folge dessen führen eine Reihe von Erkrankungen zu einer Erhöhung des MPO-Plasmaspiegels.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Medikamente die zirkulierende MPO-Menge beeinflussen können. Durch Gabe von Heparin kommt es zu einer Freisetzung von MPO aus PMN und in der Folge zu erhöhten MPO-Plasmaspiegeln (Baldus, Rudolph et al. 2006; Li, Keenan et al. 2007). Auch die Art und Durchführung der Blutentnahme (BE), sowie der Entnahmezeitpunkt und die zeitliche Latenz bis zur Verarbeitung können ebenfalls zu unterschiedlichen Ergebnissen beitragen (Shih, Datwyler et al. 2008; Marshall, Nallaratnam et al. 2010; Wendland, Camargo et al. 2010). Die Verarbeitungs- und Lagerungsprozesse, sowie die Auswahl des Blutentnahmesystems zeigen einen deutlichen Einfluss auf die Höhe der gemessenen MPO-Spiegel (Wendland, Camargo et al. 2010).

1.9 Myeloperoxidase und Risikostratifizierung der KHK

Die Studien der letzten Jahre zeigten einerseits, dass MPO eine Bedeutung bei der Erstellung einer Langzeitprognose für Patienten mit ACS zu haben scheint und somit die bereits bestehenden Biomarker durch eine weitere Information ergänzen könnte (Esporcatte, Rey et al. 2007; Mocatta, Pilbrow et al. 2007; Heslop, Frohlich et al. 2010). Andererseits zeigte sich, dass gerade bei Patienten mit akutem Thoraxschmerz ohne ST-Streckenveränderungen, MPO als Marker Patienten mit einem erhöhten Risiko aufzeigen könnte (Esporcatte, Rey et al. 2007).

Durch die prognostischen Lücken der bekannten Risikoscores, wie dem GRACE- oder auch TIMI-Score, könnten kardiale Biomarker eine immer größere Bedeutung bei Langzeitrisikostratifizierung von Patienten mit ACS erlangen (Weber and Hamm 2008; Gale, Manda et al. 2009). Gerade bei Patienten mit NSTEMI lieferten einige Scores in Studien nur ungenügende Ergebnisse (Khalill, Han et al. 2009).

Es konnte jedoch bereits gezeigt werden, dass Patienten mit thorakalem Schmerz und erhöhten MPO-Plasmaspiegeln selbst bei negativem TNI ein erhöhtes Risiko für ein

erneutes kardiovaskuläres Ereignis, sowie eine erhöhte Letalität innerhalb der nächsten 6 Monate bieten, und MPO somit eine diagnostische Ergänzung zu den untersuchten Scores darstellt (Baldus, Heeschen et al. 2003; Brennan, Penn et al. 2003).

Auch bei gesunden Probanden scheinen erhöhte MPO-Werte, unabhängig von klassischen Risikofaktoren, mit einem erhöhten Risiko für kardiale Erkrankungen zu korrelieren (Meuwese, Stroes et al. 2007). Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit erhöhten MPO-Werten, auch angiographisch nachweisbar, ein deutlich erhöhtes Risiko für eine KHK hatten (Zhang, Brennan et al. 2001). Weiterhin konnte gerade für Patienten mit NSTEMI und hohen MPO-Plasmaspiegeln bei Krankenhausaufnahme ein erhöhtes kardiales Risikoprofil nachgewiesen werden (Esporcatte, Rey et al. 2007).

2 Zielsetzung der Arbeit

Aufgrund der erläuterten potentiellen prognostischen Bedeutung von MPO beim ACS und damit eventuell verbundenen therapeutischen Optionen, sowie Rationalisierungsmöglichkeiten der postinterventionellen Nachsorge, haben wir ein Kollektiv von 917 Patienten mit Verdacht auf ACS über 6 Monate beobachtet.

Das Ziel der hier vorgelegten Arbeit war es, die Bedeutung der MPO, bezogen auf die Langzeitrisikostratifizierung beim ACS, genauer zu untersuchen. Hierbei interessierte vor allem die Frage nach einer erhöhten Mortalität im Beobachtungszeitraum bei Patienten mit erhöhten MPO-Plasmaspiegeln am Aufnahme- sowie am Folgetag.

Ebenfalls sollte untersucht werden, wie hoch die Wertigkeit von MPO in Verbindung mit den klassischen kardialen Biomarkern, sowie den kardialen Risikofaktoren ausfällt.

Die Ergebnisse sollen helfen, Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Folgeschäden zu identifizieren und diese in der Folge adäquat zu behandeln.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Zur Evaluierung der prognostischen Bedeutung von MPO wurde ein prospektives, bizenstrisches Studiendesign gewählt. Die eingeschlossenen Patienten wurden hierbei jeweils in der Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim, Abteilung Kardiologie und der Universitätsklinik Giessen; Medizinische Klinik I, Abteilung für Kardiologie, rekrutiert. Eine Genehmigung durch die Ethikkommission der Universität Gießen lag vor (AZ 12/05).

3.2 Kollektiv

Im Rahmen der Studie wurden Initial 917 Patienten eingeschlossen, bei denen an einem der beteiligten Zentren eine Herzkatheteruntersuchung wegen des Verdachts auf das Vorliegen eines akuten Koronarsyndroms durchgeführt wurde. Bei der Auswahl des Patientenkollektivs wurden folgende Ein- und Ausschlusskriterien definiert:

3.2.1 Einschlusskriterien

- Thorakales Schmerzereignis innerhalb der letzten 48 Stunden
- Indikation zur primären PCI bei STEMI bzw. frühinvasiven Diagnostik bei NSTEMI und instabiler Angina
- Schriftliche Einwilligung des Patienten

3.2.2 Ausschlußkriterien

- Fehlendes Einverständnis des Patienten

3.3 Studienverlauf

Die Studiendauer erstreckte sich von Oktober 2004 bis Dezember 2006. Als Untersuchungszeitpunkte wurden der Aufnahmezeitpunkt im Herzkatheterlabor, der

Folgetag (24 Std. nach Aufnahme) und der Follow-Up Zeitpunkt (6 Monate nach Aufnahme) definiert.

3.3.1 Aufnahme im Herzkatheter

Die Patienten wurden in Form einer Notfallaufklärung über Ziele, Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie informiert. Nach unterzeichnen einer schriftlichen Einverständniserklärung wurden die Patienten in die Studie aufgenommen und es erfolgten eine Anamneseerhebung und körperliche Untersuchung, sowie Dokumentation von Körpergröße, Gewicht, Vitalparametern, kardiovaskulären Risikofaktoren, aktueller Symptomatik, Zeitpunkt des Schmerzbeginns, vorheriger Therapie, Aufnahme EKG und Begleiterkrankungen mittels standardisiertem Erhebungsbogen (Abschnitt 3.5.2). Anschließend erfolgte die erste Blutentnahme (BE). Die weitere Behandlung erfolgte nach den Leitlinien zur Behandlung des akuten Koronarsyndroms mit oder ohne ST-Elevation (Smith, Feldman et al. 2006). Die Ergebnisse der nachfolgend durchgeführten Herzkatheteruntersuchung, als auch die der durchgeführten interventionellen Therapie wurden ebenfalls dokumentiert. Die im Erhebungsbogen dokumentierten Daten wurden anschließend in einer mit Microsoft Excel[®] erstellten Datenbank erfasst.

3.3.2 Klinischer Verlauf

Am Folgetag wurde erneut ein ausführliches Aufklärungsgespräch durchgeführt sowie nochmals das Einverständnis der Patienten schriftlich dokumentiert. Im Anschluss erfolgten die zweite BE und eine standardisierte, echokardiographische Untersuchung mit Erhebung der LVEF. Die Ergebnisse, sowie Komplikationen, Entlassungsart und -datum wurden auf einem standardisierten klinischen Verlaufsbogen (Abschnitt 3.5.3) notiert.

3.3.3 6 Monats Kontrolle

Nach 6 Monaten erfolgte eine ambulante Nachuntersuchung oder ein standardisiertes telefonisches Interview. Es wurde eine aktuelle Anamnese erhoben, sowie neuerliche kardiovaskuläre Interventionen und Re-Infarkte erfragt. In Einzelfällen

wurden Informationen, wie z.B. Todeszeitpunkt, zusätzlich durch telefonische Anfragen an die Hausärzte oder mitbehandelnden Krankenhäusern erfragt. War der Patientenstatus weiterhin unklar, wurden die zuständigen Einwohnermeldeämter angeschrieben. Alle Daten wurden dabei mittels 6-Monats-Kontrollbogen (Abschnitt 3.5.4) erfasst und anschließend mittels Microsoft Excel[®] elektronisch verarbeitet. Als Endpunkte der Studie wählten wir dabei die Ereignisse Tod und Re-Infarkt. Weiterhin wurde ein kombinierter Endpunkt definiert, wenn mindestens einer oder beide Endpunkte bei einem Patienten eintraten.

3.4 Material

3.4.1 Geräte

Ultrazentrifuge Varifuge 20 RS	Heraeus Sepatech
Tischzentrifuge 5417R	Eppendorf
Mikropipetten (0-10µl; 10-100µl; 20-1000µl)	Eppendorf
EDTA Blutentnahme Monovetten	Sarstedt
Architect [®] i2000	Abbott
Architect [®] i Reaction Vessels	Abbott
Architect [®] i Sample Cups	Abbott
Architect [®] i Septum	Abbott
Architect [®] Replacement Caps	Abbott
MacBook Pro	Apple

3.4.2 Reagenzien

8L11 Architect [®] MPO Reagent Kit	Abbott
8L11-01 Architect [®] MPO Calibrators	Abbott
8L11-10 Architect [®] MPO Controls	Abbott
7D82-50 Architect [®]	Abbott
Architect [®] i Pre-Trigger Solution	Abbott
Architect [®] i Trigger Solution	Abbott
Architect [®] i Wash Buffer	Abbott

3.4.3 Software

Excel [®]	Microsoft
SPSS [®]	SAS Software Version 19.0

3.5 Datenerhebung und Messmethoden

3.5.1 Myeloperoxidase

Zur Bestimmung der MPO Konzentration im Plasma der Patienten wurde der Abbott Architect[®] MPO Assay verwendet. Der Architect[®] MPO Assay ist ein zweistufiger, automatischer Mikropartikel-Immunassay für die quantitative Bestimmung von MPO, der zur Bestimmung die Chemiflex[®] Technologie nutzt. Der Variationskoeffizient für diesen Assay beträgt 2.6 % - 6.8 % über einen Bereich von 277-3457 Picomol pro Liter (pmol/l). Der Assay hat ein Detektionslimit von 20 pmol/l und eine funktionelle Sensitivität von 125pmol/l (Variationskoeffizient 10%) (Datwyler SA 2006; Datwyler SA 2007). Die Kalibrierung des Gerätes wurde mittels Abbott Architect[®] Controls (8L11-10) durchgeführt.

Nach Probegewinnung mittels Sarstedt EDTA Plasma Monovetten[®] wurden die jeweiligen Proben pseudonymisiert und nach einem standardisiertem Laborprotokoll für 10 Minuten bei 2200 G zentrifugiert und anschließend bei -80° eingefroren.

Das Auftauen erfolgte direkt vor Durchführung der MPO-Messung. Im ersten Schritt des Abbott Architect[®] MPO Assay wurden die Blutproben mit dem anti-MPO umhüllten paramagnetischen Antikörper Abott MPO Reagent Kit (8L11) kombiniert. Daraufhin wurde das in der Probe befindliche MPO an die Micropartikel gebunden. Nach Inkubation und dem waschen mit Abbott Architect[®] i Wash Buffer wurde anti-MPO acridinium-labeled Conjugate hinzugegeben. Nach einer erneuten Inkubation erfolgte ein weiterer Waschzyklus mit Abbott Architect[®] i Wash Buffer, woraufhin die Abbott Architect[®] i pre-trigger und trigger Solutions beigefügt wurden. Die resultierende Chemolumiszenzreaktion wurde in relative light units (RLUs) durch das Abbott Architect[®] i2000 System gemessen. Es besteht dabei ein direkter

Zusammenhang zwischen der Höhe der MPO Konzentration in der Probe und der durch den Assay optisch gemessenen RLUs.

Die gemessenen Konzentrationen wurden computergestützt erfasst und anschließend in Microsoft Excel[®] den jeweiligen Patienten zugeordnet.

3.5.2 Erhebungsbogen

Patientenadressette

Baseline	X	Uni Giessen	Kerkhoff Klinik
Datum:			
Geschlecht:	<input type="checkbox"/> M		Größe
	<input type="checkbox"/> W		RR:
Risikofaktoren	<input type="checkbox"/> Hypertonus		Gewicht
	<input type="checkbox"/> HLP		Anamnese
<input type="checkbox"/> keine	<input type="checkbox"/> Diabetes		<input type="checkbox"/> Infarkt
	<input type="checkbox"/> Nikotin		<input type="checkbox"/> PCI
	<input type="checkbox"/> Familiär		<input type="checkbox"/> CABG
Leitsymptom	<input type="checkbox"/> AP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> ASS > 7 Tage
	<input type="checkbox"/> CPR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> präinfarkt AP
Einweisungsdiagn.	<input type="checkbox"/> STEMI	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Dyspnoe
	<input type="checkbox"/> STS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Asymptomatisch
EKG (Aufnahme)	<input type="checkbox"/> (>0,5mm)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> NSTEMI
	<input type="checkbox"/> STH (>2mm)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> T-Inversion
Symptome b. Auf.	<input type="checkbox"/> unverändert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> LSB
	<input type="checkbox"/> VT	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> AP gebessert
	<input type="checkbox"/> Lungenstauung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Schock
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> beatmet
Therapie vor HK	<input type="checkbox"/> Lyse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Rescue PCI
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Facilitated PCI
Einweisungsart	<input type="checkbox"/> NEF		<input type="checkbox"/> Clopidogrel
(1er Arzt)	<input type="checkbox"/> Hausarzt/NEF		<input type="checkbox"/> GPIIb/IIIa
			<input type="checkbox"/> Verlegung
			<input type="checkbox"/> Selbst
Uhrzeit/Datum	Schmerzbeginn _____	1er.Arztkontakt _____	Beginn HK _____
	Aufnahme 1. _____	Aufnahme _____	
	KH _____	Uni/BN _____	1er Ballon _____
Angiogr. Befund		Infarktgefäß	TIMI-Fluß
(Stenose > 50%)		(Culprit lesion)	vor PCI: _____
<input type="checkbox"/> Ausschluß	<input type="checkbox"/> LMA		nach PCI: _____
<input type="checkbox"/> LMA	<input type="checkbox"/> LAD		
<input type="checkbox"/> LAD	<input type="checkbox"/> RCX		Kollateralisierung (Grad nach Rentrop)
<input type="checkbox"/> RCX	<input type="checkbox"/> RCA	<input type="checkbox"/>	0
<input type="checkbox"/> RCA	<input type="checkbox"/> Bypass	<input type="checkbox"/>	1
<input type="checkbox"/> Bypass	<input type="checkbox"/> De Novo	<input type="checkbox"/>	2
	<input type="checkbox"/> Restenose	<input type="checkbox"/>	3
Therapie			
<input type="checkbox"/> PCI			
	Culprit: _____	Stent (Größe) _____	Typ: _____
	2. Gefäß: _____	Stent (Größe) _____	Typ: _____
	3. Gefäß: _____	Stent (Größe) _____	Typ: _____
<input type="checkbox"/> CABG			
<input type="checkbox"/> konservativ			
<input type="checkbox"/> GPIIb/IIIa:	<input type="checkbox"/> Tirofiban	<input type="checkbox"/>	Abcicimab
<input type="checkbox"/> Clopidogrel	<input type="checkbox"/> 300 mg	<input type="checkbox"/>	600 mg

3.5.3 Klinischer Verlaufsbogen

Patientenadressette

Klinik Verlauf

X

Uni Giessen

Kerkhoff Klinik

Datum: _____

Labor:

2. Blutentnahme durchgeführt

Echo:

LV-EF (%):

AS (V max > 200)

LVED (mm):

MI > II°

LVM (gr):

AI > II°

Reginale

WBS

Vorderwand

Hinterwand

Seitenwand

Komplikationen

Keine

bei Entlassung

Tod

Reinfarkt:

Reintervention:

Datum: _____

Datum: _____

Datum: _____

Entlassungsart

Rückverlegung

nach Hause

Reha

Entlassungsdatum:

3.5.4 6 Monats-Kontrollbogen

Patientenadressette

6 Monats Kontrolle x Uni Giessen Kerkhoff Klinik

Datum: _____

Geschlecht  m Größe _____
 w Gewicht _____

MACE

- Reinfarkt Datum: _____
- Tod Datum: _____
- Ungeplante Revaskularisation
- PCI Datum: _____
- CABG Datum: _____

SAE

- Kardiale Rehospitalisierung Datum: _____
- Nichtkardiale Rehospitalisierung Datum: _____
- Cerebraler Insult Datum: _____

Geplante Revaskularisation

- PCI Datum: _____
 - CABG Datum: _____
-

3.6 Statistik

Als primärer Endpunkt der Studie wurde das Ereignis Tod innerhalb von 6 Monaten nach Einschluss in die Studie gewertet. Für die statistische Beschreibung wurden absolute und relative Häufigkeiten verwendet. Der Zusammenhang zwischen Mortalität und MPO-Konzentration wurde mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests untersucht. Weiterhin wurden Receiver Operating Characteristic (ROC)–Kurven verwendet um das Zusammenwirken von Sensitivität und Spezifität zu analysieren. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0.05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die Raten für das Gesamtüberleben und die Quartilenanalyse wurden mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode ermittelt (Kaplan and Meier 1958).

Der jeweilige p-Wert der Kaplan-Meier-Kurven wurde mit dem Log-Rank-Test berechnet. Die Unabhängigkeit der Prognosefaktoren wurden anschließend mit dem multivariaten Cox Regressionsmodell berechnet (Cox 1972). Die Analyse berücksichtigt Abhängigkeiten zwischen einzelnen Prognosefaktoren. Signifikanz wurde dabei als p-Wert $<0,05$ definiert.

Für die Vergleiche zwischen den einzelnen Patientengruppen für nicht parametrische Daten wurde der Wilcoxon-Rangsummentest verwendet (Wilcoxon 1946). Hierbei wurde Signifikanz ebenfalls als p-Wert $<0,05$ definiert. Nominale Daten wurden als Prozentzahlen oder Häufigkeiten angegeben. Verglichen wurden diese mit Hilfe des Chi-Quadrat-Test (X^2) oder Fisher-Test. Die gesamte statistische Auswertung erfolgte mit den Programmen Microsoft Excel[®] 2008, Version 12.1.0 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) und SPSS Statistics[®], Version 19.0.0 (SPSS Inc., IBM, Chicago, Illinois).

4 Ergebnisse

4.1 Basisdaten

Die bei Krankenhausaufnahme in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden anhand der Aufnahmebefunde miteinander verglichen. Insgesamt wurden an beiden Zentren 917 Patienten in die Studie eingeschlossen und deren Daten erhoben.

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die klinischen Charakteristika und kardialen Risikofaktoren des Studienkollektives bei Krankenhausaufnahme. Hier sind Geschlecht, Alter, kardiovaskuläre Risikofaktoren, STEMI bei Aufnahme, sowie die initial gemessene mediane Troponin I- Konzentration aufgeführt.

Weiterhin ist die Zeit vom Beginn der Beschwerdesymptomatik bis zur ersten BE bzw. bis zur zweiten BE dargestellt. Diese betrug im Median 6,1 Stunden (h) (Interquartilenabstand (IQR) 2,6 bis 14,5), bzw. 26,1 Stunden (IQR 20,5 bis 34,5). Der zeitliche Verlauf wird in Abbildung 2 und Abbildung 3 graphisch veranschaulicht.

Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich insgesamt über 6 Monate. In diesem Zeitraum verstarben 65 Patienten (7%). Für 6 Patienten konnte Aufgrund mangelnder Information kein Langzeitergebnis erfasst werden.

Tabelle 1: Patientenkollektiv, erhobene Daten bei Krankenhausaufnahme, sowie Gesamtmortalität innerhalb des Beobachtungszeitraumes

Klinische Charakteristika	
Anzahl Patienten (n)	917
Geschlecht - weiblich (n/%)	273 (30%)
Alter - Jahre (Mittelwert, Standardabweichung)	65 (\pm 13)
<i>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</i>	
Arterielle Hypertonie (n/%)	628 (69%)
Hyperlipidämie (n/%)	386 (42%)
Diabetes mellitus (n/%)	196 (21%)
Aktive Raucher (n/%)	305 (33%)
Familiäre Disposition (n/%)	182 (20%)
STEMI (n/%)	393 (43%)
Zeit vom Beginn der Symptome bis 1. BE (h) (Median, IQR)	6,1 [2,6-14,5]
Zeit vom Beginn der Symptome bis 2. BE (h) (Median, IQR)	26,1 [20,5-34,5]
Mortalität innerhalb der folgenden 6 Monate (n/%)	65 (7%)
Fehlende Follow-Up Untersuchung (n/%)	6 (0,7%)

Werte angegeben als absolute Anzahl (n), absolute Anzahl mit prozentueller Häufigkeit in Klammern (n/%), Median mit Interquartilenabstand (IQR) in Klammern und Mittelwert mit Standardabweichung in Klammern.

4.2 Zeitlicher Verlauf der MPO-Plasmakonzentrationen

Bei der Betrachtung der zeitlichen Verteilung (h) der medianen MPO-Plasmakonzentrationen (pmol/l) von Schmerzbeginn bis zur ersten BE zeigt sich ein initialer Konzentrationsgipfel, welcher mit zunehmender Dauer abnimmt (Abbildung 2). Weiterhin wurden die medianen Plasmakonzentrationen (pmol/l) der Patienten, bezogen auf die Zeit (h) bis zur zweiten BE untersucht. Hierbei zeigte sich ebenfalls ein initialer Anstieg der medianen Plasmakonzentration in den ersten 14,5 h nach Schmerzbeginn mit nachfolgendem Abfall der gemessenen Plasmakonzentration. Jedoch zeigten die gemessenen Werte nach etwa 21 h ein stabiles Plateau (Abbildung 3).

Abbildung 2: Zeitverlauf der medianen MPO-Plasmakonzentrationen der 1. Blutentnahme, Zeit in Stunden (h), Konzentration in pmol/l

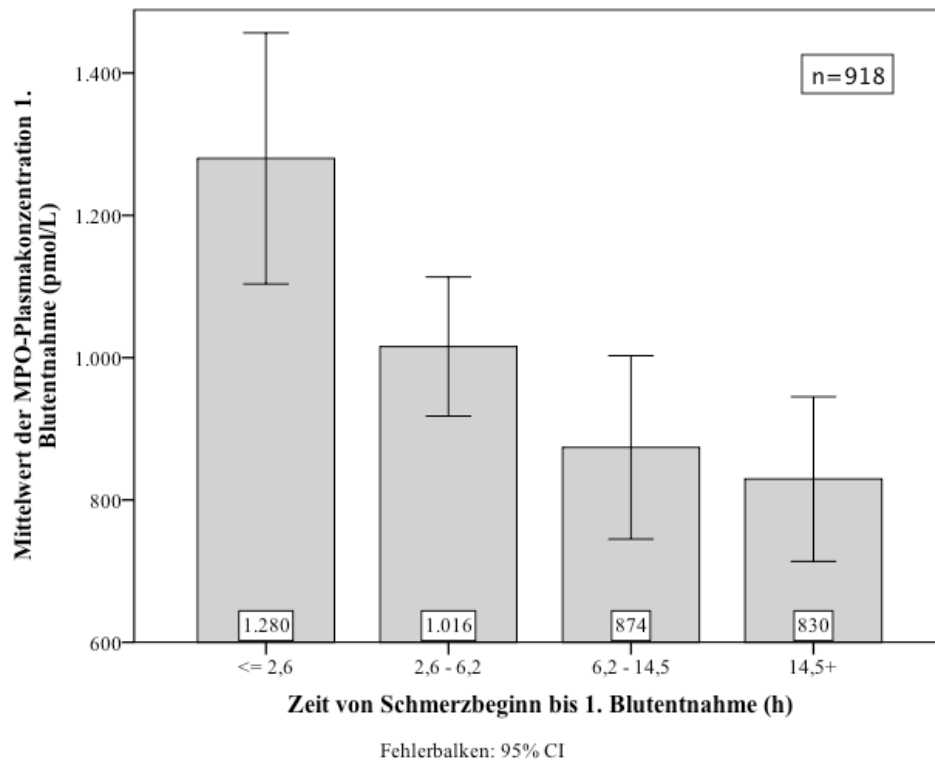
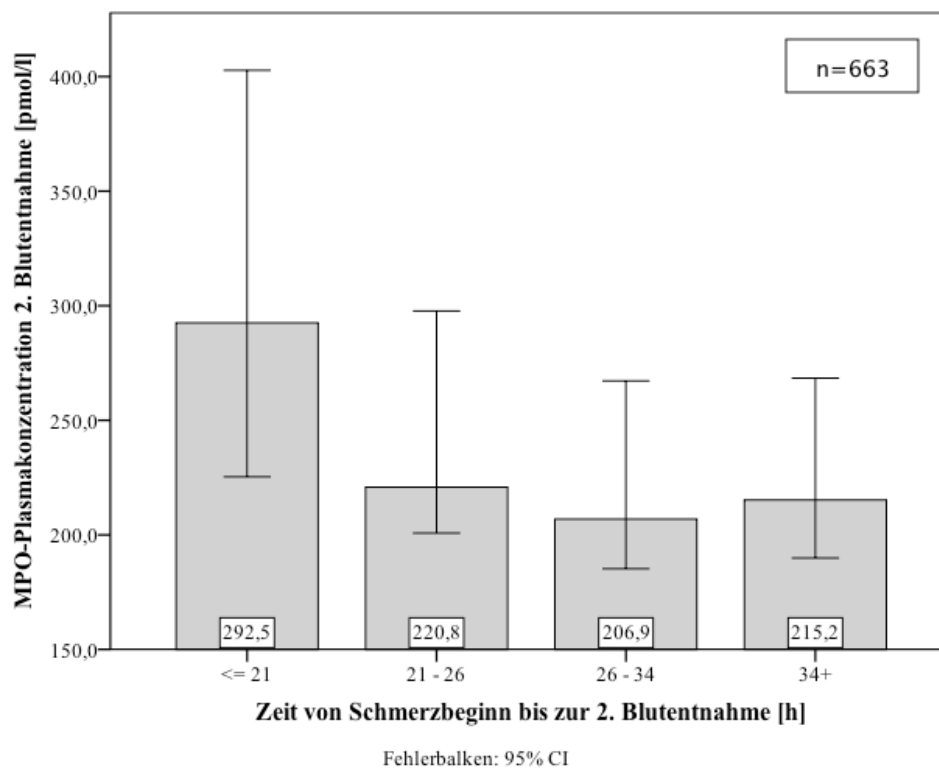


Abbildung 3: Zeitverlauf der medianen MPO-Plasmakonzentrationen der 2. Blutentnahme, Zeit in Stunden (h), Konzentration in pmol/l



4.3 Vergleich der MPO-Plasmakonzentration zwischen erster und zweiter Blutentnahme

Die Messung der MPO-Plasmakonzentration bei Aufnahme ergab für Patienten, die während des 6-monatigen Beobachtungszeitraums verstarben, eine mediane MPO-Plasmakonzentration von 863 pmol/l (IQR 454 – 1630 pmol/l). Für die Patienten, die während des Beobachtungszeitraumes nicht verstarben, wurde eine mediane Konzentration von 894 pmol/l (IQR 419 - 1316 pmol/l) gemessen. Für diese Werte zeigte sich im Mann-Whitney-Test keine statistische Signifikanz ($p = 0,35$).

Die Analyse der Messungen des Folgetags ergab jedoch eine mit 402 pmol/l (IQR 197 – 801 pmol/l) signifikant erhöhte, mediane MPO-Plasmakonzentration in der Gruppe der Verstorbenen im Vergleich zur Gruppe der Überlebenden mit 225 pmol/l (IQR 141 – 525 pmol/l) mit einem p-Wert von 0,016. Abbildung 4 und 5 zeigen die graphische Aufarbeitung der gemessenen MPO-Plasmakonzentrationen.

Abbildung 4: Mediane MPO-Plasmakonzentration der überlebenden- und verstorbenen Patienten in der ersten Blutentnahme, gemessen in pmol/l

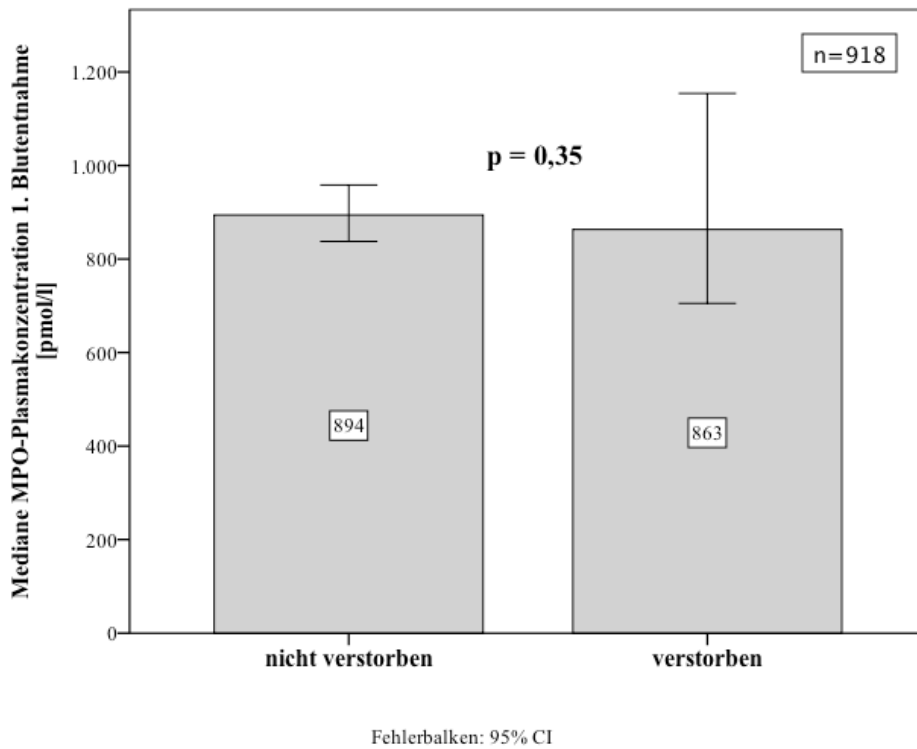
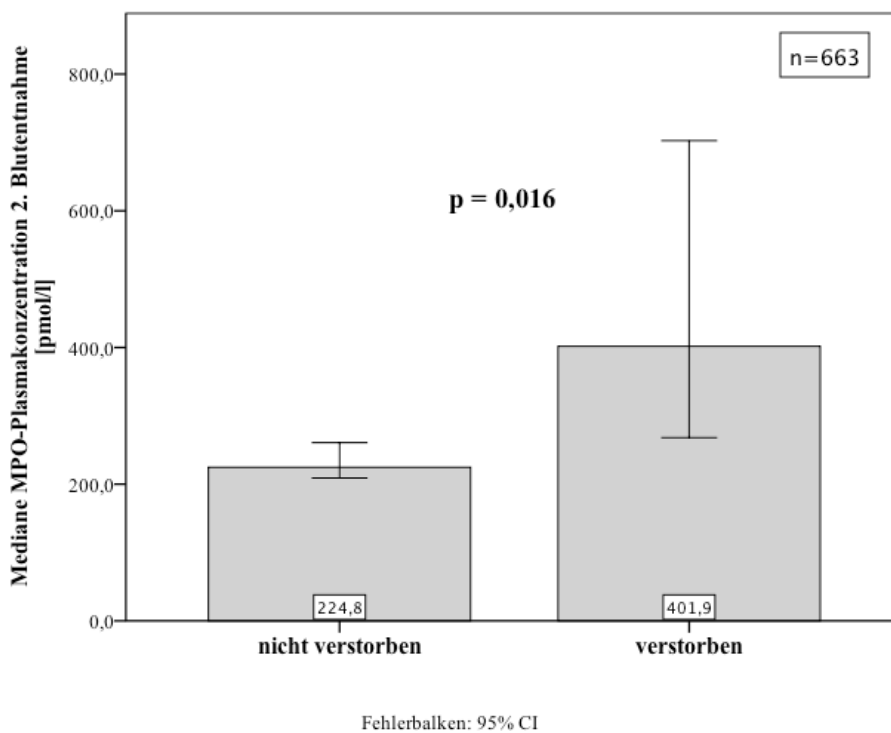


Abbildung 5: Mediane MPO-Plasmakonzentration der überlebenden- und verstorbenen Patienten in der zweiten Blutentnahme, gemessen in pmol/l



4.4 Gemessene MPO-Plasmakonzentration und kardiales Risiko

In der Analyse der Plasma-MPO Werte der zweiten BE mittels ROC zeigte sich für das Gesamtkollektiv ein signifikant erhöhtes Mortalitätsrisiko innerhalb der nächsten 6 Monate (Area under the curve [AUC] 0,617; $p = 0,016$) (siehe Abbildung 6). Die weitere Analyse des Gesamtkollektivs mittels Kaplan-Maier-Überlebenskurven ergab ebenfalls eine signifikant erhöhte Mortalität bei Patienten mit erhöhter MPO-Plasmakonzentration in der BE des Folgetages (Log Rank 10,85; p -Wert = 0,013). Dabei wurde das Gesamtkollektiv in Quartile unterteilt, um Unterschiede innerhalb der Konzentrationsverteilung zu detektieren. Jedoch ließ sich in der Kaplan-Maier-Analyse für das betrachtete Ereignis, isolierte kardiale Ischämie bei erhöhter MPO-Plasmakonzentration, im Beobachtungszeitraum keine Signifikanz nachweisen (Log Rank 3,12; $p = 0,373$). Auch zeigte die ROC-Analyse für diesen Endpunkt keine ausreichende Signifikanz (AUC = 0,588; $p = 0,392$) (siehe Abbildung 8).

Abbildung 6: ROC-Analyse der MPO-Plasmawerte der 2. Blutentnahme, Endpunkt Mortalität innerhalb von 6 Monaten nach Ereignis

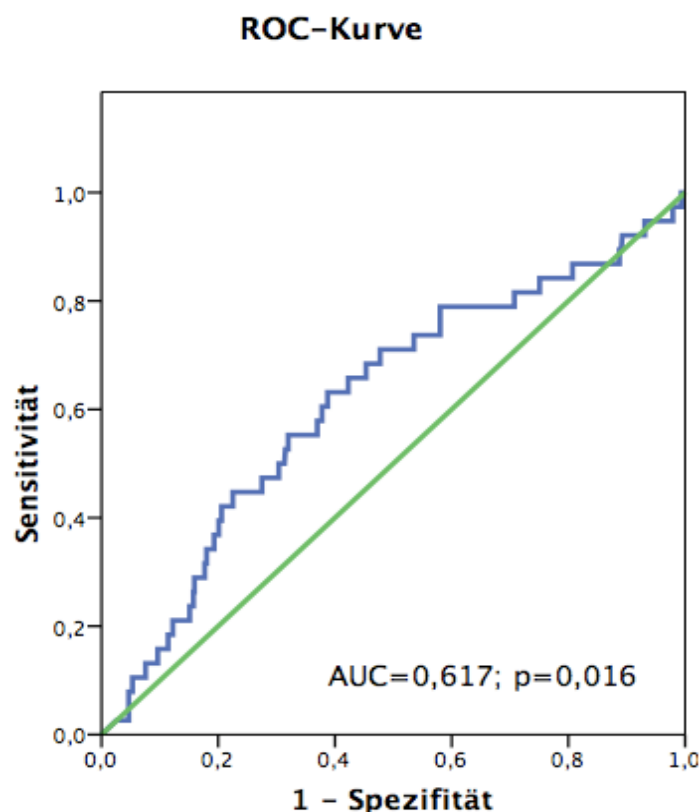


Abbildung 7: Kaplan-Maier Überlebenskurven für die MPO Plasmakonzentration der zweiten Blutentnahme in pmol/l, kumuliertes Überleben in Abhängigkeit zum Beobachtungszeitraum in Tagen (d).

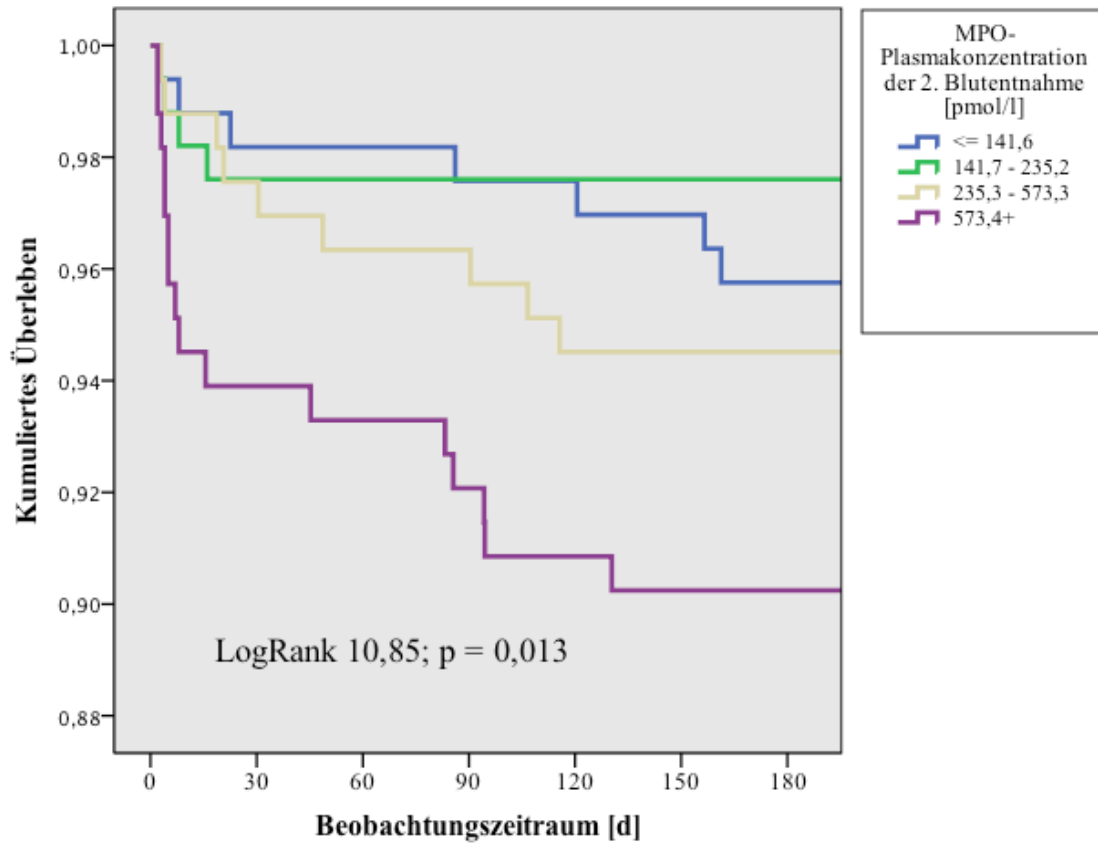
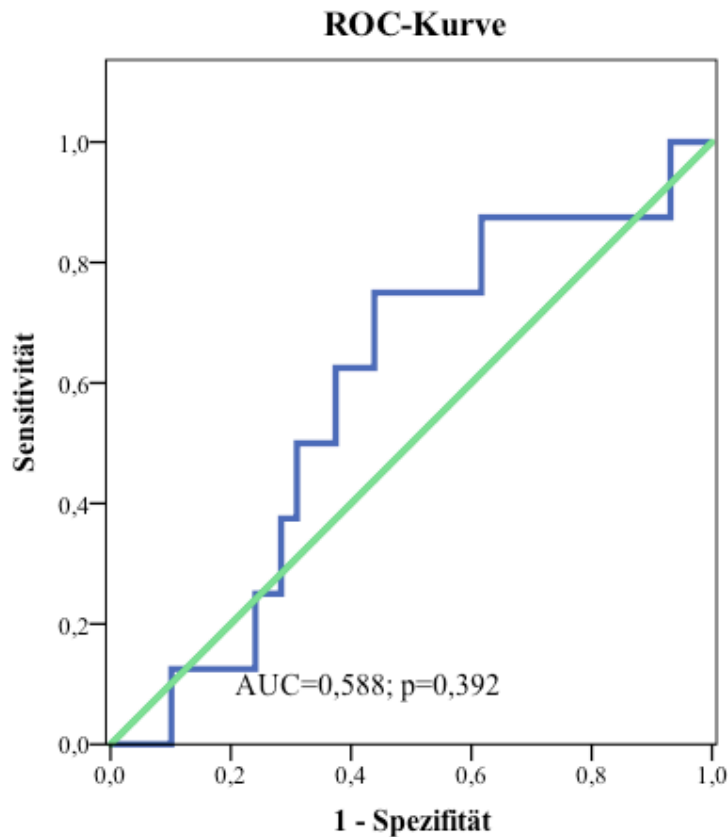


Abbildung 8: ROC-Analyse der MPO-Plasmawerte der 2. Blutentnahme, Endpunkt Re-Infarkt innerhalb von 6 Monaten nach dem Ereignis



4.5 Mortalität bei erhöhten MPO-Werten

Nach Betrachtung der in Abbildung 6 dargestellten ROC Kurven und der Quartilen-Analyse in Abbildung 7 wählten wir für das Gesamtkollektiv einen MPO-Grenzwert von 306,3 pmol/l und teilten das Kollektiv in zwei Gruppen. Dieser Grenzwert ergab sich aus der Betrachtung der Einzelwerte in der ROC-Analyse. Er stellt die MPO-Plasmakonzentration mit der höchsten Spezifität und Sensitivität für den Endpunkt Mortalität innerhalb von 6 Monaten nach initialem Ereignis dar.

Die Gruppen zeigten Ähnlichkeiten in Alter, Geschlecht, kardiovaskulären Risikofaktoren und Zeit von Schmerzbeginn bis zur BE (siehe Tabelle 2). Auch die Inzidenz von vorherigen Infarkten, PCI und CABG (Koronare Bypass-Operation) zeigte sich in beiden Gruppen ähnlich. Bei Aufnahme fanden sich in beiden Gruppen ähnliche Anteile von Patienten mit STEMI und Angina Pectoris Beschwerden. Jedoch zeigten sich in der Gruppe mit den erhöhten MPO-Plasmawerten signifikant mehr Patienten mit kardiogenem Schock ($p = 0,001$) (siehe Abbildung 9). Außerdem erhielten

in der Gruppe der Patienten mit erhöhten MPO-Plasmakonzentrationen signifikant mehr Patienten eine operative Revaskularisierung mittels CABG ($p = 0,001$). Dies wird in Abbildung 10 dargestellt. Bei der Betrachtung der vorher definierten Endpunkte zeigten sich ebenfalls Unterschiede. So waren Mortalität und der kombinierte Endpunkt Mortalität und/oder Re-Infarkt in der Gruppe der Patienten mit MPO-Plasmawerten $> 306,3$ pmol/l jeweils signifikant erhöht ($p = 0,003$ und $p = 0,001$), dargestellt in Abbildung 11 und 12. Jedoch konnte bei alleiniger Betrachtung des Endpunktes Re-Infarkt keine ausreichende Signifikanz nachgewiesen werden.

Tabelle 2: Vergleich der Aufnahme-Charakteristiken, Risikofaktoren, Laborwerte und angiographischen Befunde, sowie klinisches Outcome nach 6 Monaten zwischen Patienten mit hohen und niedrigen MPO-Plasmaspiegeln

	MPO \leq 306,3 [pmol/l] (n=396)	MPO >306,3 [pmol/l] (n=267)	p-Wert
Alter (Jahre, Mittelwert \pm SD)	63,7 \pm 13,0	65 \pm 12	0,199
Geschlecht männlich	69,7% (276)	68,9% (184)	0,83
Body Mass Index	28 \pm 4	27 \pm 4	0,483
Hypertonie	70,9% (280)	67,8% (181)	0,722
Hyperlipidämie	44,8% (177)	37,5% (100)	0,06
Diabetes mellitus	19,2% (76)	23,6% (63)	0,177
Raucher	32,9% (130)	33% (88)	0,99
Familiäre Belastung	20,5% (81)	17,2% (46)	0,293
Infarkt in Anamnese	11,6% (46)	11,3% (30)	0,885
PCI in Anamnese	12,2% (48)	11,7% (31)	0,847
CABG in Anamnese	5,8% (23)	6,8% (18)	0,622
Angina pectoris	92,9% (367)	87,6% (233)	0,21
STEMI	42,5% (168)	42,5% (113)	0,99
Cardiogener Schock	0,3% (1)	3,8% (10)	0,001
Zeit von Schmerzbeginn bis BE	31,8 \pm 20,4	30,4 \pm 19,6	0,633
Ausschluss KHK	11,6% (46)	9,8% (26)	0,449
PCI	78,7% (311)	76,7% (204)	0,535
CABG	2% (8)	7,1% (19)	0,001
Mortalität	3,5% (14)	9,1% (24)	0,003
Reinfarkt	0,8% (3)	1,9% (5)	0,195
Kombinierter Endpunkt	3,8% (16)	10,9% (29)	0,001
LVEF (%)	50 \pm 12	47 \pm 12	0,274
MPO 2. Blutentnahme [ng/ml]	162,7 \pm 67,0	1775,1 \pm 262	<0,0001

Die Daten sind angegeben als Mittelwerte mit Standardabweichung in Klammern oder prozentuale Häufigkeiten, bezogen auf die Anzahl der Patienten % (n). Kontinuierliche Variablen wurden mit dem Wilcoxon Rangsummentest analysiert, kategorische Variablen wurden mit dem chi²-Test oder Fisher-Test analysiert.

Abbildung 9: Prozentualer Anteil der Patienten mit kardiogenem Schock bei Aufnahme mit hohen und niedrigen MPO-Plasmaspiegeln [pmol/l] in der 2. Blutentnahme

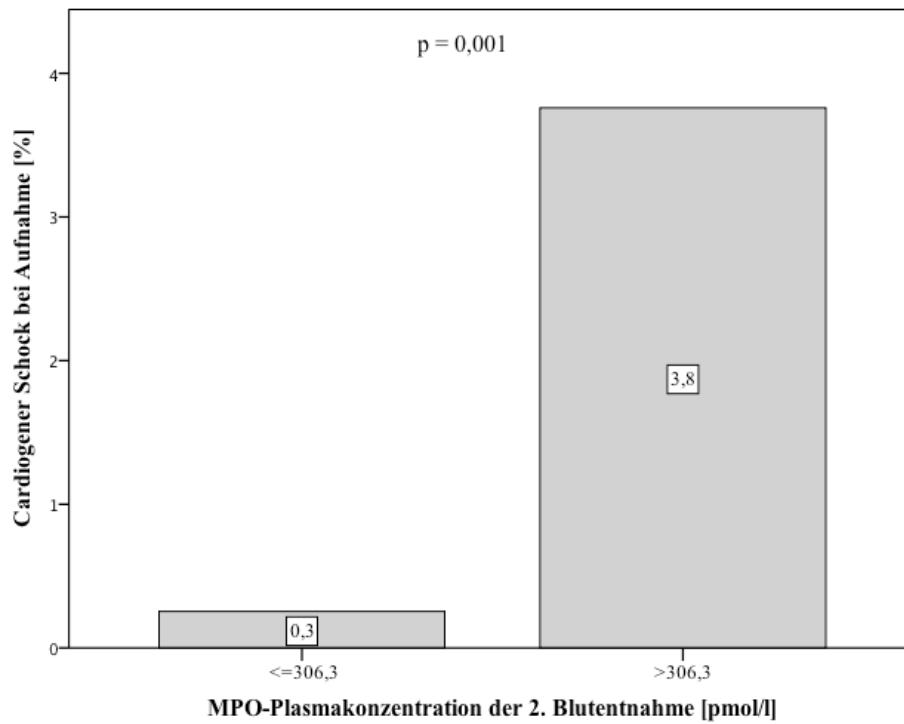


Abbildung 10: Patienten mit CABG zur Revaskularisierung [%] in Abhängigkeit von der MPO-Plasmakonzentration in [pmol/l]

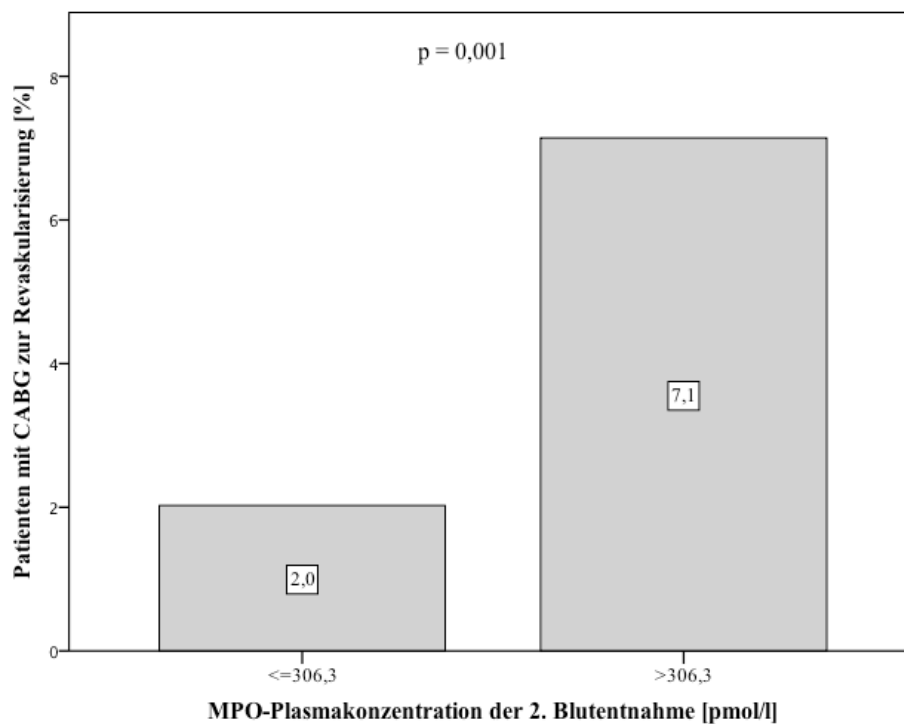


Abbildung 11: Kombiniertes Endpunkt nach 6 Monaten [%] in Abhängigkeit von der MPO-Plasmakonzentration in [pmol/l]

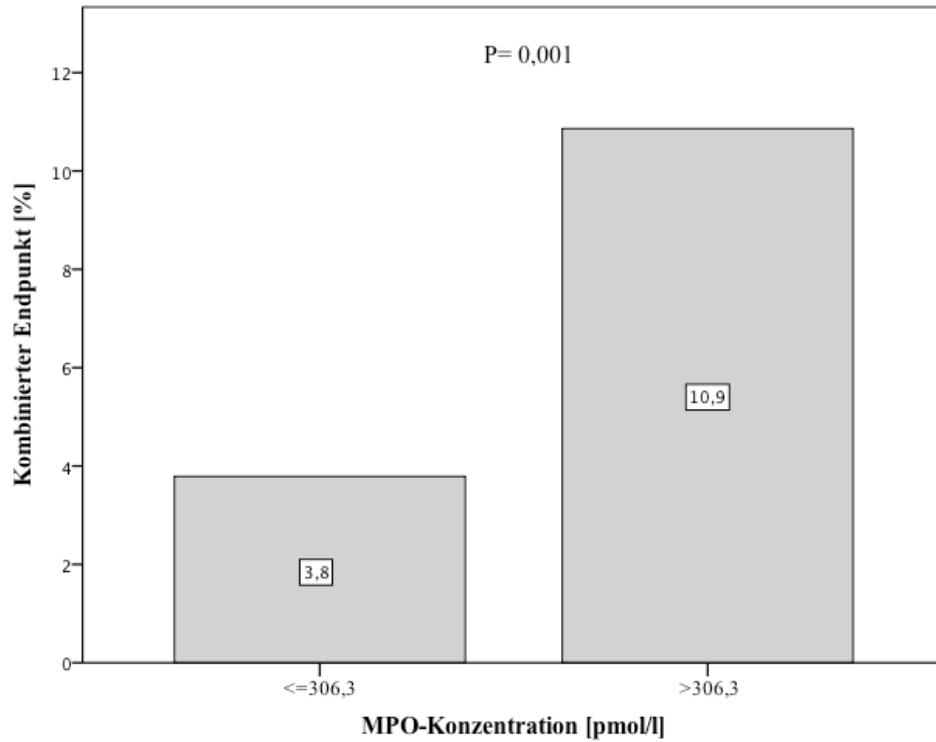
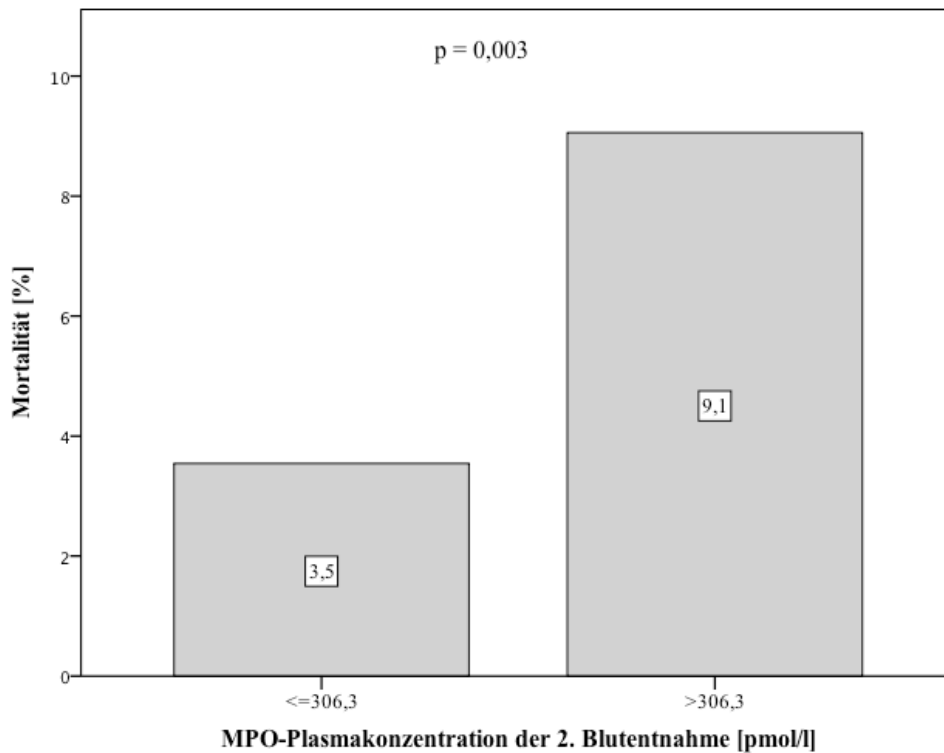


Abbildung 12: Mortalität [%] in Abhängigkeit von MPO-Plasmakonzentration [pmol/l]



4.6 Multivarianzanalyse

Um den unabhängigen prognostischen Effekt von MPO zu testen, wurden die erhobenen kardialen Risikofaktoren (Alter, Geschlecht, BMI, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, familiäre Belastung), initiale EKG-Veränderungen, LVEF, sowie die gemessenen Plasma-Konzentrationen von MPO, TNI (im Studienzentrum Bad Nauheim wurde der Troponin I Test der Firma Roche, in Gießen der Troponin T Test der Firma Siemens verwendet), hoch sensitives C-reaktives-Protein (hsCRP), BNP und Kreatinin in einer multivariaten Cox-Regressionanalyse verglichen. Dabei zeigten sich MPO, Serum Kreatinin, Alter und LVEF als unabhängige prognostische Parameter. Das für die einzelnen Parameter berechnete relative Risiko mit dem dazugehörigen Konfidenzintervall ist in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 3: Ergebnisse der multivariaten Analyse mit Hilfe des Cox Regressionsmodells

Prognosefaktor	Relatives Risiko (95% Konfidenzintervall)	p-Wert
MPO	2,985 (1,237-7,201)	0,015
Serum Kreatinin	1,548 (1,331-1,800)	<0,001
Alter	1,054 (1,012-1,098)	0,011
LVEF	0,968 (0,938-0,998)	0,038

5 Diskussion

Die Untersuchung zeigt eine erhöhte Mortalität für Patienten mit Verdacht auf ein ACS und gleichzeitiger laborchemischer Erhöhung des MPO-Plasmaspiegels. Im Folgenden sollen wichtige Befunde interpretiert und diskutiert, sowie das Ergebnis in den Kontext der aktuellen Forschung eingebettet werden.

5.1 Inflammation, Plaqueruptur und Freisetzungskinetik

Die Pathogenese der Arteriosklerose und damit auch die Entstehung der KHK scheinen nach neueren Erkenntnissen, neben den bekannten Risikofaktoren, eine zentrale inflammatorische Komponente zu beinhalten (Libby 2006). Die bedeutende Rolle der MPO für die Lipoproteinmodifikation und die Endothelschädigung, sowie weiterhin die Beteiligung an den Prozessen der Plaqueinstabilität, Plaqueruptur und den Komplikationen des ACS, waren Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen (Hazen 2004). Es konnte gezeigt werden, dass die MPO-Plasmakonzentration bei Patienten mit Verdacht auf das Vorliegen eines ACS einen unabhängigen prognostischen Marker für die Mortalität innerhalb der nächsten 6 Monate darstellt. Jedoch konnte dies nur für die MPO-Plasmawerte des Folgetages nach initialem Ereignis gezeigt werden. Die bei Aufnahme gemessenen Werte zeigten dagegen keine statistische Signifikanz.

Die Freisetzung der etablierten kardialen Marker Troponin I und CK erfolgt nach myokardialen Zelluntergang (Cummins, Auckland et al. 1987; Weber and Hamm 2008). Somit dient deren Messung der direkten Detektierung von zerstörtem Herzmuskelgewebe (Cummins, Auckland et al. 1987). Dieses bedeutet jedoch, dass der akute Verschluss eines Koronargefäßes erst durch die nachfolgende, irreversible Zellschädigung laborchemisch zu erfassen ist. MPO wird durch die Aktivierung und Degranulierung von PNM freigesetzt (Graham 1920). Dadurch, dass wahrscheinlich nicht die Nekrose sondern die Inflammation und Plaqueruptur die Trigger der MPO-Ausschüttung darstellen lässt sich die unterschiedliche Freisetzungskinetik ableiten. So sind Monozyten und PNM in allen Phasen der Arterioskleroseentwicklung nachweisbar und spielen dabei eine wichtige Rolle (Libby, Ridker et al. 2002). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das C-reaktive Protein, ein Marker für systemische Inflammation

und geläufigster Marker zur Identifizierung von Patienten mit stabiler KHK die ein erhöhtes Risiko für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse haben die Freisetzung von MPO bewirkt (Singh, Devaraj et al. 2009). Dieser Mechanismus konnte sowohl in vitro wie in vivo gezeigt werden (Singh, Devaraj et al. 2009) und erhärtet den Verdacht, dass MPO einen Beitrag zur Risikostratifizierung von Patienten mit ACS leisten könnte. Die genauen Interaktionen zwischen CRP und MPO beim ACS sind heute jedoch noch nicht abschließend entschlüsselt und bedürfen weiterer Untersuchungen. Der Verlauf der MPO-Plasmakonzentration zeigte seinen Gipfel bereits in der Frühphase nach kardialem Akutereignis und damit deutlich früher als der Anstieg der etablierten Marker (Wu, Feng et al. 1998). Der prognostische Wert dieses Anstiegs in der Frühphase nach Symptombeginn konnte jedoch nicht belegt werden. Es konnte jedoch bereits, bei Patienten mit Verdacht auf ein ACS gezeigt werden, dass eine diagnostische Kombination von MPO und TNI es erlaubte, eine signifikant größere Anzahl an Patienten zu detektieren, welche ein erhöhtes Risiko für ein weiteres schädliches, kardiales Ereignis aufwiesen (Apple, Smith et al. 2011).

Auch scheint die Rolle von MPO bei der Plaqueruptur noch nicht abschließend geklärt zu sein. Es zeigten sich jedoch bereits Mechanismen, die einen wichtigen Effekt der MPO wahrscheinlich erscheinen lassen (Hazen 2004). So konnte MPO in stabilen, sowie in instabilen Plaques nachgewiesen werden (Libby, Ridker et al. 2002), und auch seine Rolle in der Modifikation von Lipoproteinen scheint belegt (Podrez, Febbraio et al. 2000). Die weiterhin resultierende verminderte NO-Verfügbarkeit (Eiserich, Baldus et al. 2002) und Aktivierung enzymatischer Prozesse, die eine Plaquestabilität hervorrufen (Fu, Kassim et al. 2003), scheinen ebenfalls durch MPO bedingt. Jedoch fehlt eine abschließende Untersuchung der genauen pathophysiologischen Veränderungen, welche die MPO-Freisetzung bedingen und deren Kinetik näher beleuchten. Gerade auch die proinflammatorischen und vasodilatatorischen Effekte von MPO im Verlauf des akuten Koronarsyndroms scheinen noch nicht abschließend verstanden.

Die beschriebenen Ergebnisse legen jedoch nahe, dass es nach dem initialen Konzentrationsgipfel und einem etwa 21-stündigen Abfall der MPO-Plasmakonzentration zu einer Plateauphase kommt. In dieser Phase gemessene, erhöhte MPO-Plasmakonzentrationen korrelieren mit einer deutlich erhöhten 6-Monats-Mortalität in dem untersuchten Kollektiv. Es scheint also, dass MPO in dieser Phase

einen stabilen prognostischen Marker für bei Patienten mit ACS und deren kardiales Risiko darstellt.

5.2 Der Einfluss von Heparin auf die MPO

Wie bereits erwähnt, zeigte sich in der initialen Labormessung kein signifikanter Zusammenhang zwischen der MPO-Plasmakonzentration und der Mortalität der untersuchten Patienten. Eine Erklärung für die initial nicht signifikanten MPO-Plasmakonzentrationen könnte der Einfluss von Heparin auf die MPO-Ausschüttung darstellen. So konnte bereits gezeigt werden, dass die MPO-Plasmakonzentration nach intravenöser Gabe von Heparin signifikant erhöht wird (Baldus, Rudolph et al. 2006; Li, Keenan et al. 2007). Dabei könnte Heparin sogar unerwünschte Auswirkungen auf die Aktivierung von PNM und die systemische Inflammation haben (Li, Keenan et al. 2007).

Durch die Tatsache, dass die medikamentöse Behandlung des ACS mit Heparin bereits seit vielen Jahren einen anerkannten Standard darstellt (Silber 2010; Hamm, Bassand et al. 2011), war und ist es jedoch weiterhin schwierig, den Einfluss von Heparin auf die MPO-Freisetzung zu beziffern. Doch scheint eine Beeinflussung der diagnostischen Signifikanz bei der laborchemischen Messung von MPO wahrscheinlich. Es konnte gezeigt werden, dass die positive Oberflächenladung der MPO an Heparinsulfat bindet und dadurch die gemessene MPO-Konzentration im Plasma erhöht (Baldus, Rudolph et al. 2006). Somit erscheint es möglich, dass der Heparineffekt gerade bei Patienten mit stabiler Herzerkrankung stärker ausgeprägt sein könnte, da bei akutem Myokardinfarkt eine bereits abgelaufene Freisetzung eine zusätzliche MPO Ausschüttung aus PNM limitiert.

Dies könnte die mangelnde Signifikanz in der initialen BE erklären, da die endgültige Diskriminierung zwischen Patienten mit und ohne ACS erst durch die nachfolgende Koronarangiographie zu sichern war. Es könnte gerade bei Patienten mit stabiler oder auch ohne KHK durch die Heparingabe eine Messwertverfälschung ausgelöst worden sein.

Dies würde die unterschiedlichen Ergebnisse, verglichen mit den Ergebnissen der vorangegangenen Studien, wie z.B. CAPTURE erklären, da deren untersuchtes Kollektiv ausschließlich aus Patienten mit ACS bestand und somit die Heparingabe die MPO Freisetzung nicht mehr deutlich zu steigern vermochte. Diese Hypothese gilt es,

in weiteren Studien genauer zu untersuchen, um zu einer abschließenden Bewertung zu gelangen.

5.3 Die Prognostische Bedeutung der MPO beim ACS

Um Patienten mit ACS einer bedarfsgerechten Behandlung zuzuführen, benötigt man eine genaue Risikostratifizierung, welche anschließend über die Art der medikamentösen und interventionellen Therapie entscheidet. Heutzutage ermöglichen die modernen Troponin-Assays eine schnelle und kostengünstige Möglichkeit, Patienten mit ACS nach einer Latenz von etwa 3 Stunden nach Myokardinfarkt zu detektieren (Keller, Zeller et al. 2009). Auch gibt es Hinweise dafür, dass Troponin und CRP eine prognostische Bedeutung für das langzeitige Outcome von Patienten mit instabiler Angina Pectoris haben (Lenderink, Boersma et al. 2003). Jedoch scheint eine Langzeitprognose gerade bei Patienten mit NSTEMI weiterhin schwierig (Gonzalez, Porterfield et al. 2009). Dadurch stellt gerade die Gruppe der Patienten mit NSTEMI die Behandelnden vor eine große Herausforderung.

Es scheint speziell für diese Gruppe wichtig, bei initialer Krankenhausaufnahme eine genaue Risikoabschätzung durchzuführen, um solche Patienten zu erfassen, die von einer frühzeitigen interventionellen Behandlung profitieren. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Risikoscores entwickelt wie z.B. die TIMI, PURSUIT und GRACE risk scores. Die positive prädiktive Bedeutung dieser Testverfahren konnte bereits in Studien belegt werden (de Araujo Goncalves, Ferreira et al. 2005; Bagur, Urinovsky et al. 2009; Khalill, Han et al. 2009).

Die MPO scheint zusätzlich ein Labormarker zu sein, der bei dieser Diskriminierung helfen könnte. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die MPO auch bei Patienten ohne Infarktzeichen im EKG eine prognostische Bedeutung hat (Baldus, Heeschen et al. 2003). Weiterhin wurde beschrieben, dass die MPO ebenfalls bei Patienten mit ACS, die laborchemisch keine Troponinerhöhung zeigten, einen starken prognostischen Wert darstellt (Baldus, Heeschen et al. 2003). Dieses führte zu der Annahme, dass die MPO bereits vor dem akuten Gefäßverschluss im Plasma erhöht ist und somit eine frühzeitigere Risikobewertung und somit schnellere Therapie möglich sein könnte (Schindhelm, van der Zwan et al. 2009).

Gefestigt wird diese Annahme durch Studien an Patienten mit bekannter KHK ohne das Vorliegen eines akuten koronaren Ereignisses. Es konnte gezeigt werden, dass erhöhte MPO-Serumkonzentrationen bei diesen Patienten das Risiko für kardiale Ischämien in den nächsten 3-Jahren signifikant erhöhen (Hazard ratio 1.78, 95% CI 1.33-2.37, $P < 0.001$) (Tang, Wu et al. 2011). Ebenso scheint die Kombination aus verschiedenen kardialen Markern die prognostische Information zu verbessern. So erlaubt beispielsweise die Kombination von kardialem TNI mit der MPO, eine größere Anzahl von Patienten zu erfassen, welche ein erhöhtes Risiko für zukünftige kardiale Ereignisse bieten (Apple, Smith et al. 2011).

Genauso wie gezeigt werden konnte, dass Patienten, die sich einer elektiven Koronarangiographie unterzogen, bei gleichzeitiger Erhöhung von CRP und MPO eine signifikant erhöhte kardiovaskuläre Mortalität bieten (Heslop, Frohlich et al. 2010). Die Kombination von Risikoscores und kardialen Markern scheint somit also die Zukunft der klinischen Risikostratifizierung darzustellen, um Patienten einer optimalen medikamentösen und frühzeitigen interventionellen Versorgung zuzuführen.

Da es bis zum heutigen Tage keinerlei therapeutische Möglichkeit gibt, um infarziertes myokardiales Gewebe zu ersetzen bleibt das vorrangige Ziel in der Behandlung des ACS, die zellulären Schäden so gering wie möglich zu halten. Der diagnostische- und prognostische Wert der MPO scheint dabei ein Hilfsmittel zur Zeitersparnis zu sein. Gerade auch durch den immer größer werdenden Kostendruck im Gesundheitssystem wird es zunehmend wichtiger, die innerklinisch vorhandenen Ressourcen optimal und risikoadaptiert zu nutzen, um weiterhin eine optimale Versorgung sicherzustellen. Dabei könnte gerade durch die durch MPO generierte Information und die Kombination mit bestehenden kardialen Markern und Risikoscores eine optimalere Indikationsstellung der Koronarangiographie erfolgen. Dieses könnte einerseits eine Reduktion des Einsatzes von Herzkatheteruntersuchungen bewirken, was zum einen eine Kostenreduktion sowie eine Risikoreduktion für den Patienten darstellen würde. Andererseits könnten gefährdete Patienten jedoch schneller detektiert und somit noch vor einem myokardialen Zellschaden einer interventionellen Revasukularisierung zugeführt werden.

Es gilt jedoch, vorher die eingesetzten Abnahme- und Testverfahren zu optimieren um genaue, konstante und vergleichbare Testergebnisse zu erzielen (Shih, Datwyler et al. 2008).

Schaut man sich die Freisetzungskinetik des TNI an, erkennt man, dass es eine diagnostische Lücke während der ersten drei Stunden nach einem Myokardinfarkt aufweist (Keller, Zeller et al. 2009). In Studien konnte gezeigt werden, dass bis zu 60% der Patienten initial bei Krankenhausaufnahme keinen signifikant erhöhten TNI-Wert bieten (Morrow, de Lemos et al. 2003). Auch in diesem Falle könnte der frühe Anstieg der MPO einen diagnostischen Vorteil, gegenüber den etablierten kardialen Markern bieten und die frühzeitige, sowie bedarfsgerechte Patientenversorgung verbessern.

5.4 Limitationen

MPO stellt keinesfalls einen kardiospezifischen Marker dar, sondern ist immer als globaler Bestandteil des inflammatorischen Systems zu werten. Daraus erwachsen eindeutige Probleme im praktischen Umgang. So ist die Differenzierung zwischen rein kardialen oder infektiösen Erkrankungen im klinischen Alltag oftmals nicht vollständig möglich. Komorbiditäten sind besonders bei Patienten mit Verdacht auf das Vorliegen eines ACS keine Seltenheit. Gerade für Patienten mit Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis konnten erhöhte MPO-Konzentrationen nachgewiesen werden (Fernandes, Silva et al. 2011).

Neben der bereits beschriebenen MPO-Erhöhung durch Heparin wurde auch für andere medikamentöse Therapien ein Einfluss auf die MPO-Plasmakonzentration gezeigt. So erhöht eine Interferontherapie die MPO-Plasmakonzentration beispielsweise signifikant (Nakamuta, Ohashi et al. 1995).

Auch zu Beginn und im Verlaufe einer Sepsis konnten erhöhte MPO-Konzentrationen nachgewiesen werden (Kothari, Keshari et al. 2010) Daraus abgeleitet erscheint eine Erhöhung der MPO-Plasmakonzentration bei minderschweren Infektionen wahrscheinlich.

5.5 Ausblick und therapeutische Ansätze

In den Studien der letzten Jahre zum Zusammenhang zwischen Inflammation und Entstehung der KHK konnte bereits gezeigt werden, dass die MPO eine Rolle bei der Entstehung der KHK spielt (Lau and Baldus 2006). Weiterhin gibt es verschiedene Arbeiten, welche nahelegen, dass MPO bei der Plaqueruptur, also vor der Entstehung

eines myokardialen Zellschadens, freigesetzt wird und damit neue diagnostische Optionen bieten könnte (Hazen 2004).

Ebenfalls gaben verschiedene Studien Hinweise auf die prognostische Bedeutung von MPO bei Patienten mit ACS (Brennan, Penn et al. 2003; Dominguez-Rodriguez, Samimi-Fard et al. 2008; Chang, Chua et al. 2009; Tang, Wu et al. 2011). Dieses konnte auch für Patientin gezeigt werden, bei denen zum Zeitpunkt der Aufnahme TNI negativ war (Brennan, Penn et al. 2003).

Jedoch stellt sich die Studienlage momentan noch uneinheitlich dar. Unterschiedliche methodische Ansätze und analytische Verfahren scheinen hierbei die endgültige Aussagekraft zu verzerren. Verschiedenste Einflussfaktoren, wie z.B. die Art der Probenkonservierung haben dabei einen Einfluss auf die endgültige Aussagekraft der gemessenen MPO-Konzentration. Es zeigte sich, dass bereits die präanalytische Behandlung der entnommenen Blutproben, sowie die Verwendung von Plasma- oder Serumproben Auswirkungen auf die gemessenen MPO-Konzentrationen haben (Shih, Datwyler et al. 2008; Wendland, Camargo et al. 2010). Es gilt also, für die Zukunft ein standardisiertes Abnahme-, Verarbeitungs- und Analyseverfahren zu schaffen, um die Ergebnisse der kommenden Studien besser vergleichen zu können. Diese scheinen auch für einen routinemäßigen innerklinischen Einsatz unverzichtbar.

Des Weiteren sollte auch eine Standardisierung der innerklinischen Abläufe unter Kombination bestehender Risikoscores und laborchemischer Marker erfolgen. Welche Kombination dabei jedoch den höchsten prognostischen Wert besitzt, gilt es in den nächsten Jahren zu untersuchen.

Durch die Studien zur Rolle von MPO in der Entstehung der KHK und deren inflammatorischer Komponente wurde bereits die Frage nach neuen therapeutischen Optionen gestellt. MPO Inhibitoren könnten dabei vielleicht vielversprechende Ansatzpunkte für weitere Studien darstellen (Malle, Furtmuller et al. 2007).

Auch für Cholesterinsyntheseenzymhemmer sind pleiotrophe Effekte bekannt. Die Antiinflammatorische Wirkung der Cholesterinsyntheseenzymhemmer wird in der Behandlung des ACS bereits klinisch genutzt (Kones 2010; Tousoulis, Kampoli et al. 2011). So konnte auch gezeigt werden, dass eine Kurzzeitbehandlung mit Rosuvastatin die MPO-Plasmakonzentration bei Patienten mit chronischem Herzfehler signifikant reduzieren (Andreou, Tousoulis et al. 2010).

Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass die Behandlung von Patienten mit ACS mit Betarezeptorblockern eine signifikante Reduktion des MPO-Plasmaspiegels bewirkte (Ndrepepa, Braun et al. 2011).

Inwieweit diese Ansätze jedoch einen Einfluss auf den weiteren Krankheitsverlauf und das Überleben der Patienten haben könnten, gilt es in Zukunft jedoch noch zu untersuchen.

6 Zusammenfassung

Myeloperoxidase ist ein Enzym, welches von polymorphkernigen Granulozyten produziert und sezerniert wird. Es steht im Verdacht, an der Entstehung der koronaren Herzerkrankung, sowie an Prozessen, die zur Plaqueinstabilität und Plaqueruptur führen, maßgeblich beteiligt zu sein. In retropektiven Analysen konnte für Patienten mit gesichertem Myokardinfarkt und erhöhten Myeloperoxidase-Plasmaspiegeln eine schlechtere Prognose gezeigt werden.

Die vorliegende Studie untersuchte die prognostische Bedeutung der Myeloperoxidase bei Patienten mit Verdacht auf das Vorliegen eines akuten Koronarsyndroms. Es wurden 917 Patienten in die Studie eingeschlossen, die sich bei Aufnahme und am Folgetag einer BE unterzogen. Gleichzeitig wurden Risikofaktoren, klinische Parameter und das Ergebniss der Koronarangiographie mittels standardisierten Erhebungsbögen erfaßt. In der Folge erfaßten wir die Mortalität der Patienten und das Auftreten neuerlicher kardialer Ischämien innerhalb der nächsten 6 Monate.

Es zeigte sich, dass Patienten mit am Folgetag nach Koronarangiographie erhöhten MPO-Plasmaspiegel eine erhöhte Mortalität, sowie ein erhöhtes Risiko für kardiale Ischämien innerhalb des Beobachtungszeitraumes aufwiesen. Weiterhin zeigte sich MPO in der Multivarianzanalyse als unabhängiger Marker. Die bei Aufnahme gemessenen MPO-Plasmaspiegel hatten jedoch keine prognostische Signifikanz. Dies könnte darauf hindeuten, dass die präklinische, intravenöse Gabe von Heparin zu einer Erhöhung des MPO-Spiegels bei nicht kardial erkrankten Patienten geführt haben könnte.

Somit zeigt sich MPO als wichtiger Parameter zur Risikostratifizierung beim akuten Koronarsyndrom. Die Kombination von MPO mit etablierten kardialen Markern und Risikoscores könnte zukünftig helfen, eine bedarfsadaptierte Versorgung der Patienten mit Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom zu ermöglichen. Dadurch könnte eine Optimierung der medikamentösen- und interventionellen Therapie erreicht werden.

7 Summary

Myeloperoxidase (MPO) is an enzyme that is produced and secreted by polymorphonuclear granulocytes. It is suspected to be involved in the development of coronary heart disease and in processes leading to plaque instability and plaque rupture. Patients with established myocardial infarction and elevated plasma levels of myeloperoxidase showed poorer prognosis in retrospective analysis.

The present study examined the prognostic significance of myeloperoxidase in patients with suspicion of the existence of an acute coronary syndrome. 917 patients were enrolled in this study. Blood samples were taken at admission and the day after coronary angiography. Risk factors, clinical parameters and the result of coronary angiography were recorded by using a standardized protocol. We recorded patients mortality and the occurrence of cardiac ischemia within the next 6 months.

Mortality and risk for cardiac ischemia among Patients with increased MPO plasma levels at the day after coronary angiography were increased during the observation period. The multivariate analysis showed that MPO was an independent marker for mortality after acute coronary ischemia. MPO plasma levels at hospital admission showed no prognostic significance. It has to be assumed that intravenous application of heparin prior to hospital admission may have caused increased MPO levels in non-cardiac diseased patients.

In conclusion MPO is an important parameter for risk stratification in acute coronary syndrome. The combination of MPO with established cardiac markers and risk scores may help to permit a need-adapted treatment of patients with acute coronary syndrome.

8 Abkürzungsverzeichnis

ACB	aortokoronaren Bypassoperation
ACS	akutes Koronarsyndrom
APO A-I	Apolipoprotein A-I
AUC	Area under the curve
BE	Blutentnahme
BNP	Brain Natriuretic Peptide
CABG	Koronare Bypass-Operation
CK	Creatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
EKG	Elektrokardiogramm
GRACE	Global Registry of Coronary Events
H	Stunden
HDL	high-density-Lipoproteinen
HOCL	hypochlorige Säure
hsCRP	hoch sensitives C-reaktives-Protein
IQR	Interquartilsabstand
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	low-density-Lipoproteinen
LV	linksventrikulär
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MPO	Myeloperoxidase
NO	Stickstoffmonoxid
NSTE-ACS	Koronarsyndrome ohne ST-Streckenhebung
NSTEMI	Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarkt
NT-proBNP	N-Terminal-proBrain Natriuretic Peptide
PAI-I	Plasmin-Aktiviator-Inhibitor-I
PCI	Perkutane Coronarintervention
PTCA	Perkutane transluminale coronare Angioplastie

Pmol/l	Picomol pro Liter
PNM	Polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt
RLU	Relative Light Units
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
SD	Standardabweichung
SQL	Structured Query Language
STEMI	Myokardinfarkt mit ST-Strecken Hebungen
TIMI	Thrombolysis In Myocardial Infarction
TNI	Troponin I
TNT	Troponin T
VCAM 1	Zelladhäsionsmolekül 1

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Proteinstruktur der Myeloperoxidase, Promise Database, University of Leeds, 1998.	9
Abbildung 2: Zeitverlauf der medianen MPO-Plasmakonzentrationen der 1. Blutentnahme, Zeit in Stunden (h), Konzentration in pmol/l.....	28
<i>Abbildung 3: Zeitverlauf der medianen MPO-Plasmakonzentrationen der 2. Blutentnahme, Zeit in Stunden (h), Konzentration in pmol/l.....</i>	<i>28</i>
Abbildung 4: Mediane MPO-Plasmakonzentration der überlebenden- und verstorbenen Patienten in der ersten Blutentnahme, gemessen in pmol/l.....	30
<i>Abbildung 5: Mediane MPO-Plasmakonzentration der überlebenden- und verstorbenen Patienten in der zweiten Blutentnahme, gemessen in pmol/l</i>	<i>30</i>
Abbildung 6: ROC-Anlyse der MPO-Plasmawerte der 2. Blutentnahme, Endpunkt Mortalität innerhalb von 6 Monaten nach Ereignis.....	31
Abbildung 7: Kaplan-Maier Überlebenskurven für die MPO Plasmakonzentration der zweiten Blutentnahme in pmol/l, kumuliertes Überleben in Abhängigkeit zum Beobachtungszeitraum in Tagen (d).	32
Abbildung 8: ROC-Anlyse der MPO-Plasmawerte der 2. Blutentnahme, Endpunkt Re-Infarkt innerhalb von 6 Monaten nach dem Ereignis.....	33
<i>Abbildung 9: Prozentualer Anteil der Patienten mit kardiogenem Schock bei Aufnahme mit hohen und niedrigen MPO-Plasmaspiegeln [pmol/l] in der 2. Blutentnahme .</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 10: Patienten mit CABG zur Revaskularisierung [%] in Abhängigkeit von der MPO-Plasmakonzentration in [pmol/l]</i>	<i>36</i>
Abbildung 11: Kombiniertes Endpunkt nach 6 Monaten [%] in Abhängigkeit von der MPO-Plasmakonzentration in [pmol/l]	37
Abbildung 12: Mortalität [%] in Abhängigkeit von MPO-Plasmakonzentration [pmol/l]	37

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patientenkollektiv, erhobene Daten bei Krankenhausaufnahme, sowie Gesamtmortalität innerhalb des Beobachtungszeitraumes.....	27
Tabelle 2: Vergleich der Aufnahme-Charakteristiken, Risikofaktoren, Laborwerte und angiographischen Befunde, sowie klinisches Outcome nach 6 Monaten zwischen Patienten mit hohen und niedrigen MPO-Plasmaspiegeln.....	35
Tabelle 3: Ergebnisse der multivariaten Analyse mit Hilfe des Cox Regressionsmodells	38

11 Literaturverzeichnis

- "Nationale Versorgungsleitlinie (2010). Chronische KHK Langfassung
Version 1.9 September 2010."
- Abu-Soud, H. M. and S. L. Hazen (2000). "Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases." J Biol Chem **275**(48): 37524-37532.
- Alpert, J. S., K. Thygesen, et al. (2008). "The universal definition of myocardial infarction: a consensus document: ischaemic heart disease." Heart **94**(10): 1335-1341.
- Andreou, I., D. Tousoulis, et al. (2010). "Effects of rosuvastatin on myeloperoxidase levels in patients with chronic heart failure: a randomized placebo-controlled study." Atherosclerosis **210**(1): 194-198.
- Ang, D. S., L. Wei, et al. (2009). "A comparison between B-type natriuretic peptide, global registry of acute coronary events (GRACE) score and their combination in ACS risk stratification." Heart **95**(22): 1836-1842.
- Apple, F. S., L. A. Pearce, et al. (2007). "Multiple biomarker use for detection of adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome." Clin Chem **53**(5): 874-881.
- Apple, F. S., S. W. Smith, et al. (2011). "Myeloperoxidase Improves Risk Stratification in Patients with Ischemia and Normal Cardiac Troponin I Concentrations." Clin Chem.
- Askari, A. T., M. L. Brennan, et al. (2003). "Myeloperoxidase and plasminogen activator inhibitor 1 play a central role in ventricular remodeling after myocardial infarction." J Exp Med **197**(5): 615-624.
- Aupart, M., P. Neville, et al. (2003). "Indications of coronary artery bypass graft in 2003." J Cardiovasc Surg (Torino) **44**(3): 313-318.
- Bagur, R. H., F. M. Urinovsky, et al. (2009). "[TIMI risk score validation for patients with acute coronary syndrome without ST elevation]." Medicina (B Aires) **69**(5): 526-528.
- Baldus, S., J. P. Eiserich, et al. (2001). "Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration." J Clin Invest **108**(12): 1759-1770.
- Baldus, S., C. Heeschen, et al. (2003). "Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes." Circulation **108**(12): 1440-1445.
- Baldus, S., T. Heitzer, et al. (2004). "Myeloperoxidase enhances nitric oxide catabolism during myocardial ischemia and reperfusion." Free Radic Biol Med **37**(6): 902-911.
- Baldus, S., V. Rudolph, et al. (2006). "Heparins increase endothelial nitric oxide bioavailability by liberating vessel-immobilized myeloperoxidase." Circulation **113**(15): 1871-1878.
- Bassand, J. P., C. W. Hamm, et al. (2007). "Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes." Eur Heart J **28**(13): 1598-1660.
- Bergt, C., S. Pennathur, et al. (2004). "The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(35): 13032-13037.
- Bhatt, D. L., M. T. Roe, et al. (2004). "Utilization of early invasive management strategies for high-risk patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: results from the CRUSADE Quality Improvement Initiative." JAMA **292**(17): 2096-2104.

- Brennan, M. L., M. M. Anderson, et al. (2001). "Increased atherosclerosis in myeloperoxidase-deficient mice." J Clin Invest **107**(4): 419-430.
- Brennan, M. L., M. S. Penn, et al. (2003). "Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain." N Engl J Med **349**(17): 1595-1604.
- Buffon, A., L. M. Biasucci, et al. (2002). "Widespread coronary inflammation in unstable angina." N Engl J Med **347**(1): 5-12.
- Chang, L. T., S. Chua, et al. (2009). "Level and prognostic value of serum myeloperoxidase in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention." Circ J **73**(4): 726-731.
- Cox, D. (1972). "Regression models and life tables." J R Statist Soc B **34**: 187-220.
- Cummins, B., M. L. Auckland, et al. (1987). "Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction." Am Heart J **113**(6): 1333-1344.
- Datwyler SA, H. S., Matias MA, Pacenti DP, Shih J, Pucci DL (2007). "Evaluation of the ARCHITECT myeloperoxidase (MPO) assay in development." Clin Chem Lab Med **45**((Supplement)): T051.
- Datwyler SA, Z. R., Shih J. (2006). "Development of an automated myeloperoxidase (MPO) assay." Clin Chem **52**((6 Suppl):): D-11.
- Daugherty, A., J. L. Dunn, et al. (1994). "Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions." J Clin Invest **94**(1): 437-444.
- de Araujo Goncalves, P., J. Ferreira, et al. (2005). "TIMI, PURSUIT, and GRACE risk scores: sustained prognostic value and interaction with revascularization in NSTEMI-ACS." Eur Heart J **26**(9): 865-872.
- De Servi, S., A. Mazzone, et al. (1995). "Clinical and angiographic correlates of leukocyte activation in unstable angina." J Am Coll Cardiol **26**(5): 1146-1150.
- Domigan, N. M., T. S. Charlton, et al. (1995). "Chlorination of tyrosyl residues in peptides by myeloperoxidase and human neutrophils." J Biol Chem **270**(28): 16542-16548.
- Dominguez-Rodriguez, A., S. Samimi-Fard, et al. (2008). "Prognostic value of admission myeloperoxidase levels in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and cardiogenic shock." Am J Cardiol **101**(11): 1537-1540.
- Eagle, K. A., M. J. Lim, et al. (2004). "A validated prediction model for all forms of acute coronary syndrome: estimating the risk of 6-month postdischarge death in an international registry." JAMA **291**(22): 2727-2733.
- Eiserich, J. P., S. Baldus, et al. (2002). "Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase." Science **296**(5577): 2391-2394.
- Esporcatte, R., H. C. Rey, et al. (2007). "Predictive value of myeloperoxidase to identify high risk patients admitted to the hospital with acute chest pain." Arq Bras Cardiol **89**(6): 377-384.
- Faggiotto, A. and R. Ross (1984). "Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate. II. Fatty streak conversion to fibrous plaque." Arteriosclerosis **4**(4): 341-356.
- Fernandes, R. M., N. P. Silva, et al. (2011). "Increased myeloperoxidase plasma levels in rheumatoid arthritis." Rheumatol Int.
- Fu, X., S. Y. Kassim, et al. (2003). "Hypochlorous acid generated by myeloperoxidase modifies adjacent tryptophan and glycine residues in the catalytic domain of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin): an oxidative mechanism for restraining proteolytic activity during inflammation." J Biol Chem **278**(31): 28403-28409.

- Gajarsa, J. J. and R. A. Kloner (2011). "Left ventricular remodeling in the post-infarction heart: a review of cellular, molecular mechanisms, and therapeutic modalities." Heart Fail Rev **16**(1): 13-21.
- Gale, C. P., S. O. Manda, et al. (2009). "Evaluation of risk scores for risk stratification of acute coronary syndromes in the Myocardial Infarction National Audit Project (MINAP) database." Heart **95**(3): 221-227.
- Galvani, M., D. Ferrini, et al. (2001). "Cardiac markers and risk stratification: an integrated approach." Clin Chim Acta **311**(1): 9-17.
- Gonzalez, M. A., C. P. Porterfield, et al. (2009). "Quartiles of peak troponin are associated with long-term risk of death in type 1 and STEMI, but not in type 2 or NSTEMI patients." Clin Cardiol **32**(10): 575-583.
- Gordon, D., M. A. Reidy, et al. (1990). "Cell proliferation in human coronary arteries." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(12): 4600-4604.
- Graham, G. S. (1920). "The neutrophilic granules of the circulating blood in health and in disease. A preliminary report." N. Y. State J. Med **20**(46-55).
- Green, P. S., A. J. Mendez, et al. (2004). "Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease." J Neurochem **90**(3): 724-733.
- Hamm, C. (2002). "Acute coronary syndrome: the struggle for the best in risk stratification and therapy." Eur Heart J **23**(14): 1074-1076.
- Hamm, C. W. (2004). "[Guidelines: acute coronary syndrome (ACS). 1: ACS without persistent ST segment elevations]." Z Kardiol **93**(1): 72-90.
- Hamm, C. W. (2004). "[Guidelines: Acute coronary syndrome (ACS). II: Acute coronary syndrome with ST-elevation]." Z Kardiol **93**(4): 324-341.
- Hamm, C. W., J. P. Bassand, et al. (2012). "[ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)]." G Ital Cardiol (Rome) **13**(3): 171-228.
- Hamm, C. W., J. P. Bassand, et al. (2011). "ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)." Eur Heart J **32**(23): 2999-3054.
- Hampton, M. B., A. J. Kettle, et al. (1996). "Involvement of superoxide and myeloperoxidase in oxygen-dependent killing of *Staphylococcus aureus* by neutrophils." Infect Immun **64**(9): 3512-3517.
- Hazell, L. J., L. Arnold, et al. (1996). "Presence of hypochlorite-modified proteins in human atherosclerotic lesions." J Clin Invest **97**(6): 1535-1544.
- Hazen, S. L. (2004). "Myeloperoxidase and plaque vulnerability." Arterioscler Thromb Vasc Biol **24**(7): 1143-1146.
- Hazen, S. L. and J. W. Heinecke (1997). "3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima." J Clin Invest **99**(9): 2075-2081.
- Hazen, S. L., F. F. Hsu, et al. (1996). "Human neutrophils employ chlorine gas as an oxidant during phagocytosis." J Clin Invest **98**(6): 1283-1289.
- Henderson, A. (1996). "Coronary heart disease: overview." Lancet **348** **Suppl 1**: s1-4.
- Heslop, C. L., J. J. Frohlich, et al. (2010). "Myeloperoxidase and C-reactive protein have combined utility for long-term prediction of cardiovascular mortality after coronary angiography." J Am Coll Cardiol **55**(11): 1102-1109.

- Inglese, L. and C. Fantoni (2010). "[ST-elevation myocardial infarction: reperfusion strategy based on the results from large clinical trials]." G Ital Cardiol (Rome) **11**(10 Suppl 1): 57S-60S.
- Jaremo, P., G. Hansson, et al. (2000). "Elevated inflammatory parameters are associated with lower platelet density in acute myocardial infarctions with ST-elevation." Thromb Res **100**(6): 471-478.
- Jolobe, O. M. (2008). "Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST segment elevation acute coronary syndromes." Eur Heart J **29**(2): 277.
- Kaplan, E. and P. Meier (1958). "Nonparametric Estimation from Incomplete Observations." J Am Stat Assoc **53**(282): 457-481.
- Keller, T., T. Zeller, et al. (2009). "Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction." N Engl J Med **361**(9): 868-877.
- Khalill, R., L. Han, et al. (2009). "The use of risk scores for stratification of non-ST elevation acute coronary syndrome patients." Exp Clin Cardiol **14**(2): e25-30.
- Klebanoff, S. J. (1970). "Myeloperoxidase: contribution to the microbicidal activity of intact leukocytes." Science **169**(950): 1095-1097.
- Klebanoff, S. J. (1999). "Myeloperoxidase." Proc Assoc Am Physicians **111**(5): 383-389.
- Klein, L. W. (2005). "Clinical implications and mechanisms of plaque rupture in the acute coronary syndromes." Am Heart Hosp J **3**(4): 249-255.
- Kones, R. (2010). "Rosuvastatin, inflammation, C-reactive protein, JUPITER, and primary prevention of cardiovascular disease--a perspective." Drug Des Devel Ther **4**: 383-413.
- Kothari, N., R. S. Keshari, et al. (2010). "Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis." J Crit Care.
- Kushner, F. G., M. Hand, et al. (2009). "2009 Focused Updates: ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction (updating the 2004 Guideline and 2007 Focused Update) and ACC/AHA/SCAI Guidelines on Percutaneous Coronary Intervention (updating the 2005 Guideline and 2007 Focused Update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines." Circulation **120**(22): 2271-2306.
- Lau, D. and S. Baldus (2006). "Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease." Pharmacol Ther **111**(1): 16-26.
- Leeuwenburgh, C., M. M. Hardy, et al. (1997). "Reactive nitrogen intermediates promote low density lipoprotein oxidation in human atherosclerotic intima." J Biol Chem **272**(3): 1433-1436.
- Lenderink, T., E. Boersma, et al. (2003). "Elevated troponin T and C-reactive protein predict impaired outcome for 4 years in patients with refractory unstable angina, and troponin T predicts benefit of treatment with abciximab in combination with PTCA." Eur Heart J **24**(1): 77-85.
- Li, G., A. C. Keenan, et al. (2007). "Effects of unfractionated heparin and glycoprotein IIb/IIIa antagonists versus bivalirudin on myeloperoxidase release from neutrophils." Arterioscler Thromb Vasc Biol **27**(8): 1850-1856.
- Libby, P. (2000). "Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis, and stabilization." Am J Cardiol **86**(8B): 3J-8J; discussion 8J-9J.
- Libby, P. (2006). "Inflammation and cardiovascular disease mechanisms." Am J Clin Nutr **83**(2): 456S-460S.

- Libby, P., P. M. Ridker, et al. (2002). "Inflammation and atherosclerosis." Circulation **105**(9): 1135-1143.
- Mach, F., A. Sauty, et al. (1999). "Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells." J Clin Invest **104**(8): 1041-1050.
- Malle, E., P. G. Furtmuller, et al. (2007). "Myeloperoxidase: a target for new drug development?" Br J Pharmacol **152**(6): 838-854.
- Markham, D. W. and J. A. de Lemos (2005). "Screening for cardiovascular disease using B-type natriuretic peptides: detecting an imbalance of the four humours." Eur Heart J **26**(21): 2220-2221.
- Marshall, C. J., M. Nallaratnam, et al. (2010). "Factors influencing local and systemic levels of plasma myeloperoxidase in ST-segment elevation acute myocardial infarction." Am J Cardiol **106**(3): 316-322.
- Mathers, C. D., A. D. Lopez, et al. (2006). "The Burden of Disease and Mortality by Condition: Data, Methods, and Results for."
- Meuwese, M. C., E. S. Stroes, et al. (2007). "Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study." J Am Coll Cardiol **50**(2): 159-165.
- Mocatta, T. J., A. P. Pilbrow, et al. (2007). "Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction." J Am Coll Cardiol **49**(20): 1993-2000.
- Morrow, D. A., J. A. de Lemos, et al. (2003). "The search for a biomarker of cardiac ischemia." Clin Chem **49**(4): 537-539.
- Morrow, D. A., M. S. Sabatine, et al. (2008). "Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18." Eur Heart J **29**(9): 1096-1102.
- Nagel, T., N. Resnick, et al. (1994). "Shear stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells." J Clin Invest **94**(2): 885-891.
- Nakamuta, M., M. Ohashi, et al. (1995). "Rise of plasma myeloperoxidase during interferon therapy." J Gastroenterol Hepatol **10**(3): 277-280.
- Naruko, T., M. Ueda, et al. (2002). "Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes." Circulation **106**(23): 2894-2900.
- Nauseef, W. M., M. Cogley, et al. (1996). "Effect of the R569W missense mutation on the biosynthesis of myeloperoxidase." J Biol Chem **271**(16): 9546-9549.
- Ndrepepa, G., S. Braun, et al. (2011). "Impact of therapy with statins, beta-blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors on plasma myeloperoxidase in patients with coronary artery disease." Clin Res Cardiol **100**(4): 327-333.
- Nicholls, S. J. and S. L. Hazen (2005). "Myeloperoxidase and cardiovascular disease." Arterioscler Thromb Vasc Biol **25**(6): 1102-1111.
- Nicholls, S. J. and S. L. Hazen (2009). "Myeloperoxidase, modified lipoproteins, and atherogenesis." J Lipid Res **50** Suppl: S346-351.
- Nicholls, S. J., L. Zheng, et al. (2005). "Formation of dysfunctional high-density lipoprotein by myeloperoxidase." Trends Cardiovasc Med **15**(6): 212-219.
- Nieuwlaat, R., F. Vermeer, et al. (2004). "[Treatment of patients with acute coronary syndromes in the Netherlands in 2000-2001; a comparison with other European countries and with the guidelines]." Ned Tijdschr Geneesk **148**(38): 1878-1882.

- Olsen, R. L. and C. Little (1984). "Studies on the subunits of human myeloperoxidase." Biochem J **222**(3): 701-709.
- Pinnix, I. B., G. S. Guzman, et al. (1994). "The post-translational processing of myeloperoxidase is regulated by the availability of heme." Arch Biochem Biophys **312**(2): 447-458.
- Podrez, E. A., M. Febbraio, et al. (2000). "Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species." J Clin Invest **105**(8): 1095-1108.
- Ridker, P. M., N. J. Brown, et al. (2004). "Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events." Circulation **109**(25 Suppl 1): IV6-19.
- Robbie, L. and P. Libby (2001). "Inflammation and atherothrombosis." Ann N Y Acad Sci **947**: 167-179; discussion 179-180.
- Ross, R. (1999). "Atherosclerosis--an inflammatory disease." N Engl J Med **340**(2): 115-126.
- Rudolph, V., T. K. Rudolph, et al. (2007). "Activation of polymorphonuclear neutrophils in patients with impaired left ventricular function." Free Radic Biol Med **43**(8): 1189-1196.
- Schettler, G. and H. Morl (1978). "[Etiology and pathogenesis of arteriosclerosis]." Naturwissenschaften **65**(3): 130-136.
- Schindhelm, R. K., L. P. van der Zwan, et al. (2009). "Myeloperoxidase: a useful biomarker for cardiovascular disease risk stratification?" Clin Chem **55**(8): 1462-1470.
- Shih, J., S. A. Datwyler, et al. (2008). "Effect of collection tube type and preanalytical handling on myeloperoxidase concentrations." Clin Chem **54**(6): 1076-1079.
- Silber, S. (2010). "[Evidence-based management of ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI). Latest guidelines of the European Society of Cardiology (ESC) 2010]." Herz **35**(8): 558-564.
- Singh, M., G. S. Reeder, et al. (2002). "Scores for post-myocardial infarction risk stratification in the community." Circulation **106**(18): 2309-2314.
- Singh, U., S. Devaraj, et al. (2009). "C-reactive protein stimulates myeloperoxidase release from polymorphonuclear cells and monocytes: implications for acute coronary syndromes." Clin Chem **55**(2): 361-364.
- Smith, S. C., Jr., T. E. Feldman, et al. (2006). "ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention)." Circulation **113**(7): e166-286.
- Statistisches Bundesamt, D. (2010). "Gesundheitswesen. Bevölkerung Deutschlands bis 2050 - 11. koordinierte Bevölkerungsvorausberechnung. www.destatis.de"
- Statistisches Bundesamt, W. (2010). "Todesursachen in Deutschland 2009."
- Stein, B. C. and R. I. Levin (1998). "Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease." Am Heart J **135**(5 Pt 1): 914-923.
- Stemme, S., B. Faber, et al. (1995). "T-Lymphocytes from Human Atherosclerotic Plaques Recognize Oxidized Low-Density-Lipoprotein." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **92**(9): 3893-3897.

- Sugiyama, S., K. Kugiyama, et al. (2004). "Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression: involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis." Arterioscler Thromb Vasc Biol **24**(7): 1309-1314.
- Sugiyama, S., Y. Okada, et al. (2001). "Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes." Am J Pathol **158**(3): 879-891.
- Tang, W. H., Y. Wu, et al. (2011). "Plasma myeloperoxidase predicts incident cardiovascular risks in stable patients undergoing medical management for coronary artery disease." Clin Chem **57**(1): 33-39.
- Tousoulis, D., A. M. Kampoli, et al. (2011). "Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation." Curr Pharm Des **17**(37): 4089-4110.
- Tubaro, M. and A. Sonia Petronio (2009). "ST-segment elevation myocardial infarction management in Europe." J Cardiovasc Med (Hagerstown) **10 Suppl 1**: S3-6.
- Vasilyev, N., T. Williams, et al. (2005). "Myeloperoxidase-generated oxidants modulate left ventricular remodeling but not infarct size after myocardial infarction." Circulation **112**(18): 2812-2820.
- Weber, M. and C. Hamm (2007). "[Myocardial infarct and unstable angina pectoris: diagnostics and therapy]." Internist (Berl) **48**(4): 399-410; quiz 411-392.
- Weber, M. and C. Hamm (2008). "Novel biomarkers--the long march from bench to bedside." Eur Heart J **29**(9): 1079-1081.
- Weber, M. and C. Hamm (2008). "[Redefinition of myocardial infarction--relevance of biomarkers]." Herz **33**(2): 115-121.
- Weil, S. C., G. L. Rosner, et al. (1987). "cDNA cloning of human myeloperoxidase: decrease in myeloperoxidase mRNA upon induction of HL-60 cells." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(7): 2057-2061.
- Wendland, A. E., J. L. Camargo, et al. (2010). "Effect of preanalytical variables on myeloperoxidase levels." Clin Chim Acta **411**(21-22): 1650-1655.
- Widimsky, P., W. Wijns, et al. (2010). "Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction in Europe: description of the current situation in 30 countries." Eur Heart J **31**(8): 943-957.
- Wilcoxon, F. (1946). "Individual comparisons of grouped data by ranking methods." J Econ Entomol **39**: 269.
- Wu, A. H., Y. J. Feng, et al. (1998). "Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnI Standardization." Clin Chem **44**(6 Pt 1): 1198-1208.
- Yamada, M., S. J. Hur, et al. (1987). "Isolation and characterization of a cDNA coding for human myeloperoxidase." Arch Biochem Biophys **255**(1): 147-155.
- Yan, A. T., R. T. Yan, et al. (2007). "Management patterns in relation to risk stratification among patients with non-ST elevation acute coronary syndromes." Arch Intern Med **167**(10): 1009-1016.
- Yip, H. K., C. K. Sun, et al. (2006). "Strong correlation between serum levels of inflammatory mediators and their distribution in infarct-related coronary artery." Circ J **70**(7): 838-845.
- Young, J. L., P. Libby, et al. (2002). "Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis." Thromb Haemost **88**(4): 554-567.
- Zhang, C., C. Reiter, et al. (2001). "L-arginine chlorination products inhibit endothelial nitric oxide production." J Biol Chem **276**(29): 27159-27165.

Zhang, R., M. L. Brennan, et al. (2001). "Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease." Jama **286**(17): 2136-2142.

12 Anhang

12.1 Eidesstattliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Datum: 01.03.2012

Unterschrift

12.2 Danksagung

Danken möchte ich Herrn Prof. Heidt für die Überlassung des Themas, der freundlichen Unterstützung und der Gelegenheit unter seiner Verantwortung diese Arbeit zu erstellen. Damit verbunden ist der Dank an die Mitarbeiter der Universitätsklinik Giessen und der Kerkhoff Klinik Bad Nauheim, die an der Gewinnung von Material und Daten beteiligt waren.

Mein herzlicher Dank gilt besonders Dr. S. Stracke für die stets engagierte und ermutigende Betreuung.

Für die wissenschaftliche Zusammenarbeit, kompetente Unterstützung, intensive Diskussionen und stets freundliche Unterstützung danke ich Herrn PD Dr. M. Weber.

Meinen Eltern danke ich herzlich, die mir mein Studium ermöglicht haben und mich auf meinem Weg begleiten.

Schließlich gilt mein besonderer Dank meiner Frau Jenny, sowie unseren Kindern Paula und Moritz, für die uneingeschränkte Unterstützung, viel Geduld und den notwendigen Humor.