

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Universitäres Herzzentrum Hamburg

PD Dr. Mahir Karakas, MBA

**Bestimmung des kombinierten Nutzens von suPAR
[löslicher Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor]
und Troponin I in der Frühdiagnostik des akuten Myokardinfarktes**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Günay Dönmez aus Volkach

Hamburg 2019

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am 11.10.2019

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: PD Dr. Mahir Karakas

Prüfungsausschuss, 2. Gutachterin: Prof. Dr. Lucie Carrier

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------|---|----|
| 1. | Veröffentlichter Artikel | 03 |
| 2. | Letter of acceptance | 11 |
| 3. | Darstellung der Promotion | 12 |
| 3.1. | Einleitung | 12 |
| 3.2. | Material und Methoden | 14 |
| 3.3. | Ergebnisse | 16 |
| 3.4. | Diskussion und Ausblick | 17 |
| 4. | Zusammenfassung | 19 |
| 5. | Abkürzungsverzeichnis | 20 |
| 6. | Literaturverzeichnis | 21 |
| 7. | Erklärung des Eigenanteils an der Publikation | 23 |
| 8. | Danksagung | 24 |
| 9. | Lebenslauf | 25 |
| 10. | Eidesstattliche Versicherung | 26 |

Article

Diagnostic Value of Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor in Addition to High-Sensitivity Troponin I in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction

Nils A. Sörensen ^{1,†}, Günay Dönmez ^{1,†}, Johannes T. Neumann ^{1,2}, Julius Nikorowitsch ¹, Nicole Rübsamen ¹, Stefan Blankenberg ^{1,2}, Dirk Westermann ^{1,2}, Tanja Zeller ^{1,2} and Mahir Karakas ^{1,2,*}

¹ Department of General and Interventional Cardiology, University Heart Center, 20246 Hamburg, Germany; n.soerensen@uke.de (N.A.S.); guenay.doenmez@gmx.de (G.D.); j.neumann@uke.de (J.T.N.); j.nikorowitsch@uke.de (J.N.); n.ruebsamen@uke.de (N.R.); s.blankenberg@uke.de (S.B.); d.westermann@uke.de (D.W.); t.zeller@uke.de (T.Z.)

² German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Hamburg, Lübeck, Kiel, Hamburg, 20246 Hamburg, Germany

* Correspondence: m.karakas@uke.de; Tel.: +49-40-7410-57975; Fax: +49-40-7410-53622

† Both authors contributed equally.

Received: 26 January 2019; Accepted: 14 March 2019; Published: 18 March 2019

Abstract: The soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) is a new marker for immune activation and inflammation and may provide diagnostic value on top of established biomarkers in patients with suspected acute myocardial infarction (AMI). Here, we evaluate the diagnostic potential of suPAR levels on top of high-sensitivity troponin I (hs-TnI) in a cohort of patients with suspected AMI. A total of 1220 patients presenting to the emergency department with suspected AMI were included, of whom 245 were diagnosed with AMI. Median suPAR levels at admission were elevated in subjects with AMI compared to non-AMI (3.8 ng/mL vs 3.3 ng/mL, $p = 0.001$). In C-statistics, the area under the curve (AUC) regarding the diagnosis of AMI was low (0.57 at an optimized cut-off of 3.7 ng/mL). Moreover, baseline suPAR levels on top of troponin values at admission and hour 1 reduced the number of patients who were correctly ruled-out as non-AMI, and who were correctly ruled-in as AMI. Our study shows that circulating levels of suPAR on top of high-sensitivity troponin I do not improve the early diagnosis of AMI.

Keywords: suPAR; troponin; diagnosis; acute coronary syndrome

1. Introduction

The uPAR (urokinase plasminogen activator receptor) acts as receptor for urokinase (uPA) that itself splits inactive plasminogen into active plasmin [1]. Beyond this function, by interaction with other proteins, uPAR also plays a role in important atherosclerotic cell processes like migration, adhesion, angiogenesis, proliferation, and chemotaxis [2,3]. The circulating biomarker suPAR (soluble urokinase plasminogen activator receptor) is the soluble form of the cell membrane-bound protein uPAR [4]. It is produced by cleavage of membrane-bound uPAR and can be detected in plasma and serum [5]. The suPAR blood level is stable with no diurnal variation and no changes following fasting [6]. It is discussed as a new marker for immune activation and inflammation—pathways, which are important in atherogenesis [7]. Moreover, it has been shown that suPAR is expressed in a variety of cells, which play a critical role in all stages of atherogenesis—from initiation

of fatty streaks to progression of atherosclerosis and plaque destabilization [8]. Although results from these experimental studies are fairly consistent, equivocal data have been reported from clinical and epidemiological studies [9]. Several studies investigating the association between circulating levels of suPAR and prognosis in patients with heart failure and coronary heart disease (CHD) have reported fairly strong associations [10]; however, in acute coronary syndrome (ACS) subjects, the results have been less clear [11,12]. Although a recent study from Denmark in 194 patients indicated that suPAR levels are elevated in acute myocardial infarction (AMI) compared to controls, there was no clear evidence of incremental diagnostic value on top of high-sensitivity troponin [12].

Here, we evaluate the diagnostic potential of suPAR levels on top of high-sensitivity troponin I (hs-TnI) in a large cohort of patients with suspected AMI.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

The BACC (Biomarkers in Acute Cardiac Care) study has been described previously [13–17]. Briefly, we included 1641 patients presenting to the emergency department of the University Heart Center Hamburg with suspected ACS. We excluded subjects with missing suPAR ($n = 354$) and/or hs-TnI ($n = 23$) measurements, and 78 subjects with ST-elevation myocardial infarction (STEMI) (because biomarker measurements are not relevant for this diagnosis—i.e., AMI denotes non-ST-elevation myocardial infarction (NSTEMI) in this report), resulting in a cohort of 1220 patients. All patients were enrolled between July 2013 and March 2016. The inclusion criteria were suspected ACS, age >18 years, and the ability to provide written informed consent. All patients underwent a routine clinical assessment as described in the current European Society of Cardiology guidelines [17]. Blood was drawn directly at admission and after 3 h. A primary diagnosis of AMI was adjudicated according to current guidelines based on a high-sensitivity troponin T assay (Elecsys; Roche Diagnostics) [13]. The final discharge diagnosis used for the index event was additionally based on all available clinical, laboratory, and imaging findings in the course of the hospital stay. Two cardiologists adjudicated the diagnosis independently. If the adjudicators disagreed about the diagnosis, a third cardiologist refereed. Moreover, non-ST-elevation myocardial infarction (NSTEMI) was diagnosed based on the third universal definition of myocardial infarction [13].

The BACC study was registered at <https://www.clinicaltrials.gov> (unique identifier: NCT02355457). The Ethics Committee of the medical association of Hamburg/Germany approved the study, which followed the Declaration of Helsinki. All subjects gave written informed consent.

2.2. Laboratory Methods

Blood samples were stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ under standardized conditions. Routine laboratory parameters were determined at the University Hospital of Hamburg. Hs-TnI was determined from blood samples collected at admission, after 1 and 3 h. The sensitivity of the hs-TnI immunoassay (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany, ARCHITECT i1000SR) had a limit of detection at 1.9 ng/L (range 0–50,000 ng/L) and a 10 percent coefficient of variation at a concentration of 5.2 ng/L. The assay-specific 99th percentile was described at 27 ng/L in the general population [13]. The levels of suPAR were detected using the suPARnostic standard enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, ViroGates, Birkerød, Denmark) in frozen plasma samples. The intra-assay variation was 2.75% and the inter-assay variation 9.17%. This is better than reported with previous enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)—like the one used by Stephens and colleagues, who reported an intra-assay variation of 6.5%, and an inter-assay variation of 14% [18].

2.3. Statistical Methods

The study population was described with respect to various sociodemographic and medical characteristics. Baseline characteristics are presented as median and interquartile ranges (IQRs) for continuous variables and as counts and percentages for dichotomous variables. The accuracy of the different models to assess accuracy of rule-out and rule-in were estimated—for the binary tests,

sensitivity, specificity, negative predictive value (NPV), and positive predictive value (PPV) were computed. Receiver operating characteristic curves were produced for suPAR levels measured on admission. All computations were performed with R version 3.3.3 (<http://www.r-project.org/>) [19]. A *p*-value of <0.05 was considered statistically significant.

3. Results

The baseline characteristics of the study participants are presented in Table 1. Of 1220 patients, 975 were diagnosed as non-AMI and 245 as AMI. The mean age of non-AMI patients was 63 years, while it was 70 years in AMI patients. The majority of patients was of male sex (63.1% in non-AMI and 64.9% in AMI patients). Both, hs-TnI (5.1 [2.5, 10.3] vs 71.7 [16.2, 695.0] ng/L; *p* < 0.001) and suPAR (3.3 [2.3, 4.7] vs 3.8 [2.6, 5.4] ng/mL; *p* = 0.001) levels at baseline were higher in patients with AMI. Furthermore, patients presenting with AMI more often reported arterial hypertension and hyperlipoproteinemia. A history of coronary artery disease (CAD) was present in 43.7% of AMI patients—among non-AMI patients still 31.8% reported a history of CAD.

Table 1. Characteristics of the study cohort at baseline.

| | All | Non-AMI | AMI | <i>p</i> -Value |
|--|-------------------|-------------------|---------------------|-----------------|
| Number of patients | 1220 | 975 | 245 | |
| Age (years) | 65.0 (51.0, 75.0) | 63.0 (50.0, 74.0) | 70.0 (60.0, 77.3) | <0.001 |
| Male No. (%) | 774 (63.4) | 615 (63.1) | 159 (64.9) | 0.65 |
| BMI (kg/m ²) | 26.1 (23.6, 29.4) | 26.0 (23.6, 29.3) | 26.6 (23.6, 29.8) | 0.34 |
| Hypertension No. (%) | 825 (67.8) | 631 (64.9) | 194 (79.5) | <0.001 |
| Hyperlipoproteinemia No. (%) | 464 (38.0) | 345 (35.4) | 119 (48.6) | <0.001 |
| Diabetes No. (%) | 160 (13.3) | 118 (12.3) | 42 (17.2) | 0.055 |
| Former smoker No. (%) | 370 (30.4) | 291 (29.9) | 79 (32.2) | 0.53 |
| Current smoker No. (%) | 297 (24.4) | 233 (24.0) | 64 (26.1) | 0.54 |
| History of CAD (%) | 417 (34.2) | 310 (31.8) | 107 (43.7) | <0.001 |
| eGFR (mL/min for 1.73 m ²) | 76.7 (59.2, 92.3) | 79.4 (61.0, 93.9) | 67.4 (51.8, 82.5) | <0.001 |
| Chest pain onset ≥6h No. (%) | 645 (57.4) | 515 (57.8) | 130 (56.0) | 0.68 |
| Troponin I 0h (ng/L) | 6.5 (3.0, 17.8) | 5.1 (2.5, 10.3) | 71.7 (16.2, 695.0) | <0.001 |
| Troponin I 1h (ng/L) | 6.8 (3.1, 21.8) | 5.1 (2.6, 10.5) | 137.8 (33.7, 754.1) | <0.001 |
| suPAR 0h (ng/mL) | 3.4 (2.4, 4.9) | 3.3 (2.3, 4.7) | 3.8 (2.6, 5.4) | 0.001 |

AMI = acute myocardial infarction, BMI = body mass index, CAD = coronary artery disease; For continuous variables, median (25th percentile, 75th percentile) is shown. For binary variables, percentage is given.

To assess the stand-alone diagnostic value of baseline suPAR levels, C-statistics were calculated using the optimized cut-off. As shown in Figure 1, the area under the curve (AUC) regarding the diagnosis of AMI was 0.57. According to Youden-index, the optimized cut-off for suPAR for discrimination between AMI and non-AMI was 3.7 ng/mL.

Table 2 shows the accuracy for the rule-out of non-AMI using troponin levels at baseline, troponin levels at hour 1, electrocardiogram (ECG) at admission, and suPAR levels at baseline. The rationale for variations of rule-out testing has been described elsewhere [13]. Addition of suPAR reduced the number of patients who were correctly ruled-out as non-AMI: 248 patients were ruled out according to the baseline hs-TnI levels. Adding baseline suPAR on top of hs-TnI would have ruled out only 195 of the 248 patients (*p* < 0.001). In line with this finding, 454 patients were ruled out according to baseline and hour 1 troponin values. Adding baseline suPAR on top of hs-TnI, would have ruled out only 327 of the 454 patients (*p* < 0.001). Using suPAR at a cut-off of 3.7 ng/mL alone would have correctly ruled-out 58.6% of non-AMI patients, while falsely 47.3% of AMI patients would have been ruled-out.

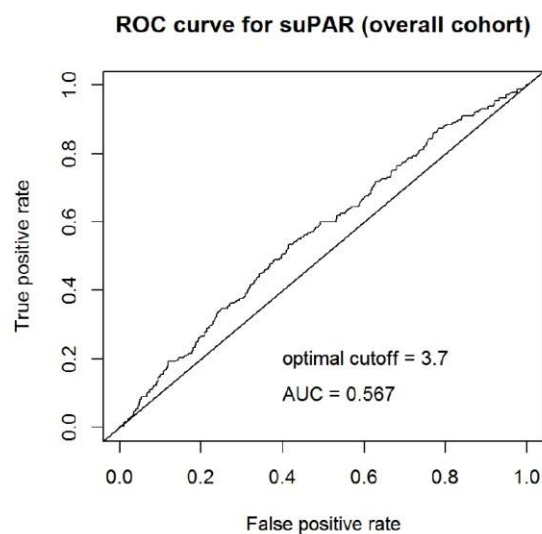


Figure 1. C-statistic for the prediction of acute myocardial infarction (AMI) using baseline levels of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR).

Table 2. Performance in rule-out using biomarkers and ECG.

| | Rule-Out Observations: | | |
|--|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | All (<i>n</i> = 1220) | Non-AMI (<i>n</i> = 975) | AMI (<i>n</i> = 245) |
| hs-TnI 0h \leq 3 ng/L AND low risk ECG | 248 (20.7%) | 248 (25.9%) | 0 (0%) |
| hs-TnI 0h \leq 3 ng/L AND low risk ECG AND suPAR 0h $<$ 3.7 ng/mL | 195 (16.2%) | 195 (20.4%) | 0 (0%) |
| hs-TnI 0h \leq 6 ng/L AND hs-TnI 1h \leq 6 ng/L | 454 (38.1%) | 450 (47.4%) | 4 (1.6%) |
| hs-TnI 0h \leq 6 ng/L AND hs-TnI 1h \leq 6 ng/L AND suPAR 0h $<$ 3.7 ng/mL | 327 (27.4%) | 325 (34.2%) | 2 (0.8%) |
| suPAR 0h $<$ 3.7 ng/mL | 687 (56.3%) | 571 (58.6%) | 116 (47.3%) |

ECG = electrocardiogram, AMI = acute myocardial infarction, hs-TnI = high-sensitivity troponin I, suPAR = soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

Table 3 gives the sensitivity and specificity for the rule-out of non-AMI using troponin levels at baseline, troponin levels at hour 1, ECG at admission, and suPAR levels at baseline. Both measures do not improve upon the inclusion of suPAR.

Table 3. Sensitivity analyses in rule-out using biomarkers and ECG.

| | NPV | Sensitivity | PPV | Specificity |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| hs-TnI 0h \leq 3 ng/L AND low risk ECG | 100 (98.5, 100) | 100 (98.5, 100) | 25.4 (22.7, 28.3) | 25.9 (23.1, 28.8) |
| hs-TnI 0h \leq 3 ng/L AND low risk ECG AND suPAR 0h $<$ 3.7 ng/mL | 100 (98.1, 100) | 100 (98.5, 100) | 24.1 (21.5, 26.8) | 20.4 (17.8, 23) |
| hs-TnI 0h \leq 6 ng/L AND hs-TnI 1h \leq 6 ng/L | 99.1 (97.8, 99.8) | 98.4 (95.9, 99.6) | 32.5 (29.1, 36.0) | 47.4 (44.2, 50.7) |
| hs-TnI 0h \leq 6 ng/L AND hs-TnI 1h \leq 6 ng/L AND suPAR 0h $<$.7 ng/mL | 99.4 (97.8, 99.9) | 99.2 (97.1, 99.9) | 27.9 (25.0, 31.1) | 34.2 (31.2, 37.4) |
| suPAR 0h $<$ 3.7 ng/mL | 83.1 (80.1, 85.8) | 52.7 (46.2, 59.0) | 24.2 (20.6, 28.1) | 58.6 (55.4, 61.7) |

Table 4 shows the accuracy for the rule-in of AMI using troponin levels at baseline, troponin levels at hour 1, and suPAR levels at baseline. The rationale for variations of rule-in testing has been described elsewhere [13]. Addition of suPAR reduced the number of patients, who were correctly ruled-in as AMI: 150 patients were ruled in according to hs-TnI levels. Adding baseline suPAR on top of hs-TnI, would have ruled in only 76 of the 150 patients ($p < 0.001$). Using suPAR at a cut-off of 3.7 ng/mL alone would have correctly ruled-in 52.7% of AMI patients, while falsely 41.4% of non-AMI patients would have been ruled-in.

Table 4. Performance in rule-in using biomarkers and ECG.

| | Rule-In Observations: | | |
|--|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | All (<i>n</i> = 1220) | Non-AMI (<i>n</i> = 975) | AMI (<i>n</i> = 245) |
| hs-TnI 1h >6 ng/L AND hs-TnI increase ≥ 12 ng/L compared to hs-TnI 0h | 177 (15.3%) | 27 (2.9%) | 150 (65.5%) |
| hs-TnI 1h >6 ng/L AND hs-TnI increase ≥ 12 ng/L compared to hs-TnI 0h AND suPAR 0h ≥ 3.7 ng/mL | 93 (8.1%) | 17 (1.8%) | 76 (33.2%) |
| suPAR 0h ≥ 3.7 ng/mL | 533 (43.7%) | 404 (41.4%) | 129 (52.7%) |

AMI = acute myocardial infarction, hs-TnI = high-sensitivity troponin I, suPAR = soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

Table 5 gives the sensitivity and specificity for the rule-in of non-AMI using troponin levels at baseline, troponin levels at hour 1, ECG at admission, and suPAR levels at baseline. Both measures do not improve upon the inclusion of suPAR.

Table 5. Sensitivity analyses in rule-in using biomarkers and ECG.

| | NPV | Sensitivity | PPV | Specificity |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| hs-TnI 1h >6 ng/L AND hs-TnI increase ≥ 12 ng/L compared to hs-TnI 0h | 91.9 (90.0, 93.6) | 65.5 (59.0, 71.6) | 84.7 (78.6, 89.7) | 97.1 (95.8, 98.1) |
| hs-TnI 1h >6 ng/L AND hs-TnI increase ≥ 12 ng/L compared to hs-TnI 0h AND suPAR 0h ≥ 3.7 ng/mL | 85.6 (83.3, 87.7) | 33.2 (27.1, 39.7) | 81.7 (72.4, 89.0) | 98.2 (97.1, 98.9) |
| suPAR 0h ≥ 3.7 ng/mL | 83.1 (80.1, 85.8) | 52.7 (46.2, 59.0) | 24.2 (20.6, 28.1) | 58.6 (55.4, 61.7) |

Table 6 gives the prognostic accuracy of the rule-out definition using troponin levels at baseline, troponin levels at hour 1, ECG at admission, and suPAR levels at baseline. As shown, suPAR did not improve prognosis.

Table 6. Prognostic value of suPAR within the rule-out definition.

| RULE-OUT-Definition | Death | Incident Non-Fatal AMI | Coronary Intervention | Cardiac Rehospitalisation |
|---|----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| hs-TnI 0h ≤ 3 ng/L AND low risk ECG | <i>N</i> = 0/246 0% | <i>N</i> = 0/246 0% | <i>N</i> = 5/246 2.12% | <i>N</i> = 20/246 8.96% |
| hs-TnI 0h ≤ 3 ng/L AND low risk ECG AND suPAR 0h <3.7 ng/mL | <i>N</i> = 0/193 0% | <i>N</i> = 0/193 0% | <i>N</i> = 3/193 1.55% | <i>N</i> = 12/193 6.75% |
| hs-TnI 0h ≤ 6 ng/L AND hs-TnI 1h ≤ 6 ng/L | <i>N</i> = 6/452 1.46% | <i>N</i> = 3/452 0.75% | <i>N</i> = 11/452 2.55% | <i>N</i> = 52/452 12.50% |
| hs-TnI 0h ≤ 6 ng/L AND hs-TnI 1h ≤ 6 ng/L AND suPAR 0h <3.7 ng/mL | <i>N</i> = 2/325 0.63% | <i>N</i> = 0/325 0% | <i>N</i> = 8/325 2.54% | <i>N</i> = 30/325 9.83% |
| suPAR 0h <3.7 ng/mL | <i>N</i> = 10/685 1.71% | <i>N</i> = 4/685 0.71% | <i>N</i> = 27/685 4.01% | <i>N</i> = 116/685 18.16% |

AMI = acute myocardial infarction, hs-TnI = high-sensitivity troponin I, suPAR = soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

Table 7 gives the prognostic accuracy of the rule-in definition using troponin levels at baseline, troponin levels at hour 1, and suPAR levels at baseline. As shown, suPAR again did not improve prognosis.

Table 7. Prognostic value of suPAR within the rule-in definition.

| RULE-IN-Definition | Death | Incident Non-Fatal AMI | Coronary Intervention | Cardiac Rehospitalisation |
|--|---------------------|------------------------|-----------------------|---------------------------|
| hs-TnI 1h >6 ng/L AND hs-TnI increase ≥ 12 ng/L compared to hs-TnI 0h | N = 11/177 6.78% | N = 3/177 2.08% | N = 16/177 9.57% | N = 46/177 28.82% |
| hs-TnI 1h >6 ng/L AND hs-TnI increase ≥ 12 ng/L compared to hs-TnI 0h AND suPAR 0h ≥ 3.7 ng/mL | N = 9/93 10.28% | N = 2/93 3.03% | N = 8/93 9.36% | N = 23/93 28.00% |
| suPAR 0h ≥ 3.7 ng/mL | N = 44/533 9.91% | N = 7/533 1.66% | N = 28/533 5.83% | N = 120/533 26.60% |

AMI = acute myocardial infarction, hs-TnI = high-sensitivity troponin I, suPAR = soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

4. Discussion

In this study, we evaluated the incremental diagnostic value of suPAR on top of hs-TnI in AMI. SuPAR failed in improvement of rule-out and rule-in of patients with suspected AMI. Moreover, suPAR—both in the rule-out and in the rule-in definition did not improve the 12-months prognosis regarding the endpoint's mortality, incident non-fatal AMI, coronary intervention, and cardiac rehospitalization.

We report three major findings: first, with median suPAR levels of 3.8 ng/mL in AMI patients, and 3.3 ng/mL in patients with non-AMI suPAR levels were higher in myocardial infarction.

Second, stand-alone suPAR at admission failed regarding the diagnosis of AMI. As shown in C-statistics (at an optimized cut-off of 3.7 ng/mL), the AUC was 0.57 only.

Third, the combination of suPAR and serial hs-TnI did not improve the diagnosis of AMI as compared with hs-TnI alone. Baseline suPAR levels on top of troponin values at admission and hour 1 reduced the number of patients, who were correctly ruled-out as non-AMI, and who were correctly ruled-in as AMI.

4.1. SuPAR for the Diagnosis of AMI

Biomarkers are critical instruments in terms of risk prediction. Emerging data proves that new pathways and pathophysiological hypotheses yield biomarkers beyond the established ones [20–24]. The failure of suPAR in the diagnosis of AMI seems surprising given the results of previous smaller studies [11,12]. Both studies did not report the diagnostic value of suPAR, but rather its prognostic value in AMI patients. With a median 3.8 ng/mL in AMI patients and 3.3 ng/mL in patients with non-AMI suPAR levels seem in range with current references [9,10]. Nevertheless, the two previous reports in patients with ACS report clearly higher values [11,12]. The early Danish report from 2013 in 449 consecutive chest pain patients in a single-center yielded a median suPAR level of 5.80 ng/mL for fatal AMI, and 4.44 for non-fatal AMI using the same assay for suPAR measurement as in our study. In line with this finding, median maximum hs-TnT level in the Danish study was 149 ng/L. Similarly, in a recent Austrian case-cohort study ($n = 194$), serum suPAR levels were 29% higher in the 57 AMI (NSTEMI) patients (our study: 13%), compared with the 76 healthy controls. Again, hs-Tn levels were relatively high, at a mean of 986.3 ng/L in AMI, and the rate of subjects diagnosed with AMI was 74% compared with only 20% in our study. Taken together, one may hypothesize, that our cohort represents a relative low-risk cohort, and that incremental value of suPAR on top of hs-Tn might only evolve in mid-and high-risk cohorts.

4.2. Strengths and Limitations

Strengths of this study include the large cohort size and the comprehensive pre-analytics. However, like in most reported studies of patients with suspected AMI, women were under-represented, and future studies should address sex-specific differences in suPAR related diagnostic accuracy.

5. Conclusions

Our study shows that circulating levels of suPAR on top of hs-TnI do not improve the early diagnosis of AMI.

Author Contributions: Conceptualization, S.B., D.W., T.Z. and M.K.; Validation, N.A.S., J.T.N., J.N. and D.W.; Biomarker measurement, T.Z., and G.D.; Statistical analysis, N.R.; Writing—Original Draft Preparation, N.A.S., G.D, M.K., and T.Z.; Writing—Review and Editing, N.A.S., G.D, J.T.N., J.N. M.K., S.B, D.W., and T.Z.; Supervision M.K., S.B, D.W. and T.Z.; Funding Acquisition, T.Z. and S.B.

Funding: This research was funded, in part, by the German Center of Cardiovascular Research (DZHK e.V.) and an unrestricted research grant from Abbott Diagnostics. Sörensen and Neumann were supported by grants from the German Heart Foundation/German Foundation of Heart Research. Neumann was supported by the Else Kröner-Fresenius-Stiftung. Zeller was supported by the German Center of Cardiovascular Research (DZHK e.V.) under the grant number 81Z1710101.

Conflicts of Interest: Neumann received honoraria from Siemens and Abbott Diagnostics. Blankenberg received honoraria from Abbott Diagnostics, Siemens, Thermo Fisher, and Roche Diagnostics and is a consultant for Thermo Fisher. Westermann reports personal fees from Bayer, Boehringer-Ingelheim, Berlin Chemie, Astra Zeneca, Biotronik and Novartis. Karakas received consultancy fees outside of the scope of this manuscript from Vifor Pharma, Amgen, Sanofi, and Astra-Zeneca, and furthermore, grant support from Abbott Diagnostics, Adrenomed AG and Vifor Pharma.

References

1. Thunø, M.; Macho, B.; Eugen-Olsen, J. suPAR: The molecular crystal ball. *Dis. Markers*. **2009**, *27*, 157–172; doi: 10.3233/DMA-2009-0657.
2. Farris, S.D.; Hu, J.H.; Krishnan, R.; Emery, I.; Chu, T.; Du, L.; Kremen, M.; Dichek, H.L.; Gold, E.; Ramsey, S.A.; et al. Mechanisms of urokinase plasminogen activator (uPA)-mediated atherosclerosis: Role of the uPA receptor and S100A8/A9 proteins. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 22665–22677, doi:10.1074/jbc.M110.202135.
3. Pliyev, B.K. Activated human neutrophils rapidly release the chemotactically active D2D3 form of the urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR/CD87). *Mol. Cell Biochem.* **2009**, *321*, 111–122, doi:10.1007/s11010-008-9925-z.
4. Ploug, M.; Rønne, E.; Behrendt, N.; Jensen, A.L.; Blasi, F.; Danø, K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 1926–1933.
5. De Witte, H.; Sweep, F.; Brünner, N.; Heuvel, J.; Beex, L.; Grebenshikov, N.; Benraad, T. Complexes between urokinase-type plasminogen activator and its receptor in blood as determined by enzyme-linked immunosorbent assay. *Int. J. Cancer.* **1998**, *77*, 236–242.
6. Andersen, O.; Eugen-Olsen, J.; Kofoed, K.; Iversen, J.; Haugaard, S.B. Soluble urokinase plasminogen activator receptor is a marker of dysmetabolism in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *J. Med. Virol.* **2008**, *80*, 209–216, doi:10.1002/jmv.21114.
7. Hansson, G.K.; Libby, P.; Tabas, I. Inflammation and plaque vulnerability. *J. Intern. Med.* **2015**, *278*, 483–493, doi:10.1111/joim.12406.
8. Huai, Q.; Mazar, A.P.; Kuo, A.; Parry, G.C.; Shaw, D.E.; Callahan, J.; Li, Y.; Yuan, C.; Bian, C.; Chen, L.; et al. Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor. *Science* **2006**, *311*, 656–659.
9. Lichtenauer, M.; Jirak, P.; Wernly, B.; Paar, V.; Rohm, I.; Jung, C.; Scherthaner, C.; Kraus, J.; Motloch, L.J.; Yilmaz, A.; et al. A comparative analysis of novel cardiovascular biomarkers in patients with chronic heart failure. *Eur. J. Intern. Med.* **2017**, *44*, 31–38, doi:10.1016/j.ejim.2017.05.027.

10. Ghasemzadeh, N.; Hayek, S.S.; Ko, Y.A.; Eapen, D.J.; Patel, R.S.; Manocha, P.; Al Kassem, H.; Khayata, M.; Veledar, E.; et al. Pathway-Specific Aggregate Biomarker Risk Score Is Associated with Burden of Coronary Artery Disease and Predicts Near-Term Risk of Myocardial Infarction and Death. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes* **2017**, *10*, e001493, doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.115.001493.
11. Lyngbæk, S.; Andersson, C.; Marott, J.L.; Møller, D.V.; Christiansen, M.; Iversen, K.K.; Clemmensen, P.; Eugen-Olsen, J.; Hansen, P.R.; Jeppesen, J.L. Soluble urokinase plasminogen activator receptor for risk prediction in patients admitted with acute chest pain. *Clin. Chem.* **2013**, *59*, 1621–1629, doi:10.1373/clinchem.2013.203778.
12. Scherthaner, C.; Lichtenauer, M.; Wernly, B.; Paar, V.; Pistulli, R.; Rohm, I.; Jung, C.; Figulla, H.R.; Yilmaz, A.; Cadamuro, J.; et al. Multi-biomarker analysis in patients with acute myocardial infarction. *Eur. J. Clin. Investig.* **2017**, *47*, 638–648, doi:10.1111/eci.12785.
13. Neumann, J.T.; Sörensen, N.A.; Schwemer, T.; Ojeda, F.; Bourry, R.; Sciacca, V.; Schaefer, S.; Waldeyer, C.; Sinning, C.; Renné, T.; et al. Diagnosis of Myocardial Infarction Using a High-Sensitivity Troponin I 1-Hour Algorithm. *JAMA Cardiol.* **2016**, *1*, 397–404, doi:10.1001/jamacardio.2016.0695.
14. Neumann, J.T.; Sörensen, N.A.; Ojeda, F.; Schwemer, T.; Lehmacher, J.; Gönner, S.; Jarsetz, N.; Keller, T.; Schaefer, S.; Renné, T.; et al. Immediate Rule-Out of Acute Myocardial Infarction Using Electrocardiogram and Baseline High-Sensitivity Troponin I. *Clin. Chem.* **2017**, *63*, 394–402, doi:10.1373/clinchem.2016.262659.
15. Neumann, J.T.; Sörensen, N.A.; Rübsamen, N.; Ojeda, F.; Renné, T.; Qaderi, V.; Teltrop, E.; Kramer, S.; Quantius, L.; Zeller, T.; et al. Discrimination of patients with type 2 myocardial infarction. *Eur. Heart J.* **2017**, *38*, 3514–3520, doi:10.1093/eurheartj/ehx457.
16. Sörensen, N.A.; Neumann, J.T.; Ojeda, F.; Schwemer, T.; Renné, T.; Schnabel, R.B.; Zeller, T.; Karakas, M.; Blankenberg, S.; Westermann, D. Challenging the 99th percentile: A lower troponin cutoff leads to low mortality of chest pain patients. *Int. J. Cardiol.* **2017**, *232*, 289–293, doi:10.1016/j.ijcard.2016.12.167.
17. Neumann, J.T.; Sörensen, N.A.; Ojeda, F.; Renné, T.; Schnabel, R.B.; Zeller, T.; Karakas, M.; Blankenberg, S.; Westermann, D. Early diagnosis of acute myocardial infarction using high-sensitivity troponin I. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0174288, doi:10.1371/journal.pone.0174288.
18. Stephens, R.W.; Pedersen, A.N.; Nielsen, H.J.; Hamers, M.J.; Høyer-Hansen, G.; Rønne, E.; Dybkjaer, E.; Danø, K.; Brügger, N. ELISA determination of soluble urokinase receptor in blood from healthy donors and cancer patients. *Clin. Chem.* **1997**, *43*, 1868–1876.
19. Van Buuren, S.; Groothuis-Oudshoorn, K. Mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *J. Stat. Softw.* **2011**, *45*, 1–67.
20. Karakas, M.; Schäfer, S.; Appelbaum, S.; Ojeda, F.; Kuulasmaa, K.; Brückmann, B.; Berisha, F.; Schulte-Steinberg, B.; Jousilahti, P.; Blankenberg, S.; et al. Testosterone Levels and Type 2 Diabetes-No Correlation with Age, Differential Predictive Value in Men and Women. *Biomolecules* **2018**, *8*, 76, doi:10.3390/biom8030076.
21. Haase, T.; Müller, C.; Krause, J.; Röthemeier, C.; Stenzig, J.; Kunze, S.; Waldenberger, M.; Münzel, T.; Pfeiffer, N.; Wild, P.S.; Michal, M.; Marini, F.; Karakas, M.; Lackner, K.J.; Blankenberg, S.; Zeller, T. Novel DNA Methylation Sites Influence GPR15 Expression in Relation to Smoking. *Biomolecules* **2018**, *8*, 74; doi: 10.3390/biom8030074.
22. Ruhe, J.; Waldeyer, C.; Ojeda, F.; Altay, A.; Schnabel, R.B.; Schäfer, S.; Lackner, K.J.; Blankenberg, S.; Zeller, T.; Karakas, M. Intrinsic Iron Release Is Associated with Lower Mortality in Patients with Stable Coronary Artery Disease-First Report on the Prospective Relevance of Intrinsic Iron Release. *Biomolecules* **2018**, *8*, 72, doi:10.3390/biom8030072.
23. Zeller, T.; Waldeyer, C.; Ojeda, F.; Schnabel, R.B.; Schäfer, S.; Altay, A.; Lackner, K.J.; Anker, S.D.; Westermann, D.; Blankenberg, S.; Karakas, M. Adverse Outcome Prediction of Iron Deficiency in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Biomolecules* **2018**, *8*, 60, doi:10.3390/biom8030060.
24. Zeller, T.; Altay, A.; Waldeyer, C.; Appelbaum, S.; Ojeda, F.; Ruhe, J.; Schnabel, R.B.; Lackner, K.J.; Blankenberg, S.; Karakas, M. Prognostic Value of Iron-Homeostasis Regulating Peptide Hepcidin in Coronary Heart Disease-Evidence from the Large AtheroGene Study. *Biomolecules* **2018**, *8*, 43, doi:10.3390/biom8030043.



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

2. Letter of acceptance

Date: 14 March 2019

[Biomolecules] Manuscript ID: biomolecules-444235 - Accepted for Publication

Dear Dr. Zeller,

We are pleased to inform you that the following paper has been officially accepted for publication:

Manuscript ID: biomolecules-444235

Type of manuscript: Article

Title: Diagnostic Value of Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor on Top of High-sensitivity Troponin I in Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction

Authors: Nils Sörensen, Günay Dönmez, Johannes T Neumann, Julius Nikorowitsch, Nicole Rübsamen, Stefan Blankenberg, Dirk Westermann, Tanja Zeller, Mahir Karakas*

We will now make the final preparations for publication, then return the manuscript to you for your approval.

We also invite you to contribute to Encyclopedia (<https://encyclopedia.pub>), a scholarly platform providing accurate information about the latest research results. You can adapt parts of your paper to provide valuable reference information for others in the field.

Kind regards,

Elena Martínez Ruiz, M.Sc

Managing Editor Biomolecules

Editorial Office E-mail:

biomolecules@mdpi.com

<http://www.mdpi.com/journal/biomolecules/>

3. Darstellung der Promotion

3.1. Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen tragen entscheidend zur Morbidität und Mortalität in der europäischen Union bei und bedingen jedes Jahr doppelt so viele Todesfälle wie Krebserkrankungen. Der jährliche gesellschaftliche Schaden in der EU beträgt dabei annähernd 200 Milliarden Euro. Zwar konnte die Sterblichkeit in den letzten beiden Jahren mit dem Aufkommen der interventionellen Therapie und der Implementation neuer medikamentöser Therapien, z.B. der Statintherapie, deutlich reduziert werden, doch bestehen weiterhin große Herausforderungen.

Eine der besonderen Herausforderungen ist und bleibt die Diagnostik des akuten Myokardinfarkts (AMI). Diese konnte durch die Einführung der hochsensitiven (hs) Troponin-Assays entscheidend verbessert werden. Gemäß der "Fourth universal definition of myocardial infarction" der europäischen Gesellschaft für Kardiologie (European Society of Cardiology, ESC) aus dem Jahre 2018 ist eine hs-Troponin Erhöhung oberhalb der 99. Perzentile spezifisch für einen relevanten Myokardschaden. Bei dynamischem Troponinverlauf wird der Myokardschaden als akut bewertet. Die verbesserte Spezifität der Troponin-Assays von nahezu 99% ermöglicht in vielen Fällen eine schnellere Diagnostik des akuten Myokardinfarktes. Aktuelles Forschungsziel der Biomarkerforschung im akuten Myokardinfarkt ist die Verbesserung der Frühdiagnostik und der Triage bei Aufnahme von Patienten mit akuten Brustschmerzen auf die Notaufnahme. Üblicherweise bestätigt sich der Verdacht auf einen akuten Myokardinfarkt nur in etwa 20% der Patienten mit Brustschmerzen, was einen enormen Ressourcenverbrauch auf den Notaufnahmen bedingt. Das Bemühen zahlreicher Arbeitsgruppen ist es daher, durch den Einsatz weiterer blutbasierter Biomarker den Anteil der Patienten die schon unmittelbar nach Aufnahme als Ausschluss klassifiziert werden (sogenannter Rule-Out) zu vergrößern, um somit dem Patienten unnötige Untersuchungen und einen verlängerten Aufenthalt zu ersparen. Ebenso gilt es, im Sinne der von den Leitlinien geforderten raschen Therapiezuführung (z.B. Koronarangiografie), schnellstmöglich –idealerweise mittels der Blutabnahme bei Aufnahme/ Stunde 0, die „echten“ Myokardinfarkte zu identifizieren (sogenannter Rule-In).

Der lösliche Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor (engl. soluble urokinase-type plasminogen activator receptor; suPAR) ist ein neuer blutbasierter Biomarker, der erstmals 2006 beschrieben worden ist. Im Jahre 2015 wurde suPAR dann klinisch im Zusammenhang mit der Diagnose und Prognose von Patienten mit Niereninsuffizienz erwähnt. Mit diesem Artikel im New England Journal of Medicine erlangte suPAR große Aufmerksamkeit und wurde nunmehr auch in anderen Krankheitsgebieten erforscht. Dabei stellte sich heraus, dass suPAR weitreichende Bedeutung in der Immunantwort hat und daneben auch prominent in die Regulation der Inflammation involviert ist. Beide Pathways sind auch relevant für die Genese der koronaren Herzkrankheit (KH). Weiterhin ist bekannt, dass suPAR auf zahlreichen Zelltypen der Atherogenese exprimiert ist, etwa auf mononukleären Zellen und auf Endothelzellen, welche selbst entscheidend für die Plaqueruptur sind.

Rationale der vorliegenden Arbeit ist es daher zu überprüfen, ob die zusätzliche Bestimmung von suPAR zum hs-Troponin I die Frühdiagnostik des akuten Myokardinfarktes verbessern kann.

3.2. Material und Methoden

Die Durchführung der Forschungsarbeit erfolgte innerhalb der Biomarkers in Acute Cardiac Care (BACC)-Studie. Dabei handelt es sich um eine Patientenkohorte (sogenannte „diseased cohort“), welche fortlaufend innerhalb der Chest Pain Unit (CPU) am UKE rekrutiert wird. Eingeschlossen werden Patienten, welche sich mit akuten Brustschmerzen vorstellen, die suggestiv für einen akuten Myokardinfarkt sind. Nach entsprechender Aufklärung der Patienten erfolgt eine standardisierte studienbedingte Blutabnahme zu den Zeitpunkten 0, 1 und 3 Stunden. Die Bioproben werden umgehend zentrifugiert und die Aliquots prozessiert und schnellstmöglich bei minus 80° Celsius eingefroren.

Gegenstand der aktuellen Untersuchung waren 1641 Patienten. Nach Ausschluss von Patienten mit fehlender suPAR- (n=354), oder hs-Troponin-Bestimmung (n=23), und nach Ausschluss von Patienten mit ST-Hebungsinfarkt (n=78) resultierten 1220 Patienten für die aktuelle Analyse (tlw. Mehrfachnennung). Der Ausschluss der ST-Hebungsinfarkte erklärt sich dadurch, dass diese Patienten üblicherweise anhand von klinischen und EKG-Kriterien diagnostiziert werden.

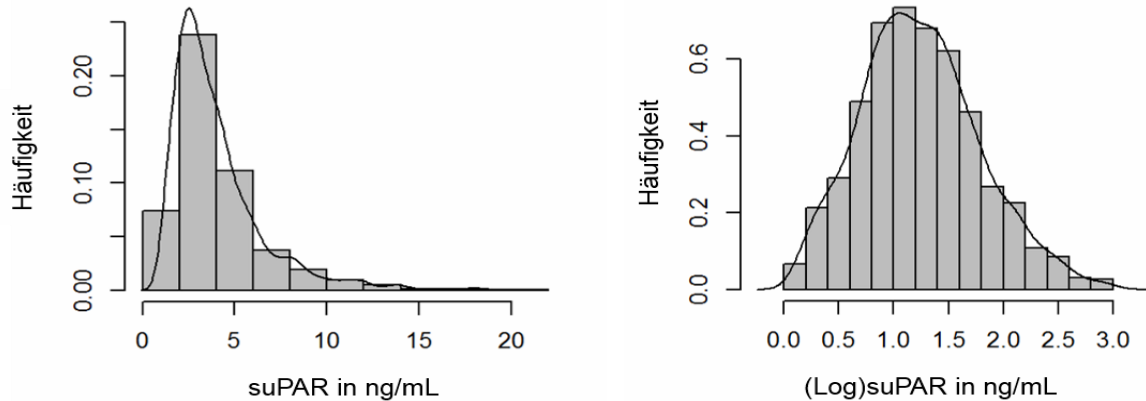
Die Bestimmung der Biomarker erfolgte aus bis dahin unaufgetauten Proben in den Forschungslaboren des Universitären Herzzentrums Hamburg (Prof. Dr. Tanja Zeller). Das hochsensitive Troponin I wurde am halbautomatischen Analysegerät Abbott ARCHITECT i1000SR bestimmt. Dieser Troponin-Assay besitzt eine untere Detektionsgrenze von 1,9 ng/L, eine obere Detektionsgrenze von 50000 ng/L, und einen 10%-Variationskoeffizienten bei 5,2 ng/L. Die Bestimmung des suPAR erfolgte mittels des suPARnostic Elisa von ViroGates. Dabei betrug die intra-Assay Variation sehr gute 2.75%, und die inter-Assay Variation gute 9.17%.

Nach Zusammenstellung der spezifischen Analyse-Biodatenbank erfolgte die statistische Auswertung durch Statistiker des Universitären Herzzentrums Hamburg. Bei fehlenden Werten erfolgte eine multiple Imputation. Die Beschreibung der Studienkohorte erfolgte entlang der üblichen soziodemografischen und klinischen

Parameter. Hier werden für kontinuierliche Variablen neben dem Median auch die 25. und 75. Perzentile angegeben. Bei dichotomen Variablen erfolgt die Angabe in Prozentzahlen, inklusive Standardabweichung. Die Angabe der diagnostischen Wertigkeit der verschiedenen Modelle erfolgt mittels C-Statistik. Sofern ein EKG in die Diagnostik eingebunden ist, wird es im Falle des low-risk EKG definiert durch die Abwesenheit von Ischämiezeichen, abnormalen Rhythmen, und Überleitungsstörungen. Alle Berechnungen erfolgten mittels des Statistikprogramms „R“ in der Version 3.3.3. Als signifikant wurden alle p-Werte kleiner 0,05 bewertet.

3.3. Ergebnisse

Abbildung 1. Verteilung der (log) suPAR-Werte in der Kohorte



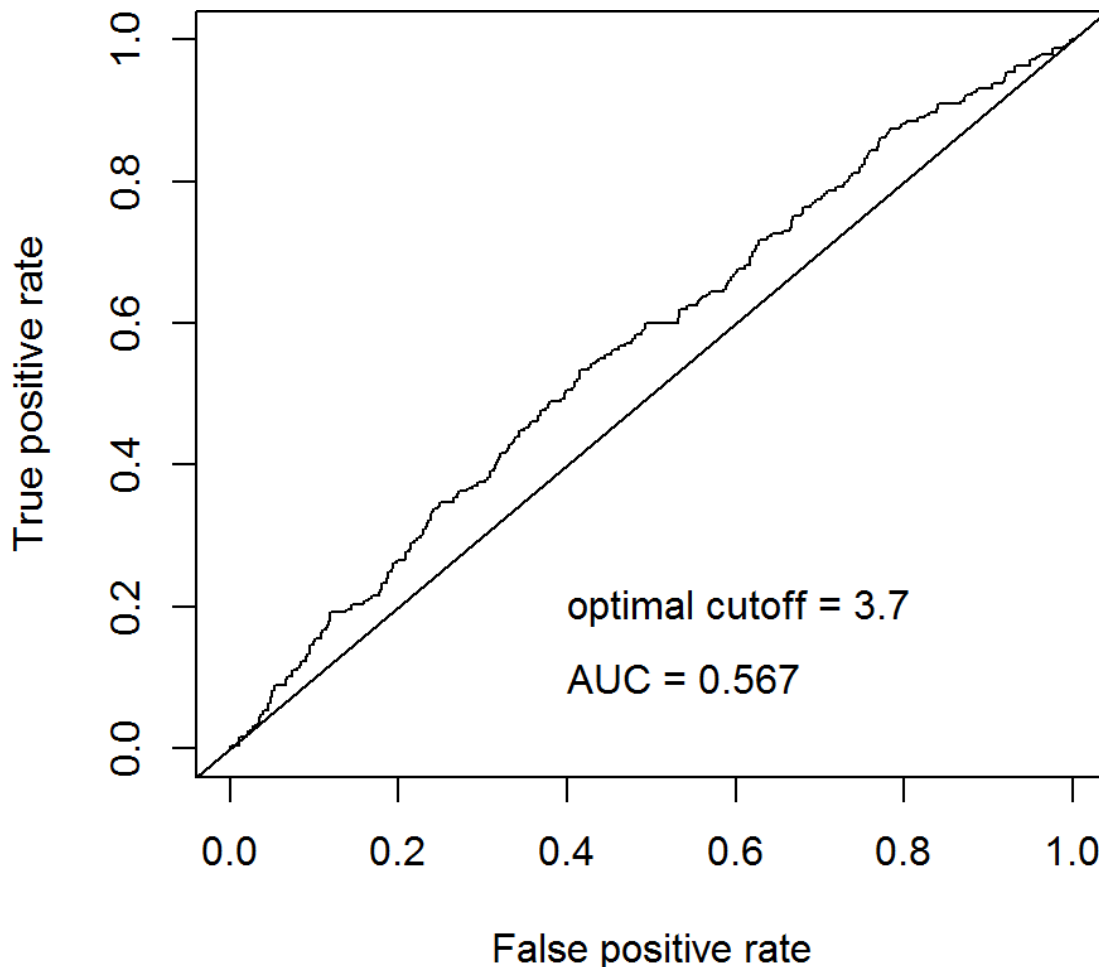
Der mittlere suPAR-Wert beträgt 4,05 ng/mL, während der Median bei 3,33 ng/mL lag. Die 25. und 75. Perzentile betragen 2,35 ng/mL und 4,82 ng/mL. Aufgrund der Linksverschiebung ist auch die logarithmierte Verteilung abgebildet.

Tabelle 1. Patientencharakteristika

| | All | AMI | Kein AMI | p-Wert |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------|------------------------|---------------|
| Patienten | 1,220 | 975 | 245 | |
| Alter (Jahre) | 65.0 (51.0, 75.0) | 63.0 (50.0, 74.0) | 70.0 (60.0, 77.3) | <0.001 |
| Männlich (%) | 774 (63.4) | 615 (63.1) | 159 (64.9) | 0.65 |
| BMI (kg/m ²) | 26.1 (23.6, 29.4) | 26.0 (23.6, 29.3) | 26.6 (23.6, 29.8) | 0.34 |
| aHT (%) | 825 (67.8) | 631 (64.9) | 194 (79.5) | <0.001 |
| HLP (%) | 464 (38.0) | 345 (35.4) | 119 (48.6) | <0.001 |
| Diabetes (%) | 160 (13.3) | 118 (12.3) | 42 (17.2) | 0.055 |
| Ex-Raucher (%) | 370 (30.4) | 291 (29.9) | 79 (32.2) | 0.53 |
| Raucher (%) | 297 (24.4) | 233 (24.0) | 64 (26.1) | 0.54 |
| KHK-Anamnese (%) | 417 (34.2) | 310 (31.8) | 107 (43.7) | <0.001 |
| eGFR (mL/min/ 1.73 m ²) | 76.7 (59.2, 92.3) | 79.4 (61.0, 93.9) | 67.4 (51.8, 82.5) | <0.001 |
| AP seit über 6 h (%) | 645 (57.4) | 515 (57.8) | 130 (56.0) | 0.68 |
| Troponin I Stunde 0 (ng/L) | 6.5 (3.0, 17.8) | 5.1 (2.5, 10.3) | 71.7 (16.2, 695.0) | <0.001 |
| Troponin I Stunde 1 (ng/L) | 6.8 (3.1, 21.8) | 5.1 (2.6, 10.5) | 137.8 (33.7, 754.1) | <0.001 |
| suPAR Stunde 0 (ng/mL) | 3.4 (2.4, 4.9) | 3.3 (2.3, 4.7) | 3.8 (2.6, 5.4) | 0.001 |

Die Patientencharakteristika sind relativ typisch für eine KHK-Population. Die Patienten waren im Schnitt 65 Jahre alt und überwiegend männlichen Geschlechts. Etwa die Hälfte der Patienten stellte sich mit seit über 6 Stunden bestehenden Schmerzen vor.

Abbildung 2. Wertigkeit des suPAR zur Diagnose eines AMI



Um nachzuprüfen, ob suPAR auch alleine diagnostische Wertigkeit im akuten Myokardinfarkt besitzt, wurde eine entsprechende C-Statistik kalkuliert. Als Cut-off wurde hierbei der nach Youden errechnete Wert von 3,7 ng/mL gewählt. Die resultierende „Area under the curve“ als Maß für die Treffsicherheit der Diagnose akuter Myokardinfarkt betrug geringe 0,567, und lag damit sehr nah an der Winkelhalbierenden (minimaler Wert = schlechteste denkbare Performance 0,5, maximaler Wert = bestmögliche Performance 1,0).

Tabelle 2. Wertigkeit des suPAR beim Rule-Out

| | Anzahl der erfolgten Rule-Out | | |
|---|-------------------------------|---------------------|----------------|
| | Alle (n=1220) | Kein AMI (n=975) | AMI (n=245) |
| hs-Tnl 0h ≤3 ng/L und low-risk EKG | 248 (20.7%) | 248 (25.9%) | 0 (0%) |
| hs-Tnl 0h ≤3 ng/L und low-risk EKG und suPAR 0h < 3.7ng/mL | 195 (16.2%) | 195 (20.4%) | 0 (0%) |
| hs-Tnl 0h ≤6 ng/L und hs-Tnl 1h ≤6 ng/L | 454 (38.1%) | 450 (47.4%) | 4 (1.6%) |
| hs-Tnl 0h ≤6 ng/L und hs-Tnl 1h ≤6 ng/L und suPAR 0h <3.7ng/mL | 327 (27.4%) | 325 (34.2%) | 2 (0.8%) |
| suPAR 0h <3.7ng/mL | 687 (56.3%) | 571 (58.6%) | 116 (47.3%) |

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, verschlechtert die Hinzunahme von suPAR die diagnostische Wertigkeit des hs-Troponin I beim Rule-Out. Mit suPAR sinkt in beiden Gruppen (AMI und Nicht-AMI) die Anzahl der Patienten die korrekterweise als Rule-Out klassifiziert werden.

Tabelle 3. Wertigkeit des suPAR beim Rule-In

| | Anzahl der erfolgten Rule-In | | |
|---|------------------------------|---------------------|----------------|
| | Alle (n=1220) | Kein AMI (n=975) | AMI (n=245) |
| hs-Tnl 1h >6 ng/L und hs-Tnl Anstieg ≥12 ng/L im Vergleich mit hs-Tnl 0h | 177 (15.3%) | 27 (2.9%) | 150 (65.5%) |
| hs-Tnl 1h >6 ng/L und hs-Tnl Anstieg ≥12 ng/L im Vergleich mit hs-Tnl 0h und suPAR 0h ≥3.7ng/mL | 93 (8.1%) | 17 (1.8%) | 76 (33.2%) |
| suPAR 0h ≥3.7ng/mL | 533 (43.7%) | 404 (41.4%) | 129 (52.7%) |

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, verschlechtert die Hinzunahme von suPAR auch beim Rule-In die diagnostische Wertigkeit des hs-Troponin I. Mit suPAR sinkt in beiden

Gruppen (AMI und Nicht-AMI) die Anzahl der Patienten die korrekterweise als Rule-In klassifiziert werden.

3.4. Diskussion und Ausblick

Der fehlende Nutzen einer Hinzunahme von suPAR zum hs-Troponin I in der Frühdiagnostik des akuten Myokardinfarktes überrascht zunächst. Aus pathophysiologischer Sicht sind dabei insbesondere die Expression von suPAR auf Zellen der Atherogenese und die diagnostische Wertigkeit in der Niereninsuffizienz hervorzuheben.

Die Recherche in MEDLINE zeigt, dass suPAR in den letzten Jahren in verschiedenen kardialen Krankheitsbildern evaluiert wurde. In einer frühen Studie, an 2038 augenscheinlich gesunden Probanden aus dem Jahre 2011, wiesen zirkulierende suPAR-Spiegel eine statistisch signifikante Korrelation mit dem Vorliegen von atherosklerotischen Plaques der Carotis auf. Darüber hinaus war der initiale suPAR-Spiegel über ein Follow-Up von knapp 13 Jahren mit dem inzidenten Auftreten von kardiovaskulärem Tod und/oder Myokardinfarkt und Schlaganfall assoziiert. In ähnlicher Weise waren erhöhte basale suPAR-Spiegel, in einer CPU-Studie aus dem Jahre 2013, in 449 Patienten mit akuten Brustschmerzen mit einem höheren Mortalitätsrisiko assoziiert. In der Studie lag die Mortalität nach einem durchschnittlichen Follow-Up von 5,7 Jahren bei 36,1%. Dabei stieg das Risiko pro Standardabweichung höherem suPAR um den Faktor 1,93 an. Ein ähnliches Ergebnis ergab auch die Bestimmung von suPAR in 1503 Patienten mit bestätigter asymptomatischer Aortenklappenstenose innerhalb der SEAS-Studie (Simvastatin and Ezetimib in Aortic Stenosis): pro einer Standardabweichung Anstieg basaler suPAR-Spiegel (log) erhöhte sich während der Nachverfolgung das Risiko für ein ischämisches kardiovaskuläres Ereignis um den Faktor 1,5, das Risiko für kardiovaskulären Tod um den Faktor 2,0, und das Risiko für allgemeine Mortalität ebenfalls um den Faktor 2,0. Zuletzt wurde suPAR auch in der systolischen Herzinsuffizienz evaluiert. In einer österreichischen Kohorte mit 319 Patienten verstarben binnen einer Nachverfolgungszeit von 3,2 Jahren 37,3% der Herzinsuffizienzpatienten. Hier ergab der Anstieg der suPAR-Werte um eine Standardabweichung, ein um den Faktor 1,38 erhöhtes Risiko. Wie in den Vorstudien war die Prognose auch hier für die bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren korrigiert worden.

Gemäß der oben beschriebenen Paper und ebenso unserer Forschungsarbeit scheint der Wert von suPAR als kardiovaskulärer Biomarker vor allem in der Prognose zu liegen. Dies bestätigte sich auch in weiterführenden Analysen in der hier untersuchten BACC-Studie: hierbei zeigte sich, dass suPAR-Spiegel bei Aufnahme sehr zuverlässig den mittelfristigen Verlauf hinsichtlich eines neuerlichen Myokardinfarktes und/ oder kardiovaskulären Todes vorhersagen. Das Risiko für einen entsprechenden Endpunkt binnen der nächsten 12 Monate war mehr als verdoppelt, wenn sich das suPAR bei Aufnahme auf die CPU im oberen Tertil befand. Die prognostische Wertigkeit war dabei unabhängig von etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren und neueren Prognosebiomarkern (z.B. hs-Troponin, C-reaktives Protein, NT-proBNP) und bestand entsprechend auch in multivariaten Analysen.

Darauf aufbauend sollte suPAR in weiteren Kohorten bezüglich seiner prognostischen Wertigkeit untersucht werden. Weitergehend bleibt abzuwarten, inwiefern die in der Literatur beschriebenen suPAR-Antikörper Eingang in klinische Studien und die Therapie finden.

4. Zusammenfassung

Der lösliche Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor, suPAR, stellt einen vielversprechenden neuen blutbasierten Biomarker in der Medizin dar. Trotz entsprechender Hinweise aus der Grundlagenforschung kann es aber in der vorliegenden Arbeit innerhalb der großen und exzellent charakterisierten BACC-Studie nicht als Biomarker in der Diagnostik des akuten Myokardinfarktes überzeugen.

5. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------|---|
| aHT | Arterieller Hypertonus |
| AMI | Akuter Myokardinfarkt |
| AP | Angina Pectoris |
| BACC | Biomarkers in Acute Cardiac Care |
| CPU | Chest Pain Unit |
| h | Stunden |
| HLP | Hyperlipoproteinämie |
| hs-Troponin | hoch-sensitives Troponin |
| KHK | Koronare Herzkrankheit |
| MEDLINE | Medical Literature Analysis and Retrieval System Online |
| NSTEMI | Nicht- ST-Hebungs-Infarkt |
| SEAS | Simvastatin and Ezetimib in Aortic Stenosis-Studie |
| suPAR | Löslicher Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor |

6. Literaturverzeichnis

HUAI, Q., MAZAR, A.P., KUO, A., PARRY, G.C., SHAW, D.E.; CALLAHAN, J., LI, Y.; YUAN, C.; BIAN, C., CHEN, L.; FURIE, B.; FURIE, B.C., CINES, D.B., & HUANG, M. 2006. Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor. *Science*, 311, 656-9.

LICHTENAUER, M., JIRAK, P., WERNLY, B., PAAR, V., ROHM, I., JUNG, C.; SCHERNTHANER, C., KRAUS, J., MOTLOCH, L.J., YILMAZ, A., HOPPE, U.C.; CHRISTIAN SCHULZE, P., KRETZSCHMAR, D., & PISTULLI, R. 2017. A comparative analysis of novel cardiovascular biomarkers in patients with chronic heart failure. *Eur J Intern Med*, 2017, 44, 31-8.

LYNGBAEK, S., ANDERSSON, C., MAROTT, J.L., MØLLER, D.V, CHRISTIANSEN, M., IVERSEN, K.K., CLEMMENSEN, P., EUGEN-OLSEN, J., HANSEN, P.R., & JEPPESEN, J.L. 2013. Soluble urokinase plasminogen activator receptor for risk prediction in patients admitted with acute chest pain. *Clin Chem*, 59, 1621-9.

NEUMANN, J.T., SÖRENSEN, N.A., SCHWEMER, T., OJEDA, F., BOURRY, R., SCIACCA, V., SCHAEFER, S., WALDEYER, C., SINNING, C., RENNÉ, T., THAN, M., PARSONAGE, W., WILDI, K., MAKAROVA, N., SCHNABEL, R.B., LANDMESSER, U., MUELLER, C., CULLEN, L., GREENSLADE, J., ZELLER, T., BLANKENBERG, S., KARAKAS, M., & WESTERMANN, D. 2016. Diagnosis of Myocardial Infarction Using a High-Sensitivity Troponin I 1-Hour Algorithm. *JAMA Cardiol*, 1, 397-404.

SCHERNTHANER, C., LICHTENAUER, M., WERNLY, B., PAAR, V., PISTULLI, R., ROHM, I., JUNG, C., FIGULLA, H.R., YILMAZ, A., CADAMURO, J., HASCHKE-BECKER, E., PERNOW, J., SCHULZE, P.C., HOPPE, U.C., & KRETZSCHMAR, D. 2017. Multibiomarker analysis in patients with acute myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*, 47, 638-48.

7. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich folgende Leistungen in der von mir selbstständig erstellten Dissertation eigenständig erbracht habe:

- 1) Erhebung und Auswertung retrospektiver und prospektiver Daten und Eingabe dieser in die Datenbank der BACC-Studie
- 2) Erstellung der spezifischen Datenbank dieser Substudie und Assistenz bei der statistischen Auswertung
- 3) Erstellung der Tabellen
- 4) Literaturrecherche, Verfassung und Assistenz bei der Einreichung der Publikationsdissertation

Folgende Anteile wurden von den Co-Autoren und Mitarbeitern geleistet:

- 1) Aufsetzen, Planung und Finanzierung der BACC-Studie und dieser Substudie
- 2) Adjudizierung der Diagnosen
- 3) Statistische Auswertung der Daten
- 4) Korrektur und Einreichung des Manuskripts beim Journal

8. Danksagung

Ich danke in erster Linie allen Patienten für ihr Vertrauen und ihre Einwilligung zur BACC-Studie. Ohne deren Mitwirkung und Kooperation hätte diese Studie nicht durchgeführt werden können.

Ich danke allen Mitarbeitern des Universitären Herzzentrums am UKE, und im Besonderen dem Institutsleiter Herrn Prof. Stefan Blankenberg.

Mein größter Dank gilt meinem Doktorvater, PD Dr. Karakas, der sich trotz seiner mannigfaltigen Aufgaben stets Zeit für ein persönliches Gespräch nahm, bei sämtlichen Problemstellungen verfügbar war und mich damit stetig motiviert hielt.

Außerdem danke ich meiner Betreuerin, Frau Prof. Tanja Zeller. Ein weiterer Dank gilt Dr. Nils Sörensen und Dr. Julian Nikorowitsch für die wissenschaftliche Unterstützung bei der Manuskript-Verfassung.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern im Forschungslabor, die mich bei der umfangreichen Probenverarbeitung und den zahlreichen Laborbestimmungen unterstützt haben. Des Weiteren bedanke ich mich bei den Statistikern, insbesondere bei Francisco Ojeda und Nicole Rübsamen.

Dank meinen Eltern und meiner Familie immer für mich da zu sein.

An letzter Stelle gilt mein unendlicher Dank meiner Ehefrau und unseren beiden Kindern – für die unendliche Liebe, die große Geduld, und stetige Nachsicht und Unterstützung.

9. Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: _____