

Aus dem Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie (Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. I. Hansmann) und der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III (Direktor: Prof. Dr. med. habil. Karl Werdan) an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Die koronare Herzkrankheit – Eine Fall-Kontroll-Studie zu klassischen Risikofaktoren und dem Stellenwert von Genpolymorphismen des TNF α und TNF β als koronare Risikoindikatoren

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Thomas Süß

geboren am 07.09.1975 in Bonn

Betreuer: PD Dr. med. U. Müller-Werdan (Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III) und Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. I. Hansmann (Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie)

Gutachter: Prof. Dr. I. Hansmann; Frau PD Dr. D. Riemann; Prof. Dr. H.-H. Tillmanns (Gießen)

Datum der öffentlichen Verteidigung: 07.12.2007

urn:nbn:de:gbv:3-000012950

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000012950>]

gewidmet meinem Vater

Kurzreferat

Die Prävention der koronaren Herzkrankheit (KHK) ist von herausragender medizinischer, sozialer und ökonomischer Bedeutung. Der KHK liegt eine multifaktorielle Genese zu Grunde. Inflammatorische Prozesse haben einen wesentlichen Anteil an der Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen.

Anhand einer Fall-Kontroll-Studie mit 99 alters- und geschlechtsangeglichenen Paaren koronarangiographierter europäischer Kaukasier mitteldeutscher Herkunft mit und ohne koronare Makroangiopathie erfolgte in der vorliegenden Arbeit sowohl eine Charakterisierung der Vergleichsgruppen durch die Analyse der Verteilung etablierter Risikofaktoren der KHK, als auch eine Suche nach potentiellen genetischen Risikoindikatoren der KHK in Form von Polymorphismen der Gene der Tumornekrosefaktoren α und β (TNF α , TNF β). Die Patienten mit koronarer Makroangiopathie (Fallgruppe) waren ferner durch eine frühe Erkrankung (vor Vollendung des 56. Lebensjahres) und das Überleben mindestens eines Myokardinfarktes gekennzeichnet. Das Durchschnittsalter beider Kollektive lag bei 50 Jahren, der Anteil der Frauen betrug etwa ein Drittel.

Bei einfaktorieller Betrachtung klassischer Risikofaktoren der KHK war Zigarettenkonsum geschlechtsunabhängig signifikant mit einem pathologischen Koronarstatus assoziiert. Auch einseitige, fettreiche Ernährung -in Bezug zu gesundheitsbewusster Ernährung- und körperliche Inaktivität in der Freizeit waren ebenfalls zwei vom Lebensstil abhängige Risikofaktoren im Gesamtkollektiv, die signifikant häufiger in der Gruppe der Koronarpatienten vertreten waren. Hypercholesterinämie und erhöhtes Lipoprotein(a) waren ebenso wie eine positive Familienanamnese in Bezug auf einen Myokardinfarkt unter den männlichen Patienten signifikant mit der koronaren Makroangiopathie verbunden. Der Anteil der Diabetikerinnen in der Fallgruppe war etwa doppelt so hoch wie unter koronargesunden Frauen (nicht signifikant). Nach Auswertung eines mehrfaktoriellen Modells aus fünf wichtigen Risikofaktoren der KHK mittels binär logistischer Regression erwies sich die Hypercholesterinämie als unabhängig und signifikant krankheitsassoziiert. Rauchen war unter Nichtdiabetikern und Diabetes mellitus unter Nichtrauchern signifikant mit einem erhöhten Risikoquotienten verbunden. Kein Nachweis einer Risikoassoziation ergab sich für die Risikofaktoren erniedrigtes HDL-Cholesterin und arterielle Hypertonie.

Für die drei untersuchten *single nucleotide polymorphisms* (SNPs; Zitation Z15026) zeigten sich folgende Besonderheiten: Für den möglicherweise funktionell bedeutsamen (c.-308G>A)-TNF α -SNP der Promotorregion konnte ein Status als Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie in dieser Studie nicht mit Signifikanz belegt werden. Ein Verteilungsunterschied der seltenen A-Homozygoten mit deutlichem Überwiegen in der Fallgruppe könnte aber auf ein erhöhtes Risiko der A-Homozygoten Mutationsträger hinweisen. Der im Signalpeptid gelegene C13R-TNF β -cSNP (c.206T>C) war nicht mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziiert. Der T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) führt zu einem Aminosäureaustausch in der Sequenz des reifen Proteins. In einem A-rezessiven Modell war A-Homozygotie bei ein- und mehrfaktorieller Betrachtung signifikant und unabhängig von wichtigen Risikofaktoren der KHK mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziiert.

Die vorliegende Arbeit unterstreicht die Bedeutung einer umfassenden und individuellen Einschätzung des koronaren Risikos in der Prävention und Therapie der KHK. Mit dem Nachweis einer Assoziation der A-Homozygotie des T60N-TNF β -cSNP mit der koronaren Makroangiopathie wurde ein Beitrag zur Identifizierung von Kandidatengeneten der KHK mit dem Ziel der Verbesserung der Prävention geleistet. Im Rahmen prospektiver Studien sollten diese Befunde erhärtet werden. Der Hinweis auf das Vorliegen risikoassoziierter Haplotypen könnte zur Optimierung zukünftiger Studienanlagen und damit zu einem weiteren Fortschritt in der Abschätzung des individuellen genetischen Risikos beitragen.

Bibliographische Angaben

Süß, Thomas: Die koronare Herzkrankheit – Eine Fall-Kontroll-Studie zu klassischen Risikofaktoren und dem Stellenwert von Genpolymorphismen des TNF α und TNF β als koronare Risikoindikatoren

Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 79 Seiten, 2006

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1 Einleitung	
1.1 Die KHK – Charakterisierung und Epidemiologie	1
1.2 Multifaktorielle Genese und „klassische“ Risikofaktoren der KHK	2
1.3 Genetik und koronares Risiko	3
1.4 Die Pathogenese der koronaren Makroangiopathie – Progression und Exazerbation durch inflammatorische Prozesse	4
1.5 Zytokine – Eine Übersicht	5
1.6 TNF α und TNF β – Zwei wichtige Liganden einer großen Familie	5
1.7 TNF α und TNF β in der Atherogenese	9
1.8 Ausgewählte Polymorphismen des TNF α und TNF β	13
2 Zielstellung	14
3 Material und Methodik	
3.1 Studienpopulation	15
3.2 Anamnestischer Informationsgewinn	16
3.3 Biochemische Laboranalysen	16
3.4 Molekulargenetische Untersuchungen	17
3.5 Statistische Methoden	19
4 Ergebnisse	
4.1 Klinische und biochemische Charakterisierung der Patientenkollektive	21
4.1.1 Zusammensetzung	21
4.1.2 Medikamentöse Therapie	22
4.1.3 Risikofaktoren der KHK	23
4.1.4 Laborbiochemische Charakterisierung	31
4.2 Ein Basismodell aus fünf Hauptrisikofaktoren	34
4.3 Genetische Charakterisierung der Patientenkollektive mit Hilfe von TNF-Polymorphismen	38
4.3.1 Die Genotypverteilung des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP	38
4.3.2 Die Genotypverteilung des C13R-TNF β -cSNP	39
4.3.3 Die Genotypverteilung des T60N-TNF β -cSNP	41
4.4 Das A-rezessive Modell des T60N-TNF β -cSNP im Zusammenhang mit fünf Hauptrisikofaktoren der KHK	42

5	Diskussion	
5.1	Betrachtung der „klassischen“ Risikofaktoren in der Studienpopulation	44
5.1.1	Zigarettenkonsum	45
5.1.2	Dyslipidämie	46
5.1.3	Arterielle Hypertonie	49
5.1.4	Diabetes mellitus	50
5.1.5	Weitere Risikofaktoren	51
5.2	Polymorphismen der Tumornekrosefaktoren und koronares Risiko	52
5.2.1	Der (c.-308G>A)-TNF α -SNP - Ein Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie ?	53
5.2.2	Kein Hinweis auf eine Bedeutung des C13R-TNF β -cSNP als Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie	59
5.2.3	Der T60N-TNF β -cSNP - Ein genetischer Risikomarker der koronaren Makroangiopathie ?	60
5.2.4	Hinweise auf eine enge Kopplung der potentiell risikoassoziierten TNF-Polymorphismen	65
6	Zusammenfassung	67
	Literaturverzeichnis	69
	Thesen	77

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
Abb.	Abbildung
Abs.	Abschnitt
AS	Aminosäure
BAT1	<i>HLA-B associated transcript 1</i>
C	für die Aminosäure: Cystein; für die Base: Cytosin
CRP	C-reaktives Protein
F	Fall
K	Kontrolle
G	Guanin
HDL	<i>high density lipoprotein</i>
HLA	<i>human leukocyte antigen</i>
IAP-1	<i>inhibitor of apoptosis protein- 1</i>
IFN	Interferon
IGF	<i>insulin—like growth factor</i>
IGFBP	<i>IGF binding protein</i>
IL-1	Interleukin-1
iNOS	<i>inducible nitric oxide synthase</i>
HVEM	Herpesviruseintrittsmediator
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
LIGHT	<i>cytokine, that is homologous to lymphotoxins, exhibits inducible expression, and competes with HSV glycoprotein D for HVEM, a receptor expressed by T lymphocytes</i>
Lp(a)	Lipoprotein (a)
LT	Lymphotoxin
LT β R	Lymphotoxin-beta-Rezeptor
MCP-1	<i>monocyte chemotactic protein-1</i>
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
MMP	Matrixmetalloproteinasen
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
N	Asparagin
NF	<i>nuclear factor</i>
NIH	neointimale Hyperplasie
NFKBIL1	<i>nuclear factor of κ light polypeptide gene enhancer in B cells, inhibitor-like</i>

OR	<i>Odds Ratio</i>
ox-LDL	oxidativ verändertes LDL
PAI	Plasminogenaktivatorinhibitor
R	Arginin
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
(c)SNP	<i>(complementary DNA) single nucleotide polymorphism</i>
SSCP	<i>single strand conformation polymorphism</i>
T	für die Aminosäure: Threonin; für die Base: Thymin
Tab.	Tabelle
TACE	TNF <i>converting enzyme</i>
TNF	Tumornekrosefaktor
TNFR	TNF-Rezeptor
TRAF	TNF-assoziierte Adapterproteine
UTR	untranslatierte Region
VCAM-1	<i>vascular cell adhesion molecule-1</i>
VSMC	<i>vascular smooth muscle cells</i>

1 Einleitung

1.1 Die KHK – Charakterisierung und Epidemiologie

Die koronare Herzerkrankung (KHK) ist von herausragender medizinischer und gesellschaftlicher Bedeutung: Sie ist die häufigste Todesursache in den Industrienationen und wird vor dem Hintergrund der demographischen Entwicklung nicht an Bedeutung verlieren. Wachsenden Anteil gewinnt sie aber auch in den Entwicklungsländern durch eine Annäherung an den westlichen Lebensstil (Braunwald 1997). Trotz beeindruckender Erfolge in der Akutbehandlung, der Primär- und Sekundärprävention in den vergangenen Jahrzehnten, die sich in einer beachtlichen Senkung der altersadjustierten Todesrate der KHK widerspiegeln, bleibt die weitere Verbesserung von Diagnostik, Therapie und Prophylaxe eine wichtige Herausforderung.

Die KHK ist durch ein Missverhältnis von myokardialen Sauerstoffbedarf und –angebot gekennzeichnet. Diese Koronarinsuffizienz wird einerseits durch einen erhöhten koronaren Widerstand hervorgerufen, überwiegend verursacht durch eine koronare Makroangiopathie mit Stenosierung der großen epikardialen Koronarien und Minderung der Koronarreserve, die KHK im engeren Sinne. Eine Mikroangiopathie, Koronarspasmen oder angeborene, stenosierende Muskelbrücken können ebenfalls den koronaren Widerstand erhöhen. Andererseits können den Sauerstoffbedarf steigernde oder das Sauerstoffangebot weiter senkende Faktoren hinzukommen, wie z.B. arterielle Hypertonie, Myokardhypertrophie, tachykarde Herzrhythmusstörungen oder Herzinsuffizienz. Auch extrakardiale Einflussgrößen können einer Krankheitsmanifestation bei Minderung der Koronarreserve Vorschub leisten, so z.B. ein erhöhter Sauerstoffbedarf bei Hyperthyreose oder Fieber, bzw. ein erniedrigtes Sauerstoffangebot bei Anämie oder Lungenerkrankungen.

Die Entwicklung einer koronaren Makroangiopathie ist ein chronischer, multifaktorieller Prozess. Aufgrund der koronaren Durchblutungsreserve für Belastungssituationen bleiben geringe Stenosierungen der Gefäße oft unbemerkt und führen zu einer asymptomatischen oder latenten KHK. Ab einer Querschnittsverminderung von etwa 50% (signifikante Stenose) ist mit regionalen Perfusionsstörungen zu rechnen, ab einer kritischen Stenose von zirka 75% ist eine belastungsabhängige („stabile“) Angina pectoris wahrscheinlich, wenn keine kompensatorisch wirkenden Kollateralen ausgebildet wurden (Herold 2003). Andere Manifestationsformen der KHK neben stabiler oder instabiler Angina pectoris sind der Myokardinfarkt (jeweils etwa 40% der Erstmanifestationen) und ischämisch bedingte Herzinsuffizienz oder Herzrhythmusstörungen. Etwa 20% der Erstmanifestationen sind Fälle von plötzlichem Herztod.

Das MONICA-Projekt der WHO stellte weltweit ausgeprägte regionale Unterschiede in der Häufigkeit tödlicher und nicht-tödlicher koronarer Ereignisse heraus. In Deutschland beträgt die Inzidenz von Myokardinfarkten etwa 300 pro 100.000 Einwohner und Jahr, wobei die Inzidenz ab

dem mittleren Lebensalter stark ansteigt. Die Lebenszeitprävalenz in Deutschland wird mit ca. 30% für Männer und 15% für Frauen angegeben (Herold 2003). Nach Angaben der American Heart Association (2000) folgt die Inzidenz der KHK bei Frauen um etwa zehn Jahre der Inzidenz bei Männern nach, wobei die Erkrankungshäufigkeit unter postmenopausalen Frauen zwei- bis dreifach erhöht ist gegenüber prämenopausalen Frauen gleichen Alters. Die KHK ist die häufigste Ursache vorzeitiger und dauerhafter Arbeitsunfähigkeit in den USA und eine häufige Todesursache im arbeitsfähigen Alter. Nach der Todesursachenstatistik des Statistischen Bundesamtes für 2001 sind die chronische ischämische Herzkrankheit und der akute Myokardinfarkt mit insgesamt 11,2 bzw. 7,9% die häufigsten Todesursachen in Deutschland. Somit ist die Prävention der KHK von herausragender medizinischer, sozialer und ökonomischer Bedeutung.

1.2 Multifaktorielle Genese und „klassische“ Risikofaktoren der KHK

Die KHK ist eine Erkrankung multifaktorieller Genese. Es gibt eine Vielzahl bekannter Faktoren, die in unterschiedlichem Ausmaß genetisch determiniert sind oder durch Krankheit und Lebensstil erworben werden. Sie sind mit einem erhöhten Risiko für die Erkrankung verbunden und beeinflussen Ausprägungsgrad und Prognose. Diese Risikofaktoren wurden seit der Framingham Studie der 50er Jahre mit großem Einsatz und Erkenntnisgewinn erforscht (Kannel et al. 1961). Interventionsstudien belegten den Nutzen der Beeinflussung wichtiger Faktoren in der Primär- und Sekundärprävention. Vor der Beratung und Behandlung eines Patienten ist eine Risikoabschätzung anhand der als besonders bedeutsam erkannten und verbreiteten Risikofaktoren wie Geschlecht, Alter, Zigarettenkonsum, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie heute selbstverständlich und sogar durch Risikokalkulatoren standardisiert worden (Wood et al. 1998). Durch die Einbeziehung mehrerer wesentlicher Faktoren wird einer (über-)additiven Wirkung verschiedener Risikofaktoren im Ansatz Rechnung getragen. Dennoch bleibt die Berücksichtigung von weiteren Faktoren, wie z.B. erhöhtes Lp(a), Hyperhomocysteinämie, Hyperfibrinogenämie, psychosoziale Faktoren, Mangel an körperlicher Aktivität, Übergewicht oder von Hinweisen auf eine familiäre Vorbelastung im Einzelfall wichtig. Das Ziel dieser Risikostratifizierung ist die Einleitung einer angemessenen Prävention, insbesondere für Patienten mit einem ausgeprägten Risikoprofil oder bereits manifester Erkrankung.

Zu den wichtigsten beeinflussbaren Risikofaktoren zählen Übergewicht, mangelnde körperliche Aktivität, unangemessene Ernährungsweise und Zigarettenkonsum, also Faktoren, die mit dem jeweiligen Lebensstil und dem sozialen Umfeld in Zusammenhang stehen. Ferner sind Hypertonie, Hypercholesterinämie und Diabetes mellitus wichtige Risikofaktoren, die z. T. durch eine angemessene Lebensführung und Medikation wirksam beeinflusst werden können. Zu den nicht beeinflussbaren Risikofaktoren zählen Alter, männliches Geschlecht und familiäre Prädisposition. Auch psychosoziale Risikofaktoren sind häufig schwer zu beeinflussen.

1.3 Genetik und koronares Risiko

Sieht man von den Extremen der rein genetisch oder rein umweltbedingten Krankheiten ab, so bleibt ein breites Spektrum multifaktorieller Erkrankungen, deren phänotypische Ausprägung das Resultat der Interaktion interindividuell unterschiedlich ausgeprägter Erb- und Umwelteinflüsse darstellt. Von Bedeutung kann dabei auch der dynamische Aspekt sein, der durch Zeitpunkt, Dauer oder Intensität der Einwirkung einer Einflussgröße gestaltet wird. Die Umwelteinflüsse sind häufig vielfältig. Auch der genetischen Prädisposition liegt oft das Zusammenwirken mehrerer Gene (Polygenie) zugrunde. Bei polygen mitbedingten Erkrankungen hat eine einzelne Mutation häufig keine ausschlaggebende Bedeutung. Stattdessen liegt oft eine Abhängigkeit von der Anzahl der betroffenen Gene vor (nach Murken und Cleve 1996).

Die medizinischen Möglichkeiten in der Prävention und Therapie multifaktorieller Erkrankungen, wie z.B. der essentiellen arteriellen Hypertonie, des Typ 2-Diabetes oder auch der KHK, sind oft im gezielten Einwirken auf bekannte, das Fortschreiten der Krankheitsentwicklung beeinflussender Umweltfaktoren zu sehen. Eine effektive Vorbeugung der Entwicklung einer fortgeschrittenen koronaren Makroangiopathie wird durch die meist lange Latenz der klinischen Manifestation erschwert. Die Möglichkeit einer die genetischen Risiken berücksichtigenden Primärprävention ist daher insbesondere in prädisponierten Familien gegeben und sinnvoll. In der Praxis ist die Frage nach familiärer Vorbelastung bezüglich kardiovaskulärer Vorerkrankungen für eine Einschätzung der individuellen Risikokonstellation wichtig. Je detaillierter aber die Kenntnisse über das genetische Risiko sind, umso früher und gezielter sind auch ausgleichende Maßnahmen durch präventive Beeinflussung äußerer Einflussgrößen möglich. Die Identifikation krankheitsassoziiierter genetischer Varianten ist aber auch deshalb erstrebenswert, weil sie neue Einsichten in die beteiligten Mechanismen der Pathogenese eröffnen und damit alternativen Therapieansätzen den Weg bereiten könnte.

Auf der Suche nach Kandidatengenen, den Markern eines genetischen Risikos für multifaktorielle Erkrankungen, stehen Genprodukte mit Bezug zur jeweiligen Pathogenese im Vordergrund. So konnte bei Erkrankungen mit einem immunologischen Hintergrund, wie z.B. dem Typ1-Diabetes oder der Spondylitis ankylosans, häufig eine Assoziation mit indikativen HLA-Allelen festgestellt werden. In Bezug auf kardiovaskuläre Erkrankungen wurden in verschiedenen Studien mögliche genetische Risikoindikatoren untersucht (zusammengefasst bei Daley und Cargill 2001), die z.B. im Zusammenhang mit dem Fettstoffwechsel, der Gerinnung oder der Blutdruckregulation stehen. In der vorliegenden Arbeit wurden *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) inflammatorisch relevanter Zytokine und ihr möglicher Status als Risikoindikatoren der koronaren Makroangiopathie untersucht.

1.4 Die Pathogenese der koronaren Makroangiopathie – Progression und Exazerbation durch inflammatorische Prozesse

Die Ausbildung atherosklerotischer Läsionen kann als eine mehrstufige, auf einer chronischen Entzündung der Gefäßwand beruhende Entwicklung beschrieben werden, die lange Zeit vor der klinischen Manifestation initiiert wird und im weiteren Verlauf zu chronisch belastungsabhängigen Beschwerden führen oder zu akut lebensbedrohlichen Zuständen exazerbieren kann.

Den initialen Schritt stellt wahrscheinlich eine Störung der antiatherogenen Funktionen des Endothels dar. Als Auslöser werden verschiedene Faktoren wie Dyslipidämie und modifiziertes LDL, Hyperglykämie und nichtenzymatisch glycierte Verbindungen (sog. AGEs, *advanced glycation end products*), freie Radikale (z.B. durch Zigarettenkonsum), nicht-laminare Strömungen an Prädispositionsstellen, arterielle Hypertonie, Hyperhomocysteinämie, auch infektiöse Mikroorganismen und weitere, mit verschiedenen Risikofaktoren assoziierte Einflüsse genannt. Dabei unterstreicht die Lipidinfiltrationstheorie die Bedeutung einer erhöhten, die Endothelmembran initial modifizierenden LDL-Konzentration, während die Theorie der Verletzungsreaktion (*response-to-injury*) den Initialschritt einer chemischen, immunologischen, mechanischen oder anderen Form der Verletzung des Endothels zuschreibt (Weisswange 1996).

Die endotheliale Dysfunktion führt zu einer kompensatorischen Entzündungsreaktion mit gesteigerter Adhäsivität und Permeabilität. Es werden vasoaktive Substanzen, Zytokine und Wachstumsfaktoren produziert sowie prokoagulatorische Faktoren ausgebildet. Durch Expression von Adhäsionsmolekülen und chemotaktischen Zytokinen kommt es zur Transmigration von Monozyten und T-Lymphozyten aus der Blutbahn in die Intima und zu deren Aktivierung. Die aktivierten Monozyten reichern modifiziertes LDL über den Scavenger-Rezeptor an und wandeln sich zu Schaumzellen um. Die Anreicherung der Schaumzellen in der Intima kennzeichnet das Frühstadium atherosklerotischer Läsionen (*fatty streaks*). Die Anwesenheit von T-Lymphozyten und von Makrophagen, die zur Antigenpräsentation befähigt sind, deutet auf eine Beteiligung der zellulären Immunität hin.

Die nächste Stufe stellt die Bildung eines intermediären oder stabilen Plaques dar, der bei anhaltender Entzündung durch die Aktivierung und Proliferation von glatten Muskelzellen der Gefäßwand und deren Migration in die Intima ausgebildet wird. Wesentlich für die Stimulation der glatten Muskelzellen sind monozytäre Zytokine (wie z.B. TNF α , Jovinge et al. 1997) und Wachstumsfaktoren.

Zuletzt bildet sich, begleitet von weiterer Zellakkumulation, Zelluntergang, Fibrose und enzymatischem Gewebsumbau, eine fortgeschrittene bzw. komplexe Läsion aus. Sie ist gekennzeichnet durch einen weichen, halbflüssigen Lipidkern aus nekrotischem, prothrombotischem, relativ zell- und gefäßarmem Material und einer darüber liegenden dünnen, rupturgefährdeten, bindegewebigen Kappe. Es können Verkalkungen und raumgreifende

Hämorrhagien auftreten. Verschiedene matrixabbauende Enzyme, wie die durch aktivierte Makrophagen und glatte Muskelzellen der Läsion gebildeten Matrix-Metalloproteinasen, verursachen eine zusätzliche Destabilisierung (Lee und Libby, 1997). Ferner könnte eine intakte Zell-Matrix-Interaktion eine proliferationsmodulierende Wirkung besitzen. Mit Zunahme der Wandverdickung und -protrusion verliert eine kompensatorische Waddilatation an Wirksamkeit, und das Risiko akuter Koronarsyndrome steigt (zusammengefasst bei Ross 1999).

Für die Entstehung akuter Koronarsyndrome, insbesondere des Myokardinfarktes, scheint die Ruptur eines instabilen Plaques mit lokaler Thrombusbildung von wesentlicher Bedeutung zu sein. Auf der Suche nach neuen Präventionsmöglichkeiten stehen damit jene Faktoren im Zentrum des Interesses, die die Beschaffenheit eines Plaques stabilisieren oder destabilisieren können. So könnten Erkenntnisse über die Regulation der Synthese, der Organisation und des Abbaus von Komponenten der extrazellulären Matrix, über die Beeinflussung der Zusammensetzung und Stabilität des Lipidkerns, über die Steuerung des Zelluntergangs und Zellmusters in der Läsion und über die Modulierung lokaler und über die Bedeutung systemischer Entzündung neue Ansätze schaffen (dargelegt bei Lee und Libby 1997). Entzündungsmarker wie das CRP stehen heute als möglicherweise aussagekräftige, ergänzende Indikatoren des Risikos von Patienten mit akuten Koronarsyndromen in der Diskussion (Übersicht bei Blake und Ridker 2003).

1.5 Zytokine – Eine Übersicht

Zytokine sind multifunktionelle, hormonähnliche Peptide, Proteine oder Glykoproteine, die der Signalübermittlung zwischen Zellen im Verlauf immunologischer Prozesse dienen. Zu ihnen zählen neben den Tumornekrosefaktoren auch die Interferone, die Interleukine (bei Sekretion durch T-Zellen auch als Lymphokine bezeichnet), die koloniestimulierenden Faktoren, sowie der transformierende Wachstumsfaktor beta (TGF β).

Kommunikation erfolgt *in vivo* durch ein komplexes Netzwerk aus Zytokinen und Signalen, die durch direkten Zell-Zell-Kontakt entstehen. Unter Zytokinen wurden sowohl agonistische, als auch antagonistische Effekte beschrieben. Die Bildung von Zytokininhibitoren wie auch autokrine Rückkopplungsmechanismen stellen weitere Möglichkeiten der Modulation von Zytokineffekten dar. Durch diese Komplexität wird die experimentelle Erforschung der spezifischen Zytokinfunktionen und ihrer physiologischen Rollen erheblich erschwert (nach Roitt et al. 1995).

1.6 TNF α und TNF β – Zwei wichtige Liganden einer großen Familie

Die Mitglieder der Tumornekrosefaktor-Superfamilie nehmen über die Aktivierung verschiedener Signaltransduktionswege Einfluss auf das Überleben und die Differenzierung von Zellen. Sie stellen eine Gruppe von membrangebundenen oder freien Liganden dar, der eine korrespondierende

Familie aus spezifischen Zelloberflächenrezeptoren (TNFR) gegenübersteht. Typische Sequenz- und Strukturhomologien in den Ektodomänen kennzeichnen die Familienzugehörigkeit: Eine cysteinreiche Domäne bildet das charakteristische Element der Rezeptoren; die Liganden der TNF-Superfamilie stellen Typ-II-Transmembranproteine mit einer gemeinsamen extrazellulären (C-terminalen) Domäne (*TNF homology domain*) dar. Aktuell sind mehr als 40 verschiedene Liganden-Rezeptoren-Paare dieser TNF-Superfamilie bekannt, und offenbar hat jedes dieser Systeme unterschiedliche Funktionen (Ware et al. 2003).

Über die Merkmale der Liganden TNF α (früher Cachectin) und TNF β (auch als Lymphotoxin alpha bezeichnet, LT α) wurde intensiv geforscht und komplexe Einflussnahmen auf die Induktion von Zelltod, die Entwicklung von lymphatischen Geweben und die Lenkung inflammatorischer und immunologischer Prozesse hervorgehoben. Eine Dysregulation dieser Zytokine wurde in Hinblick auf die Pathogenese und den Verlauf vieler Erkrankungen untersucht. Inzwischen haben sich Inhibitoren des TNF unter spezifischen Indikationen (z.B. Morbus Crohn, Rheumatoide Arthritis) in der klinischen Anwendung etabliert, wobei weitere Anwendungsmöglichkeiten (z.B. im Bereich entzündlicher Hauterkrankungen) hoffnungsvoll getestet werden.

TNF α und TNF β haben viele Gemeinsamkeiten, gleichwohl gilt es, auch charakteristische Unterschiede aufzuzeigen: Zusammen mit dem LT β -Gen befinden sich ihre (*Single-Copy*-) Gene im Abstand von nur etwa 2kb auf Chromosom 6p21.3 in Nachbarschaft zu den MHC-I- und MHC-III-Regionen. Jedes Gen hat eine Länge von zirka 3kb und schließt drei Introns ein (s. Abb. 3 in Abs. 1.8). Sie zeigen eine etwa 30%ige Homologie der Aminosäure(AS)-Sequenzen, wobei in dem kodierenden Abschnitt des vierten Exons beider Zytokine, welches für 80% des TNF β - und 89% des TNF α -Proteins codiert, auf Ebene der Nukleotide eine Homologie von 56% vorliegt. Dies macht es wahrscheinlich, dass das jeweilige Exon 4 einer gemeinsamen Ursprungssequenz entstammt, und dass diese Verwandtschaft die Grundlage gemeinsamer Eigenschaften beider Zytokine darstellt (Nedwin et al. 1985).

Das TNF β -Gen kodiert für 205 AS. Exon 1 und Intron 1 liegen im Bereich der 5'UTR. Exon 4 endet mit einer 3'UTR. Das TNF α -Gen kodiert für 233 AS. Den Rahmen bilden eine 5'UTR in Exon 1 und eine 3'UTR in Exon 4. Im Vergleich mit dem TNF β -Gen liegt nur das Intron 3 an einer homologen Position. Es konnte neben den oben genannten Sequenzhomologien in Exon 4 lediglich noch in der 3'UTR eine erhöhte Homologie von 43% festgestellt werden. Kurze Abschnitte mit exakten Nukleotidhomologien liegen jedoch noch in den möglichen Promotorregionen am 5'-Ende. Sie könnten als Hinweis auf Gemeinsamkeiten in der Induktion der Gene aufgefasst werden. Auch die nachbarschaftliche Lage der Gene zu den MHC-Genen ließ schon früh eine koordinierte Steuerung dieser immunologisch bedeutsamen Genprodukte vermuten. Unterschiede der beiden Signalsequenzen können in Zusammenhang mit den unterschiedlichen Sekretionsmechanismen gebracht werden: Dabei weist die lange Signalsequenz des TNF α hydrophobe und hydrophile Abschnitte auf, die der transmembranösen Verankerung der von Kriegler et al. 1988 beschriebenen

präsekretorischen Form des TNF α zugeordnet werden. Die Signalsequenz des TNF β ist kürzer, sehr hydrophob und zeigt aminoterminal geladene AS (Nedwin et al. 1985). Das reife TNF β ist ein Glykoprotein aus 171 AS mit einem (monomeren) Molekulargewicht von etwa 20kDa (Aggarwal et al 1984); das reife TNF α -Protein zählt 157 AS, die sezernierte Form hat ein Molekulargewicht von ungefähr 17kDa (Aggarwal et al. 1985^a) und geht aus einer membranständigen Form von 26kDa hervor (Kriegler et al. 1988).

TNF α wird überwiegend von aktivierten Makrophagen, jedoch auch von einer Vielzahl anderer Zellen (u.a. Mono-, Lympho-, neutrophilen Granulozyten, VSMC) gebildet und als homotrimeres Typ-II Transmembranprotein an der Zelloberfläche präsentiert. Durch proteolytische Aktivität des TNF-konvertierenden Enzyms (TACE) und möglicherweise weiterer Metalloproteinasen (Black et al. 1997) werden lösliche, homotrimere Liganden freigesetzt (s.Abb.1).

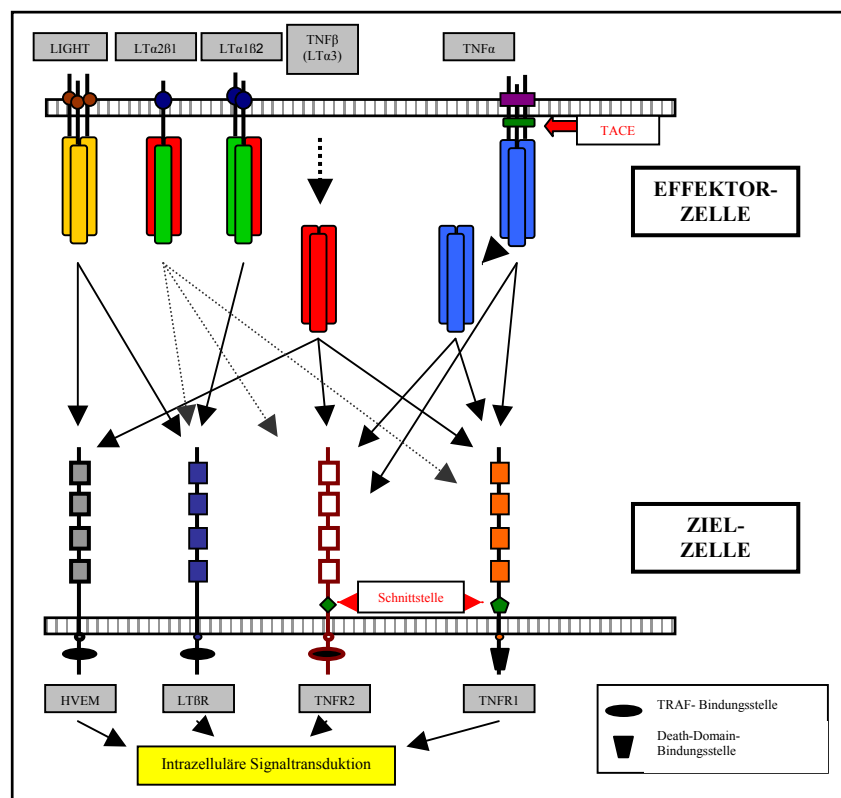


Abb. 1: Liganden und Rezeptoren des TNF-Systems (modifiziert nach Wallach et al. 1999, die Abkürzungen sind im Text bzw. Verzeichnis erläutert)

Das homotrimere TNF β hingegen wird vor allem von aktivierten T-Lymphozyten (Paul und Ruddle 1988), also einem kleineren Zellspektrum als TNF α , primär sezerniert. Wenige nicht lymphozytäre Quellen wurden identifiziert (Melani et al. 1993, Lieberman et al. 1989, Selmaj et al. 1991).

Ferner bildet das TNF β (LT α)-Monomer mit dem membranständigen LT β an der Oberfläche aktivierter lymphozytärer Zellen Heterotrimere (Browning et al. 1995). LT α 1 β 2 stellt den biologisch aktiven, hoch affinen Lymphotoxin-beta-Rezeptor-Liganden dar (Williams-Abbott et al.

1997). Das seltenere $LT\alpha 2\beta 1$ -Heterotrimer gilt wie $TNF\alpha$ und $TNF\beta$ als Ligand der TNF-Rezeptoren (s. u.), ist aber wahrscheinlich nicht zu einer der Transduktion förderlichen Rezeptoraggregation fähig und somit eher ein den TNFR-Signalweg hemmender Ligand (Hochman et al. 1995, Williams-Abbott et al. 1997).

Wie in Abb.1 veranschaulicht, bindet $TNF\alpha$ an zwei Rezeptoren: TNFR1 (auch als p55TNFR, TNFR60 oder CD120a bezeichnet) und TNFR2 (auch als p75TNFR, TNFR80 oder CD120b bezeichnet). Unterschiedliche zytoplasmatische Bereiche sind ein Hinweis auf unterschiedliche nachfolgende Signaltransduktionswege (u.a. Tartaglia und Goeddel 1992). Das primär sezernierte Homotrimer $TNF\beta$ bindet ebenfalls mit hoher Affinität an die TNF-Rezeptoren. Beide Liganden stehen somit in Konkurrenz um diese Bindungsstellen (Aggarwal et al. 1985^b, Stauber und Aggarwal 1989, Brockhaus et al. 1990), wobei Schuchmann und Mitarbeiter (1995) funktionelle Unterschiede beider Homotrimere *in vitro* beschrieben.

Zusätzlich zur Bindung an die TNFR ist $TNF\beta$ ein Ligand des T-lymphozytären HVEM (Mauri et al. 1998) und als Bestandteil des $LT\alpha 1\beta 2$ -Heterotrimers ein Ligand des $LT\beta R$ (Crowe et al. 1994, s. Abb. 1). TNFR1, TNFR2 und $LT\beta R$ werden unterschiedlich reguliert und auf den meisten kernhaltigen Zellen in variierendem Verhältnis exprimiert. Durch Rezeptorinternalisierung oder Abspaltung und Freisetzung des TNF-affinen extrazellulären Anteils von TNF-Rezeptoren der Zelloberfläche könnten die Zytokinwirkungen weiter moduliert werden (Porteu und Hieblot 1994). Für die Rezeptoren der TNFR-Superfamilie wurden mehrere Wege der Signalweitergabe beschrieben, die zytoplasmatische Bindung von TNFR-assoziierten Adapterproteinen (TRAFs) und Adapterproteinen des Zelltods (*death domains*) voraussetzen (zusammengefasst bei Locksley et al. 2001).

Allgemein wird dem TNFR-System besondere Bedeutung für die Initiation akuter Entzündungsreaktionen zugeschrieben, wohingegen ein spezieller Einfluss des $LT\alpha 1\beta 2/LT\beta R$ -Komplexes auf die Entwicklung und Funktionsfähigkeit des peripheren lymphatischen Gewebes und chronischer Entzündungsprozesse diskutiert wird (thematisiert u.a. in: Ware et al. 1995, Millet/Ruddle 1997, Mackay et al. 1996, Dejardin et al. 2002).

Für den jeweiligen Effekt von $TNF\alpha$ oder $TNF\beta$ auf die Zielzelle ist wahrscheinlich neben der transkriptionellen und posttranskriptionellen Steuerung der Ligandenaktivität, neben der Signalübermittlung durch direkte Zell-Zell-Interaktion oder Bildung löslicher Liganden, auch eine differenzierte Regulation der verschiedenen Rezeptoren verantwortlich.

Die funktionelle Unterscheidung der komplexen Signaltransduktionswege dieser Zytokinfamilie mit den sich darstellenden Verschränkungen und Unterschieden auf Liganden-, Rezeptoren- und Postrezeptorebene ist in weiten Teilen noch Gegenstand der Forschung. Im Folgenden fokussiert sich die vorliegende Arbeit auf eine Betrachtung von Ergebnissen, die in Zusammenhang mit der Atherogenese gebracht werden können.

1.7 TNF α und TNF β in der Atherogenese

An der Pathogenese der Arteriosklerose haben Entzündungszellen und ihre Botenstoffe wesentlichen Anteil (s. Abs. 1.4). TNF α und das seltener in diesem Zusammenhang genannte TNF β nehmen eine Schlüsselstellung unter den proinflammatorischen Zytokinen ein. Aus dieser Zusammenschau lässt sich eine mögliche Bedeutung dieser Zytokine für die Atherogenese ableiten. Untersuchungen mit direktem Bezug zu den TNF lassen an ihrer Bedeutung für den Prozess der Atherogenese wenig Zweifel. Dennoch ist bei der Beurteilung der Ergebnisse stets das komplexe inflammatorische Milieu mit einem verschränkenden horizontalen und vertikalen Gefüge mehrerer Faktoren zu berücksichtigen:

Zunächst produzieren wesentliche Zellen der atherosklerotischen Läsion Tumornekrosefaktoren (s. Abb. 2). Barath und Mitarbeiter (1990) identifizierten erstmals TNF α in Endothelzellen, VSMC und Makrophagen atherosklerotischer Läsionen, während dieser immunhistochemische Nachweis in histologisch unauffälligen Präparaten nicht gelang. Später wurden TNF α speichernde Mastzellen in der subendothelialen Schicht fortgeschrittener koronarer Plaques nachgewiesen, und dies als weiterer Hinweis auf eine zunehmende entzündliche Aktivität in der Plaqueeentwicklung und -ruptur diskutiert (Kaartinen et al. 1996). T-Lymphozyten schließlich gelten als Hauptquelle des TNF β (Paul und Ruddle 1988). Vaddi et al. (1994) hingegen beschrieben eine *in vitro* gesteigerte TNF α - und INF γ -Sekretion durch Leukozyten von Patienten mit stabiler oder instabiler Angina pectoris im Vergleich zu asymptomatischen Kontrollprobanden der gleichen Altersgruppe und des gleichen Geschlechts.

TNF α und TNF β vermitteln die Induktion der endothelialen Expression von Adhäsionsmolekülen, HLA-A- und HLA-B-Antigenen, weiterer Zytokine und thrombogenem Gewebefaktor (Pober et al. 1986 und 1987, Paleolog et al. 1994, Neumann et al. 1996, Cuff et al. 1998) und unterstützen damit die Adhäsion, Einwanderung und Aktivierung von Mono- und Lymphozyten.

Auch auf die in der arteriosklerotischen Läsion beeinträchtigte endotheliale Steuerung des Gefäßtonus durch Stickstoffmonoxid (NO)-Sekretion könnten die Tumornekrosefaktoren Einfluss nehmen: So sind sie beteiligt an der durch Monozytenadhäsion und Zytokine vermittelten Minderung der Expression der endothelialen konstitutiven NO-Synthase (ecNOS) (Yoshizumi et al. 1993, Marcin et al. 1996). Für TNF α wurde ferner eine Minderung der Expression der NOS vom endothelialen Typ in neutrophilen Granulozyten beschrieben (de Frutos et al. 2001).

Zu den zytosolisch-nukleären Signaltransduktionswegen, die von den TNF-Rezeptoren ausgehen, zählt neben proapoptotischen Kaskaden die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren (wie z.B. c-fos, Egr-1 und Ets-1), die an der Regulierung von Wachstum, Differenzierung und Migration von Makrophagen und VSMC der geschädigten Gefäßwand beteiligt sein könnten (Goetze et al. 2001), oder NF- κ B, der eine zentrale Bedeutung in der Regulierung proinflammatorischer Gene besitzt. Sie steuern die Expression von Wachstumsfaktoren, Zytokinen und Adhäsionsmolekülen, ferner

von matrixabbauenden Proteasen, der iNOS, des PAI, der MHC-I und MHC-II und anderer auch im Zusammenhang mit der Atherogenese stehenden Faktoren (zusammengefasst bei de Martin et al. 2000). Eine Störung einer pro- und antiinflammatorischen Balance u.a. durch Beeinflussung der NF- κ B-Aktivität unter pathologischen Bedingungen könnte die Entwicklung atherosklerotischer Läsionen begünstigen (Wrighton et al. 1996; Kanter et al. 2003).

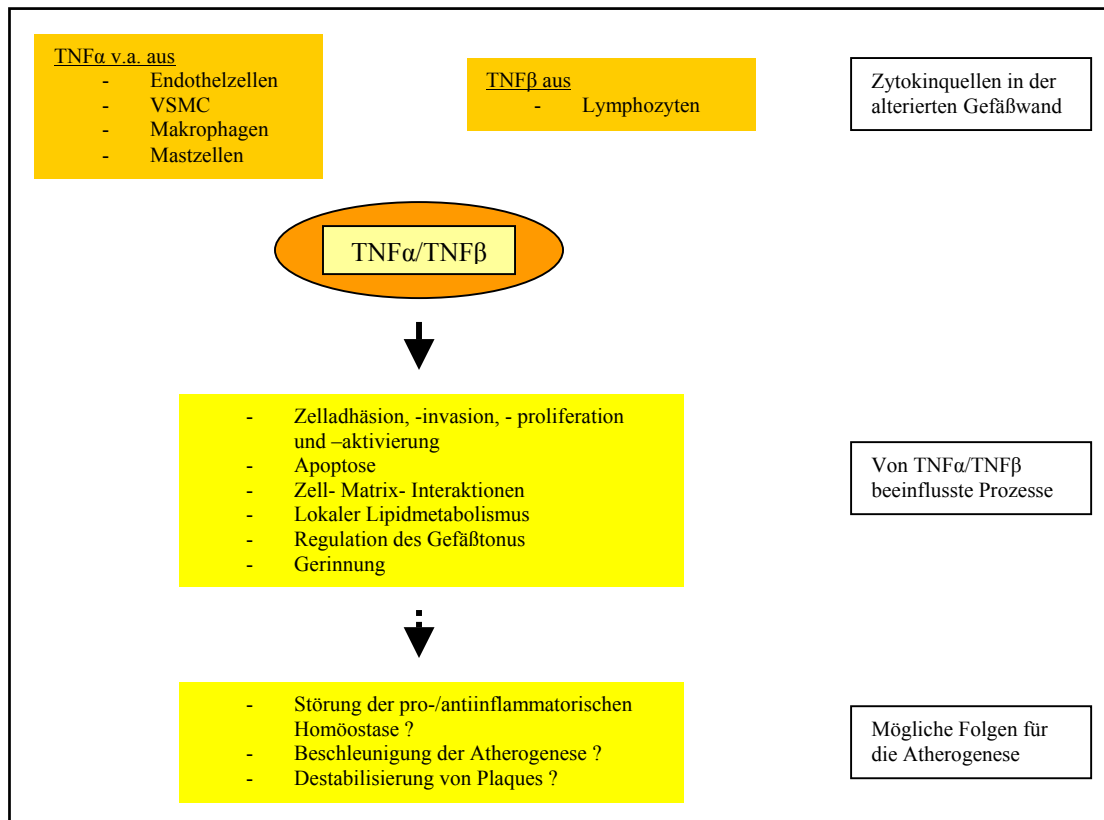


Abb. 2: Tumornekrosefaktoren in der alterierten Gefäßwand: ihre Quellen und möglichen Auswirkungen im Zusammenhang mit der Atherogenese (nach Angaben der in Abs. 1.7 referierten Literatur).

Ein verminderter laminarer Blutfluss prädestiniert für die Entstehung neointimaler Hyperplasien (NIH) z.B. an Bifurkationen. Rectenwald und Mitarbeiter (2000) demonstrierten anhand eines Mausmodells, dass TNF α und IL-1 in der Wand einer ligierten Halsschlagader vermehrt exprimiert werden, und dass eine fehlende Bildung von TNF α in Knock-out-Mäusen im Vergleich zu Wildtypmäusen zu einer signifikant geringeren NIH als Antwort auf geminderten Laminarstrom führt. Ebenfalls an einem Mausmodell zeigten Zimmerman et al. (2002), dass die NIH nach Schädigung der Carotis communis mit einer Steigerung der TNF α - und NF- κ B-Expression einhergeht, und dass die NF- κ B- und MCP-1-Expression, sowie die NIH in TNF α -Knock-out-Mäusen im Vergleich zu Wildtypmäusen verringert ist. Beide Arbeiten legen einen Einfluss von TNF α auf die proliferative Antwort einer mechanisch beeinflussten Intima nahe.

TNFR-Aktivierung fördert die Proliferation und Migration von VSMC, die ein weiteres Element der Plaqueentwicklung darstellen. Jovinge et. al (1997) beschrieben, dass TNF α die VSMC-

Migration sowohl über eine Anpassung der Zytoskelettstruktur, als auch eine Veränderung der Matrix unterstützen kann. Auch gibt es Hinweise für die Erfordernis einer NF- κ B-Aktivität für die Proliferation von Muskelzellen der Gefäßwand (Bellas et al. 1995) und einer Kontrolle der Apoptose dieser Zellen unter dem Einfluss von NF- κ B (Erl et al. 1999). Während in medialen VSMC der gesunden Gefäßwand die NF- κ B-Proteine p65 und p50 lediglich zytosolisch nachweisbar sind, zeigen VSMC aus atherosklerotischen Plaques eine nukleäre Anreicherung. Diese Erkenntnisse, im Zusammenhang mit der Charakterisierung der Aktivierung dieser Faktoren durch proinflammatorische Stimuli wie TNF α oder IL-1 β in VSMC betrachtet, unterstützen die Theorie, dass in VSMC ein proinflammatorisches Umfeld die Expression proatherogener Eigenschaften NF- κ B-vermittelt fördern kann (Bourcier et al. 1997).

Landry und Mitarbeiter (1997) zeigten an Ratten, dass nach einer Gefäßschädigung durch Ballonangioplastie eine gesteigerte Induktion von NF- κ B während der Proliferation von glatten Muskelzellen und Ausbildung einer Neointima beobachtet werden konnte. Es folgte eine Expression des VCAM-1 und MCP-1 innerhalb von vier Stunden und eine Infiltration der luminalen Läsion mit Makrophagen. Auch in TNF α -stimulierten VSMC steigt die NF- κ B-Aktivität, und eine Proliferation dieser Zellen wird induziert. Diese wiederum kann mit liposomaler Einführung von I κ B α gemindert werden (Selzmann et al. 1999).

In der Diskussion um die Gegensätzlichkeit einer von TNF α -im Zusammenwirken mit INF γ -induzierten Apoptose von VSMC einerseits (z.B. Geng et al. 1996) und der beschriebenen, durch TNF α stimulierbaren Proliferation der gleichen Zellen andererseits, führten Selzmann et al. (1999) die von verschiedenen Ergebnissen gestützte Hypothese an, dass TNF α in frühen Stadien der Gefäßläsion die VSMC-Proliferation und Plaquebildung fördert, während es im Milieu des ausgereiften Plaques die Apoptose von VSMC herbeiführt und damit auch zur Plaquestabilisierung beiträgt. Letztere Annahme steht im Einklang mit den Ergebnissen der Arbeit von Anwar und Mitarbeitern (2002), die in Versuchen an murinen VSMC *in vitro* eine durch TNF α herbeigeführte Verringerung der IGF-1-Aktivität postulierten. IGF-1 ist für das Wachstum und Überleben von VSMC von Bedeutung. Ferner erwies sich TNF α nur in Kombination mit INF γ oder INF γ und Fas-Ligand, nicht aber allein, als Induktor von VSMC-Apoptosen. Da IGF-1 die induzierte Apoptosehäufigkeit deutlich senkte, könnte der Einfluss von TNF α auf die IGF-1-Aktivität zu einem proapoptotischen Effekt auf VSMC und damit zur Plaquestabilisierung beitragen. Obara und Mitarbeiter (2000) wiederum beobachteten, dass TNF α induzierte VSMC-Apoptosen *in vitro* erst durch eine gleichzeitige spezifische Hemmung von NF- κ B auslösbar waren. Die scheinbar gegensätzlichen Aussagen zur Beziehung von TNF α und dem Wachstum und Tod der VSMC verweisen somit auf das variable entzündliche Umfeld mit wahrscheinlich komplexen interagierenden Wirkungen einzelner Faktoren *in vivo*.

Matrix-Metalloproteinasen (MMP) stellen eine Familie von Enzymen dar, die die Fähigkeit zum Abbau der extrazellulären Matrix besitzen. Seit dem Nachweis der Bildung von Stromelysin,

Kollagenase und 92kDa-Gelatinase in Schaumzellen atherosklerotischer Läsionen (Galis et al. 1995) wird über die Rolle dieser Enzyme bei dem Umbau, der Progression und schließlich der Destabilisierung von Plaques diskutiert. Membran-Typ-1-MMP (MT1-MMP), ein Gelatinase A-aktivierendes Transmembranprotein, wurde in komplexen Läsionen an Makrophagen und VSMC nachgewiesen (Rajavashisth et al. 1999^a). Ihre Expression *in vitro* ist durch TNF α stimulierbar, sowohl auf Makrophagen und VSMC (Rajavashisth et al. 1999^a), als auch auf Endothelzellen (Rajavashisth et al. 1999^b). Als weitere die MT1-MMP-Expression steigernde Faktoren wurden IL-1 und ox-LDL identifiziert.

Auch Einflussnahmen der TNF auf den Lipidmetabolismus wurden mit zum Teil gegensätzlichen Ergebnissen diskutiert. Beispielsweise wurde durch *in-vitro*-Analysen an VSMC der Kaninchenaorta TNF α eine die Scavenger-Rezeptor-Expression und den Abbau von modifizierten LDL-Partikeln steigernde Wirkung zugeschrieben (Li et al. 1995). Diese Rezeptorinduktion könnte somit an der Aktivierung und Umwandlung intimaler VSMC zu Schaumzellen in entstehenden Läsionen beteiligt sein. Andererseits wurde dargelegt, dass TNF α die Aktivität des Scavenger-Rezeptors humaner Makrophagen *in vitro* mindern kann (van Lenten et al. 1992; Hsu et al. 1996). Diesem Resultat entspricht die Beobachtung, dass unter atherogener Diät frühe arteriosklerotische Läsionen (*fatty streaks*) des Aortensinus in TNFR1 defizienten C57BL/6-Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-C57BL/6-Mäusen größer sind, wenn auch eine geringere Zelldichte beobachtet wurde (Schreyer et al. 1996). Somit kann man in Hinblick auf den Lipidmetabolismus der Gefäßwand und die frühe Plaqueeentwicklung auch einen antiatherogenen Effekt des TNFR1 diskutieren.

Andere Autoren brachten TNF α mit klassischen Risikofaktoren der KHK in Verbindung. Beispielsweise ermittelten Mizia-Stec et al. (2003) unter Koronarpatienten eine negative Korrelation der HDL-Cholesterol-Spiegel und eine positive Korrelation der Triglyzerid-Spiegel mit der TNF α -Serumkonzentration. Hotamisligil et al. (1994) identifizierten TNF α als Vermittler der Adipositas assoziierten Insulinresistenz des Fettgewebes und der Muskulatur.

Es ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, alle Arbeiten anzuführen, die die Rolle der Zytokine im Allgemeinen und der TNF im Speziellen in Hinsicht auf die Pathogenese der KHK beleuchten. Das Wirkungsgefüge der Entzündungsmediatoren *in vivo* ist komplex und schwer durch *in-vitro*-Versuche abzubilden. Teilweise gegensätzliche Erkenntnisse in diesem Zusammenhang erschweren klare Feststellungen. Ferner beziehen sich viele der zitierten Arbeiten auf TNF α , während das lymphozytäre TNF β häufig unberücksichtigt bleibt. Eine Übertragung solcher Erkenntnisse auf TNF β ist trotz der genannten Gemeinsamkeiten (s. Abs. 1.6) nicht pauschal möglich. Dennoch legen die hier dargestellten Ergebnisse einen wesentlichen Einfluss der TNF auf allen Stufen der Entstehung und Progression arteriosklerotischer Läsionen und bei der Ausbildung einer KHK nahe.

1.8 Ausgewählte Polymorphismen des TNF α und TNF β

In den die Tumornekrosefaktoren betreffenden Sequenzen wurden zahlreiche SNPs beschrieben. Darunter befinden sich Genomvariationen, die durch ihre Lokalisation z.B. in transkriptionssteuernden Abschnitten das Genprodukt quantitativ beeinflussen könnten. Andere SNPs gehen mit dem Austausch einer AS einher und vermögen daher möglicherweise die Prozessierung, Sekretion, Wirkung oder Elimination des Zytokins zu verändern (cSNPs).

In vorliegender Arbeit wurden ein SNP der Promotorregion des TNF α (c.-308G>A) und zwei mit einem AS-Austausch verbundene cSNPs des TNF β (C13R [c.206T>C] und T60N [c.348C>A]; Z15026) in Hinsicht auf ihre mögliche Bedeutung als koronare Risikoindikatoren analysiert. Eine Übersicht über die Genstruktur und die Lokalisation der SNPs bietet Abb. 3.

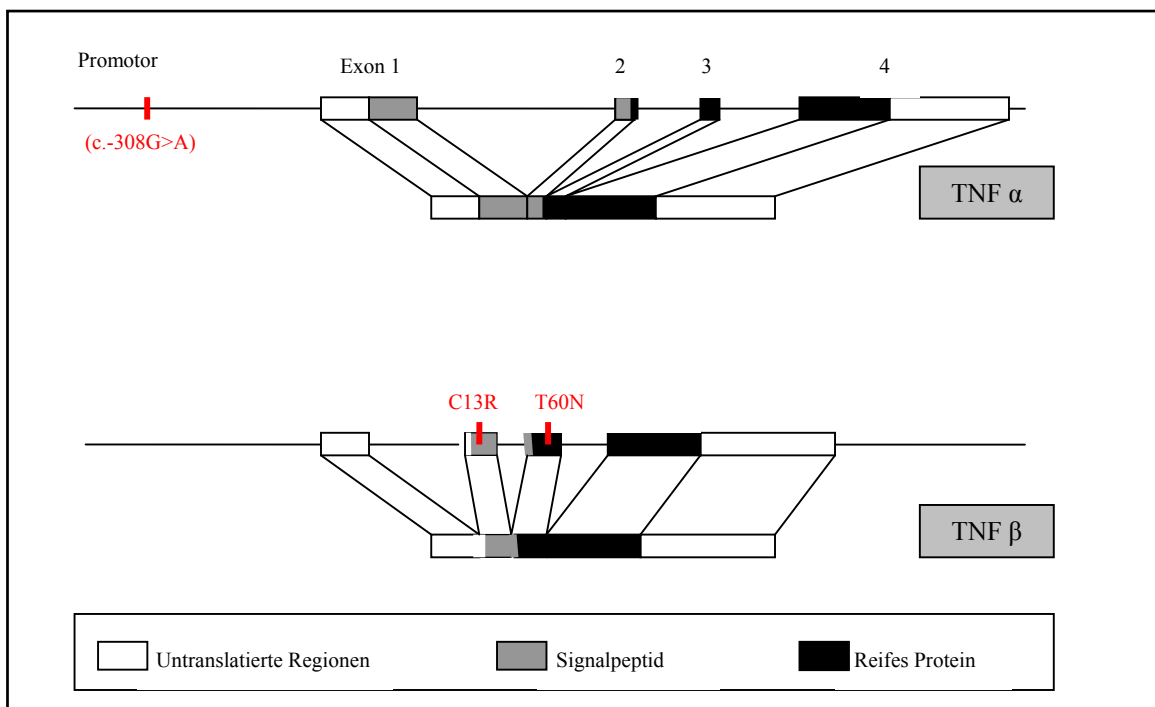


Abb. 3: Struktur der Gene von TNF α und TNF β . Lokalisation der in vorliegender Arbeit untersuchten SNPs (c.-308G>A)-TNF α , C13R-TNF β und T60N-TNF β (modifiziert nach Nedwin et al. 1985)

Der (c.-308G>A)-TNF α -SNP ist in der Promotorregion lokalisiert. Sein Einfluss auf die Aktivierbarkeit des Promotors wurde von Wilson et. al. (1997) untersucht; auch eine Bedeutung für die TNF-Aktivität wurde beschrieben (Bouma et al. 1996). Bekannt ist ferner die Kopplung der Allele an verschiedene HLA-Haplotypen (Jacob et al. 1990, Abraham et al. 1993, Pociot et al. 1993), womit auch eine Verbindung mit HLA- assoziierten Autoimmunkrankheiten ableitbar ist. Mehrere Autoren beschrieben den Zusammenhang des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit verschiedenen autoimmunologischen bzw. inflammatorischen Erkrankungen, so z.B. mit Asthma bronchiale (Witte et al. 2002), Typ1-Diabetes (Krikovszky et al. 2002), Zöliakie (Garrot et al. 2002),

Infektionskrankheiten (Cabrera et al. 1995; McGuire et al. 1994), septischem Schock (Mira et al. 1999). Seine Bedeutung für kardiovaskuläre Erkrankungen wird kontrovers diskutiert (Bernard et al. 2003, Vendrell et al. 2003, Koch et al. 2001, Wang und Oosterhof 2000, Herrmann et al. 1998), worauf in Abs. 5.2.1 ausführlicher eingegangen wird.

Der T60N-TNF β -cSNP ist in Exon 3 lokalisiert und führt zu einem AS-Austausch im reifen Protein. Nach Messer et al. (1991) ist mit Homozygotie des selteneren A-Allels (Asparagin an Position 60) eine gesteigerte Stimulierbarkeit der TNF β -Produktion assoziiert. Ozaki und Mitarbeiter (2002) beschrieben anhand einer japanischen Studienpopulation, dass der AA-Genotyp signifikant mit dem Myokardinfarktrisiko verbunden sei. Ferner identifizierten sie die N60-Mutante des TNF β als stärkeren Induktor von Adhäsionsmolekülen auf kultivierten glatten Muskelzellen.

Über die potentielle pathogenetische Bedeutung des in Exon 2 lokalisierten C13R-TNF β -cSNP, der mit einem AS-Austausch im Signalpeptid des TNF β einhergeht, konnten keine Informationen gewonnen werden.

2 Zielstellung

Das individuelle Erkrankungsrisiko für eine KHK wird durch multiple umweltbedingte und genetische Risikofaktoren bestimmt. Die hohe Morbidität und Mortalität einerseits und die meist lange asymptomatische Latenzphase andererseits verleihen einer wirkungsvollen Prävention besondere Bedeutung. Für die Einschätzung des individuellen Risikos als Maßgabe der Einleitung angemessener präventiver Maßnahmen ist eine möglichst umfangreiche Kenntnis und Berücksichtigung von Risikofaktoren erforderlich.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Fall-Kontroll-Studie zu klassischen klinischen und vermuteten genetischen Risikofaktoren der KHK durchgeführt und ihr Stellenwert in einem Patientenkollektiv aus der mitteldeutschen Region geprüft. Dazu waren folgende Schwerpunkte zu bearbeiten:

- (a) Erhebung von 198 Patienten mit angiographisch gesichertem Koronarbefund. Es war ein Untersuchungskollektiv zu erfassen, das aus 99 alters- und geschlechtsadjustierten Paaren bestand. Die Fälle (99 Patienten mit signifikanter koronarer Makroangiopathie und Zustand nach Myokardinfarkt) sollten bereits im jüngeren bis mittleren Lebensalter, vor Vollendung des 56. Lebensjahres, an einer klinisch manifesten KHK erkrankt sein. Zu diesen Fällen sollten 99 Kontrollen (mit unauffälligem koronarangiographischem Befund) gesichert werden.
- (b) Charakterisierung der Patienten durch eine erweiterte Anamnese und ein erweitertes klinisch-diagnostisches Untersuchungsspektrum.

- (c) Erfassung und Bewertung klassischer etablierter Risikofaktoren für eine KHK
- (d) Untersuchung ausgewählter Genpolymorphismen der Zytokine TNF α und TNF β und Bewertung ihres Potentials als Risikomarker auch im Zusammenwirken mit klassischen Hauptrisikofaktoren einer KHK.

3 Material und Methodik

3.1 Studienpopulation

Für die vorliegende Fall-Kontroll-Studie wurden Patienten der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg gewonnen. Die Patienten waren europäische Kaukasier mitteldeutscher Herkunft, vor allem aus der Region Halle-Merseburg-Bitterfeld. Die Erfassung der Probanden erfolgte im Zeitraum von 1999 bis 2000. Einbezogen wurden insgesamt 198 Patienten, deren Teilnahme freiwillig und unvergütet war. Das Einverständnis wurde schriftlich erteilt. Für die Studie lag ein positives Votum der Ethikkommission der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vor.

Als wesentliche Voraussetzung waren alle Patienten vor Aufnahme in die Studie einer diagnostischen Herzkatheteruntersuchung mit selektiver Katheterisierung und Kontrastmitteldarstellung der Koronarien unterzogen worden, gegebenenfalls mit zusätzlicher koronarer Intervention. Die Untersuchung und Beurteilung erfolgte durch erfahrene Fachärzte der Kardiologie.

Eine angiographisch gesicherte koronare Makroangiopathie bildete das erste Einschlusskriterium für die Zuteilung in die Fallgruppe. Sie galt als nachgewiesen im Falle signifikanter subkritischer (>50%) und kritischer Stenosen (>75%) der Hauptstämme oder der großen epikardialen Gefäße. Darüber hinaus hatten alle Patienten der Fallgruppe mindestens einen Herzinfarkt erlitten. Die Sicherung dieser Diagnose erfolgte anhand der Bewertung infarkttypischer Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG), durch positive infarktzymatische Diagnostik oder Darstellung von ventrikulären Kinetikstörungen im Echokardiogramm, auch mittels Myokardszintigraphie. Anamnestische Hinweise oder ältere Arztbriefe bzw. Befunde informierten zusätzlich über längere Zeit zurückliegende Infarkte. Das zweite Einschlusskriterium für die Fallgruppe war eine klinische Manifestation der koronaren Herzerkrankung vor Vollendung des 56. Lebensjahres.

In die Kontrollgruppe wurden Patienten unterschiedlicher Symptomatik und Grunderkrankung einbezogen, die bei Verdacht auf eine KHK aus differentialdiagnostischem oder aus operationsvorbereitendem Anlass einer Koronarangiographie unterzogen wurden und angiographisch nachgewiesen keine koronare Makroangiopathie besaßen.

Die Patienten der Fall- und Kontrollgruppe wurden nach Geschlecht und 5-Jahres-Altersklassen (Alter bei Eingang in die Studie) gepaart. So entstanden insgesamt 99 Vergleichspaare, davon 68 aus männlichen und 31 aus weiblichen Probanden.

3.2 Anamnestischer Informationsgewinn

Alle Patienten der vorliegenden Studie wurden nach einem halbstandardisierten Fragebogen befragt. Dieser enthielt - neben allgemeinen Fragen zur Person - Fragen zur kardialen und nicht-kardialen Krankenvorgeschichte und bestimmten Lebensgewohnheiten, wie z.B. dem Ernährungs- und Trinkverhalten, dem Zigarettenkonsum und der körperlichen Inanspruchnahme, ferner Fragen zur Medikation, zur Sozialanamnese und zu psychosozialen Stressfaktoren. Bei allen Patienten wurde ein Stammbaum erstellt und nach kardiovaskulären Erkrankungen oder Stoffwechselkrankheiten in der Familienanamnese geforscht.

Nicht von allen Patienten konnten exakte Informationen gewonnen werden. Dies betraf insbesondere die Erstellung des Familienstammbaumes und die Erhebung der Familienanamnese. Doch waren auch Gedächtnislücken oder unklare Vorstellungen in Bezug auf eigene Vorerkrankungen oder ehemalige Medikationen nicht selten. Daher wurden die auf Station befindlichen Krankenakten als ergänzende Informationsquellen auch für anamnestische Angaben hinzugezogen. Sie dienten ferner als Quelle für klinische Befunde.

3.3 Biochemische Laboranalysen

Die Routinediagnostik zur biochemischen Charakterisierung der Patienten wurde von dem Zentrallabor des Universitätsklinikums Kröllwitz der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt.

Die Blutentnahme erfolgte morgens, bei Nüchternheit der Patienten, aus einer Armvene.

In Tab. 1 sind die in vorliegender Arbeit ausgewerteten Parameter mit ihrer standardisierten Bestimmungsmethode und den Referenzbereichen des Zentrallabors des Universitätsklinikums Kröllwitz aufgeführt.

Tab. 1: Biochemische Parameter; Referenzbereiche und Bestimmungsmethoden des Zentrallabors, Universitätsklinikum Kröllwitz

Laborparameter	Referenzbereich	Bestimmungsmethode
<u>Serumlipide:</u>		
HDL-Cholesterin	> 1,50 mmol/l	Enzymatisch-homogener Test
Gesamtcholesterin	< 5,20 mmol/l	enzymatischer Farbtest
LDL-Cholesterin	< 3,90 mmol/l	Friedewald- Formel
Apolipoprotein-A1	0,80 – 1,75 g/l (m) 0,90 – 1,90 g/l (w)	Immunnephelometrie
Apolipoprotein-B	0,80 – 1,40 g/l	Immunnephelometrie
Triglyzeride	< 2,30 mmol/l	enzymatischer Farbtest
Lipoprotein (a)	< 0,20 g/l	Immunnephelometrie
<u>Gerinnung und Fibrinolyse:</u>		
Plasminaktivatorinhibitor- 1	0,3 – 3,50 E/ml	kinetischer Test
Fibrinogen	1,50 – 4,00 g/l	Methode nach Clauss
Protein S-Aktivität	65 – 140 %	Koagulometrie
Protein C	> 70 %	kinetischer Test
Antithrombin III	75 – 125 %	chromogener/kinetischer Test
<u>Sonstige Laborwerte:</u>		
Harnsäure	200 – 420 µmol/l (m) 140 – 340 µmol/l (w)	enzymatischer Farbtest

3.4 Molekulargenetische Untersuchungen

Alle molekularbiologischen Untersuchungen wurden im Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt.

Für die genetischen Analysen wurden aus peripherem Venenblut gewonnene Leukozyten verwendet. Dazu wurden den Patienten 4 ml Blut entnommen (EDTA-Monovette) und daraus DNA mit Hilfe des „QIAamp DNA Blood Maxi Kit“ (Quiagen, Hilden) nach Präparationsanweisung des Herstellers extrahiert. Die Qualität der präparierten DNA wurde elektrophoretisch (Auftrennung in einem 1,2%igen Ethidiumbromid haltigen Agarosegel, 0,5µg/ml Ethidiumbromid, UV-Anregung bei 254nm) und spektrometrisch (Absorptionsdetektion bei 260nm) geprüft. Eine Lagerung der DNA-Proben erfolgte bei –20°C.

Da für keinen der untersuchten SNPs ein geeignetes Restriktionsenzym für eine RFLP-Analyse gefunden werden konnte, wurde für ein Screening der SNPs der Zytokine TNF α und TNF β eine standardisierte SSCP-Analyse gewählt (Schagdarsurengin 2003) und die entstehenden spezifischen, durch Sequenzanalyse verifizierten Bandenmuster ausgewertet.

Zunächst wurden die entsprechenden DNA-Sequenzen mittels spezifischer Primer und unter jeweils optimierten Reaktionsbedingungen in einem Thermocycler „Eppendorf Gradient“ amplifiziert. Die gewonnenen PCR-Produkte wurden anschließend ausgefällt (Raumtemperatur, 2,5µl Natriumacetat +75µl Ethanol), gewaschen (70%iger Ethanol) und getrocknet und in SSCP-

Auftragspuffer (2µl aqua dest. + 6µl Stopper - 95% Formamid, 20mM EDTA, 0,05% Bromphenolblau, 0,05% Xylenzanol) aufgenommen. Die elektrophoretische Trennung der Einzelstränge erfolgte im nicht denaturierenden Polyacrylamidgel (26x12 cm, Trennlänge zirka 5-7cm, Laufpuffer: 5x TBE, 15°C). Mittels konventioneller Silberfärbung wurden die spezifischen Bandenmuster visualisiert (0,1% Silbernitratlösung, Entwickler: 0,15% Formaldehyd, 1,5% NaOH, 0,01% NaBH₄). Tab. 2 fasst die verwendeten Analysebedingungen zusammen.

Tab. 2: Genotypisierung der SNPs des TNF α und TNF β .
Elektrophorese: Multiphor II, Pharmacia; Laufparameter: 800V, 40mA, 30W;
PAA-Gel: T-Konzentration=10,4%, C-Vernetzungsgrad=3,7%

Gen/ Accession	Position/ Aus- tausch	Primer	Größe des PCR- Produktes	Annealing- temperatur/ Zyklenzahl	PCR- Zusätze	Laufzeit der Elektro- phorese
TNF α / Z15026	c.-308 upstream Exon1 G>A	5'- Primer 5'- TAT CTT TTT CCT GCA TCC TG -3' 3'- Primer 5'- CTG ATT TGT GTG TAG GAC CC - 3'	135 bp	48 °C / 24 Zyklen	3% Formamid	1 h
TNF β / Z15026	c.206 Exon 2 T>C (C13R)	5'- Primer 5'- TGC AGG TTC TCC CCA TGA CAC -3' 3'- Primer 5'- CTC CTG CTG CCT CAC CTG GG - 3'	128 bp	60 °C/ 24 Zyklen	3% Formamid	50 min
	c.348 Exon 3 C>A (T60N)	5'- Primer 5'- CAC CTT CAG CTG CCC AGA CT -3' 3'- Primer 5'- GAG AGC TGG TGG GGA CAT GT - 3'	128 bp	55 °C/ 22 Zyklen	4% Formamid	1,5 h

Die Genotypisierung der TNF-SNPs (Accession Z15026) wurde nach der Methode von Schagdarsurengin (2003) durchgeführt. Abb. 3 in Abs.1.8 gibt eine Übersicht über die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten drei SNPs, nämlich den (c.-308G>A)-TNF α -SNP, den C13R-TNF β - und den T60N-TNF β -cSNP.

Der TNF α -SNP befindet sich in der Promotorregion 308 Basen vor Exon 1 und ist durch einen Basenaustausch Guanin nach Arginin charakterisiert. Dieser Austausch führt zu einer spezifischen Veränderung des Bandenmusters in der SSCP-Analyse, die in Abb. 4 dargestellt ist.

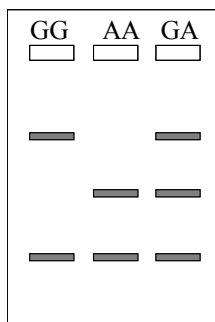


Abb. 4:
Schematische Darstellung der SSCP-Analyse des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit den Genotypen GG, GA und AA. Differenzierung der Bandenmuster des spezifischen, 135bp-großen PCR-Produkts im Polyacrylamidgel.

Beim C13R-TNF β -cSNP erfolgt ein Basenaustausch Thymin nach Cytosin im Exon 2 an cDNA-Position 206 (c.206T>C), der zu einem AS-Austausch Cystein (C) nach Arginin (R) an Position 13 führt. Die mittels SSCP-Analyse differenzierten Genotypen CC, CT und TT sind schematisch in Abb. 5 veranschaulicht.

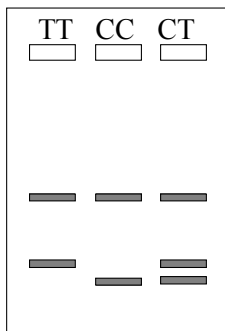


Abb. 5:
Bandenmuster der SSCP-Analyse des 128 bp-großen spezifischen PCR-Produktes zur Genotypisierung des C13R-TNF β -cSNP (c.206T>C).

Im Exon 3 befindet sich an Position 348 der cDNA der zweite untersuchte cSNP des TNF β -Gens (T60N-TNF β -cSNP), ein Basenaustausch Cytosin nach Adenin. Dies verursacht eine Veränderung in der AS-Sequenz, wobei Threonin (T) an AS-Position 60 durch Asparagin (N) ersetzt wird. In Abb. 6 sind die mittels SSCP-Analyse differenzierten Genotypen CC, CA und AA dargestellt.

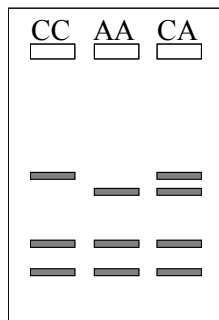


Abb. 6:
Differenzierung der Genotypen des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) mittels SSCP-Analyse des 128bp großen spezifischen PCR-Produktes.

3.5 Statistische Methoden

Die umfangreichen statistischen Untersuchungen erfolgten unter Konsultation des Instituts für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Informatik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS in Version 10.0 durchgeführt. Allen statistischen Auswertungen lag der Vergleich der Fallgruppe aus Patienten mit koronarer Makroangiopathie und Myokardinfarkt mit der Kontrollgruppe mit unauffälligem koronarangiographischem Befund zu Grunde. Durch die Bildung von Fall-Kontroll-Paaren wurde Strukturgleichheit in Bezug auf das Geschlecht und 5-Jahres-Altersklassen geschaffen (s. Abs. 3.1). Dem Auftreten von Datenlücken in einzelnen Auswertungen wurde

grundsätzlich mit dem Ausschluss des betroffenen Fall-Kontroll-Paares begegnet. Dadurch variierten die Probandenzahlen in den verschiedenen Berechnungen, die Strukturgleichheit für Alter und Geschlecht blieb aber durchweg erhalten. Eine Ausnahme stellte die ergänzende, stratifizierte Berechnung am Ende des Abschnitts 4.2 dar, wo durch die weitere Aufteilung der Probanden nach bestimmten Risikofaktoren eine einheitliche Geschlechts- und Altersstruktur nicht gewährleistet werden konnte.

Da Strukturgleichheit nur für Alter und Geschlecht, nicht aber für andere Faktoren bestand, wurden Testverfahren für unabhängige Stichproben verwendet. Demnach wurde für Mittelwertvergleiche intervallskalierter Variablen unter Annahme einer Normalverteilung der T-Test nach Student für unabhängige Stichproben angewandt. Auf eine Normalverteilung wurde im Einzelfall geprüft durch Betrachtung der Histogramme und Lageparameter, Berücksichtigung der Fallzahl und unter Zuhilfenahme des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests und des Levene-Tests für die Überprüfung auf Varianzhomogenität. Die Signifikanzprüfung erfolgte für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$ für einen Fehler erster Art. Lag keine Normalverteilung vor, wurde der Rangtest nach Mann-Whitney (U-Test, exakt) benutzt. Verteilungsunterschiede bei kategorialen Variablen wurden mit dem Exakten Test nach Fisher auf Signifikanz überprüft. Als Maß für den Einfluss einer Exposition auf den Koronarstatus wurde das OR (relative Risikoquote, Risikoquotient) bestimmt und mit einem 95%-Konfidenzintervall angegeben.

Auch die Überprüfung der Genotypverteilungen auf die theoretische Hardy-Weinberg-Verteilung erfolgte mittels Exaktem Test nach Fisher.

Die Bewertung der Abhängigkeit des Koronarstatus von Risikofaktoren und die Berechnung der Risikoquotienten bei mehrfaktoriellen Modellen erfolgten mittels binärer logistischer Regression. Auch der einfaktoriellen Analyse von Variablen mit mehr als zwei Kategorien diente die binäre logistische Regression. Für die Bewertung der Ergebnisse bei mehrfaktorieller Analyse war zum einen die Feststellung der Unabhängigkeit der einzelnen Faktoren eines Modells relevant, die durch Betrachtung der Effekte bei schrittweisem Hinzuziehen der anderen Faktoren bis hin zum gesamten Modell bzw. durch Vergleich der Effekte bei ein- und mehrfaktorieller Berechnung erfolgte. Zeigte sich dabei keine tendenzielle Änderung des Effektes des betrachteten Faktors, so wurde er als unabhängig von den anderen einbezogenen Faktoren bezeichnet. Ferner wurden die Faktoren eines Regressionsmodells untereinander paarweise auf Interaktion geprüft. So wurde untersucht, ob eine bestimmte Ausprägung eines Faktors im Gesamtkollektiv den Effekt eines zweiten Faktors wesentlich beeinflusste. Dabei wurde durch die Ermittlung eines signifikanten Interaktionsterms in einem Fall für das entsprechende Modell eine stratifizierte Betrachtung erforderlich (vgl. Abs. 4.2.).

4 Ergebnisse

4.1 Klinische und biochemische Charakterisierung der Patientenkollektive

4.1.1 Zusammensetzung

Als Ergebnis der paarweisen Zuordnung von Patienten mit koronarer Makroangiopathie und koronarsklerosefreien Kontrollen (*Case-control study with matched pairs*) nach 5-Jahres-Altersgruppen und Geschlecht konnten 198 Patienten in 99 Paaren in die Studie eingeschlossen werden. Etwa zwei Drittel (68,6%) der Probanden waren männlich, ein Drittel (31,3%) war weiblichen Geschlechts.

Tab. 3: Geschlechts- und Altersstruktur der Studienpopulation

	KHK	Kontrollen
Anzahl insgesamt (n)	99	99
Anzahl Frauen / Männer (n)	31 / 68	31 / 68
Durchschnittsalter insgesamt (\pm SD)	49,5 \pm 8,3	49,9 \pm 8,7
Durchschnittsalter der Frauen (\pm SD)	52,3 \pm 6,9	52,8 \pm 7,3
Durchschnittsalter der Männer (\pm SD)	48,3 \pm 8,5	48,6 \pm 9,1

Das durchschnittliche Alter bei Eingang in die Studie betrug etwa 50 Jahre (49,73 \pm 8,5 Jahre). Der jüngste Patient war 27 Jahre alt, der älteste 70 Jahre. Die paarweise Zuordnung der Patienten führte erwartungsgemäß zu einer vergleichbaren Altersstruktur zwischen Fällen und Kontrollen (s. Tab. 3). Aber auch die Altersstrukturen der Männer und Frauen ergaben sich ähnlich, wobei das Durchschnittsalter der Frauen vier Jahre über dem der Männer lag, und sich die Altersspannweite bei den Frauen mit 29 Jahren deutlich kleiner zeigte als bei den männlichen Patienten mit 43 Jahren (s. Abb. 7).

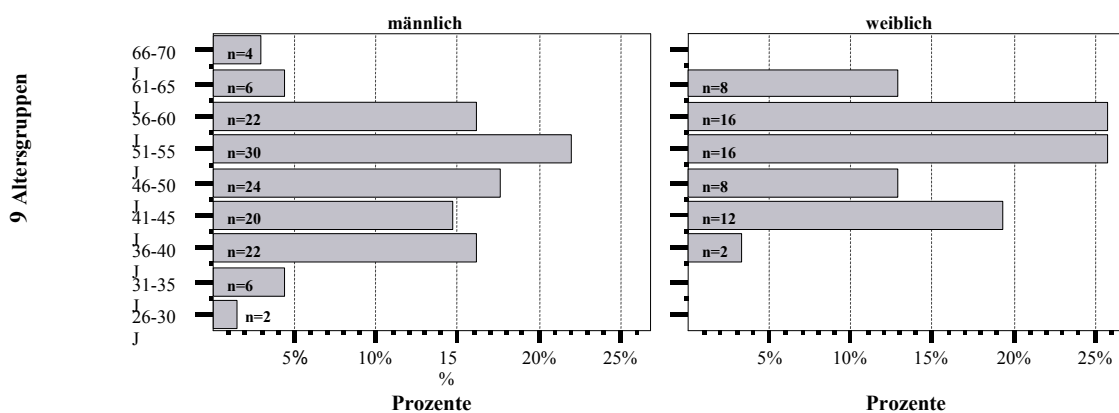


Abb. 7: Verteilung der weiblichen und männlichen Probanden über die 5-Jahres-Altersklassen

Die Kontrollgruppe, gekennzeichnet durch den angiographischen Ausschluss einer koronaren Makroangiopathie, setzte sich aus Patienten zusammen, die ganz überwiegend unter Herzrhythmusstörungen und/oder Erkrankungen der Herzklappen litten. Ferner befanden sich Patienten mit Kardiomyopathien unterschiedlicher Genese im Kontrollkollektiv, am häufigsten Probanden mit der dilatativen Form der Erkrankung. Eher selten ließen sich pektanginöse Beschwerden auf eine mögliche Mikroangiopathie, eine hypertensive Herzerkrankung, hämodynamisch relevante Septumdefekte, Refluxösophagitiden, vertebrogene Thoraxschmerzen oder andere Ursachen zurückführen.

Kennzeichnend für die Fallgruppe war eine angiographisch gesicherte koronare Makroangiopathie. Dabei wurde in Bezug auf die großen epikardialen Gefäße bei 20,2% der koronar Kranken eine Ein-, bei 23,2% eine Zwei- und bei 56,6% eine Dreifäßerkrankung beschrieben.

Alle Patienten der Fallgruppe hatten mindestens einen Myokardinfarkt überlebt. Bei 59,6% lag das Infarktgeschehen weniger als ein Jahr zurück. 39,4% der Gefäßkranken hatten zum Zeitpunkt der Befragung den ersten Myokardinfarkt um mindestens ein Jahr überlebt. In einem Fall konnte der Zeitpunkt des Infarktgeschehens nicht sicher bestimmt werden. Durchschnittlich traf der erste Myokardinfarkt die Patienten im Alter von 46,7 Jahren. 44,4% erlitten vor dem 45. Lebensjahr einen Infarkt, 55,6% erst im späteren Leben. Der Anteil der Patienten mit Reinfarkten betrug 29,3%.

Von den KHK-Patienten erhielten 31,3% eine Intervention durch Bypass-Operation (eventuell außerdem Herzkatheterinterventionen) und 52,5% eine reine Herzkatheterinterventionstherapie durch perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA) mit oder ohne Stent-Implantation.

4.1.2 Medikamentöse Therapie

Aufgrund der Anamnesen und der aus den Krankenakten gewonnen Informationen ließen sich die medikamentösen Therapien der Koronarkranken und der Kontrollen vergleichend gegenüberstellen. Für die Koronarpatienten wurden Thrombozytenaggregationshemmer, Nitrate, β -Blocker und Lipidsenker signifikant häufiger eingesetzt (s. Tab. 4).

ACE-Hemmer und AT-II-Rezeptorantagonisten wurden geringfügig häufiger bei Koronarpatienten, Diuretika, Calciumantagonisten und Antikoagulantien eher bei den Kontrollpatienten verordnet. Während in der medikamentösen Therapie des Diabetes mellitus orale Antidiabetika in der Kontrollgruppe nur unwesentlich häufiger Anwendung fanden, wurde Insulin in der Gruppe der Koronarkranken deutlich öfter verordnet.

Tab. 4: Der Untersuchung vorausgegangene Medikation und aktuelle Medikation der Patienten.

Therapie unter n= 198 Patienten	KHK (%)	Kontrollen (%)	Exakter Test nach Fisher
Lipidsenker	51,5	25,3	p< 0,001
Antikoagulantien (Heparin, Cumarine)	39,4	46,5	p= 0,389
Thrombozytenaggregationshemmer	89,9	45,5	p< 0,001
Nitrate (incl. Molsidomin)	76,8	34,3	p< 0,001
β-Blocker	78,8	51,5	p< 0,001
ACE-Hemmer und AT-II-Antagonisten	59,6	55,9	p= 0,666
Diuretika	23,2	30,3	p= 0,264
Calciumantagonisten	20,4	21,2	p= 0,515
Orale Antidiabetika	8,1	11,1	p= 0,630
Insulin	14,1	6,1	p= 0,056

4.1.3 Risikofaktoren der KHK

Sowohl die Fallgruppe als auch die Vergleichspersonen wurden bezüglich klassischer Risikofaktoren für koronare Atherosklerose analysiert.

(a) **Zigarettenkonsum:** Die herausragende Bedeutung des Zigarettenrauchens als Risikofaktor war schon bei einfaktorieller Betrachtung evident. Unter den Koronarpatienten (n =99) ließen sich 82,8% den ehemaligen oder aktiven Rauchern und den starkem Passivrauchen ausgesetzten Personen zuordnen. Dagegen fanden sich unter dieser Definition 55,6% Raucher in der Kontrollgruppe; ein signifikanter Unterschied (p< 0,001). Aus der Gegenüberstellung mit den Nicht- und Gelegenheitsrauchern, die weniger als fünf Zigaretten am Tag rauchten, ergab sich folgerichtig ein OR von 3,9 : 1 (s. Tab. 5).

Tab. 5: Analyse des Risikofaktors „Rauchen“ in den Untersuchungsgruppen. Signifikante Risikoquotientensteigerung durch Zigarettenkonsum bei männlichen (OR= 3,8; p< 0,01) und weiblichen Patienten (OR= 5,1; p< 0,01).

Exposition mit Risikofaktor:		KHK		Kontrollen		OR	Konfidenzintervall 95%	Exakter Test nach Fisher (einfaktoriell)
		JA % d.F. (n)	NEIN % d.F. (n)	JA % d.K. (n)	NEIN % d.K. (n)			
Rauchen	Gesamt	82,8 (82)	17,2 (17)	55,6 (55)	44,4 (44)	3,9	2,0 – 7,4	p< 0,001
	Männlich	88,2 (60)	11,8 (8)	66,2 (45)	33,8 (23)	3,8	1,6 – 9,4	p= 0,004
	Weiblich	71,0 (22)	29,0 (9)	32,3 (10)	67,7 (21)	5,1	1,7 – 15,1	p= 0,005

Die signifikante Risikoquotientensteigerung im Zusammenhang mit Zigarettenrauchen, bestätigte sich auch bei getrennter Betrachtung der Geschlechtsgruppen. Es rauchten 77,2% der Männer und 51,6% der Frauen. Da Kontrollpatientinnen überwiegend (67,7%) nicht rauchten, hingegen der Anteil an Rauchern auch bei den männlichen Kontrollen überwog (66,2%), konnte für das

weibliche Geschlecht insgesamt ein nochmals höheres OR von 5,1 gegenüber den Männern mit 3,8 errechnet werden.

Eine genauere Differenzierung des Rauchverhaltens erlaubte es, einen Zusammenhang zwischen der Stärke des Zigarettenkonsums und der Erkrankung an KHK darzustellen. Dazu wurden die Angaben zu dem vorherrschenden Rauchverhalten in den letzten zehn Jahren jener 77 Koronarpatienten herangezogen, die im Zeitraum von maximal fünf Jahren vor der Befragung ihren ersten Myokardinfarkt erlitten hatten. Dem Vergleich dienten die entsprechenden Informationen über die ihnen zugeordneten 77 Kontrollpatienten. Die Informationen waren dadurch vor dem Hintergrund wechselnder Rauchgewohnheiten genauer und leichter zu bewerten, und es ergab sich die Möglichkeit, Vergleiche mit ehemaligen Rauchern vorzunehmen (s. Tab. 6).

In Bezug auf eine Referenzgruppe, die niemals geraucht hatte, ließ sich somit eine gestaffelte Erhöhung des ORs mit zunehmender Zahl konsumierter Zigaretten belegen: Eine Risikoquotientensteigerung durch gelegentliches oder leichtes Rauchen konnte respektive kleiner Fallzahlen statistisch nicht bewiesen werden. Mittelstarker Konsum erhöhte den Risikoquotienten hochsignifikant auf 10,3, sehr starkes Rauchen sogar auf 13,3. Auch Nichtraucher, die einem starken Passivkonsum unterlagen, hatten einen signifikant erhöhten Risikoquotienten (OR= 7,7) bei einer allerdings kleinen Probandenzahl. Das OR der ehemaligen Raucher war mit 5,2 deutlich und signifikant erhöht, dabei aber nur halb so groß wie das der mittelstark rauchenden Patienten.

Tab. 6: Risikoquotientenbestimmung für das Rauchverhalten mittels einfaktorierter binärer logistischer Regression aus dem Vergleich der Anamnesen von Koronarpatienten mit Infarkt ereignis im Zeitraum von fünf Jahren vor der Befragung und zugehörigen Kontrollpatienten ohne KHK; Abhängigkeit der Assoziation zwischen Rauchen und KHK vom Ausmaß des Konsums

Rauchverhalten in den letzten zehn Jahren	KHK [n= 77] % d.F. (n)	Kontrollen [n= 77] % d.K. (n)	OR	95%- Konfidenzintervall	Signifikanz (einfaktoriell)
nie (Referenzkategorie)	7,8 (6)	40,3 (31)	1		
passiv (stark)	3,9 (3)	2,6 (2)	7,7	1,1 – 56,8	p= 0,044
gelegentlich (bis 5 Zig./d)	3,9 (3)	7,8 (6)	2,6	0,5 – 13,3	p= 0,256
leicht (bis 10 Zig./d)	2,6 (2)	7,8 (6)	1,7	0,3 – 10,7	p= 0,559
mittelstark (bis 20 Zig./d)	31,2 (24)	15,6 (12)	10,3	3,4 – 31,5	p< 0,001
sehr stark (>20 Zig./d)	40,3 (31)	15,6 (12)	13,3	4,4 – 40,1	p< 0,001
vor mehr als 10 J. Raucher	10,4 (8)	10,4 (8)	5,2	1,4 – 19,2	p= 0,014

(b) **Dyslipidämie:** Fettstoffwechselstörungen stehen häufig im Mittelpunkt ätiopathogenetischer Betrachtungen der Makroangiopathie. In der vorliegenden Arbeit wurden

Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie, ein niedriger Serumspiegel an HDL und ein erhöhter Serumspiegel an Lipoprotein(a) betrachtet (s. Tab. 7).

Bei der Einteilung der Patienten in Hypercholesterinämiker und Nicht-Hypercholesterinämiker lag der Schwerpunkt auf der Betrachtung anamnestischer Angaben, zuvor erhobener Befunde und eingeleiteter therapeutischer Maßnahmen, wie der vorbestehenden Verordnung von Lipidsenkern. Daneben wurden als Grenzwerte für die aktuell erhobenen Blutwerte ein Gesamtcholesterin von 5,2 mmol/l bzw. ein LDL-Cholesterin von 3,9 mmol/l berücksichtigt. Eine derartige Zuordnung ließ sich danach für 87 Fall-Kontroll-Paare treffen; nur diese wurden in der Auswertung berücksichtigt.

Der Anteil der Patienten mit Hypercholesterinämie betrug demnach insgesamt 77,0%, 84,5% unter den weiblichen und 73,3% unter den männlichen Patienten. Von den insgesamt 134 Hypercholesterinämikern gehörten 54,5% den Koronar- und 45,5% den Kontrollpatienten an. Anders betrachtet hatten nur 16,1% der Fälle und 29,9% der Kontrollen keine Hypercholesterinämie. Das OR für Patienten mit Hypercholesterinämie betrug 2,2, der Verteilungsunterschied war signifikant ($p=0,047$). Als wesentlich aber erwies sich in diesem Fall die geschlechtsspezifische Betrachtung der Verteilungen: Dabei zeigte sich, dass die Verteilungsunterschiede allein durch die männlichen Probanden verursacht wurden ($OR=2,7$; $p=0,035$), während bei den Frauen die Hypercholesterinämie nahezu gleich verteilt auf Koronarkranke und -gesunde war ($OR=1,3$; $p=1,000$).

Auch bei der Erfassung einer Hypertriglyzeridämie wurden neben dem Grenzwert von 2,3 mmol/l Triglyzeride im Serum vorrangig vorbestehende Diagnosen als Entscheidungsgrundlage hinzugezogen. So konnten 91 Paare in die Auswertung einbezogen werden. Insgesamt hatten demnach 34,6% der Probanden eine Hypertriglyzeridämie, wobei der Anteil bei den Männern mit 41,3% rund doppelt so hoch war wie bei den Frauen mit 19,6%. Dabei war das Verhältnis der Häufigkeiten von Hypertriglyzeridämie zwischen Fällen und Kontrollen in beiden Geschlechtsgruppen und also auch in der Gesamtheit nahezu gleich und betrug ungefähr 1,5 : 1. Für die Gesamtheit der Patienten lag der Risikoquotient bei 1,9. Bei Testung auf Unabhängigkeit der Verteilungen wurde die Signifikanz knapp verfehlt ($p=0,061$). Das OR der Männer allein fand sich ebenfalls bei 1,9 ($p=0,103$), das der Frauen betrug 2,0, wobei sich kein signifikanter Unterschied zeigte ($p=0,503$).

Die Wertigkeit eines sehr niedrigen HDL-Cholesterinspiegels ($HDL < 0,9$ mmol/l) als koronarer Risikofaktor konnte an insgesamt 96 Paaren untersucht werden. Es ergab sich kein Hinweis auf eine Risikosteigerung durch ein niedriges HDL-Cholesterin: Insgesamt hatten 11,5% der Probanden ein zu niedriges HDL-Cholesterin, 13,8% der Männer und 6,5% der Frauen. Probandinnen mit erniedrigtem Wert waren genau zur einen Hälfte koronarkrank, zur anderen Hälfte koronargesund ($OR=1,0$; $p=1,000$). Dieses Verhältnis unterschied sich nur unwesentlich bei den männlichen Patienten, wo 55,6% der Fall- und 44,4% der Kontrollgruppe angehörten ($OR=$

1,3; $p=0,800$). Entsprechend ergab der Exakte Test nach Fisher für die Gesamtzahl der Probanden mit einem p -Wert von 0,821 kein signifikantes Ergebnis, der Risikoquotient betrug lediglich 1,2.

Tab. 7: Differenzierte Betrachtung der koronaren Risikofaktoren erniedrigtes HDL-Cholesterin, erhöhtes Lipoprotein(a), Hypercholesterinämie und Hypertriglyzeridämie

Exposition mit Risikofaktor:		KHK		Kontrollen		OR	Konfidenzintervall 95%	Exakter Test nach Fisher (einfaktoriell)
		JA % d.F. (n)	NEIN % d.F. (n)	JA % d.K. (n)	NEIN % d.K. (n)			
HDL < 0,9mmol/l	Gesamt	12,5 (12)	87,5 (84)	10,4 (10)	89,6 (86)	1,2	0,5 – 3,0	$p=0,821$
	Männlich	15,4 (10)	84,6 (55)	12,3 (8)	87,7 (57)	1,3	0,5 – 3,5	$p=0,800$
	Weiblich	6,5 (2)	93,5 (29)	6,5 (2)	32,5 (29)	1,0	0,1 – 7,6	$p=1,000$
Lp(a) > 0,30 g/l	Gesamt	43,2 (41)	56,8 (54)	27,4 (26)	72,6 (69)	2,0	1,1 – 3,7	$p=0,033$
	Männlich	48,4 (31)	51,6 (33)	25,0 (16)	75,0 (48)	2,8	1,3 – 6,0	$p=0,010$
	Weiblich	32,3 (10)	67,7 (21)	32,3 (10)	67,7 (21)	1,0	0,3 – 2,9	$p=1,000$
Hypercholesterinämie	Gesamt	83,9 (73)	16,1 (14)	70,1 (61)	29,9 (26)	2,2	1,1 – 4,6	$p=0,047$
	Männlich	82,8 (48)	17,2 (10)	63,8 (37)	36,2 (21)	2,7	1,1 – 6,5	$p=0,035$
	Weiblich	86,2 (25)	13,8 (4)	82,8 (24)	17,2 (5)	1,3	0,3 – 5,4	$p=1,000$
Hypertriglyzeridämie	Gesamt	41,8 (38)	58,2 (53)	27,5 (25)	72,5 (66)	1,9	1,0 – 3,5	$p=0,061$
	Männlich	49,2 (31)	50,8 (32)	33,3 (21)	66,6 (42)	1,9	0,9 – 4,0	$p=0,103$
	Weiblich	25,0 (7)	75,0 (21)	14,3 (4)	85,7 (24)	2,0	0,5 – 7,8	$p=0,503$

Als vierter Faktor aus dem Gebiet des Fettstoffwechsels wurde das Lipoprotein(a) untersucht. Eine Serumkonzentration größer 0,30 g/l wurde als erhöht gewertet. Noch ausgeprägter als bei der Hypercholesterinämie zwang dieser Faktor zu einer geschlechtsabhängigen Betrachtung: Zwar war der Anteil an Patienten mit erhöhtem Lipoprotein(a) in beiden Geschlechtern ungefähr gleich (32,3% der Frauen und 36,7% der Männer), jedoch verteilte sich dieser Anteil auf Koronarpatienten und Kontrollen bei den Frauen im Verhältnis von exakt 1 : 1 (OR= 1,0 ; $p=1,000$) und bei den männlichen Probanden im Verhältnis von nahezu 2 : 1 (OR=2,8). 48,4% der männlichen Patienten mit koronarer Makroangiopathie, aber nur 25,0% der zugehörigen Koronargesunden wiesen erhöhte Serumwerte auf. Der Verteilungsunterschied unter den männlichen Probanden war statistisch signifikant ($p=0,010$). Dieser starke Einfluss erbrachte auch für die Gesamtpopulation ein signifikantes Ergebnis (OR=2,0; $p=0,033$).

(c) **Hypertonie:** Hypertonie ist als wichtiger Risikofaktor für kardiale und extrakardiale Atherosklerose etabliert. Die Zuteilung der Studienteilnehmer in die Gruppe der Hypertoniker erfolgte primär anhand der Angaben oder Dokumente über vorherbestehende Befunde, Diagnosen oder therapeutische Maßnahmen. Darüber hinaus wurden aktuelle Blutdruckwerte hinzugezogen. Ein Blutdruck höher als 140/90 mmHg galt als pathologisch. Auf diese Weise wurden 116 von 198 Probanden (58,6%) als Hypertoniker eingestuft.

Die Rolle der Hypertonie als Risikofaktor der KHK konnte in dieser Studie bei einfaktorieller Betrachtung nicht belegt werden. Bei den weiblichen Probanden lag der Anteil der Hypertoniker

mit 69,4% höher als bei den männlichen Patienten mit 53,7%. Es gab keine signifikanten Verteilungsunterschiede zwischen Fällen und Kontrollen ($p=0,885$), auch nicht bei geschlechtsabhängiger Betrachtung ($p= 0,731$ für Männer bzw. $p= 1,000$ für Frauen). Die relative Risikoquote lag insgesamt um 1,1 : 1 und betrug 1,2 : 1 für die Männer bzw. 0,8 : 1 für die Frauen (s. Tab. 8).

Tab. 8: Bedeutung der Hypertonie als koronarer Risikofaktor. Keine signifikante Risikoquotientensteigerung für die koronare Makroangiopathie bei einfaktorierter Betrachtung.

Exposition mit Risikofaktor:		KHK		Kontrollen		OR	Konfidenzintervall 95%	Exakter Test nach Fisher (einfaktoriell)
		JA % d.F. (n)	NEIN % d.F. (n)	JA % d.K. (n)	NEIN % d.K. (n)			
Hypertonie	Gesamt	59,6 (59)	40,4 (40)	57,6 (57)	42,4 (42)	1,1	0,6 – 1,9	$p= 0,885$
	Männlich	55,9 (38)	44,1 (30)	51,5 (35)	48,5 (33)	1,2	0,6 – 2,3	$p= 0,731$
	Weiblich	67,7 (21)	32,3 (10)	71,0 (22)	29,0 (9)	0,9	0,3 – 2,5	$p= 1,000$

(d) **Diabetes mellitus:** Diabetes mellitus gilt als Risikofaktor für koronare Mikro- und Makroangiopathie. In der vorliegenden Studie litt rund ein Fünftel (19,1%) der 194 in die Berechnung eingeschlossenen Patienten an dieser Erkrankung; 17,4% aller männlichen und 22,6% aller weiblichen Probanden (s. Tab. 9).

Tab. 9: Diabetes mellitus in Fall- und Kontrollgruppe. Erhöhtes OR für Diabetikerinnen, nicht signifikant (OR= 2,1; nicht signifikant).

Exposition mit Risikofaktor:		KHK		Kontrollen		OR	Konfidenzintervall 95%	Exakter Test nach Fisher (einfaktoriell)
		JA % d.F. (n)	NEIN % d.F. (n)	JA % d.K. (n)	NEIN % d.K. (n)			
Diabetes mellitus	Gesamt	21,6 (21)	78,4 (76)	16,5 (16)	83,5 (81)	1,4	0,7 – 2,9	$p= 0,465$
	Männlich	18,2 (12)	81,8 (54)	16,7 (11)	83,3 (55)	1,1	0,5 – 2,7	$p= 1,000$
	Weiblich	29,0 (9)	71,0 (22)	16,1 (5)	83,9 (26)	2,1	0,6 – 7,3	$p= 0,363$

Der Risikoquotient für koronare Makroangiopathie war durch Diabetes insgesamt leicht erhöht (OR=1,4), beruhte aber auf keinem signifikanten Verteilungsunterschied ($p= 0,465$). Bei geschlechtsabhängiger Betrachtung zeigte sich, dass der beschriebene Zusammenhang nur auf Verteilungsunterschieden in der Gruppe der Frauen zurückzuführen war: Während der Anteil männlicher Diabetiker unter den Fällen im Vergleich zu den Kontrollen nur geringfügig erhöht war (18,2% vs. 16,7%), lag der Anteil der Diabetikerinnen bei den weiblichen Koronarpatientinnen etwa zweifach höher gegenüber den koronargesunden Frauen (29,0% vs. 16,1%) und auch deutlich über dem Anteil der Diabetiker im gesamten Kollektiv. Damit berechnete sich ein OR von 1,1 ($p= 1,000$) für die Männer und von 2,1 für die Gruppe der Frauen. Doch auch für die Patientinnen ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p= 0,363$).

(e) Weitere Risikofaktoren der KHK wurden geprüft und sollen im Folgenden zusammengefasst werden (s. Tab. 10 und 11):

Übergewicht allein konnte anhand der durchgeführten Analyse nicht als Risikofaktor bestätigt werden. Der als Maßstab hinzugezogene Körpermassenindex (BMI) lag im Gesamtdurchschnitt bei 27,6 kg/m², er betrug 27,1 kg/m² in der Fallgruppe und 28,0 kg/m² in der Kontrollgruppe (p= 0,143). Bei geschlechtsabhängiger Betrachtung zeigten sich keine nennenswerten Abweichungen. Damit lagen die Durchschnittswerte per definitionem (Gewichtsklassifikation der WHO) im Bereich der Präadipositas (BMI 25,0-29,9 kg/m²). Die Mittelwerte des BMI in den Vergleichsgruppen zeigten auch bei geschlechtsabhängiger Betrachtung keinen signifikanten Unterschied (männlich: p= 0,356; weiblich: p= 0,242).

Tab. 10: Zusammenfassung der Verteilung weiterer Risikofaktoren/ Risikoindikatoren der KHK auf Fall- und Kontrollkollektiv.

Exposition mit Risikofaktor:		KHK		Kontrollen		OR	Konfidenzintervall 95%	Exakter Test nach Fisher (einfaktoriell)
		JA % d.F. (n)	NEIN % d.F. (n)	JA % d.K. (n)	NEIN % d.K. (n)			
Übergewicht	Gesamt	68,7 (68)	31,3 (31)	74,7 (74)	25,3 (25)	0,7	0,4 – 1,4	p= 0,430
	Männlich	69,1 (47)	30,9 (21)	75,0 (51)	25,0 (17)	0,7	0,4 – 1,6	p= 0,567
	Weiblich	67,7 (21)	32,3 (10)	74,2 (23)	25,8 (8)	0,7	0,2 – 2,2	p= 0,780
Hyperurikämie	Gesamt	47,3 (44)	52,7 (49)	47,3 (44)	52,7 (49)	1,0	0,6 – 1,8	p= 1,000
	Männlich	54,0 (34)	46,0 (29)	55,6 (35)	44,4 (28)	0,9	0,5 – 1,9	p= 1,000
	Weiblich	33,3 (10)	66,7 (20)	30,0 (9)	70,0 (21)	1,2	0,4 – 3,5	p= 1,000
Fibrinogen > 3,5 g/l	Gesamt	44,1 (41)	55,9 (52)	37,6 (35)	62,4 (58)	1,3	0,7 – 2,3	p= 0,456
	Männlich	43,8 (28)	56,3 (36)	34,4 (22)	65,6 (42)	1,5	0,7 – 3,0	p= 0,365
	Weiblich	44,8 (13)	55,2 (16)	44,8 (13)	55,2 (16)	1,0	0,4 – 2,8	p= 1,000
körperliche Inaktivität i.d.Freizeit	Gesamt	73,5 (72)	26,5 (26)	52,0 (51)	48,0 (47)	2,6	1,4 – 4,6	p= 0,003
	Männlich	74,6 (50)	25,4 (17)	53,7 (36)	46,3 (31)	2,5	1,2 – 5,3	p= 0,019
	Weiblich	71,0 (22)	29,0 (9)	48,4 (15)	51,6 (16)	2,6	0,9 – 7,4	p= 0,120
psycho- sozialer Stress	Gesamt	73,7 (73)	26,3 (26)	82,8 (82)	17,2 (17)	0,6	0,3 – 1,2	p= 0,167
	Männlich	76,5 (52)	23,5 (16)	80,9 (55)	19,1 (13)	0,8	0,3 – 1,8	p= 0,676
	Weiblich	67,7 (21)	32,3 (10)	87,1 (27)	12,9 (4)	0,3	0,1 – 1,1	p= 0,127
Myokardinfarkt in der Familie	Gesamt	45,5 (45)	54,5 (54)	16,2 (16)	83,8 (83)	4,3	2,2 – 8,4	p< 0,001
	Männlich	47,1 (32)	52,9 (36)	13,2 (9)	86,8 (59)	5,8	2,5 – 13,6	p< 0,001
	Weiblich	41,9 (13)	58,1 (18)	22,6 (7)	77,4 (24)	2,5	0,8 – 7,5	p= 0,174

Definierte man Übergewicht mit einem BMI >25,0 kg/m² (was einer Zusammenfassung von Präadipositas und Adipositas Grad 1-3 entspricht) und stellte betroffene Personen den Normal- bis Untergewichtigen gegenüber, so bestätigte sich im Untersuchungskollektiv: 71,7% der Probanden waren übergewichtig. Der Anteil der Übergewichtigen lag bei männlichen Koronarpatienten mit 69,1% leicht unter dem der zugehörigen Kontrollpatienten mit 75% (OR= 0,7; p= 0,567). Bei den Frauen mit Makroangiopathie wurden 67,7% den Übergewichtigen zugeordnet, während in der zugehörigen Kontrollgruppe der Anteil bei 74,2% geringfügig höher lag (OR= 0,7; p= 0,780).

Wegen ihrer häufigen Assoziation mit Erkrankungen des metabolischen Syndroms wird die Hyperurikämie -ähnlich wie die Adipositas- zumindest als Risikoindikator mit der KHK in Zusammenhang gebracht. Eine Zuordnung in die Gruppe der Hyperurikämiker erfolgte bei vorbestehender Diagnose, medikamentöser Therapie oder bei einem aktuellen Harnsäurespiegel von mehr als 357 $\mu\text{mol/l}$ bei den weiblichen und 381 $\mu\text{mol/l}$ bei den männlichen Probanden (Herold 2003). Der Anteil der Hyperurikämiker betrug bei 99 Fällen und 99 Kontrollen 47,3% ($p=1,000$), wobei er bei Männern mit 54,8% insgesamt höher lag als in der weiblichen Population mit (31,7%). Das OR war 1,0 und zeigte keine Geschlechtsabhängigkeit.

Von einer oft als unabhängiger Risikofaktor bezeichneten Hyperfibrinogenämie wurde in vorliegender Studie bei einem Serumspiegel von mehr als 3,5 g/l ausgegangen. Unter 128 männlichen Personen lag der Anteil mit erhöhtem Fibrinogen insgesamt bei 39,1%, unter 58 weiblichen Personen bei 44,8%. Bei der Unterscheidung zwischen Koronarpatienten und -kontrollen zeigte sich in der Tendenz eine Geschlechtsabhängigkeit: Der Risikoquotient für Hyperfibrinogenämie betrug 1,5 unter den Männern ($p=0,365$), und -bei Gleichverteilung auf die Studienpopulationen- 1,0 unter den Frauen ($p=1,000$).

Zur Bewertung des Risikofaktors „Körperliche Inaktivität in der Freizeit“ wurden Patienten, die nach eigenen Angaben rückblickend überwiegend nicht oder nur wenig körperlich aktiv lebten (z.B. in Form nur kurzer Spaziergänge oder langsamen Radfahrens) jenen gegenübergestellt, die sich überwiegend mittelstark (Dauerläufe, Arbeit im Garten, Schwimmen, etc.) oder stark (regelmäßiges Sporttraining) trainierten. So betrug der Anteil der sich körperlich mittelstark bis stark beanspruchenden Patienten insgesamt 37,2%. Die Gruppe der aktiven Frauen machte 40,3% aus, und verteilte sich im Verhältnis von 1 : 1,8 auf Fälle und Kontrollen ($\text{OR}=2,6$; $p=0,120$). Dem vergleichbar betrug der Anteil körperlich aktiver Männer 35,8% und verteilte sich im gleichen Verhältnis ($\text{OR}=2,5$; $p=0,019$). Aus der deutlichen Tendenz bei den Frauen und dem signifikanten Ergebnis bei den Männern errechnete sich auch für die betrachtete Gesamtgruppe ein statistisch signifikanter Verteilungsunterschied ($\text{OR}=2,6$; $p=0,003$), also ein Ergebnis, das dem Status der „körperlichen Inaktivität in der Freizeit“ als Risikofaktor der KHK entsprach.

Im Rahmen des halboffenen Interviews gaben 78,3% der Patienten an, unter psychosozialen Stress (privater und/oder beruflicher Stress) zu leiden. Das subjektive Empfinden des Patienten war hier ausschlaggebend für die Zuordnung des Merkmals „psychosozialer Stress“. Die Bedeutung des psychosozialen Stresses als Risikofaktor der KHK war auf diese vereinfachte Weise nicht nachvollziehbar: Mit einem Anteil von 67,7% unter den Koronarpatientinnen und 87,1% unter den weiblichen Kontrollpatienten betrug das OR 0,3 ($p=0,127$). Bei den männlichen Probanden ergab sich aus den Anteilen von 76,5% bei den Koronar- und 80,9% bei den Kontrollpatienten für den Risikoquotienten lediglich 0,8 ; es lag kein signifikanter Unterschied vor ($p=0,676$).

Ein Myokardinfarkt in der Familienanamnese erwies sich mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie deutlich assoziiert. Unter der Annahme, dass ein Myokardinfarkt meist gut

erinnert wird, wurden die Patienten mit positiver Familienanamnese jenen mit negativer oder aus unterschiedlichen Gründen unklarer oder lückenhafter Anamnese gegenübergestellt. Trotzdem ergab die Auswertung eine relative Risikoquote von 4,3 : 1 für die Gesamtheit der Patienten mit positiver Familienanamnese (30,8%), denn 45,5% der Koronarpatienten – sie selbst hatten alle mindestens einen Infarkt überlebt - , aber nur 16,2% der koronargesunden Kontrollen berichteten über Infarktgeschehen bei Verwandten ersten und zweiten Grades ($p < 0,001$). Dieser Zusammenhang war bei den Männern mit insgesamt 30,1% positiver Infarktanamnese stark und signifikant ($OR=5,8$; $p < 0,001$), bei den Frauen mit insgesamt 33,3% positiver Familienanamnese schwächer und nicht signifikant ausgeprägt ($OR=2,5$; $p= 0,174$).

Bei der Betrachtung des vor Krankheitsbeginn vorherrschenden Ernährungsverhaltens diente eine bewusst gesundheitsorientierte Ernährung (reichlich Obst, Gemüse, Vollkornprodukte; weitgehende Vermeidung tierischer Fette) als Referenzkategorie. Weitere Kategorien waren zum einen eine vorherrschende Mischkost, zum anderen eine Ernährungsweise, die durch den ausgeprägten oder überwiegenden Verzehr tierischer Fette, reichlicher Süßspeisen oder durch einen hohen Speisesalzkonsum gekennzeichnet war (s. Tab. 11).

Tab. 11: Risikoquotientenbestimmung mittels einfaktorieller binärer logistischer Regression aus dem Vergleich der Anamnesen von Koronarpatienten mit Infarkt ereignis mit Kontrollen ohne koronare Makroangiopathie. Signifikante Risikoquotienten-Steigerung durch einseitige, fettreiche Ernährung in Bezug auf gesundheitsorientierte Kost ($OR= 4,1$; $p= 0,001$).

Bestimmendes Ernährungsverhalten	KHK [n= 99] % d.F. (n)	Kontrollen [n= 99] % d.K. (n)	OR	95%- Konfidenzintervall	Signifikanz (einfaktoriell)
gesundheitsorientiert (<u>Referenz</u>)	14,1 (14)	25,3 (25)	1		
Mischkost	39,4 (39)	54,5 (54)	1,3	0,6 – 2,8	$p= 0,519$
einseitig/fettreich	46,5 (46)	20,2 (20)	4,1	1,8 – 9,5	$p= 0,001$

Der Anteil von Personen mit einer demnach eher einseitigen, unausgewogenen Ernährungsgewohnheit betrug 46,5% unter den Fällen, und nur 20,2% bei den koronargesunden Kontrollen. 39,4% der Koronarpatienten und 54,5% der Kontrollgruppe aßen eine „durchschnittliche Mischkost“, während sich 14,1% der Personen mit Makroangiopathie gegenüber 25,3% aus der Vergleichsgruppe gesundheitsorientiert ernährten. Dies ergab in Bezug auf die letztgenannte Gruppe ein OR von 1,3 ($p= 0,519$) für „Gemischtkostler“ und von 4,1 für die Gruppe mit einseitiger Ernährung (signifikant bei $p= 0,001$). Mischkost stellte somit in Bezug auf eine gesundheitsorientierte Ernährung keinen Risikofaktor hinsichtlich des koronaren Risikos dar. Dagegen konnte eine ungesunde Ernährungsgewohnheit im Vergleich mit gesundheitsorientierter Ernährungsweise als Risikofaktor identifiziert werden.

Im Geschlechtsvergleich fiel auf, dass der Anteil der sich einseitig und fettreich ernährenden männlichen Patienten ca. 1,5-fach größer war als der der weiblichen Teilnehmer (37,5% vs. 24,2%). Der Anteil weiblicher Probanden mit bewusst gesundheitsorientierter Ernährung stellte sich gut dreimal so groß dar wie der der befragten Männer (37,2% vs. 11,8%). Einseitige Ernährung war auch bei geschlechtsspezifischer Betrachtung ein risikosteigernder Faktor. Der Risikoquotient in Bezug auf sich gesund ernährende Probanden betrug 4,8 bei den Männern (95%-CI: 1,4-16,2; $p=0,011$) und 4,3 bei den Frauen (95%-CI: 1,0-17,7; $p=0,045$).

4.1.4 Laborbiochemische Charakterisierung

Detaillierte Angaben zur laborbiochemischen Charakterisierung sind den Tab. 12 und 13 zu entnehmen (Referenzwerte in Tab. 1, Abs. 3.3).

(a) **Fettstoffwechsel:** Ein Vergleich der Fall- und Kontrollgruppe durch kategoriale Zuordnung der Probanden in fettstoffwechselbezogene Risikogruppen erfolgte bereits im vorangegangenen Kapitel. Im Folgenden sind die Ergebnisse der im Rahmen der Erhebung bestimmten Fettstoffwechselformparameter aufgeführt (s. Tab. 12). Dabei ist zu berücksichtigen, dass 51,5% der Koronarpatienten und 25,3% der Kontrollen einer aktuellen oder auch zurückliegenden lipidsenkenden medikamentösen Therapie unterlagen.

Das HDL-Cholesterin lag in allen Vergleichsgruppen im Durchschnitt leicht unter dem Referenzbereich $> 1,5$ mmol/l. Bei den Frauen war ein leichter Trend zu geringerem HDL-Cholesterin in der Fallgruppe feststellbar ($p=0,090$).

Das Gesamtcholesterin dagegen erreichte durchschnittlich Werte leicht über der Referenz von 5,2 mmol/l. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Koronarpatienten und Kontrollen.

Die Messwerte des LDL-Cholesterins lagen für alle Probandengruppen klar im Referenzbereich von kleiner 3,9 mmol/l. Die Mittelwertdifferenz zwischen männlicher Fall- und Kontrollgruppe war mit 0,2 mmol/l geringfügig und nicht signifikant ($p=0,196$). Verteilungsbedingt gestaltete sich der Vergleich zwischen den weiblichen Probanden wie schon beim Gesamtcholesterin schwierig: Die Verteilung war linksschief für die Fall- und rechtsschief für die Kontrollgruppe. Diese Gruppen wurden mittels Mann-Whitney-U-Test verglichen (siehe Anmerkungen zu Tab.12).

Ein signifikanter Unterschied zwischen der Gesamtheit der Patienten mit Makroangiopathie und Koronargesunden ergab sich für den LDL/HDL-Quotienten ($p=0,028$). Er lag bei weiblichen und männlichen Probanden der Fallgruppe höher als bei den Kontrollen.

Ein Haupt-Apolipoprotein des gefäßprotektiven HDL-Partikels, das Apolipoprotein A1, erreichte bei den weiblichen Kontrollpatientinnen im Durchschnitt signifikant höhere Konzentrationen als bei den zugehörigen Patientinnen der Fallgruppe ($p=0,046$). Die gleiche Tendenz zeigte sich schwächer auch bei den Männern. Alle Durchschnittswerte lagen im Referenzbereich.

Das Apolipoprotein-B (als Apo-B100 die größte Proteinfraction in allen atherogenen Lipoproteinen: LDL, IDL, VLDL, Lp(a)) wurde ebenfalls zur Risikoeinschätzung herangezogen. Allerdings zeigte sich eine deutliche Tendenz zu höheren Werten in der Fallgruppe nur bei den männlichen Probanden ($p=0,070$). Die Durchschnittswerte lagen wiederum innerhalb der Grenzen des Referenzbereiches.

Tab. 12: Vergleichende Zusammenstellung der fettstoffwechselbezogenen Laborparameter.

¹ unter Annahme einer Normalverteilung mittels t-Test für unabhängige Stichproben (s. Abs. 3.5);

² alternativ mittels Mann-Whitney-U-Test (Exakt);

³ bei schiefen Verteilungen oder Einfluss von Ausreißern zusätzliche Angabe des Medianes

		Anzahl (F/K)	KHK: Mittelwert \pm SD (z= Median) ³	Kontrollen: Mittelwert \pm SD (z= Median) ³	einfaktorieller Signifikanztest ¹ $\alpha=0,05$
HDL (mmol/l)	Gesamt	96/96	1,2 \pm 0,4 (z= 1,2)	1,3 \pm 0,4 (z= 1,3)	p= 0,147 ²
	männlich	65/65	1,2 \pm 0,3 (z= 1,1)	1,2 \pm 0,4 (z= 1,2)	p= 0,487 ²
	weiblich	31/31	1,3 \pm 0,4 (z= 1,3)	1,5 \pm 0,4 (z= 1,4)	p= 0,090 ²
Gesamt- cholesterin (mmol/l)	gesamt	96/96	5,6 \pm 1,1	5,5 \pm 1,2	p= 0,466
	männlich	65/65	5,5 \pm 1,2	5,3 \pm 1,0	p= 0,222
	weiblich	31/31	5,8 \pm 1,0 (z= 5,8)	5,9 \pm 1,3 (z= 5,5)	p= 0,903 ²
LDL (mmol/l)	gesamt	95/95	3,5 \pm 1,0	3,3 \pm 0,9	p= 0,249
	männlich	64/64	3,4 \pm 1,1	3,2 \pm 0,9	p= 0,196
	weiblich	31/31	3,5 \pm 0,9 (z= 3,8)	3,5 \pm 1,0 (z= 3,3)	p= 0,559 ²
LDL/HDL- Quotient	gesamt	95/95	3,1 \pm 1,2 (z= 2,9)	2,7 \pm 1,0 (z= 2,5)	p= 0,028²
	männlich	64/64	3,2 \pm 1,2 (z= 3,0)	2,8 \pm 1,0 (z= 2,7)	p= 0,126 ²
	weiblich	31/31	2,9 \pm 1,1 (z= 2,7)	2,5 \pm 1,0 (z= 2,3)	p= 0,100 ²
Apo-A1 (g/l)	gesamt	95/95	1,32 \pm 0,25	1,39 \pm 0,25	p= 0,059
	männlich	65/65	1,29 \pm 0,24	1,34 \pm 0,24	p= 0,284
	weiblich	30/30	1,40 \pm 0,28 (z= 1,37)	1,52 \pm 0,23 (z= 1,49)	p= 0,046²
Apo-B (g/l)	gesamt	96/96	1,22 \pm 0,32	1,15 \pm 0,28	p= 0,112
	männlich	65/65	1,23 \pm 0,31 (z= 1,16)	1,12 \pm 0,25 (z= 1,08)	p= 0,070 ²
	weiblich	31/31	1,21 \pm 0,34 (z= 1,14)	1,22 \pm 0,34 (z= 1,14)	p= 0,933 ²
Triglyzeride (mmol/l)	gesamt	97/97	2,2 \pm 1,6 (z= 1,8)	2,1 \pm 1,9 (z= 1,6)	p= 0,159 ²
	männlich	66/66	2,3 \pm 1,7 (z= 2,0)	1,9 \pm 1,3 (z= 1,5)	p= 0,114 ²
	weiblich	31/31	1,9 \pm 1,3 (z= 1,7)	2,4 \pm 2,7 (z= 1,6)	p= 0,955 ²
Lp(a) (g/l)	gesamt	95/95	0,38 \pm 0,42 (z= 0,21)	0,24 \pm 0,29 (z= 0,14)	p= 0,018²
	männlich	64/64	0,38 \pm 0,39 (z= 0,28)	0,24 \pm 0,30 (z= 0,10)	p= 0,007²
	weiblich	31/31	0,37 \pm 0,49 (z= 0,12)	0,24 \pm 0,27 (z= 0,17)	p= 0,792 ²

Die Verteilung der Messwerte des atherogenen Lipoprotein(a) war in allen Vergleichsgruppen stark rechtsschief und von Ausreißern zu hohen Werten hin geprägt. Ein Gruppenvergleich auf der Ebene der Rangsummen ergab das gleiche Bild wie bei der kategorialen Unterscheidung in Abschnitt 4.1.3: signifikant höheres Lipoprotein (a) bei männlichen Koronarpatienten gegenüber den Kontrollen ($p=0,007$), dagegen keine eindeutige Differenzierbarkeit bei den weiblichen Probanden.

Bei den Triglyzeriden wiesen die Messwerte in allen Vergleichsgruppen ebenfalls Ausreißer zu hohen Werten hin auf, wobei die Mediane stets im Referenzbereich lagen. Im Vergleich von Fall-

und Kontrollgruppe fiel unter den Männern ein um 0,5 mmol/l höherer Median in der Fallgruppe auf. In keinem Vergleich zeigte sich Signifikanz.

(b) **Gerinnung und Fibrinolyse:** Die Analysenergebnisse der Parameter aus dem Bereich der Blutgerinnung und Fibrinolyse sind in Tab. 13 dargestellt. 39,4% der KHK-Patienten und 46,5% der Kontrollpatienten wurden mit Antikoagulantien therapiert.

Tab. 13: Vergleichende Zusammenstellung von Gerinnungs- und Fibrinolyseparametern

¹ unter Annahme einer Normalverteilung mittels t-Test für unabhängige Stichproben (s. Abs. 3.5);

² alternativ mittels Mann-Whitney-U-Test (Exakt);

³ bei schiefen Verteilungen oder Einfluss von Ausreißern zusätzliche Angabe des Medianes

		Anzahl (F/K)	KHK: Mittelwert ± Standardabw. (z= Median) ³	Kontrollen: Mittelwert ± Standardabw. (z= Median) ³	einfaktorieller Signifikanztest ¹ α= 0,05
PAI (E/ml)	Gesamt	83/83	3,8 ± 2,7 (z= 3,7)	3,6 ± 2,3 (z= 3,3)	p= 0,642 ²
	männlich	56/56	3,6 ± 2,7 (z= 3,3)	3,5 ± 2,5 (z= 3,0)	p= 0,784 ²
	weiblich	27/27	4,3 ± 2,7 (z= 4,4)	3,8 ± 2,1 (z= 3,5)	p= 0,489 ²
Fibrinogen (g/l)	gesamt	93/93	3,6 ± 1,3 (z= 3,3)	3,5 ± 1,1 (z= 3,3)	p= 0,596 ²
	männlich	64/64	3,7 ± 1,4 (z= 3,5)	3,4 ± 1,2 (z= 3,1)	p= 0,291 ²
	weiblich	29/29	3,5 ± 1,0 (z= 3,3)	3,6 ± 0,9 (z= 3,5)	p= 0,509 ²
Protein S- Aktivität (%)	gesamt	74/74	101 ± 31	99 ± 31	p= 0,769
	männlich	48/48	100 ± 27	100 ± 32	p= 0,984
	weiblich	26/26	101 ± 37 (z= 109)	97 ± 29 (z= 99)	p= 0,964 ²
Protein C (%)	gesamt	79/79	115 ± 22 (z= 116)	109 ± 26 (z= 112)	p= 0,189 ²
	männlich	51/51	118 ± 22 (z= 120)	106 ± 24 (z= 107)	p= 0,017 ²
	weiblich	28/28	110 ± 20 (z= 113)	114 ± 28 (z= 119)	p= 0,213 ²
Antithrombin III (%)	gesamt	90/90	96 ± 13	100 ± 16	p= 0,031
	männlich	61/61	95 ± 13	99 ± 15	p= 0,169
	weiblich	29/29	96 ± 14	103 ± 17	p= 0,079

Der primäre endotheliale Inhibitor der Plasminogenaktivatoren (PAI-1) war bei den weiblichen Patienten der Fallgruppe durchschnittlich höher als bei den koronar unauffälligen Frauen, allerdings ohne signifikanten Unterschied (p= 0,489). Der Median der Gruppe aus Koronarpatientinnen war erhöht gegenüber dem Referenzwert (< 3,5 E/ml).

Die Mediane für das Fibrinvorläufermolekül Fibrinogen lagen in allen Vergleichsgruppen im oberen Referenzbereich. Im Vergleich Fälle *versus* Kontrollen waren geringfügige Unterschiede der Durchschnittskonzentrationen feststellbar, allerdings mit gegenläufiger Tendenz bei Männern und Frauen.

In der Gruppe der Antagonisten der plasmatischen Gerinnung lagen sämtliche Durchschnittswerte im Referenzbereich. Für die Protein-S-Aktivität konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Fall- und Kontrollgruppen ermittelt werden. Dafür errechnete sich aus den Protein-C-Messwerten männlicher Probanden ein signifikanter Verteilungsunterschied (p= 0,017) bei höherem Mittel- und Zentralwert in der Fallgruppe. Jedoch unter den Frauenkollektiven wies die Tendenz bezüglich des Protein C in die entgegengesetzte Richtung (p= 0,213). Die Aktivitäten von Antithrombin III, dem

wichtigen Inhibitor der Serin-Proteasen der Gerinnungskaskade, waren insgesamt in der Gruppe der Kontrollen signifikant höher als bei den Koronarpatienten ($p=0,031$).

4.2 Ein Basismodell aus fünf Hauptrisikofaktoren

Für eine mehrfaktorielle Betrachtung von wichtigen „klassischen“ Risikofaktoren der koronaren Makroangiopathie wurde ein Einschussmodell für eine binäre logistische Regression erstellt. Dieses Modell sollte ferner Basis für eine weitere Analyse der in vorliegender Arbeit untersuchten Zytokingenpolymorphismen mit signifikanten Verteilungsunterschieden zwischen Koronar- und Kontrollpatienten sein (s. Abs. 4.4).

Die logistische Regression ermöglichte die Schätzung von Risikoquotienten unter Berücksichtigung des Einflusses anderer in das Modell aufgenommener Faktoren, für die keine Strukturgleichheit geschaffen werden konnte (adjustierte ORs). Das in vorliegender Arbeit erstellte „Basismodell“ schließt die von der American Heart Association und dem American College of Cardiology neben einem höheren Lebensalter als unabhängige Hauptrisikofaktoren bezeichneten Parameter Zigarettenrauchen, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, niedriges HDL-Cholesterin und Diabetes mellitus (Grundey et al. 1999) auf der Grundlage der in Abschnitt 4.1.3 dargelegten Kategorisierungen ein (s. Tab. 14). Nach einem paarweisen Ausschluss von Probanden bei Auftreten von Datenlücken zur Erhaltung der Alters- und Geschlechtshomogenität zwischen Koronar- und Kontrollpatienten konnten 164 Personen in das Basismodell einbezogen werden.

Mit der binären logistischen Regression konnten die statistischen Maße (adjustiertes) OR, zugehöriges 95%-Konfidenzintervall und p-Wert für die Faktoren des Modells bestimmt werden. Der Prozentsatz der unter Einbezug der Modellfaktoren richtig der Fall- oder Kontrollgruppe zugeordneten Probanden veranschaulicht die Güte des Modells, beziehungsweise die Verbesserung oder Verschlechterung des Modells nach Einbezug eines weiteren Faktors.

Anhand des (nicht-optimierten) Basismodells aus fünf Hauptrisikofaktoren konnten 67,7% der Zuordnungen in die KHK- oder Kontrollpatientengruppe korrekt umgesetzt werden, d.h. der gemeinsame Anteil der „falsch-positiven“ und „falsch-negativen“ Diagnosen belief sich auf 32,3%. Unter den Ergebnissen zeigte sich für den Risikofaktor Hypercholesterinämie ein signifikant erhöhtes OR von 2,5. Keine signifikante Assoziation der koronaren Makroangiopathie ergab sich mit den Faktoren Hypertonie ($OR=1,1$) und niedriges HDL-Cholesterin ($OR=1,1$); sie waren nicht zur Unterscheidung von Fall- und Kontrollgruppe geeignet. Damit entsprachen die Effekte der genannten Faktoren in etwa den Ergebnissen der einfaktoriellen Betrachtungen (s. Abs. 4.1.3).

Bei Überprüfung des Modells stellte sich ein signifikanter Interaktionsterm der Faktoren Diabetes mellitus und Rauchen heraus, der zunächst durch Einbeziehung des Interaktionsterms in das Regressionsmodell und eine geschichtete Betrachtung der Ergebnisse für diese beiden Faktoren Berücksichtigung fand (s. Tab. 14): So konnte für nicht rauchende Diabetiker ($n=14$) in Relation

zu Probanden, die weder rauchten, noch zuckerkrank waren (n= 39), ein OR von 6,4 (p< 0,01), für Raucher ohne Diabetes mellitus (n=94) ein OR von 7,7 (p< 0,001) und für Probanden, die rauchten und zuckerkrank waren (n=17) ein OR von 4,6 (p< 0,05) berechnet werden. Der letztgenannte Wert errechnete sich anhand der Regressionskoeffizienten der Faktoren Diabetes ($\beta_1= 1,854$), Rauchen ($\beta_2=2,039$) und des Interaktionsterms ($\beta_3= -2,369$) zu $OR= e^{(\beta_1+\beta_2+\beta_3)}= 4,6$ und fand in einem Kontrollmodell mit Einschluss einer gemeinsamen und geschichteten Variablen aus den Faktoren Diabetes mellitus und Rauchen eine Bestätigung.

Es fanden sich im Basismodell keine weiteren Hinweise auf Interaktionen oder Abhängigkeiten der Faktoren des Modells untereinander. Die Faktoren Geschlecht und Alter, für die ja insgesamt Strukturgleichheit vorlag, wurden zur Probe in das Modell einbezogen und waren erwartungsgemäß ohne Einfluss.

Tab. 14: Ergebnisse der binären logistischen Regression mit den Faktoren Hypertonie, erniedrigtes HDL, Hypercholesterinämie, Rauchen und Diabetes mellitus („Basismodell“) mit n =164 Patienten. Es ergab sich ein signifikanter Interaktionsterm zwischen den Faktoren „Diabetes“ und „Rauchen“, der im Modell berücksichtigt wurde.

Faktoren im Modell	Regressionskoeffizient β	OR (Exp β)	Konfidenzintervall (95%)	Signifikanz
Hypercholesterinämie	0,932	2,5	1,1 – 5,7	p= 0,025
Hypertonie	0,056	1,1	0,5 – 2,2	p= 0,877
HDL-Cholesterin < 0,9 mmol/l	0,132	1,1	0,4 – 3,3	p= 0,810
Diabetes (für Nichtraucher)*	1,854	6,4	1,6 – 25,7	p= 0,009
Rauchen (für Raucher ohne Diabetes)*	2,039	7,7	3,0 – 19,6	p< 0,001
Interaktionsterm Rauchen/Diabetes	-2,369	0,1	0,02 – 0,53	p= 0,008
<i>*(Referenzgruppe aus nicht rauchenden Nichtdiabetikern)</i>				

Die Beeinflussung des koronaren Risikos durch die Faktoren Rauchen und Diabetes mellitus an sich sowie der signifikante Interaktionsterm beider Faktoren in diesem Modell verlangten eine wahre Stratifizierung, also eine Aufteilung des gesamten Probandenkollektivs primär nach den Ausprägungen des jeweils nicht betrachteten Faktors. Obwohl dieses Vorgehen aufgrund der damit verbundenen Verkleinerung der Kollektive und einer asymmetrischen Verteilung von Alters- und Geschlechtszugehörigkeit der Probanden in den neuen Untergruppen problematisch ist, wurden diese Berechnungen zusätzlich durchgeführt: Die Ergebnisse werden in Bezug auf die Faktoren Diabetes mellitus und Rauchen im Folgenden dargestellt:

Bei der Berechnung der binären logistischen Regression mit den Faktoren Diabetes mellitus, erniedrigtes HDL, Hypercholesterinämie und arterielle Hypertonie nach Aufteilung der Probanden in Raucher (n= 111) und Nichtraucher (n= 53) ergab sich ein signifikant erhöhtes OR für Diabetes

unter den Nichtrauchern (OR= 9,8; 95%-KI {2,0 - 47,8}; p< 0,01), aber kein signifikantes Ergebnis unter den Rauchern (OR=0,5; 95%-KI {0,2 – 1,6}; p= 0,251). Der Effekt des Diabetes unter den Nichtrauchern war unabhängig von den anderen Faktoren des Modells sowie dem Faktor Geschlechtszugehörigkeit und zeigte bei Einbezug des Faktors Altersgruppenzugehörigkeit eine Zunahme auf OR= 35,1 (p< 0,01). Die ohnehin nicht signifikanten Effekte der Faktoren Hypertonie und erniedrigtes HDL zeigten im Grundkollektiv der Nichtraucher eine Abhängigkeit vom Einbezug des Faktors Diabetes. Es fanden sich keine signifikanten Interaktionsterme.

Zur besseren Veranschaulichung dieses Ergebnisses wurden die Verteilungen der Probanden (aus dem gesamten Kollektiv) gemäß der stratifizierten Betrachtungsweise und bezogen auf den Faktor Diabetes mellitus in einer Kreuztabelle dargestellt (s. Tab. 15).

Tab. 15: Verteilung der Diabetiker auf Fall-/Kontrollgruppe nach Stratifizierung in Raucher/Nichtraucher. Signifikante (p< 0,01) Assoziation von koronarer Makroangiopathie und Diabetes unter Nichtrauchern (OR= 5,8).

		KHK-Patienten Spalten-% (n)	Kontrollpatienten Spalten-% (n)
Raucher/ Starke Passivraucher (n= 134)	Diabetes mellitus	15,0% (12)	16,7% (9)
	Kein Diabetes	85,0% (68)	83,3% (45)
	Gesamt	100% (80)	100% (54)
Nichtraucher/Gelegenheitsraucher (n= 60)	Diabetes mellitus	52,9% (9)	16,3% (7)
	Kein Diabetes	47,1% (8)	83,7% (36)
	Gesamt	100% (17)	100% (43)
<i>Fisher Exakt-Test (2-seitige Signifikanz.):</i>		<i>Einfaktorielles OR:</i>	
Raucher: p= 0,812 Nichtraucher: p= 0,008		Raucher: OR= 0,882; 95%-KI={0,3 – 2,3} Nichtraucher: OR= 5,786 , 95%-KI={1,7 - 20,2}	

Es zeigte sich, dass die Ergebnisse des Regressionsmodells nach Stratifizierung auch bei Betrachtung der Verteilungen nachvollziehbar waren. Unter den Rauchern (n= 134) lag in Bezug auf den Risikofaktor Diabetes mellitus kein signifikanter Verteilungsunterschied zwischen KHK- und Kontrollpatienten vor. Dagegen war in der Gruppe der Nichtraucher (n= 60) ein signifikanter Verteilungsunterschied feststellbar (p< 0,01) und der Anteil der Diabetiker unter den Koronarpatienten mehr als dreimal so groß wie unter den Koronargesunden. Das einfaktoriellement bestimmte OR von 5,8 wies somit ebenso wie das Ergebnis der stratifizierten multifaktoriellen Regression die Zuckerkrankheit unter Nichtrauchern als signifikant assoziiert mit der KHK aus. In der Gruppe der Raucher war dieses Ergebnis nicht nachvollziehbar. Die Abweichungen in den Fallzahlen kamen durch den paarweisen Ausschluss von Probanden bei Auftreten von Datenlücken im multifaktoriellen Modell zustande.

Eine vergleichbare Ergebniskonstellation ergab sich bei Aufteilung des gesamten Probandenkollektivs in Diabetiker und Nichtdiabetiker und bei Betrachtung des Effektes des Faktors Rauchen in Bezug auf den Koronarstatus im binär logistischen Regressionsmodell zusammen mit den Faktoren arterielle Hypertonie, erniedrigtes HDL und Hypercholesterinämie: Unter Diabetikern (n= 31) konnte keine signifikante Assoziation des Faktors Rauchen mit dem Koronarstatus errechnet werden (OR= 0,5; 95%-KI {0,1 – 2,6}; p=0,416). Dagegen zeigte die Berechnung in der Gruppe der Nichtdiabetiker (n= 133) eine signifikante Erhöhung des Risikoquotienten durch Zigarettenkonsum (OR= 7,8; 95%-KI {3,0 – 19,9}; p< 0,001). Das Ergebnis war unabhängig von den anderen Faktoren des Modells sowie von Alter und Geschlecht. Es konnten keine Interaktionen unter den Modellfaktoren festgestellt werden.

Tab.16: Verteilung der Raucher auf Fall-/Kontrollgruppe nach Stratifizierung in Diabetiker/Nichtdiabetiker. Signifikante (p< 0,001) Assoziation von Rauchen und koronarer Makroangiopathie unter Nichtdiabetikern (OR= 6,8).

		KHK-Patienten Spalten-% (n)	Kontrollpatienten Spalten-% (n)
Diabetiker (n= 37)	Raucher	57,1% (12)	56,3% (9)
	Nichtraucher	42,9% (9)	43,8% (7)
	Gesamt	100% (21)	100% (16)
Nichtdiabetiker (n= 157)	Raucher	89,5% (68)	55,6% (45)
	Nichtraucher	10,5% (8)	44,4% (36)
	Gesamt	100% (76)	100% (81)
<i>Fisher Exakt-Test (2-seitige Signifikanz.):</i>		<i>Einfaktorielles OR:</i>	
Diabetiker: p= 1,000 Nichtdiabetiker: p< 0,001		Diabetiker: OR= 1,037; 95%-KI={0,3-3,9} Nichtdiabetiker: OR=6,800 ; 95%-KI={2,9-16,0}	

Auch bei dieser Stratifizierung spiegelte eine Betrachtung der Verteilungen in einer Kreuztabelle in Bezug auf den Faktor Rauchen die in der Regression berechneten Ergebnisse wieder (s. Tab. 16): Unter den Diabetikern (n= 37) zeigte sich bei Betrachtung des Faktors Zigarettenkonsum kein signifikanter Verteilungsunterschied zwischen koronarkranken und -gesunden Patienten. Im Kollektiv der Nichtdiabetiker (n= 157) hingegen lag ein signifikanter Verteilungsunterschied (p< 0,001) vor. Dabei war der Anteil der Raucher unter den Koronarpatienten ungefähr eineinhalbmal größer als unter den Koronargesunden. Umgekehrt erwies sich der Anteil der Nichtraucher unter den Kontrollpatienten mehr als viermal so groß im Vergleich zur Fallgruppe. Unter den Nichtdiabetikern stellte sich das Rauchen mit einem OR von 6,8 somit (wie auch das Ergebnis der stratifizierten mehrfaktoriellen Regression belegt) als signifikanter Faktor in Assoziation zur Erkrankung an koronarer Makroangiopathie heraus. Für das Kollektiv der Diabetiker war dieser Zusammenhang nicht zu bestätigen.

4.3 Genetische Charakterisierung der Patientenkollektive mit Hilfe von TNF-Polymorphismen

In der vorliegenden Arbeit wurden ein TNF α - und zwei TNF β -SNPs auf eine mögliche Bedeutung als genetische Risikoparameter der koronaren Makroangiopathie untersucht. Eine Hardy-Weinberg-Verteilung der Genotypen lag für alle drei SNPs im Gesamtkollektiv vor. Für die Genotypen eines jeden SNP wurde die Auswertung nach einem kodominanten, einem rezessiven und einem dominanten genetischen Modell geprüft.

4.3.1 Die Genotypverteilung des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP

Die Analyse der Allelfrequenzen des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP ergab, dass das Allel A mit einer Allelfrequenz von 0,165 unter den Probanden auftrat. Als insgesamt häufigster Genotyp stellte sich der GG-Genotyp heraus; er lag bei 71,0% der Probanden vor, gefolgt vom GA-Genotyp mit 25,0% und dem AA-Genotyp mit 4,0% (s. Abb. 8).

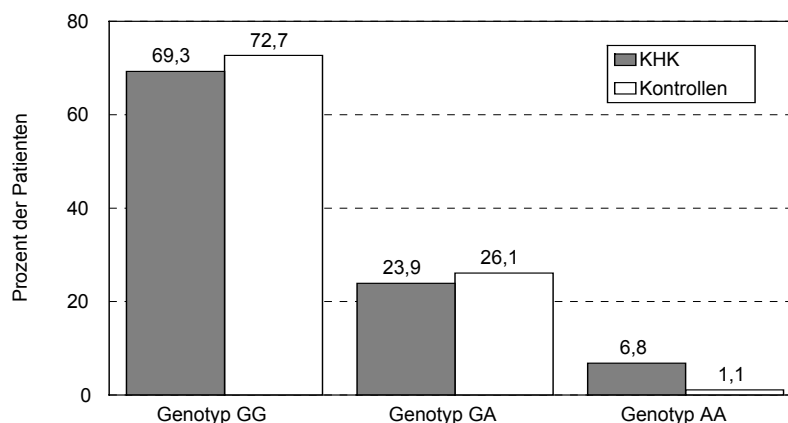


Abb. 8: Genotypverteilung des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP bei Koronar- (n= 88) und Kontrollpatienten (n= 88)

Bei der Darstellung der Genotypverteilungen unter Koronarpatienten (n= 88) und den zugehörigen koronargesunden Kontrollpatienten (n= 88) fällt besonders die ungleiche Verteilung des seltenen AA-Genotyps auf, der sechsmal unter den Koronarkranken, aber nur einmal in der Vergleichsgruppe auftrat. Die Genotypen GG und GA waren zwischen den beiden Gruppen annähernd gleich häufig; 48,8% des Genotyps GG und 47,7% des Genotyps GA entfielen auf die Fallgruppe (s. Tab. 17).

Demzufolge fiel die statistische Prüfung auf Verteilungsunterschiede am deutlichsten für ein A-rezessives Modell (GG+GA vs. AA) aus (n.s.; p= 0,118). Für das kodominante Modell ergab sich

ein p-Wert von 0,200. Die Gegenüberstellung der A-Allel-Träger und der Probanden mit GG-Genotyp (A-dominantes Modell) maskierte die Ungleichverteilung von AA-Genotypen und zeigte keinen nennenswerten Verteilungsunterschied zwischen Fällen und Kontrollen ($p=0,740$).

Tab. 17: Verteilungen der Genotypen des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP unter Annahme verschiedener genetischer Modelle

Modell	Genotyp	KHK [n=88] % (n)	Kontrollen [n=88] % (n)
kodominant	GG	69,3 (61)	72,7 (64)
	GA	23,9 (21)	26,1 (23)
	AA	6,8 (6)	1,1 (1)
A- rezessiv	GG+GA	93,2 (82)	98,9 (87)
	AA	6,8 (6)	1,1 (1)
A- dominant	AA+GA	30,7 (27)	27,3 (24)
	GG	69,3 (61)	62,5 (64)
Exakter Test n. Fisher: kodominant: A- rezessiv: A- dominant:		<i>Verteilung KHK-Gruppe vs. Kontrollen:</i> p= 0,200 p= 0,118 p= 0,740	

Eine gesonderte Betrachtung der wenigen A-Homozygoten in Bezug zum T60N-TNF β -cSNP (s. Abs. 4.3.3) in den sechs Fällen, für die beide SNPs bestimmt worden waren, zeigte, dass A-Homozygotie im (c.-308 G>A)-TNF α -SNP stets assoziiert war mit der ebenfalls seltenen und KHK-assoziierten A-Homozygotie im T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A). Dagegen lag ausgehend von einem AA-Genotyp im T60N-TNF β -cSNP nur in 28,6% der Fälle ebenfalls A-Homozygotie in dem (c.-308 G>A)-TNF α -SNP vor. 7,1% der GA-Heterozygoten des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP waren im T60N-TNF β -cSNP CC-homozygot.

In Hinblick auf den C13R-TNF β -cSNP (c.206T>C) waren alle sieben A-Homozygoten des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP auch homozygot für das häufige, nicht risikoassoziierte T-Allel (s. Abs. 4.3.2).

4.3.2 Die Genotypverteilung des C13R-TNF β -cSNP

Ein Austausch von Thymin durch Cytosin führt zu dem cSNP des TNF β an cDNA-Position 206. Das C-Allel war mit einer Frequenz von 0,293 nachzuweisen. Den größten Anteil am Probandenkollektiv aus 188 Personen hatte der TT-Genotyp mit 47,9%, nur unwesentlich öfter nachweisbar als der TC-Genotyp mit 45,7%. 6,4% betrug der Anteil des CC-Genotyps, der in beiden Vergleichsgruppen gleich häufig war (s. Abb. 9).

Im weiteren Vergleich zwischen den Patienten mit koronarer Makroangiopathie und den koronargesunden Kontrollen fiel auf, dass 54,4% des TT-Genotyps bei den Koronarpatienten und 54,7% des TC-Genotyps bei den Kontrollprobanden nachzuweisen waren. Diese leichten Verteilungsunterschiede waren modellunabhängig nicht signifikant (s. Tab. 18). Noch am

deutlichsten fielen sie bei dem C-dominanten Modell (CC+TC vs. TT) ins Gewicht, wo der Anteil der C-Allelträger unter den Kontrollen um 8,5% größer war, als in der Fallgruppe.

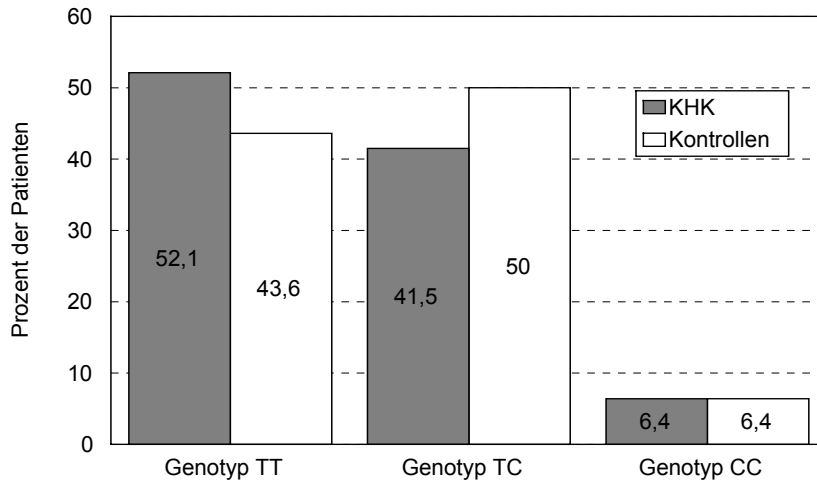


Abb. 9: Genotypverteilung des C13R-TNFβ-cSNP (c.206T>C) bei Koronar- (n= 94) und Kontrollpatienten (n= 94)

Bei der Betrachtung des selteneren CC-Genotyps des C13R-TNFβ-cSNP (c.206T>C) in Bezug zu den beiden anderen SNP fiel auf, dass er in allen Fällen gemeinsam mit dem GG-Genotyp des (c.-308G>A)-TNFα-SNP (s. Abs. 4.3.1) und in 91,7% der Fälle mit dem CC-Genotyp des T60N-TNFβ-cSNP (c.348C>A) (s. Abs.4.3.3) nachweisbar war.

Tab. 18: Verteilungen der Genotypen des C13R-TNFβ-cSNP (c.206T>C) unter Annahme verschiedener genetischer Modelle

Modell	Genotyp	KHK [n=94] % (n)	Kontrollen [n=94] % (n)
kodominant	TT	52,1 (49)	43,6 (41)
	TC	41,5 (39)	50,0 (47)
	CC	6,4 (6)	6,4 (6)
C- rezessiv	TT+TC	93,6 (88)	93,6 (88)
	CC	6,4 (6)	6,4 (6)
C- dominant	TT	52,1 (49)	43,6 (41)
	TC+CC	47,9 (45)	56,4 (53)
Exakter Test n. Fisher		<i>Verteilung KHK-Gruppe vs. Kontrollen:</i>	
kodominant:		p= 0,473	
C- rezessiv:		p= 1,000	
C- dominant:		p= 0,307	

4.3.3 Die Genotypverteilung des T60N-TNF β -cSNP

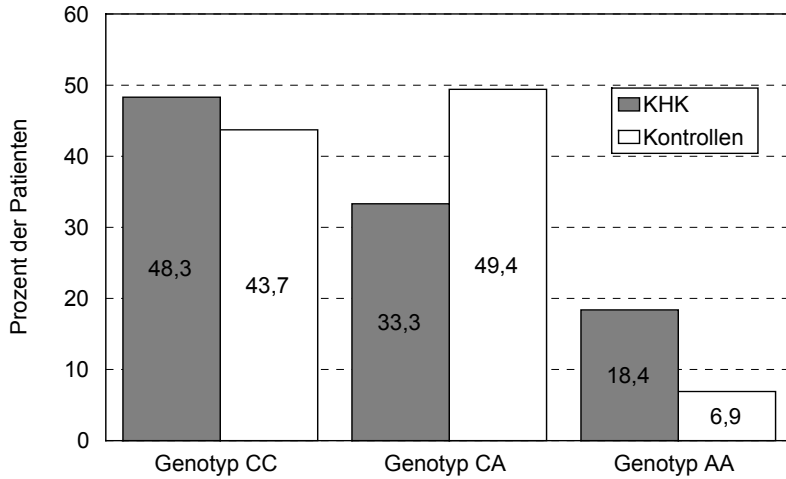


Abb. 10: Genotypverteilung des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) bei Koronar- (n= 87) und Kontrollpatienten (n= 87)

Der T60N-TNF β -cSNP an Position 348 der cDNA entsteht durch den Austausch von Cytosin zu Adenin. Die Frequenz des A-Allels betrug 0,333 unter 174 Patienten. Der häufigste Genotyp insgesamt war CC mit 46,0%. Der CA-Genotyp war bei insgesamt 41,4% der Probanden vertreten, der AA-Genotyp bei 12,6% (s. Abb. 10).

Tab. 19: Verteilungen der Genotypen des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) unter Annahme verschiedener genetischer Modelle

Modell	Genotyp	KHK [n=87] % (n)	Kontrollen [n=87] % (n)
kodominant	CC	48,3 (42)	43,7 (38)
	CA	33,3 (29)	49,4 (43)
	AA	18,4 (16)	6,9 (6)
A-rezessiv	CC+CA	81,6 (71)	93,1 (81)
	AA	18,4 (16)	6,9 (6)
A-dominant	AA+CA	51,7 (45)	56,3 (49)
	CC	48,3 (42)	43,7 (38)
Exakter Test n. Fisher		<i>Verteilung KHK-Gruppe vs. Kontrollen:</i>	
kodominant:		p= 0,028	
A-rezessiv:		p= 0,038	
A-dominant:		p= 0,648	

Bei diesem cSNP konnten bei getrennter Betrachtung der Vergleichsgruppen im kodominanten und im A-rezessiven genetischen Modell signifikante Verteilungsunterschiede festgestellt werden (p= 0,028 bzw. p= 0,038; s. Tab. 19). Besonders klar fiel der Unterschied in der Verteilung des AA-

Genotyps aus: 72,7% derer, die für das Allel A homozygot waren, gehörten zu den Koronarpatienten (n=16). Dagegen war unter den Heterozygoten ein Anteil von 59,7% koronargesund (n=43). Der Unterschied in der Aufteilung des CC-Genotyps auf die zwei Vergleichsgruppen war gering.

Tab. 20: Berechnung des ORs anhand der einfaktoriellen binär logistischen Regression für die genetischen Modelle des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) mit signifikantem Verteilungsunterschied

Modell	Genotyp	An- zahl n	OR	95%- Konfidenzintervall	Signifikanz
Kodominant I	CC (Referenz)	80	1		
	CA	72	0,6	0,3 – 1,2	p= 0,133
	AA	22	2,4	0,9 – 6,8	p= 0,096
Kodominant II	CA (Referenz)	72	1		
	CC	80	1,6	0,9 – 3,1	p= 0,133
	AA	22	4,0	1,4 – 11,3	p= 0,010
A-rezessiv	CC+CA (Referenz)	152	1		
	AA	22	3,0	1,1 – 8,2	p= 0,028

Die Berechnung des OR anhand der einfaktoriellen binär logistischen Regression für die genetischen Modelle des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) mit signifikantem Verteilungsunterschied wies für das A-rezessive Modell den AA-Genotyp als signifikant assoziiert mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie aus (OR= 3,0; p< 0,05; s. Tab. 20). Bei Zugrundelegung eines kodominanten Modells errechnete sich für den AA-Genotyp nur in Bezug auf den Heterozygotenstatus ein signifikant erhöhtes OR (OR= 4,0; p= 0,01), wengleich auch in Bezug auf den Wildtyp eine gleiche Tendenz erkennbar wurde (OR= 2,4; p< 0,10).

Eine gesonderte Betrachtung des risikoassoziierten AA-Genotyps in Bezug auf die weiteren untersuchten TNF-SNP zeigte, dass er in 95,5% der Fälle gemeinsam mit dem häufigen, nicht risikoassoziierten TT-Genotyp des C13R-TNF β -cSNP (c.206T>C) vorlag (s. Abs. 4.3.2). Auf die Genotypen des (c.-308 G>A)-TNF α -SNP (s. Abs. 4.3.1) verteilten sich die A-Homozygoten des T60N-TNF β -cSNP ungefähr zu gleichen Teilen (zu 33,3% auf den GG-, zu 38,1% auf den GA-, zu 28,6% auf den AA-Genotyp).

4.4 Das A-rezessive Modell des T60N-TNF β -cSNP im Zusammenhang mit fünf Hauptrisikofaktoren der KHK

Bei Auswertung der Verteilungen der TNF-Genotypen zwischen Fall- und Kontrollgruppe in Abschnitt 4.3 konnten für den T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) modellabhängig signifikante

Verteilungsunterschiede konstatiert werden. Besonders klar stellte sich der Unterschied in der Verteilung des AA-Genotyps dar (s. Abb. 11). Eine weitergehende Analyse der Rolle dieses cSNP als möglicher Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie im Kontext etablierter Risikofaktoren erschien sinnvoll.

Daher wurde unter Zugrundelegung des A-rezessiven Modells die Homozygotie des A-Allels als möglicher Risikofaktor in die in Abschnitt 4.2 beschriebene binäre logistische Regression des „Basismodells“ aus fünf anerkannten Hauptrisikofaktoren der KHK mit einbezogen. Somit konnte für dieses genetische Modell das OR adjustiert nach den Risikofaktoren Zigarettenrauchen, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, niedriges HDL-Cholesterin und Diabetes mellitus berechnet werden. Die Adjustierung bewirkte dabei eine Berücksichtigung möglicher Ungleichverteilungen der Genotypen auf diese fünf Einflussgrößen, für die keine Strukturgleichheit geschaffen worden war.

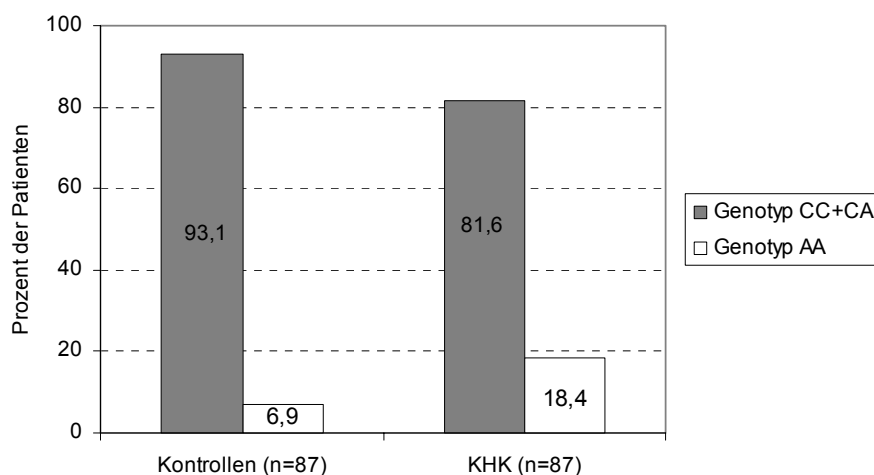


Abb. 11: Signifikanter Verteilungsunterschied ($p < 0,05$, Exakter Test nach Fisher) im A-rezessiven Modell des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) bei Koronar- (n= 87) und Kontrollpatienten (n= 87)

Im Gegensatz zum „Basismodell“ in Abschnitt 4.2 lag nach Einschluss des cSNP in das Regressionsmodell kein signifikanter Interaktionsterm zwischen den Faktoren Zigarettenrauchen und Diabetes mellitus vor; dieser fand dementsprechend keine Berücksichtigung mehr. Es lagen keine neuen signifikanten Interaktionsterme zweier Faktoren des Modells vor. Die berechneten Effekte der Faktoren waren unabhängig von den anderen Faktoren des Modells, ferner von den Faktoren Geschlechts- und Altersgruppenzugehörigkeit, für die Strukturgleichheit geschaffen worden war.

Das so berechnete Regressionsmodell (s. Tab. 21) mit 142 Patienten erlaubte anhand der eingeschlossenen Faktoren die korrekte Zuordnung von 69,0% der Probanden in die Fall- bzw. Kontrollgruppe. Im A-rezessiven Modell war der AA-Genotyp (homozygote Mutationsträger, n= 19) gegenüber dem homozygoten Wild- (CC-Genotyp) und heterozygoten CA-Genotyp

(zusammen n= 123) mit einem signifikant erhöhten Risikoquotienten in Bezug auf den Koronarstatus verbunden (OR= 3,6; p< 0,05). Dieses Ergebnis entspricht recht genau dem in Abschnitt 4.3.3 für den AA-Genotyp mittels binär logistischer Regression aus n= 174 Probanden berechneten einfaktoriellen OR von 3,0 (p= 0,028). Auch die Effekte der klassischen Risikofaktoren des Regressionsmodells lassen sich mit den Ergebnissen der einfaktoriellen Betrachtungen (s. Abs. 4.1.3) gut vergleichen.

Tab. 21: Das A-rezessive Modell des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) in der binären logistischen Regression mit den Faktoren Hypertonie, erniedrigtes HDL, Hypercholesterinämie, Rauchen und Diabetes mellitus. Anzahl der Patienten n= 142. Signifikant erhöhter Risikoquotient für homozygote Mutationsträger (OR= 3,6, p< 0,05).

Faktoren im Modell	OR (Exp β)	Konfidenzintervall (95%)	Signifikanz
Hypercholesterinämie	2,096	0,888 – 4,946	p= 0,091
Hypertonie	0,867	0,404 – 1,856	p= 0,712
HDL-Cholesterin < 0,9 mmol/l	1,334	0,411 – 4,329	p= 0,631
Diabetes mellitus	1,585	0,614 – 4,092	p= 0,341
Rauchen	4,133	1,813 – 9,424	p= 0,001
Genotyp AA im A-rezessiven Modell des T60N-TNF β -cSNP	3,627	1,131 – 11,633	p= 0,030

5 Diskussion

5.1 Betrachtung der „klassischen“ Risikofaktoren in der Studienpopulation

Die vorliegende Fall-Kontroll-Studie schloss 99 Paare von Patienten jeweils adjustierten Geschlechts und Alters mit und ohne koronare Makroangiopathie ein. Der Koronarstatus war angiographisch gesichert. Das Durchschnittsalter bei Eintritt in die Studie betrug zirka 50 Jahre (s. Abs. 4.1.1). Um den Einfluss des Risikofaktors Lebensalter zu mindern, sollte ein klinisch manifester Erkrankungsbeginn vor Vollendung des 56. Lebensjahres nachvollziehbar sein. Alle KHK-Patienten hatten mindestens einen Myokardinfarkt erlitten.

Risikofaktoren treten statistisch gehäuft mit einer bestimmten Erkrankung auf; ihre Beachtung im klinischen Alltag kann -allgemein gesprochen- von Bedeutung für die Prävention, die diagnostische Bewertung und die Therapie sein. Zunächst sollen etablierte Risikofaktoren der KHK in Bezug auf ihre Assoziation mit dem Koronarstatus in dieser Studienpopulation beschrieben und diskutiert werden.

5.1.1 Zigarettenkonsum

Zigarettenkonsum ist als wesentlicher beeinflussbarer Risikofaktor der KHK und anderer Manifestationen der Atherosklerose etabliert und ist darüber hinaus eine weit verbreitete Ursache für Erkrankung und Tod an chronischen Lungenerkrankungen und Malignomen.

Die Hauptmechanismen, durch die die im Tabakrauch enthaltenen Bestandteile die Atherogenese fördern, gelten jedoch als nicht endgültig geklärt. In Betracht kommen beispielsweise der Einfluss auf den Sympathikotonus, mögliche Veränderungen der Zusammensetzung der Blutfette und Blutzellen, Störung der Endothelintegrität und Fibrinolyse, Steigerung der Thrombozytenaggregation und Koagulabilität (Weisswange 1996, Böhm et al. 2000).

In vorliegender Studie lag ein insgesamt sehr hoher Anteil an aktuellen und ehemaligen Rauchern oder starkem Passivrauchen ausgesetzten Personen von 77,2% der Männer und 51,6% der Frauen vor; nur 17,2% der Koronarpatienten waren Nicht- oder Gelegenheitsraucher (s. Abs. 4.1.3). Der Zigarettenkonsum war bei einfaktorieller Betrachtung unter den männlichen Patienten stark mit dem Nachweis einer KHK assoziiert (OR= 3,8; p= 0,004), für die Frauen war dieser Zusammenhang noch deutlicher (OR= 5,1; p= 0,005; s. Tab. 5). Eine stärkere Gefährdung von Frauen für das Erleiden eines Myokardinfarktes durch Rauchen wurde beispielsweise auch von Prescott und Mitarbeitern (1998) in einer großen prospektiven Studie festgestellt, die einen hemmenden Einfluss von Bestandteilen des Zigarettenrauches auf die potentiell antiatherogene Wirkung der Östrogene vermuteten.

In einer mehrfaktoriellen Analyse, die fünf wesentliche Risikofaktoren der KHK einschloss (s. Abs. 4.2), ergab sich eine signifikante Interaktion der Faktoren Diabetes und Zigarettenkonsum. Bei Stratifizierung nach dem Diabetikerstatus war mit dem Zigarettenrauchen sowohl im einfaktoriellen (OR= 6,8; p< 0,001), als auch im mehrfaktoriellen Modell (OR= 7,8; p< 0,001) eine signifikante und unabhängige Risikoquotientenerhöhung in der Gruppe der Nichtdiabetiker verbunden. Unter den Diabetikern war dieser Zusammenhang nicht nachweisbar. Zur Erklärung dieser Beobachtung kann man vermuten, dass in Familien mit Diabetes mellitus das Bewusstsein für die Gefährdung durch Rauchen geschärft war, daher unter den Diabetikern weniger oder seltener geraucht (56,6% vs. 72,0%) und somit der Einfluss des Rauchens auf das koronare Risiko statistisch gemindert wurde. Weiterhin wäre es vorstellbar, dass sich unter den ohnehin ein erhöhtes koronares Risiko tragenden Diabetikern das Rauchen in geringerem Maße als assoziiert mit der KHK abbildete als unter den nicht an Diabetes erkrankten Patienten. Eine weitere Möglichkeit stellt das Vorliegen eines Selektionsbias durch erhöhte Mortalität der Koronarpatienten mit beiden Risikofaktoren dar. Ferner muss auf die geringe Zahl der Diabetiker in der Studie hingewiesen werden (n= 37), die die Aussagekraft in dieser Untergruppe mindert.

Eine differenzierte einfaktorielle Bewertung mit Bezug auf Patienten, die angaben, niemals geraucht zu haben (s. Tab. 6), stellte auch für intensives Passivrauchen und für einen mehr als 10

Jahren zurückliegenden Konsum ein jeweils signifikant erhöhtes OR dar, ferner war die Risikoassoziation des Rauchens abhängig von der Stärke des Konsums und respektive kleiner Fallzahlen nur unter mittelstarken (>10 Zigaretten/d) und starken Rauchern (>20 Zigaretten/d) signifikant. Das OR der ehemaligen Raucher war dabei nur etwa halb so groß wie das der in den vergangenen Jahren mittelstark rauchenden Patienten. Dies könnte zum einen mit der Einbeziehung auch leichter Raucher in die Gruppe der ehemaligen Raucher erklärt werden. Zum anderen aber entspricht eine Abnahme des koronaren Risikos nach Beendigung des Zigarettenkonsums auch den Erkenntnissen größerer Studien (Prescott et al. 1998, Assmann und Schulte 1993, Hermanson et al. 1988), die damit auf einen zumindest teilweise reversiblen und zeitnahen gefäßschädigenden Effekt des Rauchens hindeuten.

Nach den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung (DGK) zählt die vollständige Abstinenz zu den wichtigsten therapeutischen Maßnahmen bei atherosklerotischen Gefäßkrankheiten (Dietz und Rauch 2003).

5.1.2 Dyslipidämie

Fettstoffwechselstörungen sind im Allgemeinen durch die Erhöhung der Plasmakonzentrationen einzelner oder mehrerer Lipidfraktionen gekennzeichnet und von großer Bedeutung als verbreitete Risikofaktoren der Atherosklerose. Eine Besonderheit stellen die vasoprotektiven High-Density-Lipoproteine (HDL) dar, deren Minderung mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko verbunden ist. Große Interventionsstudien haben die Wirksamkeit bestimmter HMG-CoA-Reduktasehemmer (Statine) für die Primärprophylaxe von Risikopatienten (WOSCOPS-Studie) und für die Sekundärprävention der KHK (4S-, CARE-, LIPID- Studie) belegt.

In vorliegender Arbeit wurden sowohl kategorisierte Variablen (s. Abs. 4.1.3), als auch intervallskalierte Variablen (s. Abs. 4.1.4) mit Bezug zum Fettstoffwechsel analysiert. Die letzteren beruhten auf labormedizinischen Bestimmungen und waren in Hinsicht auf mögliche Assoziationen mit dem Koronarstatus der Patienten meist unergiebig. Eine Ursache dafür liegt wahrscheinlich u.a. in der Anwendung lipidsenkender Medikamente (s. Abs. 4.1.2), die erwartungsgemäß häufiger den Koronarpatienten verordnet worden waren. Auch andere in der Studienpopulation häufig verordnete Medikamente können Einfluss auf das Lipidprofil nehmen, so z.B. β -Blocker und Diuretika (Weisswange 1996). Somit kam den an physiologischen Grenzwerten orientierten und auch zurückliegende Diagnosen und Therapien berücksichtigenden Kategorisierungen eine größere Bedeutung zu.

Eine Hypercholesterinämie nach vorgestellter Kategorisierung (s. Abs. 4.1.3) lag bei 84,5% der weiblichen und 73,3% der männlichen Patienten vor. Im ein- und mehrfaktoriellen (Abs. 4.2) Modell stellte sich eine signifikante und unabhängige Assoziation der Hypercholesterinämie mit dem Nachweis einer KHK heraus (OR= 2,2; p= 0,047 bzw. OR= 2,5; p= 0,025). Diese beruhte

jedoch nahezu allein auf Verteilungsunterschieden unter den männlichen Patienten, während sie für die Patientinnen nicht nachweisbar war. Da die Häufigkeit kardiovaskulärer Erkrankungen bei Frauen vor der Menopause deutlich geringer ist als bei Männern gleichen Alters, und postmenopausal die Inzidenz der KHK ansteigt, wird eine vasoprotektive Wirkung der endogenen Östrogene postuliert. In Bezug darauf wurden verschiedene Mechanismen beschrieben, die zu einer Risikosenkung durch Beeinflussung klassischer Risikofaktoren wie Hypertonie und Dyslipidämie führen könnten. Die Senkung der Inzidenz der KHK oder kardiovaskulärer Ereignisse durch postmenopausale Östrogensersatztherapie steht noch zur Diskussion (thematisiert bei Böhm et al. 2000). Diese Zusammenhänge wären eine mögliche Erklärung für eine fehlende Nachvollziehbarkeit des Risikofaktorstatus der Hypercholesterinämie unter den Patientinnen dieser Studie, zumal das Durchschnittsalter der Frauen mit 52,5 Jahren relativ niedrig war, und eine mögliche Beeinflussung des koronaren Risikos durch postmenopausale Einnahme von Östrogenen keine Berücksichtigung fand. Aus der Befragung der Patienten ging außerdem hervor, dass sich die Frauen tendenziell gesünder ernährten als die männlichen Patienten (s. Abs.4.1.3), was sich auf die Ausprägung der Dyslipidämie positiv ausgewirkt haben könnte. Möglicherweise aber hätten strengere Kriterien bei der Kategorialisierung angesichts des hohen Anteils der Frauen mit Hypercholesterinämie eventuell zu anderen Ergebnissen geführt.

Die Bedeutung der Hypertriglyzeridämie als unabhängiger Risikofaktor der KHK wird noch immer kontrovers diskutiert. Nach der prospektiven PROCAM-Studie scheint aber eine zusätzliche Risikosteigerung für kardiovaskuläre Ereignisse durch Hypertriglyzeridämie bei einer oftmals begleitenden hohen Gesamt- bzw. LDL-Cholesterinkonzentration oder niedrigen HDL-Cholesterinkonzentration zu bestehen (Assmann und Schulte 1993). In vorliegender Arbeit lag die Hypertriglyzeridämie ungefähr doppelt so häufig unter den Männern vor wie unter den Frauen (41,3% vs. 19,6%). Es zeigte sich eine Tendenz zur Assoziation der Hypertriglyzeridämie mit der koronaren Makroangiopathie in beiden Geschlechtern, das OR betrug 1,9 ($p=0,061$) für die Gesamtheit der Patienten (s. Abs. 4.1.3).

Das HDL-Cholesterin, das so genannte „gute Cholesterin“, soll dem schädigenden Einfluss des LDL-Cholesterins durch Rücktransport des Cholesterins aus der Peripherie zur Leber entgegenwirken. Ein niedriger HDL-Spiegel gilt als unabhängiger Risikofaktor der KHK und seine gesonderte Bestimmung ist fester Bestandteil der Erhebung eines Risikoprofils.

Dennoch lag in dieser Studie keine Beziehung zwischen dem Koronarstatus und dem Nachweis eines HDL-Spiegels kleiner 0,9 mmol/l unabhängig vom Geschlecht vor. Auch in der mehrfaktoriellen Betrachtung betrug das OR für den Koronarstatus nur 1,1 (n.s., s. Abs. 4.1.3). Ein zu niedriges HDL-Cholesterin lag nur bei 13,8% der Männer und 6,5% der Frauen vor. Es ist auch hier an eine Beeinflussung der Ergebnisse durch Medikamenteneinnahme, insbesondere die HDL-Fraktion steigernde Statine zu denken. Lediglich Apo-A1, das Haupt-Apolipoprotein des HDL-Partikels, stellte einen Zusammenhang her, der dem Status des verminderten HDL-Cholesterins als

unabhängiger Risikofaktor entspricht: Es waren signifikant höhere Serumkonzentrationen des Apo-A1 unter den weiblichen koronargesunden Patienten gegenüber den Koronarpatientinnen nachweisbar ($p=0,046$). Indirekt weist auch der für die Gesamtheit der Patienten signifikant höhere LDL/HDL-Quotient in der Fallgruppe ($p=0,028$) auf eine Bedeutung der Cholesterinfraktionen für die Atherogenese hin.

Lipoprotein(a) [Lp(a)] ist zum einen dem LDL-Partikel sehr ähnlich, von dem es sich durch die kovalente Bindung des Apolipoprotein(a) [Apo(a)] unterscheiden lässt, und reichert sich ebenfalls in atherosklerotischen Läsionen an. Zum anderen besitzt Lp(a) durch Apo(a) eine große strukturelle Verwandtschaft zu Plasminogen, weshalb Lp(a) eine antiplasminogene Wirkung zugeschrieben wird. Es berührt somit die für die Entstehung kardiovaskulärer Ereignisse bedeutsamen Bereiche der Atherogenese und gestörten Thrombolysen. Die individuellen Lp(a)-Konzentrationen sind überwiegend genetisch determiniert, eine medikamentöse Senkung durch Nikotinsäure oder Östrogene wurde beschrieben (zusammengefasst bei Marcovina und Koschinsky 1998). Für Frauen liegt eine Tendenz zu ansteigenden Konzentrationen postmenopausal vor (Assmann und Schulte 1993). Die Bedeutung einer erhöhten Lp(a)-Konzentration als unabhängiger Risikofaktor der KHK ist umstritten; auch eine additive Risikosteigerung in Abhängigkeit von einer erhöhten LDL-Konzentration wird diskutiert (Marcovina und Koschinsky 1998).

In vorliegender Studie ergab die Analyse einer möglichen Assoziation der Lp(a)-Konzentration mit dem Koronarstatus abermals ein klar geschlechtsabhängiges Ergebnis (s. Abs. 4.1.3). War auch der Anteil der Patienten mit einer Lp(a)-Konzentration von mehr als 0,30 g/l (Herold 2003) unter den Frauen und Männern ungefähr gleich groß (32,3% bzw. 36,7%), so stellte sich doch nur unter männlichen Patienten eine hohe Lp(a)-Konzentration als signifikant assoziiert mit der KHK heraus ($OR=2,8$; $p=0,010$), während sich Patientinnen mit erhöhtem Lp(a) gleichförmig auf Fall- und Kontrollgruppe verteilten. Bei Betrachtung der rechtsschief verteilten Messwerte fielen die Ausreißer zu hohen Werten in allen Vergleichsgruppen auf. Auch nach den am Rande der PROCAM-Studie erhobenen Daten lag in Bezug auf Lp(a) geschlechtsunabhängig eine rechtsschiefe Verteilung vor (Assmann und Schulte 1993). In der vorliegenden Arbeit spiegelten sich bei Auswertung der Messwerte die Ergebnisse der kategorialen Auswertung wider, wobei der Median in der männlichen KHK-Gruppe mit 0,28 g/l deutlich größer war als in der männlichen Kontroll- und den weiblichen Vergleichsgruppen. Dies deutet trotz der von Ausreißern geprägten Verteilung auf eine Tendenz zu höheren Lp(a)-Konzentrationen unter männlichen Koronarpatienten hin. Dies könnte zur Erklärung der streng geschlechtsspezifischen Assoziation von Koronarstatus und Lp(a)-Konzentration in dieser Studienpopulation herangezogen werden. Entsprechend der Beobachtungen bezüglich der Hypercholesterinämie sind auch betreffs des Lp(a) mögliche protektive Einflüsse weiblicher Geschlechtshormone zu berücksichtigen.

5.1.3 Arterielle Hypertonie

Arterielle Hypertonie ist ein wesentlicher und verbreiteter Risikofaktor der KHK in Form koronarer Makro- und Mikroangiopathie. Ferner ruft arterielle Hypertonie -in mehr als 90% der Fälle selbst eine multifaktorielle, polygene Erkrankung (essentielle Hypertonie)- am Herzen eine Druckhypertrophie mit möglicherweise nachfolgender Kardiomyopathie und Insuffizienz des linken Ventrikels hervor. Auch andere Gefäßabschnitte und Organe werden typischerweise betroffen in Form hypertensiver Retino- und Nephropathie, zerebraler Ischämie und hypertensiver Massenblutung, Verschlusskrankheit der Extremitäten, Aortenaneurysmabildung und -dissektion. Die Prävalenz der arteriellen Hypertonie ist bei jungen Erwachsenen gering und erreicht im Alter hohe Werte. In der PROCAM-Studie lag die Prävalenz bei etwa 30% unter den 45- bis 54-Jährigen und etwa 40% unter den 55- bis 64-Jährigen Männern und Frauen (Assmann und Schulte 1993). Mit zunehmender Ausprägung der Hypertonie steigt auch das kardiovaskuläre Risiko an (van den Hoogen et al. 2000). In zahlreichen Studien hat sich die adäquate Hypertoniebehandlung als wichtiger Bestandteil der Primär- und Sekundärprävention der KHK erwiesen (zusammengefasst bei Gysan 2002).

Um den Langzeiteinfluss der Hypertonie zu erfassen und gegenüber den von verschiedenen Faktoren abhängigen aktuellen Blutdruck nicht zu vernachlässigen, wurden die Patienten in vorliegender Arbeit primär nach anamnestischen Angaben, nach vorhergehenden Diagnosestellungen, Befunden und therapeutischen Maßnahmen den Hypertonikern oder Nicht-Hypertonikern zugeteilt. Bei Berücksichtigung aktueller Blutdruckwerte galt ein Grenzwert von 140/90 mmHg, der sich an den Blutdruckbereichen der WHO-Richtlinien orientierte. Demnach waren 69,4% der weiblichen und 53,7% der männlichen Patienten Hypertoniker. Entgegen den Erwartungen war Hypertonie weder bei geschlechtsabhängiger einfaktorieller Betrachtung (Frauen: OR= 0,9; Männer: OR= 1,2; n.s.), noch im mehrfaktoriellen Modell (OR= 1,1; n.s.) mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziiert (s. Abs. 4.1.3). Es ist möglich, dass die Zusammensetzung der Kontrollgruppe aus Patienten ohne koronarangiographisch nachweisbarer Makroangiopathie, jedoch mit unterschiedlichen kardialen Erkrankungen (s.Abs. 4.1.1), den hohen Anteil von Hypertonikern auch in der Kontrollgruppe und damit die fehlende Assoziation von Hypertonie und Koronarstatus zu einem Teil erklärt. Darüber hinaus könnten Fehleinschätzungen nach anamnestischen Angaben oder durch aktuell veränderte Blutdruckwerte im Zusammenhang mit der Krankenhaussituation, akuten Ereignissen oder therapeutischen Maßnahmen entstanden sein. Schließlich muss kritisch hinterfragt werden, ob eine Einteilung in Hypertoniker und Nicht-Hypertoniker angesichts des zunehmenden koronaren Risikos in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer und dem Ausprägungsgrad nicht eine zu grobe Vereinfachung darstellt.

5.1.4 Diabetes mellitus

Wie arterielle Hypertonie, so führt auch eine jahrelange diabetische Stoffwechsellage durch mikro- und makroangiopathische Gefäßveränderungen zu verschiedenen Endorganschäden. Als morphologische Besonderheiten der diabetischen Makroangiopathie im Allgemeinen gelten eine Tendenz zu peripherer Verschlusslokalisation, zu diffusem Befall und das häufigere Auftreten einer Mönckeberg-Mediasklerose der unteren Extremitäten (Hauner und Scherbaum 1999). Diabetes mellitus verdoppelt das Risiko der Männer für eine KHK und verdreifacht es bei Frauen. Hinzu kommt, dass die 5-Jahres-Mortalität nach einem Myokardinfarkt für Diabetiker mit 55% höher ist, als bei Nichtdiabetikern mit 30% (Böhm et al. 2000). Auch durch seine häufige Assoziation mit weiteren Risikofaktoren wie Hyperlipidämie und Hypertonie unterliegen Patienten mit langjährigem Diabetes mellitus einem hohen koronaren Risiko.

Der häufige Typ2-Diabetes (90% der Diabetiker) tritt vor dem 50. Lebensjahr selten, dagegen im höheren Lebensalter mit zunehmender Prävalenz auf. Seine Gesamtprävalenz wird in Deutschland mit fünf Prozent (Herold 2003) angegeben, wobei angesichts der schleichenden Manifestation eine große Dunkelziffer wahrscheinlich ist. Der Typ1-Diabetes manifestiert sich meist schon bis zum 30. Lebensjahr und hat eine Prävalenz von 0,2-0,3% (Böhm et al. 2000). Daneben gibt es andere spezifische Formen des Diabetes mellitus.

In vorliegender Studie waren 17,4% der männlichen und 22,6% der weiblichen Patienten Diabetiker. Bei einfaktorieller Auswertung (s.Abs. 4.1.3) unterschieden sich die Verteilungen zwischen Koronarpatienten und Kontrollpatienten geschlechtsabhängig: In den männlichen Untergruppen war der Anteil an Diabetikern ungefähr gleich (18,2% in der Koronar- und 16,7% in der Kontrollgruppe). Dagegen war der Anteil der Diabetikerinnen in der KHK-Gruppe mit 29,0% nahezu doppelt so groß wie in der Kontrollgruppe mit 16,1%, was auf eine Assoziation der koronaren Makroangiopathie mit dem Diabetes mellitus hinweist. Allerdings war dieser Verteilungsunterschied bei einfaktorieller Betrachtung nicht signifikant (OR= 2,1; n.s.). Es kann nur vermutet werden, warum die beschriebenen Verteilungen, besonders in der Untergruppe der Männer, nicht deutlicher die Bedeutung des Diabetes mellitus als koronaren Risikofaktor widerspiegeln. Zum einen mag das relativ junge Alter der Patienten vor dem Hintergrund einer im Alter zunehmenden Prävalenz des Diabetes mellitus einerseits, und der erst nach Jahren der Erkrankung sich manifestierenden Endorganschäden andererseits, die geringe Assoziation erklären. Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass die Zusammensetzung der Kontrollgruppe einen relativ hohen Anteil von Diabetikern begünstigt hat, dadurch, dass Zuckerkrankheit -ähnlich der häufig assoziierten arteriellen Hypertonie- auch partiell unabhängig von einer koronaren Makroangiopathie zu kardiovaskulären Beschwerden und Erkrankungen führen kann, so durch Mikroangiopathie des Herzmuskels mit Störung der diastolischen Ventrikeldilatation und Minderung der Koronarreserve oder kardiale autonome Neuropathie mit Herzrhythmusstörungen (Hauner und

Scherbaum 1999). Schließlich könnte eine höhere Mortalität nach Myokardinfarkt für Diabetiker (s.o.) zu einer Selektion in der Fallgruppe geführt haben. Für die deutlichere Assoziation des Diabetes mit der KHK unter den Frauen könnte das insgesamt günstigere Risikoprofil relativ junger Frauen -beispielsweise in Hinsicht auf das Lipidprofil, die weiblichen Geschlechtshormone oder den geringeren Zigarettenkonsum- verantwortlich sein, wodurch der Erkrankung an Diabetes hier ein höherer Stellenwert für das koronare Risiko zukommen könnte.

Wie in Abs. 5.1.1 beschrieben, ergab sich im mehrfaktoriellen Modell aus fünf Hauptrisikofaktoren der KHK eine signifikante Interaktion der Faktoren Rauchen und Diabetes mellitus. Nach einer Stratifikation der Studienpopulation in Raucher und Nichtraucher (s.Abs. 4.2) stellte sich in der relativ kleinen Gruppe der Nichtraucher (n= 53) eine signifikante Assoziation des Diabetes mellitus mit der koronaren Makroangiopathie dar (OR= 9,8; $p < 0,01$). Dieser Zusammenhang war unabhängig von den anderen Faktoren des Modells und dem Faktor Geschlechtszugehörigkeit und er verstärkte sich bei Mitberücksichtigung des Alters. Unter Rauchern war die Zuckerkrankheit nicht signifikant mit dem Koronarstatus verbunden. Beide Ergebnisse bestätigten sich auch unter einfaktorieller Betrachtung nach Stratifizierung. Auffällig war der hohe Anteil von Diabetikern in der Gruppe nicht rauchender Koronarpatienten (52,9%) gegenüber dem Anteil in der Gruppe nicht rauchender Patienten ohne koronare Makroangiopathie (16,3%; Tab. 15), der wiederum dem Diabetikeranteil unter Rauchern der Fall- und Kontrollgruppe nahezu entsprach. Somit lag der Risikofaktor Diabetes in der Gruppe von Patienten mit koronarer Makroangiopathie besonders dann häufig vor, wenn ein anderer wesentlicher und häufigerer Risikofaktor -das Rauchen (s. Abs. 5.1.1)- nicht für die Herbeiführung der KHK verantwortlich sein konnte.

Das mit einer fortbestehenden diabetischen Stoffwechsellage einhergehende Risiko verlangt im Rahmen der Primärprävention der KHK und anderer Organmanifestationen eine sorgfältige, genaue normoglykämische Blutzuckereinstellung. Besonders in der Sekundärprävention der KHK gelten für Diabetiker strenge Maßstäbe bezüglich der Minderung des Einflusses anderer Risikofaktoren (Dietz und Rauch 2002).

5.1.5 Weitere Risikofaktoren

Mit dem Nachweis einer Assoziation von KHK und körperlicher Inaktivität in der Freizeit (OR= 2,6; $p = 0,003$; s. Abs. 4.1.3) bzw. einseitiger- und fettreicher Ernährung gegenüber bewusst gesundheitsorientierter Ernährungsweise (OR= 4,1; $p = 0,001$) im Gesamtkollektiv soll kurz auf zwei wichtige beeinflussbare Risikofaktoren hingewiesen werden.

Eine besondere Betonung in Hinblick auf die KHK als multifaktorielle und polygen verankerte Erkrankung verdient die Assoziation eines anamnestisch eruierbaren Myokardinfarktes bei Verwandten ersten und zweiten Grades mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie unter den Patienten dieser Fall-Kontroll-Studie (OR= 5,8; $p < 0,001$; s. Abs. 4.1.3). Diese Assoziation lag

unter den männlichen Studienteilnehmern mit Signifikanz vor (OR= 5,8; $p < 0,001$), während sie der kleineren Gruppe der Frauen etwas geringer ausgeprägt und nicht signifikant war (OR= 2,5; $p = 0,174$). Der beobachtete Zusammenhang kann sowohl auf der Weitergabe genetischer Risikokonstellationen, als auch risikoassoziierter Gewohnheiten (z.B. bezüglich Ernährung, Gesundheitsbewusstsein, körperlicher Aktivität, Nikotinkonsum) im familiären Rahmen beruhen. Auch in der prospektiven PROCAM-Studie war eine positive Familienanamnese (Myokardinfarkt vor dem 60. Lebensjahr) mit einem erhöhten Risiko für die Manifestation einer KHK verbunden (Assmann und Schulte 1993). Diese Ergebnisse deuten die Wichtigkeit der Berücksichtigung der Familienanamnese bei der Bewertung des Nachweises etablierter Risikofaktoren im Rahmen der Risikoevaluierung im klinischen Alltag an. Ferner ermutigen sie zur Suche genetischer Risikoindikatoren der KHK.

Faktoren der Gerinnung und Fibrinolyse erwiesen sich nicht als geeignet zur Unterscheidung der Patienten dieser Studienpopulation nach dem Koronarstatus. Lediglich für AT III, einen zentralen Inhibitor der Gerinnungskaskade, war eine innerhalb des Referenzbereiches geringfügig geminderte Aktivität unter Koronarpatienten mit Signifikanz nachweisbar (s. Tab. 13). Diese Beobachtungen schließen jedoch eine wichtige Bedeutung von Störungen der Gerinnung und Fibrinolyse im Einzelfall nicht aus.

5.2 Polymorphismen der Tumornekrosefaktoren und koronares Risiko

Die koronare Herzerkrankung ist von multifaktorieller Genese und stark mit zunehmendem Alter assoziiert. Nicht in allen Fällen ist eine Erkrankung durch den Nachweis etablierter klassischer Risikofaktoren zu erklären. Umgekehrt gibt es Patienten, die nach den etablierten Risikofaktoren unter einem hohen Risiko leben, ohne eine (frühe) Manifestation der Erkrankung zu erleiden. Schließlich stellt eine positive Familienanamnese bezüglich eines Myokardinfarktes einen unabhängigen Risikofaktor der KHK dar (Colditz et al. 1991). Zusammengenommen weist dies deutlich auf eine genetisch verankerte Beeinflussung des koronaren Risikos hin.

Die Identifizierung von Kandidatengenens als stabile Marker eines erhöhten Risikos für die Entwicklung bestimmter multifaktorieller Erkrankungen wie der KHK könnte zu einer früheren und klarer definierten Feststellung von individuellen Risikokonstellationen gerade in betroffenen Familien führen. Durch die so erlangte Einsicht wäre die Möglichkeit für eine frühe, gezielte Prävention durch die Einflussnahme auf umweltbedingte Faktoren gegeben. Auch in der Sekundärprävention könnte das Setzen strengerer Maßstäbe vor dem Hintergrund einer besonderen genetischen Risikokonstellation das Überleben des Patienten verbessern. Schließlich wären von einem Nachweis einer spezifischen Risikoassoziation ein Erkenntnisgewinn und ein Hinweis für weiterführende Forschung in Bezug auf die Bedeutung einzelner Faktoren im komplexen Geschehen der Pathogenese der KHK und neue Therapieansätze zu erwarten.

Auf der Suche nach solchen Kandidatengenenen sind Genprodukte, die im Zusammenhang mit der Pathogenese einer Erkrankung stehen, ein wichtiger Leitfaden. Die Tumornekrosefaktoren sind Zytokine, die in die inflammatorischen Vorgänge der Atherogenese eingeschaltet sind (s. Abs. 1.7).

5.2.1 Der (c.-308G>A)-TNF α -SNP - Ein Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie ?

Durch Austausch einer Base an Position –308 der Promotorregion des TNF α -Genlocus entsteht ein biallelischer SNP. Das häufigere Allel weist an dieser Position Guanosin auf, das seltenere Adenosin (Wilson et al. 1992).

In vorliegender Arbeit wurde dieser SNP auf die Assoziation seiner Genotypen mit der Manifestation einer koronaren Makroangiopathie in einer Fall-Kontroll-Studie hin untersucht (s. Abs. 4.3.1). Dabei wurden verschiedene genetische Modelle berücksichtigt. Die Allelfrequenz des seltenen A-Allels betrug 0,165; folglich war G-Homozygotie sehr häufig nachweisbar (71,0% der Probanden). Ein Heterozygotenstatus lag bei 25,0% der Patienten vor, und nur 4,0% der Probanden waren A-homozygot. Allelfrequenzen und Genotypverteilung glichen damit annähernd den Daten anderer Studien (vgl. z.B.: Koch et al. 2001, Bernard et al. 2003, Vendrell et al. 2003). In einer irischen Studienpopulation wurde eine deutlich höhere A-Allelfrequenz von 0,242 festgestellt (Herrmann et al. 1998).

In der vorliegenden Studie waren im Vergleich zwischen den Patienten mit koronarer Makroangiopathie und den koronarangiographisch unauffälligen Patienten der GG- und GA-Genotyp nahezu gleich verteilt (s. Abb. 5). Auffällig hingegen war die Ungleichverteilung des sehr seltenen AA-Genotyps mit sechs Personen in der Fall- und nur einer Person in der Kontrollgruppe, was als Hinweis auf einen möglichen Risikostatus gelten könnte. Die statistischen Vergleiche der verschiedenen genetischen Modelle zeigten aber auch im A-rezessiven Modell keine Signifikanz ($p=0,118$).

Aufgrund der Lokalisation des SNP in der Promotorregion des TNF α -Gens ist eine unmittelbare funktionelle Bedeutung der Mutation mit Einfluss auf die Entwicklung einer KHK durchaus vorstellbar. In der Tat fiel das A-Allel („TNF2“ nach Wilson et al. 1992) in verschiedensten Studien auf, sei es durch seine Kopplung an bestimmte HLA-Allele und die damit verbundene Verknüpfung mit bestimmten Erkrankungen oder deren Verläufe, sei es in Hinblick auf die Aktivierbarkeit des Promotors oder die TNF α -Aktivität selbst:

Wilson und Mitarbeiter stellten eine starke Kopplung des A-Allels mit dem HLA-A1-B8-DR3-Haplotypen dar und verknüpften damit gedanklich das A-Allel mit Autoimmunerkrankungen, die im Zusammenhang mit diesem Haplotypen bevorzugt auftreten (z.B. Typ1-Diabetes, SLE). Das G-Allel (auch „TNF1“) war assoziiert mit HLA-DR4 und –DR6 (Wilson et al. 1993). Da die Progression der koronaren Makroangiopathie eine Mitbeteiligung des Immunsystems erkennen

lässt, muss auch für sie die Möglichkeit einer graduellen Abhängigkeit von bestimmten assoziierten HLA-Merkmalen erwogen werden.

Es gibt auch Hinweise für eine Assoziation von bestimmten MHC-Haplotypen und dem Grad der TNF α -Aktivität, die eine Beeinflussung der TNF α -Regulation durch HLA-Gene der Umgebung, bzw. mit diesen verbundenen Elementen der Transkriptionssteuerung vermuten lassen: Eine hohe TNF α -Produktion durch mitogenaktivierte Lymphozyten oder Monozyten lag nach Jacob et al. (1990) häufig unter HLA-DR4- und –DR3-positiven gesunden Probanden vor, niedrige Produktion zeigten die Proben von HLA-DR2- und –DQw1-Positiven. Keine Korrelationen bestanden zwischen TNF α -Sekretion und verschiedenen HLA-A, -B, oder –C-Genotypen. Abraham und Mitarbeiter (1993) beschrieben anhand des Vergleichs von lymphoblastoiden Zelllinien mit verschiedenen HLA-Haplotypen eine höhere TNF α -Aktivität auffallend häufig in Verbindung mit Homozygotie für den HLA-A1-B8-DR3-Haplotypen. Auch Pociot et al. (1993) stellten anhand LPS-stimulierter Monozyten *in vitro* eine hohe TNF α -Sekretion unter HLA-DR3- und –DR4-positiven und eine niedrige unter HLA-DR2- und –DR5-positiven Haplotypen dar. Darüber hinaus konnten sie aber an erweiterten HLA-DR4-Haplotypen zeigen, dass sich das Ausmaß der TNF α -Sekretion je nach Kopplung an verschiedene RFLP-Allele des TNF β und polymorphe TNF-Mikrosatelliten signifikant unterscheiden kann. Damit wird unterstrichen, dass bei Betrachtung einzelner SNP stets auch an die Möglichkeit einer Assoziation mit anderen benachbarten bekannten oder noch unbekanntem möglicherweise funktionell bedeutsamen SNP dieses genreichen Chromosomenabschnitts zu denken ist.

Bouma und Mitarbeiter (1996) wiesen in Zellkulturen aus peripheren mononukleären Blutzellen von 30 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung und 12 gesunden Kontrollprobanden nach, dass Homozygotie für das G-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit signifikant niedrigeren TNF α -Konzentrationen einhergeht als Homozygotie für das A-Allel. Ferner betrachteten sie fünf Haplotypen der TNF-Region. Ein mit dem A-Allel im (c.-308G>A)-TNF α -SNP assoziierter Haplotyp (als „TNF-E“ bezeichnet) war mit signifikant höherer TNF α -Produktion im Vergleich mit der mittleren Produktion der anderen Haplotypen verbunden. Signifikant niedrigere Konzentrationen des TNF α lagen hingegen bei einem G-Allel assoziierten Haplotyp („TNF-C“) vor. Beide genannten Haplotypen unterschieden sich lediglich im (c.-308G>A)-TNF α -SNP. Der „TNF-E“-Haplotyp war häufig (71%) zusammen mit HLA-DR3 nachweisbar. Ein Vergleich der TNF α -Sekretion zwischen „TNF-E“-Proben mit und ohne HLA-DR3-Assoziation zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede, was eine funktionelle Bedeutung des (c.-308G>A)-TNF α -SNP wahrscheinlicher macht.

Somit liegt eine mögliche Erklärung für die in vorliegender Arbeit beobachtete Assoziation von A-Homozygotie im (c.-308G>A)-TNF α -SNP und einer frühen Manifestation der koronarer Makroangiopathie - einen proatherogenen Effekt des TNF α vorausgesetzt- in der höheren TNF α -Sekretion.

In Hinblick auf die funktionelle Bedeutung des (c.-308G>A)-TNF α -SNP zeigten Versuche unter Verwendung von Reportergenen und unter Kontrolle der beiden Allele in humanen transfizierten B-Zell-Linien, dass das A-Allel ein deutlich stärkerer Aktivator der Transkription ist, als das G-Allel (Wilson et al. 1997). Dies sei eine mögliche Erklärung für die Assoziation von A-Allel und höherer TNF α -Produktion, sowie einem schweren Verlauf von oder einer erhöhten Empfänglichkeit für Infektionskrankheiten, wie sie für die zerebrale Malaria (McGuire et al. 1994) und die Leishmaniose (Cabrera et al. 1995) beschrieben worden sind. Garrote et al. (2002) zeigten eine Assoziation des A-Allels des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit der Zöliakie in einer HLA-DQ2-positiven Population auf. Witte et al. (2002) beschrieben eine Assoziation von akutem Asthma mit Nachweisbarkeit des A-Allels. Die Ergebnisse von Kroeger und Mitarbeitern (1997) zeigten eine unterschiedliche Bindung von Kernfaktoren an die -308-Region in Abhängigkeit vom G- bzw. A-Allels und unterstrichen anhand von Reportergenanalysen die Beobachtungen von Wilson et al., dass mit dem A-Allel eine erhöhte Aktivierung der Transkription durch den TNF α -Promotor verbunden ist. Allerdings gelang in anderen Arbeitsgruppen der Nachweis einer direkten funktionellen Bedeutung des (c.-308G>A)-TNF α -SNP für die Transkription unter ähnlichen Versuchsbedingungen nicht (Stuber et al. 1996, Brinkman et al. 1996).

Die aufgeführten Forschungsergebnisse stellen die Kopplung des A-Allels des (c.-308G>A)-TNF α -SNP an andere immunregulative Gene, seine Assoziation mit verschiedenen Krankheiten oder deren Verläufen, sowie Hinweise auf eine direkte funktionelle Bedeutung für die Aktivität des TNF α -Promotors dar. Wengleich die Ergebnisse auch durch widersprechende Arbeiten zur Diskussion gestellt sind, machen sie, zusammen mit dem Wissen um die zentrale Stellung des TNF α in der Steuerung inflammatorischer Prozesse, die Möglichkeit eines Einflusses des A-Allels auch auf die Atherogenese plausibel.

Neben der vorliegenden Arbeit untersuchten auch andere Studien einen Zusammenhang des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit kardiovaskulären Erkrankungen: Vendrell et al. (2003) verglichen in einer spanischen Population zum einen Patienten mit KHK (mit oder ohne Myokardinfarkt) und eine Kontrollgruppe ohne KHK, definiert nach anamnestischer Beschwerdefreiheit und unauffälligem Ruheelektrokardiogramm. Die A-Allel-Träger (sie entsprachen den Heterozygoten oder AA-Homozygoten) waren signifikant häufiger nachweisbar in der Koronar-, als in der Kontrollgruppe (32,3% vs. 23,3%), und die A-Allelfrequenz war signifikant höher (0,188 vs. 0,121). Weitere Berechnungen deckten einen besonders hohen Anteil von A-Allel-Trägern (40,6%) in der Untergruppe der Koronarpatienten mit Typ 2-Diabetes auf, was auf eine besondere Assoziation des A-Allels mit KHK bei Typ 2-Diabetikern schließen ließ. Schließlich wurde im Vergleich von nach Alter, Körpermassenindex (BMI) und Krankheitsdauer angeglichenen Gruppen aus Typ 2-Diabetikern mit und ohne KHK eine signifikante Assoziation von KHK und A-Allel-Trägerschaft festgestellt, die nach geschlechtsabhängiger Auswertung im wesentlichen auf signifikanten Verteilungsunterschieden unter den weiblichen Diabetikerinnen beruhte (38,8% vs.

12,9%, $p < 0,05$), während bei den Männern lediglich eine deutliche Tendenz zu beobachten war (42,1% vs. 26,1%, n.s.). Somit gibt es nach Vendrell et al. eine Assoziation des A-Allels mit der KHK, die besonders ausgeprägt ist unter Typ 2-Diabetikerinnen. Die Ergebnisse Vendrells et al. entsprechen daher tendenziell der anhand der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit aufgestellten These einer Assoziation von A-Homozygotie und koronarem Risiko, wobei hier keine Assoziation nach einem A-dominanten Modell nachweisbar war. Eine weitergehende vergleichende Untersuchung in der Untergruppe der Diabetiker konnte hier aufgrund kleiner Fallzahlen nicht erfolgen.

In einer australischen Studie wurden 641 Kaukasier nach Zuweisung für eine Koronarangiographie zusätzlich genotypisiert, und verschiedene Risikofaktoren der KHK registriert. Die A-Allelfrequenz betrug 0,174. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied der A-Allelfrequenz bei Koronarpatienten (0,178) und Patienten ohne Nachweis einer signifikanten Stenose (0,161). Es wurde auch keine Assoziation des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit Übergewicht, Diabetes, Hypertonie oder der Vorgeschichte einer instabilen Angina pectoris oder eines Myokardinfarktes angegeben. Dafür wurden signifikant höhere Spiegel des Oxidans Homocystein und des Antioxidans extrazelluläre Superoxiddismutase unter A-Allel-Trägern beobachtet (Wang und Oosterhof 2000). Die vom Ergebnis der vorliegenden Arbeit abweichenden Beobachtungen lassen sich am ehesten mit dem höheren Altersdurchschnitt in der Studie von Wang und Oosterhof (55,7a vs. 48,5a bei Männern und 55,8a vs. 52,6a bei Frauen) oder der abweichenden Bevölkerungszusammensetzung in Australien erklären.

Herrmann et al. (1998) verglichen männliche Myokardinfarktpatienten der ECTIM-Studie aus Frankreich bzw. Nord-Irland mit altersangeglichenen Kontrollprobanden derselben Regionen in Bezug auf fünf verschiedene TNF α -SNP. Kein Allel oder Genotyp war signifikant mit dem Infarktstatus assoziiert, jedoch war in der nordirischen „Hochrisiko“-Population zum einen die A-Allelfrequenz des (c.-308G>A)-TNF α -SNP in Fall- und Kontrollgruppe signifikant größer als in den französischen Studiengruppen (0,252 vs. 0,143 in den Fall- und 0,242 vs. 0,157 in den Kontrollgruppen, $p < 0,0001$). Zum anderen lag dort eine Tendenz zur Häufung der A-Homozygoten in der Fallgruppe vor (8,2% vs. 3,4%, $p = 0,06$), wie sie auch in vorliegender Arbeit beschrieben wurde (6,8% vs. 1,1%, $p = 0,118$). Keine solche Tendenz zeigte sich in der französischen Population. Ebenfalls nur unter den nordirischen Myokardinfarktpatienten zeigte sich ein signifikant größerer Anteil von A-Allel-Trägern in der Reinfarktgruppe als in der Erstinfarktgruppe (58,1% vs. 35,5%, $p < 0,01$). Sowohl in den Fall-, als auch in den Kontrollgruppen aus Frankreich und Nordirland wiesen A-Allel-Träger signifikant häufiger Myokardinfarkte in der Elterngeneration auf. Dieser Zusammenhang mag auf der einen Seite von geringer Bedeutung sein, da er für Fall- und Kontrollgruppen gleichermaßen galt. Auf der anderen Seite unterliegt diese Betrachtung nicht einem theoretischen Selektionsbias, weil auch zurückliegende tödliche Infarkte berücksichtigt werden. Keine Assoziationen mit dem (c.-

308G>A)-TNF α -SNP ergaben sich hinsichtlich von Blutfettwerten, hämostatischen Parametern oder Blutdruckwerten. Parameter des Glucosestoffwechsels wurden nicht berücksichtigt, jedoch ergab sich in der gesamten Studienpopulation eine signifikante Assoziation von A-Allel und Übergewicht ($p < 0,004$). Zusammenfassend ergeben die Studien von Herrmann et al. (1993) keine einheitliche Aussage zur Assoziation des A-Allels und dem Risiko einer KHK. Zur unmittelbaren Vergleichbarkeit mit der vorliegenden Studie fehlt eine koronarangiographische Charakterisierung der Kontrollgruppen und der nordirischen Fallgruppe.

Ergebnisse von Koch und Mitarbeitern (2001) sprechen gegen eine Rolle des (c.-308G>A)-TNF α -SNP für die Entwicklung einer KHK. Sie verglichen Allelfrequenzen und Genotypverteilungen auch dieses SNP zwischen alters- und geschlechtsangeglichenen Gruppen aus Patienten kaukasischer Abstammung mit angiographisch gesicherter KHK ($n = 998$) bzw. mit altem oder akutem Myokardinfarkt ($n = 793$) und einer Kontrollgruppe aus angiographisch gesichert koronargesunden Personen ($n = 340$). Die Frequenz des A-Allels betrug 0,16 in der Kontroll- und KHK-Gruppe, bzw. 0,15 in der Infarktgruppe. Damit entsprach sie gut der Frequenz in der eigenen Studienpopulation (0,165). Wie die Allelfrequenzen in den Vergleichsgruppen, so unterschieden sich auch die Verteilungen der Genotypen nur geringfügig und nicht signifikant. Der AA-Genotyp, in vorliegender Arbeit tendenziell häufiger in der Gruppe der Koronarpatienten vorkommend, war in der Studie Kochs zu 3,8% in der Kontrollgruppe, zu 2,8% in der KHK-Gruppe und zu nur 1,6% in der Infarktgruppe vertreten. Der GA-Genotyp lag mit Anteilen von jeweils 24,4%, 26,9% und 27,1% in diesen Gruppen vor. Somit spiegeln sich die Häufigkeiten der Genotypen in dieser Arbeit aus Süddeutschland insgesamt gut in den entsprechenden Anteilen in vorliegender Arbeit wieder. Die These, das A-Allel oder der AA-Genotyp könnten in Beziehung zur koronaren Herzerkrankung stehen, wird jedoch nicht gestützt.

Obduktionen von finnischen Männern ($n = 700$), die im Alter von 33 bis 70 Jahren durch kardiovaskuläre (41,1%) oder andere Erkrankungen (20,0%) bzw. durch Gewalt (38,9%) an einem plötzlichen Tod verstorben waren, ergaben nach gezielter Untersuchung keine Hinweise auf eine Assoziation des (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit dem Nachweis schwerer Koronarstenosen, akuter Myokardinfarkte oder Koronarthrombosen, ferner bestand keine Beziehung des Genotyps zu den Todesursachen. Allerdings wurde anhand morphometrischer Analysen eine allgemeine Tendenz zu ausgedehnteren arteriosklerotischen Veränderungen bei den seltenen A-Homozygoten ($n = 10$) des(c.-308G>A)-TNF α -SNP besonders in Bezug auf fibrotische Läsionen und Kalzifizierungen beschrieben. Eine entsprechende Tendenz -mit Signifikanz für die fibrotischen Läsionen und Kalzifizierungen der Arteria circumflexa sinistra- wurde für Homozygotie im G-Allel des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP (ebenfalls nach Zitation Z15026, s. Abs. 5.2.3) festgestellt (Keso et al. 2001).

Auch an der Plaquedestabilisierung und damit der Erhöhung der Gefahr akuter kardiovaskulärer Ereignisse hat TNF α wahrscheinlich einen Anteil (s. Abs. 1.7). Bernard und Mitarbeiter (2003)

lenkten den Blick auf eine möglicherweise vorrangige Bedeutung des (c.-308G>A)-TNF α -SNP für das Auftreten akuter Koronarsyndrome vor dem Einfluss auf die Entstehung makroangiopathischer Läsionen. Sie verglichen 299 angiographisch gesicherte männliche KHK-Patienten jeder Altersgruppe in drei Untergruppen, gekennzeichnet durch stabile oder instabile Angina pectoris oder Myokardinfarkt. In einer multivariaten Analyse in der die Gruppe aus Patienten mit stabiler Angina pectoris als Referenzgruppe diente, zeigte sich nur die A-Allel-Trägerschaft und die Anzahl der stenosierten Koronarien als signifikant ($p < 0,05$) mit dem Status der instabilen Angina pectoris assoziiert. Einbezogen in die multivariate Analyse wurden auch die wesentlichen klassischen Risikofaktoren der KHK. Anders als in Bezug auf die instabile Angina pectoris ergab eine entsprechende Analyse mit dem Infarktstatus als abhängige Variable jedoch keine signifikante Assoziation mit der A-Allel-Trägerschaft. Diese Ergebnisse fanden auch in univariaten Betrachtungen ihre Bestätigung. So waren die Träger des A-Allels in der Gruppe aus Patienten mit instabiler Angina pectoris signifikant häufiger als in der Gruppe mit stabiler Angina pectoris (39,66% vs. 23,16%, $p < 0,05$), während die Infarktgruppe keinen erhöhten Anteil an A-Allel-Trägern vorwies (23,97%). In Hinsicht auf die A-Homozygotie ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, wenngleich A-Homozygote in der Gruppe mit instabiler Angina pectoris häufiger (6,9%) vertreten waren als in den anderen Gruppen (2,11% bzw. 4,11%). Das OR für instabile Angina pectoris war für den AA-Genotyp mit 3,4 noch höher, als für den GA-Genotyp mit 1,8, was trotz fehlender Signifikanz in diesen Untergruppen der A-Allel-Träger auf einen möglichen Gendosiseffekt hindeuten könnte. Mit dieser Arbeit über verschiedene Formen der KHK schrieben Bernard et al. (1998) TNF α und dem (c.-308G>A)-TNF α -SNP eine besondere Bedeutung für die Plaquestabilisierung zu, wobei für die Herbeiführung eines Myokardinfarktes zusätzliche Faktoren und Mechanismen ausschlaggebend sein könnten. Der förderliche Einfluss von TNF α auf Matrixdestabilisierung und Zelluntergang in komplexen Läsionen (s. Abs. 1.7), sowie Berichte über eine Assoziation des A-Allels mit höherer TNF α -Aktivität (z.B. Bouma et al. 1996, Wilson et al. 1997) tragen zur Plausibilität dieser These bei. In Hinblick auf die Myokardinfarktgruppe in der Arbeit von Bernard und Mitarbeitern (2003) ist anzumerken, dass sie ein jüngeres Durchschnittsalter als die anderen beiden Gruppen aufwies (59 vs. 65 Jahre) und einen geringeren Anteil an Hypertonikern beinhaltete (47% vs. 59% und 62%). Sie schloss ferner sowohl Patienten mit akutem, als auch länger zurückliegendem Infarkt ein, und schließlich war auch hier die grundsätzliche Möglichkeit eines Selektionsbias gegeben.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass nach eigenen Ergebnissen die seltene A-Homozygotie im (c.-308G>A)-TNF α -SNP auffallend häufig mit dem Nachweis einer früh manifestierten koronaren Makroangiopathie vorlag. Jedoch war in vorliegender Studie keine signifikante Assoziation dieses SNP mit der KHK in verschiedenen genetischen Modellen nachweisbar. In der Literatur finden sich in Bezug auf das A-Allel deutliche Hinweise auf die Kopplung mit krankheitsassoziierten HLA-Haplotypen und auf Assoziationen mit entzündlichen oder infektiösen

Erkrankungen bzw. deren Verläufen (Jacob et al. 1990, Abraham et al. 1993, Pociot et al. 1993). Ferner wurde insbesondere ein steigender Einfluss des A-Allels auf die Aktivierbarkeit des Promotors bzw. auf die TNF α -Expression beschrieben (Wilson et al. 1997, Bouma et al. 1996), eine mögliche Erklärung für die in vorliegender Studie beobachtete Assoziation von A-Homozygotie und KHK. Gestützt wird diese These durch weitere Studien, die Assoziationen des A-Allels sowohl mit der Erkrankung im Allgemeinen (Vendrell et al. 2003), als auch mit dem Risiko myokardialer Reinfarkte, einer familiären Vorbelastung für Myokardinfarkte (Herrmann et al. 1998) oder mit der instabilen Angina pectoris (Bernard et al. 2003) im Speziellen beschrieben haben. Einem Teil dieser Ergebnisse stehen die Aussagen anderer Arbeiten entgegen (Stüber 1996, Brinkmann 1996, Wang und Oosterhof 2000, Koch 2001). Allgemein wurde der Nachweis einer spezifischen Bedeutung der A-Homozygotie durch die Seltenheit dieses Genotyps erschwert. Vermutlich wird die Bedeutung des (c.-308G>A)-TNF α -SNP für die KHK deshalb auch weiterhin kontrovers diskutiert werden.

5.2.2 Kein Hinweis auf eine Bedeutung des C13R-TNF β -cSNP als Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie

Inflammatorische Prozesse steuern die Entstehung und Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen, proinflammatorische Zytokine vermitteln dabei die endotheliale Aktivierung, die Ansammlung und Aktivierung von Entzündungszellen, die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen der Gefäßwand und den damit verbundenen Umbau der extrazellulären Matrix. Die Tumornekrosefaktoren TNF α und TNF β wirken in ihrer homotrimeren Form auf gemeinsame Rezeptoren (TNFR1 und 2), ihre Gene liegen im Abstand von 1-2 kb auf Chromosom 6p21 und weisen strukturelle Gemeinsamkeiten auf (dargelegt in Abs. 1.6). Wenngleich TNF α in der Literatur oft das Hauptaugenmerk galt, liegt es ebenfalls nahe, dem lymphozytären TNF β eine Bedeutung für die Entwicklung der Arteriosklerose zuzuschreiben. Zudem wirkt TNF β auf zusätzliche Rezeptoren der TNFR-Superfamilie, so als Bestandteil des LT α 1 β 2-Heterotrimeres auf den LT β -Rezeptor. Mutationen des TNF β -Gens könnten somit das Muster entzündlicher Prozesse auch in der Pathogenese der koronaren Makroangiopathie beeinflussen.

In vorliegender Arbeit wurde die Verteilung der Genotypen zweier cSNP des TNF β -Gens unter den Patienten bestimmt, und eine Assoziation einzelner Genotypen mit der koronaren Makroangiopathie anhand verschiedener genetischer Modelle überprüft.

Der erste cSNP, C13R-TNF β -cSNP (c.206T>C), ist im Bereich des Exons 2 lokalisiert und durch einen Basenaustausch von Thymin zu Cytosin bzw. einen resultierenden Austausch der AS 13 der Signalsequenz von Cystein zu Arginin gekennzeichnet. Die Frequenz des C-Allels betrug 0,293 unter 188 Patienten (s. Abs. 4.3.2). Der Anteil T-Homozygoter in der Gruppe der Koronarpatienten war etwas größer als in der Kontrollgruppe (52,1% vs. 43,6%). Umgekehrt verhielt es sich mit der

Heterozygotie (41,5% vs. 50,0%), da die seltene C-Homozygotie in beiden Vergleichsgruppen einen Anteil von 6,4% ausmachte. Die Auswertung der Verteilungen der Genotypen in Fall- und Kontrollgruppe nach einem kodominanten, einem C-rezessiven und einem C-dominanten Modell ergab keine signifikanten Unterschiede und auch keinen deutlichen Hinweis auf eine mögliche Bedeutung des C13R-TNF β -cSNP als Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie. Eine frühere Überprüfung des Zusammenhangs des C13R-TNF β -cSNP und der KHK durch andere Arbeitsgruppen ist uns nicht bekannt.

5.2.3 Der T60N-TNF β -cSNP - Ein genetischer Risikomarker der koronaren Makroangiopathie ?

Mit dem T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) wurde in vorliegender Arbeit ein weiterer TNF β -cSNP in Hinsicht auf einen möglichen Status als Risikoindikator der KHK untersucht: Er ist in Exon 3 lokalisiert. Der Wechsel von Cytosin zu Adenin ist mit einem AS-Austausch von Threonin zu Asparagin an Position 60 verbunden, die der Position 26 des reifen Proteins entspricht. Es ist vorstellbar, dass diese Sequenzvariation auch höhere Ebenen der Proteinstruktur beeinflusst und damit mutmaßlich die Aktivität und Wirksamkeit des reifen Zytokins verändert. Die Frequenz des selteneren A-Allels betrug 0,333 unter 174 Patienten der vorliegenden Studie und entsprach damit gut dem Anteil von 0,35 in einer britischen Studie (Fanning et al. 1997). Bei ein- und mehrfaktorieller Betrachtung stellte sich für den selteneren AA-Genotyp im A-rezessiven Modell ein signifikant erhöhtes OR für die Erkrankung an koronarer Makroangiopathie heraus (s. Abs. 4.3.3 und 4.4). Damit wurde durch die vorliegende Studie ein deutlicher Hinweis dafür gegeben, dass mit A-Homozygotie im T60N-TNF β -cSNP ein erhöhtes Risiko für die frühe Entwicklung einer koronaren Makroangiopathie einhergehen könnte. Unter den Heterozygoten war der Anteil der koronargesunden Patienten höher als der der Koronarpatienten. Somit errechnete sich bei Zugrundelegung eines kodominanten Modells für den AA-Genotyp nur in Bezug auf den Heterozygotenstatus ein signifikant erhöhtes OR (OR= 4,0; p= 0,01), wengleich auch in Bezug auf den Wildtyp eine gleichgerichtete Tendenz erkennbar wurde (OR= 2,4; p< 0,10; s. Tab. 20).

Im Folgenden soll der Frage nach einer möglichen funktionellen Bedeutung dieses cSNP oder seines unmittelbaren Bezugs zur KHK anhand unterschiedlicher Forschungsergebnisse nachgegangen werden: Messer und Mitarbeiter (1991) untersuchten einen vorbekannten, zuvor dem TNF α -Genort zugeordneten NcoI-RFLP. Dabei stellten sie zum einen klar, dass der biallelische SNP in dem Bereich des Intron 1 des TNF β -Gens lokalisiert ist (im Weiteren nach Zitation Z15026 als (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP bezeichnet), und sie bezeichneten das einem 5,3kb-NcoI-Fragment assoziierte G-Allel als „TNF β *1“, das mit dem Nachweis eines 11kb-Fragmentes verbundene A-Allel als „TNF β *2“. Zum anderen erkannten sie eine feste Verknüpfung des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP mit dem hier diskutierten T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) in Exon

3: Das G-Allel in Intron 1 war assoziiert mit dem A-Allel in Exon 3 (AS 60 ist Asparagin), das A-Allel in Intron 1 mit dem C-Allel in Exon 3 (AS 60 ist Threonin). Diese enge Kopplung beider SNPs wurde im Rahmen der Analyse von Kopplungsgruppen der TNF-Region durch Fanning und Mitarbeiter (1997) indirekt mit nur einer Ausnahme unter 201 Proben aus der britischen Bevölkerung bestätigt. Auch Abraham und Mitarbeiter beschrieben bei vergleichender Analyse des TNF β -Gens zweier MHC-Haplotypen das gemeinsame Vorliegen der Variationen in Intron 1 und Exon 3 (Abraham et al. 1991). Darüber hinaus konnten Messer et al. (1991) anhand von mitogenstimulierten Lymphozyten von gesunden, für das eine oder andere Allel des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP homozygoten Probanden zeigen, dass Homozygotie für das G-Allel mit einer signifikant höheren Stimulierbarkeit der Produktion von TNF β durch gesteigerte transkriptionelle Aktivität einhergeht. In Anbetracht der geschilderten Kopplung des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP mit dem T60N-TNF β -cSNP kann der gleiche Effekt auch für den in vorliegender Arbeit als möglichen Risikoindikator der KHK identifizierten AA-Genotyp des T60N-TNF β -cSNP postuliert werden.

Dem stehen die Ergebnisse der Beobachtungen von Poicot et al. (1993) an stimulierten peripheren Blutzellen entgegen. Studien von Bouma et al. (1996) zeigten an aktivierten peripheren Blutzellen eine Tendenz zu gesteigerter TNF β -Produktion in Beziehung zur G-Homozygotie im (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP ohne Signifikanz. Allerdings war das G-Allel auch in einem Haplotypen mit besonders niedriger TNF α - und TNF β -Sekretion vertreten.

Wie das A-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP, so war auch das G-Allel des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP in einer venezolanischen Studie signifikant mit der schwer verlaufenden mukokutanen Leishmaniose assoziiert (Cabrera et al. 1995). Dagegen beschrieben Stüber und Mitarbeiter (1996) einen signifikant höheren Anteil an Überlebenden einer schweren Sepsis unter Heterozygoten des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP, als unter A-Homozygoten, sowie eine signifikant niedrigere A-Allelfrequenz unter den Überlebenden.

Schon in Abschnitt 5.2.1 wurden die Ergebnisse von Keso et al. (2001) dargestellt, die zwar keinen Zusammenhang des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP mit schwerer Koronarstenose, Koronarthrombose, akutem Myokardinfarkt oder der Todesursache unter plötzlich verstorbenen Finnen (n=700) feststellen konnten, aber eine Tendenz zu morphometrisch ausgedehnteren Läsionen in verschiedenen Stadien der koronaren Makroangiopathie bei G-Homozygotie beschrieben.

Jüngste Ergebnisse der Arbeit von Ozaki und Mitarbeitern (2002) geben der These, SNPs des TNF β -Genlocus seien mögliche Risikoindikatoren im Zusammenhang mit der KHK, neue Nahrung: In einer breit angelegten Fall-Kontroll-Studie wurden 92 788 SNPs untersucht. Dabei wurde zunächst festgestellt, dass die G-Homozygotie im (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP (dort als „LTA intron1 252 A>G“-SNP bezeichnet) mit dem Erleiden eines Myokardinfarktes assoziiert war. Dieses Ergebnis für das G-rezessive Modell wurde im Vergleich zwischen einer Fallgruppe aus japanischen Patienten mit Myokardinfarkt (n= 1133) und einer altersadjustierten

Kontrollgruppe aus der japanischen Bevölkerung (n= 872; OR= 1,75, p= 0,000018) bzw. einer nicht altersadjustierten Kontrollgruppe (n= 1006; OR= 1,69, p= 0,000022) bestätigt. Die weitergehende Analyse einer Region von etwa 130kb auf Chromosom 6p21, die neben dem TNF β -Genort auch die Gene von TNF α , LT β , NFKBIL1 und BAT1 umfasste, ergab vier weitere SNPs, die eng assoziiert waren mit dem Auftreten eines Myokardinfarktes in der selben Studienpopulation. Wie unter Voraussetzung der oben beschriebenen engen Kopplung nicht anders zu erwarten, befand sich unter jenen auch der in vorliegender Arbeit untersuchte, mit dem AS-Austausch (Threonin \rightarrow Asparagin) an Position 60 verbundene T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) in Exon 3 (bei Ozaki et al. (2002) als „LTA exon3 804C \rightarrow A, T26N“ bezeichnet; dort AS-Nummerierung ohne Einbezug des Signalpeptids). Für diesen cSNP ergab sich in der Studie von Ozaki et al. (2002) in einem A-rezessiven Modell für den AA-Genotyp eine signifikante Assoziation mit dem Infarktstatus (altersadjustierter Vergleich: OR= 1,79, p= 0,0000073). Der Anteil des AA-Genotyps in der Fall- (18,8%) bzw. Kontrollgruppe (11,8%) entsprach gut den Verhältnissen in der vorliegenden Territorialstudie aus dem mitteldeutschen Raum (18,4% bzw. 6,9%). Ferner gehörte das A-Allel des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) zu dem einzigen unter den fünf häufigsten Haplotypen aus zehn SNPs des von Ozaki et al. (2002) untersuchten Chromosomenabschnitts, der signifikant mit dem Auftreten eines Myokardinfarktes assoziiert war. Weiterführende Untersuchungen von Ozaki und Mitarbeitern (2002) blickten auf funktionelle Aspekte der SNPs. Zum einen konnten sie feststellen, dass mit dem G-Allel des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP eine anderthalbfach gesteigerte transkriptionelle Aktivität in einem Luciferase-Assay verbunden war, und beobachteten eine stärkere Bindung von Kernfaktoren an ein das G-Allel beinhaltende Oligonukleotid, was die Ergebnisse von Messer et al. (1991) stützt (s.o.). Zum anderen untersuchten sie mit rekombinantem Wildtyp-TNF β des T60N-TNF β -cSNP (AS60: Threonin) und der TNF β -Mutante (AS60: Asparagin) die unterschiedliche Fähigkeit zur Induktion der Expression von Adhäsionsmolekülen und Zytokinen in kultivierten glatten Muskelzellen aus Herzkranzgefäßen. Es zeigte sich, dass die TNF β -Mutante die Transkription von VCAM1 doppelt so stark steigerte wie das Wildtypzytokin, und dass die Mutante im Gegensatz zum Wildtypzytokin die Transkription des Selectin E induziert.

Die Ergebnisse von Ozaki et al. (2002) untermauern die anhand der Ergebnisse vorliegender Studie erhobene These, dass A-Homozygotie für den hier analysierten T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) mit einem erhöhten Risiko für die frühe Erkrankung an koronarer Makroangiopathie einhergeht, wengleich bei Ozaki et al. (2002) für die Fallgruppe der klinische Nachweis eines Myokardinfarktes und nicht der koronarangiographische Nachweis einer Makroangiopathie Einschlusskriterium war. Durch die Beschreibung einer stärkeren Induktion der Transkription von Adhäsionsmolekülgengen in kultivierten glatten Muskelzellen der Herzkranzgefäße durch die

TNF β -Mutante wurde ein mit dem AS-Austausch verbundener funktioneller Aspekt der Mutation aufgedeckt, der theoretisch in Verbindung mit der Pathogenese der KHK zu bringen ist.

Die Ergebnisse einer süddeutschen Studie stehen jedoch den Aussagen von Ozaki et al. (2002) in Bezug auf den (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP in Intron 1 entgegen. Eine enge Kopplung beider SNPs vorausgesetzt, widersprechen sie damit auch den eigenen Beobachtungen bezüglich des T60N-TNF β -cSNP in Exon 3: Koch et al. (2001) verglichen Allelfrequenzen und Genotypverteilungen u.a. des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP zwischen alters- und geschlechtsangeglichenen Gruppen aus Patienten kaukasischer Abstammung mit angiographisch gesicherter KHK (n= 998) bzw. mit altem oder akutem Myokardinfarkt (n= 793) einerseits und angiographisch unauffälligen Kontrollprobanden (n= 340) andererseits. Dabei konnten sie keine Assoziationen feststellen. Im Vergleich zu der japanischen Studienpopulation Ozakis (2002) war in der Studie Kochs et al. (2001) der Anteil G-Homozygoter in der Infarktgruppe deutlich kleiner (8,4% vs. 18,4%) und der Anteil G-Homozygoter in der Kontrollgruppe annähernd gleich (10,3% vs. 11,5%).

Ein direkter Vergleich der Ergebnisse Kochs et al. (2001) mit den eigenen ist erneut nur unter Annahme der nahezu vollständigen Kopplung des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP und des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) möglich (s.o.). Die Allelfrequenzen der demnach verbundenen Allele waren im Vergleich beider Studien annähernd gleich (G-Allelfrequenz in Intron 1 bei Koch et al.: je nach Gruppe zwischen 0,31 und 0,32; A-Allelfrequenz in Exon 3, in vorliegender Arbeit: insgesamt 0,33). Beide Erhebungen erfolgten an ähnlichen Populationen, die eine im süd-, die andere im mitteldeutschen Raum. Dennoch ergab die Studie Kochs keine Assoziation zwischen KHK bzw. Myokardinfarkt und Genotypverteilung des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP, was den Ergebnissen vorliegender Arbeit in Bezug auf den T60N-TNF β -cSNP widerspricht. Der Hauptunterschied in der Zusammensetzung beider Studienpopulationen liegt -soweit feststellbar- in der Altersstruktur: Lag das Durchschnittsalter in den Vergleichsgruppen bei Koch et al. bei zirka 63 Jahren, waren die Patienten bei Eintritt in die vorliegende Studie mit durchschnittlich 49,5 Jahren in der Fall- und 49,9 Jahren in der Kontrollgruppe deutlich jünger. Dieser Unterschied in der Altersstruktur kann von Bedeutung sein, wenn man bedenkt, dass die Entwicklung makroangiopathischer Läsionen mit zunehmendem Alter vor dem Hintergrund des physiologischen Alterns oder einer längeren kumulativen Beeinflussung durch konventionelle Risikofaktoren eher häufiger und in fortgeschritteneren Stadien auftritt. Dagegen bekräftigt eine Assoziation des pathologischen Koronarstatus mit einer bestimmten genetischen Konstellation besonders in jüngeren Jahren doch eine mögliche Bedeutung dieser Genkonstellation für das Fortschreiten der Arteriosklerose. Man kann ferner mutmaßen, dass ein solcher genetischer Risikoindikator durch eine Verkürzung der Lebenserwartung unter Koronarpatienten eines höheren Lebensalters seltener nachweisbar sein könnte (Selektionsbias). Allerdings merkten Koch et al. (2001) ohne nähere Ausführung zusätzlich an, dass in ihren Studiengruppen auch unter den unter 60-jährigen Patienten keine Assoziationen von Genotypverteilungen oder Allelfrequenzen in Bezug auf die KHK oder

den Infarktstatus zu beobachten waren. Neben einer abweichenden Altersstruktur beider Studienpopulationen setzten sie sich auch in Bezug auf die Geschlechtsstruktur und das Vorkommen konventioneller Risikofaktoren unterschiedlich zusammen.

Einen wichtigen Hinweis darauf, dass TNF β an sich eine größere Bedeutung für die Entstehung arteriosklerotischer Läsionen haben könnte als der in diesem Zusammenhang häufiger untersuchte TNF α (s. Abs. 1.7), lieferten die Forschungsergebnisse von Schreyer et al. (2002). Sie wiesen anhand von Mausmodellen zum einen die Expression von TNF β (LT α) sowohl in den lymphozytenarmen frühen arteriosklerotischen Läsionen, als auch in komplexeren, lymphozytenreicheren Läsionen des Aortensinus immunhistochemisch nach. Zum anderen induzierten sie durch atherogene Diät frühe „fatty streak“-Läsionen in den Aortensinus verschiedener Knock-out-Mäuse und analysierten deren Ausmaß. Dabei stellte sich heraus, dass das Ausmaß der Läsionen in LT α -defizienten Mäusen signifikant kleiner war als in entsprechenden Wildtyp-Mäusen, was auf eine wichtige Rolle dieses vorwiegend lymphozytären Zytokins in der Pathogenese hinweist. Dabei könnte ein Teil dieses Effektes auf den niedrigeren Gesamtcholesterinspiegel bei relativ erhöhter HDL-Fraktion in LT α -defizienten Mäusen zurückzuführen sein. Anders beeinflusste das Fehlen von TNF α die Größe der Läsionen nicht, was die Bedeutung dieses Faktors zumindest für die Entstehung früher lipidreicher Läsionen erneut in Frage stellt (vgl. Abs. 1.7). Weitere Versuche von Schreyer und Mitarbeitern (2002) zeigten, dass eine Defizienz des TNFR1 zu einer Vergrößerung der Läsionen führte, während ein Fehlen des TNFR2 das Läsionsausmaß im Vergleich zu Wildtypmäusen nicht beeinflusste. Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen aus der Beurteilung des Einflusses von TNF-Liganden einerseits und ihren Rezeptoren andererseits deuten abermals auf die Komplexität der Interaktionen entzündungssteuernder Prozesse hin. Schreyer et al. (2002) vermuteten den Einfluss anderer noch undefinierter Mitglieder der TNF-Liganden- oder TNF-Rezeptoren-Familie. So könnten die LT α -medierten proatherogenen Effekte auch eine Folge der LT β R-Stimulation durch LT α 1 β 2-Heterodimere sein (s. Abb.1). Unabhängig davon schreibt diese Arbeit dem TNF β (LT α) einen die Atherogenese fördernden Einfluss zu.

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie konnte erstmals an europäischen Kaukasiern aus dem mitteldeutschen Raum nachgewiesen werden, dass die A-Homozygotie für den T60N-TNF β -cSNP nach einem A-rezessiven Modell signifikant und von wesentlichen klassischen Risikofaktoren unabhängig mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziiert ist. Damit stellt die A-Homozygotie, die bei etwa jedem Achten der teilnehmenden Patienten nachweisbar war, möglicherweise einen bedeutsamen genetischen Risikoindikator der KHK dar. Diese Aussage sollte durch nachfolgende prospektive Studien überprüft werden. Noch während der Fertigstellung vorliegender Arbeit wurde die Assoziation der A-Homozygotie mit dem Auftreten eines Myokardinfarktes in einer japanischen Studie beschrieben (Ozaki et al. 2002), was die eigene

Feststellung bekräftigte. Durch die Erkenntnisse anderer Autoren erlangen diese Beobachtungen Plausibilität, wenngleich auch in Bezug auf den T60N-TNF β -cSNP, bzw. den eng gekoppelten (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP, teilweise gegensätzliche Ergebnisse Berücksichtigung finden müssen: Das proinflammatorische Zytokin TNF β ist sowohl in frühen, als auch späten arteriosklerotischen Läsionen nachweisbar (Schreyer et al.2002). Durch die nahezu vollständige Kopplung des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) und des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP kann auf eine Assoziation der A-Homozygotie mit erhöhter Stimulierbarkeit der TNF β -Produktion *in vitro* gefolgert werden (Messer et al. 1991). Das aus dem A-Allel abgeleitete Protein mit Asparagin an Position 60 bewirkte *in vitro* eine stärkere Induktion von Adhäsionsmolekülen als das Wildtypmolekül (Ozaki et al. 2002). Dies deutet auf funktionelle Unterschiede der beiden Zytokinvarianten hin. Schließlich unterstrichen Knock-out-Modellversuche an Mäusen die Bedeutung des TNF β für die Atherogenese, verwiesen aber auch auf die große Komplexität der Atherogenese und noch ungeklärte Zusammenhänge (Schreyer et al. 2002).

5.2.4 Hinweise auf eine enge Kopplung der potentiell risikoassoziierten TNF-Polymorphismen

Die beiden TNF-Gene liegen tandemartig auf Chromosom 6p21 nebeneinander. Den (c.-308G>A)-TNF α -SNP und den T60N-TNF β -cSNP trennen nur 2248 Basenpaare (Fanning et al. 1997). Somit ist eine gekoppelte Weitergabe der benachbarten Genorte sehr wahrscheinlich. Die nahezu vollständige Kopplung der Allele der TNF β -SNP in Intron 1 ((IVS1+90A>G)-TNF β -SNP) und Exon 3 (T60N-TNF β -cSNP) wurde bereits beschrieben (s. Abs. 5.2.3). In Hinsicht auf das in Abschnitt 3.4.1 dargestellte ausschließlich gemeinsame Auftreten der tendenziell mit der KHK assoziierten A-Homozygotie im (c.-308G>A)-TNF α -SNP mit dem im A-rezessiven Modell signifikant mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziierten AA-Genotyp des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) stellte sich die Frage nach einer gemeinsamen Vererbung beider mutmaßlichen Risikoindikatoren.

Aus den eigenen Erhebungen konnte festgestellt werden, dass eine derart enge Verknüpfung wie zwischen den genannten TNF β -SNPs nicht vorliegen kann. Denn A-Homozygotie des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) war insgesamt häufiger und nur zu 28,6% mit A-Homozygotie des (c.-308G>A)-TNF α -SNP verbunden. Und auch das A-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP war nicht immer mit dem A-Allel des T60N-TNF β -cSNP verbunden, da 7,1% der GA-Heterozygoten im (c.-308G>A)-TNF α -SNP C-homozygot im T60N-TNF β -cSNP waren.

Diese Beobachtung fand eine Bestätigung in den Analysen der Haplotypstrukturen der TNF-Loci an 201 Proben von britischen Verstorbenen von Fanning und Mitarbeitern (1997): Sie wiesen je vier Haplotypen des TNF α - bzw. TNF β -Genorts anhand von jeweils drei biallelischen SNPs nach und fanden unter den Proben neun verschiedene TNF α / β -Haplotypen. Aus den Ergebnissen lässt sich ableiten, dass das A-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP ganz überwiegend in Verbindung mit

dem A-Allel des T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) auftrat, denn der diese beiden Allele beinhaltende TNF α/β -Haplotyp kam unter 398 gezählten 72-mal vor, während zwei weitere, das A-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP und das C-Allel des T60N-TNF β -cSNP beinhaltende Haplotypen zusammen nur fünfmal nachweisbar waren. Es wurde aber auch bestätigt, dass der Umkehrschluss nicht gilt, denn das A-Allel des T60N-TNF β -cSNP war in zwei weiteren TNF α/β -Haplotypen insgesamt 65-mal mit dem G-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP verbunden. Entsprechende Zusammenhänge lassen sich auch anhand der Ergebnisse von Koch et al. (2001) ableiten. Bemerkenswert an Fannings Resultaten ist ferner, dass von den neun A-Homozygoten des (c.-308G>A)-TNF α -SNP, die unter 199 Verstorbenen nachweisbar waren, acht ebenfalls A-homozygot im T60N-TNF β -cSNP waren, was tendenziell den eigenen Beobachtungen entspricht. Gleiches gilt für die zehn A-Homozygoten des (c.-308G>A)-TNF α -SNP in der Studie von Keso et al. (2001), die enge Kopplung der Allele des T60N-TNF β -cSNP und des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP vorausgesetzt (s. Abs. 5.2.3).

Schließlich analysierten Fanning et al. (1997) verschiedene HLA-Allele in Hinsicht auf ihre Kopplung an die untersuchten TNF α/β -Haplotypen. Sie stellten heraus, dass der beide A-Allele des (c.-308G>A)-TNF α -SNP und des T60N-TNF β -cSNP einschließende HLA-B8-Cw*0701-TNF2-LT α 2-Haplotyp der am häufigsten nachweisbare erweiterte Haplotyp in dieser Studie war. Sie beschrieben somit abermals eine Verbindung der beiden möglicherweise risikoassoziierten Allele mit bestimmten HLA-Varianten. Denn nicht nur das A-Allel des (c.-308G>A)-TNF α -SNP wurde in der Literatur als assoziiert mit dem HLA-B8-A1-DR3-Haplotypen beschrieben (Wilson et al. 1993), sondern indirekt, unter Voraussetzung der engen Kopplung des (IVS1+90A>G)-TNF β -SNP und des T60N-TNF β -cSNP, auch das A-Allel des T60N-TNF β -cSNP (Abraham et al. 1993).

Diese Beobachtungen machen deutlich, dass Assoziationen einzelner SNPs mit einem bestimmten Erkrankungsrisiko möglicherweise auch durch die Kopplung an weitere SNPs und deren Zusammenwirken entstehen, selbst dann, wenn es plausible Hinweise auf eine funktionelle Bedeutung der einzelnen Mutation gibt. Dies könnte die unterschiedlichen Aussagen zu Polymorphismen und deren Krankheitsassoziationen erklären und birgt die Chance, über genauere Analyse von Haplotypen an größeren Studienpopulationen noch aussagefähigere Risikoindikatoren in Form von Risikohaplotypen zu entdecken.

6 Zusammenfassung

Die Prävention der koronaren Herzkrankheit (KHK) ist von herausragender medizinischer, sozialer und ökonomischer Bedeutung. Eine zielgerichtete Prävention erfordert die Kenntnis der wesentlichen Risikofaktoren.

Der KHK liegt eine multifaktorielle Genese zu Grunde. Inflammatorische Prozesse haben einen wesentlichen Anteil an der Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen. Dabei dienen Zytokine zusammen mit den Signalen der direkten Zell-Zell-Interaktion der Zellkommunikation.

Anhand einer Fall-Kontroll-Studie mit 99 alters- und geschlechtsangeglichenen Paaren koronarangiographierter europäischer Kaukasier mitteldeutscher Herkunft mit und ohne koronare Makroangiopathie erfolgte in der vorliegenden Arbeit sowohl eine Charakterisierung der Vergleichsgruppen durch die Analyse der Verteilung etablierter Risikofaktoren der KHK, als auch eine Suche nach potentiellen genetischen Risikoindikatoren der KHK in Form von SNPs der Gene der Tumornekrosefaktoren. Die Patienten mit koronarer Makroangiopathie (Fallgruppe) waren ferner durch eine frühe Erkrankung (vor Vollendung des 56. Lebensjahres) und das Überleben mindestens eines Myokardinfarktes gekennzeichnet. Das Durchschnittsalter beider Kollektive lag bei 50 Jahren, der Anteil der Frauen betrug rund ein Drittel.

Bei einfaktorieller Betrachtung klassischer Risikofaktoren der KHK war Zigarettenkonsum geschlechtsunabhängig signifikant mit einem pathologischen Koronarstatus assoziiert. Mit einseitiger, fettreicher Ernährung -in Bezug zu gesundheitsbewusster Ernährung- und körperlicher Inaktivität in der Freizeit waren zwei weitere, vom Lebensstil abhängige Risikofaktoren im Gesamtkollektiv signifikant häufiger in der Gruppe der Koronarpatienten vertreten. Hypercholesterinämie und erhöhtes Lipoprotein(a) waren ebenso wie eine positive Familienanamnese in Bezug auf einen Myokardinfarkt unter den männlichen Patienten signifikant mit der koronaren Makroangiopathie verbunden. Der Anteil der Diabetikerinnen in der Fallgruppe war etwa doppelt so hoch wie unter koronargesunden Frauen (nicht signifikant). Nach Auswertung eines mehrfaktoriellen Modells aus fünf wichtigen Risikofaktoren der KHK mittels binär logistischer Regression erwies sich die Hypercholesterinämie als unabhängig und signifikant krankheitsassoziiert. Rauchen war unter Nichtdiabetikern und Diabetes mellitus unter Nichtrauchern signifikant mit einem erhöhten Risikoquotienten verbunden. Kein Nachweis einer Risikoassoziation ergab sich für die Risikofaktoren erniedrigtes HDL-Cholesterin und arterielle Hypertonie.

Folgende Ergebnisse ergab die Analyse der Verteilungen von Genotypen dreier Zytokingenpolymorphismen (Zitation Z15026) in den Vergleichsgruppen nach unterschiedlichen genetischen Modellen:

1. Für den möglicherweise funktionell bedeutsamen (c.-308G>A)-TNF α -SNP konnte ein Status als Risikoindikator der koronaren Makroangiopathie in dieser Studie nicht mit Signifikanz belegt

werden. Ein Verteilungsunterschied der seltenen A-Homozygoten mit deutlichem Überwiegen in der Fallgruppe könnte aber auf ein erhöhtes Risiko der A-Homozygoten Mutationsträger hinweisen.

2. Der C13R-TNF β -cSNP (c.206T>C) war nicht mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziiert.

3. Der T60N-TNF β -cSNP (c.348C>A) führt zu einem AS-Austausch in der Sequenz des reifen Proteins. In einem A-rezessiven Modell war A-Homozygotie bei ein- und mehrfaktorieller Betrachtung signifikant und unabhängig von wichtigen Risikofaktoren der KHK mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie assoziiert.

Die vorliegende Arbeit unterstreicht die Bedeutung einer umfassenden und individuellen Einschätzung des koronaren Risikos in der Prävention und Therapie der KHK. Mit dem Nachweis einer Assoziation der A-Homozygotie des T60N-TNF β -cSNP mit einer koronaren Makroangiopathie wurde ein Beitrag zur Identifizierung von Kandidatengen der KHK mit dem Ziel einer Verbesserung der Prävention geleistet. Im Rahmen prospektiver Studien sollten diese Befunde erhärtet werden. Der Hinweis auf das Vorliegen risikoassoziierter Haplotypen könnte zur Optimierung zukünftiger Studienanlagen und damit zu einem weiteren Fortschritt in der Abschätzung des individuellen genetischen Risikos beitragen.

Literaturverzeichnis

- Abraham LJ, French MA, Dawkins RL: Polymorphic MHC ancestral haplotypes affect the activity of tumour necrosis factor- α . *Clin Exp Immunol* 92 (1993) 14-18
- Abraham LJ, Du DC, Zahedi K, et al.: Haplotypic polymorphisms of the TNFB gene. *Immunogenetics* 33 (1991) 50-53
- Aggarwal BB, Kohr JK, Hass PE, et al.: Human tumor necrosis factor. *J Biol Chem* 260 (1985^a) 2345-2354
- Aggarwal BB, Eessalu TE, Hass PE: Characterization of receptors for human tumor necrosis factor and their regulation by gamma-interferon. *Nature* 318 (1985^b) 665-667
- Aggarwal BB, Moffat B, Harkins RN: Human lymphotoxin. Production by a lymphblastoid cell line, purification and initial characterization. *J Biol Chem* 259 (1984) 686-91
- American Heart Association. 2001 Heart and Stroke Statistical Update. American Heart Association, Dallas, Texas, 2000.
- Anwar A, Zahid AA, Scheidegger KJ, et al.: Tumor necrosis factor- α regulates insulin-like growth factor binding protein-3 expression in vascular smooth muscle. *Circulation* 105 (2002) 1220-1225
- Assmann G, Schulte H: Results and conclusions of the prospective cardiovascular Münster (PROCAM) study. In: Assmann G (Ed): *Lipid metabolism disorders and coronary heart disease: primary prevention, diagnosis, and therapy guidelines for general practice*. 2. ed. MMV Medizin-Verlag, München, 1993, S.19-67
- Barath P, Fishbein MC, Cao J, et al.: Detection and localization of tumor necrosis factor in human atheroma. *Am J Cardiol* 65 (1990) 297-302
- Bellas RE, Lee JS, Sonenshein GE: Expression of a constitutive NF- κ B-like activity is essential for proliferation of cultured bovine vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 96 (1995) 2521-27
- Bernard V, Pillois X, Dubus I, et al.: The -308G/A tumor necrosis factor- α gene dimorphism: A risk factor for unstable angina. *Clin Chem Lab Med* 41 (2003) 411-516
- Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, et al.: A metalloproteinase disintegrin that releases tumor-necrosis-factor- α from cells. *Nature* 385 (1997) 729-733
- Blake GJ, Ridker PM: C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J Am Coll Card* 41 (2003) 37S-42S
- Böhm M, Diet F, Flesch M, et al.: Weitere kardiovaskuläre Risikofaktoren. In: Erdmann E (Hrsg.): *Klinische Kardiologie: Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße*. 5. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (usw.), 2000, S. 270-291
- Bouma G, Crusius JBA, Oudkerk Pool M, et al.: Secretion of tumour necrosis factor α and lymphotoxin α in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR-alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 43 (1996) 456-463

- Braunwald E: Shattuck lecture – Cardiovascular medicine at the turn of the millenium: triumphs, concerns and opportunities. Review. *N Engl J Med* 337 (1997) 1360-69
- Brinkman BM, Zuijdeest D, Kaizel EL, et al.: Relevance of the tumor necrosis factor alpha –308 promotor polymorphism in TNF alpha gene regulation. *J Inflamm* 46 (1995-96) 32-41
- Brockhaus M, Schoenfeld HJ, Schlaeger EJ, et al.: Identification of two kinds of TNF receptors on human cell lines by monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 (1990) 3127-31
- Browning JL, Dougas I, Ngam-ek A, et al.: Characterization of surface lymphotoxin forms. Use of specific monoclonal antibodies and soluble receptors. *J Immunol* 154 (1995) 33-46
- Cabrera M, Shaw MA, Sharples C, et al.: Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 182 (1995) 1259-64
- Colditz GA, Rimm EB, Giovannucci E, et al.: A prospective study of parental history of myocardial infarction and coronary artery disease in men. *Am J Cardiol* 67 (1991) 933-938
- Crowe PD, Van Arsdale TL, Walter BN, et al.: A lymphotoxin-beta-specific receptor. *Science* 264 (1994) 703-706
- Cuff, CA, Schwartz J, Bergmann CM, et al.: Lymphotoxin $\alpha 3$ induces chemokines and adhesion molecules: Insight into the role of LT α in inflammation and lymphoid organ development. *J Immunol* 161 (1998) 6853-60
- Daley GQ, Cargill M: The heart SNPs a beat: Polymorphisms in candidate genes for cardiovascular disease. Review. *Trends Cardiovasc Med* 11 (2001) 60-66
- Dejardin E, Droin NM, Delhase M, et al.: The lymphotoxin- β receptor induces different patterns of gene expression via two NF- κ B pathways. *Immunity* 17 (2002) 525-535
- Dietz R, Rauch B: Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung (DGK). *Z Kardiol* 92 (2003) 501-521
- Erl W, Hansson GK, de Martin R, et al.: Nuclear factor- kappa B regulates induction of apoptosis and inhibitor of apoptosis protein- 1 expression in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 84 (1999) 668-677
- Fanning GC, Bunce M, Black CM, Welsh KI: Polymerase chain reaction haplotyping using 3' mismatches in the forward and reverse primers: application to the biallelic polymorphisms of tumor necrosis factor and lymphotoxin α : *Tissue Antigens* 50 (1997) 23-31
- de Frutos T, de Miguel LS, Farre J, et al.: Expression of an endothelial nitric oxide synthase isoform in human neutrophils: Modification by tumor necrosis factor-alpha and during acute myocardial infarction. *J Am Coll Card* 37 (2001) 800-807
- Galis ZS, Sukhova GK, Kranzhöfer R, et al.: Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix- degrading proteinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 (1995) 402-406

- Garrote JA, Arranz E,, Telleria JJ, et al.: TNF α and LT α gene polymorphisms as additional markers of celiac disease susceptibility in a DQ2-positive population. *Immunogenetics* 54 (2002) 551-555
- Geng YJ, Qi MM, Hansson GK, Libby P: Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by *in vitro* stimulation with interferon- γ , tumor necrosis factor- α and interleukin 1 β . *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16 (1996) 19-27
- Goetze S, Kintscher U, Kaneshiro K, et al.: TNF α induces expression of transcription factors c-fos, Erg-1, and Ets-1 in vascular lesions through extracellular signal-regulated kinases. *Atherosclerosis* 159 (2001) 93-101
- Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, et al.: Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations. *J Am Coll Cardiol* 34 (1999) 1348-59
- Gysan DB: Primäre und sekundäre Prävention der Arteriosklerose – Stellenwert der arteriellen Hypertonie. Review. *Z Kardiol* (2002) 777-785
- Hauner H, Scherbaum WA: Diabetes mellitus. In: Alexander K, Daniel WG, Diener HC, Freund M, Köhler H, Matern S, Maurer HH, Michel BA, Nowak D, Risler T, Schaffner A, Scherbaum WA, Sybrecht GW, Wolfram G, Zeitz M (Hrsg.): *Thiemes Innere Medizin–TIM*. G. Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1999, S.288-310
- Hermanson B, Omenn GS, Kronmal RA, Gersh BJ: Beneficial six-year outcome of smoking cessation in older men and women with coronary artery disease. *N Engl J Med* 319 (1988) 1365-69
- Herold G: *Innere Medizin 2003*. Gerd Herold, Köln, 2003
- Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, et al.: Polymorphisms of the tumour necrosis factor- α gene, coronary heart disease and obesity. *Eur J Clin Invest* 28 (1998) 59-66
- Hochman PS, Majeau GR, Mackay F, Browning JL: Proinflammatory responses are efficiently induced by homotrimeric but not heterotrimeric lymphotoxin ligands. *J Inflamm* 46 (1996) 220-234
- van den Hoogen PC, Feskens EJ, Nagelkerke NJ, et al.: The relation between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. Seven Countries Study Research Group. *N Engl J Med* 342 (2000) 1-8
- Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM: Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 94 (1994) 1543-49
- Hsu HY, Nicholson AC, Hajjar DP: Inhibition of macrophage scavenger receptor activity by tumor necrosis factor- α is transcriptionally and post- transcriptionally regulated. *J Biol Chem* 271 (1996) 7767-7773
- Jacob CO, Fronck Z, Lewis GD, et al.: Heritable major histocompatibility complex class II-associated differences in production of tumor necrosis factor alpha: relevance to genetic predisposition to systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 (1990) 1233-37

- Jovinge S, Hultgardh-Nilsson A, Regnstrom J, Nilsson J: Tumor necrosis factor- α activates smooth muscle cell migration in culture and is expressed in balloon-injured rat aorta. *Art Thromb Vasc Biol* 17 (1997) 490-497
- Kaartinen M, Penttila A, Kovanen PT: Mast cells in rupture-prone areas of human coronary atheromas produce and store TNF- α . *Circulation* 94 (1996) 2787-2792
- Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, et al.: Factors of risk in the development of coronary heart disease – six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 55 (1961) 33-50
- Kanters E, Pasparakis M, Gijbels MJJ, et al.: Inhibition of NF- κ B activation in macrophages increases atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest* 112 (2003) 1176-85
- Keso T, Perola M, Laippala P, et al.: Polymorphisms within the tumor necrosis factor locus and prevalence of coronary artery disease in middle-aged men. *Atherosclerosis* 154 (2001) 691-697
- Koch W, Kastrati A, Böttiger C, et al.: Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 159 (2001) 137-144
- Kriegler M, Perez C, DeFay K, et al.: A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 53 (1988) 45-53
- Krikovszky D, Vsrhelyi B, Toth-Heyn P, et al.: Association between G-308A polymorphism of the tumor necrosis factor- α gene and 24-hour ambulatory blood pressure values in type 1 diabetic adolescents. *Clin Genet* 62 (2002) 474-477
- Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ: The -308 tumor necrosis factor- α promoter polymorphism affects transcription. *Mol Immunol* 34 (1997) 391-399
- Landry DB, Couper LL, Bryant SR, Lindner V: Activation of NF- κ B and I κ B system in smooth muscle cells after rat arterial injury. Induction of VCAM-1 and MCP-1. *Am J Pathol* 151 (1997) 1085-95
- Lee RT, Libby P: The unstable atheroma. Review. *Art Thromb Vasc Biol* 17 (1997) 1859-1867
- Van Lenten BJ, Fogelman AM: Lipopolysaccharide-induced inhibition of scavenger receptor expression in human monocyte-macrophages is mediated through tumor necrosis factor- α . *J Immunol* 148 (1992) 112-116
- Li H, Freeman MW, Libby P: Regulation of smooth muscle cell scavenger receptor expression *in vivo* by atherogenic diets and *in vitro* by cytokines. *J Clin Invest* 95 (1995) 122-33
- Lieberman AP, Pitha PM, Shin HS, Shin ML: Production of tumor necrosis factor and other cytokines by astrocytes stimulated with lipopolysaccharide or a neurotropic virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 (1989) 6348-52
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ: The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. Review. *Cell* 104 (2001) 487-501

- Mackay F, Majeau GR, Hochman PS, Browning JL: Lymphotoxin β receptor triggering induces activation of the nuclear factor κ B transcription factor in some cell types. *J Biol Chem* 271 (1996) 24934-38
- Marczin N, Antonov A, Papapetropoulos A, et al.: Monocyte-induced downregulation of nitric oxide synthase in cultured aortic endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16 (1996) 1095-1103
- Marcovina SM, Koschinsky ML: Lipoprotein(a) as a risk factor for coronary artery disease. Review. *Am J Cardiol* 82 (1998) 57U-66U
- de Martin R, Hoeth M, Hofer- Warbinek R, Schmid JA: The transcription factor NF- κ B and the regulation of vascular cell function. Review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 (2000) e83-88
- Mauri DN, Ebner R, Montgomery RI, et al.: LIGHT, a new member of the TNF superfamily, and lymphotoxin are ligands for herpesvirus entry mediator. *Immunity* (1998) 8:21-30
- McGuire W, Hill AVS, Allsopp CEM, et al.: Variation in the TNF- α promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 371 (1994) 508-511
- Melani C, Silvani A, Parmiani G, Colombo MP: Lymphotoxin gene expression by melanocytes and melanoma cell lines and persistence of unspliced mRNA. *FEBS Lett* 335 (1993) 114-118
- Messer G, Spengler U, Jung MC, et al.: Polymorphic structure of the tumor necrosis factor locus: An NcoI polymorphism of the human TNF- β gene correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF- β production. *J Exp Med* 173 (1991) 209-219
- Millet I, Ruddle NH: Lymphotoxin. In: Remick DG, Friedland JS (Hrsg.): *Cytokines in health and disease*. Marcel Dekker Inc., New York, 1997, S. 241-250
- Mira J-P; Cariou A, Grall F, et al.: Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA* 282 (1999) 561-568
- Mizia-Stec K, Zahorska-Markiewicz B, Mandecki Z, et al.: Hyperlipidaemias and serum cytokines in patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol* 58 (2003) 9-15
- Murken J, Cleve H (Hrsg.): *Humangenetik*. 6. Aufl. Enke, Stuttgart, 1996, S.122-131
- Nedwin GW, Naylor SL, Sakaguchi AY, et al.: Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucl Acids Res* 13 (1985) 6361-6373
- Neumann B, Machleidt T, Lifka A, et al.: Crucial role of 55-kilodalton TNF receptor in TNF-induced adhesion molecule expression and leukocyte organ infiltration. *J Immunol* 156 (1996) 1587-93
- Obara H, Takayanagi A, Hirahashi J, et al.: Overexpression of truncated I κ B α induces TNF- α -dependent apoptosis in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 (2000) 2198-2204
- Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, et al.: Functional SNPs in the lymphotoxin- α gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nature Genet* 32 (2002) 650-654

- Paleolog EM, Delasalle SA, Buurman WA, Feldmann M: Functional activities of receptors for tumor necrosis factor- α on human vascular endothelial cells. *Blood* 84 (1994) 2578-90
- Paul NL, Ruddle NH: Lymphotoxin. Review. *Ann Rev Immunol* 6 (1988) 407-438
- Pober JS, Lapierre LA, Stolpen AH, et al.: Activation of cultured human endothelial cells by recombinant lymphotoxin: comparison with tumor necrosis factor and interleukin 1 species. *J Immunol* 138 (1987) 3319-24
- Pober JS, Gimbrone MA, Lapierre LY, et al.: Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon. *J Immunol* 137 (1986) 1893-1896
- Poicot F, Briant L, Jongeneel CV, et al.: Association of tumor necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF- α and TNF- β by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Immunol* 23 (1993) 224-231
- Porteu F, Hieblot C: Tumor necrosis factor induces a selective shedding of its p75 receptor from human neutrophils. *J Biol Chem* (1994) 2834-40
- Prescott E, Hippe M, Schnohr P, et al.: Smoking and risk of myocardial infarction in women and men: longitudinal population study. *BMJ* 316 (1998) 1043-47
- Rajavashisth TB, Xu XP, Jovinge S, et al.: Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 99 (1999^a) 3103-3109
- Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, et al.: Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1- matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 274 (1999^b) 11924-929
- Rectenwald JE, Moldawer LL, Huber TS, et al.: Direct evidence for cytokine involvement in neointimal hyperplasia. *Circulation* 102 (2000) 1692-1702
- Roitt IM, Brostoff J, Male DK: *Kurzes Lehrbuch der Immunologie*. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 1995
- Ross R: Mechanisms of disease: Atherosclerosis – An inflammatory disease. Review. *N Engl J Med* 340 (1999) 115-126
- Schagdarsurengin U: Untersuchungen zur Genetik und Biochemie inflammatorischer Risikofaktoren bei der Manifestation einer schweren koronaren Atherosklerose. Dissertation, Martin- Luther- Universität Halle-Wittenberg, 2003
- Schreyer SA, Vick CM, LeBoeuf RC: Loss of lymphotoxin- α but not tumor necrosis factor- α reduces atherosclerosis in mice. *J Biol Chem* 277 (2002) 12364-68
- Schreyer SA, Peschon JJ, LeBoeuf RC: Accelerated atherosclerosis in mice lacking tumor necrosis factor receptor p55. *J Biol Chem* 271 (1996) 26174-78

- Schuchmann M, Hess S, Bufler P, et al.: Functional discrepancies between tumor necrosis factor and lymphotoxin α explained by trimer stability and distinct receptor interactions. *Eur J Immunol* 25 (1995) 2183-89
- Selmaj K, Raine CS, Cannella B, Brosnan CF: Identification of lymphotoxin and tumor necrosis factor in multiple sclerosis lesions. *J Clin Invest* 87 (1991) 949-954
- Selzman CH, Shames BD, Reznikov LL, et al.: Liposomal delivery of purified inhibitory- $\kappa B\alpha$ inhibits tumor necrosis factor- α -induced human vascular smooth muscle proliferation. *Circ Res* 84 (1999) 867-875
- Stauber GB, Aggarwal BB: Characterization and affinity cross-linking of receptors for human lymphotoxin (tumor necrosis factor-beta) on a human histiocytic lymphoma cell line, C-937. *J Biol Chem* 25 (1989) 3573-76
- Stüber F, Udalova IA, Book M, et al.: -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J Inflamm* 46 (1995-96) 42-50
- Tall AR: Plasma high density lipoproteins – Metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86 (1990) 379-384
- Tartaglia LA, Goeddel DV: Two TNF receptors. Review. *Immunol Today* 13 (1992) 151-153
- Vaddi K, Nicolini FA, Metha P, Metha JL: Increased secretion of tumor necrosis factor- α and interferon- γ by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. *Circulation* 90 (1994) 694-699
- Vendrell J, Fernandez-Real JM, Gutierrez C, et al.: A polymorphism in the promoter of the tumor necrosis factor- α gene (-308) is associated with coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis* 167 (2003) 257-264
- Wallach D, Varfolomeev EE, Malinin NL, et al.: Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. Review. *Annu Rev Immunol* 17 (1999) 331-367
- Wang XL, Oosterhof J: Tumor necrosis factor α G⁻³⁰⁸→A polymorphism and risk for coronary artery disease. *Clinical Science* 98 (2000) 435-437
- Ware CF: Introduction - The TNF Superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev* 14 (2003) 181-184
- Ware CF, VanArsdale TL, Crowe PD, Browning JL: The ligands and receptors of the lymphotoxin system. Review. *Curr Top Microbiol Immunol* 198 (1995) 175-218
- Weisswange A: Epidemiologie und Prävention der KHK. In: Roskamm H, Reindell H (Hrsg.): *Herzkrankheiten: Pathophysiologie, Diagnostik, Therapie*. 4. Aufl. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (usw.), 1996, S. 601-623
- Williams-Abbott L, Walter BN, Cheung TC, et al.: The lymphotoxin-alpha subunit is essential for the assembly, but not for the receptor specificity, of the membraneanchored LTalpha1beta2 heterotrimeric ligand. *J Biol Chem* 272 (1997) 19451-56

- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, et al.: Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997) 3195-99
- Wilson AG, de Vries N, Pociot F, et al.: An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor α promoter region is strongly associated with HLA A1, B8, and DR3 alleles. *J Exp Med* 177 (1993) 557-560
- Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AIF, Duff GW: Single base change in the human tumor necrosis factor alpha gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Human Mol Genet* 1 (1992) 353
- Witte JS, Palmer LJ, O'Connor RD, et al.: Relation between tumor necrosis factor polymorphism TNFalpha-308 and risk of asthma. *Eur J Hum Genet* 10 (2002) 82-85
- Wood D, De Backer G, Faergeman, et al.: Task force report – Prevention of coronary heart disease in clinical practice. *Eur Heart J* 19 (1998) 1434-1503
- Wrigthon CJ, Hofer-Warbinek R, Moll T, et al.: Inhibition of endothelial cell activation by adenovirus-mediated expression of I κ B α , an inhibitor of the transcription factor NF- κ B. *J Exp Med* 183 (1996) 1013-22
- Yoshizumi M, Perella MA, Burnett JC Jr., Lee ME: Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res* 73 (1993) 205-209
- Zimmerman MA, Selzman CH, Reznikov LL, et al.: Lack of TNF- α attenuates intimal hyperplasia after mouse carotid artery injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283 (2002) R505-512

Thesen

1. Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist bis heute die häufigste Todesursache in Industrienationen. Auch angesichts der Zunahme der Prävalenz in Entwicklungsländern und der demographischen Entwicklung in den Industriestaaten kommt der Prävention der KHK eine herausragende medizinische, soziale und ökonomische Bedeutung zu.
2. Die KHK ist eine multifaktorielle Erkrankung. Das individuelle Erkrankungsrisiko setzt sich aus genetischen und umweltabhängigen Faktoren zusammen. Eine umfassende Risikoabschätzung ist Grundlage präventiver oder therapeutischer Maßnahmen. Aussagekräftige und stabile genetische Risikoindikatoren könnten eine frühe Risikoabschätzung verbessern und eine angepasste Prävention ermöglichen.
3. Mit der Identifikation krankheitsassoziierter genetischer Varianten könnten weitere Erkenntnisse über die Pathogenese der KHK gewonnen und damit neue Therapieansätze geschaffen werden.
4. Mit dieser Arbeit liegen die Ergebnisse einer Fall-Kontroll-Studie an einem Patientenkollektiv aus 99 alters- und geschlechtsadjustierten Paaren europäischer Kaukasier aus dem mitteldeutschen Raum mit angiographisch gesichertem Koronarbefund vor. In der Fallgruppe manifestierte sich die KHK vor Vollendung des 56. Lebensjahres; mindestens ein Myokardinfarkt lag zurück. Es wurden etablierte Risikofaktoren erfasst und bewertet sowie ausgewählte Polymorphismen der Zytokine TNF α und TNF β hinsichtlich ihres Potentials als Risikoindikatoren der KHK untersucht.
5. Eine ausgeprägte Assoziation mit der KHK zeigte der Zigarettenkonsum, möglicherweise vor dem Hintergrund eines relativ jungen Patientenkollektivs. Unter allen Patienten und bei geschlechtsabhängiger einfaktorierter Betrachtung war Zigarettenkonsum signifikant mit dem Vorliegen einer KHK assoziiert. Gleiches gilt für eine ein- und mehrfaktorierter Betrachtung unter Patienten ohne Diabetes mellitus.
6. Unter den nichtmedikamentös gut beeinflussbaren Faktoren waren neben dem Zigarettenkonsum auch körperliche Inaktivität in der Freizeit und ungesunde Ernährungsweise signifikant mit der KHK assoziiert. Für das Gesundheitswesen ergeben sich somit Präventionsmöglichkeiten durch Aufklärung und Motivation.
7. Diabetes mellitus ist ein etablierter Risikofaktor der koronaren Makro- und Mikroangiopathie und zudem ein negativer Prognosefaktor für das Überleben nach einem Myokardinfarkt. In vorliegender Studie war der Anteil der Diabetikerinnen in der Fallgruppe etwa

doppelt so groß wie in der Kontrollgruppe (nicht signifikant). Unter den männlichen Patienten war kein deutlicher Verteilungsunterschied feststellbar. Für die deutlichere Assoziation des Diabetes mit der KHK unter den Frauen könnte ein insgesamt günstigeres Risikoprofil relativ junger Frauen verantwortlich sein, wodurch der Erkrankung an Diabetes hier ein höherer Stellenwert für das koronare Risiko zukommen könnte. Nach einer stratifizierten ein- und mehrfaktoriellen Betrachtung war Diabetes mellitus unter Nichtrauchern signifikant mit der KHK assoziiert.

8. Eine Hypercholesterinämie zählt zu den wesentlichen therapeutisch beeinflussbaren Risikofaktoren der Arteriosklerose. In vorliegender Studie konnte dieser Status nach Kategorialisierung in ein- und mehrfaktorieller Analyse mit Signifikanz nachvollzogen werden. Bei geschlechtsabhängiger Betrachtung bestätigte sich das Ergebnis nicht für die kleinere Gruppe weiblicher Patienten. Zur Diskussion stehen daher u.a. ein möglicherweise günstiger Einfluss endogener bzw. exogener Östrogene oder der tendenziell mehr gesundheitsbewussten Ernährung der Frauen dieser Studie. Unter den kontinuierlichen Merkmalen lag der LDL/HDL- Quotient signifikant höher für die Gesamtheit der Koronarpatienten, trotz der häufigeren Anwendung von Lipidsenkern in dieser Gruppe. Die Konzentrationen des atherogenen Lp(a) waren unter männlichen Koronarpatienten signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Das potentiell protektive Apolipoprotein Apo-A1 zeigte signifikant höhere Konzentrationen in der weiblichen Kontroll- als in der Fallgruppe. Keine signifikanten Ergebnisse ergaben u.a. die Betrachtungen von HDL-Cholesterin und Triglyzeriden.

9. Arterielle Hypertonie ist als Risikofaktor der KHK und anderer Gefäßerkrankungen anerkannt. Eine adäquate Therapie ist in der Primär- und Sekundärprävention etabliert. Anhand vorliegender Studie konnte keine Assoziation der KHK und Hypertonie nachvollzogen werden. Möglicherweise führte u.a. eine zu stark vereinfachte Kategorialisierung in Hypertoniker und Nicht-Hypertoniker zu diesem Ergebnis.

10. In vorliegender Studie war eine positive Familienanamnese hinsichtlich eines Myokardinfarktes signifikant mit der Zugehörigkeit zur KHK-Gruppe verbunden. Dieser Zusammenhang mag sowohl auf der Weitergabe genetischer Risikokonstellationen, als auch risikoassoziierter Gewohnheiten im familiären Rahmen beruhen.

11. Die Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen ist ein chronisch entzündlicher Prozess der Gefäßwand. Die verwandten Zytokine TNF α und TNF β werden von Zellen der arteriosklerotischen Läsion gebildet und beeinflussen wahrscheinlich die Atherogenese auf den verschiedenen Stufen ihrer Entwicklung. Ihre Gene empfehlen sich daher als potentielle Kandidatengene der KHK.

12. Trotz eines auffälligen Verteilungsunterschieds der A-homozygoten Patienten des möglicherweise funktionell bedeutsamen (c.-308 G>A)-TNF α -SNP der Promotorregion in der Fall- und Kontrollgruppe, die auf eine Assoziation der A-Homozygotie mit der koronaren Makroangiopathie hinweist, konnte anhand vorliegender Studie keine eindeutige Aussage zur widersprüchlich diskutierten Bedeutung dieses SNP für die Progression der KHK getroffen werden.

13. Der C13R-TNF β -cSNP in Exon 2 war auch unter Berücksichtigung verschiedener genetischer Modelle nicht mit dem Nachweis einer KHK assoziiert.

14. In vorliegender Territorialstudie zeigte A-Homozygotie im T60N-TNF β -cSNP in Exon 3 nach einem A-rezessiven Modell eine von wesentlichen klassischen Risikofaktoren der KHK unabhängige, signifikante Assoziation mit dem Nachweis einer koronaren Makroangiopathie. Somit wurde erstmals für eine Studienpopulation aus europäischen Kaukasiern mitteldeutscher Herkunft der T60N-TNF β -cSNP als genetischer Risikoindikator der KHK identifiziert. Dieser Zusammenhang in der Retrospektive sollte anhand zukünftiger prospektiver Studien überprüft werden.

15. Die Gene von TNF α und TNF β befinden sich im Abstand von nur etwa 2kb auf Chromosom 6p21.3 in Nachbarschaft zu den MHC-I- und MHC-III-Regionen. Eigene Beobachtungen und die Resultate anderer Autoren deuten darauf hin, dass A-Homozygotie im (c.-308G>A)-TNF α -SNP der Promotorregion meist in Verbindung mit A-Homozygotie im T60N-TNF β -cSNP vorliegt. Für beide SNPs wurde wiederum eine Kopplung an bestimmte HLA-Varianten in erweiterten Haplotypen beschrieben. Es bietet sich daher die Möglichkeit, anhand der Analyse erweiterter Haplotypen in größeren Studienpopulationen noch aussagefähigere genetische Risikoindikatoren der KHK in Form von „Risikohaplotypen“ zu ermitteln.

Lebenslauf

Name: Thomas Süß
Anschrift: 04229 Leipzig, Industriestraße 26
Geburt: am 7. September 1975 in Bonn
Familienstand: verheiratet
Religion: evangelisch

Schulbildung

1982 bis 1986 Grundschole Friedrichstraße, Wittlich
1986 bis 1995 Peter-Wust-Gymnasium, Wittlich
06/1995 Abitur (Note 1,0)

Zivildienst

07/1995 bis 07/1996 Pflegehilfsdienst, St. Elisabeth-Krankenhaus, Wittlich

Universitäre Ausbildung

10/1996 bis 06/2003 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Gesamtnote: sehr gut)
11/1999 bis 03/2003 Stipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes

Praktika und Auslandsaufenthalte:

02/1999 dreiwöchiges molekularbiologisches Praktikum am Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
07/2001 bis 08/2001 Famulatur in Clinical Neurosciences am Western General Hospital der Universität von Edinburgh

Praktisches Jahr:

04/2002 bis 08/2002 1. Terial: Chirurgie (Kreuzspital Chur, Schweiz)
08/2002 bis 11/2002 2. Terial: Innere Medizin (St. Elisabeth- Krankenhaus, Halle)
11/2002 bis 03/2003 3. Terial: Dermatologie (Universitätsklinikum Halle)

Beruflicher Werdegang

01/2004 bis 06/2005 AIP/Assistenzarzt am Klinikum Eilenburg, Abteilung für Innere Medizin
seit 07/2005 Assistenzarzt an der Medizinischen Klinik III der Universität Leipzig, Abteilung für Endokrinologie/Nephrologie, z.Zt. Weiterbildung am Herzzentrum Leipzig (07/2006 bis 12/2006)

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quellen gekennzeichnet. Ich versichere, dass ich für die inhaltliche Erstellung dieser Arbeit nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen habe. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Thomas Süß

Publikationen:

Schulz S, Schagdarsurengin U, Rehfeld D, Süß T, Werdan K, Müller-Werdan U, Gläser C: Genetic impact of TNF- β on risk factors for coronary atherosclerosis. Zur Publikation angenommen von Eur Cytokine Netw 2006

Schulz S, Schagdarsurengin U, Süß T, Müller-Werdan U, Werdan K, Gläser C: Relation between the tumor necrosis factor- α (TNF α) gene and protein expression, and clinical, biochemical, and genetic markers: age, body mass index and uric acid are independent predictors for an elevated TNF- α plasma level in a complex risk model. Eur Cytokine Netw 15 (2004) 105-111

Danksagung

Mein Dank gilt Frau PD Dr. med. Ursula Müller-Werdan (Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III, Halle) und Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Ingo Hansmann (Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie, Halle) für die Aufgabenstellung und hervorragende fachliche und persönliche Betreuung.

Besonderer Dank gebührt Frau Dr. rer. nat. Christiane Gläser und Frau Dr. Susanne Schulz (Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie, Halle) für die fortwährende kompetente und überaus freundliche Begleitung.

Ich danke Frau Dr. rer. nat. Christine Lautenschläger (Institut für Medizinische Epidemiologie, Biometrie und Informatik, Halle) für Ihre ausführliche, hilfreiche und freundliche Beratung bei statistischen Fragestellungen.

Mein Dank gilt ferner allen nicht namentlich genannten Mitarbeitern des Instituts für Humangenetik und Medizinische Biologie und der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, von denen ich im Rahmen dieser Arbeit lernen konnte.

Ich danke den Patienten für Ihre selbstlose Bereitschaft zur Teilnahme, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Der übrige, nicht unwesentliche Dank gebührt meiner Frau und meiner Familie für Ihre liebevolle Unterstützung.