

**UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Klinik und Poliklinik für Kardiologie

Professor Dr. med. Stefan Blankenberg

**Bedeutung des löslichen Urokinase-Plasminogen-Aktivator  
Rezeptor (suPAR) als Prädiktor für die kardiovaskuläre Mortalität  
und Morbidität**

**Dissertation**

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

vorgelegt von:

Tim Baguhl (geb. Borchardt)  
aus Sande

Hamburg 2022

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 14.11.2022**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Viacheslav Nikolaev**

**Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Mahir Karakas**

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>I</b>
<b>1. Artikel.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Einleitung.....</b>	<b>9</b>
2.1.1 Bedeutung kardiovaskulärer Erkrankungen und Epidemiologie.....	9
2.1.2 Definition und klinische Manifestation der koronaren Herzkrankheit.....	10
2.1.3 Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit.....	11
2.1.4 Bedeutung der Biomarker.....	12
2.1.5 Der lösliche Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor.....	13
<b>3. Material und Methoden.....</b>	<b>15</b>
3.1.1 Studienpopulation.....	15
3.1.2 Einschlusskriterien.....	15
3.1.3 Ausschlusskriterien.....	15
3.1.4 Datensammlung.....	16
3.1.5 Laboranalysen.....	17
3.1.6 Statistik.....	17
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>19</b>
<b>5. Diskussion und Ausblick.....</b>	<b>22</b>
<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>24</b>
6.1 Deutsch.....	24
6.2 English.....	25
<b>7. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>26</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>27</b>
<b>9. Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>37</b>
<b>10. Erklärung des Eigenanteils.....</b>	<b>38</b>
<b>11. Danksagung.....</b>	<b>39</b>
<b>12. Lebenslauf.....</b>	<b>40</b>
<b>13. Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>41</b>

1. Artikel

Journal of the American Heart Association

ORIGINAL RESEARCH

# Cardio-Renal Biomarker Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor Is Associated With Cardiovascular Death and Myocardial Infarction in Patients With Coronary Artery Disease Independent of Troponin, C-Reactive Protein, and Renal Function

Julius Nikorowitsch, MD\*; Tim Borchardt\*; Sebastian Appelbaum, MSc; Francisco Ojeda, PhD; Karl J. Lackner, MD; Renate B. Schnabel, MD; Stefan Blankenberg, MD; Tanja Zeller, PhD\*; Mahir Karakas , MD, MBA\*

**BACKGROUND:** Risk stratification among patients with coronary artery disease (CAD) is of considerable interest due to the potential to guide secondary preventive therapies. Thus, we evaluated the predictive value of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) levels for cardiovascular mortality and nonfatal myocardial infarction in patients with CAD.

**METHODS AND RESULTS:** Plasma levels of suPAR were measured in a cohort of 1703 patients with documented CAD as evidenced by coronary angiography—including 626 patients with acute coronary syndrome and 1077 patients with stable angina pectoris. Cardiovascular death and/or nonfatal myocardial infarction were defined as main outcome measures. During a median follow-up of 3.5 years, suPAR levels reliably predicted cardiovascular death or myocardial infarction in CAD, evidenced by survival curves stratified for tertiles of suPAR levels. In Cox regression analyses, the hazard ratio for the prediction of cardiovascular death and/or myocardial infarction was 2.19 ( $P<0.001$ ) in the overall cohort and 2.56 in the acute coronary syndrome cohort ( $P<0.001$ ). Even after adjustment for common cardiovascular risk factors, renal function and the biomarkers C-reactive protein, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and high-sensitivity troponin I suPAR still enabled a reliable prediction of cardiovascular death or myocardial infarction with a hazard ratio of 1.61 ( $P=0.022$ ) in the overall cohort and 2.22 ( $P=0.005$ ) in the acute coronary syndrome cohort.

**CONCLUSIONS:** SuPAR has a strong and independent prognostic value in secondary prevention settings, and thereby might represent a valuable biomarker for risk estimation in CAD.

**Key Words:** biomarker ■ coronary artery disease ■ prognosis ■ soluble urokinase-type plasminogen activator receptor

**S**tratifcation for subsequent coronary events among patients with coronary artery disease (CAD) is of considerable interest due to the potential to guide secondary preventive therapies.<sup>1–3</sup>

Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) is the circulating form of a glycosylphosphatidylinositol–anchored 3-domain membrane protein.<sup>4</sup> It is expressed on a variety of cells, which

Correspondence to: Mahir Karakas, MD, MBA, Clinic of General and Interventional Cardiology, University Heart Center Hamburg, Hamburg, Germany. E-mail: m.karakas@uke.de

Supplementary materials for this article are available at <https://www.ahajournals.org/doi/suppl/10.1161/JAHA.119.015452>

\*Dr Nikorowitsch, Dr Borchardt, Prof Zeller, and Dr Karakas contributed equally to this work.

For Sources of Funding and Disclosures, see page 7.

© 2020 The Authors. Published on behalf of the American Heart Association, Inc., by Wiley. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

JAHA is available at: [www.ahajournals.org/journal/jaha](http://www.ahajournals.org/journal/jaha)

J Am Heart Assoc. 2020;9:e015452. DOI: 10.1161/JAHA.119.015452

1

### CLINICAL PERSPECTIVE

#### What Is New?

- Little has been known about the prognostic value of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in patients with coronary artery disease.
- This study found that soluble urokinase-type plasminogen activator receptor was reliably associated with cardiovascular death and/or myocardial infarction in coronary artery disease patients, and this association appears to be independent of high-sensitivity troponin I and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide.

#### What Are the Clinical Implications?

- Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor could be a novel and strong prognostic biomarker for adverse cardiovascular events in coronary artery disease patients and might facilitate tailoring secondary preventive therapies in these patients.

### Nonstandard Abbreviations and Acronyms

<b>CAD</b>	coronary artery disease
<b>MI</b>	myocardial infarction
<b>SAP</b>	stable angina pectoris
<b>suPAR</b>	soluble urokinase-type plasminogen activator receptor
<b>HR</b>	hazard ratio
<b>ACS</b>	acute coronary syndrome
<b>CRP</b>	C-reactive protein
<b>NT-proBNP</b>	N-terminal pro-B-type natriuretic peptide
<b>hs-TnI</b>	high-sensitivity troponin I
<b>eGFR</b>	estimated glomerular filtration rate
<b>CKD-EPI</b>	chronic kidney disease epidemiology collaboration

play a critical role in all stages of atherogenesis, especially progression of atherosclerosis and plaque vulnerability and destabilization.<sup>5,6</sup> Until now, it has mainly been evaluated in renal disease, where it was independently associated with incident chronic kidney disease and an accelerated decline in the estimated glomerular filtration rate (eGFR).<sup>4</sup> Beyond being a risk marker, most recent cutting-edge studies even evidenced a leading role in the pathogenesis of inflammatory and immune-mediated renal diseases.<sup>7-9</sup>

As there is mounting evidence for multiple pathophysiological connections between cardiovascular

and renal diseases, and since inflammatory and immunological processes play a critical role in atherosclerosis, it seems plausible that suPAR, a marker for immune activation and inflammation, may provide prognostic information in CAD beyond established risk factors.<sup>5,10,11</sup> Therefore, it was the aim of this study to assess the association of circulating suPAR levels with subsequent adverse cardiovascular events in a secondary prevention cohort of 1703 patients with documented CAD.

### MATERIAL AND METHODS

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request due to restrictions in informed consent.

#### Study Population

In the AtheroGene cohort, a total of 3800 patients, who underwent coronary angiography at the Department of Medicine II of the Johannes Gutenberg-University Mainz or the Bundeswehr-Zentralkrankenhaus Koblenz between June 1999 and March 2000, were recruited.<sup>12,13</sup> Exclusion criteria were evidence of hemodynamically significant valvular heart disease, surgery, or trauma within the previous month, known cardiomyopathy, known cancer, febrile conditions, or use of oral anticoagulant therapy within the previous 4 weeks. Patients with missing information on the clinical presentation, missing laboratory measurements, or lack of information on the cause of death were excluded. Additionally, missing samples and low sample volumes led to exclusion. Thus, the analyses were performed in 1703 subjects. Baseline characteristics were not relevantly different between the subcohort and the overall cohort.

The study was conducted according to the Declaration of Helsinki and approved by the Ethic Board of the Johannes Gutenberg-University Mainz and of the Physicians' chamber of the State Rhineland-Palatinate (Germany) under the number 837.057.99. All participants gave written informed consent.

#### Data Collection

At baseline, all participants were subjected to a standardized questionnaire containing sociodemographic information and medical history. In addition, information was taken from the patients' hospital charts. Coronary artery disease was diagnosed if the coronary angiogram showed at least one stenosis >30% in a major coronary artery. Unstable angina was diagnosed according to Braunwald.<sup>14</sup> Acute myocardial infarction was either ST-segment elevation with significant elevation in at least 2 contiguous leads or non-ST-segment-elevation myocardial

Downloaded from <http://ahajournals.org> by on May 15, 2020

infarction (MI) based on clinic and positive in-house troponin concentrations. The final diagnosis of acute coronary syndrome (ACS; unstable angina, non-ST-segment-elevation MI, or ST-segment-elevation MI) was made retrospectively on the basis of on the judgment of 2 physicians, with access to the history and nature of the presenting symptoms, medical history, results of physical examination, and all of the medical records available from index hospitalization (including the results of troponin testing).

Median follow-up after discharge was 3.5 years. Information was obtained from the patients using a mailed standardized questionnaire. Information regarding adverse cardiovascular disease events and treatment since discharge from the in-hospital rehabilitation clinic was obtained from the primary care physicians also by means of a standardized questionnaire. If a subject had died during follow-up, the death certificate was obtained from the local public health department and the main cause of death was coded according to the *International Classification of Diseases, Ninth Revision (ICD-9, pos. 390–459)* and Tenth Revision (*ICD-10, pos. I0–I99 and R57.0*). Adverse cardiovascular disease events were defined either as cardiovascular disease as the main cause of death (as stated in the death certificate), nonfatal MI. All nonfatal adverse events were reported by the primary care physicians.

### Laboratory Methods

Within the recruiting sites, blood samples were obtained before angiography and application of heparin in a fasting state under standardized conditions and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis.

Plasma levels of suPAR were determined with the suPARnostic standard enzyme-linked immunosorbent assay (ViroGates, Birkerød, Denmark). The intra-assay variation was 2.75%, and the interassay variation 9.17%. High-sensitivity-assayed troponin I (hs-TnI) was measured using the Architect immunoassay (ARCHITECT i1000SR, Abbott Diagnostics, Chicago, IL). The intra-assay variation was 6.68%, and the interassay variation 4.26%. CRP (C-reactive protein) was determined by a highly sensitive, latex particle-enhanced immunoassay (detection range, 0–20 mg/L; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). The measurement of NT-proBNP (N-terminal pro-B-type natriuretic peptide) was performed by electrochemiluminescence sandwich immunoassay (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Serum creatinine was determined by standardized routine laboratory method. The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation was applied to calculate the eGFR.<sup>15</sup> All biomarkers were measured in a blinded fashion.

### Statistical Analysis

The study population was described with respect to various sociodemographic and medical characteristics using quartiles for continuous variables and absolute and relative frequencies for binary variables. Comparisons between the ACS and stable angina pectoris (SAP) cohorts were performed using the Mann–Whitney test for continuous variables and the chi-squared test for binary variables. Spearman correlation coefficients were calculated to describe associations of suPAR with conventional cardiovascular risk factors; renal function according to eGFR; and the biomarkers hs-TnI, CRP, and NT-proBNP.

For displaying survival curves, subjects were grouped according to tertiles of suPAR levels. The log-rank test was used to test the null hypothesis of equality of survival curves versus the alternative hypothesis that at least 2 of the curves are different. Pairwise comparisons of survival curves were also performed. The relation of suPAR concentrations, used after log transformation, with cardiovascular mortality and nonfatal MI during follow-up was assessed by Cox proportional hazards analyses adjusted for age (years) and sex. In additional models, the age and sex adjustment was extended to conventional cardiovascular risk factors (body mass index, diabetes mellitus, smoking status, dyslipidemia, hypertension—Model 2); the biomarkers CRP, NT-proBNP, and hs-TnI and renal function according to eGFR (Model 3); and a combined adjustment for both cardiovascular risk factors and the biomarkers and renal function mentioned above (Model 4). The proportional hazards assumption was examined graphically and with formal tests using the methods described by Grambsch and Therneau,<sup>16</sup> and no evidence of violation was found. Multiple imputation was used to fill the missing values. Twenty imputed data sets were created using multivariate imputations by chained equations, as proposed by Buuren and Groothuis-Oudshoorn.<sup>15–17</sup>

All computations were performed with R version 3.6.1 (<http://www.r-project.org/>). A *P* value of  $<0.05$  was considered statistically significant. *P* values were not adjusted for multiple comparisons.

### RESULTS

A total of 1703 individuals with evident CAD and available suPAR measurements were included in this analysis. In Table 1, the main sociodemographic and laboratory characteristics at baseline are presented, differentiated by the presenting diagnosis of ACS or SAP. The mean age of patients with SAP was 64 years and, similarly, 63 years in ACS. The majority of participants were male—78.6% in the SAP cohort and 76%

**Table 1. Characteristics of the Study Patients With Coronary Heart Disease**

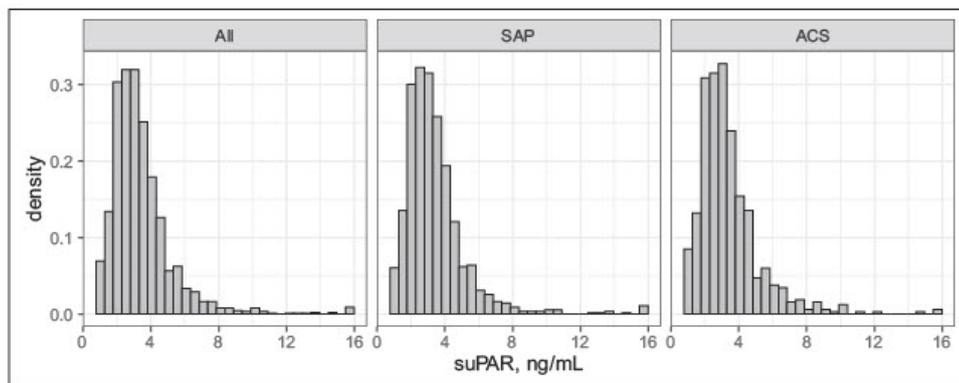
n	All	SAP	ACS	P Value
	1703	1077	626	
Age, y*	64.0 (56.0–69.0) NA: 0 (0)	64.0 (56.0–69.0) NA: 0 (0)	63.0 (55.0–69.0) NA: 0 (0)	0.074
Male, N (%)	1335 (78.4) NA: 0 (0)	847 (78.6) NA: 0 (0)	488 (78.0) NA: 0 (0)	0.790
BMI, kg/m <sup>2</sup> *	27.3 (25.0–30.0) NA: 0 (0)	27.3 (25.1–30.1) NA: 0 (0)	27.3 (24.9–29.5) NAs: 0 (0)	0.330
Diabetes mellitus, N (%)	351 (20.6) NA: 0 (0)	240 (22.3) NA: 0 (0)	111 (17.7) NA: 0 (0)	0.029
Current smoker, N (%)	322 (18.9) NA: 1 (0.1)	180 (16.7) NA: 0 (0)	142 (22.7) NA: 1 (0.2)	0.003
Dyslipidemia, N (%)	1247 (73.2) NA: 0 (0)	836 (77.6) NA: 0 (0)	411 (65.7) NA: 0 (0)	<0.001
Hypertension, N (%)	1315 (77.2) NA: 0 (0)	885 (82.2) NA: 0 (0)	430 (68.7) NA: 0 (0)	<0.001
NT-proBNP, pg/mL*	210.9 (92.4–592.0) NA: 36 (2.1)	156.0 (78.0–383.0) NA: 20 (1.9)	386.3 (152.5–1142.5) NA: 16 (2.6)	<0.001
CRP, mg/L*	3.0 (1.4–7.4) NA: 36 (2.1)	2.3 (1.2–5.1) NA: 22 (2.0)	5.0 (2.0–13.8) NA: 14 (2.2)	<0.001
Hs-TnI, ng/L*	7.2 (3.6–28.7) NA: 216 (12.6)	5.2 (3.1–10.2) NA: 102 (9.5)	72.2 (7.3–1788.2) NA: 116 (18.5)	<0.001
suPAR, ng/mL*	3.1 (2.3–4.0) NA: 0 (0)	3.1 (2.3–4.0) NA: 0 (0)	3.0 (2.3–4.0) NA: 0 (0)	0.770

ACS indicates acute coronary syndrome; BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; hs-TnI, high-sensitivity troponin I; NA, not available; NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide; SAP, stable angina pectoris; and suPAR, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.  
\*Median 25th and 75th quartile cut point.

in the ACS cohort. As expected, hs-TnI, CRP, and NT-proBNP levels were higher in patients with ACS than in SAP patients, whereas dyslipidemia was present in 77.6% of the SAP cohort compared with 65.7% in the ACS cohort. SuPAR levels were significantly higher in subjects with a future event compared with event-free subjects. Median suPAR levels were comparable in subjects with ACS and SAP (3.0 ng/mL

versus 3.1 ng/mL). Figure 1 shows the distribution of circulating suPAR levels in all SAP and ACS patients. In Tables S1 through S3, the range of suPAR values for the different populations is presented.

During a median follow-up of 3.5 years, 123 (7.2%) cardiovascular deaths or nonfatal MI were documented, 60 (5.6%) among SAP patients and 63 (10.1%) in the ACS cohort.



**Figure 1. Distribution of circulating soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) levels in all (All), stable angina pectoris (SAP) and acute coronary syndrome patients (ACS).**

Downloaded from <http://ahajournals.org> by on May 15, 2020

**Table 2. Spearman Correlations of Selected Variables With suPAR in the Overall Cohort**

	Age	Male	BMI	Diabetes Mellitus	Smoker	Dyslipidemia	Hypertension	NT-proBNP	CRP	hs-TnI	eGFR (CKD-EPI)
Correlation	0.20	-0.13	0.07	0.16	0.11	0.03	0.04	0.21	0.21	0.11	-0.27
P Value	<0.001	<0.001	0.007	<0.001	<0.001	0.210	0.140	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

BMI indicates body mass index; CKD-EPI, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; CRP, C-reactive protein; eGFR, estimated glomerular filtration rate; hs-TnI, high-sensitivity troponin I; NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide; and suPAR, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

To assess the correlation of suPAR with common cardiovascular risk factors like diabetes mellitus, smoking status, and arterial hypertension, as well as with the biomarkers hs-TnI, CRP, and NT-proBNP, Spearman correlation coefficients (*r*) were calculated (Table 2). Only weak correlations were found, with a maximum correlation coefficient of 0.11 for hs-TnI, 0.21 for NT-proBNP and CRP (each *P*<0.001), and 0.20 (*P*<0.001) for age. The strongest correlation was observed for eGFR with a correlation coefficient of -0.27.

In Cox regression analyses, the hazard ratio for the prediction of cardiovascular death and/or MI during follow-up (in Model 1) was 2.19 (95% CI, 1.52–3.17; *P*<0.001) for suPAR used after log transformation in the overall cohort (Table 3), 2.56 (95% CI, 1.53–4.27; *P*<0.001) in the ACS cohort (Table 4) and 1.90 (95% CI: 1.11–3.25; *P*=0.019) in the SAP cohort (Table S4). The prognostic value of suPAR remained clear after adjustment for either conventional cardiovascular risk factors (Model 2) or the established biomarkers CRP, NT-proBNP, and hsTnI and renal function according to eGFR (Model 3) both in the overall and the ACS cohort. Even in fully adjusted Cox regression analyses adjusted for common cardiovascular risk factors; renal function; and the biomarkers CRP, NT-proBNP, and hs-TnI (Model 4), suPAR still predicted cardiovascular death and/or nonfatal MI with a hazard ratio of 1.61 (*P*=0.022) in the overall cohort and a hazard

ratio of 2.22 (*P*=0.005) in the ACS cohort. Compared with the results of the combined end point, the hazard ratios of cardiovascular death are larger and those of nonfatal MI smaller (Tables S5 through S7). Accordingly, survival curves stratified for tertiles of circulating suPAR levels, both in the overall cohort (*P*<0.001) and in the ACS cohort (*P*<0.001), evidenced the prognostic relevance of suPAR (Figure 2). In the SAP cohort, the differences in survival curves lacked statistical significance (Figure S1). In the ACS cohort, however, suPAR tertiles strongly stratified for future coronary events.

**DISCUSSION**

The present study assessed the predictive value of circulating suPAR levels for cardiovascular death and secondary MI in a cohort of patients with documented CAD. This study demonstrated a statistically significant and clinically relevant impaired prognosis in patients with CAD with increasing suPAR levels. To our knowledge, this is the first study showing that suPAR levels significantly predict cardiovascular mortality and MI in a CAD cohort even after adjustment for cardiovascular risk factors; renal function; and the biomarkers CRP, NT-proBNP, and hs-TnI, which are all established factors for risk prediction in CAD. In general, the predictive power of suPAR was larger in the ACS cohort than in

**Table 3. Association of Circulating suPAR Levels With Cardiovascular Death and/or Myocardial Infarction During Follow-Up in the Overall Cohort**

Model	HR (95% CI)	P Value	N	N Events
1	2.19 (1.52–3.17)	<0.001	1703	123
2	2.03 (1.38–2.98)	<0.001	1703	123
3	1.74 (1.17–2.58)	0.007	1703	123
4	1.61 (1.07–2.42)	0.022	1703	123

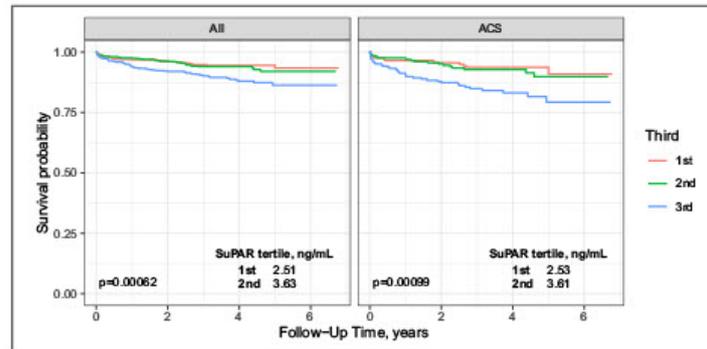
Model 1: adjusted for age and sex. Model 2: adjusted for age, sex, BMI, diabetes mellitus, smoking status, dyslipidemia, and hypertension. Model 3: adjusted for age, sex, log(NT-proBNP), log(CRP), log(hs-TnI), eGFR (CKD-EPI). Model 4: age, sex, BMI, diabetes mellitus, smoking status, dyslipidemia, hypertension, log(NT-proBNP), log(CRP), log(hs-TnI), eGFR (CKD-EPI). BMI indicates body mass index; CKD-EPI, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; CRP, C-reactive protein; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HR, hazard ratio; hs-TnI, high-sensitivity troponin I; NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide; and suPAR, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

**Table 4. Association of Circulating suPAR Levels With Cardiovascular Death and/or Myocardial Infarction During Follow-Up in the ACS Cohort**

Model	HR (95% CI)	P Value	N	N Events
1	2.56 (1.53–4.27)	<0.001	626	24
2	2.37 (1.40–3.99)	0.001	626	24
3	2.35 (1.36–4.07)	0.002	626	24
4	2.22 (1.27–3.88)	0.005	626	24

Model 1: adjusted for age and sex. Model 2: adjusted for age, sex, BMI, diabetes mellitus, smoking status, dyslipidemia, and hypertension. Model 3: adjusted for age, sex, log(NT-proBNP), log(CRP), log(hs-TnI), eGFR (CKD-EPI). Model 4: age, sex, BMI, diabetes mellitus, smoking status, dyslipidemia, hypertension, log(NT-proBNP), log(CRP), log(hs-TnI), eGFR (CKD-EPI). BMI indicates body mass index; CKD-EPI, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; CRP, C-reactive protein; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HR, hazard ratio; hs-TnI, high-sensitivity troponin I; NT-proBNP, N-terminal pro-B-type natriuretic peptide; and suPAR, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor.

Downloaded from <http://ahajournals.org/> by on May 15, 2020



**Figure 2.** Survival curves for cardiovascular death and/or myocardial infarction according to soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) tertiles for the overall cohort (All) and the acute coronary syndrome cohort (ACS). The *P* value displayed on the graphics is for the log-rank test. *P* values for pairwise comparisons are first third vs second third, *P*=0.58; first third vs third third, *P*<0.001; second third vs third third, *P*=0.004 in all; and first third vs second third, *P*=0.620; first third vs third third, *P*=0.001; second third vs third third, *P*=0.006 in ACS patients.

SAP patients, which may be in part related to different event rates.

### Pathophysiological Implications

Biomarkers are critical instruments in terms of risk prediction. Emerging data showed that new pathways and pathophysiological hypotheses yield biomarkers beyond the established ones.<sup>18–22</sup> Here, we assessed suPAR as a candidate biomarker for CAD and found significant association.

This concept is supported by an established pathophysiological link between suPAR and atherosclerosis. Urokinase plasminogen activator is a serine protease that, on binding its receptor, urokinase plasminogen activator receptor, leads to the generation of plasmin.<sup>18–22</sup> Urokinase plasminogen activator is produced by vascular endothelial cells, smooth muscle cells, monocytes, macrophages, fibroblasts, and epithelial cells.<sup>23</sup> Urokinase plasminogen activator receptor plays a role in the development of atherosclerosis by orchestrating cellular adhesion, migration, and proliferation, and plasma suPAR likely reflects cellular shedding of a section of urokinase plasminogen activator receptor from either inflammatory or endothelial cells.<sup>24</sup> Atherosclerosis is an inflammatory disease. Its lesions are filled with macrophages, T cells, and other immune cells that can orchestrate and effect inflammatory responses.<sup>25</sup> In fact, the first lesions of atherosclerosis consist of macrophages and T cells. Unstable plaques are particularly rich in activated immune cells, suggesting that they may initiate plaque activation.<sup>25</sup> Elevated suPAR levels have typically been attributed to a state of inflammation.<sup>26</sup> The release of suPAR from activated neutrophils, monocytes, and

endothelial cells is stimulated by proinflammatory cytokines.<sup>27</sup> In accordance, mounting experimental and clinical data suggest a key role of inflammation in the pathophysiology of atherogenesis.<sup>28</sup> SuPAR might represent an unknown link between physiological immune and inflammatory response processes and atherosclerotic processes. Furthermore, suPAR has been identified as immune-derived signaling molecule contributing to the pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis and probably other forms of chronic kidney disease.<sup>29</sup> SuPAR as a biomarker can reliably predict the incidence of chronic kidney disease.<sup>4</sup> Strong associations of chronic kidney disease with cardiovascular diseases have long been established.<sup>30</sup>

Interestingly, both kidneys and hearts were recently identified as organs of suPAR clearance in humans, supporting the concept of suPAR playing a key role not only in renal diseases but also in cardiac diseases such as CAD.<sup>31</sup>

Because suPAR is highly stable during storage and can be measured accurately even after repeated cycles of freezing and thawing, and since unlike CRP, suPAR levels appear to be free of circadian changes and are relatively stable during periods of acute stress, it seems to have a potential as a new cardiovascular biomarker and should be further evaluated.<sup>31–33</sup>

### Strengths and Limitations

Strengths of this study include the large cohort size of 1703 patients and a median follow-up of 3.5 years. However, like all typical CAD populations, women are clearly underrepresented. Additionally, participant

acquisition was conducted from 1999 to 2000, so that demographic changes in CAD patient populations and altered therapy regimen might influence the transferability of the results to contemporary patient populations. Although we had a large sample of ACS patients, fatal cardiovascular disease events were limited in this study population. Furthermore, our study population only represents patients with CAD who underwent coronary angiography. This population might differ from CAD patients without the need for coronary intervention. Therefore, the predictive value of suPAR levels should also be assessed in those patients. Finally, Cox regression analyses should be interpreted with caution because of a possible overadjustment.

### CONCLUSIONS

Our study demonstrates that suPAR levels predict mortality and nonfatal MI in secondary prevention settings, thereby possibly representing a valuable biomarker for risk estimation in CAD.

### ARTICLE INFORMATION

Received December 2, 2019; accepted March 6, 2020.

#### Affiliations

From the Clinic of Cardiology, University Heart and Vascular Center Hamburg, Hamburg, Germany (J.N., T.B., S.A., F.O., R.B.S., S.B., T.Z., M.K.); German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Hamburg, Lübeck, Kiel, Hamburg, Germany (R.B.S., S.B., T.Z., M.K.); Department of Laboratory Medicine, University Medical Center, Johannes Gutenberg University Mainz, Mainz, Germany (K.J.L.); German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Rhein-Main, Mainz, Germany (K.J.L.).

#### Sources of Funding

The AtheroGene study was supported by the "Stiftung Rheinland-Pfalz für Innovation," Ministry for Science and Education (AZ 15202-398261/545), by the European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under grant agreement No. HEALTH-F2-2011-278913 (BiomarCaRE), the German Center for Cardiovascular Research (DZHK e.V.), grant number 81Z1710101, by the European Research Area Network (ERA-Net) (PREMED-CAD) and an unrestricted research grant of Abbott Diagnostics. Dr Zeller was supported by the German Center for Cardiovascular Research (DZHK e.V.) under grant number 81Z1710101.

#### Disclosures

Dr Schnabel reports honoraria from Pfizer and Bristol-Myers-Sqibb. Dr Blankenberg reports grants from Abbott Diagnostics and honoraria from Abbott Diagnostics, Siemens, Thermo Fisher, and Roche Diagnostics. Dr Karakas reports grant support from Adrenomed and Vifor and honoraria from Adrenomed, Vifor, 4TEEN4, Sphingotec, Amgen, Astra-Zeneca, and Sanofi. The remaining authors have no disclosures to report.

#### Supplementary Materials

Tables S1–S7  
Figure S1

### REFERENCES

1. Traghella I, Mastorci F, Alessia P, Fingitore A, Vassalle C. Nontraditional cardiovascular biomarkers and risk factors: rationale and future perspectives. *Biomolecules*. 2018;8:40.

2. Fox K, Carruthers F, Dunbar DR, Graham C, Manning JR, De Raedt H, Buyschaert I, Lambrechts D, Van de Werf F. Underestimated and under-recognized: the late consequences of acute coronary syndrome (GRACE UK-Belgian Study). *Eur Heart J*. 2010;31:2755–2764.
3. Wijeyesundara HC. Association of temporal trends in risk factors and treatment uptake with coronary heart disease mortality, 1994–2005. *JAMA*. 2010;303:1841–1847.
4. Hayek SS, Sever S, Ko Y-A, Trachtman H, Awad M, Wadhvani S, Altintas MM, Wei C, Holton AL, French AL, et al. Soluble urokinase receptor and chronic kidney disease. *N Engl J Med*. 2015;373:1916–1925.
5. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005;352:1685–1695.
6. Huai Q, Mazar AP, Kuo A, Parry GC, Shaw DE, Callahan J, Li Y, Yuan C, Bian C, Chen L, et al. Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor. *Science*. 2008;311:656–659.
7. Hahn E, Wei C, Fernandez I, Li J, Tardi NJ, Tracy M, Wadhvani S, Cao Y, Peev V, Zloza A, et al. Bone marrow-derived immature myeloid cells are a main source of circulating suPAR contributing to proteinuric kidney disease. *Nat Med*. 2017;23:100–106.
8. Hayek SS, Koh KH, Grams ME, Wei C, Ko Y-A, Li J, Samelko B, Lee H, Dandee RR, Lee HW, et al. A tripartite complex of suPAR, APOL1 risk variants and  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin on podocytes mediates chronic kidney disease. *Nat Med*. 2017;23:945–953.
9. Wei C, Möller CG, Altintas MM, Li J, Schwarz K, Zaccagna S, Xie L, Henger A, Schmid H, Rastaldi MP, et al. Modification of kidney barrier function by the urokinase receptor. *Nat Med*. 2008;14:55–63.
10. Waldeyer C, Karakas M, Scheurle C, Ojeda F, Schnabel RB, Zeller T, Zengin E, Westermann D, Schrage B, Bickel C, et al. The predictive value of different equations for estimation of glomerular filtration rate in patients with coronary artery disease—results from the AtheroGene study. *Int J Cardiol*. 2016;221:908–913.
11. Zeller T, Altay A, Waldeyer C, Appelbaum S, Ojeda F, Ruhe J, Schnabel RB, Lackner KJ, 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.
12. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smejsa M, Cambien F, Meyer J, Lackner KJ. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2003;349:1605–1613.
13. Karakas M, Schulte C, Appelbaum S, Ojeda F, Lackner KJ, Münzel T, Schnabel RB, Blankenberg S, Zeller T. Circulating microRNAs strongly predict cardiovascular death in patients with coronary artery disease—results from the large AtheroGene study. *Eur Heart J*. 2017;38:516–523.
14. Calvin JE, Klein LW, Vanden Berg BJ, Meyer P, Condon JV, Snell RJ, Ramirez-Morgen LM, Parrillo JE. Risk stratification in unstable angina. Prospective validation of the Braunwald classification. *JAMA*. 1995;273:136–141.
15. Mann JF, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S. Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med*. 2001;134:629–636.
16. Grambsch PM, Therneau TM. Proportional hazards tests and diagnostics based on weighted residuals. *Biometrika*. 1994;81:515–528.
17. van Buuren S, Groothuis-Oudshoorn K. MICE: multivariate imputation by chained equations in R. *J Stat Softw*. 2011;45:1–67.
18. Andreasen PA, Egelund R, Petersen HH. The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis. *Cell Mol Life Sci*. 2000;57:25–40.
19. 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.
20. Ruhe J, Waldeyer C, Ojeda F, Altay A, Schnabel RB, Schäfer S, Lackner KJ, 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.
21. Zeller T, Waldeyer C, Ojeda F, Schnabel RB, Schäfer S, Altay A, Lackner KJ, Anker SD, Westermann D, Blankenberg S, et al. Adverse outcome prediction of iron deficiency in patients with acute coronary syndrome. *Biomolecules*. 2018;8:60.
22. Waldeyer C, Brunner FJ, Braetz J, Ruebsamen N, Zyriax B-C, Blaum C, Kroeger F, Kohlsack R, Schrage B, Sinning C, et al. Adherence to Mediterranean diet, high-sensitive C-reactive protein, and severity of

Downloaded from <http://ahajournals.org> by on May 15, 2020

- coronary artery disease: contemporary data from the INTERCATH cohort. *Atherosclerosis*. 2018;275:256–261.
23. Waltz DA, Fujita RM, Yang X, Natkin L, Zhuo S, Gerard CJ, Rozenberg S, Chapman HA. Nonproteolytic role for the urokinase receptor in cellular migration in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000;22:316–322.
  24. Eapen DJ, Manocha P, Ghasemzadeh N, Patel RS, Al Kassem H, Hammadah M, Veledar E, Le NA, Fielak T, Thorball CW, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor level is an independent predictor of the presence and severity of coronary artery disease and of future adverse events. *J Am Heart Assoc*. 2014;3:e001118. DOI: 10.1161/JAHA.114.001118.
  25. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1876–1890.
  26. Backes Y, van der Sluijs KF, Mackie DP, Tacke F, Koch A, Tenhunen JJ, Schultz MJ. Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: a systematic review. *Intensive Care Med*. 2012;38:1416–1428.
  27. Pliyev BK. Activated human neutrophils rapidly release the chemotactically active D2D3 form of the urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR/CD67). *Mol Cell Biochem*. 2008;321:111–122.
  28. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med*. 2017;377:1119–1131.
  29. Zeier M, Reiser J. suPAR and chronic kidney disease—a podocyte story. *Pflugers Arch*. 2017;469:1017–1020.
  30. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C-Y. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351:1296–1305.
  31. Chew-Harris J, Appleby S, Richards AM, Troughton RW, Pemberton CJ. Analytical, biochemical and clearance considerations of soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in healthy individuals. *Clin Biochem*. 2019;69:36–44.
  32. Kofoed K, Schneider UV, Scheel T, Andersen O, Eugen-Olsen J. Development and validation of a multiplex add-on assay for sepsis biomarkers using xMAP technology. *Clin Chem*. 2006;52:1284–1293.
  33. Risbro R, Christensen IJ, Høgdal C, Brønner N, Høgdal E. Soluble urokinase plasminogen activator receptor measurements: influence of sample handling. *Int J Biol Markers*. 2001;16:233–239.

## 2. Einleitung

### 2.1.1 Bedeutung kardiovaskulärer Erkrankungen und Epidemiologie

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind weltweit, noch vor malignen Grunderkrankungen und Infektionen, für einen wesentlichen Teil der Morbidität und Mortalität verantwortlich (Wang et al. 2016). Sie stellen somit einen wesentlichen gesamtgesellschaftlichen, wie auch sozioökonomischen Kostenfaktor dar (Carter et al. 2019).

Unter den kardiovaskulären Erkrankungen ist die koronare Herzkrankheit (KHK), neben der arteriellen Hypertonie führend (Benjamin et al. 2018). Für Deutschland zeigen die Daten des Statistischen Bundesamtes, dass Herz-Kreislauf-Erkrankungen die Haupttodesursache darstellen (Busch und Kuhnert 2017). Daher scheint es aus gesundheitsökonomischen Gründen opportun sich ebendiesem eindeutig definierten Patientenkollektiv zur Verbesserung der Sekundärprophylaxe zu widmen (Bauersachs et al. 2019).

Bedingt durch den demographischen Wandel mit zunehmender Alterung der Gesamtbevölkerung kommt es zu einem deutlichen Anstieg der Prävalenz der KHK in der Bevölkerung (Benjamin et al. 2018). In der Alterskohorte von 40 bis 59 Lebensjahren beträgt sie bei Frauen 6,6 %, sowie bei Männern 9,6 % und steigt anschließend deutlich an. In der Alterskohorte oberhalb des achtzigsten Lebensjahres liegt sie schließlich bei 21,7 % bei Frauen bzw. 30,6 % bei Männern. Wie vorangegangene Untersuchungen zeigen konnten, ist das Mortalitätsrisiko nach kardiovaskulären Ereignissen, wie Schlaganfällen und Myokardinfarkten, sowie bei Vorliegen einer KHK deutlich erhöht (Fox et al. 2010). Somit ist dieses Patientenkollektiv einem deutlichen Risiko ausgesetzt und bedarf besonderer Beachtung (Piepoli et al. 2016).

Die klassischen Risikofaktoren Nikotinkonsum, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie sowie die arterielle Hypertonie scheinen nur bis zu einem gewissen Grad geeignet die kardiovaskuläre Mortalität vorherzusagen (Khot et al. 2003). Mit fortschreitenden Erkenntnissen der Pathophysiologie kardiovaskulärer Erkrankungen eröffnen sich neue Möglichkeiten in der Risikoeinschätzung kardiovaskulär erkrankter Personen.

Ziel dieser Arbeit ist es, den löslichen Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor (suPAR) dahingehend zu untersuchen, ob er sich als möglicher Risikomarker für die individuelle Risikostratifizierung bei Patienten mit nachgewiesener koronarer Herzkrankheit eignet. In der Folge wäre eine an das individuelle Risikoprofil angepasste Sekundärprophylaxe denkbar und könnte insbesondere das Patientenkollektiv mit einem erhöhten Risiko für erneute kardiovaskuläre Ereignisse einer engmaschigeren Überwachung zuführen.

Für diese Arbeit wurde der Serumspiegel des suPAR in einer Kohorte von 1703 Patienten mit einer koronarangiographisch nachgewiesenen KHK bestimmt. Über einen Zeitraum von

median dreieinhalb Jahre wurden diese Patienten bezüglich des Auftretens kardiovaskulärer Ereignisse beobachtet. Ziel war es herauszufinden, ob die gemessene Höhe des suPAR im Blut eine Risikostratifizierung in Bezug auf sekundäre kardiovaskuläre Ereignisse (erneuter Myokardinfarkt oder Versterben an einer kardiovaskulären Erkrankung) erlaubt.

### **2.1.2 Definition und klinische Manifestation der koronaren Herzkrankheit**

Die KHK beschreibt die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzgefäßen (Böhm 2020, Saleh und Ambrose 2018, Task Force et al. 2013) Im Laufe der Jahre hat sich das Verständnis der Pathophysiologie deutlich weiterentwickelt. Anfänglich wurde die Atherosklerose anhand histologisch nachweisbarer Lipideinlagerungen im Rahmen pathologischer Untersuchungen definiert (Adams 1973). Im Rahmen der verbesserten technischen Möglichkeiten wurde dieses Verständnis stetig erweitert. Mittlerweile wird die KHK als eine komplexe Erkrankung mit inflammatorischer Beteiligung aufgefasst (Libby und Theroux 2005).

Charakteristischerweise präsentiert sich die KHK zunächst in der Form eines reversiblen Missverhältnisses von Sauerstoffangebot und -bedarf im Versorgungsgebiet der Herzkranzgefäße (Alpert et al. 2000). Dieses Missverhältnis wird unter anderem durch eine langsam progrediente Verengung der Herzkranzgefäße mit Verringerung des Blutflusses (sogenannte Stenose) bedingt (Ross 1999). Die daraus resultierende Ischämie des Myokards im entsprechenden Versorgungsbereich der Koronararterie entsteht häufig durch eine körperliche, oder emotionale Belastung und ist zunächst meist noch reversibel. Klassischerweise äußert sich diese Ischämie klinisch mit einer sogenannten Angina Pectoris (AP), einem thorakalen Druck- und Engegefühl (Knuuti et al. 2020). Die Beschwerdesymptomatik kann sich jedoch vielfältig darstellen, z.B. durch epigastrische Schmerzen, Schmerzen im Bereich des linken Armes oder des Kiefers. Verbunden ist diese Symptomatik meist mit einem ausgeprägten Angst- und Unruhegefühl. Dennoch gibt es auch einen relevanten Anteil an Patienten, die keine, oder nur sehr unspezifische Symptome zeigen. Neben Frauen (Leuzzi und Modena 2010) stellen Patienten mit einem Diabetes mellitus (Khafaji und Suwaidi 2014) eine relevante Gruppe von Patienten dar, welche meist eine atypische, unspezifische, oder überhaupt keine Symptomatik zeigen.

Eine koronare Herzkrankheit kann sich in unterschiedlichen klinischen Manifestationsformen präsentieren. Von der stabilen KHK, welche ab einem gleichbleibenden Belastungsniveau in gleichbleibender Stärke und mit gleichbleibender Symptombdauer auftritt, (Knuuti et al. 2020) ist das akute Koronarsyndrom (ACS) zu unterscheiden. Unter einem ACS wird eine über die stabile AP hinausgehende

Beschwerdekonstellation verstanden. Hierunter werden, neben der sogenannten instabilen Angina Pectoris (IAP), auch Myokardinfarkte mit ST-Streckenveränderungen (STEMI) und ohne relevante ST-Streckenhebungen, sogenannte Nicht-ST-Streckenhebungsmyokardinfarkte (NSTEMI) zusammengefasst. Definitionsgemäß ist eine AP als instabil zu bezeichnen, wenn sie bei einem niedrigeren Belastungsniveau als üblich auftritt, sich die Länge der Beschwerden verändert, oder mit einer gesteigerten Häufigkeit auftritt. Des Weiteren fällt hierunter eine AP, welche in Ruhe und somit ohne relevante Belastung auftritt, sowie jede neu aufgetretene AP bis zum sicheren Ausschluss eines Myokardinfarktes. Auch ein gesteigerter Bedarf an antianginösen Medikamenten fällt per definitionem unter eine IAP (Roffi et al. 2016). Zusammenfassend ist also jedwede Verschlechterung einer vorbekannten AP, oder ihr erstmaliges Auftreten, als instabil zu werten.

Zur Unterscheidung zwischen einer IAP und einem Myokardinfarkt dient aktuell unter anderem die Bestimmung des Troponins als Biomarker für den irreversiblen Untergang von Kardiomyozyten. Ein Myokardinfarkt beschreibt den Untergang von Kardiomyozyten aufgrund einer prolongierten Ischämie. Dabei kommt es zu einer Zerstörung des kontraktilen Apparates der Kardiomyozyten mit Freisetzung von zellulären Proteinen, welche sich laborchemisch nachweisen lassen. Neben der Creatin-Kinase und dem Myoglobin ist insbesondere das Troponin ein sensitiver Marker für den irreversiblen Untergang von Kardiomyozyten und in der klinischen Praxis gut etabliert (Morrow et al. 2007, Parmacek und Solaro 2004).

Da eine Freisetzung von Troponin sowohl durch einen akuten Prozess, zum Beispiel im Rahmen eines Myokardinfarktes, als auch durch einen chronischen Prozess verursacht werden kann, ist zur Differenzierung die Dynamik der Freisetzung ausschlaggebend (Agewall et al. 2011). So ist für die Diagnose eines Myokardinfarktes eine definierte Dynamik des Troponinwertes zwingend erforderlich (Thygesen et al. 2018).

Andere Ursachen für eine Erhöhung des Troponins können unter anderen eine chronische Herzinsuffizienz (Masson et al. 2012), Herzrhythmusstörungen, eine Myokarditis (Lauer et al. 1997), oder eine chronische Niereninsuffizienz mit konsekutiv verlangsamtem Abbau des Troponins im Rahmen des physiologischen Umsatzes sein (Torre und Jarolim 2015).

### **2.1.3 Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit**

Im Laufe der letzten Jahre wurden neue Erkenntnisse bezüglich der Pathogenese und Pathophysiologie der KHK gewonnen (Libby und Theroux 2005). Eine zugrundeliegende Erkrankung ist die Atherosklerose, welche sich bereits in jungen Lebensjahren manifestiert, wie in Obduktionsstudien nachgewiesen werden konnte (McGill et al. 2000). Ein allgemein anerkannter Risikofaktor in der Pathogenese ist die Hypercholesterinämie (Rafieian-Kopaei

et al. 2014). Sie stellt bisher einen wesentlichen Ansatzpunkt in der Sekundärprävention einer KHK dar (Short et al. 2022).

Neben der Hypercholesterinämie, als einem klassischen Risikofaktor, ist zunehmend die Inflammation als ein weiterer wesentlicher Faktor in der Pathogenese identifiziert worden (Fyfe et al. 1994, Hansson 2005, Libby et al. 2002). Eine Vielzahl an Signalkaskaden und Immunzellen spielen eine Rolle in der komplexen Entstehung der KHK (Taleb 2016). Es konnte gezeigt werden, dass insbesondere die Entzündungsaktivität entscheidend für die Gefahr eines Myokardinfarktes ist und nicht allein der Grad der Stenose einer Koronararterie (Hansson 2005). Unter anderem durch die Akkumulation von Cholesterin in die Gefäßintima kommt es zunächst zu einer Migration von Makrophagen (sogenannte Schaumzellen) und der Vermehrung von glatten Muskelzellen in der Gefäßwand. Über diverse Zwischenschritte wie sogenannte „fatty streaks“, welche teilweise noch potenziell reversibel sind, kommt es zur fortschreitenden Verdickung der Gefäßwand. Mit der Einlagerung weiterer Zellen, der Vermehrung von Bindegewebe, sowie der Akkumulation von Lipiden und Detritus kommt es letztlich zur Entstehung eines Atheroms. Ein solches Atherom enthält einen instabilen Kern aus den oben erwähnten Schaumzellen und extrazellulären Lipiden. Nach luminal wird es durch glatte Muskelzellen vor den Scherkräften des Blutes geschützt. Dies erklärt die Bedeutung der Hypercholesterinämie, als einen wesentlichen Risikofaktor (Linton et al. 2000). Durch die Migration verschiedenster Entzündungszellen (unter anderem Makrophagen und T-Lymphozyten) kommt es zur Freisetzung proteolytischer Enzyme und proinflammatorischer Zytokine (Taleb 2016). Eine solche als Plaque bezeichnete Struktur kann bei ausreichend hoher entzündlicher Aktivität zunehmend instabil werden. Dies kann in einer Ruptur der luminalen Oberfläche enden, was wiederum diverse prothrombotische Faktoren freisetzt, welche schließlich eine Aktivierung der Blutgerinnungskaskade zur Folge hat und zum Verschluss, beziehungsweise zur akuten Verengung eines Herzkranzgefäßes führt (Badimon und Vilahur 2014). Somit konnte die bedeutende Rolle der Inflammation in der Entstehung und Progredienz der KHK gezeigt werden (Libby und Theroux 2005).

### **2.1.4 Bedeutung der Biomarker**

Ein bedeutender Anteil der Patienten mit einer KHK ist keinerlei oder lediglich einem klassischen Risikofaktor ausgesetzt (Khot et al. 2003). Es ist somit von entscheidender Bedeutung die neuesten pathophysiologischen Erkenntnisse in die klinische Praxis einzubinden, um eine Verbesserung der individuellen Risikostratifizierung zu ermöglichen. Hierzu sind sogenannte Biomarker ein effektives und kostengünstiges Werkzeug.

In den letzten Jahren wurden mit zunehmendem Verständnis für die Pathophysiologie der KHK eine Vielzahl an unterschiedlichsten Biomarkern entdeckt und untersucht (Yayan

2013). Wie oben erwähnt spielt die Entzündungsreaktion eine wesentliche Rolle in der Entstehung und Progredienz der KHK. Biomarker, die ebendiese komplexen Wege der Pathogenese erfassen, sind daher ein sinnvoller Ansatz zur Steuerung der Sekundärprophylaxe.

### **2.1.5 Der lösliche Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor**

Ein vielversprechender Biomarker für die inflammatorische Aktivität im Rahmen vaskulärer Erkrankungen ist der lösliche Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor (suPAR). Er ist die im Serum zirkulierende, lösliche Form eines Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-verankerten Membranproteins (Huai et al. 2006). Dieses Protein wird auf verschiedenen Zellen exprimiert, welche eine wichtige Rolle, unter anderem in der Entzündungskaskade und der Steuerung des Zellwachstum spielen. Aufgrund seiner Konfiguration als GPI-verankertes Membranprotein ist der suPAR sehr interaktionsfreudig und kann somit über zahlreiche Signalwege unterschiedliche Wirkungen entfalten (Lester et al. 2007, Liu et al. 2002, Resnati et al. 2002, Wei et al. 1996). Insbesondere eine Interaktion mit dem platelet-derived growth factor (PDGF) -Rezeptor in der glatten Muskulatur (Kiyam et al. 2005) ist in Bezug auf die Entwicklung der Atherosklerose von Bedeutung (Koyama et al. 1992). Zur Freisetzung des suPAR ist eine Bindung des Liganden, des Urokinase-Plasminogen-Aktivator (uPA), nötig. Hierbei kommt es zu einer Spaltung des GPI-Ankers und somit zur Freisetzung des Rezeptors (Huai et al. 2006). Neben der ursprünglich beschriebenen Funktion einer Spaltung von Plasminogen in die aktive Form Plasmin, interagiert der suPAR mit einer Reihe weiterer Proteine und spielt eine wichtige Rolle in diversen bedeutenden Zellprozessen, wie der Migration und Adhäsion, Angiogenese, Proliferation und Chemotaxis (Montuori und Ragno 2009, Thuno et al. 2009).

Bisher wurde der suPAR ausführlich bei Patienten mit einer chronischen Nierenfunktionseinschränkung untersucht (Tummalapalli et al. 2016). Hierbei konnte eine enge Korrelation zwischen dem Plasmaspiegel des suPAR und dem Fortschreiten einer Nierenfunktionseinschränkung nachgewiesen werden (Hayek et al. 2015). Aufgrund der ähnlichen Pathophysiologie, einer chronischen vaskulären Inflammation, lag es nahe den suPAR auf eine Anwendbarkeit für die Risikostratifizierung der koronaren Herzkrankheit zu untersuchen (Hansson 2005). Erste Hinweise hierfür konnten bereits erbracht werden (Eapen et al. 2014).

In vorangegangenen Arbeiten konnte eine Vorhersagekraft für das erneute Auftreten von Myokardinfarkten bei Patienten mit einem STEMI (Lyngbaek et al. 2012), oder die Überlebenschancen bei Vorliegen eines sogenannten „systemic inflammatory response syndrom“ (SIRS) (Koch et al. 2011) gezeigt werden. Zudem wurde erst vor Kurzem der Nachweis erbracht, dass der suPAR eine gute prognostische Validität

bezüglich eines negativen Outcomes bei Patienten mit einem vermuteten Myokardinfarkt innerhalb des ersten Jahres besitzt (Sorensen et al. 2019).

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1.1 Studienpopulation**

Für die vorliegende Publikation wurde eine Kohorte von 3800 Patienten rekrutiert, welche im Rahmen der AtheroGene Studie in der Zeit von Juni 1999 bis März 2000 in der Medizinischen Klinik II der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, sowie dem Bundeswehr-Zentralkrankenhaus Koblenz, einer Koronarangiographie unterzogen worden waren (Blankenberg et al. 2003, Karakas et al. 2017). Anschließend erfolgte die Überprüfung hinsichtlich der Ein- und Ausschlusskriterien, wie in den folgenden Abschnitten beschrieben. Aus dem oben erwähnten Kollektiv konnten schließlich 1703 Patienten in die vorliegende Untersuchung eingeschlossen werden. Von diesen 1703 Patienten wiesen 626 ein ACS auf, 1077 litten an einer stabilen AP.

Als primäre Endpunkte wurden ein Versterben infolge einer kardiovaskulären Erkrankung sowie ein Myokardinfarkt während des Beobachtungszeitraum definiert.

Die Studie wurde gemäß den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Ein positives Ethikvotum der Johannes-Gutenberg Universität Mainz, sowie der Ärztekammer Rheinland-Pfalz lag vor. Alle Studienteilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme.

#### **3.1.2 Einschlusskriterien**

Zum Einschluss in die vorliegende Untersuchung wurden alle potenziellen Studienteilnehmer auf das Vorliegen der folgenden Einschlusskriterien überprüft:

- Volljährigkeit
- Vorliegen der schriftlichen Einwilligungserklärung
- Diagnose einer koronaren Herzkrankheit durch Darstellung einer mindestens 30%igen Stenosierung eines großen Herzkranzgefäßes mittels Koronarangiographie

#### **3.1.3 Ausschlusskriterien**

Neben den oben genannten Einschlusskriterien wurden zudem alle potenziellen Studienteilnehmer im Hinblick auf die folgenden Ausschlusskriterien untersucht:

- Nachweis einer hämodynamisch relevanten Herzklappenerkrankung
- Vorbekannte Kardiomyopathie
- Vorliegen einer malignen Tumorerkrankung
- Einnahme einer oralen Antikoagulation innerhalb der letzten vier Wochen
- Trauma innerhalb der letzten vier Wochen
- Operativer Eingriff innerhalb der letzten vier Wochen
- Febrile Temperaturen

- Fehlende Angaben zur klinischen Beschwerdesymptomatik
- Fehlende Informationen zur Todesart
- Fehlende Laborparameter beziehungsweise zu geringes Volumen der asservierten Blutproben

Bei Zutreffen eines oder mehrerer Ausschlusskriterien erfolgte der Ausschluss des Individuums

### **3.1.4 Datensammlung**

Zu Beginn der Studie wurden alle Patienten mittels eines standardisierten Fragebogens bezüglich ihrer soziodemographischen Merkmale und ihrer medizinischen Vorgeschichte befragt. Ergänzt wurden diese Informationen durch die ebenfalls vorliegenden Daten aus der Krankenhausakte der Patienten.

Die Diagnose einer KHK wurde gestellt, wenn sich in der Koronarangiographie eine Stenose von mindestens 30 % in wenigstens einer großen Koronararterie gezeigt hatte. Eine IAP wurde gemäß den klinisch etablierten Kriterien (Dauer über 20 Minuten, Crescendo-Angina oder neu aufgetretene Angina Pectoris) diagnostiziert (Braunwald 1989).

Ein akuter Myokardinfarkt wurde bei entsprechender klinischer Symptomatik und signifikant erhöhtem Troponin-Serumspiegel mit entsprechender Dynamik gemäß den gültigen Leitlinien diagnostiziert (Thygesen et al. 2018). Myokardinfarkte wurden als STEMI gewertet, wenn im Elektrokardiogramm (EKG) in mindestens zwei benachbarten Ableitungen eine signifikante ST-Streckenhebung von mindestens 0,1 mV vorlag. Ein NSTEMI lag dann vor, wenn sich im EKG keine signifikanten ST-Streckenhebungen zeigten, es aber dennoch zu einer signifikanten Troponinfreisetzung kam (Thygesen et al. 2018).

Der mediane Untersuchungszeitraum betrug dreieinhalb Jahre. Informationen bezüglich unerwünschter myokardialer Ereignisse und der Behandlung seit der Entlassung wurden mittels eines standardisierten Fragebogens jeweils durch den behandelnden Hausarzt erfragt. Die weiteren Informationen wurden durch ebenfalls standardisierte Fragebögen auf postalischem Wege direkt bei den Patienten erhoben. Bei Versterben eines Studienteilnehmers während des Beobachtungszeitraumes wurde Einblick in den Totenschein genommen, um die Todesursache zu ermitteln. Die Todesursachen wurden gemäß ICD-9 bzw. ICD-10 klassifiziert. Als primäre Endpunkte wurden nicht-tödliche Myokardinfarkte sowie der Tod in Folge einer kardiovaskulären Erkrankung (gemäß ICD-9 bzw. ICD-10) definiert.

### 3.1.5 Laboranalysen

Bei Aufnahme in die Klinik zum Zeitpunkt des Indexereignisses erfolgte eine venöse Blutentnahme vor Durchführung der Koronarangiographie und vor der Gabe von Heparin. Neben den klinischen Routine-Laborbestimmungen wurden Bioproben für das Biobanking entnommen, zentrifugiert und bei -80°C asserviert.

Die Serumspiegel des suPAR wurden mit Hilfe des sogenannten suPARnostic (ViroGates, Birkerød, Dänemark), einem antikörperbasierten Nachweisverfahren (ELISA) bestimmt. Die Höhe des Troponin I wurde mittels eines hoch-sensitiven Troponin I Test (hsTnI), dem sogenannten Architect immunoassay (ARCHITECT i1000SR, Abbott Diagnostics, Chicago, IL), bestimmt.

Das C-reaktive Protein (CRP) wurde ebenfalls mit Hilfe eines hochsensitiven Immuntests bestimmt (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland).

Zur Bestimmung des N-terminalen pro-B-typ natriuretischen Peptides (NT-proBNP) wurde ein Elektrochemilumineszenzverfahren verwendet (ECLIA, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland).

Die Serumkreatininwerte wurden mittels standardisierter Laborverfahren bestimmt. Die glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) wurde gemäß der sog. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Formel berechnet (Mann et al. 2001).

### 3.1.6 Statistik

Die statistischen Analysen wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt.

Zur Analyse wurden verschiedene medizinische und soziodemographische Variablen untersucht. Kontinuierliche Variablen wurden hierzu in Quartilen zusammengefasst. Für binäre Variablen wurden relative und absolute Häufigkeiten berechnet.

Zum Vergleich der Kohorten mit ACS und SAP erfolgten im Wesentlichen zwei Analysen. Für binäre Variablen wurde der Chi-Quadrat Test angewendet. Kontinuierliche Variablen wurden mit Hilfe des Mann-Whitney Tests untersucht.

Die Korrelation des suPAR mit den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren, der eGFR und den Biomarkern hs-TnI, NT-proBNP sowie dem CRP wurden mit Hilfe des Spearman Rangkorrelationskoeffizienten berechnet.

Zur Darstellung der Überlebenskurven erfolgte eine Einordnung der Patienten in Tertiale gemäß der Höhe ihrer suPAR-Plasmaspiegel. Mittels log-rank Test konnte der Nachweis eines Unterschiedes der Überlebenskurven erbracht werden.

In weiteren Analysen erfolgte die Korrelation der suPAR-Plasmaspiegel mit den primären Endpunkten (kardiovaskuläre Mortalität und nicht-tödliche Myokardinfarkte). Diese wurden

für die Analysen einer logarithmischen Transformation unterzogen. Alters- und geschlechtsspezifisch erfolgte die Bewertung nach Cox-Proportional-Hazard-Analyse.

Außerdem erfolgte die Adjustierung für weitere Variablen wie klassische Risikofaktoren (Body-mass Index (BMI), Diabetes mellitus, Raucherstatus, Dyslipidämie, und arterielle Hypertonie), sowie für die Höhe der Biomarker CRP, NT-proBNP, hsTnI im Blutserum und der Nierenfunktion anhand der eGFR.

In einer kombinierten Analyse wurde das Outcome nach Adjustierung für die Risikofaktoren und Höhe der Biomarker untersucht. Ein p-Wert kleiner 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet. Alle Analysen wurden mittels R Version 3.6.1 (<http://www.r-project.org/>) durchgeführt.

#### 4. Ergebnisse

Das in die Untersuchung erfolgreich eingeschlossene Kollektiv bestand aus 1703 Individuen, welche die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten. Bei ihnen konnte eine KHK mittels Koronarangiographie nachgewiesen werden. Hierfür wurde eine Stenosierung von mindestens 30% in mindestens einer Koronararterie als Vorliegen einer KHK definiert. 626 Probanden der Gesamtkohorte stellten sich dabei initial mit einer einem ACS entsprechenden Konstellation vor, während sich 1077 Probanden mit einer stabilen AP vorstellten. Im Durchschnitt waren die Teilnehmer 64,0 Jahre alt und unterschieden sich dabei auch im direkten Vergleich der beiden Populationen nicht signifikant (64,0 Jahre für das Kollektiv der stabilen AP vs. 63,0 Jahre für das Kollektiv der ACS). Auch in Bezug auf das Geschlecht (78,6% vs. 78,0% männliche Individuen) zeigten sich nur geringe, nicht signifikante Unterschiede. Ebenso war die Verteilung der Risikofaktoren Diabetes mellitus und der jeweilige BMI in beiden Gruppen nicht signifikant verschieden. Der Raucherstatus unterschied sich zwischen den Subgruppen nicht signifikant, wobei anzumerken ist das in der Gruppe der ACS relativ gesehen mehr Probanden zum Zeitpunkt des Indexereignis noch einen aktiven Nikotinkonsum betrieben.

Die gemessenen Werte für hs-TnI, CRP und NT-proBNP als Marker für eine akute myokardiale Belastungssituation zeigten sich erwartungsgemäß in der ACS-Kohorte signifikant erhöht. Im Gegensatz dazu waren in der SAP-Kohorte die Raten an arterieller Hypertonie (82,2% vs. 68,7%) und Dyslipidämie (77,6% vs. 65,7%) signifikant erhöht.

Die Serumspiegel des suPAR waren in beiden Gruppen im Median vergleichbar (3,0 ng/mL vs. 3,1 ng/mL) ohne das sich hier signifikante Unterschiede zeigten. Probanden mit in der Zukunft weiteren kardiovaskulären Ereignissen wiesen einen signifikant erhöhten suPAR-Spiegel auf. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Verteilung der soziodemographischen Variablen, der Risikofaktoren und der gemessenen Laborparameter.

**Tabelle 4-1: Patientencharakteristika**

n	Gesamtkollektiv	SAP	ACS	p-Wert
	1703	1077	626	
Alter (Jahre)*	64,0 (56,0- 69,0)	64,0 (56,0- 69,0)	63,0 (55,0- 69,0)	0,074
Männlich (%)	1335 (78,4)	847 (78,6)	488 (78,0)	0,790
BMI (kg/m <sup>2</sup> )*	27,3 (25- 30,0)	27,3 (25,1- 30,1)	27,3 (24,9- 29,5)	0,330
Diabetes mellitus (%)	351 (20,6)	240 (22,3)	111 (17,7)	0,029
Aktive Raucher (%)	322 (18,9)	180 (16,7)	142 (22,7)	0,003
Dyslipoproteinämie (%)	1247 (73,2)	836 (77,6)	411 (65,7)	<0,001
Arterielle Hypertonie (%)	1315 (77,2)	885 (82,2)	430 (68,7)	<0,001
NT-proBNP (pg/mL)*	210,9 (92,4- 592,0) NV: 36	156 (78,0- 383,0) NV: 20	386,3 (152,5- 1142,5) NV: 16	<0,001
CRP (mg/dL)*	3,0 (1,4- 7,4) NV: 36	2,3 (1,2- 5,1) NV: 22	5,0 (2,0- 13,8) NV: 14	<0,001
Hs-TnI (ng/dL)*	7,2 (3,6- 28,7) NV: 218	5,2 (3,1- 10,2) NV: 102	72,2 (7,2- 1788,2) NV: 116	<0,001
suPAR (ng/mL)*	3,1 (2,3- 4,0)	3,1 (2,3- 4,0)	3,0 (2,3- 4,0)	0,770

Die mit \* markierten Variablen sind neben dem Median auch mit ihren Quartilen angegeben. NV gibt die Anzahl der Individuen der Subgruppe an, für welche der entsprechende Wert nicht vorlag.

Während des Beobachtungszeitraum von median dreieinhalb Jahren ereigneten sich insgesamt 123 dokumentierte Myokardinfarkte oder Todesfälle durch kardiovaskuläre Erkrankungen im gesamten Studienkollektiv. Insgesamt trat somit bei 7,2% der Gesamtteilnehmer einer der festgelegten Endpunkte ein. Dabei waren in der Gruppe der Teilnehmer mit SAP 60 Probanden, bzw. 5,6% der Subpopulation von einem der Endpunkte betroffen. In der Kohorte der ACS waren 63 Probanden, bzw. 10,1% der Subpopulation betroffen.

**Tabelle 4-2: Verteilung der kardiovaskulären Ereignisse auf die Subgruppen**

	Erneute Myokardinfarkte	Kardiovaskulär bedingte Todesfälle	Summe
Gesamtkollektiv	78	45	123
SAP-Subgruppe	33	27	60
ACS-Subgruppe	45	18	63

Zur Bestimmung der Korrelation der Höhe des suPAR mit den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, positiver Raucheranamnese und arterieller

Hypertonie, sowie der gemessenen Höhe des hs-TnI, CRP und NT-proBNP, erfolgte die Berechnung des Spearman Korrelationskoeffizienten. Dabei zeigten sich jedoch nur schwache und nicht signifikante Korrelationen zwischen den oben genannten Variablen und der gemessenen Höhe des suPAR. Die stärkste Korrelation fand sich dabei mit der gemessenen eGFR, was nicht verwundert, da ein erhöhtes suPAR im Blutserum auch ein Risiko für ein Fortschreiten einer Nierenfunktionseinschränkung anzeigt (Hayek et al. 2015).

Mittels Cox-Regressionsanalyse wurden die hazard ratios für das Eintreten der Endpunkte in den Subgruppen berechnet. Im direkten Vergleich der Gruppen zeigte sich bei alleiniger Betrachtung der Höhe des gemessenen suPAR eine hazard ratio von 2,19 im Gesamtkollektiv. Das Kollektiv der ACS hatte bei alleiniger Betrachtung des suPAR eine hazard ratio von 2,56 und das Kollektiv der stabilen AP zeigte eine hazard ratio von 1,90. Um den unterschiedlichen Risikokonstellationen der einzelnen Kollektive Rechnung zu tragen, erfolgten Analysen nach Adjustierung für die klassischen Risikofaktoren, die Höhe der gemessenen Biomarker (hsTnI, NT-proBNP und CRP), sowie der Nierenfunktion.

Die Vorhersagekraft erhöhter suPAR-Spiegel im Blutserum für die primären Endpunkte blieb auch nach Adjustierung für die klassischen Risikofaktoren, die oben genannten Biomarker und die Nierenfunktion im Gesamtkollektiv und im ACS-Kollektiv erhalten. Selbst nach Adjustierung für alle oben erwähnten Faktoren zusammen konnte ein erhöhter suPAR-Spiegel das Risiko für die primären Endpunkte mit einer hazard-ratio von 1,61 für das Gesamtkollektiv und 2,22 für das ACS-Kollektiv vorhersagen. Beachtenswert ist hier insbesondere auch die höhere hazard-ratio für kardiovaskulär bedingte Todesfälle (1,74 nach Adjustierung für alle oben genannten Variablen) im Vergleich zu nicht tödlichen kardiovaskulären Ereignissen (1,35 nach Adjustierung für alle oben genannten Variablen) sowie dem kombinierten Endpunkt im Gesamtkollektiv.

## 5. Diskussion und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass der suPAR als blutbasierter Biomarker eine Aussage über das Risiko für erneute Myokardinfarkte, beziehungsweise ein Versterben an einem kardiovaskulären Ereignis bei Patienten mit einer bekannten KHK ermöglicht. Dabei konnte ebenfalls dargelegt werden, dass eine Risikoeinschätzung auch unabhängig vom Vorliegen weiterer klinisch etablierter Risikofaktoren möglich ist. Dabei ist jedoch zu beachten, dass die Vorhersagekraft unter Hinzunahme der klassischen Risikofaktoren ansteigt. Der von uns untersuchte blutbasierte Biomarker scheint somit ein interessanter Ansatzpunkt für die Risikostratifizierung bei Patienten mit einer nachgewiesenen KHK zu sein und liefert, auch über die bekannten Risikofaktoren hinaus, Hinweise für eine höhere Mortalität in diesem Patientenkollektiv. Dies bietet eine potenzielle Grundlage für eine individualisierte Prävention.

Limitiert wird die Aussagekraft der vorliegenden Daten zum einen durch eine begrenzte, wenn auch relativ große, untersuchte Population. Weitere Untersuchungen eines größeren Kollektivs erscheinen daher sinnvoll. Weiterhin ist die Rekrutierung der Studienpopulation bereits mehrere Jahre zurückliegend. Innerhalb des Zeitraums, der zwischen der Rekrutierung der Studienteilnehmer und der Untersuchung liegt, haben sich bedeutende Neuerungen in der Diagnostik und Therapie der KHK ergeben. So wurde innerhalb der vergangenen zwanzig Jahre unter vielen weiteren Therapiemöglichkeiten eine hochdosierte Statintherapie in die internationalen Leitlinien aufgenommen (Stone et al. 2014). Somit erscheint eine Wiederholung der Studie mit einem neu rekrutierten Studienkollektiv sinnvoll, um der verbesserten Prognose unter einer optimierten Therapie Rechnung zu tragen. Inwieweit die hier erbrachten Ergebnisse auch unter einer optimalen Therapie gemäß aktuellen Leitlinien reproduzierbar sind, bleibt dabei abzuwarten.

Eine weitere Limitation der hier vorliegenden Ergebnisse ergibt sich aus der deutlichen Unterrepräsentanz weiblicher Individuen. Aufgrund der höheren Prävalenz einer (diagnostizierten) KHK in der männlichen Bevölkerung ergibt sich eine deutliche Überrepräsentanz männlicher Teilnehmer. Dies ist ein in der kardiovaskulären Forschung bekanntes Phänomen.

Des Weiteren wurde für die Diagnose einer KHK eine lediglich 30%ige Stenose einer Koronararterie verlangt. Dies ist eine vergleichsweise geringe Stenosierung. Dies könnte dazu geführt haben, dass in die hier vorliegende Arbeit auch Individuen mit einer geringen Wahrscheinlichkeit für eine Progredienz einer KHK im Untersuchungszeitraum von median 3,5 Jahren eingeschlossen wurden.

Ein weiterer, nicht zu unterschätzender, Faktor ist das Fehlen einiger Laborparameter des untersuchten Kollektivs. So fehlen bei 218 von 1703 eingeschlossenen Probanden (12,8 %

des Gesamtkollektiv, 9,5% des SAP-Kollektiv und 18,5% des ACS-Kollektivs) die Werte für hs-TnI. Diese waren zum Zeitpunkt der Datenakquise nicht bestimmt worden und ließen sich nachträglich aus den asservierten Proben nicht verlässlich bestimmen (Egger et al. 2018). Zudem fehlten bei 36 Individuen des Gesamtkollektiv (2,1%) die Werte für CRP und NT-proBNP.

Zusammenfassend ist der suPAR ein blutbasierter Biomarker, welcher gemäß den hier vorliegenden Ergebnissen, eine Risikostratifizierung von Patienten mit einer nachgewiesenen KHK, auch unabhängig vom Vorliegen weiterer Risikofaktoren, erlaubt. Inwiefern sich diese verbesserte Risikostratifizierung reproduzieren lässt, welche therapeutischen Konsequenzen sich daraus ergeben und wie sich dies im klinischen Alltag etablieren lässt bleibt abzuwarten. Hervorzuheben ist die nach aktuellem Wissensstand fehlende circadiane Rhythmik, welche die Bestimmung des suPAR zu jedem Zeitpunkt ermöglicht (Riisbro et al. 2001). Zukünftig ist hierdurch möglicherweise eine exaktere Einteilung in Patienten mit einem niedrigen und einem hohen Risiko für erneute kardiovaskuläre Ereignisse möglich.

Mit zunehmendem Verständnis der Pathophysiologie und Bedeutung der Inflammation als eine Ursache der KHK bieten sich hier zukünftig unter Umständen auch Möglichkeiten einer Identifikation von Patienten, welche einer gezielteren und individualisierten antiinflammatorischen Therapie zugeführt werden könnten.

## **6. Zusammenfassung**

### **6.1 Deutsch**

Die koronare Herzkrankheit und die durch sie verursachten Todesfälle stellen eine bedeutende Krankheitslast in unserer Gesellschaft dar. Zur zielgerichteten Prävention ist es daher sinnvoll einen stabilen und von einer circadianen Rhythmik unabhängigen Biomarker zu identifizieren, welcher eine interindividuelle Risikostratifizierung erlaubt. Idealerweise sollte dieser Biomarker dabei möglichst unabhängig von bereits etablierten Biomarkern sein beziehungsweise die Aussagekraft zusammen mit den klassischen Risikofaktoren verbessern.

Ziel dieser Untersuchung war es den löslichen Urokinase-plasminogen aktivator Rezeptor (suPAR), daraufhin zu untersuchen, ob er sich als unabhängiger Biomarker eignet eine Risikostratifizierung über die klassischen Risikofaktoren hinaus zu ermöglichen. Hierzu wurden in einer Kohorte von n=1703 Patienten, welche eine koronarangiographisch nachgewiesene KHK aufwiesen, die Serumspiegel des suPAR vor Beginn einer etwaigen Therapie bestimmt. Dazu wurden bei Aufnahme in die Klinik und vor Beginn einer Therapie venöse Blutproben asserviert. Die Kohorte teilte sich dabei in 626 Patienten mit einem ACS und 1077 Patienten mit einer SAP auf.

Die Auswertungen der Untersuchung zeigten eine verlässliche Korrelation der initialen suPAR-Serumspiegel mit dem Risiko für erneute Myokardinfarkte oder Tod durch ein folgendes kardiovaskuläres Ereignis. Dabei zeigte sich diese Assoziation auch nach Adjustierung für die etablierten Biomarker hsTnI, CRP und NT-proBNP, sowie die klassischen Risikofaktoren Alter und Geschlecht, sowie aktiver Nikotinkonsum, Diabetes mellitus, BMI, Hypertonie und Dyslipoproteinämie.

Der lösliche Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor könnte somit als neuer prognostischer Biomarker für die Vorhersage unerwünschter erneuter kardialer Ereignisse dienen und daher hilfreich zur Planung einer gezielteren Sekundärprävention bei Patienten mit einer bekannten KHK sein.

## **6.2 English**

Coronary heart disease and the deaths it causes represent a significant burden of disease in our society. For targeted prevention, it therefore makes sense to identify a biochemical stable biomarker that is independent of a circadian rhythm, which allows inter-individual risk stratification. Ideally, this biomarker should be as independent as possible from already established biomarkers or improve the informative value together with the classical cardiovascular risk factors.

Aim of this investigation was to examine the soluble urokinase-plasminogen activator receptor (suPAR) to determine whether it is suitable as an independent biomarker to enable risk stratification beyond the classic risk factors. For this purpose, the serum levels of suPAR were determined in a cohort of n=1703 patients who had a coronary heart disease proven by coronary angiography before the start of any therapy. The venous blood samples were collected upon admission to the clinic and before the start of any therapy. The cohort was divided into 626 patients with acute coronary syndrome (ACS) and 1077 patients with stable angina pectoris (SAP).

The analyzes of the study showed a reliable correlation of the initial suPAR serum levels with the risk of renewed myocardial infarction or death from a subsequent cardiovascular event. This association was also shown after adjustment for the established biomarkers hsTnI, CRP and NT-proBNP, as well as the classic risk factors age and gender, as well as active nicotine consumption, diabetes mellitus, BMI, hypertension and dyslipoproteinemia. The soluble urokinase plasminogen activator receptor could thus serve as a new prognostic biomarker for the prediction of adverse cardiac recurrence events and therefore be helpful for planning a more targeted secondary prevention in patients with known CAD.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

Im Folgenden sind die in dieser Arbeit verwendeten Abkürzungen und Akronyme aufgeführt.

ACS	Akutes Koronarsyndrom
AP	Angina Pectoris
BMI	Body-mass index
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CRP	C-reaktives Protein
eGFR	geschätzte Glomeruläre Filtrationsrate
EKG	Elektrokardiogramm
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
hsTnI	hochsensitives Troponin I
IAP	Instabile Angina Pectoris
KHK	Koronare Herzkrankheit
NSTEMI	Nicht-ST-Streckenhebungsmyokardinfarkt
NT-proBNP	N-terminal brainnatriuretic peptide
PDGF	Platelet-derived growth factor
SAP	Stabile Angina Pectoris
SIRS	Systemic inflammatory response syndrom
STEMI	ST-Streckenhebungsmyokardinfarkt
suPAR	löslichen Urokinase-Plasminogen-Aktivator Rezeptor
uPA	Urokinase-Plaminosen-Aktivator

## 8. Literaturverzeichnis

- Adams, C. W. (1973) The pathogenesis of atherosclerosis. *J Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol)*, 5, 38-42.
- Agewall, S., Giannitsis, E., Jernberg, T. und Katus, H. (2011) Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J*, 32(4), 404-411.
- Alpert, J. S., Thygesen, K., Antman, E. und Bassand, J. P. (2000) Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 36(3), 959-969.
- Badimon, L. und Vilahur, G. (2014) Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *J Intern Med*, 276(6), 618-632.
- Bauersachs, R., Zeymer, U., Briere, J. B., Marre, C., Bowrin, K. und Huelsebeck, M. (2019) Burden of Coronary Artery Disease and Peripheral Artery Disease: A Literature Review. *Cardiovasc Ther*, 2019, 8295054.
- Benjamin, E. J., Virani, S. S., Callaway, C. W., Chamberlain, A. M., Chang, A. R., Cheng, S., Chiuve, S. E., Cushman, M., Delling, F. N., Deo, R., de Ferranti, S. D., Ferguson, J. F., Fornage, M., Gillespie, C., Isasi, C. R., Jimenez, M. C., Jordan, L. C., Judd, S. E., Lackland, D., Lichtman, J. H., Lisabeth, L., Liu, S., Longenecker, C. T., Lutsey, P. L., Mackey, J. S., Matchar, D. B., Matsushita, K., Mussolino, M. E., Nasir, K., O'Flaherty, M., Palaniappan, L. P., Pandey, A., Pandey, D. K., Reeves, M. J., Ritchey, M. D., Rodriguez, C. J., Roth, G. A., Rosamond, W. D., Sampson, U. K. A., Satou, G. M., Shah, S. H., Spartano, N. L., Tirschwell, D. L., Tsao, C. W., Voeks, J. H., Willey, J. Z., Wilkins, J. T., Wu, J. H., Alger, H. M., Wong, S. S., Muntner, P., American Heart Association Council on, E., Prevention Statistics, C. und Stroke Statistics, S. (2018) Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 137(12), e67-e492.
- Blankenberg, S., Rupprecht, H. J., Bickel, C., Torzewski, M., Hafner, G., Tiret, L., Smieja, M., Cambien, F., Meyer, J., Lackner, K. J. und AtheroGene, I. (2003) Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 349(17), 1605-1613.
- Böhm, A.-S. V. S. (2020) Auswirkungen der Statin- und Aspirin-Therapie auf thrombozytäre oxLDL-Spiegel bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung. Med. Dissertation. *Universität Tübingen*.
- Braunwald, E. (1989) Unstable angina. A classification. *Circulation*, 80(2), 410-414.
- Busch, M. A. und Kuhnert, R. (2017) 12-Monats-Prävalenz einer koronaren Herzkrankheit in Deutschland. in: Robert Koch-Institut, Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung.

- Carter, H. E., Schofield, D. und Shrestha, R. (2019) Productivity costs of cardiovascular disease mortality across disease types and socioeconomic groups. *Open Heart*, 6(1), e000939.
- Eapen, D. J., Manocha, P., Ghasemzadeh, N., Patel, R. S., Al Kassem, H., Hammadah, M., Veledar, E., Le, N. A., Pielak, T., Thorball, C. W., Velegraki, A., Kremastinos, D. T., Lerakis, S., Sperling, L. und Quyyumi, A. A. (2014) Soluble urokinase plasminogen activator receptor level is an independent predictor of the presence and severity of coronary artery disease and of future adverse events. *J Am Heart Assoc*, 3(5), e001118.
- Egger, M., Dieplinger, B. und Mueller, T. (2018) One-year in vitro stability of cardiac troponins and galectin-3 in different sample types. *Clin Chim Acta*, 476, 117-122.
- Fox, K. A., Carruthers, K. F., Dunbar, D. R., Graham, C., Manning, J. R., De Raedt, H., Buyschaert, I., Lambrechts, D. und Van de Werf, F. (2010) Underestimated and under-recognized: the late consequences of acute coronary syndrome (GRACE UK-Belgian Study). *Eur Heart J*, 31(22), 2755-2764.
- Fyfe, A. I., Qiao, J. H. und Lusic, A. J. (1994) Immune-deficient mice develop typical atherosclerotic fatty streaks when fed an atherogenic diet. *J Clin Invest*, 94(6), 2516-2520.
- Hansson, G. K. (2005) Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 352(16), 1685-1695.
- Hayek, S. S., Sever, S., Ko, Y. A., Trachtman, H., Awad, M., Wadhwani, S., Altintas, M. M., Wei, C., Hotton, A. L., French, A. L., Sperling, L. S., Lerakis, S., Quyyumi, A. A. und Reiser, J. (2015) Soluble Urokinase Receptor and Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med*, 373(20), 1916-1925.
- 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. und Huang, M. (2006) Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor. *Science*, 311(5761), 656-659.
- Karakas, M., Schulte, C., Appelbaum, S., Ojeda, F., Lackner, K. J., Munzel, T., Schnabel, R. B., Blankenberg, S. und Zeller, T. (2017) Circulating microRNAs strongly predict cardiovascular death in patients with coronary artery disease-results from the large AtheroGene study. *Eur Heart J*, 38(7), 516-523.
- Khafaji, H. A. und Suwaidi, J. M. (2014) Atypical presentation of acute and chronic coronary artery disease in diabetics. *World J Cardiol*, 6(8), 802-813.
- Khot, U. N., Khot, M. B., Bajzer, C. T., Sapp, S. K., Ohman, E. M., Brener, S. J., Ellis, S. G., Lincoff, A. M. und Topol, E. J. (2003) Prevalence of

- conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*, 290(7), 898-904.
- Kiyan, J., Kiyan, R., Haller, H. und Dumler, I. (2005) Urokinase-induced signaling in human vascular smooth muscle cells is mediated by PDGFR-beta. *EMBO J*, 24(10), 1787-1797.
- Knuuti, J., Wijns, W., Saraste, A., Capodanno, D., Barbato, E., Funck-Brentano, C., Prescott, E., Storey, R. F., Deaton, C., Cuisset, T., Agewall, S., Dickstein, K., Edvardsen, T., Escaned, J., Gersh, B. J., Svitil, P., Gilard, M., Hasdai, D., Hatala, R., Mahfoud, F., Masip, J., Muneretto, C., Valgimigli, M., Achenbach, S., Bax, J. J. und Group, E. S. C. S. D. (2020) 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J*, 41(3), 407-477.
- Koch, A., Voigt, S., Kruschinski, C., Sanson, E., Duckers, H., Horn, A., Yagmur, E., Zimmermann, H., Trautwein, C. und Tacke, F. (2011) Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients. *Crit Care*, 15(1), R63.
- Koyama, N., Morisaki, N., Saito, Y. und Yoshida, S. (1992) Regulatory effects of platelet-derived growth factor-AA homodimer on migration of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 267(32), 22806-22812.
- Lauer, B., Niederau, C., Kuhl, U., Schannwell, M., Pauschinger, M., Strauer, B. E. und Schultheiss, H. P. (1997) Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol*, 30(5), 1354-1359.
- Lester, R. D., Jo, M., Montel, V., Takimoto, S. und Gonias, S. L. (2007) uPAR induces epithelial-mesenchymal transition in hypoxic breast cancer cells. *J Cell Biol*, 178(3), 425-436.
- Leuzzi, C. und Modena, M. G. (2010) Coronary artery disease: clinical presentation, diagnosis and prognosis in women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 20(6), 426-435.
- Libby, P., Ridker, P. M. und Maseri, A. (2002) Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105(9), 1135-1143.
- Libby, P. und Theroux, P. (2005) Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*, 111(25), 3481-3488.
- Linton, M. R. F., Yancey, P. G., Davies, S. S., Jerome, W. G., Linton, E. F., Song, W. L., Doran, A. C. und Vickers, K. C. (2000) The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. in Feingold, K. R., Anawalt, B., Boyce, A., Chrousos, G., de Herder, W. W., Dhatariya, K., Dungan, K., Hershman, J. M., Hofland, J., Kalra, S., Kaltsas, G., Koch, C., Kopp, P., Korbonits, M., Kovacs, C. S., Kuohung, W., Laferrere, B., Levy, M., McGee, E. A., McLachlan, R., Morley, J. E., New, M., Purnell, J., Sahay, R., Singer, F.,

- Sperling, M. A., Stratakis, C. A., Trence, D. L. und Wilson, D. P., (eds.) *Endotext*, South Dartmouth (MA).
- Liu, D., Aguirre Ghiso, J., Estrada, Y. und Ossowski, L. (2002) EGFR is a transducer of the urokinase receptor initiated signal that is required for in vivo growth of a human carcinoma. *Cancer Cell*, 1(5), 445-457.
- Lyngbaek, S., Marott, J. L., Moller, D. V., Christiansen, M., Iversen, K. K., Clemmensen, P. M., Eugen-Olsen, J., Jeppesen, J. L. und Hansen, P. R. (2012) Usefulness of soluble urokinase plasminogen activator receptor to predict repeat myocardial infarction and mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous intervention. *Am J Cardiol*, 110(12), 1756-1763.
- Mann, J. F., Gerstein, H. C., Pogue, J., Bosch, J. und Yusuf, S. (2001) Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med*, 134(8), 629-636.
- Masson, S., Anand, I., Favero, C., Barlera, S., Vago, T., Bertocchi, F., Maggioni, A. P., Tavazzi, L., Tognoni, G., Cohn, J. N., Latini, R., Valsartan Heart Failure, T. und Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Insufficienza Cardiaca-Heart Failure, I. (2012) Serial measurement of cardiac troponin T using a highly sensitive assay in patients with chronic heart failure: data from 2 large randomized clinical trials. *Circulation*, 125(2), 280-288.
- McGill, H. C., Jr., McMahan, C. A., Zieske, A. W., Tracy, R. E., Malcom, G. T., Herderick, E. E. und Strong, J. P. (2000) Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation*, 102(4), 374-379.
- Montuori, N. und Ragno, P. (2009) Multiple activities of a multifaceted receptor: roles of cleaved and soluble uPAR. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 14, 2494-2503.
- Morrow, D. A., Cannon, C. P., Jesse, R. L., Newby, L. K., Ravkilde, J., Storrow, A. B., Wu, A. H., Christenson, R. H., Apple, F. S., Francis, G., Tang, W. und National Academy of Clinical, B. (2007) National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Clin Chem*, 53(4), 552-574.
- Parmacek, M. S. und Solaro, R. J. (2004) Biology of the troponin complex in cardiac myocytes. *Prog Cardiovasc Dis*, 47(3), 159-176.
- Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A. L., Cooney, M. T., Corra, U., Cosyns, B., Deaton, C., Graham, I., Hall, M. S., Hobbs, F. D. R., Lochen, M. L., Lollgen, H., Marques-Vidal, P., Perk, J., Prescott, E., Redon, J., Richter, D. J., Sattar, N., Smulders, Y., Tiberi, M., van der Worp, H. B., van Dis, I., Verschuren, W. M. M., Binno, S. und Group, E. S. C. S. D. (2016) 2016 European Guidelines on cardiovascular

- disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J*, 37(29), 2315-2381.
- Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M., Douidi, M., Baradaran, A. und Nasri, H. (2014) Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med*, 5(8), 927-946.
- Resnati, M., Pallavicini, I., Wang, J. M., Oppenheim, J., Serhan, C. N., Romano, M. und Blasi, F. (2002) The fibrinolytic receptor for urokinase activates the G protein-coupled chemotactic receptor FPRL1/LXA4R. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(3), 1359-1364.
- Riisbro, R., Christensen, I. J., Hogdall, C., Brunner, N. und Hogdall, E. (2001) Soluble urokinase plasminogen activator receptor measurements: influence of sample handling. *Int J Biol Markers*, 16(4), 233-239.
- Roffi, M., Patrono, C., Collet, J. P., Mueller, C., Valgimigli, M., Andreotti, F., Bax, J. J., Borger, M. A., Brotons, C., Chew, D. P., Gencer, B., Hasenfuss, G., Kjeldsen, K., Lancellotti, P., Landmesser, U., Mehilli, J., Mukherjee, D., Storey, R. F. und Windecker, S. (2016) [2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC)]. *G Ital Cardiol (Rome)*, 17(10), 831-872.
- Ross, R. (1999) Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340(2), 115-126.
- Saleh, M. und Ambrose, J. A. (2018) Understanding myocardial infarction. *F1000Res*, 7.
- Short, L., La, V. T., Patel, M. und Pai, R. G. (2022) Primary and Secondary Prevention of CAD: A Review. *Int J Angiol*, 31(1), 16-26.
- Sorensen, N. A., Nikorowitsch, J., Neumann, J. T., Rubsamen, N., Gossling, A., Hartikainen, T. S., Blankenberg, S., Westermann, D., Zeller, T. und Karakas, M. (2019) Predictive value of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor for mortality in patients with suspected myocardial infarction. *Clin Res Cardiol*, 108(12), 1386-1393.
- Stone, N. J., Robinson, J. G., Lichtenstein, A. H., Bairey Merz, C. N., Blum, C. B., Eckel, R. H., Goldberg, A. C., Gordon, D., Levy, D., Lloyd-Jones, D. M., McBride, P., Schwartz, J. S., Shero, S. T., Smith, S. C., Jr., Watson, K., Wilson, P. W. und American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice, G. (2014) 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular

- risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 63(25 Pt B), 2889-2934.
- Taleb, S. (2016) Inflammation in atherosclerosis. *Arch Cardiovasc Dis*, 109(12), 708-715.
- Task Force, M., Montalescot, G., Sechtem, U., Achenbach, S., Andreotti, F., Arden, C., Budaj, A., Bugiardini, R., Crea, F., Cuisset, T., Di Mario, C., Ferreira, J. R., Gersh, B. J., Gitt, A. K., Hulot, J. S., Marx, N., Opie, L. H., Pfisterer, M., Prescott, E., Ruschitzka, F., Sabate, M., Senior, R., Taggart, D. P., van der Wall, E. E., Vrints, C. J., Guidelines, E. S. C. C. f. P., Zamorano, J. L., Achenbach, S., Baumgartner, H., Bax, J. J., Bueno, H., Dean, V., Deaton, C., Erol, C., Fagard, R., Ferrari, R., Hasdai, D., Hoes, A. W., Kirchhof, P., Knuuti, J., Kolh, P., Lancellotti, P., Linhart, A., Nihoyannopoulos, P., Piepoli, M. F., Ponikowski, P., Sirnes, P. A., Tamargo, J. L., Tendera, M., Torbicki, A., Wijns, W., Windecker, S., Document, R., Knuuti, J., Valgimigli, M., Bueno, H., Claeys, M. J., Donner-Banzhoff, N., Erol, C., Frank, H., Funck-Brentano, C., Gaemperli, O., Gonzalez-Juanatey, J. R., Hamilos, M., Hasdai, D., Husted, S., James, S. K., Kervinen, K., Kolh, P., Kristensen, S. D., Lancellotti, P., Maggioni, A. P., Piepoli, M. F., Pries, A. R., Romeo, F., Ryden, L., Simoons, M. L., Sirnes, P. A., Steg, P. G., Timmis, A., Wijns, W., Windecker, S., Yildirir, A. und Zamorano, J. L. (2013) 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 34(38), 2949-3003.
- Thuno, M., Macho, B. und Eugen-Olsen, J. (2009) suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers*, 27(3), 157-172.
- Thygesen, K., Alpert, J. S., Jaffe, A. S., Chaitman, B. R., Bax, J. J., Morrow, D. A., White, H. D. und Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology /American College of Cardiology /American Heart Association /World Heart Federation Task Force for the Universal Definition of Myocardial, I. (2018) Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *J Am Coll Cardiol*, 72(18), 2231-2264.
- Torre, M. und Jarolim, P. (2015) Cardiac troponin assays in the management of heart failure. *Clin Chim Acta*, 441, 92-98.
- Tummalapalli, L., Nadkarni, G. N. und Coca, S. G. (2016) Biomarkers for predicting outcomes in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 25(6), 480-486.
- Wang, H., Naghavi, M., Allen, C., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Carter, A., Casey, D. C., Charlson, F. J., Chen, A. Z., Coates, M. M., Coggeshall, M., Dandona, L., Dicker, D. J., Erskine, H. E., Ferrari, A. J., Fitzmaurice, C., Foreman, K., Forouzanfar, M. H., Fraser, M. S., Fullman, N., Gething, P. W., Goldberg, E. M., Graetz, N., Haagsma, J. A., Hay, S. I., Huynh, C., Johnson, C. O., Kassebaum, N. J., Kinfu, Y., Kulikoff, X. R., Kutz, M., Kyu,

H. H., Larson, H. J., Leung, J., Liang, X., Lim, S. S., Lind, M., Lozano, R., Marquez, N., Mensah, G. A., Mikesell, J., Mokdad, A. H., Mooney, M. D., Nguyen, G., Nsoesie, E., Pigott, D. M., Pinho, C., Roth, G. A., Salomon, J. A., Sandar, L., Silpakit, N., Sligar, A., Sorensen, R. J. D., Stanaway, J., Steiner, C., Teeple, S., Thomas, B. A., Troeger, C., VanderZanden, A., Vollset, S. E., Wanga, V., Whiteford, H. A., Wolock, T., Zoeckler, L., Abate, K. H., Abbafati, C., Abbas, K. M., Abd-Allah, F., Abera, S. F., Abreu, D. M. X., Abu-Raddad, L. J., Abyu, G. Y., Achoki, T., Adelekan, A. L., Ademi, Z., Adou, A. K., Adsuar, J. C., Afanvi, K. A., Afshin, A., Agardh, E. E., Agarwal, A., Agrawal, A., Kiadaliri, A. A., Ajala, O. N., Akanda, A. S., Akinyemi, R. O., Akinyemiju, T. F., Akseer, N., Lami, F. H. A., Alabed, S., Al-Aly, Z., Alam, K., Alam, N. K. M., Alasfoor, D., Aldahri, S. F., Aldridge, R. W., Alegretti, M. A., Aleman, A. V., Alemu, Z. A., Alexander, L. T., Alhabib, S., Ali, R., Alkerwi, A. a., Alla, F., Allebeck, P., Al-Raddadi, R., Alsharif, U., Altirkawi, K. A., Martin, E. A., Alvis-Guzman, N., Amare, A. T., Amegah, A. K., Ameh, E. A., Amini, H., Ammar, W., Amrock, S. M., Andersen, H. H., Anderson, B. O., Anderson, G. M., Antonio, C. A. T., Aregay, A. F., Ärnlöv, J., Arsenijevic, V. S. A., Artaman, A., Asayesh, H., Asghar, R. J., Atique, S., Avokpaho, E. F. G. A., Awasthi, A., Azzopardi, P., Bacha, U., Badawi, A., Bahit, M. C., Balakrishnan, K., Banerjee, A., Barac, A., Barker-Collo, S. L., Bärnighausen, T., Barregard, L., Barrero, L. H., Basu, A., Basu, S., Bayou, Y. T., Bazargan-Hejazi, S., Beardsley, J., Bedi, N., Beghi, E., Belay, H. A., Bell, B., Bell, M. L., Bello, A. K., Bennett, D. A., Bensenor, I. M., Berhane, A., Bernabé, E., Betsu, B. D., Beyene, A. S., Bhala, N., Bhalla, A., Biadgilign, S., Bikbov, B., Abdulhak, A. A. B., Biroscak, B. J., Biryukov, S., Bjertness, E., Blore, J. D., Blosser, C. D., Bohensky, M. A., Borschmann, R., Bose, D., Bourne, R. R. A., Brainin, M., Brayne, C. E. G., Brazinova, A., Breitborde, N. J. K., Brenner, H., Brewer, J. D., Brown, A., Brown, J., Brugha, T. S., Buckle, G. C., Butt, Z. A., Calabria, B., Campos-Nonato, I. R., Campuzano, J. C., Carapetis, J. R., Cárdenas, R., Carpenter, D. O., Carrero, J. J., Castañeda-Orjuela, C. A., Rivas, J. C., Catalá-López, F., Cavalleri, F., Cercy, K., Cerda, J., Chen, W., Chew, A., Chiang, P. P.-C., Chibalabala, M., Chibueze, C. E., Chimed-Ochir, O., Chisumpa, V. H., Choi, J.-Y. J., Chowdhury, R., Christensen, H., Christopher, D. J., Ciobanu, L. G., Cirillo, M., Cohen, A. J., Colistro, V., Colomar, M., Colquhoun, S. M., Cooper, C., Cooper, L. T., Cortinovis, M., Cowie, B. C., Crump, J. A., Damsere-Derry, J., Danawi, H., Dandona, R., Daoud, F., Darby, S. C., Dargan, P. I., das Neves, J., Davey, G., Davis, A. C., Davitoiu, D. V., de Castro, E. F., de Jager, P., Leo, D. D., Degenhardt, L., Dellavalle, R. P., Deribe, K., Deribew, A., Dharmaratne, S. D., Dhillon, P. K., Diaz-Torné, C., Ding, E. L., dos Santos, K. P. B., Dossou, E., Driscoll, T. R., Duan, L., Dubey, M., Duncan, B. B., Ellenbogen, R. G., Ellingsen, C. L., Elyazar, I., Endries, A. Y., Ermakov, S. P., Eshrati, B., Esteghamati, A., Estep, K., Faghmous, I. D. A., Fahimi, S., Faraon, E. J. A., Farid, T. A., Farinha, C. S. e. S., Faro, A., Farvid, M. S., Farzadfar, F., Feigin, V. L., Fereshtehnejad, S.-M., Fernandes, J. G., Fernandes, J. C., Fischer, F., Fitchett, J. R. A., Flaxman, A., Foigt, N., Fowkes, F. G. R., Franca, E. B., Franklin, R. C., Friedman, J., Frostad, J., Fürst, T., Futran, N. D., Gall, S. L., Gambashidze, K., Gamkrelidze, A., Ganguly, P., Gankpé, F. G., Gebre, T., Gebrehiwot, T. T., Gebremedhin, A. T., Gebru, A. A., Geleijnse, J. M., Gessner, B. D., Ghoshal, A. G., Gibney, K. B., Gillum, R. F., Gilmour, S., Giref, A. Z.,

Giroud, M., Gishu, M. D., Giussani, G., Glaser, E., Godwin, W. W., Gomez-Dantes, H., Gona, P., Goodridge, A., Gopalani, S. V., Gosselin, R. A., Gotay, C. C., Goto, A., Gouda, H. N., Greaves, F., Gugnani, H. C., Gupta, R., Gupta, R., Gupta, V., Gutiérrez, R. A., Hafezi-Nejad, N., Haile, D., Hailu, A. D., Hailu, G. B., Halasa, Y. A., Hamadeh, R. R., Hamidi, S., Hancock, J., Handal, A. J., Hankey, G. J., Hao, Y., Harb, H. L., Harikrishnan, S., Haro, J. M., Havmoeller, R., Heckbert, S. R., Heredia-Pi, I. B., Heydarpour, P., Hilderink, H. B. M., Hoek, H. W., Hogg, R. S., Horino, M., Horita, N., Hosgood, H. D., Hotez, P. J., Hoy, D. G., Hsairi, M., Htet, A. S., Htike, M. M. T., Hu, G., Huang, C., Huang, H., Huiart, L., Husseini, A., Huybrechts, I., Huynh, G., Iburg, K. M., Innos, K., Inoue, M., Iyer, V. J., Jacobs, T. A., Jacobsen, K. H., Jahanmehr, N., Jakovljevic, M. B., James, P., Javanbakht, M., Jayaraman, S. P., Jayatilleke, A. U., Jeemon, P., Jensen, P. N., Jha, V., Jiang, G., Jiang, Y., Jibat, T., Jimenez-Corona, A., Jonas, J. B., Joshi, T. K., Kabir, Z., Kamal, R., Kan, H., Kant, S., Karch, A., Karema, C. K., Karimkhani, C., Karletsos, D., Karthikeyan, G., Kasaeian, A., Katibeh, M., Kaul, A., Kawakami, N., Kayibanda, J. F., Keiyoro, P. N., Kemmer, L., Kemp, A. H., Kengne, A. P., Keren, A., Kereselidze, M., Kesavachandran, C. N., Khader, Y. S., Khalil, I. A., Khan, A. R., Khan, E. A., Khang, Y.-H., Khera, S., Khoja, T. A. M., Kieling, C., Kim, D., Kim, Y. J., Kissela, B. M., Kisson, N., Knibbs, L. D., Knudsen, A. K., Kokubo, Y., Kolte, D., Kopec, J. A., Kosen, S., Koul, P. A., Koyanagi, A., Krog, N. H., Defo, B. K., Bicer, B. K., Kudom, A. A., Kuipers, E. J., Kulkarni, V. S., Kumar, G. A., Kwan, G. F., Lal, A., Lal, D. K., Laloo, R., Lallukka, T., Lam, H., Lam, J. O., Langan, S. M., Lansingh, V. C., Larsson, A., Laryea, D. O., Latif, A. A., Lawrynowicz, A. E. B., Leigh, J., Levi, M., Li, Y., Lindsay, M. P., Lipshultz, S. E., Liu, P. Y., Liu, S., Liu, Y., Lo, L.-T., Logroscino, G., Lotufo, P. A., Lucas, R. M., Lunevicius, R., Lyons, R. A., Ma, S., Machado, V. M. P., Mackay, M. T., MacLachlan, J. H., Razek, H. M. A. E., Magdy, M., Razek, A. E., Majdan, M., Majeed, A., Malekzadeh, R., Manamo, W. A. A., Mandisarisa, J., Mangalam, S., Mapoma, C. C., Marcenes, W., Margolis, D. J., Martin, G. R., Martinez-Raga, J., Marzan, M. B., Masiye, F., Mason-Jones, A. J., Massano, J., Matzopoulos, R., Mayosi, B. M., McGarvey, S. T., McGrath, J. J., McKee, M., McMahan, B. J., Meaney, P. A., Mehari, A., Mehndiratta, M. M., Mejia-Rodriguez, F., Mekonnen, A. B., Melaku, Y. A., Memiah, P., Memish, Z. A., Mendoza, W., Meretoja, A., Meretoja, T. J., Mhimbira, F. A., Micha, R., Millea, A., Miller, T. R., Mirarefin, M., Misganaw, A., Mock, C. N., Mohammad, K. A., Mohammadi, A., Mohammed, S., Mohan, V., Mola, G. L. D., Monasta, L., Hernandez, J. C. M., Montero, P., Montico, M., Montine, T. J., Moradi-Lakeh, M., Morawska, L., Morgan, K., Mori, R., Mozaffarian, D., Mueller, U. O., Murthy, G. V. S., Murthy, S., Musa, K. I., Nachega, J. B., Nagel, G., Naidoo, K. S., Naik, N., Naldi, L., Nangia, V., Nash, D., Nejjari, C., Neupane, S., Newton, C. R., Newton, J. N., Ng, M., Ngalesoni, F. N., de Dieu Ngirabega, J., Nguyen, Q. L., Nisar, M. I., Pete, P. M. N., Nomura, M., Norheim, O. F., Norman, P. E., Norrving, B., Nyakarahuka, L., Ogbo, F. A., Ohkubo, T., Ojelabi, F. A., Olivares, P. R., Olusanya, B. O., Olusanya, J. O., Opio, J. N., Oren, E., Ortiz, A., Osman, M., Ota, E., Ozdemir, R., Pa, M., Pain, A., Pandian, J. D., Pant, P. R., Papachristou, C., Park, E.-K., Park, J.-H., Parry, C. D., Parsaeian, M., Caicedo, A. J. P., Patten, S. B., Patton, G. C., Paul, V. K., Pearce, N., Pedro, J. M., Stokic, L. P., Pereira, D. M., Perico, N., Pesudovs, K., Petzold,

M., Phillips, M. R., Piel, F. B., Pillay, J. D., Plass, D., Platts-Mills, J. A., Polinder, S., Pope, C. A., Popova, S., Poulton, R. G., Pourmalek, F., Prabhakaran, D., Qorbani, M., Quame-Amaglo, J., Quistberg, D. A., Rafay, A., Rahimi, K., Rahimi-Movaghar, V., Rahman, M., Rahman, M. H. U., Rahman, S. U., Rai, R. K., Rajavi, Z., Rajsic, S., Raju, M., Rakovac, I., Rana, S. M., Ranabhat, C. L., Rangaswamy, T., Rao, P., Rao, S. R., Refaat, A. H., Rehm, J., Reitsma, M. B., Remuzzi, G., Resnikoff, S., Ribeiro, A. L., Ricci, S., Blancas, M. J. R., Roberts, B., Roca, A., Rojas-Rueda, D., Ronfani, L., Roshandel, G., Rothenbacher, D., Roy, A., Roy, N. K., Ruhago, G. M., Sagar, R., Saha, S., Sahathevan, R., Saleh, M. M., Sanabria, J. R., Sanchez-Niño, M. D., Sanchez-Riera, L., Santos, I. S., Sarmiento-Suarez, R., Sartorius, B., Satpathy, M., Savic, M., Sawhney, M., Schaub, M. P., Schmidt, M. I., Schneider, I. J. C., Schöttker, B., Schutte, A. E., Schwebel, D. C., Seedat, S., Sepanlou, S. G., Servan-Mori, E. E., Shackelford, K. A., Shaddick, G., Shaheen, A., Shahraz, S., Shaikh, M. A., Shakh-Nazarova, M., Sharma, R., She, J., Sheikhabaei, S., Shen, J., Shen, Z., Shepard, D. S., Sheth, K. N., Shetty, B. P., Shi, P., Shibuya, K., Shin, M.-J., Shiri, R., Shiue, I., Shrimme, M. G., Sigfusdottir, I. D., Silberberg, D. H., Silva, D. A. S., Silveira, D. G. A., Silverberg, J. I., Simard, E. P., Singh, A., Singh, G. M., Singh, J. A., Singh, O. P., Singh, P. K., Singh, V., Soneji, S., Søreide, K., Soriano, J. B., Sposato, L. A., Sreeramareddy, C. T., Stathopoulou, V., Stein, D. J., Stein, M. B., Stranges, S., Stroumpoulis, K., Sunguya, B. F., Sur, P., Swaminathan, S., Sykes, B. L., Szoeki, C. E. I., Tabarés-Seisdedos, R., Tabb, K. M., Takahashi, K., Takala, J. S., Talongwa, R. T., Tandon, N., Tavakkoli, M., Taye, B., Taylor, H. R., Ao, B. J. T., Tedla, B. A., Tefera, W. M., Have, M. T., Terkawi, A. S., Tesfay, F. H., Tessema, G. A., Thomson, A. J., Thorne-Lyman, A. L., Thrift, A. G., Thurston, G. D., Tillmann, T., Tirschwell, D. L., Tonelli, M., Topor-Madry, R., Topouzis, F., Towbin, J. A., Traebert, J., Tran, B. X., Truelsen, T., Trujillo, U., Tura, A. K., Tuzcu, E. M., Uchendu, U. S., Ukwaja, K. N., Undurraga, E. A., Uthman, O. A., Dingenen, R. V., van Donkelaar, A., Vasankari, T., Vasconcelos, A. M. N., Venketasubramanian, N., Vidavalur, R., Vijayakumar, L., Villalpando, S., Violante, F. S., Vlassov, V. V., Wagner, J. A., Wagner, G. R., Wallin, M. T., Wang, L., Watkins, D. A., Weichenthal, S., Weiderpass, E., Weintraub, R. G., Werdecker, A., Westerman, R., White, R. A., Wijeratne, T., Wilkinson, J. D., Williams, H. C., Wiysonge, C. S., Woldeyohannes, S. M., Wolfe, C. D. A., Won, S., Wong, J. Q., Woolf, A. D., Xavier, D., Xiao, Q., Xu, G., Yakob, B., Yalew, A. Z., Yan, L. L., Yano, Y., Yaseri, M., Ye, P., Yebyo, H. G., Yip, P., Yirsaw, B. D., Yonemoto, N., Yonga, G., Younis, M. Z., Yu, S., Zaidi, Z., Zaki, M. E. S., Zannad, F., Zavala, D. E., Zeeb, H., Zeleke, B. M., Zhang, H., Zodpey, S., Zonies, D., Zuhlke, L. J., Vos, T., Lopez, A. D. und Murray, C. J. L. (2016) Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1459-1544.

Wei, Y., Lukashev, M., Simon, D. I., Bodary, S. C., Rosenberg, S., Doyle, M. V. und Chapman, H. A. (1996) Regulation of integrin function by the urokinase receptor. *Science*, 273(5281), 1551-1555.

Yayan, J. (2013) Emerging families of biomarkers for coronary artery disease: inflammatory mediators. *Vasc Health Risk Manag*, 9, 435-456.

## **9. Tabellenverzeichnis**

Tabelle 4-1: Patientencharakteristika	23
Tabelle 4-2: Verteilung der kardiovaskulären Ereignisse auf die Subgruppen	24

## **10. Erklärung des Eigenanteils**

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

- Mitwirkung bei der Planung und Durchführung laborchemischer Analysen
- Assistenz bei der Erstellung der Datentabelle
- Literaturrecherche
- Verfassung der Dissertationsschrift und Unterstützung bei der Verfassung der Publikation

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

- Konzeptionierung und Durchführung der AtheroGene Studie
- Statistische Auswertung der Daten
- Einreichung der Publikation und Anpassungen gemäß den Anforderungen des Peer-Review Verfahren

## 11. Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei allen, die mich während der Anfertigung der Dissertation und der Publikation tatkräftig unterstützt haben bedanken.

Zuerst möchte ich Herrn PD Dr. Dr. **Mahir Karakas** für die Bereitstellung des Themas, sowie die Unterstützung durch die Klinik und Poliklinik für Kardiologie bedanken. Ihm gilt auch mein aufrichtiger Dank für die fachliche Kritik und Denkanstöße.

Daneben gilt mein Dank auch Frau Prof. Dr. rer. nat. **Tanja Zeller**, sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Cardiovascular Research Center am Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf. Insbesondere die fachlichen Austausche und die Fortbildungen war bei der hier vorliegenden Arbeit eine Quelle der Inspiration und eine große Hilfe. Mein besonderer Dank gilt **Kirstin Geppert** für die große Geduld bei der Einführung in die verschiedenen Labortechniken.

Mein weiterer Dank gilt neben Dr. med. **Eike Tigges** und PD Dr. med. **Sebastian Bohnen** auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Epidemiologischen Studienzentrums für die Einführung in die Durchführung epidemiologischer und klinischer Studien.

Mein Dank gilt auch Dr. med. **Julius Nikorowitsch** und allen weiteren Beteiligten an der Publikation für die großartige Zusammenarbeit und Unterstützung. Das **Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie** möchte ich hierbei nicht unerwähnt lassen.

Auch für die Rücksichtnahme meiner Kolleginnen und Kollegen, sowie meiner Vorgesetzten, die mir das weitere Arbeiten an meiner Dissertation trotz der Vollzeittätigkeit ermöglicht haben, möchte ich mich herzlich bedanken.

Zu guter Letzt möchte ich meinen **Eltern** für die Unterstützung danken. Hierbei soll meine **Ehefrau** nicht unerwähnt bleiben, die neben mentaler Unterstützung auch stets meine größte Kritikerin war und mir geholfen hat diesen Weg erfolgreich zu Ende zu gehen.

## **12. Lebenslauf**

Lebenslauf aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten.

### **13. Eidesstattliche Erklärung**

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: .....