Abschlussbericht

Zuwendungsempfänger:	Kerckhoff-Klinik GmbH Bad Nauheim
Projektleiter:	Prof. Dr. med. T. Keller
Projekttitel:	Cardiac myosin-binding protein C in comparison to highly sensitive troponin I and B-type natriuretic peptide to identify an obstructive coronary artery disease in stable patients
Projekttyp:	Säule B – Shared Expertise (DZHK B19-025_SE)
Förderkennzeichen:	81X2200204
Laufzeit des Projektes:	01.07.2019 – 31.12.2020

I. Kurze Darstellung zu

1. Aufgabenstellung,

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist eine der häufigsten Todesursachen in der westlichen Gesellschaft. Etwa 16,5 Millionen Patienten sind von der koronaren Herzkrankheit betroffen. Die Pathogenese der KHK umfasst funktionelle und anatomische Veränderungen der epikardialen Gefäße, die zu einer Verengung der Koronararterien oder zu koronaren Spasmen führen. Nach den aktuellen Leitlinien wird bei stabilen Patienten eine Risikostratifizierung anhand der durch nicht-invasive Herzuntersuchungen wie EKG, Echokardiographie oder Bluttests berechneten Vortestwahrscheinlichkeit empfohlen. Leider wird bei solch einem Ansatz eine relevante Anzahl von Fällen übersehen. Auch korreliert die subjektive Schmerzstärke nicht immer mit dem Grad der Stenose der Koronararterien, so dass viele betroffene Patienten klinisch unauffällig bleiben. Der Goldstandard einer Koronarangiographie als invasives Verfahren birgt selbst ein Risiko und sollte somit nur bei entsprechend Vortestwahrscheinlichkeit erwogen werden. Nicht-invasive Ischämieuntersuchungen z.B. mittels MRT, Echo oder Szintigraphie werden empfohlen und liefern valide Informationen. Dennoch sind diese Methoden aus logistischen und ökonomischen Gründen nicht in der Breite als Screening-Tool geeignet.

Zurzeit gibt es keinen etablierten und empfohlenen Bluttest, der das Risiko für das Vorliegen einer KHK bei stabilen Patienten ausreichend valide vorhersagt und somit einer interventionellen Herzkatheteruntersuchung vorgeschaltet sein kann.

Der im peripheren Blut bestimmbare Biomarker kardiales Myosin-bindendes Protein C (MYBPC3) hat bereits ein gutes Potential gezeigt, um die frühe Diagnose einer akuten Myokardischämie verbessern zu können. Insbesondere in dem Zeitfenster direkt nach Schmerzbeginn, in dem die etablierte kardiale Troponinbestimmung häufig noch keine ausreichende Sicherheit bietet, erscheint eine MYBPC3 Messung hilfreich.

Patienten mit Verdacht auf ein stabiles Koronarsyndrom und somit einer der Symptomatik möglichen zugrundeliegenden hämodynamisch relevante KHK, die für eine diagnostische Koronarangiographie vorgesehen waren, sollten im Rahmen des beantragten Projektes untersucht werden. Hier sollte der diagnostischen Wert von MYBPC3 hinsichtlich des Vorliegens einer relevanten koronaren Obstruktion bei stabilen Patienten sowie ergänzend der prognostische Wert im Vergleich zu etablierten Markern wie dem B-Typ natriuretischen Peptid (BNP) sowie einem hochsensitiven kardialen Troponin I (hs-TnI), untersucht werden.

Vorgesehen war die Etablierung einer MYBPC3 Assay Messung mittels einer hochsensitiven Technologie. Die beiden Marker BNP und hs-cTnI dienen als Vergleichsmarker. Als gemeinsames Projekt mit der *Shared Expertise* SE062 sollten die drei Biomarker in Blutproben von n=1000 Patienten der *BioProspective*-Kohorte und als Validierung in n=500 Patienten der *INTERCATH*-Kohorte gemessen werden. Die *BioProspective*-Kohorte wurde im Rahmen des DZHK-Projekts „Biomarker Research" am Standort RheinMain / Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim etabliert. Die INTERCATH Kohorte wurde bereits am DZHK Standort Hamburg/Kiel/Lübeck etabliert. Bioproben standen in beiden Kohorten für das Projekt zur Verfügung.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde,

Das Projekt wurde als sogenanntes *Shared Expertise*-Projekt im Rahmen des Deutschen Zentrums für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK) e.V. durchgeführt. Das DZHK ist eine Fördermaßnahme der vom BMBF geförderten Deutschen Zentren der Gesundheitsforschung (DZG), deren Ziel die Erforschung der häufigsten Volkskrankheiten ist. Im Fokus der Forschungsarbeiten des DZHK stehen eine verbesserte Prävention, Diagnostik und Therapie der häufigsten kardiovaskulären Erkrankungen, die gemeinsam auf eine optimale Versorgung der Patientinnen und Patienten zielen. Diese langfristig angelegte Förderung stärkt das hohe Innovationspotential der Gesundheitsforschung.

Das *Shared Expertise* Projekt wurde im Rahmen der Säule B („Präklinische Forschung") des DZHKs durchgeführt, bei der die Finanzierung durch die flexiblen Mittel des DZHKs bei Beteiligung von mindestens zwei DZHK-Partnerstandorten bzw. einem DZHK-Partnerstandort mit einem nicht-DZHK-Partner erfolgt. Die entsprechenden Vorgaben wurden beachtet und das Projekt in Kooperation mit dem DZHK-Standort Hamburg/Kiel/Lübeck bearbeitet.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens,

MYBPC3 erscheint neben und ergänzend zu etablierten Biomarkern wie den kardialen Troponinen nützlich für die Diagnose und Ergebnisvorhersage verschiedener kardialer Erkrankungen. So wird für MYBPC3 insbesondere eine relevante Rolle vermutet bei Erkrankungen, die zu kardialen Schäden führen. Bis jetzt gibt es jedoch keine Bewertung seiner Nützlichkeit hinsichtlich der Identifizierung einer relevanten Koronarstenose bei stabilen Patienten mit Verdacht auf ein chronisches Koronarsyndrome (CCS).

Ziel dieses Projektes war es, MYBPC3 bei Patienten mit Verdacht auf KHK hinsichtlich seiner diagnostischen und prognostischen Aussagekraft zu bewerten und mit den etablierten im Blut bestimmbaren Markern zu vergleichen.

Am Partnerstandort RheinMain / Kerckhoff-Klinik standen Bioproben aus der BioProspective-Kohorte (n=1000) zur Verfügung. Im Sinne einer externen Validierungskohorte standen am Standort Hamburg/Kiel/Lübeck Bioproben aus der INTERCATH Kohorte (n=500) zur Verfügung. Die im Rahmen des DZHK-Standortprojekt *Biomarker Research* aufgebaute hochsensitive Plattform zur Biomarkerbestimmung am Standort Bad Nauheim sollte zur MYBPC3 Assay Etablierung genutzt werden Die fortlaufend einschließende BioProspective-Kohorte mit bisher über 4500 eingeschlossenen Patienten wurde ebenfalls im Rahmen des DZHK-Standortprojekts der Kerckhoff Klinik etabliert. Langzeit-Follow-Up Daten sollten im Rahmen dieses Projektes ergänzend in dieser Kohorte erhoben werden.

Nach Projektbeginn wurden die genauen Arbeitsschritte definiert und auf die beiden Partner aufgeteilt. Für den Partner Bad Nauheim wurden folgende Schritte geplant: (1) Komplettieren des Langzeit Follow-Ups der BioProspective Kohorte. (2) Etablierung des MYBPC3 Assays. (3) Selektion der Bioproben aus der BioProspective Kohorte und Transfer an der Standort Hamburg zur Markerbestimmung. (4) Qualitätskontrolle der Daten und Integration der Messwerte in den Datenbestand mit Zuordnung zu den jeweiligen Kohortendatensätzen sowie statistische Analysen.

4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde, insbesondere Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte, die für die Durchführung des Vorhabens benutzt wurden, Angabe der verwendeten Fachliteratur sowie der benutzten Informations- und Dokumentationsdienste,

Die koronare Herzkrankheit ist ein multikausaler Krankheitsprozess, der durch atherosklerotische Veränderungen der Gefäße verursacht wird. Diese Veränderungen führen zu einer zunehmenden Verengung der Herzkranzgefäße, die zu Durchblutungsstörungen des Herzmuskels führt und in einer Herzmuskelschädigung endet. Die Verengung der betroffenen Arterien korreliert nicht unbedingt mit der klinischen Symptomatik, wie z. B. der Schmerzstärke der Angina Pectoris oder EKG-Veränderungen. Die Stenose kann in vielen Fällen klinisch unauffällig bleiben. MYBPC3 ist ein 140,5 kDa großes Protein, das periodisch in einem Abstand von 43nm entlang des Myosins des Muskels auftritt. Während ischämischer Prozesse und früher Repolarisation wird MYBPC3 in den Blutkreislauf freigesetzt, weshalb MYBPC3 kürzlich als robuster und früher diagnostischer Biomarker für das akute Koronarsyndrom beschrieben wurde (1). Daten zu einem experimentelle hochsensitiver MYBPC3-Immunoassay sind vielversprechend mit einem LLOD von 0,4 ng/L , LLOQ von 1,2 ng/L und einer angemessenen Wiederfindungsrate (Mittelwert 107,1%), Verdünnungslinearität (Mittelwert 101,0%) und Präzision (intraserielle Präzision, CV, 11%; Interserielle Präzision, CV, 13%) wurde entwickelt (2). Solch eine hochsensitive Messung von MYBPC3 liefert nicht nur bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, sondern kann auch bei Patienten mit Aortenstenose relevante diagnostische Informationen (3) und zeigt eine gute Assoziation mit myokardialer Hypertrophie, Fibrose und einem erhöhten Mortalitätsrisiko bei Aortenstenose. Diese publizierten Daten unterstreichen den potentiellen Wert des Biomarkers als Marker für auch geringe myokardiale Ischämie. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Marber wurde am Standort Bad Nauheim bereits in einer Patientenkohorte, die sich einer therapeutischen Ablation der Septumhypertrophie (TASH) unterzogen haben, hochsensitives MYBPC3 gemessen und die günstige Freisetzungskinetik im Vergleich zu kardialem Troponin T beschrieben (4).

(1) Direct comparison of cardiac myosin-binding protein c with cardiac troponins for the early diagnosis of acute myocardial infarction. Kaier TE, Twerenbold R, Puelacher C, Marjot J, Imambaccus N, Boeddinghaus J, Nestelberger T, Badertscher P, Sabti Z, Giménez MR, Wildi K, Hillinger P, Grimm K, Loeffel S, Shrestha S, Widmer DF, Cupa J, Kozhuharov N, Miró Ò, Martín-Sánchez FJ, Morawiec B, Rentsch K, Lohrmann J, Kloos W, Osswald S, Reichlin T, Weber E, Marber M, Mueller C. Circulation. 2017;136(16):1495-1508.

(2) The development and application of a high-sensitivity immunoassay for cardiac myosin-binding protein C. Marjot J, Liebetrau C, Goodson RJ, Kaier T, Weber E, Heseltine P, Marber MS. Transl Res. 2016;170:17-25.e5.

(3) Cardiac myosin-binding protein C is a novel marker of myocardial injury and fibrosis in aortic stenosis. Anand A, Chin C, Shah ASV, KwieciÄ Ski J, Vesey A, Cowell J, Weber E, Kaier T, Newby DE, Dweck M, Marber MS, Mills NL. Heart. 2018;104(13):1101-1108.

(4) Cardiac myosin-binding protein C: a potential early biomarker of myocardial injury. Baker JO, Tyther R, Liebetrau C, Clark J, Howarth R, Patterson T, Möllmann H, Nef H, Sicard P, Kailey B, Devaraj R, Redwood SR, Kunst G, Weber E, Marber MS. Basic Res Cardiol. 2015;110(3):23.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen.

Es erfolgte keine Zusammenarbeit mit anderen Stellen über die Kooperation im Rahmen der *Shared Expertise* SE062 hinaus als Verbundprojekt B19-025_SE mit dem Universitären Herzzentrum Hamburg, Klinik für allgemeine und interventionelle Kardiologie (PI Prof. T. Zeller).

II. Eingehende Darstellung zu

1. der Verwendung der Zuwendung und den erzielten wissenschaftlich-techn. Ergebnissen im Einzelnen, mit Gegenüberstellung zu den ursprünglichen Zielen,

Am Standort Bad Nauheim standen n=1000 Bioproben von Patienten, die in die BioProspective Kohorte eingeschlossen wurden, zur Verfügung. Für eine externe Validierung standen n=500 Bioproben der INTERCATH Kohorte am Standort Hamburg zur Verfügung. Entsprechend der Planung wurden im Rahmen des Arbeitspakets 4 (*Project preparation; shipment; Statistics and manuscript preparation*) am Standort Bad Nauheim 2019 die Proben der BioProspective Kohorte selektiert und transferiert. Die Ergebnisse der im Rahmen des Arbeitspaketes 1 (*Measurement of MYBPC3, TnI and BNP in both cohorts*) am Standort Hamburg durchgeführten Messungen wurden als Teil des Arbeitspaketes 4 in die Datenbank integriert am Standort Bad Nauheim und erste explorative Analysen erfolgten. Entsprechend des geplanten Arbeitspaketes 2 (*Completion of the long-term follow-up of the n=1000 subgroup of the BioPropective cohort*) wurden am Standort Bad Nauheim die Follow-Up Daten der BioProspective Kohorte vervollständigt, es erfolgte eine Qualitätskontrolle der Daten und diese wurden in die Datenbank integriert und standen für Analysen zur Verfügung. Entsprechend der Planung als Teil von Arbeitspaket 1 (*Measurement of hs-MYBPC3, hscTnI and BNP in both cohorts*) erfolgte am Standort Bad Nauheim die technische Etablierung eines MYBPC3 Assay. Im Anschluss erfolgten zu Testzwecken Messungen mithilfe dieses Assays an beiden Standorten in Bioproben aus beiden Kohorten mit vergleichenden (Mehrfach)Bestimmungen. Hier zeigten sich relevante Messungenauigkeiten des Assays, die eine klinische Auswertung und mögliche Nutzung stark einschränken würden. Im Anschluss erfolgte dann am Standort Bad Nauheim die ergänzende Etablierung eines kommerziell verfügbaren manuellen ELISAS zur MYBPC3 Bestimmung. Jedoch zeigte sich auch hier in der testweisen Bestimmung mit unterschiedlichen Verdünnungen sowie mit 2 unterschiedlichen MYBPC3 Antikörpern in n=20 Bioproben der BioProspective Kohorte keine ausreichende Testpräzision. Am ehesten ist von einer nicht ausreichenden Sensitivität der getesteten Assays auszugehen, um die geringe Menge MYBPC3 zu detektieren, die im Rahmen einer stabilen Situation in der Zirkulation voliegt im Vergleich zu den höheren Konzentrationen bei Vorliegen einer akuten (instabilen) Myokardischämie. Eine dann 2020 ergänzend durchgeführte internet-basierte Suche nach eventuell zwischenzeitlich verfügbaren Assays, die das bestehende zu insensitive Testsysstem ersetzen könnten, blieb erfolglos. Aktuell finden am Standort Bad Nauheim kostenneutrale Versuche zur weiteren Optimierung des bestehenden Testsystems z.B. unter Verwendung anderer Antikörper statt.

Das Projekt war ursprünglich für eine Laufzeit von einem Jahr vorgesehen. Bedingt durch die schwierige Situation in der Covid-19-Pandemie sowie technischen Aspekten kam es zu Verschiebungen der Zeitplanung hinsichtlich der geplanten Messungen. Das Projekt wurde kostenneutral um 6 Monate verlängert, auch erfolgen zum Zeitpunkt des Berichtes noch kostenneutral weitere Arbeiten.

2. den wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises,

Laut Projektantrag umfasste die Förderung folgende Mittel: Personalausgaben und sächliche Verwaltungsausgaben. Die Mittel am Standort Rhein-Main / Kerckhoff-Klinik wurden entsprechend dem Budgetplan wie geplant eingesetzt. Aufgrund der Verzögerungen bedingt durch technische Aspekte sowie insbesondere durch die außergewöhnliche Pandemiesituation werden aktuell sich aus den Ergebnissen ergebenen weitere wissenschaftliche Aktivitäten kostenneutral an beiden Standorten gemeinsam durchgeführt.

3. der Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit,

Im Rahmen der präklinischen und klinischen Forschung werden ausgezeichnete wissenschaftliche Fähigkeiten, Fachkenntnisse und Infrastrukturen eines DZHK-Partners (z.B. als beteiligte *Shared Expertise*) bzw. eines nicht-DZHK-Partners zur Verfügung gestellt. In diesem Projekt wurde die *Shared Expertise* SE 062 des DZHK-Standort Hamburg/Kiel/Lübeck im Rahmen der Biomarkermessungen genutzt. Die hierzu eingesetzten Bioproben wurden von der Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim im Rahmen der entsprechenden Registerstudie beigetragen. Auch die statistische Datenaufarbeitung und Datenauswertung erfolgte am Standort Bad Nauheim. Um die antragsgemäß gesetzten Arbeiten umzusetzen, war die von beiden beteiligten Standorten geleistete Arbeit essentiell. Die KHK ist eine der häufigsten Todesursache. Zur verbesserten Diagnosestellung, gerade der frühen Diagnose einer Myokardischämie sowohl in einer instabilen aber insbesondere auch in einer stabilen Situation und damit eine die Möglichkeit einer frühzeitigen individualisierten Therapie, sind Untersuchungen und Analysen neuer Biomarker wichitg, die z.B. im Blut bestimmbar sind.

4. dem voraussichtlichen Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans mit Zeithorizont,

Die erzielten Ergebnisse sind die Grundlage für weitere Analysen sowie (DZHK-) Projekte, in denen die KHK und die diagnostische Aussagekraft neuer Biomarker untersucht werden.

MYBPC3 ist weiterhin als vielversprechender Marker zur verbesserten Diagnose der, sowie Risikostratifizierung bei KHK zu sehen. Im Rahmen des bestehenden BioProspective-Patientenregisters am Standort Bad Nauheim, das Teil des DZHK-Standortprojektes „Biomarker Research" ist, sowie der Validierungskohorte sind weitere Analysen und statistische Auswertungen geplant, um den diagnostischen Nutzen z.B. in verschiedenen Subkohorten näher zu charakterisieren. Dies schafft die Grundlage für die Verbesserung bestehender und die Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren im Zusammenhang mit der KHK. Als Zeithorizont sind 3 Jahre vorgesehen.

5. dem während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen,

Es sind von dritter Seite keine Ergebnisse bekannt geworden, die wesentlichen Einfluss auf die Verwertung der Ergebnisse nehmen.

6. den erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses.

Die Publikation der Ergebnisse wird nach detaillierter Einordnung der Ergebnisse in den klinisch-wissenschaftlichen Gesamtkontext erfolgen. Es ist vorgesehen, die Daten auf internationalen Kongressen vorzustellen. Weiterhin ist mindestens eine gemeinschaftliche Publikation in einem internationalen begutachteten Journal geplant.

Bad Nauheim, den 06.05.2021

16.06.2021

Prof. Dr. T. Keller

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel Cardiac myosin-binding protein C in comparison to highly sensitive troponin I and B-type natriuretic peptide to identify an obstructive coronary artery disease in stable patients	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Prof. Dr. med. Till Keller	5. Abschlussdatum des Vorhabens Dezember 2020
	6. Veröffentlichungsdatum --
	7. Form der Publikation --
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Kerckhoff-Klinik GmbH Abt. Kardiologie Benekestrasse 2-8 61231 Bad Nauheim	9. Ber. Nr. Durchführende Institution --
	10. Förderkennzeichen 81X2200204
	11. Seitenzahl 6
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung Kapelle-Ufer 1, 10117 Berlin Hessisches Ministerium für Wissenschaft und Kunst, Rheinstraße 23-25, 65185 Wiesbaden	13. Literaturangaben 4
	14. Tabellen 0
	15. Abbildungen 0
16. Zusätzliche Angaben --	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) --	
18. Kurzfassung Bei Patienten mit V.a. stabile koronare Herzkrankheit wird eine Risikostratifizierung mittels nicht-invasiv bestimmter Vortestwahrscheinlichkeit empfohlen. Mit diesem Ansatz kann jedoch eine relevante Anzahl von Fällen übersehen werden. Die Nutzung von einfach zugänglichen und mit niedrigem Risiko verbundenen Screening-Tools, beispielsweise im Blut bestimmbaren Biomarkern, ist wünschenswert, um eine individuelle Risikoabschätzung zu ermöglichen. Kardiales Myosin-bindendes Protein C (MYBPC3) hat bereits Potential gezeigt, die Frühdiagnose der akuten Myokardischämie über die etablierte kardiale Troponinbestimmung hinaus zu verbessern. Ziel des Projekts war es, den diagnostischen Wert von MYBPC3 hinsichtlich des Vorliegens einer relevanten koronaren Obstruktion bei stabilen Patienten im Vergleich zu etablierten Biomarkern zu untersuchen. Basierend auf 1000 Patienten mit Verdacht auf ein chronisches Koronarsyndrom sowie 500 Patienten einer unabhängigen Validierungskohorte wurden die etablierten Vergleichsbiomarker bestimmt. Für MYBPC3 wurde ein Assay etabliert. Hiermit konnten die im Vergleich zu einer akuten ischämischen Situation niedrigeren Konzentrationen an MYBPC3 in der Zirkulation, im Kontext der etablierten Biomarker, nicht mit einer ausreichenden Genauigkeit bestimmt werden, um eine klinische Aussage zu erlauben. Weitere Optimierungen der Bestimmung von MYBPC3 sind notwendig, um eine valide Messung in stabilen Patienten zu ermöglichen. Mit der Verfügbarkeit entsprechender sensitiver Bestimmungstechnologie hat MYBPC3 das Potential, neben klinisch etablierten Biomarkern wie den hochsensitiven Troponinen die nicht-invasive klinische Risikostratifizierung zu unterstützen.	
19. Schlagwörter Biomarker, Koronare Herzerkrankung, Risikostratifizierung	
20. Verlag Noch nicht publiziert	21. Preis Noch nicht publiziert

Bad Nauheim, den 06.05.2021

Prof. Dr. med. T. Keller