

Aus der Abteilung Kardiologie und Pneumologie
(Prof. Dr. med. G. Hasenfuß)
im Zentrum Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Wertigkeit neuer kardiovaskulärer Biomarker zur Prädiktion
kardiovaskulärer Ereignisse und der Mortalität bei Patienten mit akuter
zerebraler Ischämie**

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
CORD-FRIEDRICH NIEHAUS
aus Vechta

Göttingen 2012

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter: PD Dr. med. R. Wachter

II. Berichterstatter: Prof. Dr. sc. hum. T. Friede

Tag der mündlichen Prüfung: 25.06.2013

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Der Schlaganfall.....	1
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Pathologie des Schlaganfalls und Ätiologie nach TOAST	2
1.1.3	Sekundärprävention	4
1.1.3.1	Modifikation von Risikofaktoren.....	4
1.1.3.2	Thrombozytenfunktionshemmung und Antikoagulation	5
1.1.4	Langzeitprognose nach ischämischem Schlaganfall.....	6
1.2	Die Biomarker.....	9
1.2.1	H-FABP	9
1.2.2	GDF-15	11
1.2.3	hsTropT.....	13
1.2.4	Natriuretische Peptide	14
1.2.4.1	Entstehung und Sezernierung.....	14
1.2.4.2	Funktion und Elimination	15
1.2.4.3	Natriuretische Peptide in Klinik und Wissenschaft	16
2	Material und Methoden	18
2.1	Studiendesign	18
2.2	Patientenaufnahme	18
2.2.1	Patientenkollektiv.....	18
2.2.2	Datenerhebung während der Aufnahme	19
2.2.3	Datenerhebung während der Entlassung.....	20
2.2.4	Bestimmung der Biomarker	21

2.2.4.1	Bestimmung des hsTropT	21
2.2.4.2	Bestimmung des H-FABP	22
2.2.4.3	Bestimmung des GDF-15	22
2.2.4.4	Bestimmung des NTproBNP	23
2.2.4.5	Bestimmung des proANP	23
2.3	Das 90-Tage-Telefon-Follow-up	23
2.4	Das 1-Jahres-Follow-up	25
2.5	Statistische Verfahren	26
3	Ergebnisse	29
3.1	Die neuen kardialen Biomarker in der univariaten Regressionsanalyse	32
3.2	Die neuen kardialen Biomarker in der multivariaten Regressionsanalyse.....	32
3.3	Detaillierte statistische Analyse des hsTropT	32
3.3.1	Die Bedeutung der hsTropT-Konzentration im Serum für das Eintreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses	33
3.3.2	Die Bedeutung der hsTropT-Konzentration im Serum für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache.....	39
4	Diskussion	45
4.1	Ausgewählte Biomarker, die eine Risikostratifizierung für das Eintreten eines BKEs oder des Todes jeglicher Ursache ermöglichen	45
4.2	Die Bedeutung des hsTropT für die Prognose nach einem Jahr	47
4.3	Die Ursachen der Troponin-T-Erhöhung	50
4.4	Die klinische Bedeutung der Studienergebnisse	52
4.5	Die Vorzüge und Einschränkungen der Studie	53
5	Zusammenfassung.....	56
6	Literaturverzeichnis.....	57

Abkürzungsverzeichnis

ANP	atrial natriuretic peptide
ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
AUC	area under the curve
BKE	bedeutendes kardiovaskuläres Ereignis
BMI	Body-mass-Index
BNP	brain natriuretic peptide
CAPRIE-Studie	Clopidogrel vs. Aspirin study in patients at risk of ischemic events
cGMP	zyklisches 3',5'-Guanosinmonophosphat
CI	Konfidenzintervall
CRP	C-reaktives Protein
C-Statistik	concordance-statistic
CT	Computertomographie
cTnT	kardiales Troponin T
EDTA	ethylene diamine tetraacetic acid
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ESRS	Essen Stroke Risk Score
FABP	fatty acid binding protein
Find-AF	biomarker-supported detection of paroxysmal atrial fibrillation in patients with cerebral ischemia
GDF-15	growth differentiation factor-15
HbA _{1c}	Glykohämoglobin
HDL-Cholesterin	high density lipoprotein-cholesterol
H-FABP	heart-type fatty acid binding protein
hsTropT	high-sensitive troponin T
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems-10
IDI	Integrated Discrimination Index
INR	international normalized ratio

ISRCTN	International Standard Randomised Controlled Trial Number
kDa	Kilodalton
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL-Cholesterin	low density lipoprotein-cholesterol
LPS	Lipopolysaccharide
LV-EF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MRS	Modified Rankin Scale
MRT	Magnetresonanztomographie
NIH-SS	National Institute of Health Stroke Scale
NoMaSS	Northern Manhattan Stroke Study
NRI	Net Reclassification Index
NSTEMI	non-ST-elevation myocardial infarction
NTproBNP	N-terminales Prohormon des BNP
NYHA	New York Heart Association
pAVK	peripher-arterielle Verschlusskrankheit
präproBNP	Vorläuferprotein des proBNP
proANP	Prohormon des ANP
proBNP	Prohormon des BNP
QVSS	Questionnaire for Verifying Stroke-free Status
REACH-Register	Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry
ROC-AUC	area under the receiver operating characteristic curve
ROC-Kurve	receiver operating characteristic curve
SPI-II	Stroke Prognosis Instrument II
TIA	transitorische ischämische Attacke
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TOAST	Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment
Troponin C	Kalzium-bindendes Troponin
Troponin I	inhibitorisches Troponin
Troponin T	Tropomyosin-bindendes Troponin
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
UK-TIA-Aspirin-Studie	United Kingdom Transient Ischemic Attack Aspirin Trial
WEST-Studie	Women's Estrogen for Stroke Trial

1 Einleitung

Die präzise Vorhersage der Langzeitentwicklung eines Patienten mit ischämischem Schlaganfall ist von großer Bedeutung sowohl in der klinischen Routinebehandlung für den Patienten und seine Therapeuten als auch in der Forschung. Etablierte Modelle, die anhand klinischer Faktoren eine Aussage über die Prognose nach Schlaganfällen machen, ermöglichen unter Umständen keine gezielte Vorhersage im Einzelfall (Whiteley et al. 2009).

Biomarker könnten im Zusammenhang mit akuten Schlaganfällen ein geeignetes Instrument sein, um diese mangelnde Vorhersagekraft zu verbessern. Daher ist es das Ziel dieser Arbeit, die prognostische Wertigkeit ausgewählter Biomarker für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache und für das Auftreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses (BKE) innerhalb eines Jahres nach einer stattgehabten zerebralen Ischämie zu untersuchen. Unter BKE werden ein erneuter Schlaganfall, das akute Koronarsyndrom sowie der Tod kardiovaskulärer Ursache zusammengefasst.

1.1 Der Schlaganfall

1.1.1 Epidemiologie

Gemäß den Daten der *World Health Organisation* sind 30% der globalen Todesfälle auf eine kardiovaskuläre Erkrankung zurückzuführen. Innerhalb dieser Gruppe stellt der Schlaganfall mit 29%, nach kardialen Ischämien die zweithäufigste Todesursache dar. Da ein zerebraler Insult die häufigste Ursache dauerhafter Behinderungen ist, werden sowohl die Angehörigen als auch die gesamte Gesellschaft durch diese Erkrankung mit immensen persönlichen und finanziellen Herausforderungen konfrontiert (Mendis et al. 2011).

2011 veröffentlichte die *American Heart Association* aktualisierte Daten zur Epidemiologie des Schlaganfalls in den Vereinigten Staaten (Roger et al. 2011). Demnach liegt die Prävalenz des Apoplex bei über 20jährigen Amerikanern bei 7.000.000. Dies entspricht 3%. Die jährliche Inzidenz beträgt ≈ 795.000 Menschen, die einen Schlaganfall erleiden. 610.000 erleiden die erste Attacke, 185.000 einen Reapoplex. 87% dieser Schlaganfälle haben eine ischämische Ursache, sind also auf eine Minderperfusion des Gewebes zurückzuführen. Bei 10% handelt es sich um intrazerebrale Blutungen, bei 3% um eine Subarachnoidalblutung.

Die durch Schlaganfälle verursachte Mortalität lag 2007 in den USA bei ≈ 136.000 Menschen. Damit stellt der Schlaganfall immer noch die dritthäufigste Todesursache dar, obwohl vorläufige Daten auf der Grundlage der aktuellsten Version des ICD-10 nahe legen, dass es sich nur noch um die vierthäufigste Todesursache handelt (Roger et al. 2011). Diese hohe Mortalität ist nicht

nur als direkte Konsequenz des Schlaganfalls anzusehen, sondern erklärt sich auch durch das in der Folge häufige Auftreten einer anderen kardiovaskulären Erkrankung (Silver et al. 1984; Touzé et al. 2005).

1.1.2 Pathologie des Schlaganfalls und Ätiologie nach TOAST

Auf das Gehirn, das nur zwei Prozent der Körpermasse eines Menschen ausmacht, entfallen 20% des Sauerstoffbedarfs und 15% des Herzminutenvolumens eines ruhenden Körpers. Die Energiegewinnung erfolgt nahezu vollständig durch den aeroben Abbau von Glukose zu ATP und CO₂. Die anaerobe Glykolyse sowie der Abbau von Ketonkörpern haben hingegen nur einen geringen Einfluss. Diese ausgeprägte Sauerstoffabhängigkeit des Gehirns begründet das schnelle Auftreten irreversibler neurologischer Ausfälle bei zerebraler Ischämie.

Die Durchblutung des Gehirns wird entscheidend beeinflusst durch den Perfusionswiderstand, der durch den Widerstand der Arterien und Arteriolen bestimmt wird, sowie durch die Blutviskosität. Des Weiteren stellt der zerebrale Perfusionsdruck eine entscheidende Einflussgröße dar. Zu seiner Ermittlung wird die Differenz aus arteriellem Mitteldruck in den Hirnarterien und der Summe von intrakranielltem und venösem Druck gebildet (Berlit et al. 2012).

Es sind zwei grundsätzliche Formen der Hirnischämie zu unterscheiden. Dies ist einerseits die globale Minderperfusion durch Schock, Herzstillstand oder Asphyxie, andererseits die fokalen Ischämien, die durch den Verschluss oder die Stenose einer hirnversorgenden Arterie gekennzeichnet sind. Die physiologische Durchblutung des Gehirns liegt bei 50-60ml/100g Gewebe/min. Ab einer Verminderung der Durchblutung unter 20ml/100g Gewebe/min kommt es zu reversiblen Funktionsstörungen. Die Infarzierung beginnt ab einer Perfusion von weniger als 8-10ml/100g Gewebe/min. Im Zentrum der Ischämie kommt es zum irreversiblen Untergang des Gewebes. Der Randsaum (Penumbra) ist der Bereich der reversiblen Funktionseinschränkung und damit das Ziel der therapeutischen Bemühungen (Berlit et al. 2012).

Die Unterteilung der Schlaganfälle gemäß ihrer Ätiologie verschafft zusätzlich Vorteile. Eine ermittelbare Ursache hat Auswirkungen auf die Individualisierung der Therapie und auf die Prognose eines Schlaganfallpatienten (Adams et al. 1993). Die Mortalität von Patienten nach Schlaganfällen durch arteriosklerotische Veränderungen der großen Arterien ist höher als die bei Mikroangiopathien (Sacco et al. 1991). Des Weiteren haben Patienten nach kardioembolischen Schlaganfällen eine erhöhte Sterbewahrscheinlichkeit (Bogousslavsky et al. 1988; Caplan et al. 1983).

Zum Zweck der Einordnung eines Schlaganfalls begründeten Adams et al. (1993) die TOAST Klassifikation. Initial stützt sich der Untersucher hierbei auf klinische Befunde, die im Verlauf durch bildgebende Verfahren und Laboruntersuchungen ergänzt werden. Unterschieden werden fünf Kategorien: Makroangiopathie, kardioembolische Schlaganfälle, Mikroangiopathie, Schlaganfall anderer spezifischer Ursache und Ereignisse unbekannter Ursache.

Ist der Schlaganfall auf eine **makroangiopathische** Ursache zurückzuführen, ist sonografisch oder angiografisch eine Lumenverminderung großer hirnversorgender Arterien von mehr als 50% feststellbar. Es treten kortikale Beeinträchtigungen sowie Fehlfunktionen des Kleinhirns und Hirnstamms auf. Die Läsionen in Kortex, Kleinhirn oder Hirnstamm haben in der Computertomographie (CT)- oder Magnetresonanztomographie (MRT)-Darstellung einen Durchmesser $>1,5\text{cm}$. In der Vorgeschichte haben die Patienten häufig transitorische ischämische Attacken (TIA) im entsprechenden arteriellen Versorgungsgebiet (Adams et al. 1993).

Die klinische Symptomatik einer Ischämie **kardioembolischer** Ursache ist der des makroangiopathischen Schlaganfalls ähnlich. Hierbei verschließt ein im Herz entstandener Embolus arterielle Gefäße. Ursächlich können zum Beispiel Vorhofflimmern, Valvuloplastie oder eine dilatative Kardiomyopathie sein. Des Weiteren gibt es Hinweise auf transitorische ischämische Attacken in der Vergangenheit, die in verschiedenen arteriellen Versorgungsgebieten aufgetreten sind. Um die Diagnose einer kardioembolischen Genese zu sichern, muss zudem ausgeschlossen werden, dass es eine Ursache für arterio-arterielle Embolien gibt (Adams et al. 1993).

Schlaganfälle **mikroangiopathischer** Ursache imponieren klinisch durch eines der klassischen lakunären Syndrome. Diese sind definiert als eine Gruppierung klinischer Symptome, die dadurch auftreten, dass das Versorgungsgebiet einer perforierenden Arterie ischämisch wird (Bamford et al. 1987). Kortikale Fehlfunktionen werden nicht beobachtet. In der CT- oder MRT-Untersuchung sind die Patienten häufig unauffällig oder es sind kleine, einseitige Läsionen subkortikal oder im Hirnstamm festzustellen. Als Risikofaktoren für Ischämien dieser Ursache gelten Diabetes mellitus und arterieller Hypertonus (Adams et al. 1993).

Ischämien **anderer spezifischer Ursachen** umfassen seltene Schlaganfallursachen, die aber bestimmbar sind, zum Beispiel nicht arteriosklerotische Vaskulopathien oder Hyperkoagulopathien. In der fünften Kategorie, der **Ereignisse unbekannter Ursache**, werden Schlaganfälle zusammengefasst, für die kein Auslöser ermittelt werden kann oder bei denen eine nur unvollständige Diagnostik durchgeführt wurde. Ferner fallen auch solche in diese Kategorie, bei denen mehrere Auslöser in Betracht gezogen werden müssen (Adams et al. 1993).

1.1.3 Sekundärprävention

Ein erster Schlaganfall wird von 80-85% der Patienten überlebt (Grau et al. 2001). 8-15% dieser Patienten erleiden innerhalb eines Jahres einen erneuten Insult, wobei das Risiko mit zunehmendem zeitlichen Abstand zum Erstereignis abnimmt (Hill et al. 2004; Lovett et al. 2004). Zudem besteht eine Koinzidenz des ischämischen Schlaganfalls und der koronaren Herzkrankheit sowie der damit verbundenen Letalität (Coca et al. 2008; Gongora-Rivera et al. 2007; Touzé et al. 2007). Dieser Zusammenhang ist auf die gemeinsame Entstehung beider Erkrankungen auf dem Boden der Arteriosklerose zurückzuführen. Daher hat eine effektive Sekundärprävention und Vermeidung gemeinsamer Risikofaktoren nach einem ischämischen Schlaganfall auch Relevanz für das Auftreten bedeutender kardiovaskulärer Ereignisse (Soler und Ruiz 2010). Die dennoch unterschiedliche Bedeutung der einzelnen Risikofaktoren ist darauf zurückzuführen, dass der weitaus größte Teil der kardialen Ischämien durch Arteriosklerose bedingt ist, während die Ätiologie des Schlaganfalls heterogener ist (siehe Kapitel 1.1.2, S.2) (Libby 2001; White und Chew 2008).

Die Grundlagen, auf denen die Therapieentscheidungen in der Sekundärprävention getroffen werden, können möglicherweise durch einen gezielten Einsatz prognostischer Biomarker für das Eintreten einer erneuten Ischämie verbessert und individualisiert werden.

1.1.3.1 Modifikation von Risikofaktoren

Unterschieden werden Risikofaktoren, die durch gezielte Therapie beeinflussbar sind und unbeeinflussbare wie Alter, Geschlecht, Rasse und Ethnizität und eine genetische Disposition innerhalb der Familie (Goldstein et al. 2001). Die behandelbaren Risikofaktoren sind häufig solche, die durch den Lebensstil, der in den Industrieländern gepflegt wird, hervorgerufen werden. Sowohl systolischer als auch diastolischer Hypertonus stellen unabhängige und starke Risikofaktoren dar. Besondere Bedeutung erlangen diese durch die hohe Prävalenz. Die Behandlung einer arteriellen Hypertonie senkt das Risiko eines Reapoplexes um 24% (Goldstein et al. 2001; MacMahon et al. 1990; Rashid et al. 2003).

Ein weiterer, insbesondere durch seine hohe Prävalenz bedeutender Risikofaktor ist das Rauchen. Es führt zu einer Veränderung der Arterienwände und beeinflusst die Fließeigenschaften des Bluts (Cruickshank et al. 1989; Kool et al. 1993). Circa fünf Jahre nach Ende des Zigarettenkonsums erreicht das Infarktrisiko wieder das eines Nichtrauchers (Wolf et al. 1988). Dieser Zusammenhang zeigt sich nicht nur für zerebrale Ischämien, sondern wird

unisono in vielen Studien für die Risikoerhöhung einer kardialen Minderperfusion durch Tabakkonsum nachgewiesen (Soler und Ruiz 2010).

Das Risiko, einen ischämischen Schlaganfall zu erleiden, steigt auch durch Diabetes mellitus. Es kommt zu einer Erhöhung des relativen Risikos um das 1,8- bis 6-fache. Die intensive Kontrolle des Blutzuckerspiegels reduziert hierbei insbesondere die Anzahl mikrovaskulärer Komplikationen (Burchfiel et al. 1994; Goldstein et al. 2001; Kannel und McGee 1979). Sowohl in der Primär- als auch insbesondere in der Sekundärprävention konnte aber der Zusammenhang zwischen der optimalen Einstellung des Blutzuckers bei Diabetikern und dem Auftreten zerebraler Ischämien nur bedingt nachgewiesen werden (Wilcox et al. 2007). Deutlich größer ist die Bedeutung des Diabetes mellitus für die Entstehung der koronaren Herzkrankheit (KHK). Die Ergebnisse verschiedener Studien zeigten, dass die Prävalenz des Diabetes mellitus unter diesen Patienten zwischen 21,1% und 31,7% schwankt (Bradshaw et al. 2006; Hasdai et al. 2002; Heras et al. 2006).

Eine effektive Prävention einer Reischämie ist ebenfalls durch den Einsatz von Statinen möglich. Die relative Risikoreduktion liegt bei Patienten mit vorbestehender KHK bei 21% (Amarenco et al. 2004), aber auch Patienten ohne KHK profitieren. Ziel sollte ein *low density lipoprotein-cholesterol* (LDL-Cholesterin) <100mg/dl sein (Amarenco et al. 2006; Grundy et al. 2004).

Ferner existiert eine Reihe weiterer potentieller Faktoren, deren Zusammenhang mit Schlaganfällen weniger gut dokumentiert ist oder die schwieriger modifizierbar sind. Im Speziellen sind dies Adipositas (BMI >30kg/m²), körperliche Inaktivität, Fehlernährung, Alkoholmissbrauch, Hyperhomocysteinämie, Drogenmissbrauch, Hyperkoagulopathien, Hormonersatztherapie und die Einnahme oraler Kontrazeptiva (Goldstein et al. 2001).

1.1.3.2 Thrombozytenfunktionshemmung und Antikoagulation

Eine zentrale Rolle in der Sekundärprävention spielen Thrombozytenaggregationshemmer. Ihre Wirksamkeit wurde in mehreren Studien und Metaanalysen nachgewiesen. Das Risiko, einen erneuten nicht tödlichen Schlaganfall zu erleiden, wird um 23% reduziert (*Antiplatelet Trialists' Collaboration* 1994; *Antithrombotic Trialists' Collaboration* 2002; Born und Patrono 2006). Unter welchen Bedingungen und in welchen Dosierungen die Substanzen Acetylsalicylsäure, Clopidogrel oder Dipyridamol eingesetzt werden sollten, ist zurzeit noch umstritten (Diener et al. 2008 a).

Der Faktor, der das größte relative Risiko für einen Schlaganfall darstellt, ist das Vorhofflimmern. Dieses ist ursächlich für 50% der thromboembolischen Schlaganfälle, was

nicht zuletzt aufgrund der steigenden Prävalenz eine sehr große Bedeutung bei älteren Patienten hat (Wolf et al. 1991). Das relative Risiko eines thromboembolischen Schlaganfalls kann durch die Antikoagulation mit Warfarin um 68% reduziert werden (Goldstein et al. 2001). Gemäß der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie wird insbesondere bei diesen Patienten, und solchen mit anderen kardialen Emboliequellen, eine Antikoagulation mit einer *international normalized ratio* (INR) von 2-3 empfohlen (EAFT Group 1993; Hart et al. 2000). Dieses gilt auch für Patienten mit intermittierendem Vorhofflimmern, deren Schlaganfallrisiko vergleichbar mit chronischem Vorhofflimmern ist (Nieuwlaat et al. 2005). Bei Patienten, die einen Schlaganfall, der nicht kardialer Genese ist, erlitten haben, wird keine generelle Antikoagulation empfohlen, da sie der Thrombozytenfunktionshemmung mit Acetylsalicylsäure nicht überlegen ist (Halkes et al. 2007; Mohr et al. 2001).

1.1.4 Langzeitprognose nach ischämischem Schlaganfall

Das Risiko, einen Reapoplex zu erleiden, liegt bei allen Patienten zwischen 8% und 15% (Hill et al. 2004; Johnston et al. 2000; Lovett et al. 2004; Weimar et al. 2002). Besonders hoch ist das Risiko derer, die eine transiente ischämische Attacke erlitten haben. Innerhalb einer Woche nach transitorischer ischämischer Attacke liegt dieses bei 5,2%, wobei die Art der Therapie das Risiko massiv beeinflusst (Giles und Rothwell 2007). Mit zunehmender Zeit nimmt diese Rate ab, sodass für den Langzeitverlauf andere kardiovaskuläre Erkrankungen an Bedeutung gewinnen. Gemäß einer Metaanalyse von 2005 durch Touzé et al., in die 39 Studien einbezogen wurden, liegt das jährliche Risiko eines Patienten, nach einem Schlaganfall einen Myokardinfarkt zu erleiden, bei 2,2% und das Risiko eines kardiovaskulären Todes, der nicht durch einen erneuten Schlaganfall bedingt ist, bei 2,1% (Touzé et al. 2005).

Die Risikoabschätzung im Einzelfall ist allerdings durch derartige statistische Erhebungen nicht möglich, sodass in der Vergangenheit Punktesysteme eingeführt wurden, mit deren Hilfe es gelingt, anhand klinischer Parameter die Prognose eines einzelnen Patienten einzuschätzen. Der *Essen Stroke Risk Score* (ESRS) wurde retrospektiv anhand der Patientenkohorte der CAPRIE-Studie erstellt (Gent et al. 1996), zunächst um eine Prädiktion hinsichtlich des Eintretens eines Reapoplexes vorzunehmen. Mit Hilfe dieses Risikobewertungssystems wurden differenzierte Empfehlungen gegeben, ob ein Patient nach einem Schlaganfall eher von einer Sekundärprävention mit Clopidogrel oder mit Acetylsalicylsäure profitiert (Diener et al. 2005). 2009 validierten Weimar et al. den ESRS im REACH-Register. Es wurde nachgewiesen, dass mit Hilfe dieses Verfahrens eine Risikostratifizierung bei Patienten mit Schlaganfall oder TIA

hinsichtlich eines Reapoplexes beziehungsweise eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses möglich ist. Für das Risiko eines BKEs ergab sich, ermittelt durch die *concordance-statistic* (C-Statistik), eine *area under the curve* (AUC) von 0,60 (95% CI, 0,58;0,62) (Weimar et al. 2009). In die Analyse fließen sieben bekannte kardiovaskuläre Risikofaktoren mit gleicher Wertigkeit sowie das Alter des Patienten ein. Im schlechtesten Fall erreicht der Patient neun, im besten Fall null Punkte (Tab. 1A). Anwendung findet dieses Verfahren allerdings nur bei Patienten, bei denen ein Vorhofflimmern ausgeschlossen wurde (Gent et al. 1996).

Ein weiteres klinisches Verfahren zur Risikoprädiktion ist das *Stroke Prognosis Instrument II* (SPI-II). Es wurde 2000 durch Kernan et al. als Weiterentwicklung des *Stroke Prognosis Instrument I* anhand der Kohorte der WEST-Studie begründet. Validiert wurde das Verfahren in drei großen Patientenkohorten, der UK-TIA-Aspirin-Studie, der CAPRIE-Studie und der NoMaSS. Das *Stroke Prognosis Instrument II* ermöglicht es, das Risiko einzuschätzen, ob ein Patient innerhalb von zwei Jahren nach einer TIA oder einem Schlaganfall, der keine dauerhafte Behinderung verursacht, einen Reinsult erleidet oder ob er verstirbt. In die Analyse fließen sieben verschiedene Risikofaktoren ein, die entsprechend der relativen Höhe des Regressionskoeffizienten in einem Cox-proportionalen Hazard-Modell mit einem bis drei Punkten in die Berechnung von drei Risikogruppen eingehen (niedriges Risiko: 0-2 Punkte; mittleres Risiko: 2-6 Punkte; hohes Risiko 7-11 Punkte) (Tab. 1B). Die *area under the receiver operating characteristic curve* (ROC-AUC) für das Eintreten der Endpunkte beträgt 0,63 (95% CI, 0,62; 0,65) (Kernan et al. 2000). 2011 fand durch Navi et al. eine weitere Validierung des SPI-II statt, sodass er jetzt bei Patienten jeglicher Schwere des Schlaganfall-Ereignisses Anwendung finden kann. Die C-Statistik betrug in diesem Fall 0,62 (95% CI, 0,61– 0,64) (Navi et al. 2011).

Essen Stroke Risk Score

Risikofaktor	Punkte
Alter <65 Jahre	0
Alter 65 - 75 Jahre	1
Alter >75 Jahre	2
Hypertonus	1
Diabetes mellitus	1
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte	1
Andere kardiovaskuläre Erkrankungen (ausgenommen Myokardinfarkt und Vorhofflimmern)	1
Peripher-arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)	1
Nikotinabusus	1
Zusätzliche TIA oder Schlaganfall zum initialen Ereignis	1

Tab. 1A: Kriterien zur Berechnung des *Essen Stroke Risk Score* basierend auf der Schlaganfallkohorte innerhalb der CAPRI-Studie (Diener et al. 2005, S.759)

Stroke Prognosis Instrument II

Befund	Adjustiertes relatives Risiko für Schlaganfall oder Tod innerhalb von zwei Jahren	Regressionskoeffizient	Punkte
Kongestive Herzinsuffizienz	1,8	0,57	3
Diabetes mellitus	1,7	0,55	3
Schlaganfall in der Vorgeschichte	1,7	0,51	3
Alter >70 Jahre	1,6	0,46	2
Schlaganfall (nicht TIA)	1,5	0,38	2
Schwerer Hypertonus	1,2	0,19	1
Koronare Herzkrankheit	1,1	0,13	1

Tab. 1B: Kriterien zur Berechnung des *Stroke Prognosis Instrument II* (Kernan et al. 2000, S.460)

1.2 Die Biomarker

In den vergangenen Jahrzehnten wurde häufig versucht, die Patientenversorgung durch die Anwendung adäquater Biomarker in ihrer Qualität zu verbessern und auch die Effizienz zu steigern. Im Allgemeinen können Biomarker mit verschiedener klinischer Zielsetzung verwendet werden: Zur Diagnostik bei Patienten mit bestimmten Symptomen, aber unbekannter Ursache, als Screeningverfahren bei klinisch unauffälligen Patienten oder zur Therapieentscheidung und Kontrolle bei Patienten mit bereits bekannten Erkrankungen. Des Weiteren können sie auch, wie es Gegenstand dieser Studie ist, zur Risikoeinschätzung bei Patienten eingesetzt werden, die an bereits diagnostizierten Erkrankungen leiden (Mark und Felker 2004).

Zu diesem Zweck sollte ein idealer Marker entsprechend sensitiv und spezifisch sein. Voraussetzung ist eine stabile Freisetzung des Biomarkers nach dem Ereignis und eine vorhersehbare *Clearance*. Ferner muss der Marker zu annehmbaren Kosten in kurzer Zeit quantitativ messbar sein (Saenger und Christenson 2010). Im Rahmen dieser Studie werden fünf ausgewählte Marker hinsichtlich ihrer prognostischen Wertigkeit für das Auftreten eines BKEs und für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache innerhalb eines Jahres nach dem Schlaganfall untersucht. Hierbei werden neue, hochempfindliche Testverfahren zur Ermittlung besonders niedriger Konzentrationen eines Markers eingesetzt sowie Propeptide mit einer deutlich längeren Halbwertszeit als das aktive Protein untersucht. Die fünf untersuchten Marker werden in einem Multimarker-Ansatz gemeinsam analysiert, um möglicherweise eine Verbesserung der prädiktiven Aussagekraft zu erreichen. Dieses Prinzip wurde bereits in kardiologischen Studien untersucht: Die simultane Anwendung kardiovaskulärer und renaler Biomarker erlaubt die Prädiktion des Todes kardiovaskulärer Ursache bei älteren Männern unabhängig von Vorerkrankung (Zethelius et al. 2008). Das Risiko einer neu einsetzenden Herzinsuffizienz kann durch einen Multimarker-Ansatz, in den der im Urin gemessene Albumin-Kreatinin-Quotient und natriuretisches Peptid Typ B einfließen, abgeschätzt werden (Velagaleti et al. 2010). Diese simultane Anwendung mehrerer Biomarker bildet die verschiedenen Ursachen, die zur Entstehung einer Krankheit führen, am besten ab.

1.2.1 H-FABP

Heart type fatty acid binding protein (H-FABP) gehört zur Gruppe der *fatty acid binding proteins* (FABPs), kleine Proteine mit einer Masse von 14-15kDa. Sie befinden sich in großen Mengen im Zytoplasma der Zellen, deren Gewebe einen hohen Fettmetabolismus aufweist, aber auch im Nervengewebe (Storch und Thumser 2000). Hier spielt der Fettabbau zur

Energiegewinnung nur eine untergeordnete Rolle. Reste der Fettsäuren werden aber als Phospholipide in die Zellmembranen integriert (Glatz und van der Vusse 1996). Die FABPs haben besondere Bedeutung im Fettstoffwechsel der Zellen, sie unterstützen die Aufnahme freier Fettsäuren aus dem Extrazellulärraum und deren Transport zu den Organellen (Schaap et al. 1999). Des Weiteren sind diese Proteine an der Regulation von Genexpressionen beteiligt. Sie wirken als Liganden der *peroxisome proliferator-activated receptors*, die eine Schlüsselrolle in der Lipid-Homöostase einnehmen (Wolfrum et al. 2001), oder sind am Wachstum und an der Differenzierung der Zelle beteiligt. Zudem wirken FABPs zytoprotektiv, insbesondere während akuter ischämischer Ereignisse (Glatz und van der Vusse 1996).

Zurzeit sind neun verschiedene FABP-Typen bekannt, die nach dem Gewebe bezeichnet sind, in dem sie zunächst identifiziert wurden. Später fand man die meisten jedoch in verschiedenen Geweben (Veerkamp und Zimmerman 2001). Vier dieser Typen treten im Nervengewebe auf, jedoch in verschiedenen Regionen und in unterschiedlichen Entwicklungsstadien des Nervensystems (Owada et al. 1996). Der Myelin-Typ tritt in peripheren Myelinscheiden auf (Veerkamp und Zimmerman 2001), im zentralen Nervensystem sind *heart-type*, *epidermal-type* und *brain-type* vorzufinden. Die letzten beiden werden vorwiegend in der Prä- und Perinatalperiode exprimiert.

Das H-FABP ist innerhalb des zentralen Nervensystems neuronenspezifisch und tritt nach der Geburt in den Nervenzellen der grauen Substanz auf (Owada et al. 1996), zusätzlich aber auch in anderen Organen und Geweben wie Niere, Skelettmuskulatur, Aorta, Lunge, Mammae, Plazenta, Hoden, Ovarien, Nebennieren und Abdomen (Veerkamp und Zimmerman 2001).

Die Serumkonzentration des H-FABP liegt entsprechend mehreren Studien unter $6\mu\text{g/l}$ (Pagani et al. 2002; Pelsers et al. 1999). Der Serumspiegel unterliegt jedoch einer Vielzahl physiologischer und pathologischer Einflussfaktoren, im Speziellen einer zirkadianen Rhythmik, dem Alter oder dem Geschlecht. Da das Protein renal abgebaut wird, hat auch eine eingeschränkte Nierenfunktion Einfluss auf die Konzentration des H-FABP im Blut (Pelsers et al. 1999).

In hoher Konzentration kommt das H-FABP insbesondere in den Kardiomyozyten vor. Es wird bei ischämischen Ereignissen bereits nach 60 Minuten ausgeschüttet. Die Serumkonzentration erreicht ihr Maximum nach vier bis sechs Stunden und fällt dann rasch ab. Das Protein zeichnet sich insbesondere als Biomarker in der frühen Diagnostik eines Myokardinfarktes aus (McCann et al. 2008). Die eingeschränkte Sensitivität und Spezifität ermöglicht es jedoch nicht, einen akuten Myokardinfarkt auszuschließen oder zu bestätigen (Mad et al. 2007). Bei Patienten, die

ein akutes Koronarsyndrom erlitten haben, hat der Biomarker auch prognostische Bedeutung für das Mortalitätsrisiko oder das Auftreten eines Reinfarkts (Kilcullen et al. 2007; Viswanathan et al. 2010).

1.2.2 GDF-15

Growth differentiation factor-15 (GDF-15) ist ein entferntes Mitglied der *transforming-growth-factor- β* -Superfamilie (Bootcov et al. 1997). In der Literatur wurde das Protein in der Vergangenheit auch als *macrophage inhibitory cytokine-1* bezeichnet (Xu et al. 2006). GDF-15 wird zunächst als Propeptid gebildet. Nach der Abspaltung des N-terminalen Endes verbleibt ein aktives Dimer mit einer molekularen Masse von 30kDa (Bootcov et al. 1997). GDF-15 wird unter physiologischen Bedingungen hauptsächlich in Makrophagen und in Epithelzellen vieler exokriner Drüsen, wie Leber, Prostata, Mammae, Speicheldrüsen, aber auch in der Plazenta, in den Atemwegen oder dem intestinalen Epithel exprimiert (Böttner et al. 1999; Hsiao et al. 2000). In vielen Gewebetypen kommt es zudem zu einem massiven Anstieg der Konzentration dieses Proteins bei Verletzungen, Hypoxie oder arteriosklerotischen Läsionen (Hsiao et al. 2000; Schlittenhardt et al. 2004; Schober et al. 2001). Diese Gewebeschädigung führt zur Aktivierung der Makrophagen, die im Ruhezustand kein GDF-15 exprimieren. Unter dem Einfluss proinflammatorischer Mediatoren wie Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), *macrophage colony-stimulating factor* und Interleukin 1 wird die Produktion dieses Proteins gesteigert, aber nicht durch Interferon- γ oder Lipopolysaccharide (LPS). Da GDF-15 die durch LPS induzierte Produktion von TNF- α durch die Makrophagen hemmt wird angenommen, dass es sich um ein autokrines Regulatorprotein handelt, das die Makrophagenaktivität hemmt (Bootcov et al. 1997). Ein Anstieg der Expression des GDF-15 wurde ebenfalls in Makrophagen beobachtet, die in arteriosklerotischen Plaques lokalisiert sind (Schlittenhardt et al. 2004).

Im Gehirn steigt die Konzentration des Proteins nach Verletzungen des Kortex sprunghaft an (Schober et al. 2001). Ebenfalls wurde ein Anstieg der GDF-15-Konzentration in hypoxischen Hirnarealen bei Patienten mit Glioblastom festgestellt (Albertoni et al. 2002). Das Protein scheint einen antiinflammatorischen Effekt bei Läsionen des zentralen Nervensystems zu haben, hat aber vermutlich keinen Einfluss auf die Größe des Infarktareals (Schindowski et al. 2011; Schober et al. 2001).

In den letzten Jahren fand das GDF-15 großes Interesse als Biomarker in der Kardiologie. Im Tiermodell konnte das Protein in gesunden Herzen nicht nachgewiesen werden. Jedoch zeigte sich ein Anstieg der Expression unter Bedingungen, die eine dilatative und hypertrophe

Kardiomyopathie begünstigen. Es scheint in diesem Zusammenhang einen Schutzmechanismus darzustellen, der der Hypertrophie oder einem Verlust an Ventrikelleistung entgegenwirkt (Xu et al. 2006). Ebenfalls erhöhte Werte wurden in Bereichen nachgewiesen, die durch Myokardinfarkte geschädigt waren. Dies deutet darauf hin, dass das GDF-15 auch eine protektive Funktion für Myokardgewebe hat, das nach einer Ischämiephase wieder reperfundiert wird (Kempf et al. 2006).

Der Marker hat auch prognostische Wertigkeit für das Langzeitergebnis der Patienten nach kardiovaskulären Erkrankungen. Er ist ein unabhängiger prädiktiver Faktor, der das Letalitätsrisiko bei chronisch systolischer Herzinsuffizienz beschreibt (Anand et al. 2010; Kempf et al. 2007). Aber auch bei Herzinsuffizienz, die nicht mit einer Einschränkung der Ejektionsfraktion einhergeht, ist der Marker erhöht (Stahrenberg et al. 2010 a). Ferner kann das GDF-15 herangezogen werden, um bei Patienten, die ein akutes Koronarsyndrom erlitten haben, das Letalitätsrisiko oder das Risiko für einen Remyokardinfarkt zu quantifizieren (Eggers et al. 2010; Wollert et al. 2007). Auch bei Patienten, die eine akute Lungenembolie erlitten haben, ist dieser Marker im Serum erhöht und stellt einen Prädiktor für das Auftreten Embolie-assoziiierter Komplikationen dar, im Speziellen der Tod des Patienten, Katecholaminpflichtigkeit, endotracheale Intubation oder kardiopulmonale Reanimation (Lankeit et al. 2008).

In der *Women's Health Study* wurde die prädiktive Wertigkeit der GDF-15-Serumkonzentration auch bei gesunden Frauen nachgewiesen. Es zeigte sich, dass das Molekül eine unabhängige Vorhersage darüber erlaubt, ob gesunde Frauen innerhalb des Beobachtungszeitraums von vier Jahren einen Myokardinfarkt oder einen kardioembolischen Apoplex erleiden oder an einer kardiovaskulären Ursache versterben (Brown et al. 2002).

Aus neurologischem Blickwinkel stellt GDF-15 einen prognostischen Marker bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall dar. Der Marker ist bei Patienten nach Schlaganfall erhöht. Menschen, bei denen gemessen an der *National Institute of Health Stroke Scale* (NIH-SS) oder der *Modified Rankin Scale* (MRS) 90 Tage nach dem Ereignis eine stärkere funktionelle Einschränkung bestand, haben kurz nach Symptombeginn höhere Serumkonzentrationen des GDF-15 (Gröschel et al. 2012; Worthmann et al. 2011).

Bisher wurde allerdings nicht untersucht, ob die Serumkonzentration des *growth differentiation factor-15* eine sichere Vorhersage über die Mortalität nach Apoplex oder das Auftreten eines BKEs erlaubt, was wiederum eine Veränderung der präventiven Versorgung bedingen würde.

1.2.3 hsTropT

Das Troponin T ist Teil des kontraktiven Apparates innerhalb der quergestreiften Muskulatur und des Herzes. Es bildet gemeinsam mit zwei anderen Proteinen den Troponinkomplex. Wird der Muskel durch ein Aktionspotential zur Kontraktion angeregt, geschieht dies durch die Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration. Das Kalzium wird an das Troponin C gebunden. Dies führt zur Konformationsänderung im Troponin I und Troponin T. Folge ist eine leichte Verschiebung der Position des Tropomyosins. Dies gibt die Bindungsstellen für die Myosinköpfe am Aktin frei und ermöglicht so die Kontraktion des Muskels (Daubert und Jeremias 2010). Obwohl seine Funktion in der quergestreiften Muskulatur und im Herz die gleiche ist, ist der Aufbau des kardialen Troponin T (cTnT) einzigartig, sodass es sich gut als organspezifischer Biomarker eignet. Seine Konzentration im Serum steigt drei bis vier Stunden nach einem akuten Myokardinfarkt an und bleibt für circa 14 Tage erhöht (Katus et al. 1989).

Gemäß neueren Forschungsergebnissen stellt eine akute Ischämie jedoch nicht die einzige Ursache dar, die zur Freisetzung des kardialen Troponin T führt. Auch Herzinsuffizienz führt zu einem Anstieg der Serumkonzentration. Selbst geringste Mengen, die nur mit Hilfe eines hochsensitiven Assays ermittelbar sind (*high-sensitive troponin T* [hsTropT]), erlauben einen Rückschluss auf die Schwere der Erkrankung und die Langzeitprognose bei Patienten mit chronisch stabiler Herzinsuffizienz (Latini et al. 2007). Auch bei Patienten, die an einer dilatativen oder sekundären Kardiomyopathie leiden, stellt das cTnT einen prognostischen Marker für die kurzfristige Entwicklung des Patienten dar (Sato et al. 1997). cTnT ist ein Protein, das renal eliminiert wird, und hat daher ebenfalls Bedeutung für die Langzeitprognose eines dialysepflichtigen Patienten. Eine angestiegene Serumkonzentration erhöht das Letalitätsrisiko, aber auch das Risiko einer anderen kardiovaskulären Erkrankung wie Linksherzinsuffizienz, Herzinfarkt oder instabile Angina pectoris (deFilippi et al. 2003; Dierkes et al. 2000; Iliou et al. 2003). Auch eine Lungenembolie oder das Auftreten einer Myokarditis kann zur Freisetzung des cTnT aus den Kardiomyozyten führen (Lauer et al. 1997; Swaanenburg et al. 1998).

Ebenfalls erhöht ist die Serumkonzentration des kardialen Troponin T bei Patienten, die einen akuten ischämischen Schlaganfall erlitten haben (Ay et al. 2002; Jensen et al. 2007 b; Song et al. 2008). Der Zusammenhang zwischen der zerebralen Schädigung und dem Troponinanstieg ist sehr komplex und bis jetzt nicht im Detail erforscht. Mögliche Ursache der cTnT-Freisetzung ist eine zuvor bestehende kardiale Erkrankung; aber auch eine Herzschädigung verbunden mit Arrhythmien oder Myozytolyse als Folgeerkrankung des Schlaganfalls ist denkbar (Kerr et al.

2009). Der Troponinspiegel im Serum des Patienten während oder kurz nach dem Schlaganfall wird beeinflusst durch die Lokalisation des infarzierten Areals. Insbesondere Ischämien im Bereich der Inselrinde ziehen, möglicherweise durch eine Aktivierung des sympathoadrenalen Systems, einen verstärkten Anstieg des cTnT nach sich. Auch die Ätiologie des Apoplex hat Auswirkungen, so werden hohe Serumspiegel vornehmlich bei kardioembolischen Schlaganfällen gemessen (Song et al. 2008).

Die klinische Bedeutung einer cTnT-Erhöhung ist nicht gesichert. In einigen Studien wird ein Zusammenhang mit einem gesteigerten Letalitätsrisiko des Patienten beschrieben, wobei die genaue Todesursache unberücksichtigt bleibt (James et al. 2000; Jensen et al. 2007 b). Erhöhte Serumkonzentrationen des Proteins lassen auf eine schlechtere Langzeitentwicklung der entstandenen neurologischen Defizite schließen (Fure et al. 2006; Song et al. 2008). Diese Zusammenhänge sind jedoch keineswegs gesichert. Etgen et al. veröffentlichten 2005 eine Studie, in der kein Zusammenhang zwischen der erhöhten cTnT-Konzentration im Serum und der klinischen Prognose des Patienten festgestellt werden konnte (Etgen et al. 2005).

Kerr et al. führten 2009 einen Review durch, in das neun Studien einbezogen wurden, die die Prävalenz erhöhter Troponin-Serumspiegel untersuchten. Der Anteil der Patienten, die einen Anstieg aufwiesen, variierte zwischen 0% (Ay et al. 2002) und über 32% der untersuchten Personen (Apak et al. 2005). Zu erwarten ist ein Anstieg dieser Zahlen durch den von uns verwendeten hoch sensitiven Assay. Durch den Einsatz dieses Testverfahrens können Serumkonzentrationen bis zu 0,005ng/ml detektiert werden (Saenger et al. 2011).

1.2.4 Natriuretische Peptide

Die natriuretischen Peptide werden in vier Typen unterteilt: *atrial natriuretic peptide* (ANP), *brain natriuretic peptide* (BNP), *C-type natriuretic peptide* und *dendroaspis-type natriuretic peptide* (Woodard und Rosado 2008). Untersuchungsgegenstand dieser Arbeit sind jedoch nur das Propeptid des ANP, das proANP sowie das aminoternale Fragment des Propeptids proBNP, das NTproBNP.

1.2.4.1 Entstehung und Sezernierung

Das BNP stammt aus den Kardiomyozyten der Herzkammern. Stimuliert durch eine langanhaltende Dehnung des Ventrikelmyokards infolge einer Volumenbelastung, wird die Expression des Vorläufermoleküls präproBNP in den Herzmuskelzellen gesteigert. Dieses 134 Aminosäuren umfassende Propeptid wird gespalten in ein Signalpeptid und in das proBNP (108

Aminosäuren), welches dann in die Blutbahn sezerniert und dort in das aktive Hormon BNP und das aminoternale-*pro-brain-natriuretic-peptide* (NTproBNP) gespalten wird. Da die Halbwertszeit des BNP mit 20 Minuten relativ kurz ist, wird in dieser Studie das sehr viel stabilere und äquimolar sezernierte NTproBNP untersucht (Levin et al. 1998; Suttner und Boldt 2004).

Das ANP wird, stimuliert durch eine Dehnung der Kardiomyozyten, aus der Muskulatur der Herzvorhöfe sezerniert. Es wird primär im atrialen Myokard produziert und als Prohormon in Granula gespeichert. Durch Endoproteasen wird es nach Einwirkung des entsprechenden Stimulus gespalten und in seiner aktiven Form, dem α -ANP, in die Blutbahn abgegeben. Die Halbwertszeit des aktiven Hormons beträgt ein bis fünf Minuten. In äquimolarer Menge wird der N-Ternale Abschnitt, das proANP, in die Blutbahn sezerniert. Ähnlich dem NTproBNP, hat auch dieses Molekül eine deutlich längere Halbwertszeit als das aktive Hormon, sodass es sich besser für die Untersuchung eignet (Levin et al. 1998; Suttner und Boldt 2004).

1.2.4.2 Funktion und Elimination

Die wesentliche Funktion des ANP und des BNP liegt in der Aufrechterhaltung des kardiovaskulären Gleichgewichts. Ihre Wirkung entfalten die Hormone über die Bindung an einen membranständigen Rezeptor, der über eine Erhöhung des cGMP-Spiegels wirkt. Diese Rezeptoren befinden sich primär in den glatten Muskelzellen der Blutgefäße und an den Tubulusepithelzellen der Niere. In der Niere führt eine Hemmung der Na^+/K^+ -ATPase zu einer vermehrten Natriumausscheidung und damit verbunden zu einer gesteigerten Diurese (Suttner und Boldt 2004). Des Weiteren bewirken die natriuretischen Peptide einen Anstieg der glomerulären Filtrationsrate (Marin-Grez et al. 1986). An der glatten Muskulatur der Blutgefäße bewirken ANP und BNP eine Relaxation und in der Folge eine Vasodilatation mit Blutdrucksenkung. Ferner hemmen die Hormone die Freisetzung von antidiuretischem Hormon, Renin und Aldosteron sowie von Adrenalin (Levin et al. 1998; Stein und Levin 1998; Suttner und Boldt 2004).

Die Elimination der natriuretischen Peptide aus dem Kreislauf erfolgt primär durch die Aufnahme in den Intrazellulärraum durch C-Typ-Rezeptoren. Hier werden die Hormone durch Endopeptidasen abgebaut; ein Vorgang, der ebenfalls hauptsächlich in der Niere und der glatten Gefäßmuskulatur stattfindet. Zusätzlich ist auch die renale Ausscheidung von Bedeutung (Suttner und Boldt 2004).

1.2.4.3 Natriuretische Peptide in Klinik und Wissenschaft

Gewicht erlangten die natriuretischen Peptide zunächst primär in der klinischen Forschung und in der Patientenbehandlung der Kardiologie. Ihre Konzentration im Serum ist bei mehreren kardialen Erkrankungen, die mit linksventrikulären Funktionsstörungen einhergehen, erhöht; im Speziellen die kongestive Herzinsuffizienz, Hypertonus aber auch das akute Koronarsyndrom. Hierbei scheint das BNP (beziehungsweise das NTproBNP) sensitiver und spezifischer zu sein, als das ANP (Mark und Felker, 2004). Gemäß den Leitlinien der *European Society of Cardiology* wird die Bestimmung der Serumkonzentration des NTproBNP zur Diagnostik akuter und chronischer Herzinsuffizienz empfohlen (Dickstein et al. 2008). Der Biomarker gilt als probates Mittel, um die Differentialdiagnose „Herzinsuffizienz“ bei Patienten, die an Dyspnoe leiden, zu stellen (Maisel et al. 2002; Mueller et al. 2004). Ferner kann mit Hilfe der Serumkonzentration auf die Prognose des Patienten bei Herzinsuffizienz oder Herzinfarkt hinsichtlich der Mortalität geschlossen werden (Berger et al. 2002; de Lemos et al. 2001; Lüers et al. 2010; Richards et al. 2003).

Obwohl die natriuretischen Peptide primär im Fokus der kardiologischen Diagnostik und Therapie stehen, wurde auch eine Erhöhung der Serumkonzentration sowohl des ANP und des BNP als auch der entsprechenden Prohormone bei Patienten mit einem ischämischen Schlaganfall beschrieben (Estrada et al. 1994; Jensen et al. 2009).

Der Serumspiegel des proANP stellt einen unabhängigen Prognosefaktor bei Patienten mit erstmalig aufgetretenem Schlaganfall dar und erlaubt, das Mortalitätsrisiko einzuschätzen (Mäkikallio et al. 2005). ANP wurde ebenfalls in Neuronen und Astrozyten des Kortex und der weißen Substanz nachgewiesen. Es scheint einen Einfluss auf die Regulation der Blutversorgung in infarzierten Arealen zu haben (Katan et al. 2010; Nogami et al. 2001).

Deutlich umfassender wurde die Bedeutung einer Konzentrationserhöhung des BNP und des NTproBNP im Serum von Schlaganfallpatienten untersucht. In mehreren Studien wurde der Zusammenhang zwischen einem Anstieg des Hormonspiegels und steigender Mortalität, sowohl in kurzen Nachuntersuchungsperioden als auch mehrere Jahre nach dem Schlaganfall, nachgewiesen (Jensen et al. 2006; Jensen et al. 2009; Sharma et al. 2006). Ferner zeigten Yip et al. in einer Kohorte aus 86 Patienten, dass ein erhöhter NTproBNP Spiegel (>150pg/ml) einen starken unabhängigen Prädiktor für einen ungünstigen klinischen Verlauf darstellt, im Speziellen das Auftreten eines Reapoplexes, eines Myokardinfarkts, einer Herzinsuffizienz im Stadium NYHA 3 oder das Versterben des Patienten (Yip et al. 2006). Etgen et al. konnten jedoch in einer größeren Kohorte, die aus 174 Patienten bestand, keinen Zusammenhang zwischen der

Serumkonzentration des NTproBNP, und der klinischen Entwicklung des Patienten in einem Intervall von drei Monaten nach dem Schlaganfall nachweisen (Etgen et al. 2005).

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Die Daten zur Erstellung dieser Arbeit wurden im Rahmen der Find-AF-Studie (ISRCTN 46104198) erhoben. Bei dieser Studie handelt es sich um eine prospektiv longitudinale Beobachtungsstudie, die monozentrisch an der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt wurde.

Zwischen März 2009 und Februar 2010 wurden die Patienten, die einen akuten ischämischen Schlaganfall oder eine transitorische ischämische Attacke erlitten hatten, konsekutiv in die Studie eingeschlossen. Der Krankheitsverlauf wurde nach 90 Tagen durch eine telefonische Kontrolle aller Patienten sowie durch eine klinische Untersuchung nach einem Jahr überprüft.

Die erste Fragestellung war, ob die während des Indexereignisses analysierten Biomarker als Prognosefaktoren eine Vorhersage darüber erlauben, ob es bei den Patienten zu einem bedeutenden kardiovaskulären Ereignis, im Speziellen zu einem Reapoplex, einem akuten Koronarsyndrom oder dem Tod kardiovaskulärer Ursache kommt. Weiterhin wurde untersucht, ob die beschriebenen Marker eine Risikoeinschätzung bezüglich der Gesamtmortalität bei Patienten mit stattgehabtem Schlaganfall zulassen. Die prognostische Aussagekraft der Biomarker wurde im weiteren Verlauf verglichen mit den beiden klinischen Verfahren zur Risikoprädiktion, dem ESRS und dem SPI-II.

Beide Fragestellungen wurden in einem Zeitraum von einem Jahr nach dem Apoplex untersucht. Das Votum der Ethikkommission der Universität Göttingen lag vor Beginn der Untersuchungen vor, sodass die Durchführung genehmigt war (Antragsnummer: 23/11/08). Des Weiteren steht die Find-AF-Studie im Einklang mit der Deklaration von Helsinki (*World Medical Association* 2011).

2.2 Patientenaufnahme

2.2.1 Patientenkollektiv

Zu Beginn wurden Patienten in die Studie aufgenommen, die sich in der Universitätsmedizin in Göttingen mit einem Schlaganfall als führender Verdachtsdiagnose vorstellten. Der Beginn der Symptomatik durfte nicht länger als 24 Stunden zurückliegen. Mit Hilfe computertomographischer beziehungsweise kernspintomographischer Befunde wurden solche Patienten, die einen hämorrhagischen Apoplex erlitten hatten, sofort ausgeschlossen.

Die Patienten mussten entweder schriftlich in die Studie einwilligen oder, sofern dies nicht möglich war, sich durch einen Betreuer in der Zustimmung vertreten lassen. Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war zudem die Vollendung des 18. Lebensjahres.

Die Rekrutierung aller Patienten wurde in Zusammenarbeit mit den Neurologen der *Stroke Unit* durchgeführt.

Die Patienten, die durch eine zerebrale Ischämie Symptome entwickelten, wurden gemäß ihrem Herzrhythmus weiter unterteilt. Solche, die im Elektrokardiogramm (EKG) während der Aufnahme durch ein Vorhofflimmern beziehungsweise Vorhofflattern auffielen, bilden die Gruppe A. Patienten mit einem ischämischen Insult, die nicht an Vorhofflimmern oder -flattern litten, wurden in Gruppe B eingeordnet. Letztere sind die Patienten, die Gegenstand der vorliegenden Prognosestudie sind.

2.2.2 Datenerhebung während der Aufnahme

Dieses Kollektiv wurde im Weiteren einer intensivierten Diagnostik des Herzrhythmus in Form eines Langzeit-EKGs über sieben Tage unterzogen. Als ein erstes, bereits publiziertes Ergebnis dieser Analyse konnte gezeigt werden, dass dadurch bei 12,5 % der Patienten ein intermittierendes Vorhofflimmern nachweisbar war (Stahrenberg et al. 2010 b).

Anhand des Anamnesegesprächs und der vorliegenden Patientenunterlagen wurden bekannte Risikofaktoren und Begleiterkrankungen ermittelt. Im Speziellen handelt es sich um Alter, Größe, Gewicht und Geschlecht des Patienten. Ferner wurde festgestellt, ob der Patient Raucher ist und ob eine der folgenden Erkrankungen vorliegt: Arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, vorhergegangene Myokardinfarkte, Schlaganfälle oder transitorische ischämische Attacken, peripher-arterielle Erkrankungen oder andere kardiovaskuläre Erkrankungen. Unter Berücksichtigung dieser erhobenen Daten ist es möglich, eine Risikoeinschätzung hinsichtlich des Eintretens eines BKEs oder des Todes unter Berechnung des SPI-II oder des ESRS vorzunehmen. Um beide Verfahren anzuwenden, konnten nur Patienten berücksichtigt werden, die nicht an Vorhofflimmern oder -flattern erkrankt waren, sodass nur Patienten der Gruppe B (ischämischer Insult ohne Vorhofflimmern oder -flattern) Gegenstand der Analyse sind. Ebenfalls aus der Auswertung ausgeschlossen wurden Patienten, die ein Vorhofflimmern im Beobachtungszeitraum (ein Jahr nach dem Schlaganfall) entwickelten oder im Sieben-Tage-Langzeit-EKG Episoden des Vorhofflimmerns boten.

Des Weiteren erfolgte bei allen Patienten bis 24 Stunden nach Aufnahme eine duplexsonographische Untersuchung der Arteriae carotides sowie eine transthorakale

Echokardiographie innerhalb von 72 Stunden. Außerdem wurde eine Medikamentenanamnese erhoben und eine Routine-Labordiagnostik durchgeführt. Diese umfasst ein kleines Blutbild, Gerinnungswerte, Elektrolyte, Fettstoffwechselfparameter, Diabetesmarker, sowie TSH, CRP und Kreatinin.

Während des Aufenthaltes der Patienten in der Klinik wurde zweimalig der neurologische Status erhoben. Die erste Erhebung wurde zum Zeitpunkt der Aufnahme, die zweite am dritten Tag der Behandlung durchgeführt. Dies erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit Hilfe der *National Institute of Health Stroke Scale* und der *Modified Rankin Scale* durch Untersucher, die für die Durchführung dieser Untersuchungen extern zertifiziert wurden.

Die NIH-SS umfasst 15 Items und ermöglicht es, das Ergebnis einer neurologischen Untersuchung genau zu quantifizieren. Sie wurde 1989 zunächst entwickelt, um die Effizienz verschiedener Behandlungsverfahren zu überprüfen (Appelros und Terent 2004; Brott et al. 1989). Nachdem in einer multizentrischen Studie die Anwendung des Verfahrens standardisiert wurde, findet es zunehmend Bedeutung für die neurologische Bewertung des Patienten bei Aufnahme in die Klinik sowie für die weitere Verlaufskontrolle (Lyden et al. 1994; Schlegel et al. 2003).

Die MRS wurde 1957 entwickelt, um die Auswirkungen eines Schlaganfalls auf die Unabhängigkeit und Selbständigkeit eines Patienten zu beschreiben (Kasner 2006). Eine Weiterentwicklung erfolgte 1988. Der Test umfasst sieben kategoriale Variablen; die Null bedeutet, dass keine Symptome vorliegen, die Sechs entspricht einem verstorbenen Patienten (van Swieten et al. 1988).

2.2.3 Datenerhebung während der Entlassung

Bis zur Entlassung des Patienten wurde die Ätiologie des Schlaganfalls gemäß der TOAST-Klassifikation bestimmt, darüber hinaus erfolgte eine Einordnung hinsichtlich der klinischen Klassifikation in TIA, *minor stroke* und *major stroke*. Ein *minor stroke* ist definiert als ein Schlaganfall, dessen Symptome sich in einem Zeitraum von 30 Tagen zurückentwickelt haben oder der nur zu einer Verschlechterung des NIH-SS von ≤ 3 Punkten geführt hat. Ein *major stroke* ist eine zerebrale Ischämie, deren Symptome nach 30 Tagen persistieren und die zu einem Anstieg des NIH-SS von >3 Punkten geführt hat.

Des Weiteren wurden prognoserelevante Therapien, die im stationären Verlauf Anwendung fanden, erfasst. Dies beinhaltete neben der medikamentösen Behandlung auch die Lysetherapie,

operative Interventionen sowie intensivmedizinische Verfahren wie die Beatmung, Katecholamingabe oder die Anlage einer Magensonde.

Um eine Basis zu schaffen, auf der ein Vergleich mit den klinischen Verfahren zur Risikoprädiktion möglich ist, wurde erfasst, ob bei den Patienten im Verlauf des stationären Aufenthalts ein Vorhofflimmern diagnostiziert wurde. Dies kann durch ein Langzeit-EKG, die telemetrische Überwachung auf der *Stroke Unit*, während einer körperlichen Untersuchung sowie durch ein Ruhe-EKG möglich sein. Um die Nachuntersuchung zu erleichtern, wurde zuletzt dokumentiert, ob der Patient mit einem implantierbaren Eventrecorder zur kontinuierlichen Aufzeichnung des Herzrhythmus versorgt wurde.

2.2.4 Bestimmung der Biomarker

Im Rahmen der Aufnahmeuntersuchungen wurden bei den Patienten folgende studienrelevanten Biomarker untersucht: hsTropT, NTproBNP, GDF-15, H-FABP und proANP.

Hierzu wurden den Patienten zum Aufnahmezeitpunkt, nach sechs Stunden und nach 24 Stunden venöse Blutproben entnommen. Zu jedem Zeitpunkt wurden jeweils ein 2,7-ml-Serum-, ein Lithiumheparinat- und ein EDTA-Entnahmeröhrchen mit einer Blutprobe gefüllt. In die Auswertung flossen jedoch nur die Werte der ersten entnommenen Probe ein, analysiert in dem mit EDTA antikoagulierten Blut. Das Untersuchungsmaterial wurde anschließend zehn Minuten bei 3000 Umdrehungen/min und einer Temperatur von 6°C zentrifugiert. Das nach dem Zentrifugieren überstehende Serum jeweils eines Entnahmeröhrchens wurde in drei gleich große Teile aliquotiert. Die Lagerung der Proben erfolgte bis zur Analyse bei -80°C.

2.2.4.1 Bestimmung des hsTropT

Die Bestimmung der Serumkonzentration des hsTropT führte die „Roche Diagnostics GmbH“ (Mannheim/Deutschland) durch. Verwendet wurde das „Troponin T hs STAT Assay“ auf einem „Elecsys“ Analysegerät. Es handelt sich um ein Testverfahren, das nach dem Prinzip des Immunassays aufgebaut ist. Verwendet werden zwei monoklonale Antikörper, die an zwei verschiedene Epitope des kardialen Troponin T binden. Zunächst werden 50µl der Probe mit einem biotinylierten monoklonalen Antikörper und mit einem Antikörper, der mit einem Rutheniumkomplex verbunden ist, inkubiert. Es bilden sich Sandwichkomplexe. Anschließend werden Mikropartikel hinzugegeben, die mit Streptavidin überzogen sind. Aufgrund der Interaktion zwischen Streptavidin und Biotin wird der Komplex an die feste Phase gebunden.

Nach Überführung in die Messzelle werden die Mikropartikel magnetisch an die Oberfläche der Elektrode gebunden. Nicht gebundene Substanzen werden entfernt. Durch das Anlegen einer elektrischen Spannung an der Elektrode emittiert auf Grund von Chemilumineszenz Licht, das mit einem Photoelektronenvervielfacher zu messen ist. Mit Hilfe einer Eichkurve werden daraus die Messergebnisse ermittelt.

Das *limit of blank* dieses Testverfahrens liegt bei 3ng/l. Dies beschreibt die höchste scheinbare Konzentration, die man in einer Lehrprobe ohne Troponin T finden würde. Das *limit of detection* definiert die niedrigste Konzentration, die sicher vom *limit of blank* abgegrenzt werden kann. Es beträgt bei diesem Testverfahren 5ng/l. Das *limit of quantitation*, ab dem zusätzlich quantitative Aussagen zur Konzentration möglich sind, liegt bei 13ng/l (Saenger et al. 2011).

2.2.4.2 Bestimmung des H-FABP

Zur Bestimmung des H-FABP kam das Testverfahren „HK402“ der Firma „Hycult Biotech“ (Uden/Niederlande) zum Einsatz. Hierbei handelt es sich um einen auf dem Sandwichprinzip basierenden *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). 50µl der Serumprobe werden auf die an einer Mikrotiterplatte gebundenen Antikörper gegeben, die gegen ein Epitop des H-FABP gerichtet sind. Gemeinsam mit einem anderen Antikörper gegen ein weiteres Epitop, an den eine Peroxidase gebunden ist, erfolgt eine Inkubation von einer Stunde. Während dieser Zeit setzen die an der Platte gebundenen Antikörper das H-FABP fest. Die mit dem Enzym kombinierten Antikörper binden wiederum an das H-FABP. Nach mehrmaligem Waschen lässt man das Enzym das Substrat Tetramethylbenzidin umsetzen. Diese Reaktion wird mit Oxalsäure gestoppt. Photometrisch wird anschließend die Absorption bei 450nm gemessen. Der quantitative Nachweis wird dann mit Hilfe einer Kalibrierungskurve geführt.

2.2.4.3 Bestimmung des GDF-15

Die Messung der GDF-15-Konzentrationen der entnommenen Proben wurde mit einem Assay der Firma „Roche Diagnostics GmbH“ (Mannheim/Deutschland) vorgenommen und folgt dem gleichen Messprinzip, wie es schon für das Troponin T angewendet wurde. Mit Hilfe zweier monoklonaler Antikörper wird nach dem Verfahren des Sandwich-Immunoassay vorgegangen. Nachdem die Antikörper an zwei verschiedene Epitope gebunden haben, erfolgt die genaue Quantifizierung der GDF-15-Konzentration nach dem Elektrochemilumineszenz-Verfahren.

2.2.4.4 Bestimmung des NTproBNP

Ebenfalls nach dem Prinzip des Elektrochemilumineszenz-Immunoassays erfolgt die Bestimmung der NTproBNP-Konzentration mit dem „Elecsys“ Test-Verfahren der Firma „Roche Diagnostics GmbH“ (Mannheim/Deutschland). Zunächst wird die Probe mit zwei monoklonalen Antikörpern inkubiert, die sich gegen verschiedene Epitope des NTproBNP richten, bis Sandwichkomplexe entstanden sind. Einer der Antikörper ist biotinyliert, der andere ist an einen Rutheniumkomplex gebunden. In einer zweiten Inkubationsphase werden mit Streptavidin überzogene Mikropartikel zugeführt. Aufgrund der Interaktion des Streptavidins mit dem Biotin bindet der Sandwichkomplex an die feste Phase. Das Analysat wird in eine Messzelle übertragen, in der die Partikel magnetisch gebunden werden. Nach der Entfernung freier Partikel und dem Anlegen einer Spannung werden die durch Chemilumineszenz entstandenen Emissionen in einem Photomultiplier gemessen und anhand einer Eichkurve ausgewertet.

2.2.4.5 Bestimmung des proANP

Zur Bestimmung der Konzentration des proANP im Serum wurde der „proANP (1-98) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 96t“ der Firma „Biomedica Medizinprodukte“ (Wien, Österreich) eingesetzt, ein auf dem Prinzip des Sandwich ELISA beruhendes Verfahren. Zunächst werden 10µl der Probe in einen Mikrotiterstreifen, der bereits mit einem Antikörper gegen das proANP beschichtet ist, überführt. Anschließend wird der Detektionsantikörper hinzugegeben, der mit Biotin verbunden ist. Nach einer Waschung, durch die alle unspezifisch gebundenen Materialien entfernt werden, wird das Konjugat, eine Streptavidin-Peroxidase, hinzugegeben. Nach erneuter Spülung wird dem Gemisch das Substrat Tetramethylbenzidin zugesetzt und anschließend bei Raumtemperatur für 30 Minuten inkubiert. Die enzymkatalysierte Reaktion wird durch eine Stopplösung beendet und die Konzentration des proANP durch die Messung der Exstinktion bei 450nm photometrisch ermittelt.

2.3 Das 90-Tage-Telefon-Follow-up

90 Tage nach dem akuten Schlaganfall erfolgte eine telefonische Befragung aller Patienten über ihren Gesundheitszustand. Diese wurde, wenn möglich, mit dem Patienten selbst durchgeführt, anderenfalls mit einem Angehörigen oder dem Hausarzt. Erfasst wurden klinisch relevante Endpunkte der Studie, die sich nach dem Indexereignis zugetragen haben. Zu diesen gehört das erneute Auftreten eines Schlaganfalls, differenziert in einen ischämischen Apoplex, eine TIA oder einen hämorrhagischen Insult. Systematisch erfragt wurden diese Ereignisse durch den

Questionnaire for Verifying Stroke-free Status (QVSS). Mit diesem Verfahren ist es möglich, durch das gezielte Abfragen von acht verschiedenen Symptomen oder Diagnosen einen erneuten Insult sicher auszuschließen (Tab. 2) (Meschia et al. 2000).

Questionnaire for Verifying Stroke-free Status (QVSS)

1	Hat Ihnen jemals ein Arzt gesagt, dass Sie einen weiteren Schlaganfall hatten?
2	Hat Ihnen jemals ein Arzt gesagt, dass Sie eine TIA, einen „kleinen Schlaganfall“ oder eine transitorische ischämische Attacke hatten?
3	Hatten Sie jemals plötzliche neue schmerzlose Schwäche auf einer Seite Ihres Körpers?
4	Hatten Sie jemals ein plötzliches einseitiges Taubheitsgefühl oder ein Gefühl, als ob eine Hälfte Ihres Körpers wie abgestorben sei?
5	Hatten Sie jemals einen plötzlichen schmerzlosen Verlust der Sehfähigkeit eines oder beider Augen?
6	Konnten Sie jemals plötzlich nur noch die Hälfte sehen?
7	Haben Sie jemals plötzlich die Fähigkeit verloren zu verstehen, was andere Menschen sagen?
8	Haben Sie jemals plötzlich die Fähigkeit verloren, sich in verbaler oder schriftlicher Form auszudrücken?

Tab. 2: Kriterien zum anamnestischen Ausschluss eines Schlaganfalls durch den Questionnaire for Verifying Stroke-free Status (Meschia et al. 2000, S.1077)

Des Weiteren wurden arterielle Revaskularisationen erfasst, gegliedert in zerebrovaskuläre und periphere Revaskularisationen sowie perkutane Koronarinterventionen und arteriokoronare Bypassoperationen. Hospitalisierungen wegen Herzinsuffizienz sowie der Tod, kardiovaskulärer und nicht kardiovaskulärer Ursache, waren genauso Endpunkte der Studie wie eine schwere Blutung gemäß der Klassifikation der Europäischen Arzneimittel-Agentur. Diese umfasst Blutungen, die zu einem Abfall des Hämoglobins von mehr als 20g/l führen, einer Transfusion mit mindestens zwei Einheiten Vollblut oder einer chirurgischen Intervention bedürfen, intrakranial oder retroperitoneal einbluten oder zum Tod des Patienten führen (CPMP 2000).

Für jeden dieser Endpunkte wurden vom Hausarzt oder der behandelnden Klinik Kopien der Entlassungsbriefe angefordert, um die Korrektheit der gemachten Angaben zu verifizieren und gegebenenfalls zu ergänzen.

Ferner wurde, sofern bekannt, der aktuelle Herzrhythmus des Patienten erfragt und Veränderungen mit Hilfe der ärztlichen Dokumentation überprüft.

Die Entwicklung des Patienten seit dem Schlaganfall hinsichtlich der neurologischen Funktionen wurde, wie auch schon bei der Aufnahme des Patienten, nach den Kriterien der *Modified Rankin Scale* bestimmt. Im Anschluss erfolgte erneut eine exakte Medikamentenanamnese.

2.4 Das 1-Jahres-Follow-up

Ein Jahr nach dem Schlaganfall wurden alle Patienten zu einer klinischen Visite in die Universitätsmedizin in Göttingen eingeladen. Patienten, die aus persönlichen Gründen nicht in der Studienambulanz erscheinen konnten, wurden entweder zu Hause besucht oder es wurde eine reduzierte Form der Nachuntersuchung telefonisch durchgeführt.

Im Anamnesegespräch erfolgte, genau wie schon in der telefonischen Befragung nach 90 Tagen, die systematische Erfassung der gleichen klinischen Endpunkte (Schlaganfall, akutes Koronarsyndrom, arterielle Revaskularisation, schwere Blutung gemäß Klassifikation der Europäischen Arzneimittel-Agentur, Hospitalisierung wegen Herzinsuffizienz oder einer anderen Ursache sowie das Eintreten des Todes). Des Weiteren wurde erfragt, ob im Nachbeobachtungszeitraum seit dem initialen Schlaganfall ein Vorhofflimmern auftrat und ob es gegebenenfalls aktuell besteht. Eine Bestimmung der neurologischen Entwicklung des Patienten hinsichtlich seiner Unabhängigkeit im Alltag erfolgte mit Hilfe der *Modified Rankin Scale*. Ferner wurde erneut eine Medikamentenanamnese durchgeführt.

Die bis hier beschriebenen Daten wurden bei allen Studienpatienten erhoben. In einer persönlichen Visite untersuchte Patienten erhielten zudem einige weitere Analysen. Hierzu zählt eine elektrokardiographische Untersuchung in Ruhe mit einem speziellen Fokus auf das Vorliegen eines Vorhofflimmerns, supraventrikulärer Extrasystolen oder von Blockbildern im Reizleitungssystem. Des Weiteren wurde bei diesen Patienten eine Blutprobe zur erneuten Bestimmung der neuen kardialen Biomarker entnommen. Zur standardisierten Beschreibung zentralneurologischer Ausfallerscheinungen diente die *National Institute of Health Stroke Scale*, die auch schon bei der Aufnahme der Patienten in die Studie erhoben wurde. Diese Untersuchung ermöglicht mit ihren 15 Items einen exakten Vergleich zwischen der Situation bei

Aufnahme und der nach einem Jahr. Letztlich wurden in der körperlichen Untersuchung noch die Parameter Blutdruck, Herzfrequenz, Gewicht und Körpergröße gemessen.

2.5 Statistische Verfahren

In dieser Studie wurde die prädiktive Bedeutung der Serumkonzentrationen der einzelnen Biomarker für das Eintreten des Todes sowie für das Auftreten eines kombinierten kardiovaskulären Endpunkts untersucht. Unter diesem werden der ischämische Schlaganfall, das akute Koronarsyndrom und der Tod kardiovaskulärer Ursache summiert. Diese Endpunkte erfassen zu großen Teilen einen gemeinsamen pathologischen Prozess. Das Verwenden eines zusammengesetzten Endpunktes erhöht durch eine höhere Zahl von Ereignissen die statistische Aussagekraft der Analyse. Aufgrund einer stark schiefen Verteilung wurden die Werte der Marker zunächst logarithmiert, bevor sie in den statistischen Verfahren verwendet wurden. Nominal und ordinal skalierte Werte wurden als absolute Zahlen oder in Prozenten angegeben. Fortlaufende Messungen hingegen wurden als arithmetischer Mittelwert \pm Standardabweichung beschrieben.

Für die Auswahl des optimalen Signifikanztests mussten die Messniveaus und die Verteilung der Zielvariablen sowie die Zahl der zu analysierenden Stichproben berücksichtigt werden. Außerdem war die Frage zu klären, ob zwischen den Stichproben eine Abhängigkeit besteht (Bender et al. 2007 a). Nach Berücksichtigung dieser Parameter erfolgte der Vergleich verschiedener Gruppen hinsichtlich stetiger Variablen durch den T-Test, beziehungsweise durch den Mann-Whitney-U-Test. Mit Hilfe des χ^2 -Tests und des Cochran-Armitage-Trend-Tests wurden Proportionen miteinander verglichen.

Das Eintreten eines der beschriebenen Endpunkte wurde graphisch in Form einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve dargestellt. Dies ist die häufigste in der klinischen Forschung angewandte Methode zur Visualisierung entsprechender Ergebnisse und veranschaulicht den Prozentsatz an Patienten, bei denen nach einer gewissen Zeit ein Endpunkt eingetreten ist. Sie ermöglicht so, Aussagen über die zeitabhängige Wahrscheinlichkeit des Eintretens eines Endpunktes zu machen (Pocock et al. 2002). Ferner können Überlebensraten und Überlebenszeiten gut abgelesen werden (Ziegler et al. 2007 a).

Mit Hilfe des Cox-Modells wurde die Berechnung adjustierter Hazard Ratios für die einzelnen Marker durchgeführt. Dieses auch als proportionales Hazard-Modell bezeichnete Verfahren ist das zurzeit etablierteste zur Auswertung von Überlebenszeitdaten und findet daher auch in diesem Fall Anwendung (Ziegler et al. 2007 b). In der univariaten Anwendung wird der Effekt

der Serumkonzentration eines Markers für das Auftreten eines relevanten Endpunkts untersucht. Die multivariate Cox-Regression ermöglicht es, den Einfluss mehrerer Parameter auf die ereignisfreie Überlebenszeit in ihrer Gesamtheit zu untersuchen und deren jeweiligen unabhängigen Beitrag abzuschätzen. Bei den Zielvariablen handelt es sich um zensierte Endpunkte. Vorausgesetzt wird, dass die Effekte der verschiedenen Parameter für das Auftreten eines Endpunkts im Verlauf des Beobachtungszeitraums konstant sind (Ziegler et al. 2007 a). Ebenfalls auf den Eventraten basieren die logistischen Regressionsanalysen. Anwendung findet diese Auswertungsmethode, da es eine Vielzahl unabhängiger Variablen gibt und die Zielvariable ein binäres Messniveau besitzt, das heißt, das Auftreten eines Endpunkts oder sein Ausbleiben (Bender et al. 2007 c; Bender et al. 2007 b).

Da sich das hochsensitive Troponin T in der multivariaten Cox-Regressionsanalyse als der Marker mit der besten Vorhersageeigenschaft herausstellte, wurde mit Hilfe der C-Statistik die prädiktive Bedeutung des ESRS, des SPI-II und des hsTropT verglichen. Dieses auch als *Concordance-Index* bezeichnete Verfahren findet in großer Verbreitung Anwendung, um verschiedene Überlebensverteilungen voneinander abzutrennen. Im Allgemeinen trifft die *Concordance* eine Aussage darüber, bei welchem Anteil der Patienten die prädiktive Vorhersage durch den Marker oder die klinischen Prädiktionsverfahren gegeben ist. Ein *Concordance-Index* von 0,5 entspräche also einer zufälligen Verteilung. Anders als die aus der logistischen Regression abgeleitete AUC der *receiver operating characteristic curve* (ROC-Kurve) für das jeweilige Modell, berücksichtigt die C-Statistik auch die Zeit bis zum Auftreten eines Ereignisses. Durchgeführt wurde diese Analyse mit der Software „R-package-survcomp“.

Analog der *Concordance*, wird die Wertigkeit eines Biomarkers oder klinischen *Scores* mittels der ROC-AUC beschrieben. Die AUC, inklusive des 95%-Konfidenzintervalls, wurde mit Hilfe des „R [2] package pROC“ berechnet. Zur Darstellung der ROC-Kurve werden die „richtig Positiven“ (Spezifität) gegen die „falsch Positiven“ (1-Sensitivität) aufgetragen. Dies ermöglicht es, die Bedeutung der Marker und der klinischen Prädiktionsverfahren entsprechend verschiedenen Grenzwerten einzuschätzen. Vergleichbar der C-Statistik beträgt die ROC-AUC eines idealen prognostischen Markers 1 (Røsjø und Omland 2009). Eine ROC-Kurve kann auch für das aus einer multivariaten logistischen Regression abgeleitete mathematische Modell ermittelt werden. Da nach neueren Erkenntnissen die ROC-AUC und die C-Statistik nicht ausreichend sind, um die klinische Wertigkeit eines Markers zu ermitteln, wurden für das hsTropT, den ESRS und das SPI-II der *Net Reclassification Index* (NRI) und der *Integrated Discrimination Index* (IDI) angewandt. Hierbei handelt es sich um neue, aber bereits sehr gut

etablierte Verfahren. Diese stellen ein Maß dafür dar, welcher Anteil der Patienten durch die Anwendung eines zusätzlichen prädiktiven Markers hinsichtlich des Risikos richtigerweise anders klassifiziert würde und sind daher insbesondere für die klinische Anwendbarkeit eines neuen Markers relevant (Möhlenkamp et al. 2009; Røsjø und Omland, 2009).

In allen angewendeten statistischen Verfahren wurde $p < 0,05$ als signifikant gewertet. Die Analysen erfolgten mit Hilfe der Software „SPSS Statistics“ der Firma „IBM“ (New York/USA).

3 Ergebnisse

Im Zeitraum von März 2009 bis Februar 2010 konnten 281 Patienten in die Find-AF-Studie eingeschlossen werden. Einer dieser Patienten zog im Verlauf der Studie seine Einwilligung zurück. Vier weitere konnten zum Zweck der Nachuntersuchungen nicht mehr ausfindig gemacht werden, sodass sie als *lost to follow-up* klassifiziert wurden. Bei acht Patienten wurde nach der Aufnahme in die Studie die Diagnose revidiert, sodass nicht mehr von einem ischämischen Ereignis ausgegangen werden konnte. Initial bestand bei 42 der verbliebenen Patienten ein Vorhofflimmern im Aufnahme-EKG, wobei es sich allerdings nicht immer um Neudiagnosen handelte, sondern auch um bereits bekannte Erkrankungen. 29 weitere Patienten boten im Sieben-Tage-Langzeit-EKG Episoden von Vorhofflimmern. Um eine Vergleichbarkeit mit dem *Essen Stroke Risk Score* herzustellen, wurden diese 71 Patienten ebenfalls von der Analyse ausgeschlossen, sodass die Daten von 197 Patienten in die Auswertung einfließen. Die Entwicklungen von 148 (75,1%) Patienten konnten im Rahmen der klinischen Untersuchung nach einem Jahr nachverfolgt werden. 45 (22,8%) Patienten erschienen nicht zur Untersuchung, sodass ihr Werdegang telefonisch erfragt wurde. Wenn möglich, erfolgte dies im direkten Telefonat mit dem Patienten, aber auch durch Angehörige oder den betreuenden Hausarzt. Die Bezugspersonen von vier Patienten (2%) wurden nicht erneut kontaktiert, da deren Tod bereits in der 90-Tage-Nachuntersuchung erhoben worden war. Ein Jahr nach dem initialen Schlaganfall war bei 23 Patienten ein bedeutendes kardiovaskuläres Ereignis eingetreten. 13 Menschen waren verstorben, wobei bei sechs von ihnen der Tod einer kardiovaskulären Ursache zugeordnet wurde. Einer der Patienten, die den Beobachtungszeitraum nicht überlebten, verstarb an einem Schlaganfall, sodass sich die Zahl der BKEs auf 24 belief. Die folgende Tabelle (Tab. 3) zeigt die Anzahl der eingetretenen Endpunkte sowie die Parameter, die bei der Aufnahme der Patienten in die Studie erhoben wurden, für die gesamte Kohorte und stratifiziert nach hsTropT.

	Gesamt-Kohorte	hsTropT <6,15pg/ml (n=98)	hsTropT ≥6,15pg/ml (n=99)	p-Wert
Endpunkte				
Tod jeglicher Ursache	13	2	11	0.010
Bedeutendes kardiovaskuläres Ereignis	23	5	18	0.004
Tod kardiovaskulärer Ursache	6	1	5	0.053
Akutes Koronarsyndrom	6	2	4	0.145
Schlaganfall	12	3	9	0.077
Klinische Parameter				
Weibliches Geschlecht	81 (41,1%)	43 (43,9%)	38 (38,4%)	0.433
Alter	67 ± 13	62 ± 13	72 ± 11	<0.0005
Body-mass-Index	27,8 ± 5,9	27,6 ± 5,6	28,1 ± 6,3	0,568
Systolischer Blutdruck	143 ± 22	142 ± 21	144 ± 23	0,478
Diastolischer Blutdruck	79 ± 13	80 ± 11	78 ± 14	0,333
Herzfrequenz	74 ± 15	71 ± 12	77 ± 17	0,009
Körpertemperatur	36,8 ± 0,4	35,7 ± 0,3	36,8 ± 0,4	0,861
Vorhergegangener Schlaganfall	32 (16,2%)	14 (14,3%)	18 (18,2%)	0.459
Vorhergegangene TIA	19 (9,6%)	7 (7,1%)	12 (12,1%)	0.237
Herzinsuffizienz	10 (5,1%)	3 (3,1%)	7 (7,1%)	0.200
Arterieller Hypertonus	140 (71,1%)	61 (62,2%)	79 (79,8%)	0.007
Diabetes mellitus	43 (21,8%)	18 (18,4%)	25 (25,3%)	0.242
Nikotinabusus	50 (25,4%)	33 (33,7%)	17 (17,2%)	0.024
Hyperlipoproteinämie	64 (32,5%)	35 (35,7%)	29 (29,3%)	0.336
Koronare Herzkrankheit	23 (11,7%)	10 (10,2%)	13 (13,1%)	0.522
Neurologischer Status				
NIH-SS-Punktzahl	2 [1;4]	2 [1;3]	3 [1;6]	<0,0005
MRS-Punktzahl	2 [1;3]	2 [1;3]	2 [1;4]	0,001
Klinische Risikoscores				
ESRS	3[2, 4]	3[1, 4]	3[2,4]	0,001
SPI-II	5[3, 6]	3,5[2, 6]	5[2, 7]	<0,0005

	Gesamt-Kohorte	hsTropT <6,15pg/ml (n=98)	hsTropT ≥6,15pg/ml (n=99)	p-Wert
Echokardiographie				
LV-EF	62 ± 9	63 ± 9	61 ± 10	0,160
E/e´	10,5 ± 3,9	9,9 ± 3,5	11,2 ± 4,3	0,024
Schlaganfall-Klassifikation				
TIA	68 (34,5%)	41 (41,8%)	27 (27,3%)	
Minor stroke	55 (27,9%)	29 (29,6%)	26 (26,3%)	
Major stroke	74 (37,6%)	28 (28,6%)	46 (46,5%)	0,007
TOAST-Klassifikation				
Makroangiopathische Ursache	39 (19,8%)	23 (23,5%)	16 (16,2%)	
Kardioembolische Ursache	31 (15,7%)	11 (11,2%)	20 (20,2%)	
Mikroangiopathische Ursache	27 (13,7%)	9 (9,2%)	18 (18,2%)	
Andere spezifische Ursache	5 (2,5%)	2 (2,0%)	3 (3,0%)	
Unbekannte Ursache	95 (48,2%)	53 (54,1%)	42 (42,4%)	1,000
Routineparameter der Blutentnahme				
Kreatinin	0,97 ± 0,53	0,86 ± 0,22	1,09 ± 0,69	0,002
CRP	6,4 ± 17,3	4,5 ± 8,0	8,3 ± 23,0	0,126
Glucose	129 ± 53	120 ± 36	138 ± 64	0,020
Gesamt-Cholesterin	196 ± 46	199 ± 36	194 ± 54	0,418
LDL-Cholesterin	130 ± 39	131 ± 32	128 ± 45	0,686
HDL-Cholesterin	51 ± 13	53 ± 13	49 ± 14	0,046
Triglyceride	131 ± 67	127 ± 67	136 ± 67	0,329
HbA _{1c}	6,2 ± 1,1	6,1 ± 1,0	6,3 ± 1,2	0,093

Tab. 3: Charakteristika der Patienten bei Aufnahme in die Studie sowie die Anzahl der eingetretenen studienrelevanten Endpunkte nach einem Jahr für die gesamte Kohorte und stratifiziert nach hsTropT

3.1 Die neuen kardialen Biomarker in der univariaten Regressionsanalyse

In der univariaten Cox-Regressionanalyse, das heißt, ohne dass eine Adjustierung an klinische Parameter oder ein Vergleich der Marker untereinander stattgefunden hat, waren drei Marker signifikant prädiktiv für das Auftreten eines BKEs innerhalb eines Jahres nach dem initialen Schlaganfall. Dies waren GDF-15 ($p=0,009$), ein Marker, der möglicherweise im Zusammenhang mit hämodynamischem Stress steht, sowie die beiden Marker, die bei myokardialen Nekrosen freigesetzt werden, H-FABP ($p=0,023$) und hsTropT ($p<0,001$).

Signifikant prädiktiv in der univariaten Regressionsanalyse für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache waren hsTropT ($p<0,001$), GDF-15 ($p=0,007$) sowie NTproBNP ($p=0,050$). In dieser Untersuchung zeigte sich, dass proANP keine Vorhersage für das Eintreten des Todes erlaubte, während H-FABP ($p=0,051$) nur geringfügig das festgesetzte Signifikanzniveau verfehlte.

3.2 Die neuen kardialen Biomarker in der multivariaten Regressionsanalyse

Nachdem alle Marker in der multivariaten Cox-Regressionanalyse zusammengefasst wurden, zeigte sich, dass lediglich das hsTropT das Signifikanzniveau erreichte, sowohl für das Eintreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses ($p=0,045$) als auch für das Eintreten des Todes ($p=0,004$). Die anderen in den univariaten Analysen noch signifikanten Marker waren dies in der multivariaten nicht mehr und schienen daher keine weiterführenden prognostischen Informationen zu transportieren. Aus diesem Grund wurde die weitere statistische Auswertung auf das hsTropT beschränkt.

3.3 Detaillierte statistische Analyse des hsTropT

Durch die Untersuchung des Serums mit Hilfe des hoch sensitiven Assays konnte bei 115 (59,9%) Patienten das Herzmuskelenzym nachgewiesen werden. Die mediane Serumkonzentration lag bei 6,15pg/ml, wobei das 25%-Quantil 3,00pg/ml und das 75%-Quantil 13,95pg/ml betrug. Bei 48 Patienten (24,4%) wurde eine hsTropT-Konzentration von mehr als 14pg/ml ermittelt. Dies entspricht dem oberen Referenzwert in der gesunden Population und stellte in anderen Studien mit insgesamt 533 gesunden Freiwilligen das 99. Perzentil dar (Apple et al. 2012; Saenger et al. 2011).

Patienten mit erhöhtem hsTropT unterschieden sich, wie in Tabelle 3 dargestellt, in einigen klinischen Parametern. Im Speziellen waren signifikante Unterschiede gegeben für das Alter der Patienten, für eine erhöhte Herzfrequenz, für das Vorliegen eines arteriellen Hypertonus oder Nikotinabusus und für das Vorliegen einiger Veränderungen im Routinelabor: erhöhtes

Kreatinin, erhöhte Blutglukose-Werte sowie ein erhöhtes LDL-Cholesterin. Ferner war bei den Patienten mit erhöhtem hsTropT der echokardiographisch ermittelten Quotienten E/e' erhöht. Die hsTropT-Konzentrationen waren ebenfalls moderat mit der Konzentration aller anderen gemessenen Biomarker assoziiert.

Ein hsTropT-Wert, der über dem Median von 6,15pg/ml lag, war nicht nur signifikant für das Eintreten eines BKEs und für den Tod jeglicher Ursache, sondern trat bei Patienten, die irgendeinen der einzelnen Endpunkte aufwiesen, häufiger auf.

3.3.1 Die Bedeutung der hsTropT-Konzentration im Serum für das Eintreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses

Wurde das Patientenkollektiv hinsichtlich der Serumkonzentration des hsTropT in Patienten, die oberhalb des Median von 6,15pg/ml lagen und Patienten, deren Serumkonzentration niedriger war als der genannte Wert dichotomisiert, betrug die Hazard Ratio für das Eintreten eines BKEs 3,86. Das Konfidenzintervall lag zwischen 1,43 und 10,4 ($p=0,008$, Abb. 1A). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich, wenn Patienten, deren hsTropT-Konzentration oberhalb des oberen Grenzwertes von 14pg/ml lag, mit solchen verglichen wurden, deren Konzentration unterhalb dieser Grenze lag. Die Hazard Ratio war 2,20 [0,949;5,07] ($p=0,066$; Abb. 1B). Die beiden nachfolgenden Abbildungen illustrieren diesen Zusammenhang in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve.

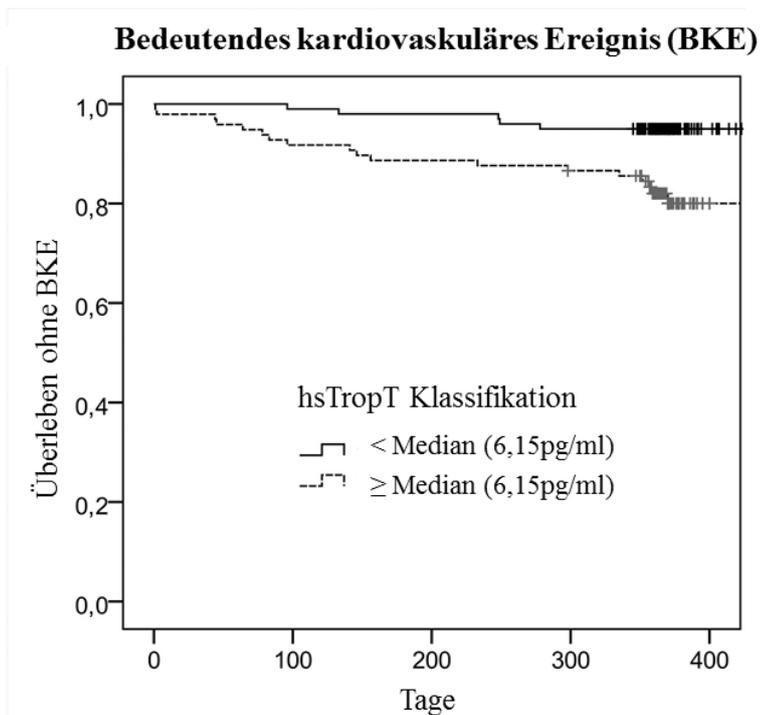


Abb. 1A: Auftreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses (kardiovaskulärer Tod, Re-Schlaganfall oder Myokardinfarkt) für Patienten mit hsTropT-Werten oberhalb bzw. unterhalb des Medians (6,15pg/ml), in Abhängigkeit von der Zeit

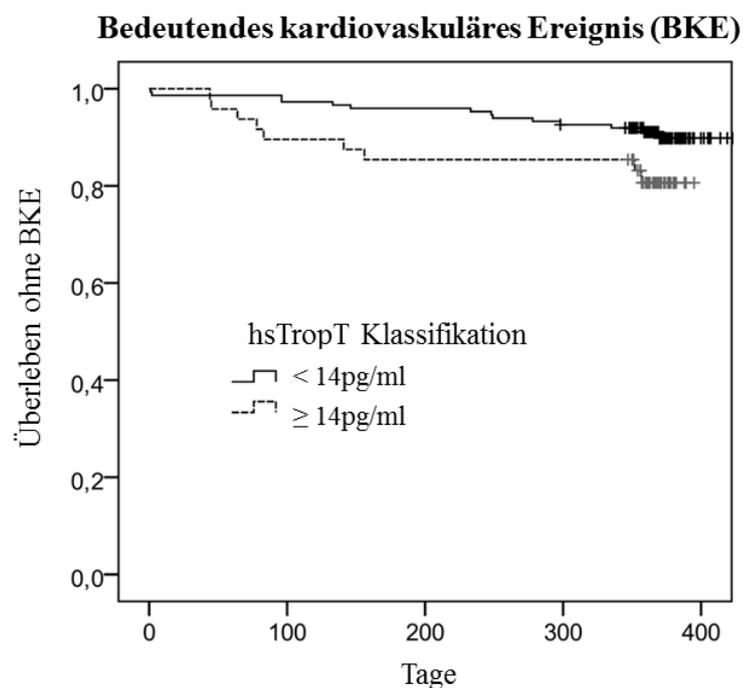


Abb. 1B: Auftreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses (kardiovaskulärer Tod, Re-Schlaganfall oder Myokardinfarkt) für Patienten mit hsTropT-Werten oberhalb bzw. unterhalb des oberen Referenzwerts (14pg/ml), in Abhängigkeit von der Zeit

Die oben eingeführten *Scores*, der ESRS und der SPI-II, sind prädiktive Modelle zur Vorhersage kardiovaskulärer Ereignisse. Die Aussagekraft jedes einzelnen klinischen Vorhersageverfahrens konnte durch das hsTropT signifikant verbessert werden, indem man den Biomarker als Kovariable in der multivariaten Cox-Regressionsanalyse verwandte. Wenn in einem weiteren Schritt die neurologischen Zustände in Form des NIH-SS und der MRS, wie sie bei der Aufnahme des Patienten ermittelt worden waren, als Kovariablen berücksichtigt wurden, behielt das hsTropT seine signifikante prädiktive Funktion für die Vorhersage eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses bei (Tab. 4).

	Model 1		Model 2		Model 3		Model 4	
	HR	p	HR	p	HR	P	HR	p
ESRS	1,36	0,009	1,19	0,165	1,24	0,070	1,27	0,046
SPI-II								
Ig(hsTropT)			2,92	0,002	2,52	0,010	2,72	0,007
NIH-SS					1,05	0,345	1,12	0,112
MRS							0,734	0,215

	Model 5		Model 6		Model 7		Model 8	
	HR	p	HR	p	HR	p	HR	p
ESRS								
SPI-II	1,27	0,001	1,17	0,039	1,21	0,024	1,22	0,018
Ig(hsTropT)			2,75	0,003	2,43	0,013	2,62	0,009
NIH-SS					1,02	0,785	1,08	0,312
MRS							0,742	0,235

Tab. 4: Multivariate Cox-Regressionsanalyse zur Bestimmung der Hazard Ratio des Eintretens eines BKEs unter Miteinbeziehung der klinischen Risikoscores, der hsTropT-Konzentration und des neurologischen Zustands des Patienten bei Aufnahme in die Studie

Um die prädiktive Wertigkeit des hsTropT und der beiden klinischen Verfahren, auch mit dem Fokus auf der Anwendung verschiedener Grenzwerte, besser einschätzen zu können, wurden ROC-Kurven erstellt. Die ROC-AUC für das hsTropT alleine ließ auf eine moderate diskriminatorische Wertigkeit des Biomarkers schließen (0,706 [0,596;0,815]), war aber im untersuchten Kollektiv tendenziell besser als für den ESRS (0,648 [0,530;0,766]; $p=0,484$) und den SPI-II (0,672 [0,556;0,787]; $p=0,689$).

Die ROC-AUC der einzelnen Scores konnte verbessert werden, indem das hsTropT in einer kombinierten Analyse den entsprechenden klinischen Verfahren zur Risikoeinschätzung hinzugefügt wurde. Der ESRS, gemeinsam mit dem Biomarker, hatte eine AUC von 0,743 [0,639;0,834] ($p=0,134$, Abb. 2A). Die AUC des SPI-II verbesserte sich in Verbindung mit dem Biomarker auf 0,760 [0,665;0,885] ($p=0,872$, Abb. 2B).

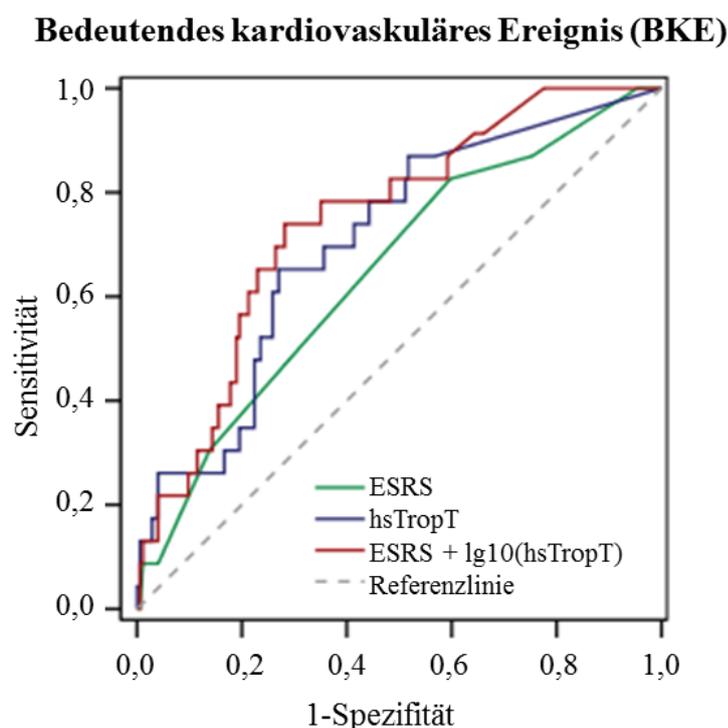


Abb. 2A: ROC-Kurve für die Vorhersage eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses (Kardiovaskulärer Tod, Re-Schlaganfall oder Myokardinfarkt) durch den *Essen Stroke Risk Score* (ESRS), die Serumkonzentration des hsTropT und die Kombination aus ESRS und hsTropT

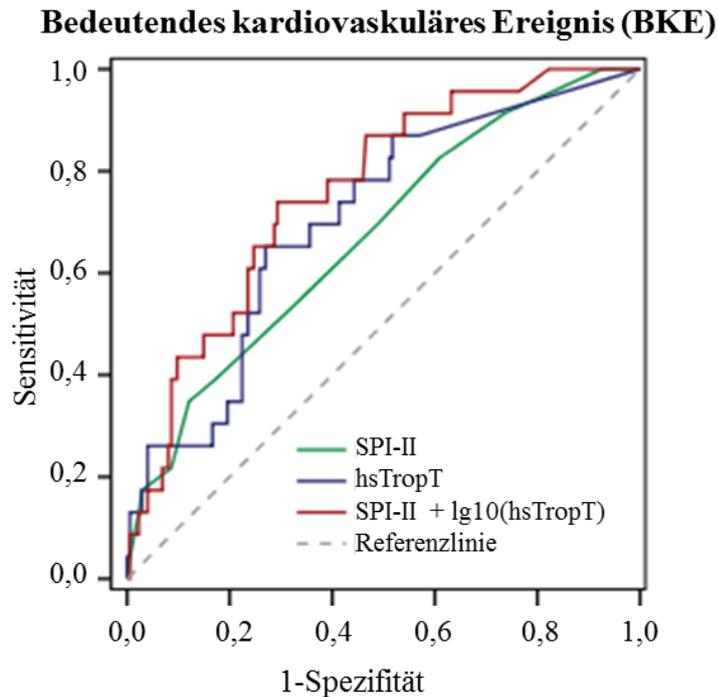


Abb. 2B: ROC-Kurve für die Vorhersage eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses (Kardiovaskulärer Tod, Re-Schlaganfall oder Myokardinfarkt) durch das *Stroke Prognosis Instrument II* (SPI-II), die Serumkonzentration des hsTropT und die Kombination aus SPI-II und hsTropT

Diese Ergebnisse spiegeln sich auch in der C-Statistik wider. Der *Concordance-Index* betrug für das hsTropT alleine 0,710 [0,608;0,811]. Für die separate Messung des ESRS war die C-Statistik 0,695 [0,567;0,822] ($p=0,424$). Der SPI-II erbrachte in der univariaten Analyse einen *Concordance-Index* von 0,699 [0,587;0,810] ($p=0,437$). Die C-Statistik konnte, wie auch schon die ROC-AUC, verbessert werden, indem man den klinischen Verfahren zur Risikoeinschätzung das hsTropT hinzufügte. Für das SPI-II und den Biomarker veränderte sich der Wert auf 0,763 [0,672;0,855] ($p=0,947$). Wenn der ESRS um das hsTropT ergänzt wurde, war eine Steigerung auf 0,747 [0,651;0,843] ($p=0,834$) festzustellen.

Zu bemerken ist jedoch, dass die Verbesserung der Vorhersagekraft der klinischen Risikobewertungssysteme durch Hinzufügen des Biomarkers als Prädiktor für das Eintreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses weder in der C-Statistik noch in der ROC-AUC das Signifikanzniveau erreichte. Dies kann sicherlich auf die Größe des vorliegenden Patientenkollektivs und auf die verhältnismäßig geringe Anzahl an BEKs im Beobachtungszeitraum zurückgeführt werden, obwohl in der multivariaten

Cox-Regressionsanalyse die Kombination der klinischen Verfahren mit dem Biomarker sogar zu einer hoch signifikanten Verbesserung der prädiktiven Wertigkeit führte.

Um die klinische Bedeutung des Markers noch besser evaluieren zu können, wurden der IDI und der NRI eingesetzt. Diese Indizes setzen die durch den Biomarker „korrekt neu“ klassifizierten Personen in ein Verhältnis zu den durch den Biomarker „falsch neu“ klassifizierten Patienten (Möhlenkamp et al. 2009). Nach Hinzufügen des hsTropT zum ESRS war der NRI 0,212 ($p=0,396$). Nach Auswertung des hsTropT zusätzlich zur Risikostratifizierung durch das SPI-II betrug der NRI 0,219 ($p=0,402$).

Der IDI betrug im Patientenkollektiv durch Hinzufügen des Biomarkers zum ESRS 0,055 ($p=0,237$). Nach der Ergänzung des SPI-II durch das hsTropT betrug er 0,219 ($p=0,006$). Besonders gut erschien die negative Prädiktion zu sein. Es gab keinen Patienten mit einem ESRS ≤ 2 und einer hsTropT-Konzentration unterhalb des Medians (6,15pg/ml), bei dem im Untersuchungszeitraum ein BEK auftrat. Dieser Trend zeigte sich auch bei Patienten, deren ESRS ≤ 2 war und deren Konzentration des Biomarkers unter dem 99. Perzentil von 14pg/ml lag. In dieser Gruppe zeigte sich bei lediglich zwei Patienten ein bedeutendes kardiovaskuläres Ereignis (Tab. 5).

hsTropT-Verteilung entsprechend dem Median			
	hsTropT <6.15pg/ml	hsTropT \geq 6.15pg/ml	Summe
ESRS ≤ 2	0/47 (0%)	4/27 (14,8%)	4/74 (5,4%)
ESRS >2	5/53 (9,4%)	14/70 (20,0%)	19/123 (15,4%)
Summe	5/100 (5,0%)	18/97 (18,6%)	23/197 (11,7%)
hsTropT-Verteilung entsprechend dem 99. Perzentil			
	hsTropT <14pg/ml	hsTropT \geq 14pg/ml	Summe
ESRS ≤ 2	2/60 (3,3%)	2/14 (14,3%)	4/74 (5,4%)
ESRS >2	12/89 (13,5%)	7/34 (20,6%)	19/123 (15,4%)
Summe	14/149 (9,4%)	9/48 (18,8%)	23/197 (11,7%)

Tab. 5: Das Auftreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses in Abhängigkeit von der hsTropT-Konzentration und dem ESRS

3.3.2 Die Bedeutung der hsTropT-Konzentration im Serum für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache

Ähnlich wie schon für die BKEs beschrieben, gab es auch bei Patienten, die innerhalb des Beobachtungszeitraums verstarben und solchen, die überlebten, einen signifikanten Unterschied in der Serumkonzentration des hsTropT.

Die Hazard Ratio für den Tod bei Patienten mit einer hsTropT-Konzentration über dem Median (6,15pg/ml), bezogen auf Patienten, deren Konzentration niedriger als der Median war, betrug 5,95 [1,32;26,9] ($p=0,020$; Abb. 3A). Für Patienten mit einer Konzentration oberhalb im Vergleich zu solchen mit einer Konzentration unterhalb des 99. Perzentils (14pg/ml) betrug die Hazard Ratio 3,82 [1,28;11,4] ($p=0,016$; Abb. 3B)

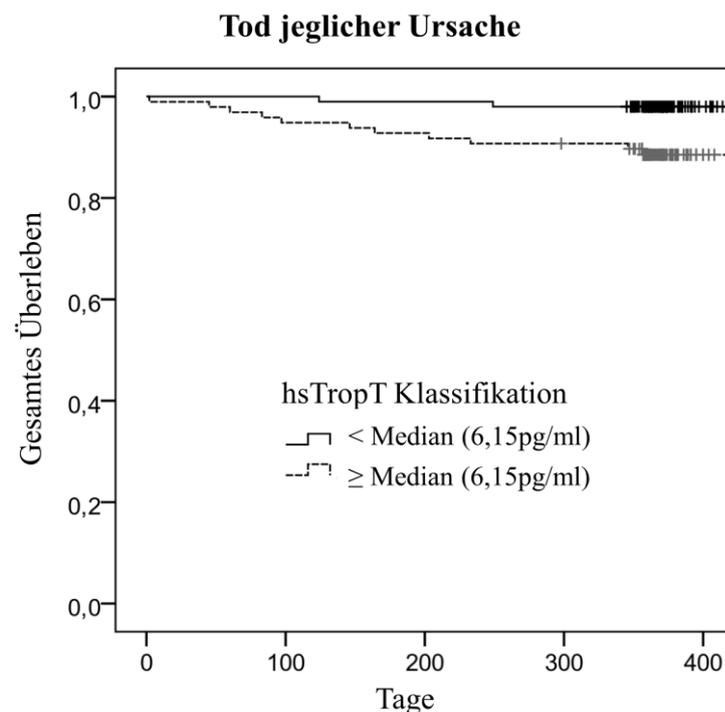


Abb. 3A: Eintreten des Todes jeglicher Ursache für Patienten mit hsTropT-Werten oberhalb bzw. unterhalb des Median (6,15pg/ml), in Abhängigkeit von der Zeit

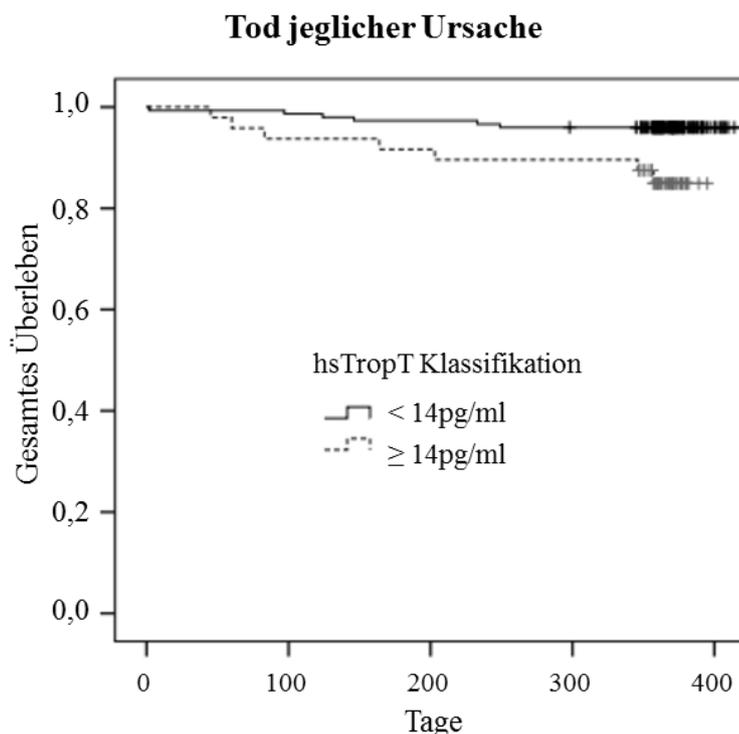


Abb. 3B: Eintreten des Todes jeglicher Ursache für Patienten mit hsTropT-Werten oberhalb bzw. unterhalb des oberen Referenzwerts (14pg/ml), in Abhängigkeit von der Zeit

In der multivariaten Cox-Regressionsanalyse zeigte sich, dass das Hinzufügen des Biomarkers als Kovariable, wie auch schon bei der Untersuchung der BKEs geschehen, die prädiktive Aussagekraft in der Kombination mit den klinischen Vorhersagemodellen signifikant steigerte. Dieser Zusammenhang blieb auch dann signifikant bestehen, wenn der initial erhobene neurologische Status des Patienten in Form des NIH-SS oder der MRS als Kovariable für die Schwere des Schlaganfalls berücksichtigt wurde (Tab. 6).

	Model 1		Model 2		Model 3		Model 4	
	HR	p	HR	p	HR	p	HR	p
ESRS	1,530	0,004	1,27	0,121	1,26	0,133	1,37	0,032
SPI-II								
lg(hsTropT)			4,13	0,001	3,82	0,004	2,87	0,001
NIH-SS					1,13	0,018	1,31	0,001
MRS							0,538	0,096

	Model 5		Model 6		Model 7		Model 8	
	HR	p	HR	p	HR	p	HR	P
ESRS								
SPI-II	1,35	0,002	1,22	0,053	1,15	0,178	1,17	0,144
lg(hsTropT)			4,08	0,001	4,02	0,002	4,60	0,001
NIH-SS					1,11	0,080	1,20	0,018
MRS							0,589	0,124

Tab. 6: Multivariate Cox-Regressionsanalyse zur Bestimmung der Hazard Ratio des Todes jeglicher Ursache unter Miteinbeziehung der klinischen Risikoscores, der hsTropT-Konzentration und dem neurologischen Zustand des Patienten bei Aufnahme in die Studie

Wurde eine ROC-Kurve erstellt, zeigte sich, dass die prognostische Wertigkeit des hsTropT alleine moderat war, aber im untersuchten Kollektiv dennoch besser als die der klinischen Risikoscores. Die ROC-AUC betrug in der univariaten Analyse für das hsTropT 0,755 [0,616;0,894]. Analog der Entwicklung, wie sie bereits für die BKEs berechnet wurde, war eine Verbesserung der AUC für die Vorhersage des Todes durch das Hinzufügen des hsTropT als Kovariable zu den klinischen Verfahren zu verzeichnen. Die AUC für den ESRS alleine betrug 0,712 [0,544;0,866]. Das hsTropT verbesserte die AUC auf 0,810 [0,671;0,923] ($p=0,217$) (Abb. 4A).

Der SPI-II erreichte in der univariaten Analyse eine AUC von 0,694 [0,530;0,842]. Nachdem der Biomarker zur Analyse hinzugefügt wurde, verbesserte sich die AUC auf 0,790 [0,634;0,919] ($p=0,068$) (Abb. 4B).

Es zeigte sich daher, dass die zusätzliche Bestimmung des hsTropT die prädiktive Wertigkeit der klinischen Risikoscores numerisch verbesserte. Das Signifikanzniveau wurde aber entgegen der Untersuchung in der multivariaten Cox-Regression nicht erreicht.

Das zweite eingesetzte Verfahren zur Analyse der Überlebenszeitverteilung, die C-Statistik, erbrachte ebenfalls eine zahlenmäßige Verbesserung des *Concordance-Index* durch das Hinzufügen des Biomarkers zu den klinischen Verfahren. Der ESRS für sich betrachtet hatte eine C-Statistik von 0,744 [0,575;0,912], die sich mit dem Biomarker auf 0,793 [0,669;0,918] ($p=0,760$) verbesserte. Die Kombination des SPI-II mit dem hsTropT führte zu einer Steigerung

auf 0,708 [0,549;0,867], für das klinische Verfahren alleine auf 0,795 [0,656;0,934] ($p=0,924$). Die C-Statistik für das hsTropT in der einzelnen Analyse betrug 0,751 [0,624;0,878]. Entsprechend der ROC-AUC erreichte jedoch auch die Verbesserung der C-Statistiken durch die Kombination der klinischen Verfahren mit dem Biomarker nicht das Signifikanzniveau.

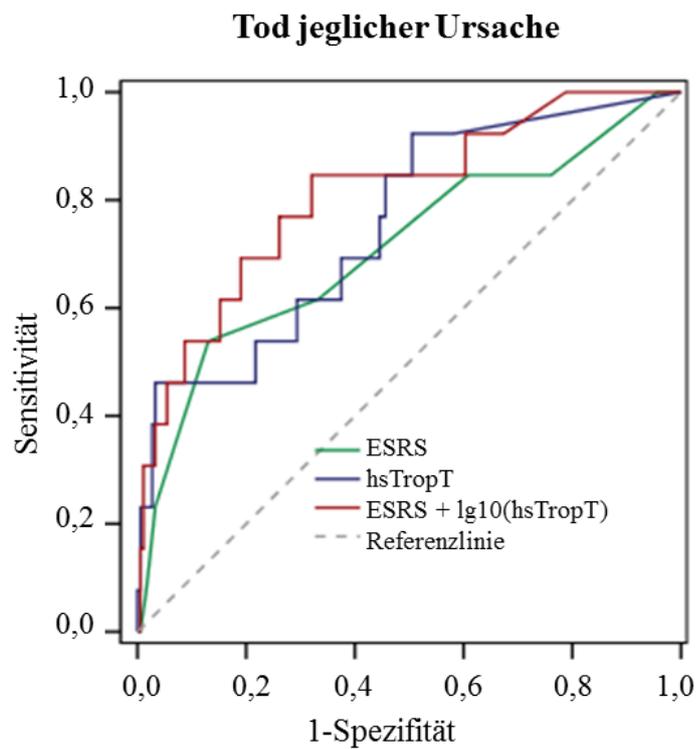


Abb. 4A: ROC-Kurve für die Vorhersage des Todes jeglicher Ursache durch den *Essen Stroke Risk Score* (ESRS), die Serumkonzentration des hsTropT und die Kombination aus ESRS und hsTropT

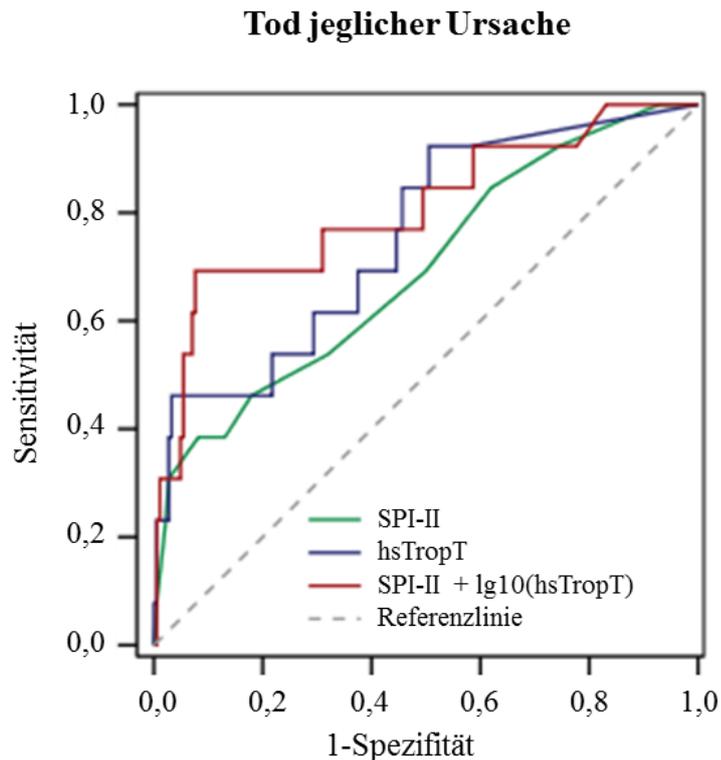


Abb. 4B: ROC-Kurve für die Vorhersage des Todes jeglicher Ursache durch das *Stroke Prognosis Instrument II* (SPI-II), die Serumkonzentration des hsTropT und die Kombination aus SPI-II und hsTropT

Mit Hilfe des IDI und des NRI wurden die durch den Biomarker richtig reklassifizierten Patienten ins Verhältnis zu den falsch reklassifizierten gesetzt. Für die Kombination des ESRS mit dem hsTropT ergab sich ein IDI von 0,094 ($p=0,102$). Wurde der SPI-II um den Biomarker ergänzt, betrug der IDI 0,313 ($p<0,001$).

Erneut zeigte sich, wie auch schon für die Wahrscheinlichkeit des Eintretens eines BKEs, dass die negative Prädiktion besonders gut war. Kein Patient, dessen hsTropT unter dem Median (6,15pg/ml) lag und dessen ESRS ≤ 2 war, verstarb im Beobachtungszeitraum. Des Weiteren überlebte lediglich eine Person nicht bis zur Nachuntersuchung nach einem Jahr, deren ESRS ≤ 2 war und deren hsTropT-Konzentration sich unterhalb des 99. Perzentils (14pg/ml) befand (Tab. 7).

hsTropT entsprechend dem Median			
	hsTropT <6.15pg/ml	hsTropT ≥6.15pg/ml	Summe
ESRS ≤2	0/47 (0%)	2/27 (7,4%)	2/74 (2,7%)
ESRS >2	2/53 (3,8%)	9/70 (12,9%)	11/123 (8,9%)
Summe	2/100 (2,0%)	11/97 (11,3%)	13/197 (6,6%)
hsTropT entsprechend dem 99. Perzentil			
	hsTropT <14pg/ml	hsTropT ≥14pg/ml	Summe
ESRS ≤2	1/60 (1,7%)	1/14 (7,1%)	2/74 (2,7%)
ESRS >2	5/89 (5,6%)	6/34 (17,6%)	11/123 (8,9%)
Summe	6/149 (4,0%)	7/48 (14,6%)	13/197 (6,6%)

Tab. 7: Das Eintreten des Todes jeglicher Ursache in Abhängigkeit von der hsTropT-Konzentration und dem ESRS

4 Diskussion

Das Ergebnis dieser Studie ist, dass in der univariaten Cox-Regressionsanalyse drei der fünf untersuchten Biomarker, GDF-15, H-FABP und hsTropT, eine signifikante Vorhersage für das Eintreten eines BKEs ermöglichen. Zudem sind GDF-15, NTproBNP und hsTropT Prädiktoren für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache. In der multivariaten Analyse hinsichtlich des Risikos eines der beiden Endpunkte verlieren GDF-15, H-FABP und NTproBNP ihre Signifikanz. Die neue Erkenntnis dieser Studie ist, dass das hsTropT nach der multivariaten Analyse eine unabhängige Vorhersage nicht nur für den Tod jeglicher Ursache erlaubt, sondern auch eine Risikostratifizierung für das Eintreten eines BKEs ermöglicht und das auch über das Maß etablierter klinischer Verfahren hinaus.

4.1 Ausgewählte Biomarker, die eine Risikostratifizierung für das Eintreten eines BKEs oder des Todes jeglicher Ursache ermöglichen

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl verschiedener Biomarker im Zusammenhang mit zerebralen Ischämien untersucht. Mit ihrer Hilfe kann es möglich sein, die Diagnostik eines Schlaganfalls zu beschleunigen und zu verbessern, eine Einordnung hinsichtlich der Ätiologie vorzunehmen sowie Aussagen zur Prognose des Patienten zu treffen (Castellanos und Serena 2007). Eingang in die klinische Routine fand jedoch bisher keiner der Marker. Patienten, die einen ischämischen Schlaganfall oder eine TIA erlitten haben, haben ein signifikant erhöhtes Risiko, ein weiteres kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden oder an einer Ursache zu versterben, die in einem kardiovaskulären Zusammenhang zu sehen ist. Aus diesem Grund kommt der Langzeittherapie und Sekundärprävention eines Patienten nach einem ischämischen Schlaganfall und der Identifizierung der Patienten, die ein besonders hohes Risiko für eine negative Langzeitentwicklung haben, eine große Bedeutung zu (Touzé et al. 2005).

Mehrere Biomarker wurden bereits hinsichtlich ihrer prädiktiven Wertigkeit für die generelle Behinderung des Patienten durch neurologische Defizite sowie für die Risikostratifizierung für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache untersucht. Die Zeiträume, in denen Patienten einer Nachuntersuchung unterzogen wurden, waren häufig kurz und die Anzahl der untersuchten Patienten moderat (Whiteley et al. 2009). Erst in jüngster Zeit wurden Studien veröffentlicht, die die Bedeutung verschiedener Marker in größeren Patientenkollektiven untersuchten. Aktuell wurde in mehreren Kohorten die prädiktive Bedeutung des Copeptins nachgewiesen, ein Fragment des Provasopressins, das in äquimolarer Menge ausgeschüttet wird. Die multivariate Analyse mit dem Wert der NIH-SS bei Aufnahme des Patienten zeigte, dass durch die

Bestimmung der Serumkonzentration dieses Proteins eine Verbesserung der Vorhersage hinsichtlich der neurologischen Beeinträchtigung, gemessen an der MRS, und des Todes jeglicher Ursache möglich ist (Katan et al. 2009; Urwyler et al. 2010). Einen ähnlichen Zusammenhang wiesen Katan et al. (2010) für das proANP nach. Das auch in dieser Studie untersuchte Protein verbessert in der multivariaten Analyse die Trennschärfe des bei Aufnahme gemessenen NIH-SS-Wertes für die neurologische Beeinträchtigung und den Tod jeglicher Ursache in einem Nachbeobachtungszeitraum von 90 Tagen (Katan et al. 2010). Auch für das GDF-15, das auch Gegenstand dieser Untersuchung war, wurde jüngst die prädiktive Wertigkeit für eine negative neurologische Entwicklung innerhalb von 90 Tagen, gemessen mit der MRS, nachgewiesen. Die Untersuchung erfolgte jedoch lediglich an einem Kollektiv mit 57 Patienten (Worthmann et al. 2011).

Das Eintreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses ist jedoch in einem Kollektiv, das ausschließlich aus Patienten besteht, die eine zerebrale Ischämie erlitten haben, selten Gegenstand der klinischen Forschung gewesen. Rothwell et al. (2004) analysierten in einer Metaanalyse, die drei Studien mit Patienten umfasste, die eine TIA oder einen minor stroke erlitten hatten, die Bedeutung des Fibrinogens. Eine erhöhte Serumkonzentration dieses Markers ist ein unabhängiger Risikofaktor für das Eintreten eines Reapoplexes, eines Myokardinfarkts oder eines anderen ischämischen vaskulären Ereignisses. Die Wahrscheinlichkeit eines Todes jeglicher Ursache kann jedoch nicht abgeschätzt werden (Rothwell et al. 2004).

Whiteley et al. (2011) belegten einen ähnlichen Zusammenhang nicht nur für das Fibrinogen, sondern auch für andere Parameter, die im Zusammenhang mit einer inflammatorischen Reaktion stehen. Interleukin-6, CRP und Fibrinogen können als Biomarker für die Risikostratifizierung eines BKEs und für das Eintreten des Todes sowohl kardiovaskulärer Ursache als auch nicht kardiovaskulärer Ursache dienen. Nach der Adjustierung an alle erhobenen klinischen Marker erreichte jedoch lediglich das Interleukin-6 das Signifikanzniveau. Nachdem man mit diesem Biomarker ein Risikobewertungssystem, das auf klinischen Daten beruht, ergänzte, wurde die C-Statistik lediglich von 0,62 auf 0,64 verbessert, was die moderate Bedeutung dieses Markers unterstreicht (Whiteley et al. 2011).

Ebenfalls Gegenstand der klinischen Forschung für die Risikoprädiktion nach Schlaganfall sind das BNP und seine Propeptide. Die Serumkonzentration dieses Markers erlaubt die Abschätzung des Mortalitätsrisikos nach ischämischem Schlaganfall (Jensen et al. 2006; Jensen et al. 2009; Sharma et al. 2006). Die Bedeutung für die Prädiktion anderer kardiovaskulärer Ereignisse nach einem Apoplex wurde bis jetzt nur in kleineren Studien nachgewiesen (Yip et al. 2006). Arbeiten

aus der Find-AF-Studie zeigten zum Beispiel, dass erhöhte Serumspiegel von BNP oder NTproBNP mit dem vermehrten Auftreten von paroxysmalem Vorhofflimmern assoziiert sind (Wachter et al. 2012). In der aktuellen Untersuchung ist das NTproBNP lediglich in der univariaten Analyse prädiktiv für das Eintreten des Todes jeglicher Ursache, in der multivariaten Cox-Regression erreicht es nicht mehr das Signifikanzniveau.

Es ist allerdings problematisch, dass viele Biomarker, die im Zusammenhang mit der Ischämie im Gehirn freigesetzt werden, nur in geringem Ausmaß die Blut-Hirn-Schranke passieren und damit die diagnostische Aussagekraft einschränken (Saenger und Christenson, 2010). Unter Berücksichtigung der ausgewählten Endpunkte ist hier allerdings nicht von einer Beeinflussung der Ergebnisse auszugehen, da es nicht das Ziel dieser Untersuchung ist, die Entwicklung neurologischer Defizite des Patienten abzuschätzen. In dieser Studie wurden Proteine untersucht, die bereits im Zusammenhang mit kardialen Erkrankungen eine gewisse Bedeutung erlangt haben. Die Untersuchung dieser Marker liegt nahe, da sie im Zusammenhang mit Prozessen stehen, die einen Einfluss auf die Pathophysiologie der verwendeten klinischen Endpunkte haben.

4.2 Die Bedeutung des hsTropT für die Prognose nach einem Jahr

Eine Troponin-T-Konzentration oberhalb des 99. Perzentils in der gesunden Bevölkerung, was 14pg/ml entspricht, wurde bei 48 Patienten (24,4%) detektiert, der Median lag bei 6,15pg/ml. Der Umstand, dass es bei Patienten, die einen ischämischen Schlaganfall erlitten haben, zu einem Anstieg der Troponin-T-Konzentration kommt, ist bereits seit längerer Zeit bekannt. In einem Review von 2009 analysierten Kerr et al. elf Studien, die die Bedeutung erhöhter Serumspiegel des Troponin T im Zusammenhang mit Schlaganfällen untersuchten. Die Studien, die einen Wert >100pg/ml als erhöht ansahen, wiesen in ihrem Kollektiv durchschnittlich ≈19% Patienten auf, die über diesem Grenzwert lagen. Solche, deren Grenzwert bei <100pg/ml angesiedelt war, beinhalteten im Durchschnitt ≈8% Patienten mit erhöhten Werten; ein Umstand, der aber anderen Störgrößen zugeschrieben wird (Kerr et al. 2009). James et al. belegten 2000 erstmals, dass ein Zusammenhang zwischen der Troponin-T-Konzentration nach einem Schlaganfall und der Mortalität der Patienten besteht (James et al. 2000). Seither wurde häufiger die prädiktive Bedeutung dieses Proteins bei Schlaganfallpatienten hinsichtlich der funktionellen neurologischen Entwicklung dargelegt, meistens beschrieben in Form des NIH-SS oder der MRS (Jensen 2008; Jensen et al. 2007 a; Song et al. 2008).

Neu an dieser Studie ist die Anwendung eines hoch sensitiven Assays zur Ermittlung der Troponin-T-Konzentration mit einem *limit of detection* von 5ng/l. Morrow et al. wiesen bereits 2001 in einer Studie mit über 2000 Patienten, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten, die Bedeutung sehr niedriger Troponin-T-Konzentrationen für das Risiko, einen Reinfarkt zu erleiden oder zu versterben, nach (Morrow et al. 2001). Auch kann mit Hilfe dieses Assays die positive Prädiktion eines *non-ST-elevation myocardial infarction* (NSTEMI) auf 100% verbessert werden (Giannitsis et al. 2010). Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Messverfahrens ist es möglich, auch bei gesunden Probanden eine unter Umständen vorliegende, minimale Erhöhung der Troponin-T-Konzentration nachzuweisen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass hsTropT ein unabhängiger Parameter für die Vorhersage eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses oder des Todes jeglicher Ursache ist. Adjustiert wurde dieser Zusammenhang an zwei etablierte klinische Verfahren zur Risikoabschätzung, ESRS und SPI-II. Dies schien aufgrund der moderaten Größe der Studie das adäquateste Verfahren zu sein und spiegelt auch die derzeitige klinische Praxis wider. Tabelle 3 zeigt, dass in der univariaten Analyse nicht nur ein Zusammenhang zwischen einer Erhöhung des Biomarkers und einem erhöhten Mortalitätsrisiko sowie dem Risiko, ein BKE zu erleiden, besteht, sondern dass ein Anstieg der Serumkonzentration des hsTropT auch in signifikanter Weise mit vielen der etablierten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert ist. Um eine systematische Fehleinschätzung zu vermeiden, flossen diese Risikofaktoren in Form des ESRS und des SPI-II in die multivariate Cox-Regressionsanalyse ein. Der Biomarker führt auch nach Adjustierung des neurologischen Zustands des Patienten in Form der NIH-SS und der MRS weiterhin zu einer signifikant verbesserten Aussagekraft hinsichtlich des Todes jeglicher Ursache beider klinischer Risikoscores. Bei einer Verzehnfachung der Troponinkonzentration erhöht sich das Risiko, im Beobachtungszeitraum zu versterben, in der multivariaten Cox-Regression für das Modell des ESRS um den Faktor 2,87 ($p=0,001$) und für das Modell des SPI-II um den Faktor 4,60 ($p=0,001$) (Tab. 6). Die Prädiktion der klinischen Verfahren für das Eintreten eines BKEs kann in dieser multivariaten Analyse, unter Berücksichtigung der Ausprägung des Schlaganfalls, ebenfalls signifikant gesteigert werden. Durch eine Verzehnfachung der Troponinkonzentration wird das Risiko, ein BKE zu erleiden, in der multivariaten Cox-Regression für das Modell des ESRS um den Faktor 2,72 ($p=0,007$) und für das Modell des SPI-II um den Faktor 2,62 ($p=0,009$) gesteigert (Tab. 4).

Um die Bedeutung des Biomarkers auch hinsichtlich verschiedener Grenzwerte besser einschätzen zu können, wurde die *receiver operating characteristic curve* sowie die C-Statistik

berechnet. Die Kombination der klinischen Verfahren zur Risikoeinschätzung mit der Serumkonzentration des hsTropT führt numerisch sowohl zu einem Anstieg der ROC-AUC als auch zu einer Verbesserung des *Concordance-Index*. Dieser Zusammenhang ist für das Risiko eines BKEs sowie auch für die Wahrscheinlichkeit des Todes jeglicher Ursache gegeben, erreicht aber in keinem der Fälle das Signifikanzniveau.

Besonders hoch ist die negative Prädiktion des Biomarkers. Patienten, die einen niedrigen ESRS oder einen niedrigen SPI-II aufwiesen und zusätzlich nach Dichotomisierung entsprechend einem hsTropT-Wert zum Median oder zum 99. Perzentil in die untere Gruppe eingeordnet wurden, erlitten nahezu kein BKE und verstarben im Beobachtungszeitraum nicht.

Die Bedeutung des Troponin T für das Eintreten eines BKEs nach ischämischem Schlaganfall wurde in der Vergangenheit noch nicht untersucht. Di Angelantonio et al. wiesen jedoch 2005 die Bedeutung erhöhter Troponin-I-Werte für das Risiko eines Todes jeglicher Ursache oder das Auftreten eines kardialen Ereignisses, im Speziellen der Tod kardiovaskulärer Ursache, Angina pectoris, Myokardinfarkt und Herzinsuffizienz, nach. In der multivariaten Analyse wurde dieser Zusammenhang an klinische und laborchemische Parameter sowie die medizinische Historie hinsichtlich kardialer Erkrankungen adjustiert und behielt seine Signifikanz. ROC-Kurven oder C-Statistiken wurden jedoch nicht erstellt und auch ein Vergleich mit bereits etablierten klinischen Risikomodellen fand nicht statt (Di Angelantonio et al. 2005). Eine ähnliche prädiktive Bedeutung hat das Troponin I auch für das Eintreten eines kombinierten kardiovaskulären Endpunkts, bestehend aus Schlaganfall, Myokardinfarkt und Tod, in einem Beobachtungszeitraum von drei Monaten nach einem stattgehabten Schlaganfall (Beaulieu-Boire et al. 2012).

Der Zusammenhang zwischen erhöhter Serumkonzentration des Troponin T und dem Risiko innerhalb eines definierten Beobachtungszeitraums zu versterben, wurde in der Vergangenheit häufiger belegt. Erstbeschreiber waren James et al. (2000). In einer Beobachtungsstudie mit 181 Patienten wiesen sie bei 30 Teilnehmern (17%) mit einer erhöhten Troponin-T-Konzentration nach, dass es einen Zusammenhang gibt zwischen dem Serumspiegel des Troponin T und dem Risiko des Patienten, während des Krankenhausaufenthaltes zu versterben (relatives Risiko: 3,2 (95%-Konfidenzintervall 1,7 bis 5,8; $p=0,0025$)). Dieser Zusammenhang hatte auch 60 Tage nach dem initialen Schlaganfall noch Bestand. Als mögliche Störvariablen wurden Informationen über Herzerkrankungen und die kardiale Anamnese sowie etablierte Risikofaktoren, das Alter und die Schwere des Insults, gemessen an der *Scandinavian Stroke Scale*, in der multivariaten Analyse berücksichtigt. Zu bemerken ist, dass es sich um eine Studie

mit einem sehr kurzen Nachbeobachtungszeitraum handelt, eine späte Nachuntersuchung fand nicht statt. Des Weiteren verzichteten die Autoren auf die Berechnung einer C-Statistik oder ROC-Kurve sowie auf den Vergleich mit etablierten Verfahren zur Risikobestimmung (James et al. 2000). Jensen et al. führten 2007 ebenfalls den Nachweis, dass eine erhöhte Troponin-T-Konzentration bei Patienten mit stattgehabtem ischämischem Schlaganfall zu einem Anstieg des Mortalitätsrisikos jeglicher Ursache führt. In jener Studie mit 244 Patienten wiesen 10% der Patienten eine erhöhte Troponinkonzentration auf (≥ 100 pg/ml). In der univariaten Analyse ergab sich eine Hazard Ratio von 7,92 [4,03;15,53] ($p < 0,001$). Im multivariaten Cox-proportionalen Hazard-Modell wurde lediglich eine Adjustierung an das Alter, die Schwere des Schlaganfalls, gemessen an der *Scandinavian Stroke Scale*, und an das Vorliegen einer Herzinsuffizienz oder einer Niereninsuffizienz durchgeführt. Die Hazard Ratio in der multivariaten Analyse ist 3,39 [1,34;8,60] ($p = 0,01$) (Jensen et al. 2007 b).

Diesen Zusammenhang zwischen erhöhten Serumkonzentrationen des Troponin T und einem Anstieg des Mortalitätsrisikos konnten Etgen et al. (2005) allerdings nicht nachweisen. In einer Studie mit 174 Patienten wurde bei acht Patienten (4,6%) ein Anstieg des Biomarkers auf über 30ng/ml beobachtet. In der multivariaten Regressionsanalyse wurde an folgende Parameter adjustiert: Geschlecht, Beteiligung der Insularregion, Hypertonus, Diabetes, Hyperlipidämie und kardiale Vorerkrankungen sowie pathologische Laborwerte. Patienten, die Anzeichen eines in den vorangegangenen vier Wochen stattgehabten oder eines akuten Myokardinfarktes hatten, wurden aus der Studie ausgeschlossen. In einer Nachbeobachtungsperiode von drei Monaten, in der 19 Patienten (10,9%) verstarben, wurde kein signifikanter Zusammenhang zur Troponinkonzentration beobachtet (Etgen et al. 2005). Mögliche Ursache für die Ergebnisse der Regressionsanalyse in jener Studie ist die sehr geringe Zahl an Patienten mit erhöhten Serumkonzentrationen des Biomarkers.

4.3 Die Ursachen der Troponin-T-Erhöhung

Da es sich bei Troponin T um einen Marker handelt, dessen Sezernierung mit hoher Spezifität kardialer Genese ist, stellen pathologische Prozesse am Herz eine entscheidende Störgröße einer Biomarkererhöhung dar. Sie können aber auch als Ursache für den Index-Schlaganfall oder für ein erhöhtes Mortalitätsrisiko nach dem Schlaganfall beziehungsweise als Auslöser eines BKEs in Betracht kommen.

Die Bestimmung der genauen Ursachen einer Erhöhung der Troponinkonzentration im Zusammenhang mit ischämischen Schlaganfällen ist vielfältig, komplex und schwierig zu

quantifizieren (Kerr et al. 2009), sodass sie nicht alle als Störvariable in der Analyse berücksichtigt werden können. Es ist schwierig einzuschätzen, ob die Erhöhung des Troponins als Folge der neurologischen Schädigung anzusehen ist, oder ob vor dem Schlaganfall bereits eine myokardiale Schädigung bestanden hat. Viele Patienten, die einen Schlaganfall erleiden, weisen im EKG Veränderungen der Reizleitung auf, die auf eine myokardiale Ischämie hindeuten. Das Auftreten solcher Veränderungen ist bei Patienten mit erhöhten Troponinkonzentrationen im Serum deutlich häufiger, als bei solchen mit physiologischen Werten (Kerr et al. 2009). Es zeigte sich, dass neben dem akuten ischämischen Ereignis, dem Myokardinfarkt, auch das Vorliegen einer dilatativen Kardiomyopathie sowie das Einsetzen einer Lungenembolie für den Anstieg der Serumkonzentration verantwortlich sein können (Lauer et al. 1997; Sato et al. 1997; Swaanenburg et al. 1998). Auch die Herzinsuffizienz stellt eine Ursache für die Freisetzung des Biomarkers dar, der auch Rückschlüsse auf die Prognose des Patienten erlaubt (Latini et al. 2007). Da es sich bei dem untersuchten Marker um ein Protein handelt, das renal eliminiert wird, führt eine dialysepflichtige Niereninsuffizienz zu einem Anstieg des Troponin T. Bei diesen Patienten erlaubt die Serumkonzentration ebenfalls einen Rückschluss auf die Langzeitentwicklung (deFilippi et al. 2003; Dierkes et al. 2000; Iliou et al. 2003).

Die kardiovaskulären Erkrankungen der Patienten wurden bei der Aufnahme in die Studie anamnestisch erfragt oder mittels EKG oder Echokardiographie ausgeschlossen oder bestätigt. Die erhobenen Daten fanden anschließend Eingang in die Ermittlung des ESRS und des SPI-II und wurden so, wenn auch nicht in direkter Weise, in den multivariaten Analyseverfahren berücksichtigt. Es kann jedoch nicht definitiv ausgeschlossen werden, dass bei einigen Patienten eine nicht erkannte kardiale Erkrankung, im Speziellen ein NSTEMI, als Ursache der hsTropT-Erhöhung vorliegt. Möglicherweise konnten Symptome einer myokardialen Ischämie während der Aufnahme des Patienten aufgrund kognitiver oder sprachlicher Einschränkungen, die durch den Schlaganfall verursacht wurden, nicht erkannt werden. Eine retrospektive Diagnostik eines NSTEMI ist leider aus den vorliegenden Daten nicht sinnvoll möglich. In diesem Zusammenhang sei jedoch darauf hingewiesen, dass keines der bedeutenden kardiovaskulären Ereignisse im Nachbeobachtungszeitraum innerhalb der ersten zwei Wochen stattgefunden hat und somit der klinische Endpunkt als direkte Ursache der Erhöhung des Biomarkers ausgeschlossen ist. Des Weiteren handelt es sich bei nur $\approx 25\%$ der BKEs um ein akutes Koronarsyndrom.

Neben der kardialen Genese der erhöhten Troponinkonzentration im Serum geht ein Anstieg des Markers auch einher mit einer Steigerung der sympathoadrenalen Aktivität. Dies kann als Folge einer Ischämie im Bereich des Lobus insularis angesehen werden (Barber et al. 2007; Song et al. 2008). Dieser vermehrte sympathische Stress in Verbindung mit einem Anstieg des Blutdrucks und der Herzfrequenz führt sekundär zu diffusen myokardialen Veränderungen und Myozytolysen (Ay et al. 2006; Barber et al. 2007; Klingelhöfer und Sander 1997; Oppenheimer 1992; Song et al. 2008). Eine Ischämie, die den Lobus insularis einschließt oder in seiner unmittelbaren Nähe stattfindet, kann eine Takotsubo-Kardiomyopathie bedingen. Die größte Untersuchung wurde in diesem Zusammenhang von Yoshimura et al. durchgeführt, die in einer Kohorte mit 569 Patienten, die einen Schlaganfall erlitten hatten, sieben (1,2%) erkrankte Patienten identifizierten (Yoshimura et al. 2008). Diese Form der Kardiomyopathie zeichnet sich durch eine Hypo- oder Akinese in den mittleren und apikalen Segmenten des linken Ventrikels aus, ist aber vollständig reversibel. Die Pathophysiologie dieses Ereignisses ist nicht hinreichend geklärt, vermutet wird aber eine Beeinträchtigung der Kardiomyozyten durch sympathische Überstimulation; Stenosen der Koronargefäße liegen in diesem Fall nicht vor. Die Takotsubo-Kardiomyopathie imponiert durch transiente Veränderungen der ST-Strecken im EKG, obligat sind aber auch mäßige Anstiege der Troponin-T-Konzentrationen im Serum (Prasad et al. 2008). Während der Aufnahme der Patienten wurde durch die an der Studie beteiligten Neurologen eine intensive Ursachenforschung für den Schlaganfall betrieben und eine Einstufung entsprechend der TOAST-Klassifikation durchgeführt. Mikroangiopathische und kardioembolische Schlaganfälle waren häufiger bei Patienten vorzufinden, deren hsTropT-Konzentration oberhalb des Medians (6,15pg/ml) lag (Tab. 3). Hinsichtlich der kardioembolischen Schlaganfälle wurde dieser Zusammenhang bereits von Song et al. in signifikanter Weise nachgewiesen, die mikroangiopathischen Schlaganfälle waren in jener Studie allerdings häufiger bei Patienten ohne eine erhöhte Troponin-T-Konzentration nachzuweisen (Song et al. 2008). Ursache für diesen Unterschied kann der höhere Grenzwert für ein erhöhtes Troponin (10pg/ml) sein.

4.4 Die klinische Bedeutung der Studienergebnisse

In dieser Studie konnte der Nachweis geführt werden, dass das hsTropT ein unabhängiger prognostischer Marker ist für die Abschätzung des Risikos, dass ein Patient nach einem stattgehabten ischämischen Schlaganfall ein BKE erleidet. Der Marker liefert zusätzliche Informationen zu den etablierten klinischen Risikoprädiktionsverfahren. Diese Erkenntnis hätte im klinischen Kontext Auswirkungen auf die Sekundärprävention, zum Beispiel hinsichtlich

einer Lebensstiländerung sowie der Therapie mit Thrombozytenfunktionshemmern oder mit Präparaten zur Optimierung des Lipidstoffwechsels. Damit hätte sie direkten Einfluss auf die Prognose des Patienten (siehe Kapitel 1.1.3, S.4).

Die häufig validierten klinischen Verfahren zur Risikostratifizierung haben nicht nur in dem dieser Studie zu Grunde liegenden Patientenkollektiv eine moderate Aussagekraft. Hier ist eine Verbesserung durch die zusätzliche Bestimmung des hsTropT sinnvoll. Zudem unterliegt die Ermittlung der Serumkonzentration eines Biomarkers nahezu keiner Inter- oder Intra-Untersuchervariabilität. Durch die Ermittlung eines genauen Schwellenwertes sind Patienten mit hohem Risiko, ein BKE zu erleiden, sicher von denen abzutrennen, deren Risiko gering ist.

Die Bedeutung der Ergebnisse dieser Studie dürfen jedoch auch nicht dahingehend überinterpretiert werden, dass das Urteil eines klinisch erfahrenden Arztes an Relevanz verliert, sondern der Marker sollte als ein zusätzliches Element in der Diagnostik des Patienten angesehen werden. Die prognostische Wertigkeit des Biomarkers wurde mit dem ESRS und dem SPI-II verglichen, nicht aber mit der ärztlichen Expertise, welche möglicherweise noch eine bessere Risikoprädiktion gewährleistet. Diese Gegenüberstellung wurde allerdings in der Begründung und Validierung der genannten Risikoscores selbst auch nicht vorgenommen.

4.5 Die Vorzüge und Einschränkungen der Studie

Die Datenerhebung und Auswertung dieser Studie ist durch methodische Vorzüge gekennzeichnet, unterliegt aber auch einigen Einschränkungen. In der multivariaten Analyse wurde die prognostische Wertigkeit des hsTropT mit zwei etablierten klinischen Verfahren verglichen, deren Einsatz in der klinischen Routine auch von Fachgesellschaften empfohlen wird (Diener et al. 2008 b). Zudem wurden weitere kardiale Biomarker untersucht, um zusätzliche Vergleichspunkte zu schaffen.

Die Endpunkte wurden vor Beginn der Studie prospektiv definiert und in einem zuvor klar bestimmten Beobachtungszeitraum erfasst. Auch die Periode, in der Patienten in die Studie eingeschlossen wurden, war definiert.

Es fand keine Vorauswahl des Patientenkollektivs statt, sondern alle Patienten, die auf der *Stroke Unit* der Universitätsmedizin Göttingen aufgenommen wurden, wurden fortlaufend eingeschlossen, sodass das untersuchte Kollektiv dem durchschnittlichen Schlaganfallpatienten, der sich in einem neurologischen Zentrum vorstellt, entspricht.

Um die beiden klinischen Verfahren zur Risikostratifizierung als Vergleichsmaßstab anlegen zu können, mussten zuvor alle Patienten, die an einem Vorhofflimmern leiden, sicher ermittelt und

aus der Studie ausgeschlossen werden. Dies erfolgte nicht nur mit Hilfe der Anamnese oder eines Routine-EKGs, sondern auch mit einem Sieben-Tage-Langzeit-EKG, dass nach anderen Analysen der Find-AF-Studie ein hoch sensitives Verfahren zur Detektion von paroxysmalem Vorhofflimmern ist (Stahrenberg et al. 2010 b). Dieses Vorgehen ist nicht nur aus Gründen der statistischen Auswertung sinnvoll, sondern gründet sich darauf, dass kardioembolische Schlaganfälle, die durch ein Vorhofflimmern ausgelöst werden, sekundärpräventiv auf andere Weise behandelt werden. Die Antikoagulation mit Warfarin senkt das Risiko eines Schlaganfalls bei Vorhofflimmern um 68% (Goldstein et al. 2001). Wenn Patienten, die an Vorhofflimmern leiden, in diese Studie aufgenommen würden, wäre davon auszugehen, dass der Anteil der Patienten mit einem erhöhten hsTropT im Gesamtkollektiv noch anstiege. Meshkat et al. zeigten in einer retrospektiv durchgeführten Untersuchung in Kanada, dass 13,7% aller Patienten, die sich aus unterschiedlichen Gründen in der Klinik vorstellten und an einem Vorhofflimmern litten, auch erhöhte Troponinkonzentrationen, gemessen mit dem in der Klinik verwendeten Standardtest, aufwiesen (Meshkat et al. 2011).

Die vorliegende Studie war bis zur Auswertung der Daten nach der Folgeuntersuchung in doppelter Weise verblindet. Das heißt: Weder der Untersucher noch der Patient selbst hatten zum Zeitpunkt der Erhebung der Endpunkte ein Jahr nach dem initialen Schlaganfall Kenntnis von den Ergebnissen der Biomarkerbestimmung.

Neben diesen methodischen Vorzügen unterliegt die Studie allerdings auch einigen Einschränkungen. Das Troponin T ist ein Marker, der erst drei bis vier Stunden nach einem ischämischen Ereignis aus den Kardiomyozyten freigesetzt wird und für ca. 14 Tage erhöht bleibt (Katus et al. 1989). Seine Konzentration unterliegt also einem gewissen zeitlichen Verlauf, der außer Acht gelassen wurde.

Die wesentlichsten Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems, die mit einem Anstieg des hsTropT einhergehen können, flossen in Form der Risikoscores in die Auswertung ein. In diesen klinischen Verfahren sind renale Erkrankungen, die zu Niereninsuffizienz führen, allerdings nicht abgebildet, was die Konzentration eines renal eliminierten Proteins, wie es das Troponin T ist, beeinflussen kann. Ebenfalls nicht berücksichtigt wurde die genaue Lokalisation des Schlaganfalls, was möglicherweise bei Beteiligung des Inselkortex die Freisetzung kardialer Biomarker und auch die Prognose des Patienten mitbestimmt (siehe Kapitel 4.3, S.52).

In der multivariaten Cox-Regressionsanalyse zeigte sich, dass das hsTropT auch nach Adjustierung an die Schwere des Schlaganfalls und den ESRS beziehungsweise den SPI-II in signifikanter Weise prädiktiv für das Eintreten eines der untersuchten Endpunkte ist. Nachdem

der Biomarker den klinischen Verfahren hinzugefügt wurde, konnte sowohl die ROC-AUC als auch die C-Statistik numerisch verbessert werden, diese erreichten aber das festgesetzte Signifikanzniveau nicht. Auch nach Berechnung des NRI oder des IDI zeigte sich nicht immer eine signifikante Verbesserung.

Die Größe der Studie ist ausreichend, um die dargelegten Zusammenhänge glaubwürdig zu beschreiben und die Relevanz der Troponinbestimmung mit einem hochsensitiven Assay für den klinisch tätigen Mediziner darzulegen. Die gravierendsten Einschränkungen sind aber auf die moderate Anzahl der Patienten sowie auf das relativ seltene Eintreten eines Endpunktes zurückzuführen. So ist es im Rahmen dieser Arbeit nicht sicher möglich, einen klar definierten Schwellenwert festzulegen, nach dem eine deutliche Einteilung der Patienten in eine Niedrig- und eine Hochrisikogruppe möglich wäre. Auch die sichere Integrierung des Biomarkers als Zusatz in die klinischen Risikoprädiktionsverfahren ist nicht möglich. Ein entsprechender Ansatz sollte mit Hilfe einer größeren Kohorte von Schlaganfall-Patienten auf Basis unserer Ergebnisse entwickelt werden. Eine erneute Validierung des Markers in einem größeren Patientenkollektiv ist vor dem klinischen Einsatz des hsTropT als Biomarker wünschenswert.

5 Zusammenfassung

Die zerebrale Ischämie in Form eines Schlaganfalles oder einer TIA ist in den Industriestaaten eine der häufigsten Todesursachen sowie der bedeutendste Grund für langanhaltende Behinderung und die damit verbundenen gesamtgesellschaftlichen Kosten. Die meisten ischämischen Ereignisse werden jedoch überlebt, häufig ist eine nahezu vollständige Genesung der Patienten möglich. Da die zerebrale Ischämie eine Manifestationsform arteriosklerotischer Gefäßveränderungen darstellt, ist es in der Sekundärprävention nach einem solchen Ereignis wichtig, neben der Ermittlung des Letalitätsrisikos auch eine gezielte Risikobestimmung anderer Expressionen der Arteriosklerose durchzuführen.

In dieser Arbeit wurde die prognostische Wertigkeit neuer kardiovaskulärer Biomarker (NTproBNP, proANP, H-FABP, GDF-15 und hsTropT) für das Eintreten eines bedeutenden kardiovaskulären Ereignisses (BKE) oder des Todes jeglicher Ursache ermittelt. Zu diesem Zweck wurden 281 Patienten, die sich mit einer zerebralen Ischämie in der Universitätsmedizin in Göttingen vorstellten, ein Jahr nach dem initialen Ereignis untersucht.

Die erhobenen und statistisch analysierten Daten zeigen, dass in der univariaten Cox-Regressionsanalyse GDF-15 ($P=0,009$), H-FABP ($P=0,023$) und hsTropT ($P=0,001$) signifikant für das Eintreten eines BKEs waren. Für die Prädiktion des Todes jeglicher Ursache erreichten hsTropT ($p<0,001$), GDF-15 ($p=0,007$) sowie NTproBNP ($p=0,050$) das Signifikanzniveau. Die multivariate Regressionsanalyse ergab, dass einzig das hsTropT prognostische Bedeutung hatte, sowohl für das Eintreten eines kardiovaskulären Ereignisses als auch des Todes des Patienten. Die Vorhersagekraft des Proteins war dabei etablierten klinischen Verfahren zur Risikoprädiktion, wie dem ESRS und dem SPI-II, überlegen. Unter Berücksichtigung dieser beiden Risikoscores in der multivariaten Analyse konnte die Unabhängigkeit des hsTropT von anderen Einflussfaktoren, die im Zusammenhang mit pathologischen Prozessen des Herz-Kreislauf-Systems stehen, nachgewiesen werden.

Um diesen Biomarker jedoch in der klinischen Routinediagnostik sicher und zweckmäßig integrieren zu können, ist eine Validierung der ermittelten Daten in einer größeren Kohorte sinnvoll. Dies bezieht sich insbesondere auf die Problematik, einen Grenzwert zu etablieren, mit dessen Hilfe Patienten in Hoch- und Niedrigrisikogruppen eingeteilt werden können. Eine Verbesserung der Risikoprädiktion nach einer zerebralen Ischämie würde letztlich dem Patienten in Form einer gezielten, risikoadaptierten Sekundärprävention nützen und die Langzeitentwicklung nach dieser Erkrankung verbessern.

6 Literaturverzeichnis

Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE (1993): Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 24, 35–41

Albertoni M, Shaw PH, Nozaki M, Godard S, Tenan M, Hamou M-F, Fairlie DW, Breit SN, Paralkar VM, Tribolet N et al. (2002): Anoxia induces macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) in glioblastoma cells independently of p53 and HIF-1. *Oncogene* 21, 4212–4219

Amarenco P, Labreuche J, Lavallée P, Touboul P-J (2004): Statins in Stroke Prevention and Carotid Atherosclerosis. *Stroke* 35, 2902–2909

Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A 3rd, Goldstein LB, Hennerici M, Rudolph AE, Sillese H, Simunovic L, Szarek M, Welch KM et al. (2006): High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med*. 355, 549–559

Anand IS, Kempf T, Rector TS, Tapken H, Allhoff T, Jantzen F, Kuskowski M, Cohn JN, Drexler H, Wollert KC (2010): Serial measurement of drowth-differentiation factor-15 in heart failure: relation to disease severity and prognosis in the Valsartan Heart Failure Trial. *Circulation* 122, 1387–1395

Antiplatelet Trialists' Collaboration (1994): Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. Antiplatelet Trialists' Collaboration. *BMJ* 308, 81–106

Antithrombotic Trialists' Collaboration (2002) Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 324, 71–86

Apak I, Iltumur K, Tamam Y, Kaya N (2005): Serum cardiac troponin T levels as an indicator of myocardial injury in ischemic and hemorrhagic stroke patients. *Tohoku J Exp Med* 205, 93–101

Appelros P, Terent A (2004): Characteristics of the National Institute of Health Stroke Scale: Results from a Population-Based Stroke Cohort at Baseline and after One Year. *Cerebrovasc Dis* 17, 21–27

Apple FS, Collinson PO, Ordonez-Llanos J, Chan HM, Collinson P, Hollander J, Jaffe A, Lindahl B, Möckel M, Plebani M et al. (2012): Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem* 58, 54–61

Ay H, Arsava EM, Saribaş O (2002): Creatine kinase-MB elevation after stroke is not cardiac in origin: comparison with troponin T levels. *Stroke* 33, 286–289

Ay H, Koroshetz WJ, Benner T, Vangel MG, Melinosky C, Arsava EM, Ayata C, Zhu M, Schwamm LH, Sorensen AG (2006): Neuroanatomic correlates of stroke-related myocardial injury. *Neurology* 66, 1325–1329

- Bamford J, Sandercock P, Jones L, Warlow C (1987): The natural history of lacunar infarction: the Oxfordshire Community Stroke Project. *Stroke* 18, 545–551
- Barber M, Morton JJ, Macfarlane PW, Barlow N, Roditi G, Stott DJ (2007): Elevated troponin levels are associated with sympathoadrenal activation in acute ischaemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 23, 260–266
- Beaulieu-Boire I, Leblanc N, Berger L, Boulanger JM (2012): Troponin Elevation Predicts Atrial Fibrillation in Patients with Stroke or Transient Ischemic Attack. (*J Stroke Cerebrovasc Dis*, im Druck)
- Bender R, Lange S, Ziegler A (2007 a): Wichtige Signifikanztests. *Dtsch Med Wochenschr* 2007, 132, e24–e25
- Bender R, Ziegler A, Lange S (2007 b): Multiple Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 2007, 132, e30–e32
- Bender R, Ziegler A, Lange S (2007 c): Logistische Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 2007, 132, e33–e35
- Berger R, Huelsman M, Strecker K, Bojic A, Moser P, Stanek B, Pacher R (2002): B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 105, 2392–2397
- Berlit P, Klötzsch C, Röther J, Grond M, Rudolf J, Ringelstein EB, Koennecke HC, Kurre W, Chapot R, Nahser HC et al.: Vaskuläre Erkrankungen; in: *Klinische Neurologie*; hrsg. v. Berlit P; Springer, Berlin-Heidelberg-New York 2012, 1064-1066
- Bogousslavsky J, Van Melle G, Regli F (1988): The Lausanne Stroke Registry: analysis of 1,000 consecutive patients with first stroke. *Stroke* 19, 1083–1092
- Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, He XY, Zhang HP, Donnellan M, Mahler S, Pryor K et al. (1997): MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF- β superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 11514–11519
- Born G, Patrono C (2006): Antiplatelet drugs. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1, 241–251
- Böttner M, Suter-Crazzolaro C, Schober A, Unsicker K (1999): Expression of a novel member of the TGF-Beta superfamily, growth/differentiation factor-15/macrophage-inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in adult rat tissues. *Cell Tissue Res* 297, 103–110
- Bradshaw PJ, Ko DT, Newman AM, Donovan LR, Tu JV (2006): Validity of the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) acute coronary syndrome prediction model for six month post-discharge death in an independent data set. *Heart* 92, 905–909
- Brott T, Adams HP Jr, Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, Spilker J, Holleran R, Eberle R, Hertzberg V et al. (1989): Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination scale. *Stroke* 20, 864–870

Brown DA, Breit SN, Buring J, Fairlie WD, Bauskin AR, Liu T, Ridker PM (2002): Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. *Lancet* 359, 2159–2163

Burchfiel CM, Curb JD, Rodriguez BL, Abbott RD, Chiu D, Yano K (1994): Glucose intolerance and 22-year stroke incidence. The Honolulu Heart Program. *Stroke* 25 951–957

Caplan LR, Hier DB, D’Cruz I (1983): Cerebral embolism in the Michael Reese Stroke Registry. *Stroke* 14, 530–536

Castellanos M, Serena J (2007): Applicability of biomarkers in ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 24 Suppl 1, 7–15

Coca A, Messerli FH, Benetos A, Zhou Q, Champion A, Cooper-DeHoff RM, Pepine CJ (2008): Predicting stroke risk in hypertensive patients with coronary artery disease: a report from the INVEST. *Stroke* 39, 343–348

CPMP (Committee for proprietary medicinal products): Notes for guidance on clinical investigation of medicinal products for the treatment of venous thromboembolic disease. (Reference number: CPMP/EWP/707/98) European Medicines Agency, London 2000

Cruickshank JM, Neil-Dwyer G, Dorrance DE, Hayes Y, Patel S (1989): Acute effects of smoking on blood pressure and cerebral blood flow. *J Hum Hypertens* 3, 443–449

Daubert MA, Jeremias A (2010): The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. *Vasc Health Risk Manag* 6, 691–699

Di Angelantonio E, Fiorelli M, Toni D, Sacchetti ML, Lorenzano S, Falcou A, Ciarla MV, Suppa M, Bonanni L, Bertazzoni G et al. (2005): Prognostic significance of admission levels of troponin I in patients with acute ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76, 76–81

Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJV, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, Strömberg A, van Veldhuisen DJ, Atar D, Hoes AW et al. (2008): ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur Heart J* 29, 2388–2442

Diener HC, Ringleb PA, Savi P (2005): Clopidogrel for the secondary prevention of stroke. *Expert Opin Pharmacother* 6, 755–764

Diener HC, Aichner F, Bode C, Böhm M, Eckstein HH, Einhäupl K, Endres M, Franklin B, Forsting F, Gesenhues S: Primär- und Sekundärprävention der zerebralen Ischämie Gemeinsame Leitlinie der DGN und der Deutschen Schlaganfallgesellschaft (DSG); in: Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie; hrsg. v. Diener HC, Putzki N; Georg Thieme Verlag Stuttgart 2008 a, 3-4

Diener HC, Aichner F, Bode C, Böhm M, Eckstein HH, Einhäupl K, Endres M, Franklin B, Forsting F, Gesenhues S: Primär- und Sekundärprävention der zerebralen Ischämie Gemeinsame

- Leitlinie der DGN und der Deutschen Schlaganfallgesellschaft (DSG); in: Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie; hrsg. v. Diener HC, Putzki N; Georg Thieme Verlag Stuttgart 2008 b, 27
- Dierkes J, Domröse U, Westphal S, Ambrosch A, Bosselmann HP, Neumann KH, Luley C (2000): Cardiac troponin T predicts mortality in patients with end-stage renal disease. *Circulation* 102, 1964–1969
- EAFIT Group (1993): Secondary prevention in non-rheumatic atrial fibrillation after transient ischaemic attack or minor stroke. *Lancet* 342, 1255–1262
- Eggers KM, Kempf T, Lagerqvist B, Lindahl B, Olofsson S, Jantzen F, Peter T, Allhoff T, Siegbahn A, Venge P (2010): Growth-Differentiation Factor-15 for Long-Term Risk Prediction in Patients Stabilized After an Episode of Non-ST-Segment-Elevation Acute Coronary Syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 3, 88–96
- Estrada V, Téllez MJ, Moya J, Fernández-Durango R, Egido J, Fernández Cruz AF (1994): High plasma levels of endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in patients with acute ischemic stroke. *Am J Hypertens* 7, 1085–1089
- Etgen T, Baum H, Sander K, Sander D (2005): Cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in acute ischemic stroke do not relate to clinical prognosis. *Stroke* 36, 270–275
- deFilippi C, Wasserman S, Rosanio S, Tibliler E, Sperger H, Tocchi M, Christenson R, Uretsky B, Smiley M, Gold J (2003): Cardiac troponin T and C-reactive protein for predicting prognosis, coronary atherosclerosis, and cardiomyopathy in patients undergoing long-term hemodialysis. *JAMA* 290, 353–359
- Fure B, Bruun Wyller T, Thommessen B (2006): Electrocardiographic and troponin T changes in acute ischaemic stroke. *J Intern Med* 259, 592–597
- Gent M, Beaumont D, Blanchard J, Bousser M-G, Coffman J, Easton JD, Hampton JR, Herker LA, Janzon L, Kusmirek JJE et al. (1996): A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 348, 1329–1339
- Giannitsis E, Becker M, Kurz K, Hess G, Zdunek D, Katus HA (2010): High-sensitivity cardiac troponin T for early prediction of evolving non-ST-segment elevation myocardial infarction in patients with suspected acute coronary syndrome and negative troponin results on admission. *Clin Chem* 56, 642–650
- Giles MF, Rothwell PM (2007): Risk of stroke early after transient ischaemic attack: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 6, 1063–1072
- Glatz JF, van der Vusse GJ (1996): Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance. *Prog Lipid Res* 35, 243–282

- Goldstein LB, Adams R, Becker K, Furberg CD, Gorelick PB, Hademenos G, Hill M, Howard G, Howard VJ, Jacobs B (2001): Primary prevention of ischemic stroke: A statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. *Circulation* 103, 163–182
- Gongora-Rivera F, Labreuche J, Jaramillo A, Steg Philippe Gabriel, Hauw J-J, Amarencu P (2007): Autopsy prevalence of coronary atherosclerosis in patients with fatal stroke. *Stroke* 38, 1203–1210
- Grau AJ, Weimar C, Buggle F, Heinrich A, Goertler M, Neumaier S, Glahn J, Brandt T, Hacke W, Diener HC (2001): Risk factors, outcome, and treatment in subtypes of ischemic stroke: the German stroke data bank. *Stroke* 32, 2559–2566
- Gröschel K, Schnaudigel S, Edelmann F, Niehaus CF, Weber-Krüger M, Haase B, Lahno R, Seegers J, Wasser K, Wohlfahrt J (2012): Growth-differentiation factor-15 and functional outcome after acute ischemic stroke. (*J Neurol*, im Druck)
- Grundey SM, Cleeman JI, Merz CNB, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith SC Jr, Stone NJ (2004): Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 44, 720–732
- Halkes PHA, van Gijn J, Kappelle LJ, Koudstaal PJ, Algra A (2007): Medium intensity oral anticoagulants versus aspirin after cerebral ischaemia of arterial origin (ESPRIT): a randomised controlled trial. *Lancet Neurol* 6, 115–124
- Hart RG, Pearce LA, Miller VT, Anderson DC, Rothrock JF, Albers GW, Nasco E (2000): Cardioembolic vs. noncardioembolic strokes in atrial fibrillation: frequency and effect of antithrombotic agents in the stroke prevention in atrial fibrillation studies. *Cerebrovasc Dis* 10, 39–43
- Hasdai D, Behar S, Wallentin L, Danchin N, Gitt AK, Boersma E, Fioretti PM, Simoons ML, Battler A (2002): A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Europe and the Mediterranean basin; the Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J* 23, 1190–1201
- Heras M, Bueno H, Bardají A, Fernández-Ortiz A, Martí H, Marrugat J (2006): Magnitude and consequences of undertreatment of high-risk patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes: insights from the DESCARTES Registry. *Heart* 92, 1571–1576
- Hill MD, Yiannakoulis N, Jeerakathil T, Tu JV, Svenson LW, Schopflocher DP (2004): The high risk of stroke immediately after transient ischemic attack: a population-based study. *Neurology* 62, 2015–2020
- Hsiao EC, Koniaris LG, Zimmers-Koniaris T, Sebald SM, Huynh TV, Lee S-J (2000): Characterization of growth-differentiation factor 15, a transforming growth factor β superfamily member induced following liver injury. *Mol Cell Biol* 20, 3742–3751

- Iliou MC, Fumeron C, Benoit MO, Tuppin P, Calonge VM, Moatti N, Buisson C, Jacquot C (2003): Prognostic value of cardiac markers in ESRD: Chronic Hemodialysis and New Cardiac Markers Evaluation (CHANCE) study. *Am J Kidney Dis* 42, 513–523
- James P, Ellis CJ, Whitlock RM, McNeil AR, Henley J, Anderson NE (2000): Relation between troponin T concentration and mortality in patients presenting with an acute stroke: observational study. *BMJ* 320, 1502–1504
- Jensen JK (2008): Evaluating the role of elevated levels of troponin in acute ischemic stroke. *Biomark Med* 2, 457–464
- Jensen JK, Mickley H, Bak S, Korsholm L, Kristensen SR (2006): Serial measurements of N-terminal pro-brain natriuretic peptide after acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 22, 439–444
- Jensen JK, Atar D, Mickley H (2007 a): Mechanism of troponin elevations in patients with acute ischemic stroke. *Am J Cardiol* 99, 867–870
- Jensen JK, Kristensen SR, Bak S, Atar D, Høilund-Carlsen PF, Mickley H (2007 b): Frequency and significance of troponin T elevation in acute ischemic stroke. *Am J Cardiol* 99, 108–112
- Jensen JK, Atar D, Kristensen SR, Mickley Hans, Januzzi JL Jr. (2009): Usefulness of natriuretic peptide testing for long-term risk assessment following acute ischemic stroke. *Am J Cardiol* 104, 287–291
- Johnston SC, Gress DR, Browner WS, Sidney S (2000): Short-term prognosis after emergency department diagnosis of TIA. *JAMA* 284, 2901–2906
- Kannel WB, McGee DL (1979): Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 241, 2035–2038
- Kasner SE (2006): Clinical interpretation and use of stroke scales. *Lancet Neurol* 5, 603–612
- Katan M, Fluri F, Morgenthaler NG, Schuetz P, Zweifel C, Bingisser R, Müller K, Meckel S, Gass A, Kappos L (2009): Copeptin: a novel, independent prognostic marker in patients with ischemic stroke. *Ann Neurol* 66, 799–808
- Katan M, Fluri F, Schuetz P, Morgenthaler NG, Zweifel C, Bingisser R, Kappos L, Steck A, Engelter ST, Müller B et al. (2010): Midregional pro-atrial natriuretic peptide and outcome in patients with acute ischemic stroke. *J Am Coll Cardiol* 56, 1045–1053
- Katus H A, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kübler W (1989): Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol Cell Cardiol* 21, 1349–1353
- Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers J, Heineke J, Kotlarz D, Xu J, Molkentin JD et al. (2006): The transforming growth factor-beta superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 98, 351–360

- Kempf T, von Haehling S, Peter T, Allhoff T, Cicoira M, Doehner W, Ponikowski P, Filippatos GS, Rozentryt P, Drexler H et al. (2007): Prognostic Utility of Growth Differentiation Factor-15 in Patients With Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 50, 1054–1060
- Kernan WN, Viscoli CM, Brass LM, Makuch RW, Sarrel PM, Roberts RS, Gent M, Rothwell P, Sacco RL, Liu RC et al. (2000): The stroke prognosis instrument II (SPI-II): A clinical prediction instrument for patients with transient ischemia and nondisabling ischemic stroke. *Stroke* 31, 456–462
- Kerr G, Ray G, Wu O, Stott DJ, Langhorne P (2009): Elevated troponin after stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis* 28, 220–226
- Kilcullen N, Viswanathan K, Das R, Morrell C, Farrin A, Barth JH, Hall AS (2007): Heart-type fatty acid-binding protein predicts long-term mortality after acute coronary syndrome and identifies high-risk patients across the range of troponin values. *J Am Coll Cardiol* 50, 2061–2067
- Klingelhöfer J, Sander D (1997): Cardiovascular consequences of clinical stroke. *Baillieres Clin Neurol* 6, 309–335
- Kool MJ, Hoeks AP, Struijker Boudier HA, Reneman RS, Van Bortel LM (1993): Short- and long-term effects of smoking on arterial wall properties in habitual smokers. *J Am Coll Cardiol* 22, 1881–1886
- Lankeit M, Kempf T, Dellas C, Cuny M, Tapken H, Peter T, Olschewski M, Konstantinides S, Wollert KC (2008): Growth Differentiation Factor-15 for Prognostic Assessment of Patients with Acute Pulmonary Embolism. *Am J Respir Crit Care Med* 177, 1018–1025
- Latini R, Masson S, Anand IS, Missov E, Carlson M, Vago T, Angelici L, Barlera S, Parrinello G, Maggioni AP et al. (2007): Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation* 116, 1242–1249
- Lauer B, Niederau C, Kühl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE, Schultheiss HP et al. (1997): Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 30, 1354–1359
- Lemos JA de, Morrow DA, Bentley JH, Omland T, Sabatine MS, McCabe CH, Hall C, Cannon CP, Braunwald E (2001): The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 345, 1014–1021
- Levin ER, Gardner DG, Samson WK (1998): Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 339, 321–328
- Libby P (2001): Current Concepts of the Pathogenesis of the Acute Coronary Syndromes. *Circulation* 104, 365–372
- Lovett JK, Coull AJ, Rothwell PM (2004): Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies. *Neurology* 62, 569–573

- Lüers C, Schmidt A, Wachter R, Fritzsche F, Sutcliffe A, Kleta S, Zapf A, Hagenah G, Binder L, Maisch B et al. (2010): Serial NT-proBNP measurements for risk stratification of patients with decompensated heart failure. *Herz* 35, 488–495
- Lyden P, Brott T, Tilley B, Welch KM, Mascha EJ, Levine S, Haley EC, Grotta J, Marler J (1994): Improved reliability of the NIH Stroke Scale using video training. NINDS TPA Stroke Study Group. *Stroke* 25, 2220–2226
- MacMahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, Abbott R, Godwin J, Dyer A, Stamler J (1990): Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* 335, 765–774
- Mad P, Domanovits H, Fazelnia C, Stiassny K, Russmüller G, Cseh A, Sodeck G, Binder T, Christ G, Szekeres T et al. (2007): Human heart-type fatty-acid-binding protein as a point-of-care test in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *QJM* 100, 203–210
- Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT, Wu AH et al. (2002): Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 347, 161–167
- Mäkikallio AM, Mäkikallio TH, Korpelainen JT, Vuolteenaho O, Tapanainen JM, Ylitalo K, Sotaniemi KA, Huikuri HV, Myllylä VV (2005): Natriuretic peptides and mortality after stroke. *Stroke* 36, 1016–1020
- Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M (1986): Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 324, 473–476
- Mark DB, Felker GM (2004): B-type natriuretic peptide - a biomarker for all seasons? *N Engl J Med* 350, 718–720
- McCann CJ, Glover BM, Menown IB, Moore MJ, McEneny J, Owens CG, Smith B, Sharpe PC, Young IS, Adgey JA (2008): Novel biomarkers in early diagnosis of acute myocardial infarction compared with cardiac troponin T. *Eur Heart J* 29, 2843–2850
- Mendis S, Puska P, Norrving B: *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*; World Health Organisation, Genf 2011
- Meschia JF, Brott TG, Chukwudelunzu FE, Hardy J, Brown RD Jr, Meissner I, Hall LJ, Atkinson EJ, O'Brien PC (2000): Verifying the stroke-free phenotype by structured telephone interview. *Stroke* 31, 1076–1080
- Meshkat N, Austin E, Moineddin R, Hatamabadi H, Hassani B, Abdalvand A, Marcuzzi A (2011): Troponin utilization in patients presenting with atrial fibrillation/flutter to the emergency department: retrospective chart review. *Int J Emerg Med* 4, 25

- Möhlenkamp S, Lehmann N, Moebus S, Schmermund A, Jöckel KH, Erbel R (2009): Integration eines neuen Risikomarkers in die kardiovaskuläre Prävention: Beispiel Koronarkalk. *Dtsch Med Wochenschr* 134, 2023–2026
- Mohr JP, Thompson JL, Lazar RM, Levin B, Sacco RL, Furie KL, Kistler JP, Albers GW, Pettigrew LC, Adams HP Jr et al. (2001): A comparison of warfarin and aspirin for the prevention of recurrent ischemic stroke. *N Engl J Med* 345, 1444–1451
- Morrow DA, Cannon CP, Rifai N, Frey MJ, Vicari R, Lakkis N, Robertson DH, Hille DA, DeLucca PT, DiBattiste PM et al. (2001): Ability of Minor Elevations of Troponins I and T to Predict Benefit From an Early Invasive Strategy in Patients With Unstable Angina and Non-ST Elevation Myocardial Infarction. *JAMA* 286, 2405–2412
- Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, Martina B, Schindler C, Buser P, Pfisterer M, Perruchoud AP (2004): Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N Engl J Med* 350, 647–654
- Navi BB, Kamel H, Sidney S, Klingman JG, Nguyen-Huynh MN, Johnston SC (2011): Validation of the Stroke Prognostic Instrument-II in a large, modern, community-based cohort of ischemic stroke survivors. *Stroke* 42, 3392–3396
- Nieuwlaat R, Capucci A, Camm AJ, Olsson SB, Andresen D, Davies DW, Cobbe S, Breithardt G, Le Heuzey JY, Prins MH et al. (2005): Atrial fibrillation management: a prospective survey in ESC member countries: the Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation. *Eur Heart J* 26, 2422–2434
- Nogami M, Shiga J, Takatsu A, Endo N, Ishiyama I (2001): Immunohistochemistry of atrial natriuretic peptide in brain infarction. *Histochem J* 33, 87–90
- Oppenheimer S (1992): The insular cortex and the pathophysiology of stroke-induced cardiac changes. *Can J Neurol Sci* 19, 208–211
- Owada Y, Yoshimoto T, Kondo H (1996): Spatio-temporally differential expression of genes for three members of fatty acid binding proteins in developing and mature rat brains. *J Chem Neuroanat* 12, 113–122
- Pagani F, Bonora R, Bonetti G, Panteghini M (2002): Evaluation of a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for the measurement of serum heart fatty acid-binding protein. *Ann Clin Biochem* 39, 404–405
- Pelsers MM, Chapelle JP, Knapen M, Vermeer C, Muijtjens AM, Hermens WT, Glatz JF (1999): Influence of age and sex and day-to-day and within-day biological variation on plasma concentrations of fatty acid-binding protein and myoglobin in healthy subjects. *Clin Chem* 45, 441a–443
- Pocock SJ, Clayton TC, Altman DG (2002): Survival plots of time-to-event outcomes in clinical trials: good practice and pitfalls. *Lancet* 359, 1686–1689

- Prasad A, Lerman A, Rihal CS (2008): Apical ballooning syndrome (Tako-Tsubo or stress cardiomyopathy): a mimic of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 155, 408–417
- Rashid P, Leonardi-Bee J, Bath P (2003): Blood pressure reduction and secondary prevention of stroke and other vascular events: a systematic review. *Stroke* 34, 2741–2748
- Richards AM, Nicholls MG, Espiner EA, Lainchbury JG, Troughton RW, Elliott J, Frampton C, Turner J, Crozier IG, Yandle TG (2003): B-type natriuretic peptides and ejection fraction for prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 107, 2786–2792
- Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, Carnethon MR, Dai S, de Simone G, Ford ES et al. (2011): Heart Disease and Stroke Statistics-2011 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 123, e18–e209
- Røsjø H, Omland T (2009): New statistical methods for the evaluation of cardiovascular risk markers: what the clinician should know. *Clin Sci (Lond)* 117, 13–15
- Rothwell PM, Howard SC, Power DA, Gutnikov SA, Algra A, van Gijn J, Clark TG, Murphy MF, Warlow CP (2004): Fibrinogen Concentration and Risk of Ischemic Stroke and Acute Coronary Events in 5113 Patients With Transient Ischemic Attack and Minor Ischemic Stroke. *Stroke* 35, 2300–2305
- Sacco SE, Whisnant JP, Broderick JP, Phillips SJ, O’Fallon WM (1991): Epidemiological characteristics of lacunar infarcts in a population. *Stroke* 22, 1236–1241
- Saenger AK, Christenson RH (2010): Stroke biomarkers: progress and challenges for diagnosis, prognosis, differentiation, and treatment. *Clin Chem* 56, 21–33
- Saenger AK, Beyrau R, Braun S, Cooray R, Dolci A, Freidank H, Giannitsis E, Gustafson S, Handy B, Katus H et al. (2011): Multicenter analytical evaluation of a high-sensitivity troponin T assay. *Clin Chim Acta* 412, 748–754
- Sato Y, Kataoka K, Matsumori A, Sasayama S, Yamada T, Ito H, Takatsu Y (1997): Measuring serum aminoterminal type III procollagen peptide, 7S domain of type IV collagen, and cardiac troponin T in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and secondary cardiomyopathy. *Heart* 78, 505–508
- Schaap FG, Binas B, Danneberg H, van der Vusse GJ, Glatz JF (1999): Impaired Long-Chain Fatty Acid Utilization by Cardiac Myocytes Isolated From Mice Lacking the Heart-Type Fatty Acid Binding Protein Gene. *Circ Res* 85, 329–337
- Schindowski K, von Bohlen und Halbach O, Strelau J, Ridder DA, Herrmann O, Schober A, Schwaninger M, Unsicker K (2011): Regulation of GDF-15, a distant TGF- β superfamily member, in a mouse model of cerebral ischemia. *Cell Tissue Res* 343, 399–409
- Schlegel D, Kolb SJ, Luciano JM, Tovar JM, Cucchiara BL, Liebeskind DS, Kasner SE (2003): Utility of the NIH Stroke Scale as a predictor of hospital disposition. *Stroke* 34, 134–137

- Schlittenhardt D, Schober A, Strelau J, Bonaterra GA, Schmiedt W, Unsicker K, Metz J, Kinscherf R (2004): Involvement of growth differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in oxLDL-induced apoptosis of human macrophages in vitro and in arteriosclerotic lesions. *Cell Tissue Res* 318, 325–333
- Schober A, Böttner M, Strelau J, Kinscherf R, Bonaterra GA, Barth M, Schilling L, Fairlie WD, Breit SN, Unsicker K (2001): Expression of growth differentiation factor-15/ macrophage inhibitory cytokine-1 (GDF-15/MIC-1) in the perinatal, adult, and injured rat brain. *J Comp Neurol* 439, 32–45
- Sharma JC, Ananda K, Ross I, Hill R, Vassallo M (2006): N-terminal proBrain natriuretic peptide levels predict short-term poststroke survival. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 15, 121–127
- Silver FL, Norris JW, Lewis AJ, Hachinski VC (1984): Early mortality following stroke: a prospective review. *Stroke* 15, 492–496
- Soler EP, Ruiz VC (2010): Epidemiology and risk factors of cerebral ischemia and ischemic heart diseases: similarities and differences. *Curr Cardiol Rev* 6, 138–149
- Song HS, Back JH, Jin DK, Chung PW, Moon HS, Suh BC, Kim YB, Kim BM, Woo HY, Lee YT et al. (2008): Cardiac troponin T elevation after stroke: relationships between elevated serum troponin T, stroke location, and prognosis. *J Clin Neurol* 4, 75–83
- Stahrenberg R, Edelmann F, Mende M, Kockskämper A, Düngen HD, Lüers C, Binder L, Herrmann-Lingen C, Gelbrich G, Hasenfuss G et al. (2010 a): The novel biomarker growth differentiation factor 15 in heart failure with normal ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 12, 1309–1316
- Stahrenberg R, Weber-Krüger M, Seegers J, Edelmann F, Lahno R, Haase B, Mende M, Wohlfahrt J, Kermer P, Vollmann D et al. (2010 b): Enhanced detection of paroxysmal atrial fibrillation by early and prolonged continuous holter monitoring in patients with cerebral ischemia presenting in sinus rhythm. *Stroke* 41, 2884–2888
- Stein BC, Levin RI (1998): Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J* 135, 914–923
- Storch J, Thumser AE (2000): The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins. *Biochim Biophys Acta* 1486, 28–44
- Suttner SW, Boldt J (2004): Natriuretic peptide system: physiology and clinical utility. *Curr Opin Crit Care* 10, 336–341
- Swaanenburg JC, Klaase JM, DeJongste MJ, Zimmerman KW, ten Duis HJ (1998): Troponin I, troponin T, CKMB-activity and CKMB-mass as markers for the detection of myocardial contusion in patients who experienced blunt trauma. *Clin Chim Acta* 272, 171–181
- Swieten JC van, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J (1988): Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke* 19, 604–607

- Touzé E, Varenne O, Chatellier G, Peyrard S, Rothwell Peter M, Mas JL (2005): Risk of myocardial infarction and vascular death after transient ischemic attack and ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Stroke* 36, 2748–2755
- Touzé E, Varenne O, Calvet D, Mas JL (2007): Coronary risk stratification in patients with ischemic stroke or transient ischemic stroke attack. *Int J Stroke* 2, 177–183
- Urwyler SA, Schuetz P, Fluri F, Morgenthaler NG, Zweifel C, Bergmann A, Bingisser R, Kappos L, Steck A, Engelter S et al. (2010): Prognostic value of copeptin: one-year outcome in patients with acute stroke. *Stroke* 41, 1564–1567
- Veerkamp JH, Zimmerman AW (2001): Fatty acid-binding proteins of nervous tissue. *J Mol Neurosci* 16, 133–142
- Velagaleti RS, Gona P, Larson MG, Wang TJ, Levy D, Benjamin EJ, Selhub J, Jacques PF, Meigs JB, Tofler GH et al. (2010): Multimarker approach for the prediction of heart failure incidence in the community. *Circulation* 122, 1700–1706
- Viswanathan K, Kilcullen N, Morrell C, Thistlethwaite SJ, Sivananthan MU, Hassan TB, Barth JH, Hall AS (2010): Heart-Type Fatty Acid-Binding Protein Predicts Long-Term Mortality and Re-Infarction in Consecutive Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome Who Are Troponin-Negative. *J Am Coll Cardiol* 55, 2590–2598
- Wachter R, Lahno R, Haase B, Weber-Krüger M, Seegers J, Edelmann F, Wohlfahrt J, Gelbrich G, Görlitz A, Kermer P (2012): Natriuretic peptides for the detection of paroxysmal atrial fibrillation in patients with cerebral ischemia--the Find-AF study. *PLoS One* 7, e34351
- Weimar C, Roth MP, Zillessen G, Glahn J, Wimmer ML, Busse O, Haberl RL, Diener HC (2002): Complications following acute ischemic stroke. *Eur Neurol* 48, 133–140
- Weimar C, Diener HC, Alberts MJ, Steg PG, Bhatt DL, Wilson PW, Mas JL, Röther J (2009): The Essen stroke risk score predicts recurrent cardiovascular events: a validation within the REduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) registry. *Stroke* 40, 350–354
- White HD, Chew DP (2008): Acute myocardial infarction. *Lancet* 372, 570–584
- Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P (2009): Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 40, e380–389
- Whiteley W, Jackson C, Lewis S, Lowe G, Rumley A, Sandercock P, Wardlaw J, Dennis M, Sudlow C (2011): Association of circulating inflammatory markers with recurrent vascular events after stroke: a prospective cohort study. *Stroke* 42, 10–16
- Wilcox R, Bousser MG, Betteridge DJ, Scherthaner G, Pirags V, Kupfer S, Dormandy J (2007): Effects of Pioglitazone in Patients with Type 2 Diabetes with or without previous Stroke: results from PROactive (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events 04). *Stroke* 38, 865–873

- Wolf PA, D'Agostino RB, Kannel WB, Bonita R, Belanger AJ (1988): Cigarette smoking as a risk factor for stroke. The Framingham Study. *JAMA* 259, 1025–1029
- Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB (1991): Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke* 22, 983–988
- Wolfrum C, Borrmann CM, Borchers T, Spener F (2001): Fatty acids and hypolipidemic drugs regulate peroxisome proliferator-activated receptors α - and γ -mediated gene expression via liver fatty acid binding protein: A signaling path to the nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 2323 – 2328
- Wollert KC, Kempf T, Lagerqvist B, Lindahl B, Olofsson S, Allhoff T, Peter T, Siegbahn A, Venge P, Drexler H et al. (2007): Growth Differentiation Factor 15 for Risk Stratification and Selection of an Invasive Treatment Strategy in Non ST-Elevation Acute Coronary Syndrome. *Circulation* 116, 1540–1548
- Woodard GE, Rosado JA (2008): Natriuretic peptides in vascular physiology and pathology. *Int Rev Cell Mol Biol* 268, 59–93
- World Medical Association (WMA): WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical research involving human subjects; in: Handbook of WMA policies; hrsg. v. Hill JE, Subchaturas W, Kloiber O; the World Medical Association, Vancouver 2011, D-1964-01-2008
- Worthmann H, Kempf T, Widera C, Tryc AB, Goldbecker A, Ma YT, Deb M, Tountopoulou A, Lambrecht J, Heeren M et al. (2011): Growth Differentiation Factor 15 Plasma Levels and Outcome after Ischemic Stroke. *Cerebrovasc Dis* 32, 72–78
- Xu J, Kimball TR, Lorenz JN, Brown DA, Bauskin AR, Klevitsky R, Hewett TE, Breit SN, Molkentin JD (2006): GDF15/MIC-1 Functions as a protective and antihypertrophic factor released from the myocardium in association with SMAD protein activation. *Circ Res* 98, 342–350
- Yip HK, Sun CK, Chang LT, Chen MC, Liou CW (2006): Time course and prognostic value of plasma levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients after ischemic stroke. *Circ J* 70, 447–452
- Yoshimura S, Toyoda K, Ohara T, Nagasawa H, Ohtani N, Kuwashiro T, Naritomi H, Minematsu K (2008): Takotsubo cardiomyopathy in acute ischemic stroke. *Ann Neurol* 64, 547–554
- Zethelius B, Berglund L, Sundström J, Ingelsson E, Basu S, Larsson A, Venge P, Arnlöv J (2008): Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 358, 2107–2116
- Ziegler A, Lange S, Bender R (2007 a): Überlebenszeitanalyse: Eigenschaften und Kaplan-Meier Methode. *Dtsch Med Wochenschr* 2007, 132, e36–e38
- Ziegler A, Lange S, Bender R (2007 b): Überlebenszeitanalyse: Die Cox-Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 2007, 132, e42–e44

Danksagung

Zunächst gilt mein Dank dem Direktor der Abteilung Kardiologie und Pneumologie der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen, Herrn Prof. Dr. Gerd Hasenfuß, für die Möglichkeit, meine Promotion in dieser Abteilung durchführen zu können.

Des Weiteren danke ich Herrn PD Dr. Rolf Wachter für die Überlassung des interessanten Themas sowie für die fortwährende Unterstützung und die anregenden Diskussionen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. Raoul Stahrenberg für die unmittelbare Betreuung sowohl während der klinischen Datenerhebung als auch im Verlauf der schriftlichen Ausarbeitung der Dissertation.

Ebenso gilt mein Dank Dr. rer. nat. Meinhard Mende, Mitarbeiter des Zentrums für klinische Studien der Universität Leipzig, für die Unterstützung im Bereich der statistischen Auswertung der Daten.

Ferner danke ich den anderen Doktoranden der Find-AF-Studie, Beatrice Haase, Rosine Lahno und Mark Weber-Krüger für die kollegiale Zusammenarbeit.