

Deutsches Herzzentrum München

Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen im Erwachsenenalter

Direktor: Prof. Dr. Heribert Schunkert

Prognostische Aussagekraft von Gamma- Glutamyltransferase bei Patienten mit Diabetes mellitus und koronarer Herzkrankheit

Anke Luttert

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der
Zahnheilkunde genehmigten Dissertation

Vorsitzender: Prof. Dr. Jürgen Schlegel

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr. Adnan Kastrati

2. Prof. Dr. Herbert Deppe

Die Dissertation wurde am 19.12.2017 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 03.07.2018 angenommen.

Mein Dank geht vor allem an meinen Betreuer Prof. Dr. Adnan Kastrati, den stellvertretenden Direktor der Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen am Deutschen Herzzentrum München für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung.

Des Weiteren möchte ich mich bei PD Dr. Sebastian Kufner bedanken, der mir ein äußerst hilfreicher Mentor war. Danke für die intensive Zusammenarbeit, die konstruktiven Anregungen und die großzügige fachliche Unterstützung.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Prof. Dr. Gjin Ndrpepa für die Unterstützung in wissenschaftlichen Fragen bedanken.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern Edith Buchholz und Walter Luttert, die mir einen Großteil meines bisherigen Lebensweges ermöglichten und mich dabei immer unterstützten.

Tief verbunden und dankbar bin ich meinem Ehemann, Dr. Gernot Brockmann, für seine hilfreiche Unterstützung und seinen Rückhalt bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit.

Für die Durchsicht und seine wertvollen Anstöße danke ich Marian Boris Radman.

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
1. Abstrakt.....	7
Hintergrund	7
Methoden und Ergebnisse.....	7
Schlussfolgerung.....	7
2. Einleitung.....	9
2.1 Diabetes und KHK	9
2.2 Gamma-Glutamyltransferase (GGT)	10
2.2.1 Aufbau der GGT	11
2.2.2 Vorkommen	12
2.2.3 Funktionen der GGT.....	12
2.2.4 Pathophysiologie	14
2.2.5 GGT in Assoziation mit Krankheitsbildern	15
2.2.6 GGT bei Diabetes Typ II und KHK.....	15
2.3 Zielsetzung der Studie	17
3. Methoden	18

3.1 Studiendesign und Studienpatienten	18
3.2 Klinische Diagnose und Koronarangiographie	18
3.3 Biochemische Messungen	20
3.4 Studienendpunkte und Follow-up	21
3.4.1 Studienendpunkte	21
3.4.2 Follow up	22
3.5 Statistische Auswertung	22
4. Ergebnisse.....	24
4.1 Basalcharakteristika	24
4.2 Klinische Ereignisse	26
4.3 Adjustierte GGT-Aktivität im Bezug auf Mortalität.....	28
4.4 Die Aussagekraft der Risikoprognose anhand von GGT	31
5. Diskussion	32
5.1 Limitationen.....	34
5.2 Schlussfolgerung.....	34
6. Literaturverzeichnis	36

Abkürzungsverzeichnis

GGT	Gamma-Glutamyltransferase
KHK	Koronare Herzkrankheit
PCI	Percutaneous Coronary Intervention
HR	Hazard Ratio
CI	Confidence Interval
CVD	Cardiovascular Disease (=Kardiovaskuläre Erkrankungen)
CABG	Coronary Artery Bypass Graft
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
Hb	Hämoglobin
DES	Drug Eluting Stent
BMS	Bare Metal Stent

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: GGT-Aktivität in Abhängigkeit von Geschlecht und Alter für eine selektierte Population* in U/L (15).....	11
Tabelle 2: Basalcharakteristika	25
Tabelle 3: Kardiovaskuläre Ereignisse im Rahmen des 3-Jahres-Follow-ups.....	27
Tabelle 4: Angepasste Hazard Ratios und 95% Konfidenzintervall der Gesamtmortalität in Assoziation mit GGT und anderen Basalcharakteristika.....	30

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: GGT-Reaktion und der angenommene Mechanismus einer damit verbundenen prooxidativen und atherogenen Aktivität (Cys, Cystein; Glu, Glutaminsäure; Gly, Glycin; GSH, Glutathion; LDL, Low Density Lipoprotein; oxLDL, oxidiertes LDL) (26)	13
Abbildung 2: Die 3-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier im Bezug auf die GGT.....	26
Abbildung 3: 3-Jahres-Mortalität im Bezug auf GGT; die Zahlen über den roten Balken repräsentieren die Gesamtsterblichkeit. Die Zahlen in den blauen Balken stellen die kardiale Mortalität in jeder der GGT-Dezilen dar.....	28

1. Abstrakt

Hintergrund

Der Zusammenhang zwischen erhöhter Gamma-Glutamyltransferase (GGT)-Aktivität und Mortalität bei Patienten mit Diabetes mellitus und koronarer Herzkrankheit (KHK) bleibt unklar.

Methoden und Ergebnisse

In die Studie wurden 1448 Patienten mit Diabetes mellitus und angiographisch nachgewiesener KHK, die sich einer perkutanen Koronarintervention (PCI) unterzogen, eingeschlossen. GGT-Ausgangsmessungen waren von allen Patienten verfügbar. Primärer Endpunkt war die Gesamt-3-Jahres-Mortalität. Die Patienten wurden nach GGT-Wert in Terzile unterteilt: Gruppe 1 (erstes Terzil): $GGT \leq 29,4$ U/L (n=487), Gruppe 2 (zweites Terzil): $GGT > 29,4-52,5$ U/L (n=479) und Gruppe 3 (drittes Terzil): $GGT > 52,5$ U/L (n=482). Im Beobachtungszeitraum von drei Jahren ergaben sich 179 Todesfälle: es verstarben 46 Patienten (11,9%) im ersten, 49 Patienten (12,1%) im zweiten und 84 Patienten (21,4%) im dritten GGT-Terzil (angepasste Hazard Ratio [HR]=1,25, 95% Konfidenzintervall [CI] 1,05-1,49, $P=0,011$). Tod kardialer Ursache trat bei insgesamt 101 Patienten ein: bei 22 aus dem ersten GGT-Terzil (5,8%), bei 30 aus dem zweiten GGT-Terzil (7,2%) und bei 49 aus dem dritten GGT-Terzil (12,9%) (angepasste HR=1,23 [0,96-1,58], $P=0,104$; die Risikoeinschätzungen bei erhöhten Standardabweichungen wurden in der logarithmischen Skalierung der GGT berechnet). Der GGT-Wert verbesserte den prognostischen Wert für Mortalität ($P=0,020$), jedoch nicht den prognostischen Wert für kardiale Mortalität ($P=0,135$) (P-Werte zeigen den Unterschied in C-Statistiken zwischen den Modellen ohne und mit GGT).

Schlussfolgerung

Es zeigt sich in dieser Studie, dass bei Patienten mit Diabetes und KHK, die sich einer PCI unterzogen hatten, eine signifikante Assoziation zwischen erhöhter GGT-Aktivität und der 3-

Jahres-Mortalität besteht, nicht aber im Hinblick auf die kardiale Mortalität. Dabei hat das Einbeziehen kardiometabolischer Risikofaktoren und anderer klinisch relevanter Größen keinen Einfluss auf die prognostische Relevanz.

2. Einleitung

2.1 Diabetes und KHK

In der Gesamtbevölkerung ist die Prävalenz für Diabetes Typ II hoch und steigt rasant an. Jüngsten Berichten der International Diabetes Federation zufolge leiden weltweit schätzungsweise 415 Millionen Erwachsene an Diabetes. Dieser Wert wird erwartungsgemäß auf 642 Millionen im Jahr 2040 ansteigen (19). Diabetiker weisen eine bis zu 4-fach erhöhte Inzidenz für KHK, welche bei weitem die häufigste Todesursache dieser Patienten darstellt (28), auf. Unter diesem Gesichtspunkt erlangt die Risikostratifizierung für Diabetiker eine wesentliche klinische Bedeutung im Hinblick auf die KHK-bezogene Mortalität.

Diabetes mellitus fördert sowohl die Entstehung als auch das Fortschreiten der Atherosklerose. Es beschleunigt die Plaque-Progression trotz medikamentöser Therapie (3, 18, 46) und schwächt die Plaque-Regression (38). Mögliche Ursachen hierfür sind die Diabetes-assoziierte unterschwellige inflammatorische Aktivität, die systemische endotheliale Dysfunktion, Koagulationsstörungen und erhöhte Thrombozytenaktivität in Verbindung mit Dyslipidämie und arterieller Hypertonie (52). Erhöhter oxidativer Stress wird bei Diabetikern durch Hyperglykämie unterstützt und entsteht meist aufgrund von erhöhter mitochondrialer Produktion von freien Sauerstoffradikalen. Dies wird als führender Mechanismus betrachtet, welcher Diabetes mit Atherosklerose und KHK im Allgemeinen in Zusammenhang bringt (16).

Ein häufiges Problem bei Typ-II-Diabetikern stellt die asymptomatische koronare Herzkrankheit und im Besonderen die stumme Ischämie dar. Je nach Vorliegen zusätzlicher kardiovaskulärer Risikofaktoren werden in der Literatur Inzidenzen von bis zu 65% beschrieben.

Eine stumme Ischämie liegt dann vor, wenn bei asymptomatischen Patienten objektiv eine Ischämie nachgewiesen wird. Zu Beginn findet sich bei einer hämodynamisch relevanten Koronarstenose eine Minderperfusion des Myokards, welche nach metabolischen Veränderungen eine Beeinträchtigung der diastolischen und systolischen Funktion bewirkt. Schließlich können EKG-Veränderungen und zuletzt eine Angina-Pectoris-Symptomatik auftreten (61).

Bei der medikamentösen Therapie der KHK kommen Thrombozytenaggregationshemmer, Statine, ACE-Hemmer und Betablocker zum Einsatz.

Bei hochgradigen Koronarstenosen profitieren die Patienten von einer revaskularisierenden Therapie. Hierbei stellt sich nach wie vor die Frage nach der Überlegenheit einer der beiden Behandlungsmethoden, PCI und CABG (Coronary Artery Bypass Graft).

Im „Freedom Trial“, einer vom National Heart, Lung, and Blood Institute, USA, gesponserten Studie, wurden zwischen 2005 und 2010 1900 Diabetiker (Typ I und Typ II), die mit einer PCI (Drug Eluting Stents (DES)) oder eines CABG behandelt wurden, hinsichtlich Mortalität, Myokardinfarkt und Schlaganfall über einen Zeitraum von mindestens 2 Jahren beobachtet. Einschlusskriterium war das Vorliegen einer 2- oder 3-Gefäßerkrankung. In der PCI-Gruppe wurden Sirolimus-eluting (51%) und Paclitaxel-eluting Stents (43%) der ersten Generation implantiert. Zusätzlich erhielten die Patienten Aspirin und Clopidogrel für mindestens ein Jahr. Das Resultat der Studie war, dass bei Patienten mit Diabetes und fortgeschrittener KHK die Behandlung mittels CABG der Behandlung durch PCI im Hinblick auf Mortalität und Myokardinfarkt überlegen war. Schlaganfälle traten allerdings häufiger in der CABG-Gruppe auf (11).

Zu bedenken ist außerdem, dass für Diabetiker im Gegensatz zu Nicht-Diabetikern auch die chirurgische Therapie mit erhöhten Komplikationen verbunden ist. Das Risiko für Schlaganfall, Wundheilungsstörungen, Mediastinitis, Nierenversagen und postoperative myokardiale Dysfunktion ist deutlich erhöht und macht verlängerte Klinikaufenthalte notwendig (48).

Bei komplexen Patienten muss im Einzelfall eine individuelle Entscheidung bezüglich der Behandlungsmethode getroffen werden. Ob eine Behandlung mittels PCI mit DES der neuen Generation in Kombination mit modernen Thrombozytenaggregationshemmern oder die chirurgische Therapie zu favorisieren ist, bleibt Gegenstand aktueller Studien.

2.2 Gamma-Glutamyltransferase (GGT)

Die Gamma-Glutamyltransferase ist ein Enzym, das eine Rolle im Glutathion-Metabolismus (4) spielt und einen Marker für Antioxidanzien-Mangel (21) darstellt. Es befindet sich auf der äußeren Oberfläche von Zellmembranen und trägt dazu bei, die physiologischen

Konzentrationen von zytoplasmatischem Glutathion aufrechtzuerhalten. Eine erhöhte GGT-Aktivität ist ein Anzeichen für eine unzureichende antioxidative Wirkung und erhöhten oxidativen Stress. Die GGT wird im Blutserum bestimmt. Man nimmt an, dass messbare Erhöhungen ausschließlich durch Zerstörung von Leberzellen entstehen, da es sich bei der GGT um ein Enzym handelt, das normalerweise fest an die Zellmembran gebunden ist (17).

Männer						Frauen					
Alter	Perzentilen					Alter	Perzentilen				
	2,5	50	90	95	97,5		2,5	50	90	95	97,5
8 - 12	8,4	14,0	19,8	23,8	27,8	8 - 12	8,0	13,9	19,4	21,7	24,7
12 - 16	10,1	15,4	20,0	23,6	26,4	12 - 16	6,4	13,7	19,8	23,9	31,0
16 - 20	9,2	17,5	29,1	35,0	45,0	16 - 20	7,0	13,4	19,5	21,6	24,4
20 - 30	11,5	23,6	48,4	63,8	76,1	20 - 30	7,0	15,7	25,8	32,2	41,5
30 - 40	12,1	28,6	64,4	81,2	94	30 - 40	9,0	17,4	33,9	43,9	55,0
40 - 50	13,1	32,4	68,1	85,6	105	40 - 50	8,9	18,5	42,2	53,2	71,3
50 - 60	14,6	32,6	66,7	86,3	103	50 - 60	10,3	20,2	47,4	59,4	83,2
> 60	13,8	28,6	61,7	72,5	83,6	> 60	10,7	22,5	40,5	48,5	60,2

Tabelle 1: GGT-Aktivität in Abhängigkeit von Geschlecht und Alter für eine selektierte Population* in U/L (45)

* Ausgeschlossen wurden Personen, die mehr als einen Liter Bier oder Wein / Tag tranken oder regelmäßig Alkohol konsumierten und Frauen, die orale Kontrazeptiva einnahmen.

2.2.1 Aufbau der GGT

GGT lässt sich auf der äußeren Oberfläche von Membranen verschiedener Zellen lokalisieren. Säugetier-GGT ist ein dimeres Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 68 kDa, bestehend aus zwei Untereinheiten: einer großen Untereinheit von 46 kDa und einer kleinen Untereinheit von 22 kDa. In Abhängigkeit vom Glycosylierungsgrad wurden jedoch Variationen im Molekulargewicht festgestellt, welche sich zwischen 38 bis 72 kDa für die große Untereinheit und zwischen 20 bis 66 kDa für die kleine Untereinheit bewegen. Die große Untereinheit weist eine intrazelluläre N-terminale Sequenz mit einem transmembranen hydrophoben Anteil und einem extrazellulären Anteil, der für die GGT-Verankerung auf der

zellulären Membranoberfläche verantwortlich ist, auf. Die kleine Untereinheit beherbergt das enzymaktive Zentrum (5).

GGT wird als einzelne Polypeptidkette hergestellt, welche autoproteolytisch in die große und kleine Untereinheit gespalten wird (12).

Auf der Basis der Gelfiltrationschromatographie haben Forscher der Pisa-Universität vier GGT-Fraktionen mit unterschiedlichem Molekulargewicht bei den Probanden beider Geschlechter identifiziert: groß (b-GGT), mittel (m-GGT), klein (s-GGT) und frei (f -GGT) (14). Neuere Studien haben gezeigt, dass b-GGT aus Membran-Mikrovesikeln besteht. Es kann als Vorläufer für kleinere Fraktionen (m-GGT und s-GGT) dienen, während f-GGT die freie lösliche Form des Enzyms darstellt (12).

2.2.2 Vorkommen

GGT ist in allen Zellen mit Ausnahme von Erythrozyten vorhanden. Aufgrund der unterschiedlichen embryonalen Entwicklung der Gewebe gibt es erhebliche Unterschiede in der GGT-Aktivität (60). Untersuchungen zeigen, dass die GGT-Aktivität in Geweben mit sekretorischer und absorptiver Funktion wie der Niere, dem Gallensystem, dem Darm und den Nebenhoden besonders hoch ist; die Enzymaktivität ist am größten in der ductalen Lumenoberfläche dieser Gewebe (6). Im proximalen Tubulus der Niere wurde eine hohe GGT-Aktivität nachgewiesen. Die GGT-Aktivität von Hepatozyten und Cholangiocyten ist besonders intensiv im Gallenpol (12).

Das zirkulierende GGT stammt hauptsächlich aus der Leber (47, 59) und wird durch genetische und umweltbedingte Faktoren beeinflusst (2).

2.2.3 Funktionen der GGT

Wirkung und Funktion der GGT sind noch nicht vollständig geklärt.

Die Lokalisierung der GGT in Geweben mit Transportfunktion hat zu der Annahme geführt, dass GGT am Transport von Aminosäuren über den Gamma-Glutamylzyklus beteiligt ist (31). Gegen diese Hypothese spricht, dass Menschen oder Tiere mit GGT-Mangel keine Anomalien im Aminosäure-Transport aufweisen (60).

Eine der entscheidendsten physiologischen Funktionen von GGT ist die Spaltung von Glutathion, dem wichtigsten Thiolantioxidans beim Menschen. Glutathion hat umfassende zelluläre Funktionen, einschließlich dem Schutz vor oxidativem Stress, Redox-Signalisierung, Entgiftung von Xenobiotika, Zellproliferation, Fibrogenese, Stickoxyd-Metabolismus, Lagerung und Transport von Cystein, Schwefelstoffwechsel und Apoptose (13).

Glutathion wird im Zytoplasma von Zellen über einen Zyklus von Reaktionen, der bereits 1973 von A. Meister beschrieben wurde (31), synthetisiert. Anschließend wird Glutathion aus der Zelle transportiert und durch GGT in den Glutamylrest (übertragen auf Wasser oder andere Verbindungen wie Aminosäuren oder Peptide) und Dipeptid-Cysteinyl-Glycin abgebaut, welches durch Dipeptidase in freies Cystein und Glycin weiter abgebaut wird.

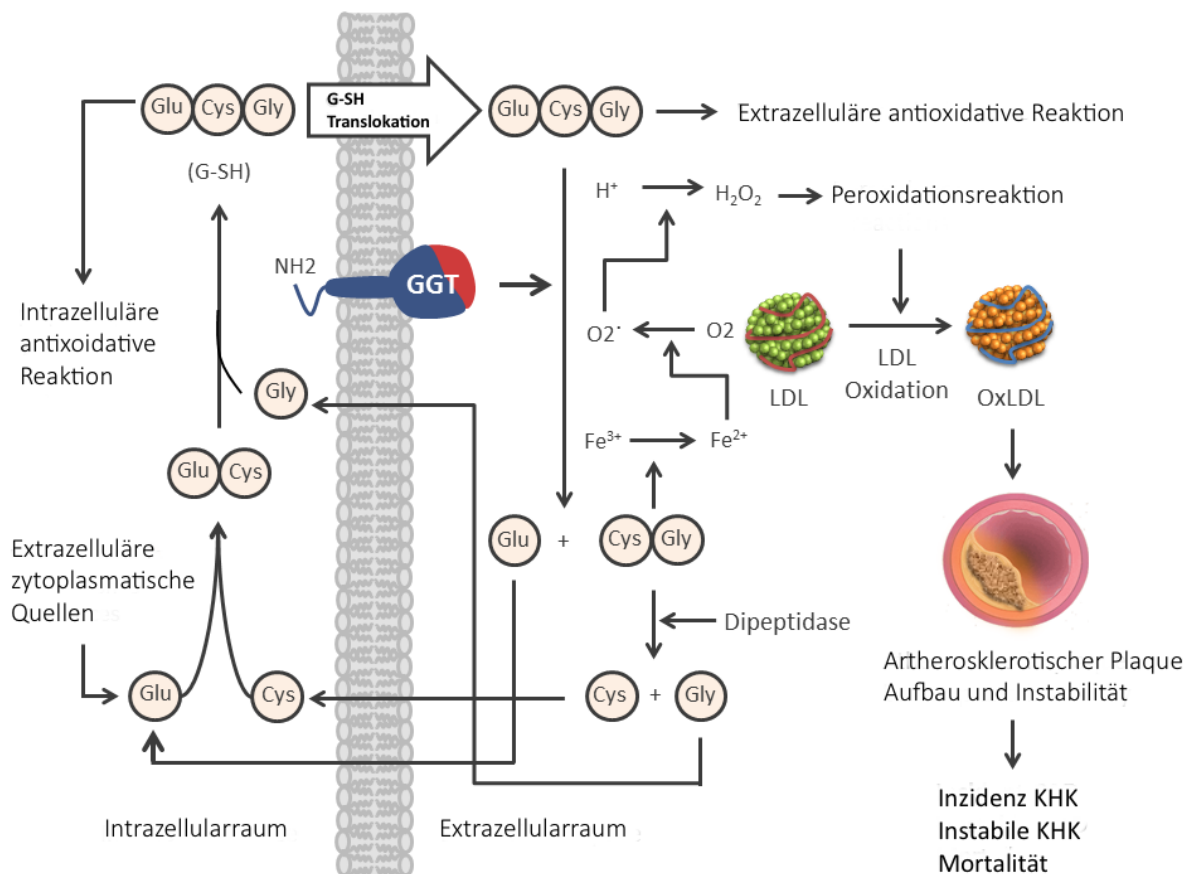


Abbildung 1: GGT-Reaktion und der angenommene Mechanismus einer damit verbundenen prooxidativen und atherogenen Aktivität

(Cys, Cystein; Glu, Glutaminsäure; Gly, Glycin; GSH, Glutathion; LDL, Low Density Lipoprotein; oxLDL, oxidiertes LDL) (35)

Der Abbau von Glutathion im Extrazellularraum erhöht die Verfügbarkeit von Cystein, welches von den Zellen aufgenommen wird und als wesentlicher Vorläufer für die intrazelluläre Synthese von Glutathion und Proteinen verwendet wird. Somit trägt GGT zur Aufrechterhaltung der physiologischen Konzentration von Glutathion im Cytoplasma und zur zellulären Abwehr gegen oxidativen Stress bei.

Andere Funktionen von GGT umfassen die Beteiligung am Metabolismus von Leukotrienen, Xenobiotika und Glutaminase (Spaltung der Amidbindung der Aminosäure Glutamin zur Herstellung von Glutamat und Ammonium) (60).

GGT-Mangel ist eine extrem seltene autosomal-rezessive Erkrankung. Kennzeichen sind eine erhöhte Glutathionkonzentration im Plasma und im Urin (aufgrund des Zellverlusts, der nicht durch die GGT-Aktion kompensiert wird) und Veränderungen des Zentralnervensystems (43).

2.2.4 Pathophysiologie

Nach aktueller Forschungslage wird davon ausgegangen, dass eine direkte Beteiligung von GGT in der Pathophysiologie von kardiovaskulären Erkrankungen (CVD), insbesondere der Atherosklerose, auf zellulärer und molekularer Ebene besteht. Der Abbau von Glutathion durch GGT im extrazellulären Raum führt zur Produktion von Cysteinyl-Glycin-Dipeptid, einem stärkeren Reduktionsmittel als Glutathion. Die Cysteinyl-Glycin-Einheit wirkt als starkes Reduktionsmittel von Eisen (von Fe^{3+} zu Fe^{2+}), das anschließend die Bildung von Superoxid und Wasserstoffperoxid katalysiert. Diese Verbindungen fördern Peroxidationsreaktionen (einschließlich der Oxidation von Low-Density-Lipoproteinen) und haben eine prooxidative und eine proinflammatorische Wirkung (Abbildung 1). Es gibt Hinweise darauf, dass diese Reaktionen innerhalb von atherosklerotischen Plaques auftreten. Sie stellen den mutmaßlichen Mechanismus der direkten Beteiligung von GGT in der Pathophysiologie der Atherosklerose, die zur Förderung des atherosklerotischen Prozesses, Plaque-Instabilität und koronaren ischämischen Ereignissen führt (30), dar. Katalytisch aktives GGT findet sich in atherosklerotischen Plaques (39). Die GGT-Aktivität innerhalb der atherosklerotischen Plaques korreliert mit der systemischen GGT-Aktivität (15) und den histologischen Indizes der Plaque-Instabilität (42).

2.2.5 GGT in Assoziation mit Krankheitsbildern

Eine erhöhte GGT-Aktivität korreliert mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen wie koronare Herzkrankheit, Schlaganfall, arterielle Hypertonie, Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen und hat große Bedeutung aufgrund seiner Assoziation mit metabolischem Syndrom und Krebs gewonnen (23),(4, 21). In der klinischen Anwendung wird GGT auch als Test für hepatobiliäre Erkrankungen und Alkoholmissbrauch verwendet.

Es gibt verschiedene Erklärungen für die Assoziation zwischen erhöhter GGT-Aktivität und dem Risiko einer CVD oder CVD-abhängigen Mortalität. Hierbei steht GGT in engem Zusammenhang mit etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren (die bei Patienten mit höherem GGT-Spiegel häufiger auftreten), metabolischem Syndrom und Insulinresistenz (4) - wichtige Promotoren der CVD und CVD-bezogenen Mortalität. Erhöhte GGT-Werte können ein Marker für antioxidative Unzulänglichkeit und erhöhten oxidativen Stress sein (21). Für eine Vielzahl von kardiovaskulären Erkrankungen konnte nachgewiesen werden, dass die Bildung von Radikalen zur Pathogenese bzw. Progression dieser Prozesse beiträgt. Beispiele hierfür sind Hypercholesterinämie und Atherosklerose sowie Hypertonie, Diabetes und verschiedene durch Ischämie-Reperfusionsschäden bedingte Herzerkrankungen (1). In dieser Hinsicht können erhöhte GGT-Werte als Marker für einen erhöhten kardiometabolischen Stress im Allgemeinen betrachtet werden. Prinzipiell erschwert jedoch die starke Assoziation zwischen GGT und verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren den zusätzlichen prognostischen Wert von GGT-Spiegeln zu bestimmen (5). Ohne die Verwendung von spezifischen differenzialdiagnostischen Tests, wie es in den meisten vorangegangenen Studien der Fall war, verbleibt der verbesserte prognostische Wert für Mortalität mittels GGT unbewiesen.

Die zirkulierenden GGT-Spiegel korrelieren ebenfalls eng mit den Markern einer Entzündung; daher können erhöhte Werte auf eine gesteigerte inflammatorische Aktivität hinweisen (24).

2.2.6 GGT bei Diabetes Typ II und KHK

Die Gesamtmortalität in der allgemeinen Bevölkerung (44) und bei Diabetikern (33, 49) steht in Zusammenhang mit erhöhten GGT-Spiegeln. Die These, dass Diabetiker im Gegensatz zu

Nichtdiabetikern bei einem erhöhten GGT-Wert ein höheres Mortalitätsrisiko haben sollen (25), bleibt kontrovers (20). Des Weiteren ist die Frage nach einem Zusammenhang zwischen GGT-Aktivität und kardialer Mortalität bei Diabetikern noch wenig untersucht. Entsprechende Studien lieferten widersprüchliche Ergebnisse (33, 49). Da traditionelle Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen wie Hypertonie, erhöhte Blutfettwerte, Rauchen und Adipositas sowohl bei Diabetikern als auch bei Nichtdiabetikern mit ähnlichen Risikoprognosen assoziiert sind, ist es von zentralem Interesse, die Rolle anderer möglicher Risikofaktoren im Hinblick auf eine potenzielle Abweichung bezüglich der Risikoprognose zu untersuchen.

Die nicht-alkoholische Fettleber ist mit der erhöhten Aktivität von GGT und anderen Leberenzymen assoziiert. Sie stellt mit einer Prävalenz von bis zu 70% bei Diabetikern die häufigste Ursache der chronischen Lebererkrankung dar - zusätzlich zur höheren Prävalenz der CVD (53) - und hat gemeinsame Risikofaktoren wie kardiovaskuläre Erkrankungen. Dazu gehören Hypertonie, Insulinresistenz, bauchbetonte Adipositas, Dyslipidämie und die meisten anderen Manifestationen des metabolischen Syndroms. Dabei korreliert der Schweregrad der Fettleberhepatitis gut mit der Ausprägung der kardiovaskulären Veränderungen. Es wird vermutet, dass GGT eine Verbindung zwischen Fettleber und frühen atherosklerotischen Erkrankungen (22) anzeigen kann. Beispielsweise liegen die Häufigkeit von Carotis-Plaques und die Intimadicke der Carotis bei Patienten mit Fettleber über der von gesunden und nehmen mit dem Ausmaß der vorliegenden Fibrose der Leber weiter zu (51, 54). Auch nach Adjustierung für andere kardiovaskuläre Risikofaktoren haben Patienten mit nichtalkoholischer Fettlebererkrankung ein höheres Risiko für das Vorliegen einer koronaren KHK. Sowohl die Gesamt- als auch die kardiovaskuläre Mortalität bei Patienten mit nicht-alkoholischer Fettleber ist erhöht (32). Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung wird mit dem Risiko ventrikulärer Arrhythmien (29) und Vorhofflimmern (56) assoziiert; Letzteres entweder weil beide Zustände ähnliche Risikofaktoren aufweisen oder aufgrund der ektopischen Fettansammlung im atrialen Myokard (57), welche die für die Arrhythmogenese prädisponierenden elektrophysiologischen Eigenschaften und Ionenströme modulieren kann (27).

2.3 Zielsetzung der Studie

Der Zusammenhang zwischen erhöhter GGT-Aktivität und erhöhter Gesamtmortalität war bereits Gegenstand zahlreicher Studien.

Diese Studie hatte zwei Ziele: erstens, die Beurteilung der Assoziation zwischen GGT und Gesamt- und kardialer Mortalität bei Patienten mit Diabetes und KHK, zweitens, die Untersuchung, ob GGT die Risikoprognose der Gesamt- oder der kardialen Mortalität verbessert, wenn diese um die kardiometabolischen Risikofaktoren ergänzt wird.

3. Methoden

3.1 Studiendesign und Studienpatienten

Diese Studie schloss ein Kollektiv von 1448 Patienten mit Diabetes mellitus und KHK, die sich im Deutschen Herzzentrum München und im Klinikum rechts der Isar (München, Deutschland) zwischen Januar 2000 und Januar 2011 einer PCI unterzogen, ein. Ausgeschlossen wurden Patienten mit bekannter hepatobiliärer Krankheit, Alkoholsucht, akuter Infektion, kardiogenem Schock oder einer bekannten malignen Erkrankung. Patienten mit Diabetes Typ II-Diagnose und angiographisch nachgewiesener KHK wurden eingeschlossen; GGT-Messungen dieser Patienten waren vorhanden. Es wurde eine retrospektive Beobachtungsstudie nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Durchführung wurde von der Ethikkommission freigegeben (Aktenzeichen 333/13).

3.2 Klinische Diagnose und Koronarangiographie

Kriterien für die
Diagnose der KHK:

- vorangegangener Myokardinfarkt oder koronare Bypass-Operation
- Symptome einer Myokardischämie (stabile Angina oder akutes Koronarsyndrom)
- dokumentierte signifikante koronare Atherosklerose

Kriterien für die Diagnose
von Diabetes Typ II:

- aktive Behandlung des Patienten mit Insulin oder oralen blutzuckersenkenden Medikamenten

- klinische Dokumentation eines abnormen Nüchternblutzuckerwertes (≥ 126 mg/dl oder $\geq 7,0$ mmol/l) oder eines Glukose-Toleranz-Tests (≥ 200 mg/dl oder $\geq 11,1$ mmol/l) gemäß den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation für Diabetes (8).
- Kriterien für die Diagnose der arteriellen Hypertonie:
- aktive Behandlung des Patienten mit blutdrucksenkenden Medikamenten oder
 - systolischer Blutdruck ≥ 140 mmHg oder diastolischer Blutdruck >90 mmHg bei mindestens zwei voneinander unabhängigen Messungen
- Kriterien für die Diagnose der Hypercholesterinämie:
- Dokumentation eines Gesamtcholesterins von ≥ 220 mg/dl oder
 - vorangegangene bzw. aktuelle Behandlung mit Lipidsenkern
- Definition von „Rauchen“:
- regelmäßiger Genuss jeglicher Art und Menge von Tabak innerhalb der letzten 6 Monate

Der Body-Mass-Index wurde unter Verwendung von Gewicht und Größe, die während des Klinikaufenthaltes gemessen wurden, berechnet. Die Kreatinin-Clearance wurde anhand der Cockcroft-Gault-Gleichung bestimmt. Die linksventrikuläre systolische Funktion wurde ermittelt, indem die gesamte linksventrikuläre Ejektionsfraktion anhand der Flächen-Längen-Methode berechnet wurde.

Koronarangiographie (über femoralarteriellen Zugang) und PCI wurden standardmäßig durchgeführt. Digitale Angiogramme wurden im angiographischen Corelab unter Verwendung eines automatischen Kantenerkennungssystems (CMS; Medis Medical Imaging Systems,

Neuen, Niederlande) analysiert. Die angiographische Bestätigung einer signifikanten KHK erforderte die Dokumentation von mindestens einer Koronarstenose mit $\geq 50\%$ Lumenobstruktion in mindestens einer Hauptkoronararterie. Im Vorfeld der koronaren Stentimplantation wurden alle Patienten mit Aspirin (325 bis 500 mg) und Clopidogrel (loading dose: 600 mg) behandelt. Im Anschluss an die PCI erhielten die Patienten 75 mg/Tag Clopidogrel für ≥ 1 Monat zuzüglich zu 200 mg/Tag Aspirin, wenn sie mit Bare-Metal Stents (BMS) behandelt wurden. Patienten, denen medikamentenbeschichtete Stents implantiert wurden, erhielten diese Medikation für ≥ 6 Monate. Andere Medikamente wurden nach Ermessen des behandelnden Arztes verschrieben.

3.3 Biochemische Messungen

Eine Blutprobe für die GGT-Messung wurde nach der Studienzulassung abgenommen (vor der Angiographie).

Die GGT-Aktivität im Plasma wurde bei 37 °C mittels eines enzymatisch-kolorimetrischen Assays unter Verwendung eines Roche/Hitachi Cobas c 501 Analyzers gemessen. Der Messbereich im Plasma liegt zwischen 3 und 200 U/L (0,05–20 $\mu\text{kat/L}$), die untere Nachweisgrenze liegt bei 3 U/L (0,05 $\mu\text{kat/L}$). Der Normwert beträgt $< 61,7$ U/L bei Männern und $< 40,5$ U/L bei Frauen.

Glukose in NaF-konservierten Plasmaproben wurde unter Verwendung der enzymatischen Methode mit Hexokinase gemessen. Der Normwertbereich bei Nüchternplasmaproben beträgt 74-109 mg/dl.

Glykiertes Hämoglobin A1c (HbA1c) wurde in hämolysiertem Vollblut, das mit Tripotassium-EDTA antikoaguliert wurde, gemessen. Dafür wurde eine Methode, die auf dem Prinzip des turbidimetrischen Inhibitions-Immunoassays beruht, angewandt. Der Messbereich für HbA1c liegt zwischen 0,3 – 3,4 g/dl, was einem Bereich von 23-258 mmol/mol HbA1c (IFCC [International Federation of Clinical Chemistry] und 4,3-24,8% HbA1c (DCCT [Diabetes Control and Complications Trial]/NGSP [National Glycohemoglobin Standardization Program]) und einer typischen Hämoglobinkonzentration von 13,2 g/dl entspricht. Die Werte bei gesunden Erwachsenen betragen 29-42 mmol/mol HbA1c (IFCC) oder 4,8-5,9% HbA1c (DCCT/NGSP). Die

Messungen wurden unter Verwendung eines Cobas Integra 800 Analyzers (Roche Diagnostics) durchgeführt.

Das hochsensitive C-reaktive Protein wurde mithilfe eines vollautomatisierten latexverstärkten immunturbodimetrischen Assays mit einem Cobas Integra 800 Analyzer (Roche Diagnostics) gemessen. Der CRP-Assay hat eine analytische Sensitivität von 0,085 mg/l und einen oberen Messbereich bis 160 mg/l. Die Obergrenze des Referenzbereiches bei gesunden Erwachsenen beträgt 5 mg/l.

Der Serumkreatinin-Wert wurde mithilfe eines kinetischen kolorimetrischen Assays, der auf der kompensierten Jaffe-Methode basiert, bestimmt.

Andere Labormessungen wurden unter Verwendung von Standard-Labormessmethoden durchgeführt. Dem Laborpersonal waren klinische, angiographische oder Follow-up-Daten nicht bekannt.

3.4 Studienendpunkte und Follow-up

3.4.1 Studienendpunkte

Der primäre Endpunkt dieser Studie war die Gesamtmortalität nach drei Jahren. Sekundäre Endpunkte waren: Kardiale Mortalität, Myokardinfarkt und Schlaganfall. Kardialer Tod wurde gemäß den Kriterien des Academic Research Consortiums (7) definiert.

Ein Myokardinfarkt wurde mittels Elektrokardiographie oder anhand von enzymatischen Kriterien diagnostiziert. Maßgeblich bei der Elektrokardiographie war das Auftreten neuer abnormer Q-Wellen in mindestens zwei benachbarten Extremitätenableitungen oder in mindestens zwei angrenzenden präkordialen Ableitungen. Beim enzymatischen Nachweis wurde ein dokumentierter Anstieg der myokardialen Kreatinkinaseaktivität zu mehr als zwei Zeitpunkten vorausgesetzt (mehr als dreimal innerhalb der ersten 48 Stunden nach PCI, oberer Grenzwert bei klinischen Symptomen).

Ein Schlaganfall wurde als ein akutes neurologisches Ereignis von ≥ 24 -ständiger Dauer mit fokal-neurologischen Defiziten und Symptomen und ohne evidenzbasierte alternative

Erklärung definiert. Die Diagnose eines Schlaganfalls erforderte die Bestätigung durch eine Computertomographie, Magnetresonanztomographie oder die pathologische Untersuchung.

3.4.2 Follow up

Das Follow-up-Protokoll nach Klinikentlassung beinhaltete Telefonbefragungen nach einem Monat, nach sechs Monaten und nach einem Jahr und danach jährlich, um Vitalstatus und Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse zu erheben. Auskunft über Todesfälle wurde durch Krankenhausunterlagen, Sterbeurkunden und telefonischen Kontakt mit den Angehörigen des Patienten oder dem überweisenden Arzt erlangt. Das Follow-up erfolgte geblendet für klinische Daten und Laborparameter.

3.5 Statistische Auswertung

Die kontinuierlich erhobenen Daten werden als Mediane mit der 25sten und der 75sten Perzentile und anhand des Kruskal-Wallis-Rangsummen-Tests (unter Berücksichtigung des nichtgaußförmigen Verteilungsmusters, welches durch den Kolmogorov-Smirnov-Test belegt wurde) dargestellt. Diskrete Variablen wurden als Zahlen und Verhältnisse (in %) unter Verwendung des Chi-Quadrat-Tests verglichen. Überlebenszeitanalysen wurden nach der Kaplan-Meier-Methode durchgeführt und die Gruppen wurden anhand des univariablen, proportionalen Hazard-Modells nach Cox verglichen. Das Überleben wurde mithilfe des multivariablen proportionalen Hazard-Modells nach Cox angepasst. Alle Variablen in Tabelle 2 abgesehen von Serumkreatinin (Verwendung von Kreatinin-Clearance) und glykiertem Hämoglobin A1c (aufgrund der limitierten Verfügbarkeit dieser Variable) wurden in dem Modell berücksichtigt. Die GGT wurde nach logarithmischer Transformation in das Cox-Modell eingetragen. Die Hazard Ratio wurde per Standardabweichungsanstieg in der logarithmischen Skala der GGT-Aktivität ermittelt. Die C-Statistik wurde berechnet (im multivariablen proportionalen Hazard-Modell nach Cox wurden die gleichen Variablen wie für das Modell für Mortalität verwendet), um in der Risikoprognose bezüglich der Mortalität zwischen Modellen "mit" und "ohne" GGT unterscheiden zu können. Der Bootstrap-Test (400 Proben) wurde verwendet, um das 95%-CI der C-Statistik(en) zu berechnen, wodurch die C-Statistiken in den

Modellen "mit" und "ohne" Verwendung von GGT verglichen werden konnten. Alle Analysen wurden mit dem R-Statistikpaket durchgeführt (die R-Foundation für statistische Berechnungen, Wien, Österreich). Ein zweiseitiger p-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

4. Ergebnisse

4.1 Basalcharakteristika

Insgesamt wurden 1448 Patienten mit Diabetes und KHK, die aufgrund einer signifikanten Koronarstenose mittels Koronarstent behandelt wurden, in diese Studie eingeschlossen. 751 Patienten wiesen eine stabile KHK auf und 697 ein akutes Koronarsyndrom. Die Patienten wurden nach dem GGT-Wert in drei Gruppen unterteilt: Gruppe 1 (erstes Terzil): GGT \leq 29,4 U/L (n=487), Gruppe 2 (zweites Terzil): GGT >29,4-52,5 U/L (n=479) und Gruppe 3 (drittes Terzil): GGT >52,5 U/L (n=482). Bezüglich der folgenden Charakteristika ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen GGT-Terzilen: Alter, Geschlecht, arterieller Bluthochdruck, Body-Mass-Index, Raucher, früherer Myokardinfarkt, C-reaktives Protein, Serumkreatinin, Kreatinin-Clearance, Nüchtern glukose und linksventrikuläre Auswurf fraktion. Basalcharakteristika sind in Tabelle 2 dargestellt. Allen Patienten wurden Koronarstents implantiert: 101 Patienten (7,0%) wurden mittels BMS- und 1347 Patienten (93%) mittels DES-implantation behandelt (P=0,137). Statine wurden 1380 Patienten (95,3%) verordnet.

Variable	Gamma-Glutamyltransferase-Terzile			P-Wert
	1 (n=487)	2 (n=479)	3 (n=482)	
Alter (Jahre)	70,6 [63,6-77,0]	67,1 [60,4-74,7]	68,2 [60,6-75,1]	<0,001
Weibliches Geschlecht	184 (37,8)	116 (22,2)	98 (20,3)	<0,001
Arterielle Hypertonie	398 (81,7)	377 (78,7)	341 (70,7)	<0,001
Hypercholesterinämie	334 (68,6)	344(71,8)	344 (71,4)	0,489
Insulintherapie	152 (31,2)	135 (28,2)	154 (32,0)	0,405
Body-Mass-Index (kg/m ²)	27.4 [25,0-30,7]	29,4 [26,4-32,3]	28,7 [25,6-31,8]	<0,001
Raucher	56 (11,5)	82 (17,1)	94 (19,5)	0,002

Vorangegangener Myokardinfarkt	92 (18,9)	120 (25,1)	141 (29,3)	<0,001
Vorangegangene koronar-arterielle Bypass-Operation	77 (15,8)	72 (15,0)	91 (18,9)	0,237
Klinisches Erscheinungsbild				0,702
Stabile Angina	260 (53,4)	246 (51,4)	245 (50,8)	
Akutes Koronarsyndrom	227 (46,6)	233 (48,6)	237 (49,2)	
Koronare Gefäßerkrankung				
1	84 (17,2)	76 (15,9)	62 (12,9)	0,218
2	128 (26,3)	112 (23,4)	117 (24,3)	
3	275 (56,5)	291 (60,7)	303 (62,8)	
Mehrf Gefäßerkrankung	403 (82,8)	403 (84,1)	420 (87,1)	0,154
C-reaktives Protein (mg/L)	2,40 [0,96-5,54]	3,00 [1,35-7,36]	5,10 [2,13-16,55]	<0,001
Gamma-Glutamyltransferase (U/L)	22,6 [18,4-26,0]	39,0 [33,7-44,51]	89,1 [66,0-142,0]	<0,001
Serumkreatinin (mg/dl)	0,90 [0,79-1,10]	0,97 [0,80-1,20]	1,00 [0,80-1,33]	<0,001
Kreatinin-Clearance (ml/min)	78,4 [57,6-104,1]	87,3 [61,6-115,1]	78,0 [53,5-109,3]	<0,001
Nüchtern glukose (mg/dl)	138,0 [114,0-173,8]	143,0 [118,0-185,0]	149,0 [121,0-191,0]	0,021
Glykiertes Hämoglobin A1c (%)*	7,1 [6,5-7,8]	7,3 [6,6-8,4]	7,1 [6,5-8,4]	0,093
Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (%)**	58,0 [47,0-63,0]	54,0 [45,0-60,8]	50,0 [38,0-59,0]	<0,001

Tabelle 2: Basalcharakteristika

Die Daten werden als Median [25ste; 75ste Perzentilen] oder Anzahl der Patienten (%) dargestellt.

*verfügbar bei 781 Patienten

** verfügbar bei 1210 Patienten

4.2 Klinische Ereignisse

Über einen Beobachtungszeitraum von drei Jahren traten in den drei Terzilgruppen 179 Todesfälle auf. Im ersten Terzil ergab sich eine Mortalitätsrate von 11,9% (46 Patienten), im zweiten von 12,1% (49 Patienten) und im dritten von 21,4% (84 Patienten) (Kaplan-Meier-Analyse). Demnach betrug bei Patienten der ersten, zweiten und dritten GGT-Terzile die 3-Jahres-Überlebensrate 88,1%, 87,9% und 78,6% (unangepasste Hazard Ratio [HR] =1,45, 95%-CI 1,21 bis 1,75, $P < 0,001$, berechnet für die GGT-Aktivität (Abbildung 2)).

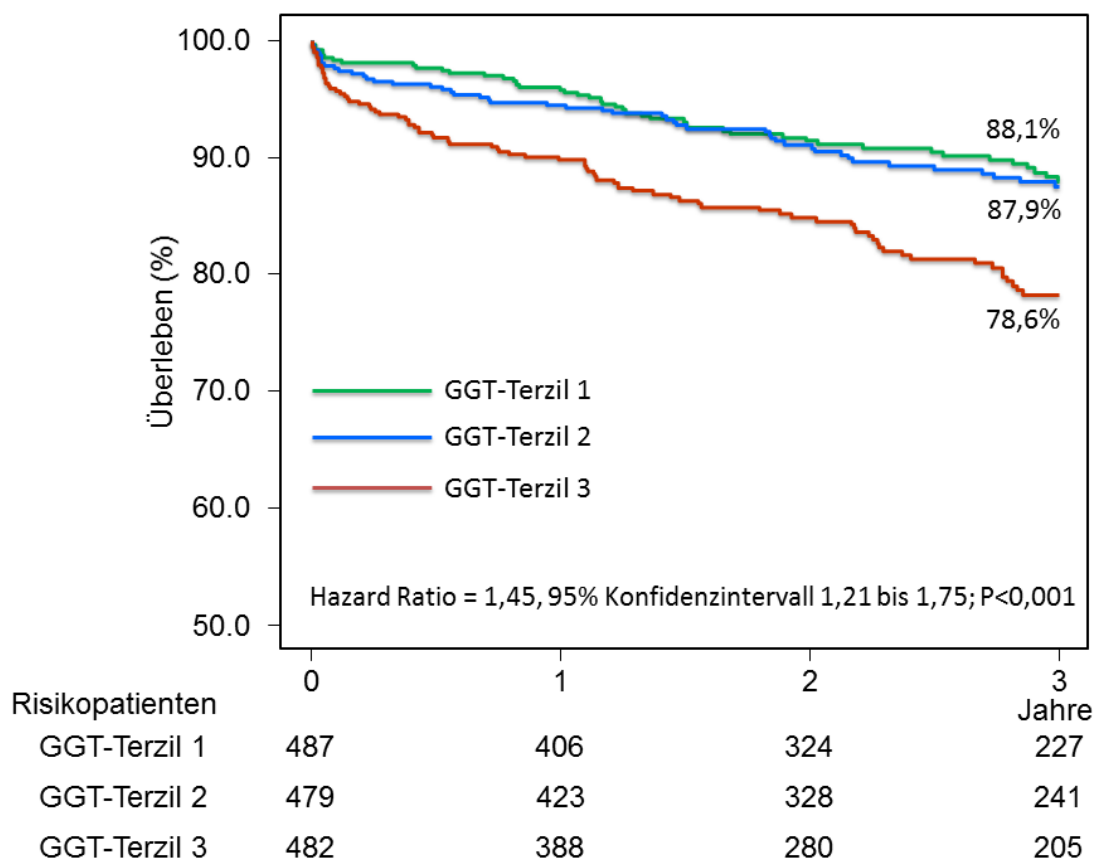


Abbildung 2: Die 3-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier im Bezug auf die GGT

Kardiale Todesfälle traten bei 101 Patienten auf (56,4% aller Todesfälle): es ereigneten sich 22, 30 und 49 Todesfälle bei Patienten im ersten, zweiten und dritten GGT-Terzil (Mortalitätsrate 5,8%, 7,2% und 12,9%, unangepasste HR=1,58 [1,23 - 2,03], P<0,001, berechnet für die GGT-Aktivität). Die Unterschiede in der Häufigkeit von nicht-tödlichem Myokardinfarkt oder Schlaganfall wichen in den jeweiligen GGT-Terzilen kaum voneinander ab. Es ereigneten sich 25, 26 und 27 Myokardinfarkte ohne Todesfolge im ersten, zweiten und dritten GGT-Terzil (Myokardrate 5,3%, 5,9% und 6,3%, unangepasste HR=1,06 [0,81 - 1,39]). Schlaganfälle traten bei 8, 8 und 10 Patienten im ersten, zweiten und dritten GGT-Terzil (Schlaganfallrate 2,0%, 2,0% und 2,5%, unangepasste HR=1,16 [0,72 - 1,87]).

Ereignis	Gamma-Glutamyltransferase-Terzile			Hazard Ratio* [95% Konfidenz- intervall]
	1 (n=487)	2 (n=479)	3 (n=482)	
Gesamtsterblichkeit	46 (11,9)	49 (12,1)	84 (21,4)	1,45 [1,21 – 1,75]
Kardiale Mortalität	22 (5,8)	30 (7,2)	49 (12,9)	1,58 [1,23 – 2,03]
Nicht-tödlicher Myokardinfarkt	25 (5,3)	26 (5,9)	27 (6,3)	1,06 [0,81 – 1,39]
Schlaganfall	8 (2,0)	8 (2,0)	10 (2,5)	1,16 [0,72 – 1,87]

Tabelle 3: Kardiovaskuläre Ereignisse im Rahmen des 3-Jahres-Follow-ups

Die Daten werden als Anzahl der Ereignisse mit Kaplan-Meier-Schätzungen (%) dargestellt.

* univariablen Cox Proportional Hazard-Modell

Für eine detailliertere Untersuchung des Zusammenhangs zwischen GGT-Wert und Mortalität wurde eine Analyse der allgemeinen und der kardialen Mortalität pro GGT-Dezil durchgeführt (Abbildung 3).

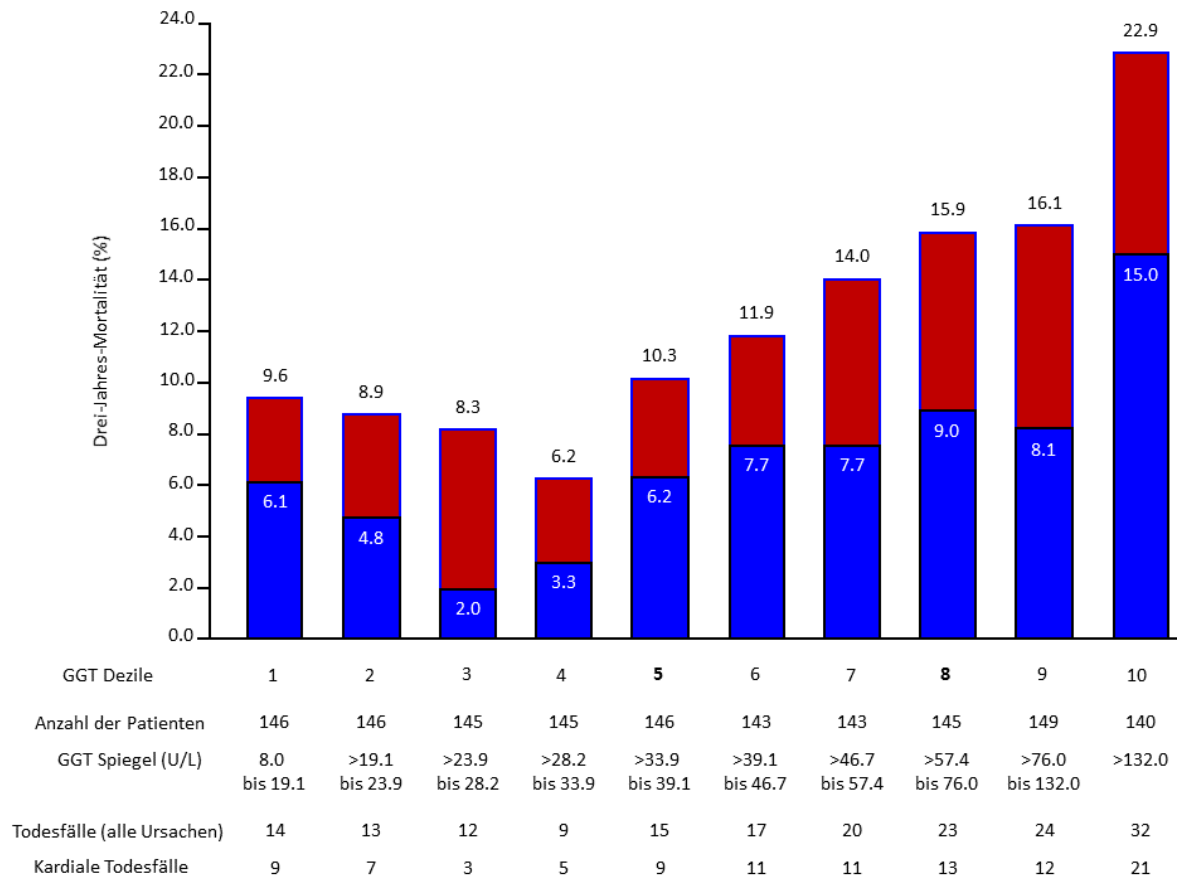


Abbildung 3: 3-Jahres-Mortalität im Bezug auf GGT; die Zahlen über den roten Balken repräsentieren die Gesamtsterblichkeit. Die Zahlen in den blauen Balken stellen die kardiale Mortalität in jeder der GGT-Dezilen dar.

Insgesamt wurde eine J-förmige Beziehung zwischen der Gesamtmortalität und der kardialen Mortalität beobachtet. Die niedrigste Gesamtmortalität wurde bei Patienten im vierten GGT-Dezil (6,2%) beobachtet, was einer GGT-Aktivität von >28,2 U/L bis 33,9 U/L entspricht. Die niedrigste kardiale Mortalität wurde bei Patienten im dritten GGT-Dezil (2,0%) beobachtet, was einer GGT-Aktivität von 23,9 U/L bis 28,2 U/L entspricht (Abbildung 3).

4.3 Adjustierte GGT-Aktivität im Bezug auf Mortalität

Nach der Anpassung der GGT-Aktivität im proportionalen Hazard-Modell nach Cox, zeigte eine erhöhte GGT-Aktivität einen Zusammenhang mit dem Risiko der Gesamt-3-Jahres-Mortalität (HR=1,25 [1,24 - 2,49], P=0,011; jeder Anstieg der Standardabweichung wurde in

der logarithmischen Skala der GGT-Aktivität berechnet). Die Assoziation zwischen GGT-Aktivität und Gesamtmortalität basierend auf dem Wald Chi-Quadrat-Test war signifikant, jedoch schwächer als die Assoziation zwischen Mortalität und linksventrikulärer Auswurffraktion, Alter oder Kreatinin-Clearance (Tabelle 4).

Variablen	Wald Chi-Quadrat	3-Jahres-Sterblichkeit	
		Hazard Ratio [95% Konfidenzintervall]	P-Wert
GGT (Zunahme der GGT-Aktivität um eine Standardabweichung)	6,40	1,25 [1,05-1,49]	0,011
Alter (10-Jahres-Zunahme)	10,22	1,76 [1,24-2,49]	0,001
Weibliches Geschlecht	0,57	0,82 [0,49-1,37]	0,449
Arterielle Hypertonie	0,94	0,78 [0,47-1,29]	0,331
Hypercholesterinämie	0,01	0,97 [0,59-1,59]	0,907
Body-Mass-Index (5 kg/m ² Zunahme)	0,39	1,09 [0,83-1,43]	0,534
Raucher	0,39	0,81 [0,41-1,59]	0,533
Vorangegangener Myokardinfarkt	2,75	1,54 [0,92-2,57]	0,097
Vorangegangene koronar-arterielle Bypass-Operation	2,54	0,61 [0,33-1,12]	0,111
Akutes Koronarsyndrom	2,62	1,44 [0,93-2,24]	0,105
Mehrf Gefäßerkrankung	0,94	1,49 [0,66-3,35]	0,332
Kreatinin-Clearance (30 ml/min Abnahme)	6,64	1,58 [1,11-2,23]	0,010
Glukose (40 mg/dl Zunahme)	0,74	1,06 [0,93-1,22]	0,390
C-reactives Protein (5 mg/L Zunahme)	0,06	1,00 [0,97-1,03]	0,814
Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (10% Abnahme)	18,80	1,42 [1,21-1,67]	<0,001

Tabelle 4: Angepasste Hazard Ratios und 95% Konfidenzintervall der Gesamtmortalität in Assoziation mit GGT und anderen Basalcharakteristika

Der Zusammenhang zwischen GGT-Aktivität und kardialer Mortalität war nach Anpassung im multivariablen Cox-Modell (HR=1,23 [0,96 - 1,58], P=0,104, jeder Anstieg der Standardabweichung wurde in der logarithmischen Skala der GGT-Aktivität berechnet) so gering, dass er statistisch keine Bedeutung erlangt.

4.4 Die Aussagekraft der Risikoprognose anhand von GGT

Die Aussagekraft der Risikoprognostik-Modelle für die allgemeine und kardiale Mortalität wurde vorher (Modell mit Basisvariablen) und nachher (Modell mit Basisvariablen zuzüglich GGT) beurteilt, indem die C-Statistik der jeweiligen Modelle berechnet wurde. Das Basismodell ohne GGT prognostizierte eine Gesamt-3-Jahres-Mortalität mit einer C-Statistik von 0,793 [0,744 bis 0,841], P<0,001.

Das Modell mit Basisvariablen zuzüglich GGT sagte eine Gesamt-3-Jahres-Mortalität mit einer C-Statistik von 0,806 [0,764 bis 0,849], P<0,001, voraus; die Differenz in der C-Statistik der beiden Modelle betrug 0,013 [0,000 bis 0,033], P=0,020. Daraus ist ersichtlich, dass die Berücksichtigung der GGT bei den Basisvariablen die Aussagekraft des Modells im Hinblick auf die Mortalitätsprognose verbesserte. Das Modell ohne GGT prognostizierte eine kardiale 3-Jahres-Mortalität mit einer C-Statistik von 0,855 [0,799 bis 0,907], P<0,001. Im Modell mit Basisvariablen zuzüglich GGT wurde eine kardiale 3-Jahres-Mortalität mit einer C-Statistik von 0,864 [0,821 bis 0,912] präzisiert, P<0,001; die Differenz in der C-Statistik der beiden Modelle betrug 0,009 [-0,001 bis 0,032], P=0,135. Folglich konnte durch den Zusatz der GGT keine Verbesserung der Risikoprognostik des Modells für kardiale Mortalität erzielt werden.

5. Diskussion

Die wesentlichen Erkenntnisse der Studie sind die folgenden:

1.: Bei Patienten mit Diabetes und KHK, die durch eine PCI behandelt wurden, besteht ein Zusammenhang zwischen erhöhter GGT-Aktivität und erhöhter 3-Jahres-Mortalität, nicht aber im Hinblick auf die kardiale Mortalität. Eine Assoziation zwischen GGT-Aktivität und kardialer Mortalität, die in der univariablen Analyse beobachtet wurde, erreicht in der multivariablen Analyse nach Einbeziehung kardiometabolischer Risikofaktoren und anderer klinisch relevanter Größen keine statistische Signifikanz.

2.: GGT verbesserte die Risikoprognosen der Modelle für die Gesamtmortalität, nicht aber für die kardiale Mortalität.

In verschiedenen Studien konnte bereits eine Assoziation zwischen GGT und Mortalität bei Diabetikern (25) und Patienten mit KHK (58) nachgewiesen werden. Die aktuelle Studie untermauert die Ergebnisse früherer Studien (33, 49) und bestärkt überdies einen Zusammenhang zwischen GGT-Aktivität und Mortalität bei Patienten mit Diabetes.

Zuvor wurde ein Zusammenhang zwischen GGT und kardiovaskulären Risikofaktoren festgestellt (44). Die beobachtete Assoziation zwischen GGT und Mortalität kann dadurch erklärt werden, dass kardiovaskuläre Risikofaktoren mit höherer Wahrscheinlichkeit bei Patienten mit erhöhtem GGT-Spiegel bestehen. Ungeachtet dessen waren die Patienten mit erhöhten GGT-Spiegeln in der aktuellen Studie jünger und litten daher mit geringerer Wahrscheinlichkeit an einer arteriellen Hypertonie. Hingegen war eher damit zu rechnen, dass sie vorangegangene Myokardinfarkte, eine reduzierte renale und eine verminderte linksventrikuläre Funktion aufwiesen - wodurch bekanntlich das Risiko nachfolgender Todesfälle erhöht wird. In einer Studie wird ausschließlich von einem Zusammenhang zwischen GGT und Mortalität bei Patienten mit vorangegangenem Myokardinfarkt (9) berichtet. Da alle Patienten angiographisch diagnostizierte KHK aufwiesen, wurde ein erhöhtes Mortalitätsrisiko allein aufgrund der Auswirkung von KHK auf die kardiale Mortalität erwartet. Hingegen wurde kein Zusammenhang zwischen GGT-Wert und klinischem Erscheinungsbild (stabile KHK oder akutes Koronarsyndrom) oder dem Ausmaß von koronarer

Atherosklerose, welche bekanntlich die Mortalität bei Patienten mit KHK (36, 37) beeinflusst, beobachtet.

Es besteht in der Studie bezüglich der Mortalität weder ein Zusammenhang zwischen dem GGT- Wert und dem Grad des klinischen Erscheinungsbildes der KHK noch mit dem Stenosegrad im Angiogramm. Auch wenn in dieser Studie nicht darauf eingegangen wurde, könnten andere Faktoren wie nichtalkoholische Fettlebererkrankungen, erhöhte Entzündungslast und erhöhter oxidativer Stress bei Patienten mit Diabetes Auswirkungen auf das Verhältnis zwischen GGT und Mortalität gehabt haben. Eine nichtalkoholische Fettleber wurde bei etwa 70% der Diabetiker festgestellt. Die Erkrankung steht in Zusammenhang mit erhöhten GGT-Spiegeln und anderen Leberenzymen und geht mit häufiger auftretenden Herz-Kreislauf-Erkrankungen (53) einher. Obwohl angeregt wurde, dass GGT auf eine Verbindung zwischen Fettleber und frühen Anzeichen von Atherosklerose hinweisen könnte (22), verbleibt der relative Beitrag oder die gegenseitige Abhängigkeit von Fettleber und GGT als erhöhender Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen kontrovers (55), (34). Diabetes (41) und GGT (24) stehen in Zusammenhang mit erhöhten Spiegeln von C-reaktivem Protein, welches eine erhöhte Entzündungslast bei Patienten mit beiden Erkrankungen andeuten kann. Das C-reaktive Protein ist ein bewährter Marker bei koronaren Ereignissen bei Patienten mit Diabetes oder KHK. In der aktuellen Studie wurden ebenfalls höhere Spiegel von C-reaktivem Protein bei Patienten mit erhöhten GGT-Spiegeln festgestellt. Letztendlich erhöhen sowohl der Diabetikerstatus (16) als auch die erhöhte GGT-Aktivität (21) den oxidativen Stress, ein Marker, der mit dem erhöhten Mortalitätsrisiko von Patienten mit KHK (40) korreliert. Katalytisch aktives GGT wurde in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen (39) und korreliert mit histologischen Markern der Plaqueinstabilität (42). Es spaltet Glutamin vom Glutathion ab, der verbleibende Cysteinyl-Glycin-Komplex beteiligt sich durch die Reduktion von Eisen, welches in höheren Mengen in atherosklerotischen Plaques als in der normalen Arterienwand (50) vorhanden ist, an der Lipidperoxidierung (10) (Abbildung 1). Des Weiteren beschleunigt Diabetes per se die Plaqueprogression. Es erhöht die lipidreiche Komponente der Plaque und begünstigt Plaqueinstabilität und koronare Ereignisse (18).

Dennoch konnte in der aktuellen Studie keine unabhängige Assoziation zwischen GGT und kardialer Mortalität gezeigt werden. Obwohl die Gründe für ein solches Ergebnis unbekannt bleiben, könnten zwei Faktoren einen abschwächenden Effekt auf den Zusammenhang

zwischen GGT und kardialer Mortalität gehabt haben. Erstens: die überwiegende Mehrheit der Patienten in dieser Studie erhielt eine Statin-Therapie. Verfügbare Daten weisen darauf hin, dass Statine einerseits den GGT-Spiegel (ebenso wie andere Leberenzyme) erhöhen können und andererseits atherosklerotische Plaques stabilisieren, wodurch koronare Ereignisse und Mortalität gesenkt werden. Darüber hinaus wird in einer kürzlich veröffentlichten Studie gezeigt, dass Statine die Expression von GGT, interzellulären Zelladhäsionsmolekülen (ICAM-1) und vaskulären Zelladhäsionsmolekülen (VCAM-1) in atherosklerotischen Plaques in der Aorta bei Apolipoprotein E-Knockout-Mäusen unterdrücken können (26) und dadurch der Plaqueprogression entgegenwirken. Zweitens: alle in dieser Studie eingeschlossenen Patienten unterzogen sich einer PCI, was die prognostische Aussagekraft von GGT bei Patienten mit KHK (9) reduzieren könnte. Somit erscheint es plausibel, dass die Anpassung für kardiovaskuläre Risikofaktoren und die modulierende Wirkung dieser zwei Faktoren den Zusammenhang zwischen GGT und kardialer Mortalität abgeschwächt haben könnte.

5.1 Limitationen

Die vorliegende Studie hat verschiedene Limitierungen. Erstens: die gegenwärtige Analyse basiert auf einer einzigen GGT-Messung. Zweitens: aufgrund von unvollständigen Daten zu HbA1c war es nicht möglich, eine Verbindung zwischen Blutzuckereinstellung und GGT-Spiegel zu untersuchen. Drittens: die Prävalenz einer nichtalkoholischen Fettleber – eine Erkrankung, die bekanntermaßen den GGT-Spiegel und die Mortalität beeinflusst – ist aufgrund von fehlender Ultraschalluntersuchung unbekannt. Viertens: trotz der Bemühungen, Alkoholiker aus der Studie auszuschließen und der Annahme, dass Diabetiker generell Alkoholkonsum unterlassen, kann ein gewisser verzerrender Effekt durch moderaten Alkoholenuss nicht ausgeschlossen werden. Es ist allerdings nicht davon auszugehen, dass diese Beschränkungen die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Studie beeinflussen.

5.2 Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in dieser Studie eine signifikante Assoziation zwischen erhöhtem GGT-Aktivitäts-Spiegel und der 3-Jahres-Mortalität nach PCI bei Patienten mit

Diabetes und KHK gezeigt werden konnte. Ein Zusammenhang, der unabhängig von und additiv zu gängigen kardiometabolischen Risikofaktoren prognostisch relevant ist. Andererseits zeigt sich keine Assoziation zwischen erhöhtem GGT-Aktivitäts-Spiegel und der kardialen 3-Jahres-Mortalität. Bezüglich kardialer Mortalität verbessert eine Bestimmung der GGT-Aktivitäts-Spiegel die Risikoprognose nicht.

6. Literaturverzeichnis

1. Bassenge E, Schneider HT, Daiber A. [Oxidative stress and cardiovascular diseases]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2005;130(50):2904-9.
2. Bathum L, Petersen HC, Rosholm JU, Hyltoft Petersen P, Vaupel J, Christensen K. Evidence for a substantial genetic influence on biochemical liver function tests: results from a population-based Danish twin study. *Clin Chem.* 2001;47(1):81-7.
3. Boyle PJ. Diabetes mellitus and macrovascular disease: mechanisms and mediators. *Am J Med.* 2007;120(9 Suppl 2):S12-7.
4. Bulusu S, Sharma M. What does serum gamma-glutamyltransferase tell us as a cardiometabolic risk marker? *Ann Clin Biochem.* 2016;53(Pt 3):312-32.
5. Castellano I, Merlino A. gamma-Glutamyltranspeptidases: sequence, structure, biochemical properties, and biotechnological applications. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(20):3381-94.
6. Castellano I, Merlino A, SpringerLink (Online service). Gamma-Glutamyl Transpeptidases Structure and Function. *SpringerBriefs in Biochemistry and Molecular Biology*,:VIII, 57 p. 28 illus., 18 illus. in color.
7. Cutlip DE, Windecker S, Mehran R, Boam A, Cohen DJ, van Es GA, Steg PG, Morel MA, Mauri L, Vranckx P, McFadden E, Lansky A, Hamon M, Krucoff MW, Serruys PW, Academic Research C. Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions. *Circulation.* 2007;115(17):2344-51.
8. Definition W. diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Geneva: WHO. 2006;50.
9. Emdin M, Passino C, Michelassi C, Titta F, L'Abbate A, Donato L, Pompella A, Paolicchi A. Prognostic value of serum gamma-glutamyl transferase activity after myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2001;22(19):1802-7.
10. Emdin M, Pompella A, Paolicchi A. Gamma-glutamyltransferase, atherosclerosis, and cardiovascular disease: triggering oxidative stress within the plaque. *Circulation.* 2005;112(14):2078-80.
11. Farkouh ME, Domanski M, Sleeper LA, Siami FS, Dangas G, Mack M, Yang M, Cohen DJ, Rosenberg Y, Solomon SD, Desai AS, Gersh BJ, Magnuson EA, Lansky A, Boineau R, Weinberger J, Ramanathan K, Sousa JE, Rankin J, Bhargava B, Buse J, Hueb W, Smith CR, Muratov V, Bansilal S, King S, 3rd, Bertrand M, Fuster V, Investigators FT. Strategies for multivessel revascularization in patients with diabetes. *N Engl J Med.* 2012;367(25):2375-84.
12. Fornaciari I, Fierabracci V, Corti A, Aziz Elawadi H, Lorenzini E, Emdin M, Paolicchi A, Franzini M. Gamma-glutamyltransferase fractions in human plasma and bile: characteristic and biogenesis. *PLoS One.* 2014;9(2):e88532.
13. Foyer CH, Noctor G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.* 2005;17(7):1866-75.
14. Franzini M, Bramanti E, Ottaviano V, Ghiri E, Scatena F, Barsacchi R, Pompella A, Donato L, Emdin M, Paolicchi A. A high performance gel filtration chromatography method for gamma-glutamyltransferase fraction analysis. *Anal Biochem.* 2008;374(1):1-6.
15. Franzini M, Corti A, Martinelli B, Del Corso A, Emdin M, Parenti GF, Glauber M, Pompella A, Paolicchi A. Gamma-glutamyltransferase activity in human atherosclerotic plaques--biochemical similarities with the circulating enzyme. *Atherosclerosis.* 2009;202(1):119-27.
16. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010;107(9):1058-70.

17. Heisterkamp N, Groffen J, Warburton D, Sneddon TP. The human gamma-glutamyltransferase gene family. *Hum Genet.* 2008;123(4):321-32.
18. Inaba S, Okayama H, Funada J, Higashi H, Saito M, Yoshii T, Hiasa G, Sumimoto T, Takata Y, Nishimura K, Inoue K, Ogimoto A, Higaki J. Impact of type 2 diabetes on serial changes in tissue characteristics of coronary plaques: an integrated backscatter intravascular ultrasound analysis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2012;13(9):717-23.
19. International Diabetes Federation. *IDF diabetes atlas, 7ed.* Brussels, Belgium. International Diabetes Federation 2015.
20. Kengne AP, Czernichow S, Stamatakis E, Hamer M, Batty GD. Gamma-glutamyltransferase and risk of cardiovascular disease mortality in people with and without diabetes: pooling of three British Health Surveys. *J Hepatol.* 2012;57(5):1083-9.
21. Koenig G, Seneff S. Gamma-Glutamyltransferase: A Predictive Biomarker of Cellular Antioxidant Inadequacy and Disease Risk. *Dis Markers.* 2015;2015:818570.
22. Kozakova M, Palombo C, Eng MP, Dekker J, Flyvbjerg A, Mitrakou A, Gastaldelli A, Ferrannini E, Investigators R. Fatty liver index, gamma-glutamyltransferase, and early carotid plaques. *Hepatology.* 2012;55(5):1406-15.
23. Kunutsor SK. Gamma-glutamyltransferase-friend or foe within? *Liver Int.* 2016;36(12):1723-34.
24. Lee DH, Jacobs DR, Jr. Association between serum gamma-glutamyltransferase and C-reactive protein. *Atherosclerosis.* 2005;178(2):327-30.
25. Lee DH, Silventoinen K, Hu G, Jacobs DR, Jr., Jousilahti P, Sundvall J, Tuomilehto J. Serum gamma-glutamyltransferase predicts non-fatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease among 28,838 middle-aged men and women. *Eur Heart J.* 2006;27(18):2170-6.
26. Li G, Wu XW, Lu WH, Ai R, Chen F, Tang ZZ. Effect of atorvastatin on the expression of gamma-glutamyl transferase in aortic atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-knockout mice. *BMC Cardiovasc Disord.* 2014;14:145.
27. Lin YK, Chen YC, Chen JH, Chen SA, Chen YJ. Adipocytes modulate the electrophysiology of atrial myocytes: implications in obesity-induced atrial fibrillation. *Basic Res Cardiol.* 2012;107(5):293.
28. Luscher TF, Creager MA, Beckman JA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part II. *Circulation.* 2003;108(13):1655-61.
29. Mantovani A, Rigamonti A, Bonapace S, Bolzan B, Pernigo M, Morani G, Franceschini L, Bergamini C, Bertolini L, Valbusa F, Rigolon R, Pichiri I, Zoppini G, Bonora E, Violi F, Targher G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Associated With Ventricular Arrhythmias in Patients With Type 2 Diabetes Referred for Clinically Indicated 24-Hour Holter Monitoring. *Diabetes Care.* 2016;39(8):1416-23.
30. Mason JE, Starke RD, Van Kirk JE. Gamma-glutamyl transferase: a novel cardiovascular risk biomarker. *Prev Cardiol.* 2010;13(1):36-41.
31. Meister A. On the enzymology of amino acid transport. *Science.* 1973;180(4081):33-9.
32. Misra VL, Khashab M, Chalasani N. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Risk. *Current gastroenterology reports.* 2009;11(1):50-5.
33. Monami M, Balzi D, Lamanna C, Melani C, Cocca C, Lotti E, Fedeli A, Masotti G, Marchionni N, Mannucci E. Prognostic value of serum liver enzymes levels in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007;23(8):625-30.
34. Morling JR, Fallowfield JA, Williamson RM, Robertson CM, Glancy S, Guha IN, Strachan MW, Price JF. gamma-Glutamyltransferase, but not markers of hepatic fibrosis, is associated with cardiovascular disease in older people with type 2 diabetes mellitus: the Edinburgh Type 2 Diabetes Study. *Diabetologia.* 2015;58(7):1484-93.
35. Ndrepepa G, Kastrati A. Gamma-glutamyl transferase and cardiovascular disease. *Ann Transl Med.* 2016;4(24):481.

36. Ndrepepa G, Mehilli J, Schulz S, Iijima R, Keta D, Byrne RA, Pache J, Seyfarth M, Schomig A, Kastrati A. Patterns of presentation and outcomes of patients with acute coronary syndromes. *Cardiology*. 2009;113(3):198-206.
37. Ndrepepa G, Tada T, Fusaro M, Cassese S, King L, Hadamitzky M, Haase HU, Schomig A, Kastrati A, Pache J. Association of coronary atherosclerotic burden with clinical presentation and prognosis in patients with stable and unstable coronary artery disease. *Clin Res Cardiol*. 2012;101(12):1003-11.
38. Nozue T, Yamamoto S, Tohyama S, Fukui K, Umezawa S, Onishi Y, Kunishima T, Sato A, Nozato T, Miyake S, Takeyama Y, Morino Y, Yamauchi T, Muramatsu T, Hibi K, Terashima M, Michishita I, Investigators T. Impact of diabetes mellitus on coronary atherosclerosis and plaque composition under statin therapy - subanalysis of the TRUTH study. *Circ J*. 2012;76(9):2188-96.
39. Paolicchi A, Emdin M, Ghiozeni E, Ciancia E, Passino C, Popoff G, Pompella A. Images in cardiovascular medicine. Human atherosclerotic plaques contain gamma-glutamyl transpeptidase enzyme activity. *Circulation*. 2004;109(11):1440.
40. Patel RS, Ghasemzadeh N, Eapen DJ, Sher S, Arshad S, Ko YA, Veledar E, Samady H, Zafari AM, Sperling L, Vaccarino V, Jones DP, Quyyumi AA. Novel Biomarker of Oxidative Stress Is Associated With Risk of Death in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*. 2016;133(4):361-9.
41. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001;286(3):327-34.
42. Pucci A, Franzini M, Matteucci M, Ceragioli S, Marconi M, Ferrari M, Passino C, Basolo F, Emdin M, Paolicchi A. b-Gamma-glutamyltransferase activity in human vulnerable carotid plaques. *Atherosclerosis*. 2014;237(1):307-13.
43. Ristoff E, Larsson A. Patients with genetic defects in the gamma-glutamyl cycle. *Chem Biol Interact*. 1998;111-112:113-21.
44. Ruttman E, Brant LJ, Concin H, Diem G, Rapp K, Ulmer H, Vorarlberg Health M, Promotion Program Study G. Gamma-glutamyltransferase as a risk factor for cardiovascular disease mortality: an epidemiological investigation in a cohort of 163,944 Austrian adults. *Circulation*. 2005;112(14):2130-7.
45. Schiele F, Guilmin AM, Detienne H, Siest G. Gamma-glutamyltransferase activity in plasma: statistical distributions, individual variations, and reference intervals. *Clin Chem*. 1977;23(6):1023-8.
46. Schoenenberger AW, Jamshidi P, Kobza R, Zuber M, Stuck AE, Pfisterer M, Erne P. Progression of coronary artery disease during long-term follow-up of the Swiss Interventional Study on Silent Ischemia Type II (SWISSI II). *Clin Cardiol*. 2010;33(5):289-95.
47. Shaw LM, London JW, Petersen LE. Isolation of gamma-glutamyltransferase from human liver, and comparison with the enzyme from human kidney. *Clin Chem*. 1978;24(6):905-15.
48. Singh M, Arora R, Kodumuri V, Khosla S, Jawad E. Coronary revascularization in diabetic patients: Current state of evidence. *Exp Clin Cardiol*. 2011;16(1):16-22.
49. Sluik D, Beulens JW, Weikert C, van Dieren S, Spijkerman AM, van der AD, Fritsche A, Joost HG, Boeing H, Nothlings U. Gamma-glutamyltransferase, cardiovascular disease and mortality in individuals with diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28(3):284-8.
50. Smith C, Mitchinson MJ, Aruoma OI, Halliwell B. Stimulation of lipid peroxidation and hydroxyl-radical generation by the contents of human atherosclerotic lesions. *Biochem J*. 1992;286 (Pt 3):901-5.
51. Sookoian S, Pirola CJ. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: a systematic review. *J Hepatol*. 2008;49(4):600-7.
52. Stancoven A, McGuire DK. Preventing macrovascular complications in type 2 diabetes mellitus: glucose control and beyond. *Am J Cardiol*. 2007;99(11A):5H-11H.

53. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, Day C, Arcaro G. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1212-8.
54. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Zoppini G, Zenari L, Cigolini M, Falezza G, Arcaro G. Relations between carotid artery wall thickness and liver histology in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care*. 2006;29(6):1325-30.
55. Targher G, Bertolini L, Poli F, Rodella S, Scala L, Tessari R, Zenari L, Falezza G. Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2005;54(12):3541-6.
56. Targher G, Mantovani A, Pichiri I, Rigolon R, Dauriz M, Zoppini G, Morani G, Vassanelli C, Bonora E. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with an increased prevalence of atrial fibrillation in hospitalized patients with type 2 diabetes. *Clin Sci (Lond)*. 2013;125(6):301-9.
57. Targher G, Valbusa F, Bonapace S, Bertolini L, Zenari L, Rodella S, Zoppini G, Mantovani W, Barbieri E, Byrne CD. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with an increased incidence of atrial fibrillation in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2013;8(2):e57183.
58. Wannamethee G, Ebrahim S, Shaper AG. Gamma-glutamyltransferase: determinants and association with mortality from ischemic heart disease and all causes. *Am J Epidemiol*. 1995;142(7):699-708.
59. Wenham PR, Horn DB, Smith AF. In vitro studies upon the release of gamma-glutamyltransferase from human liver. *Clin Chim Acta*. 1986;160(3):223-33.
60. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2001;38(4):263-355.
61. Zellweger MJ, Pfisterer ME. Silent coronary artery disease in patients with diabetes mellitus. *Swiss Med Wkly*. 2001;131(29-30):427-32.