

Aus dem Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie  
der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Direktor: Prof. Dr. I. Hansmann)

**Untersuchungen zu genetischen Varianten von atherosklerotischen  
Risikogenen in einer Population gesunder Blutspender der Region  
Halle-Merseburg-Bitterfeld (Horizontalstudie)**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Andrea Sybille Kabisch  
geboren am 18.07.1965 in Zeitz

Gutachter/Gutachterin:

Prof. Dr. I. Hansmann, Halle/Saale  
Prof. Dr. U. Müller-Werdan, Halle/Saale  
Prof. Dr. Schumann, Berlin

Datum der Verteidigung: 22.12.2011

## Referat

**Zielstellung:** Die Bedeutung verschiedener Gen- Polymorphismen für die Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen wurde in zahlreichen Studien beschrieben. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Analyse von neun ausgewählten Risiko-Kandidaten-Genen wie ACE, Angiotensinogen, Apo E, LRP1, E-Selektin, Faktor V (Leiden), G-Protein und p22 phox im Sinne einer Horizontalstudie und in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht an mitteldeutschen Blutspendern der Region Halle-Merseburg-Bitterfeld. Im Anschluss daran wurden die Ergebnisse mit den Resultaten vergleichbarer internationaler Publikationen verglichen.

**Material und Methoden:** Blutproben von 442 gesunden Blutspendern des Universitäts-Blutspendedienstes Halle wurden untersucht. Hierbei waren 271 (61,3%) Männer und 171 (38,7%) Frauen. Das durchschnittliche Alter lag bei 42,2 +/- 11,2 Jahren (Mittelwert Männer 43,69 +/- 10,7; Frauen 39,46 +/- 11,3). Nach Gewinnung der Blutproben wurden die Präparation der DNA sowie die weiteren molekulargenetischen Untersuchungen mittels PCR- und RFLP-Techniken durchgeführt.

**Ergebnisse und Schlussfolgerungen:** Es konnten mehrere signifikante alters- und geschlechtsabhängige Verteilungsunterschiede innerhalb der untersuchten mitteldeutschen Blutspender nachgewiesen werden, die auf Selektionseffekte im Blutspenderpool hindeuten. Signifikante Verteilungsunterschiede wurden innerhalb der mitteldeutschen Blutspender-Population beim Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE, 5`Tetranucleotid-Polymorphismus des LRP, Ser128Arg- Polymorphismus des E-Selektin, der Leiden-Mutation des Faktor V und dem C825T- Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins gefunden. Besonders bemerkenswert war der Vergleich einer Reihe von Polymorphismen mit internationalen Populationen. Die deutlichsten Unterschiede fanden sich im Hinblick auf die japanischen Populationen, deren kardiale Morbidität und Mortalität vergleichsweise niedrig sind. Beim Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE, C112R-und-R158C-Polymorphismus des Apo E, 5`Tetranucleotid- Polymorphismus des LRP1 und T174-Polymorphismus des Angiotensinogen in den japanischen Patienten- und Vergleichsgruppen wurden jeweils die niedrigsten Prozentsätze für die als auffällig betrachteten Gen-Varianten ermittelt. Außer den in dieser Arbeit untersuchten mutanten Gen-Varianten dürften weitere pathogene Einflussfaktoren vorhanden sein. Es wird auch in Zukunft eine polyvalente Betrachtungsweise notwendig sein.

**Inhaltsverzeichnis**

	Seite	
1.	Einleitung	1
1.1.	Statistische Betrachtungen zu Morbidität und Mortalität im Land Sachsen-Anhalt und in weltweiten Studien	1
1.2.	Risikofaktoren der Arterioskleroseentstehung	3
1.3.	Die Rolle von <i>Angiotensin-converting-enzyme</i> und Angiotensinogen im Renin-Angiotensin-System	6
1.4.	Die Rolle des Apolipoproteins E und <i>des Low-density-Receptor-related-Protein</i> in der arteriosklerotischen Risikokonstellation	7
1.5.	Faktor V des Gerinnungssystems	10
1.6.	<i>Endothelial Leucocyte Adhaesion Molecule 1</i> – E-Selektin als Entzündungsmediator	10
1.7.	<i>Guanin nucleotide-binding Protein</i> – G-Protein – ein Signaltransmitter	11
1.8.	P22 phox als Komponente der Atmungskette und der Immunabwehr	12
2.	Fragestellung	14
3.	Material und Methoden	15
3.1.	Die Probandengruppe	15
3.2.	Genotypisierung	18
3.3.	Durchführung statistischer Untersuchungen	19
4.	Ergebnisse	19
4.1.	Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	19
4.2.	Der ACE-Insertions-Deletions-Polymorphismus	20
4.3.	Der Apo E C112R-und R158C-Polymorphismus	21
4.4.	Der 5`Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP1	23
4.5.	Der LRP1- Promotor -Polymorphismus	24
4.6.	Der Ser128Arg– Polymorphismus des E-Selektin	25
4.7.	Die Leidenmutation	26

4.8.	Der C825T-Polymorphismus der $\beta$ -Untereinheit des G-Protein	28
4.9.	Der p22 phox- C242T- Polymorphismus	30
4.10.	Der T174M- Polymorphismus des Angiotensinogen	31
5.	Diskussion	33
5.1.	Vorbetrachtung zur Diskussion	33
5.2.	Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE	33
5.3.	C112R-und R158C-Polymorphismus des Apolipoprotein E	38
5.4.	Polymorphismen des <i>Lipoprotein-Receptor related Protein</i>	41
5.5.	Ser128Arg- Polymorphismus des E-Selektins	44
5.6.	Leiden-Mutation des Faktor V	44
5.7.	C825T- Polymorphismus der $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins	46
5.8.	C242T-Polymorphismus des p22 phox	49
5.9.	T174M – Polymorphismus des Angiotensinogens	50
5.10.	Fehlerdiskussion	52
5.11.	Wissenschaftliche Anwendung und Perspektiven	52
5.12.	Schlussfolgerung	53
6.	Zusammenfassung	56
7.	Literaturverzeichnis	57
8.	Anhang	71
9.	Thesen	79

**Verzeichnis der Tabellen**

		Seite
Tabelle 1	Zusammenfassung der Definitionen, Methoden, Materialien und Fragmentmuster der untersuchten Polymorphismen	70/71
Tabelle 2	Darstellung der Ergebnisse des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes	19
Tabelle 3	Auswertung der statistischen Daten des Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE	73
Tabelle 4	Auswertung der statistischen Daten der Apo E- Polymorphismen	22
Tabelle 5	Auswertung der statistischen Daten des 5`Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP	74
Tabelle 6	Auswertung der statistischen Daten des LRP1- Promotor-Polymorphismus	25
Tabelle 7	Darstellung der statistischen Ergebnisse des Ser128Arg-Polymorphismus des E-Selektins	75
Tabelle 8	Darstellung der statistischen Ergebnisse der Leiden-Mutation des Faktors V	27
Tabelle 9	Darstellung der statistischen Ergebnisse des C825T-Polymorphismus der $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins	76
Tabelle 10	Darstellung der statistischen Ergebnisse des C242T-Polymorphismus des p22phox	77
Tabelle 11	Darstellung der statistischen Ergebnisse des T174M-Polymorphismus des Angiotensinogens	78

## Verzeichnis der Abbildungen

		Seite
Abbildung 1	Darstellung von Mortalitätsziffern verschiedener Länder (modifiziert nach Levi et al.) in Abhängigkeit vom Geschlecht	3
Abbildung 2	Darstellung des Einflusses klassischer und in Diskussion befindlicher Risikofaktoren auf die Entstehung einer Arteriosklerose	5
Abbildung 3	Darstellung der Alterspyramide der deutschen Bevölkerung 1998 (modifizierte Darstellung nach „Bevölkerungspyramide animiert“ des statistischen Bundesamtes Deutschlands)	16
Abbildung 4	Darstellung der Anzahl der Probanden in den Altersdekaden	16
Abbildung 5	Anzahl der Probanden bezogen auf Altersdekaden, Risikoaltersgruppen und Altersgrenzen	17
Abbildung 6	Darstellung des Prozentsatzes an Probanden in den Altersdekaden	17
Abbildung 7	Darstellung des Prozentsatzes an Probanden in den Risikoaltersgruppen	17
Abbildung 8	Geschlechterverteilung der Probanden in den Altersgrenzen	18
Abbildung 9	Darstellung des Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE in Abhängigkeit von rezessivem Modell des Erbganges und Alters-Einteilung in Risikoaltersgruppen	21
Abbildung 10	Darstellung des codominanten Erbganges in Abhängigkeit vom Geschlecht beim LRP1-5Tetranucleotid <sup>-</sup> -Polymorphismus	23
Abbildung 11	Darstellung des rezessiven Modells des Erbganges des Ser 128 Arg-Polymorphismus des E-Selektins	26
Abbildung 12	Darstellung des codominanten Modells des Erbganges der Leidenmutation des Faktor V	28
Abbildung 13	Darstellung des C825T-Polymorphismus des G-Proteins in Abhängigkeit von Altersgrenzen und rezessivem Erbgang (Altersgrenze 1 versus übrige Probanden)	29
Abbildung 14	Darstellung des C825T-Polymorphismus des G-Proteins in Abhängigkeit von Geschlecht und Modell des codominanten Erbganges	29

Abbildung 15	Darstellung des T174M - Polymorphismus des Angiotensinogens in Abhängigkeit von Altersdekaden und rezessivem Erbgangsmode	32
Abbildung 16	Darstellung des T174M -Polymorphismus des Angiotensinogens in Abhängigkeit von Altersgrenzen und codominantem Erbgangsmode	32
Abbildung 17	Ergebnisse der Studie von Gesang et al. versus mitteldeutsche Blutspender	36

**Verzeichnis der Abkürzungen**

A	Adenin
Abb.	Abbildung
ACE	<i>angiotensin converting enzyme</i>
Agt	Angotensinogen
Apo A	Apolipoprotein A
Apo B	Apolipoprotein B
ApoE	Apolipoprotein E
Arg	Arginin
bp	Basenpaare
C	Cytosin
CAD	<i>coronary artery disease</i>
D	Deletion
Fe	Eisen
G	Guanin
HDL	<i>high density lipoproteins</i>
I	Insertion
K	koronare Herzkrankheit
Kap.	Kapitel
kb	Kilobase
kd	Kilodalton
LDL	<i>low density lipoproteins</i>
LRP	<i>low density lipoprotein receptor-related protein</i>
M	Methionin
AMI	Akuter Myocardinfarkt
MLU	Martin-Luther-Universität
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>

n	Anzahl
NADP, NADPH	Nikotinsäureamindinukleotidphosphat, reduziertes NADP
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
phox	<i>phagocyte oxidase</i>
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
Ser	Serin
SPSS	Superior Performing Software System
T	Thymin (als Nucleobase)
T	Threonin (als Aminosäure im Zusammenhang mit AGT T174M-Polymorphismus)
Tab.	Tabelle
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
VLDL	<i>very low density lipoproteins</i>

## 1. Einleitung

Herz-Kreislaufkrankungen infolge Arteriosklerose stellen, insbesondere in den wirtschaftlich hoch entwickelten Staaten, ein gesundheitspolitisches und ethisches Problem dar. Die Mortalität lag 1995 bei 43,5% der Gesamtsterblichkeit für Männer und bei 52,9% für Frauen [1]. Aus diesem Grund stellt die Untersuchung der Erkrankungsursachen weltweit einen Schwerpunkt der Forschungstätigkeit dar.

### 1.1. Statistische Betrachtungen zu Morbidität und Mortalität im Land Sachsen-Anhalt und in weltweiten Studien

Laut „Gesundheitsbericht für Deutschland“ des Jahres 1995 wiesen Brandenburg und Sachsen-Anhalt die höchsten standardisierten Sterbeziffern der Bundesrepublik auf. Die Mortalität betrug 228,5 je 100.000 Einwohner. In ganz Deutschland war der Myocardinfarkt die häufigste Einzeltodesursache [1].

Insgesamt konnte man in der Erkrankungshäufigkeit ein Ost-West-Gefälle zulasten der neuen Bundesländer beobachten. Dabei erkrankten Männer häufiger als Frauen.

Zudem wurde 2008 in einer Studie von Moebus et al. [2], welche Daten des GEMCAS-Datensatzes (German Metabolic and Cardiovascular Risk Projekt) auswerteten, nachgewiesen, dass das metabolische Syndrom (per definitionem: Hyperglykämie + viscerale Adipositas + Hypertriglyceridämie + reduzierter Serum-HDL-Spiegel + arterielle Hypertonie) in den Bundesländern Sachsen-Anhalt, Thüringen und Brandenburg bundesweit mit den höchsten Prozentsätzen imponierte. Die höchste Prävalenz lag sowohl beim männlichen (24,7%) als auch beim weiblichen Geschlecht (23,2% der untersuchten Personen) in Sachsen –Anhalt vor [2].

Unter Zugrundelegung des Gesundheitsberichtes für Deutschland ergab sich für 1996 eine Gesamtsterblichkeit in Sachsen-Anhalt, welche zur Hälfte auf Todesursachen des Kreislaufsystems zurückzuführen war [1]. Die Sterberate der Männer war zu diesem Zeitpunkt die Höchste in ganz Deutschland [3]. Bezugnehmend auf Auszüge aus den Statistiken des Statistischen Landesamtes Sachsen-Anhalts der Jahre 1996-1999 wurden im folgenden Abschnitt einige konkrete Daten dargestellt. Betrachtete man die Sterblichkeit an Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Abhängigkeit vom Lebensalter, so waren in Sachsen-Anhalt steigende Raten mit zunehmenden Lebensjahren zu beobachten. Im Alter von 50-60 Jahren zeigte sich eine quantitativ signifikante Steigerung der Mortalitätsrate. Starben zum Beispiel 1996 im Alter von 50-55 Jahren 276 (1,62%) von insgesamt 17084 Patienten an Kreislaufkrankungen, so waren es im Alter von 55-60 Jahren bereits 596 (3,49%) Patienten [4].

Bei der Anzahl der statistisch erfassten Erkrankungen, welche von den jeweiligen Krankenhäusern nach Diagnoseschlüsseln gegliedert wurden, war eine erhöhte Krankheitsdichte sogar schon im Alter von 45-50 Jahren zu beobachten [4]. Bei der Darstellung der Sterbefälle in den verschiedenen Altersgruppen nach Diagnoseschlüsseln zeigte sich ein weiterer Aspekt. Bei Männern lag die Mortalität durch Myocardinfarkt bis zu einem Alter von 75 Jahren deutlich höher als bei Frauen. Im Alter über 75 Jahren verstarben häufiger Frauen an Herzinfarkt [4]. Diese Tatsache ist vermutlich Folge einer höheren Sterblichkeit der Männer im jüngeren Lebensalter und eventuell somit ein verfälschender Faktor für die Statistik.

An cerebralen Durchblutungsstörungen starben im Gegensatz zum Herzinfarkt Männer und Frauen bis zum Alter von 75 Jahren gleich häufig. In höherem Alter ergab sich wieder eine höhere Mortalität der Frauen für diese Erkrankung [4]. Betrachtet man die Anzahl der Sterbefälle insgesamt, so ist zu erkennen, dass Männer häufiger an kardialen und Frauen gehäuft an cerebralen Durchblutungsstörungen starben.

Levi et al. [5] stellten in einer Arbeit 2002 die Trends der weltweiten Sterblichkeit an kardiovaskulären und cerebrovaskulären Erkrankungen dar. In Abbildung 1 wurden seine Ergebnisse in modifizierter Form dargestellt. Levi [5] geht von einer Gesamtsterblichkeit an koronarer Herzkrankheit von 125,8 pro 100.000 Einwohner für Männer und 59,6 pro 100.000 Einwohner für Frauen in Deutschland (Jahre 1995-98) aus. Vergleicht man diese Zahl mit der Mortalität in Sachsen-Anhalt, welche 1995 mit 228,5 je 100.000 Einwohner angegeben wurde, so verdeutlichte sich die wesentlich höhere Prävalenz im mitteldeutschen Raum. Besonders hoch war laut Levi [5] die Sterblichkeit in Osteuropa, wobei die Ukraine, Litauen, Lettland, Estland, Weißrussland und die Russische Föderation mit Mortalitätsraten von über 300 für Männer pro 100.000 Einwohner besonders auffällig waren. Die niedrigsten Sterbeziffern in Bezug auf kardiovaskuläre Ursachen zeigten sich in Japan. Nur 35,7 Männer und 17,5 Frauen pro 100.000 Einwohner starben dort an Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Die Mortalität bei Männern in Dänemark, Norwegen, Österreich, Singapur und den USA war in etwa mit der in Deutschland vergleichbar. Die Sterblichkeit der Frauen war insgesamt wesentlich niedriger und lag in Deutschland etwa in gleicher Höhe mit Neuseeland, Dänemark, Costa Rica, Österreich, Israel, Australien, Schweden und Kanada. Die Ukraine hatte im Ländervergleich bei beiden Geschlechtern die höchsten Werte. 393,8 Männer und 223,2 Frauen pro 100.000 Einwohner starben dort in den Jahren 1995-98 an koronarer Herzkrankheit.

Levi [5] untersuchte außerdem die Entwicklung der Sterblichkeit in den Jahren 1965-1998. Die überwiegende Anzahl der Länder hatte eine Reduktion der Sterbeziffern um 20-40% zu verzeichnen. In Australien, Neuseeland, USA, Kanada und Argentinien sanken die Zahlen sogar um 50-60%. Im Gegensatz dazu stiegen die Werte in Mauritius (Männer 112,5%; Frauen 180,2%) und Rumänien (Männer 166,9%; Frauen 138,8%) gravierend. Von steigender Mortalität betroffen waren auch Polen und Mexiko mit circa 75%, Spanien (Männer 28,7%;

Frauen 13,7%), Hong Kong (Männer 23,3%; Frauen 64,2%), Ungarn (Männer 17,1%), Griechenland (Männer 27,9%; Frauen 15,7%) und Bulgarien (Männer 41,4%).

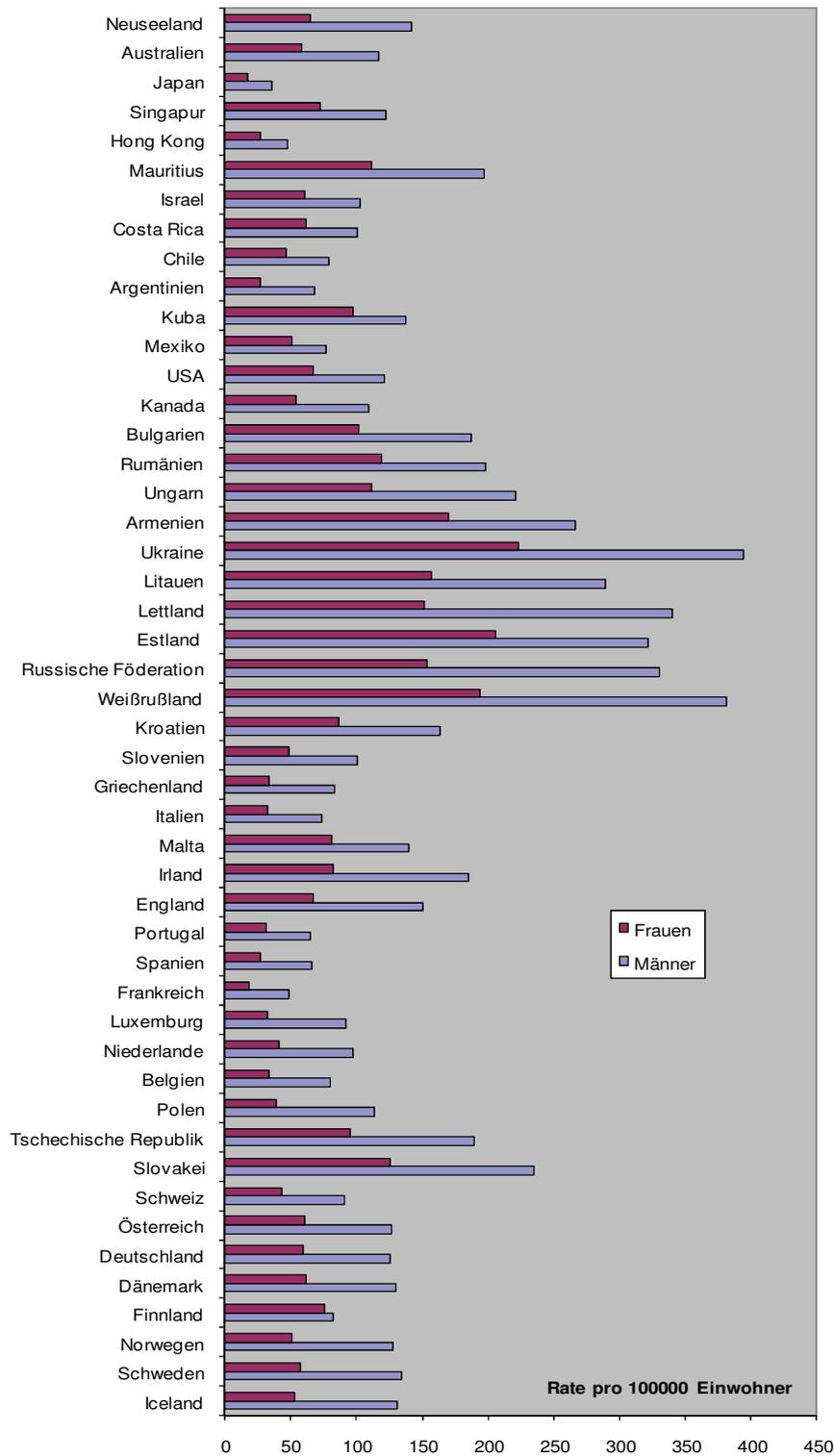


Abb. 1: Darstellung von Mortalitätsziffern verschiedener Länder (modifiziert nach Levi et al.) in Abhängigkeit vom Geschlecht

## 1.2. Risikofaktoren der Arterioskleroseentstehung

Viele Faktoren werden für die Entstehung einer Arteriosklerose verantwortlich gemacht. Sie wird als eine degenerative Erkrankung mit herdförmigen oder diffusen Veränderungen der Gefäßwand definiert, welche überwiegend die Intima der Gefäße betrifft. Die erwähnten Veränderungen können als Aufquellungen, Verdickungen und Verhärtungen imponieren, eine Einengung der Gefäße bedingen und zu Thromboseneigung führen [6].

Risikofaktoren für das Auftreten dieser Gefäßveränderungen sind vielfältiger Natur. Einer natürlichen mechanischen Abnutzung im höheren Lebensalter stehen vorzeitige Schädigungen durch Überbeanspruchung infolge arterieller Hypertonie, Versorgungsstörungen der Gefäßwand, chemischer Noxen, Stoffwechselstörungen sowie Gefäßschäden allergischer oder infektiöser Natur gegenüber [6].

Die Kombinationen der verschiedenen Faktoren und die Verbindung mit Adipositas scheinen das Risiko einer Erkrankung zu erhöhen.

Neue Studien tragen weiterhin zu der Annahme bei, dass Arteriosklerose ein komplexer Prozess ist und durch eine inflammatorische Reaktion in der Gefäßwand charakterisiert wird. Man nimmt an, dass es durch Vermittlung von sogenannten Adhäsionsmolekülen zur Anhaftung und Invasion von Blutzellen (z.B. Monozyten) in dem subintimalen Raum der Gefäße kommt. Die Monozyten differenzieren sich zu Makrophagen, nehmen Lipide auf und werden letztendlich zu Schaumzellen. Diese Zellen sind charakteristisch für arteriosklerotische Plaques. Makrophagen, T-Lymphozyten und Mastzellen sollen, immunhistologischen Untersuchungen zufolge, ebenfalls vermehrt in der Umgebung der Plaques zu finden sein [7].

Komplikationen dieser Gefäßveränderungen sind cardiale, cerebrale oder periphere Durchblutungsstörungen von unterschiedlicher Schwere. Limitierender Faktor ist dabei der Grad der mechanischen Einengung der Gefäße und die damit verbundene Minderdurchblutung von Organen.

In den letzten Jahrzehnten konnte anhand zahlreicher Studien [5, 8-16] belegt werden, dass insbesondere langjährig bestehender arterieller Hypertonus, Nikotinabusus, Stoffwechselstörungen wie Hypercholesterinämie oder Diabetes mellitus und körperliche Inaktivität in Verbindung mit Adipositas die Entstehung von arteriosklerotischen Plaques begünstigen können.

Neue Aspekte der Ursachenforschung sind systemische inflammatorische Prozesse, welche mit der verstärkten Bildung von Zytokinen, wie Interleukin (IL1) und Tumornekrosefaktor (TNF $\alpha$ ), einhergehen und zur Freisetzung von Adhäsionsmolekülen, Hitzeschockproteinen und anderen Mediatoren führen [7].

Ein weiterer Ansatzpunkt der Forschung ist die Annahme, dass durch Infektionen die Entstehung einer Arteriosklerose möglich ist. So konnten in atheromatösen Plaques mit Parodontitis assoziierte Keime, wie *Clamydia pneumoniae*, nachgewiesen werden [17].

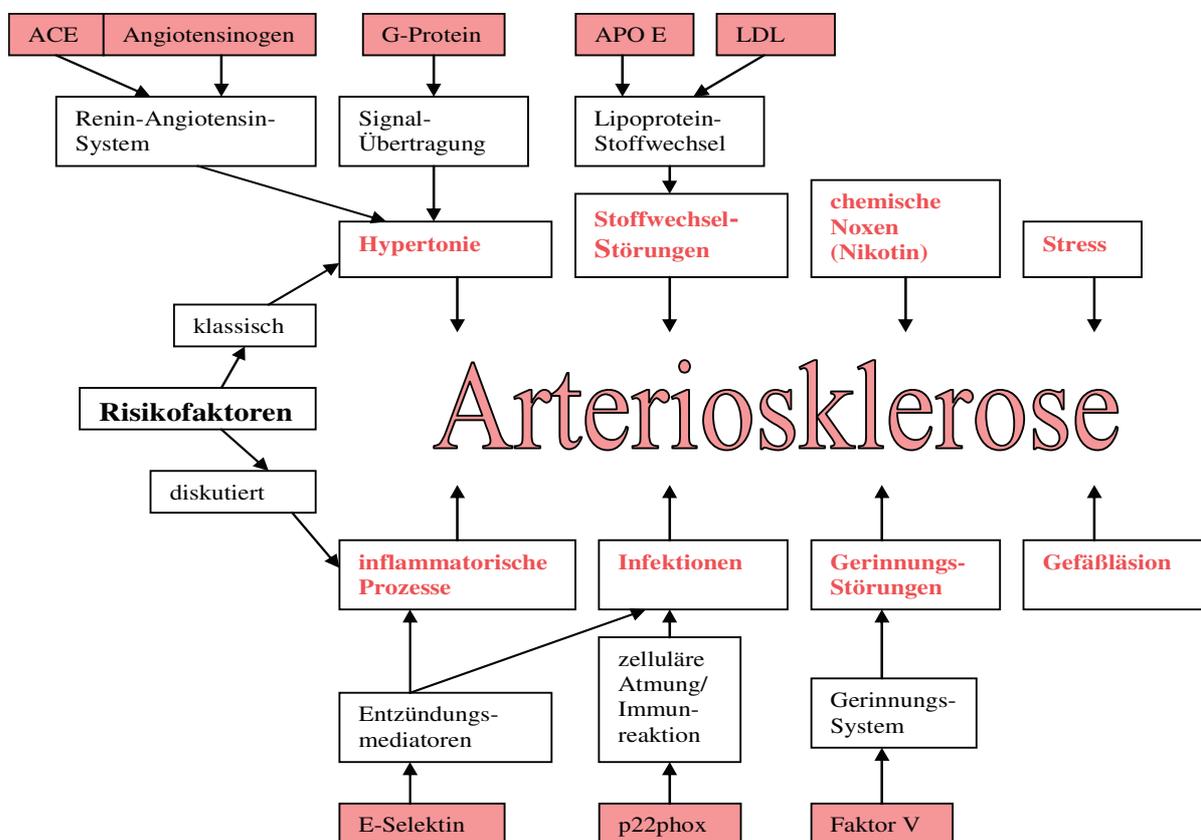


Abb. 2: Darstellung des Einflusses klassischer und in Diskussion befindlicher Risikofaktoren auf die Entstehung einer Arteriosklerose

Die Möglichkeit einer genetischen Prädisposition für die Erkrankungshäufigkeit von Herz-Kreislauf-Erkrankungen wird schon seit vielen Jahren diskutiert, konnte aber erst durch die Einführung neuer Methoden in der Labordiagnostik verifiziert werden.

Molekulargenetische Untersuchungsmethoden zeigten, dass eine Reihe von genetischen Varianten verschiedener Proteine, Enzyme und Transmitterstoffe einen direkten Einfluss auf die Entstehung arteriosklerotischer Plaques haben können.

Der größte Teil der Proteine greift in die Blutdruckregulation ein, ist am Lipidstoffwechsel beteiligt oder in die Blutgerinnung involviert. Besonders häufig wurde zum Beispiel der Insertions-Deletions-Polymorphismus des *Angiotensin-converting-enzyme* untersucht [18-50].

Die bisherigen weltweiten Studien auf dem Gebiet der Gen-Polymorphismen wurden in Bezug auf eine Krankheitsrelevanz kontrovers diskutiert. In der vorliegenden Arbeit wurde die

Verteilung genetischer Varianten verschiedener Proteine und Transmitterstoffe, welche bereits unter dem Aspekt einer möglichen Pathogenität betrachtet wurden, innerhalb einer mitteldeutschen Population europäischer Kaukasier untersucht. Anschließend wurden die erhobenen Daten mit Ergebnissen internationaler Publikationen verglichen.

### 1.3. Die Rolle von *Angiotensin-converting-enzyme* und Angiotensinogen im Renin-Angiotensin-System

Als ein wichtiger Faktor für die Manifestation der koronaren Herzkrankheit wird ein langjährig bestehender Hypertonus angesehen. Ursache für Endothelschäden, welche die Bildung arteriosklerotischer Plaques begünstigen können, sind dabei in der veränderten Rheologie des Blutes und damit möglichen Veränderungen der Strömungsverhältnisse in den Gefäßen zu suchen. Turbulente Strömungen an den Aufzweigungsstellen können Gefäßschäden verursachen [51].

Das Renin-Angiotensin-System greift als Regelmechanismus in die Steuerung der Natrium-Retention und Vasokonstriktion ein und hat direkten Einfluss auf die Erhöhung oder Senkung des Blutdruckes. Daher können Störungen des Regelmechanismus durch genetische Veränderungen der Substrate zu pathologischen Blutdruckwerten führen und somit ein Arterioskleroserisiko bedingen [52-55]. Renin, welches in juxtaglomerulären Zellen der Niere gebildet wird und ein Enzym ist, spaltet Angiotensinogen in Angiotensin I [56]. Angiotensinogen wird überwiegend in der Leber gebildet und kann als Schlüsselsubstrat angesehen werden [55].

Die genetische Information des Angiotensinogens, welches auch als Serpin Peptidase Inhibitor oder Serpina 8 bezeichnet wird, ist auf Chromosom 1q42-q43 lokalisiert und 11672 Basen groß (Chr1: -228904892-228916564). Die cDNA setzt sich aus 5 Exons und 4 Introns zusammen [54]. Das Protein des Angiotensinogens umfasst 2291 bp und 485 Aminosäuren. Für Angiotensin wurden eine Reihe von Polymorphismen identifiziert. In der vorliegenden Arbeit wurde der sogenannte T174M-Polymorphismus untersucht. Er befindet sich an Position 207 des Peptides des Angiotensinogens (p. 207 T>M). Diese Mutation beruht auf dem Austausch von Threonin (T) durch Methionin (M). Ursächlich für diese Änderung der Aminosäure ist ein Basenaustausch von Cytosin zu Thymin an Position 620 der cDNA (c.620 C>T) im Exon 2 [56]. In der Literatur wurde das Vorhandensein der mutanten Allel-Variante T im Vergleich zum Wildtyp CC als krankheitsinduzierend vermutet.

Das *Angiotensin-converting-enzyme* (ACE), auch als Pepdiyl-Dipeptidase 1 bezeichnet, ist eine zellmembrangebundene Carboxypeptidase, welche eine Schlüsselrolle bei der Regulierung des Gefäßtonus spielt. Sie wandelt Angiotensin I in den potenteren Vasokonstriktor Angiotensin II um und inaktiviert den Vasodilatator Bradykinin [57]. Angiotensin II wirkt vasokonstriktorisch

und damit blutdrucksteigernd. Es fördert außerdem die Aldosteron-Ausschüttung in den Nebennieren, was seinerseits zur Rückresorption von Natrium und zur osmotisch bedingten Wasserrückresorption führt. Dieser Effekt induziert die Steigerung des Blutvolumens und somit eine Blutdrucksteigerung [58]. ACE aktiviert das extrazelluläre Angiotensin I.

Das ACE-Gen ist auf Chromosom 17 (17q23.3) lokalisiert. Das Gen besitzt eine Größe von 20546 Basen (Chr17: +58908166-58928711) und erstreckt sich über 25 Exons und 24 Introns. Das Transkript hat eine Länge von 4022 Basenpaaren und 1306 Aminosäuren.

1988 wurde ein Insertions-Deletions-Polymorphismus identifiziert, welcher im Intron 16 (IVS16-104\_-105ins288) lokalisiert ist und sich durch die Abwesenheit von 288 Basenpaaren definiert. Die längere Variante wurde mit I (Insertion), die kürzere mit D (Deletion) bezeichnet, woraus sich die 3 Genotypen: DD, II und ID ergeben [59].

Als Wildtyp wird der homocygote II-Typ angesehen. Das D-Allel wurde in einer großen Anzahl von Studien als potentiell pathologisch betrachtet [18, 19, 22, 23, 25, 27, 28, 31-38, 42-46, 48-50, 60-63] und als Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen definiert. Diese Tatsache führte zur Aufnahme der Betrachtung des Polymorphismus in diese Arbeit.

#### 1.4. Der Stellenwert des Apolipoproteins E (Apo E) und des *Low-density-Receptor-related-Protein* (LRP) in der arteriosklerotischen Risikokonstellation

Seit vielen Jahren wird der Einfluss der Hyperlipoproteinämie auf Gefäßwandschäden diskutiert. Da Lipide im Blut, einem wässrigen Medium, unlöslich wären, wird der Transport durch Proteine arrangiert. Man spricht bei diesen Trägerproteinen von Apo-Lipoproteinen und unterscheidet 5 Klassen, welche als Apo A, B, C, D und E bezeichnet werden [64].

Lipoproteine setzen sich aus Anteilen von Protein, Phospholipid, Cholesterin und Cholesterinester zusammen. Zu den Lipoproteinklassen gehören Chylomikronen, VLDL, LDL und HDL. Der Proteinanteil ist unterschiedlich hoch und beinhaltet die Haupt-Komponenten Apo A, B, C und E in wechselnden Anteilen. So besitzen Chylomikronen einen hohen Fettanteil (86-95%) und nur 1-2% Protein. Im Gegensatz dazu hat HDL den höchsten Proteinanteil mit 40-55% und nur 2-7% Lipide [65].

Während Chylomikronen, VLDL und LDL die Aufgabe der Versorgung der peripheren Gewebe mit Fettsäuren, Cholesterin, und Cholesterinsäuren zugesprochen wird, soll HDL intravasal Bestandteile wie Cholesterin, Phospholipide sowie Apoprotein C und E aufnehmen können [64]. Der HDL-Fraktion wird eine anti-arteriosklerotische Wirkung zugeschrieben, da sie in der Lage zu sein scheint, Cholesterin auch aus den Endothelzellen und der Intima der Gefäße aufzunehmen. Die Synthese der Apo-Lipoproteine und der Aufbau der Lipoproteine erfolgt in Leberzellen und Darmmucosa [64]. Apo-Lipoproteine sind wichtiger Bestandteil eines funktionstüchtigen Lipoprotein-Stoffwechsels. Eine Mutation des in dieser Arbeit untersuchten

Apo E kann, infolge einer Anhäufung von *Remnants* (Abbauprodukte von Chylomikronen, VLDL und HDL) im Blut, zur Dyslipoproteinämie führen und damit Risikofaktor für die Bildung arteriosklerotischer Plaques sein [10, 66].

Apo E ist ein Polypeptid. Das Gen umfasst 3612 Basen und ist auf Chromosom 19 (19q13.2) lokalisiert (Chr.19: +50100879-50104490) und enthält 3612 Basen in 4 Exons und 3 Introns. Das Transkript des Gens umfasst 1263 Basen, welche 317 Aminosäuren codieren. Für Apo E wurden drei wichtige Isoformen (E2, E3, E4) und damit sechs Phänotypen beschrieben (E2/E2, E3/E3, E4/E4 und E2/E3, E2/E4, E3/E4). Die verschiedenen Isoformen unterscheiden sich in der Aminosäuresequenz. Es sind zwei Polymorphismen bekannt, der sogenannte APOE-C112R-Polymorphismus (c.388T>C; p.130C>R) und der sogenannte APOE-R158C-Polymorphismus (c.526C>T; p.176R>C), welche sich im Exon 4 befinden und einen Austausch der Aminosäuren Cystein und Arginin bedingen. E2 besitzt die Konstellation Cystein/Cystein, E3 Cystein/Arginin und E4 Arginin/Arginin [67]. Da die Isoform ApoE3 (E3) mit einer Allelfrequenz von 70-85% in der Normalbevölkerung vorkommt, wird sie als Normtyp betrachtet. Die übrigen Isoformen finden sich in deutlich geringerem Prozentsatz: E2 3-12%, E4 12-18% [68, 69].

Breslow et al. [10] bewiesen schon 1982, dass Patienten mit einer familiären Dyslipoproteinämie III (Typ III der Hyperlipoproteinämie nach Fredrikson) vermehrt die homozygote Isoform E2 trugen. Bei diesem Phänotyp kommt es durch die veränderte Struktur des Proteins zur Behinderung der Bindung an die Apo E-Rezeptoren der Leber. Die Folge dessen ist die Anreicherung von Apo E-reichen Lipoproteinen im Blut, welche durch Ablagerung in geschädigten Endothelbereichen zu erhöhter Sklerosegefahr führt [70]. In den folgenden Jahren wurde auch die E4-Variante mit einer möglichen Pathogenität in Zusammenhang gebracht. So wiesen zum Beispiel Sheehan et al. 2000 [70] deutlich erhöhte Cholesterinwerte bei Probanden mit Isoform E4 nach und Mustafina et al. [71] konnten 2002 ein signifikant höheres Aufkommen der E4-Variante bei russischen und tatarischen Herzinfarkt-Patienten nachweisen.

Die Rezeptoren, für welche Apo E als Mediator zur Bindung und Endocytose der Lipide dient, werden der Familie der *Low-density-lipoprotein*(LDL)-Rezeptoren zugeordnet [72, 73].

Patel et al. [74] bewiesen 2003, dass der LDL-Rezeptor zwar allein in der Lage ist Lipide an der Zelloberfläche zu binden, jedoch die Zelle nur bei Expression des cytoplasmatischen Anteils des LRP (low density lipoprotein receptor related protein) in der Lage war, die Lipide auch zu phagozytieren. Das in dieser Arbeit betrachtete LRP 1 ist eines der wichtigsten Mitglieder der LRP-Familie, zu welcher unter anderem LDLR (*low density lipoprotein receptor*), VLDLR (*very low density lipoprotein receptor*), ApoER (*apolipoprotein E receptor*) und LRP2 (Megalin) gezählt werden [75]. LRP1 (*LDL-Rezeptor related protein 1*) wurde auch als ApoE-Rezeptor,  $\alpha$ 2-Makroglobulin-Rezeptor (A2MR), HSPgp96-Rezeptor oder CD91 bezeichnet. Es

ist ein 500 kD schweres Membranprotein, welches 4544 Aminosäuren umfasst, der Gruppe der Glykoproteine angehört und eine zentrale Rolle bei einer Reihe von transzellulären Prozessen, wie Bindung und Endocytose zu spielen scheint.

LRP 1, auch als *Low density lipoprotein receptor-related protein 1* oder *Alpha 2-macroglobulin receptor* bezeichnet, hat vier Domänen zur Liganden-Bindung (103,130). Der Gen-Lokus des LRP befindet sich auf Chromosom 12 (12q13-q14) und umfasst 84861 Basen (Chr.12: +55808549-55893409). Das durch 89 Exons und 88 Introns codierte Protein ist 14886 Basenpaare / 4544 Aminosäuren groß.

Neben seiner Aufgabe als zellständiger Rezeptor für Apolipoprotein E wird LRP 1 auch mit der Bindung von an  $\alpha$ 2-Makroglobulin gebundenen Proteinasen und HSP (*heat shock protein*) im Rahmen von Infektionen und malignen Entartungen in Zusammenhang gebracht [75].

Boucher et al. [9] konnten 2003 im Tierexperiment eine weitere Funktion nachweisen. LRP hemmt an glatten Muskelzellen die Zellproliferation durch Inaktivierung des PDGF-Rezeptors (*platelet derived growth factor*). Es wurde beobachtet, dass diese Wirkung durch ApoE verstärkt wird. Mäuse, welchen sowohl der LDL-Rezeptor als auch das LRP in den glatten Gefäßmuskelzellen fehlte, entwickelten eine progrediente Arteriosklerose. Damit wurde gleichzeitig eindrucksvoll der atheroprotektive Effekt des ApoE bewiesen [9]. Der Nachweis einer starken Expression des LRP 1 erfolgte in Leber- und Hirngewebe [75]. In mehreren klinischen Studien beobachtete man verschiedene genomische Varianten des LRP 1 (A2MR) und untersuchte den Einfluss der Polymorphismen auf die Entstehung von Krankheiten. Besonderes Interesse lag dabei auf der Untersuchung der Einflüsse auf die Entstehung eines Morbus Alzheimer [76, 77], aber auch die Involvierung in arteriosklerotische Prozesse wurde diskutiert. Schulz et al. [78] typisierten das Gen 2002 in einer Assotiationsstudie bei Arteriosklerose-Patienten mit Myocardinfarkt und vergleichend gesunde Blutspender. Dabei fanden sich eine Reihe neuer Polymorphismen. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei LRP1-Polymorphismen untersucht. Beim ersten Polymorphismus handelt es sich um den von Zuliani und Hobbs [79] 1994 beschriebenen sogenannten Tetranucleotid-Längenpolymorphismus 5' des LRP-Gens (c.1-3541\_-3560polyAAGA), für den die vier Hauptallele der Fragmentgrößen von 83bp, 87bp, 91bp und 95bp beschrieben wurden.

Der zweite untersuchte Polymorphismus wurde von Schulz et al. [78] erstmals beschrieben. Er stellt sich als Basentausch Cytosin nach Guanin 491 bp upstream von A des Startkodons ATG dar (c.1-491C>G). Bei Trägern des mutierten G-Allels wurde von den Autoren eine höhere Expression des mRNA-Levels gemessen.

## 1.5 Faktor V des Gerinnungssystems

Der Faktor V wird auch als Proaccelerin bezeichnet. Das Gen befindet sich auf Chromosom 1 (1q23), ist 74578 Basen groß (Chr1: -167747816-167822393) und umfasst 25 Exons und 24 Introns. Das Transkript, ein Beta-Globulin, besteht aus 7024 Basenpaaren und 2224 Aminosäuren und ist ein wichtiger Faktor der Gerinnungskaskade. Seine Bildung erfolgt in der Leber. Die Halbwertszeit liegt bei 11-14 Stunden. Er wird durch den Faktor Xa aktiviert und katalysiert seinerseits als Co-Faktor die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin [58, 65, 81]. Thrombin vermittelt als Folgeschritt die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin. Es trägt zur reversiblen Vernetzung der Fibrinmonomere bei [58].

Beim Durchlauf der Gerinnungskaskade wird ein erheblicher Verstärkungseffekt erreicht. Eine Störung durch Veränderung eines Faktors könnte die Hämostase beeinflussen. Ein Überschießen beziehungsweise eine Dysbalance von Gerinnung und Fibrinolyse könnten die Gefahr einer Thrombose oder Blutung nach sich ziehen. Da die Synthese der Gerinnungsfaktoren genetisch determiniert ist, kann die Mutation eines Gens zu verminderter Synthese oder Bildung atypischer und damit in der Funktionsweise eingeschränkter Faktoren führen [64].

Bei Überwiegen der Koagulation und einem zusätzlichen Endotheldefekt eines Gefäßes besteht durch Einwanderung von Thrombozyten und Makrophagen die Gefahr der Bildung eines wandständigen Plaques. Dieser kann zu der gefürchteten Komplikation des Infarktes führen.

Bertina et al. [82] identifizierte 1994 eine Mutation des Faktors V bei einer Familie mit Neigung zu Thrombosen. Es fand sich ein Guanin-zu-Adenin-Austausch an Position 1601 der cDNA (c.1601G>A). Diese Mutation hat einen Aminosäuretausch von Arg (CGA) zu Glu (CAA) zur Folge (p.534R>Q). Man bezeichnete diese Mutation als Leiden-Mutation oder G1691A-Polymorphismus des Faktor V. 1995 wurde der Polymorphismus durch Kalafatis et al. [83] charakterisiert. Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit erfolgten aufgrund des erwiesenen Zusammenhanges von Leiden-Mutation und vermehrter Neigung zu Thrombosen.

Carine et al. [84] bewies 1998 in einer Studie der niederländischen Heart Foundation, dass selbst der heterozygote Typ (AG) ein erhöhtes Risiko für Myocardinfarkte trug.

## 1.6. *Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule 1* – E-Selektin als Entzündungsmediator

Gefäßläsionen oder Infektionen erfordern vom Immunsystem eine rasche Reaktion. Dabei wird die Einwanderung von Leukozyten durch ihre Adhärenz an Gefäßwände eingeleitet. Es kann in Folge dieser Funktion zu einer Ansammlung von Leukozyten in Infektionsherden kommen, welche eine adäquate Immunantwort einleiten [85].

Selektine vermitteln die ersten Schritte für diese Abwehrmechanismen, die zu einer kaskadenartigen Interaktion mit weiteren Mediatoren führen. Die Aufgabe der Selektine besteht darin, die Leukozyten beziehungsweise Thrombozyten an die Zelloberfläche des Endothels anzunähern und ihre Geschwindigkeit im Blutfluss zu drosseln. Der Kontakt zur Endotheloberfläche lässt Reaktionen mit weiteren Entzündungsmediatoren zu. Diese begünstigen ihrerseits die Migration von Leukozyten in das entzündete Gewebe [85, 86]. Man unterscheidet in der Familie der Selektine drei Zell-Adhäsions-Moleküle: Selektin L, welches überwiegend auf Leukozyten zu finden ist, Selektin P auf den Thrombozyten und Selektin E [86].

Das Selektin E ist ein Oberflächen-Glykoprotein, welches von Cytokin-aktivierten Endothelzellen exprimiert wird und die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten vermittelt. In der Literatur wird es auch als ESEL, SELE, *Endothelial adhesion molecule 1*, Selectin 1 oder ELAM 1 bezeichnet. Seine genetische Information ist auf Chromosom 1(1q24.2) lokalisiert (Chr1: -167958406-167969803). 14 Exons und 13 Introns, welche sich über eine DNA-Frequenz von 11398 Basen erstrecken, determinieren das Molekül [86], dessen Transkript 3857 Basen und 610 Aminosäuren umfasst.

Der in der vorliegenden Arbeit betrachtete, sogenannte Ser128Arg-Polymorphismus befindet sich in Exon 4 der cDNA des E-Selektin-Gens (c.445A>C) und beinhaltet einen Austausch von Adenin zu Cytosin. Diese Mutation bewirkt einen Aminosäurewechsel (p.149S>R) von Serin zu Arginin [88].

Wenzel et al. [88] bewiesen 1994 anhand ihrer Studienergebnisse einen Zusammenhang zwischen der Arginin-Variante und einem höheren Erkrankungsrisiko für Arteriosklerose im jüngeren Lebensalter.

### 1.7. Guanin nucleotide-binding Protein – G-Protein - ein Signaltransmitter

G-Proteine gehören zu einer Gruppe von membrangebundenen Proteinen, welche eine Reihe von chemischen und physikalischen Signalen übermitteln. Dabei werden Stimuli von den Rezeptoren der Zelloberfläche auf Effektoren im Inneren der Zelle übertragen. Effektoren sind in diesem Falle zum Beispiel Hormone, Wachstumsfaktoren und Neurotransmitter. G-Proteine aktivieren oder inhibieren, je nach Typ der extrazellulären Information, intrazelluläre Signalkaskaden [65]. Da sich das G-Protein aus drei Untereinheiten zusammensetzt, der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Einheit, bezeichnet man es auch als Heterodimer. Die Untereinheiten spielen bei der Signalübertragung unterschiedliche Rollen. So hat zum Beispiel die  $\alpha$ -Einheit die Fähigkeit, Guanindiphosphat (GDP) oder Guanintriphosphat (GTP) zu binden. Die Bindung an diese zwei Substanzen entscheidet über den Zustand des G-Proteins. Eine Aktivierung besteht bei Bindung an GTP [65]. Durch Hydrolyse des GTP zu GDP, wozu G-Protein durch einfache enzymatische

Reaktion in der Lage ist, kehrt es in einen inaktivierten Zustand zurück. Im aktivierten Zustand spaltet sich die  $\alpha$ -Einheit von der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Einheit, welche eng miteinander verbunden sind, ab und aktiviert seinerseits die Adenylat-Cyclase [65, 89, 90, 91, 92]. Eine Reihe von vasoaktiven Substanzen und Wachstumsfaktoren nutzen G-Protein zur Kommunikation, insbesondere auch im cardiovasculären Gewebe [92]. Bei Störung der Signaltransduktion infolge Veränderung des Aufbaus des G-Proteins könnte eine Erhöhung des Blutdruckes indiziert werden.

Siffert et al. [93] und Schunkert et al. [94] wiesen 1998 bei Patienten mit Hypertonus die Häufung einer Mutationsvariante der  $\beta_3$ -Untereinheit des G-Protein nach, welcher als C825T-Polymorphismus bezeichnet wurde. Die Erbinformation des GNB3-Gens (alias  $\beta_3$ -Untereinheit des G-Proteins, *Guanine nucleotide binding protein, Beta polypeptide 3*) wird von Chromosom 12 (12p13.31) codiert und ist 7183 Basen groß (Chr12: +6819636-6826818). Das Transkript des Gens ist 1923 Basenpaare lang und umfasst 340 Aminosäuren.

In der vorliegenden Arbeit wurde der von Siffert et al. [93] 1998 zuerst beschriebene C825T-Polymorphismus untersucht. Er befindet sich in Exon 10 an Position 825 der cDNA (c.825C>T). An dieser Stelle erfolgt ein Basenaustausch von Cytosin nach Thymin. Das T-Allel ist laut Siffert et al. mit einer Splice-Variante assoziiert, bei der im Exon 9 die Nucleotide 498-620 fehlen. Dieser Fakt hat außer dem Fehlen von 41 Aminosäuren auch den Verlust einer Wiederholungsdomäne der  $\beta$ -Untereinheit zur Folge.

Siffert et al. [93] fanden bei der Untersuchung von normotensiven und hypertensiven Individuen ein gehäuftes Vorkommen des T-Allels bei Hypertonikern und schlossen darum auf einen Zusammenhang von T-Variante mit erhöhter biologischer Aktivität und Entstehung eines Hypertonus.

#### 1.8. P22-phox als Komponente der Atmungskette und der Immunabwehr

Eine wichtige Funktion von Phagozyten, wie Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und Monozyten, ist die Bildung von Superoxid-Radikalen zur Eliminierung phagozytierter Mikroorganismen. Man beobachtete allerdings eine verstärkte Bildung von Sauerstoff-Superoxid auch in nicht phagozytierenden Zellen einschließlich Fibroblasten, glomerulären Mesangialzellen, Endothelzellen und glatten Muskelzellen. Daher geht man davon aus, dass Sauerstoffradikale eine entscheidende Rolle beim Zellwachstum einiger Systeme spielen. Die Produktion von Superoxiden erfolgt durch eine aktivierte membrangebundene NADP/NADPH-Oxidase. Dieses Enzym kann offensichtlich durch Angiotensin II stimuliert werden [95].

Die NADPH-Oxidase der Phagozyten setzt sich aus zytosolischen Komponenten (p47phox und p67phox), einem niedrigmolekularen G-Protein (Rac 1 oder 2) und einem membranassoziierten Teil, dem Cytochrom b 558, zusammen. Die strukturelle Zusammensetzung der Oxidase scheint sich von der der nichtphagozytierenden Zellen zu unterscheiden [95].

Cytochrome sind Hämoproteine und wurden nach ihrer Fähigkeit zur Lichtabsorption in drei Klassen unterteilt, welche man mit a, b und c bezeichnete. Sie wirken als Elektronenüberträger, wobei sie verschiedene reversible Redoxzustände einnehmen können (zum Beispiel  $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ) und als Katalysatoren bei den Oxidationsreaktionen der Atmungskette. Cytochrom b ist ein membrangebundenes Protein der Mitochondrien. Es hat von allen Cytochromen das niedrigste Redoxpotential [58]. Man bezeichnet es als Heterodimer, da es aus einer schweren glykolisierten 91 kDa schweren Kette und einer leichten unglykolisierten 22 kDa schweren Kette besteht [58]. Die leichte Kette nannte man p22phox (für Phagozyten-Oxidase) beziehungsweise  $\alpha$ -Untereinheit des Cytochrom b 558 [96].

Die genetische Codierung des p22phox (alias CYBA-Gen, Cytochrom b-245) erfolgt auf Chromosom 16 (16q24.3). Das Gen ist 7761 Basen groß (Chr16: -87237198-87244958) und umfasst 6 Exons, welche 687 Basenpaare und 195 Aminosäuren codieren [97].

Parkos et al. [98] beschrieben 1988 einen sogenannten 242 C-T-Polymorphismus (c.214T>C) der CYBA (Cytochrom b-alpha-Einheit), der einen Aminosäuretausch an Position 72 (p.72Y>H) von Tyrosin zu Histidin bewirkt. Dieser Polymorphismus mit den Genotypen CC, CT und TT wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht.

Inoue et al. [98] brachten 1998 das Vorliegen des T-Allels mit einem verminderten Erkrankungsrisiko für eine koronare Arteriosklerose bei Japanern in Zusammenhang.

In den folgenden Jahren wurde der Polymorphismus jedoch kontrovers als ein die Koronararteriosklerose begünstigender Faktor diskutiert. So wurde von Cahilly et al. [99] in einer prospektiven Studie beobachtet, dass Patienten, welche das T-Allel trugen, progressive Veränderungen der Arteriosklerose der Herzkranzgefäße aufwiesen. Der Mechanismus des Zusammenhanges zwischen 242 T-Allel und Progression der koronaren Herzkrankheit ist unbekannt.

Im Gegensatz zu den Phagozyten hat die NADPH-Oxidase im vasculären Oxidase-System eine geringere Aktivität. P22phox wird in normalen Koronargefäßen in einer geringen Menge exprimiert. In arteriosklerotischen Gefäßen ist die exprimierte Menge herunterreguliert und von weiteren Faktoren, wie Angiotensin II und Cytosinen (zum Beispiel Tumornekrosefaktor  $\alpha$ ), beeinflusst [99].

## 2. Fragestellung

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war eine Analyse der Häufigkeiten ausgewählter genetischer Varianten der atherosklerotischen Kandidatengene Angiotensinogen, ACE, Apo E, LRP 1, Faktor V, E-Selektin, G-Protein und p22phox in einer Stichprobe gesunder Probanden (Langzeitblutspender) aus dem mitteldeutschen Raum als Vergleichsgruppe klinisch unauffälliger Personen der lokalen Population Halle-Merseburg-Bitterfeld, welche als Stichprobe für krankheitsassoziierte epidemiologische Studien konzipiert wurde.

Im Einzelnen wurden untersucht:

1. der Insertions-Deletions-Polymorphismus des Angiotensin-converting-enzyme
2. drei Isoformen des Apolipoprotein E (E2, E3, E4)
3. der 5`Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP 1 (c.1-3541\_-3560polyAAGA)
4. der LRP 1-Polymorphismus der Promotor-Region ( c.1-491C>G)
5. der sogenannte Ser128Arg-Polymorphismus des E-Selektin
6. die Leiden-Mutation
7. der sogenannte C825T-Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des G-Protein
8. der sogenannte C242T-Polymorphismus des p22phox
9. der sogenannte T174M-Polymorphismus des Angiotensinogen

Die Auswertung der Ergebnisse berücksichtigte besonders folgende Schwerpunkte:

1. Charakterisierung der Studiengruppe
2. Ermittlung der Genotyp-und Allelfrequenz in der Stichprobe
3. Prüfung auf Alters-und Geschlechtsabhängigkeit
4. Vergleich mit anderen ethnischen Bevölkerungsgruppen
5. Limitierende Faktoren
6. Beurteilung weiterführender wissenschaftlicher Untersuchungen, welche für die Positionierung der vorliegenden Ergebnisse relevant sind

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Die Probandengruppe

Bei der vorliegenden Arbeit ging es um die Darstellung genetischer Varianten einzelner Kandidatengene in einer mutmaßlich gesunden Population. Die Altersverteilung sollte dabei der Verteilung in der mitteldeutschen Bevölkerung entsprechen. In einer Vielzahl von wissenschaftlichen Arbeiten, insbesondere auch in Studien zur Verteilung alleler Varianten, wurden als Vergleichsgruppe Blutspender ausgewählt. Diese Tatsache impliziert die Wahl dieser Probandengruppe als repräsentative Kohorte für die statistische Untersuchung der gesunden Bevölkerung der Region Halle-Merseburg in Bezug auf die Verteilungshäufigkeit von Gen-Polymorphismen, welche mit der Entstehung der Arteriosklerose in Zusammenhang gebracht werden.

Blutspender sind in der Regel gesunde Menschen im Alter zwischen 18 und 68 Jahren. Sie unterliegen einer ständigen medizinischen Kontrolle (Spendeabstand in der Regel 12 Wochen) und sind damit gut untersucht.

In die vorliegende Studie wurden 442 Blutspender des Universitäts-Blutspendedienstes Halle einbezogen, bei welchen anamnetisch zusätzlich Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie Hypertonie und Angina pectoris durch den Autor der vorliegenden Arbeit ausgeschlossen wurden und welche keine Herz-Kreislauf-wirksamen Medikamente einnahmen.

Zu berücksichtigen ist bei der Wertung der Ergebnisse allerdings, dass Erkrankungen zum Zeitpunkt der Spende zwar ausgeschlossen werden konnten, eine Erkrankung im höheren Lebensalter allerdings nicht. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte in den Jahren 1995-1998. In die Gruppe der 442 Studienteilnehmer integriert waren 271 (61,3%) Männer und 171 (38,7%) Frauen. Das durchschnittliche Alter lag bei 42,2 +/- 11,2 Jahren (Mittelwert bei den Männern 43,69 +/- 10,7; bei den Frauen 39,46 +/- 11,3). Entsprechend der höheren Inzidenz einer Herz-Kreislauf-Erkrankung in der männlichen Bevölkerung wurde ein Geschlechtsverhältnis von circa 2:1 gewählt.

Die Altersverteilung entsprach in etwa der natürlichen Altersverteilung im Spenderstamm des Blutspendedienstes der Martin-Luther-Universität Halle und war mit der Häufigkeit der Altersgruppen der deutschen Bevölkerung bis etwa zum 55. Lebensjahr vergleichbar, wie aus den Abbildungen 3 und 4 ersichtlich.

Da sich das Probandenkollektiv ausschließlich aus Blutspendern der Region Halle/ Merseburg zusammensetzte, entsprach es somit genetisch einer mitteldeutschen Bevölkerung kaukasischer Abstammung. Bei der Auswertung der Laborergebnisse interessierte neben der geschlechtsspezifischen Häufung der einzelnen untersuchten Polymorphismen auch die Verteilung in Abhängigkeit vom Alter.

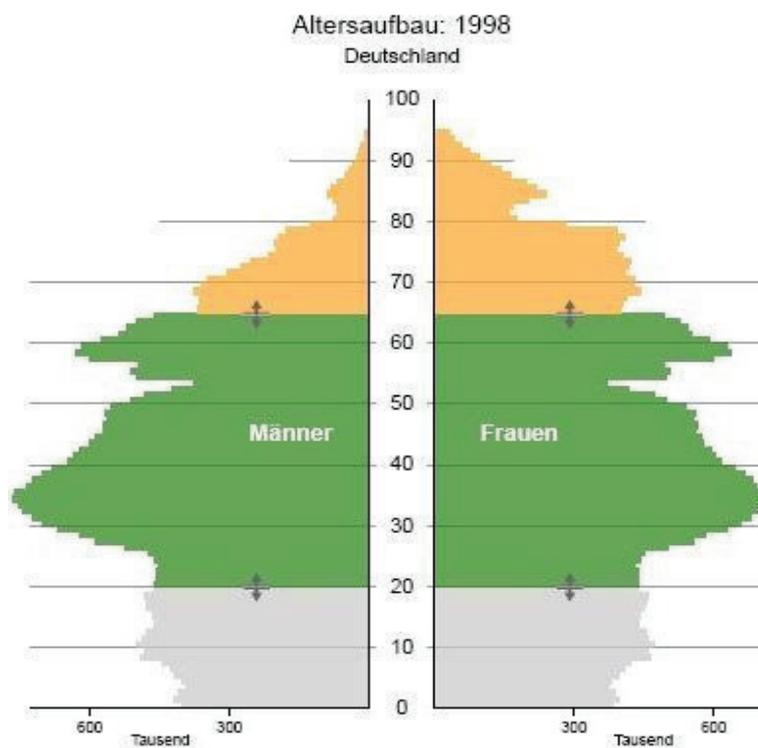


Abb.3: Darstellung der Alterspyramide der deutschen Bevölkerung 1998 (modifizierte Darstellung nach „Bevölkerungspyramide animiert“ des statistischen Bundesamtes Deutschlands)

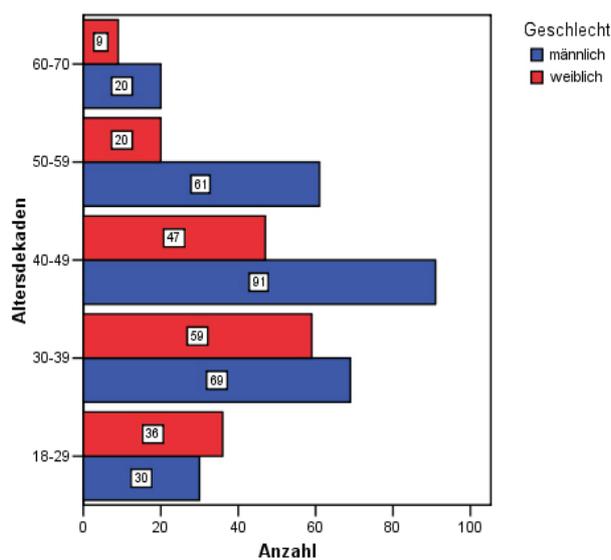


Abb.4: Darstellung der Anzahl der Probanden in den Altersdekaden

Es erfolgte daher die altersspezifische Aufteilung der Probanden in Altersdekaden (18-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-70) zur Beobachtung der prinzipiellen Verteilung in den Lebensjahrzehnten, in Risikoaltersgruppen (41-45, 46-50, 51-55, >55) zur Abschätzung des individuellen Risikos der Altersgruppen der 40 bis 70-jährigen und in Altersgrenzen (18-40, 18-50, 18-55, Gesamtzahl der Individuen ) zur Beobachtung der polymorphen Varianten mit zunehmendem Lebensalter (siehe Abb.5).

Altersdekaden	n %		Risikoaltersgruppen	n %		Altersgrenzen	n %	
	n	%		n	%		n	%
19-29	66	14,9	<41	203	45,9	18-40	203	45,9
30-39	128	29	41-45	52	11,8	18-45	255	57,7
40-49	138	31,2	46-50	86	19,5	18-50	341	77,1
50-59	81	18,3	51-55	43	9,7	18-55	383	86,7
60-70	29	6,6	>55	58	13,1	gesamt	442	100

Abb.5: Anzahl der Probanden bezogen auf Altersdekaden, Risikoaltersgruppen und Altersgrenzen

Die Aufteilung in Altersdekaden entsprach, wie bereits erwähnt, der natürlichen Verteilung im Spenderstamm. Interessant war der Vergleich der Aufteilung in Risikoaltersgruppen deshalb, weil, wie in Kapitel 1.1. bereits dargestellt, Herz-Kreislauf-Erkrankungen ab dem 45. Lebensjahr deutlich zunehmen. Wie aus den Abbildungen 6 und 7 zu ersehen ist, gab es keinen signifikanten Unterschied der Geschlechtsverteilung von Altersdekaden und Risikoaltersgruppen.

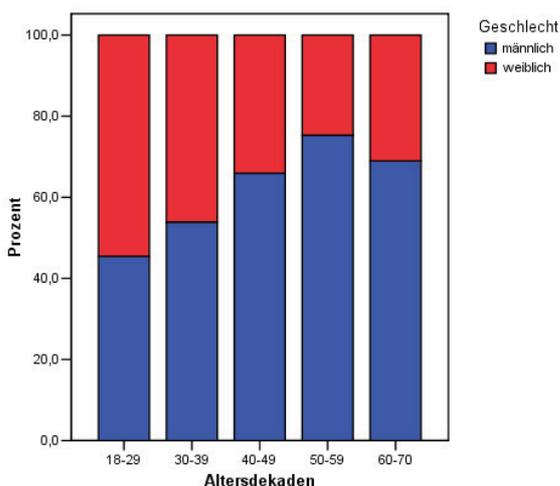


Abb.6:

Darstellung des Prozentsatzes an Probanden in den Altersdekaden

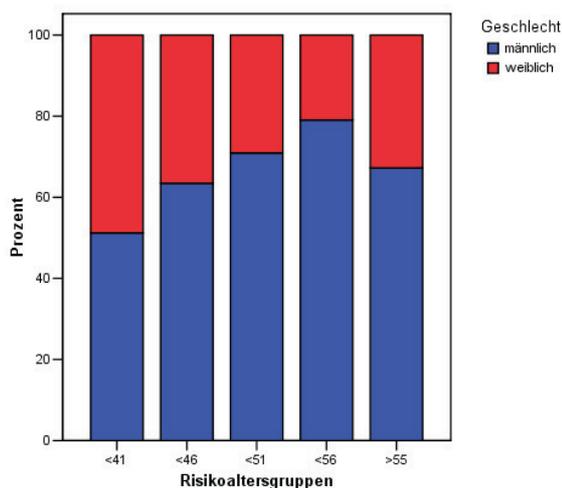


Abb.7:

Darstellung des Prozentsatzes an Probanden in den Risikoaltersgruppen

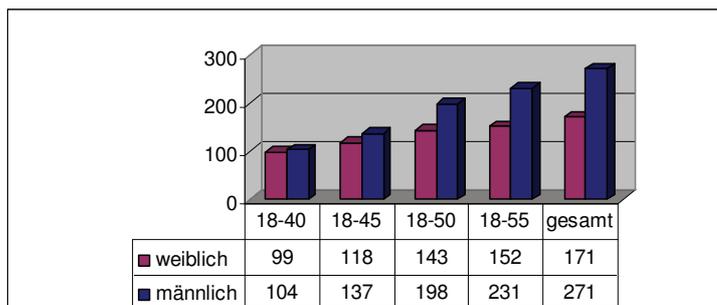


Abb.8: Geschlechterverteilung der Probanden in den Altersgrenzen

Bei der Einteilung in Altersgrenzen nahm die Anzahl der in die jeweilige Gruppe aufgenommenen Individuen zwangsläufig von Gruppe zu Gruppe zu (siehe Abbildung 8). Der Anteil an Frauen verringerte sich mit steigendem Alter, während der Anteil an Männern prozentual stieg. Mit dem Vergleich der Altersgrenzen sollte betrachtet werden, ob sich die Häufigkeit der genetischen Varianten mit steigendem Alter ändert. Die Anzahl der untersuchten Proben variiert bei den verschiedenen Polymorphismen aus technischen Gründen leicht.

### 3.2. Genotypisierung

Nach Gewinnung der Blutproben im Blutspendedienst der Martin-Luther-Universität Halle wurde die Präparation der DNA sowie die weiteren molekulargenetischen Untersuchungen am Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie der MLU Halle-Wittenberg durchgeführt. Die Methoden zur Genotypisierung wurden nach Sambrook et al. [100] durchgeführt.

Die Isolierung der genomischen DNA erfolgte mit Hilfe des „QIAamp DNA Blood Maxi Kit“ (Qiagen, Hilden). Zur Präparation wurden dabei Leukozyten aus 2,7 ml EDTA-Blut genutzt, welche nach Angaben des Herstellers behandelt wurden.

Zur Validierung der Qualität der DNA wurden die Produkte mehreren Testmethoden unterzogen. Es erfolgte sowohl die visuelle Kontrolle durch Auftrennung in einem 1,2%igen Ethidiumbromid-haltigen Agarosegel (0,5µg/ml Ethidiumbromid) unter UV-Strahlung (Wellenlänge: 254 nm) als auch die quantitative Analyse am Spektrometer. Dabei wurde eine Absorptionsmessung bei 260 nm durchgeführt.

Zur Amplifizierung der DNA mittels PCR wurden Thermocycler der Firma Eppendorf und Biometra genutzt. Die Amplifikation der spezifischen Fragmente erfolgte unter Nutzung der in Tabelle 1 (siehe Anhang) dargestellten Primer. Im Anschluss daran wurden die Produkte mittels elektrophoretischer Auftrennung im Ethidiumbromid-Agarosegel dargestellt. Eine Längenanalyse der Fragmente unter Zuhilfenahme einer 100-Basenpaar-Leiter als Vergleichsmaßstab kontrollierte dabei die Effizienz der PCR.

Zur Untersuchung der polymorphen Eigenschaften einiger der entstandenen PCR-Produkte wurden spezifische Restriktionsenzyme genutzt (siehe Tabelle 1 im Anhang).

Dabei nutzte man den Effekt des Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP), wobei durch Zugabe von Restriktionsenzymen spezifische Fragmente entstehen, deren Längenanalyse eine Unterscheidung zwischen Wildtyp und Mutante ermöglichen.

### 3.3. Durchführung statistischer Untersuchungen

Nach Abschluss der Laboruntersuchungen und computertechnischer Aufarbeitung der Daten erfolgte die statistische Auswertung mit Hilfe des Computerprogramms SPSS für Windows Version 10,0 und 12,0. Die Daten wurden mittels  $\chi^2$  – Merfeldertafeln analysiert. Dabei definierte man Effekte mit  $p < 0,05$  als statistisch signifikante Unterschiede. Betrachtet wurden die Ergebnisse der Alters- und Geschlechtswerte der polymorphen Varianten unter der Annahme von drei Modellen – einem dominanten, einem codominanten und einem rezessiven Erbgang. Dabei wurde das Alter in drei Verteilungsmodelle (Altersdekaden, Risikoaltersgruppen, Altersgrenzen) dargestellt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Alle in dieser Arbeit untersuchten Gen-Polymorphismen wurden unter Nutzung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes auf Gleichverteilung untersucht. Tabelle 2 stellt die Ergebnisse der Berechnungen dar. Durch diese Untersuchung konnte aufgezeigt werden, dass sich die Häufigkeit der Allele in der untersuchten Population nicht verändert und somit im Gleichgewicht befindet.

Tab 2: Darstellung der Ergebnisse des Hardy-Weinberg-Gleichgewichtes

<b>ACE</b>	<b>APO E</b>	<b>LRP 5`</b>	<b>LRP-Promotor</b>	<b>E-Selektin</b>
0,9968	0,9999	0,9992	0,9984	0,9985
<b>Leidenmutation</b>	<b>G-Protein</b>	<b>p22 Phox</b>	<b>Angiotensinogen 174</b>	
0,9909	0,9999	0,9999	0,9994	

#### 4.2. Der ACE-Insertions-Deletions-Polymorphismus

Die Untersuchung dieses ACE-Polymorphismus erfolgte an DNA-Proben von 440 Probanden, wobei sich die Gruppe in 269 männliche und 171 weibliche Individuen gliederte. Tabelle 3 (siehe Anhang) fasst die Ergebnisse der statistischen Berechnungen zusammen. Die Gesamtverteilung der Varianten des Insertions-Deletions-Polymorphismus betrug: II 21,1% (n = 93); ID 45,5% (n = 200) und DD 33,4% (n = 147), wobei das Verhältnis der Allelfrequenz 0,438 (Insertion) zu 0,562 (Deletion) betrug. Bei der Annahme eines codominanten Erbganges fiel eine relativ geringe Anzahl an Individuen mit homozygotem I-Allel auf. Sie lag zwischen 17,5% (n = 10) im Alter über 55 Jahren und 22,7% (n = 46) im Alter unter 41 Jahren. Ein tendenziell erhöhter Prozentsatz der heterozygoten Variante ID war im Alter zwischen 51. und 55. Lebensjahr zu verzeichnen. Dort imponierte auch eine geringe Anzahl der homozygoten D-Allel-Variante von 23,3% (n = 10), welche insgesamt den geringsten Prozentwert darstellte.

Bei der Beobachtung der Verteilung innerhalb der Altersdekaden zeichnete sich im Gegensatz dazu eine differente Verteilung ab. Der höchste Prozentsatz der homozygoten I-Variante lag in der Gruppe zwischen dem 18. und 29. Lebensjahr (n = 22; 33,3%). Die übrigen Altersdekaden lagen bei prozentualen Werten zwischen 18,0 (n = 23) und 20,7 (n = 6). Das Maximum der Häufung des heterozygoten Genotyps (ID) war in der Altersdekade 30-39 Jahre zu finden (n = 67; 52,3%). Entsprechend niedrig war in dieser Gruppe die Anzahl der Variante DD (n = 38; 29,7%).

Die geschlechtsspezifische Betrachtung wies ebenfalls keine signifikanten Unterschiede auf. Frauen trugen mit 38,0% (n = 65) häufiger die DD-Variante als Männer (n = 82; 30,5%).

Die Analyse der Gen-Verteilung im dominanten Erbgangsmode (DD+ID) zeigte keine signifikanten Verteilungsunterschiede, wie aus Tabelle 3 ersichtlich.

Unter Annahme der Rezessivität des D-Allels (DD versus ID+II) konnte beim Vergleich der Risikoaltersgruppen ein signifikanter Unterschied beobachtet und in Abbildung 9 dargestellt werden. Im Alter von 41-45 Jahren imponierte eine Häufung der homozygoten D-Variante von 48,1% (n = 25), während in den folgenden Gruppen bis zum 55. Lebensjahr die Anzahl der Individuen mit der auffälligen DD-Variante auf 23,3% (n = 10) zurückging. Im Alter über 55 Jahren trugen wieder 40,3% (n = 23) das reinerbige D-Allel.

Die Auswertung der drei Betrachtungsmodelle (dominanter, codominanter und rezessiver Erbgang) ergab für die einzelnen allelen Varianten keine Unterschiede in Bezug auf die Verteilung in Altersgrenzen. Alle Werte orientierten sich mit geringer Schwankungsbreite an den prozentualen Werten der Gesamtzahl der Probanden.

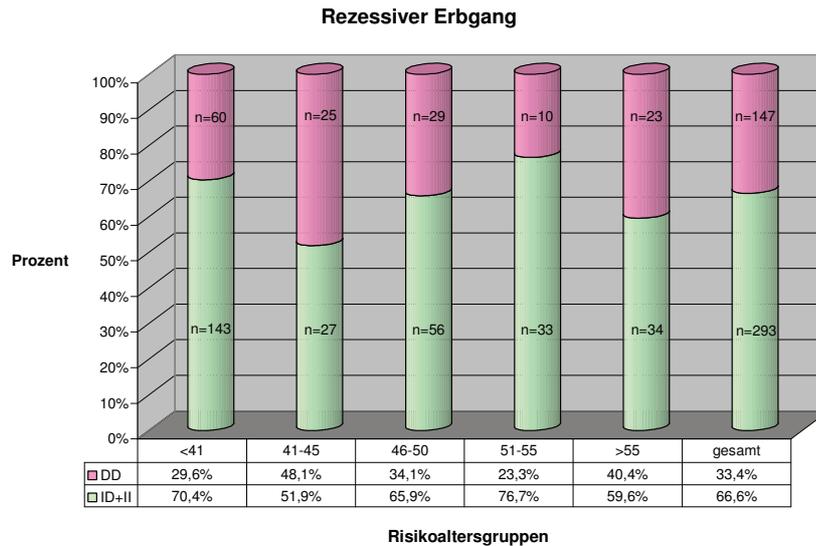


Abb.9: Darstellung des Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE in Abhängigkeit von rezessivem Modell des Erbganges und Alters- Einteilung in Risikoaltersgruppen

#### 4.3. Der Apo E C112R- und R158C-Polymorphismus

In vergleichenden Studien mit Herz-Kreislauf-Patienten wurde die heterozygote genetische Variante 3/4 besonders häufig beobachtet und als potentiell morbiditätsfördernd definiert [11, 15, 71, 101, 102, 103]. Die Wertung der in dieser Arbeit erworbenen Daten erfolgte unter diesem Aspekt. Die molekulargenetischen Untersuchungen des Apo E-Polymorphismus wurden bei insgesamt 417 Individuen durchgeführt. 253 Probanden waren männlichen, 164 weiblichen Geschlechtes.

In Anbetracht der minimalen Anteile der Varianten 2/2, 4/4 und 2/4 im untersuchten Probandenpool wurden diese Allel-Varianten bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt. Die Analyse erbrachte keine signifikanten Verteilungsunterschiede in Alter und Geschlecht (siehe Tabelle 4).

Ein rezessives oder dominantes Modell der Genverteilung ließ sich auf Grund der Heterozygotie des Typs 3/4 nicht sinnvoll darstellen. Die Frequenz der Gen-Varianten betrug bei der gesamten Untersuchungsgruppe: 2/3 = 12,7% (n = 53), 3/4 = 18,5% (n = 77), 3/3 = 68,8% (n = 287).

Im codominanten Erbgangs-Modell fielen scheinbar deutliche Differenzen zwischen den einzelnen Risikoaltersgruppen auf, welche jedoch keine Signifikanz erreichten. Probanden im Alter von 51-55 Jahren trugen mit 9,8% (n = 4) am seltensten den auffälligen Genotyp 3/4, während dieser im Alter unter 41 Jahren mit 21,9% (n = 42) besonders häufig beobachtet wurde. Über 60% der Probanden trugen die homozygote Variante 3/3. Der höchste Prozentsatz an Individuen mit Genotyp 3/3 fand sich in der Gruppe der 41 bis 45-jährigen (77,7%, n = 37), der niedrigste im Alter bis zu 40 Jahren (64,1%, n = 123).

Tabelle 4: Auswertung der statistischen Daten der Apo E -Polymorphismus

Erbgang		codominant						Allelfrequenz			
Typ		E3/3		E3/4		E2/3		Chi-Test nach Pearson	E2	E3	E4
	Probandenanzahl	n=		n=		n=		p=			
<b>Risikoaltersgruppen</b>											
<41	192	123	64,1%	42	21,9%	27	14,1%	0,442	0,071	0,820	0,109
41-45	48	37	77,1%	7	14,6%	4	8,3%		0,041	0,886	0,073
46-50	82	60	73,2%	14	17,1%	8	9,8%		0,049	0,866	0,085
51-55	41	29	70,1%	4	9,8%	8	19,5%		0,097	0,854	0,049
>55	54	38	70,4%	10	18,5%	6	11,1%		0,055	0,853	0,092
gesamt	417	287	68,8%	77	18,5%	53	12,7%		0,063	0,845	0,092
<b>Altersdekaden</b>											
18-29	63	41	65,1%	13	20,6%	9	14,3%	0,320	0,072	0,825	0,103
30-39	120	75	62,5%	28	23,3%	17	14,2%		0,071	0,813	0,116
40-49	130	97	74,6%	20	15,4%	13	10,0%		0,050	0,873	0,077
50-59	77	54	70,1%	10	13,0%	13	16,9%		0,084	0,851	0,065
60-70	27	20	74,1%	6	22,2%	1	3,7%		0,018	0,871	0,111
gesamt	417	287	68,8%	77	18,5%	53	12,7%		0,063	0,845	0,092
<b>Altersgrenzen</b>											
18-40	192	123	64,1%	42	21,9%	27	14,1%	0,140	0,071	0,820	0,109
18-45	240	160	66,7%	49	20,4%	31	12,9%	0,457	0,064	0,834	0,102
18-50	322	220	68,3%	63	19,6%	39	12,1%	0,503	0,061	0,841	0,098
18-55	362	248	68,5%	67	18,5%	47	13,0%	0,903	0,065	0,843	0,092
gesamt	417	287	68,8%	77	18,5%	53	12,7%	0,063	0,845	0,092	
<b>Geschlecht</b>											
männlich	253	178	70,4%	48	19,0%	27	10,7%	0,300	0,053	0,852	0,095
weiblich	164	109	66,5%	29	17,7%	26	15,9%		0,079	0,833	0,088
gesamt	417	287	68,8%	77	18,5%	53	12,7%		0,063	0,845	0,092

Die besondere Häufung der Variante 3/4 im Alter zwischen 30. und 39. Lebensjahr (23,3%,

n = 28) konnte mit Hilfe der Unterteilung der Probanden in Altersdekaden dargestellt werden.

Die geschlechtsspezifische Betrachtung ergab für Männer eine gering höhere Rate an Trägern der Merkmale 3/3 (n = 178; 70,4%) und 3/4 (n = 48; 19,0%) im Vergleich zu den weiblichen Studienteilnehmern (3/3: n = 109 = 66,5%; 3/4: n = 29 = 17,7%). Bei Frauen wurde dagegen die Variante 2/3 mit 15,9% (n = 26) häufiger gefunden (versus 10,7% bei Männern). Eine Signifikanz der beschriebenen Unterschiede wurde nicht nachgewiesen.

Der Anteil des Genotyps 3/3 stieg, was mit Hilfe der Unterteilung in Altersgrenzen beobachtet werden konnte, von 64,1% (n = 123) bei den 18-40 jährigen auf 68,8% (n = 287) in Bezug auf die Gesamtzahl der Individuen. Es ergaben sich auch aus dieser Analyse keine signifikanten Unterschiede im Vergleich innerhalb der Altersgrenzen.

#### 4.4. Der 5`Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP 1

Zur Darstellung der Ergebnisse des LRP1-5`-Tetranucleotid-Längenpolymorphismus konnten 426 Fälle gewertet werden. Die untersuchte Gruppe teilte sich in 261 männliche und 165 weibliche Probanden. Als möglicherweise pathologisch wurde in der Literatur [13, 72, 70, 77, 79, 104, 105] die reinerbig mutante Variante 87/87 betrachtet. Aufgrund des geringen Aufkommens der Varianten 91/83 und 87/83 wurden sie bei der rechentechnischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse, welche in Tabelle 5 (siehe Anhang) zusammenfassend dargestellt wurde, nicht berücksichtigt. Die Verteilung der Gen-Varianten der gesamten Studienteilnehmer war: 91/91: n = 148 (34,7%); 91/87: n = 208 (48,8%); 87/87: n = 70 (16,4%).

Bemerkenswert bei der altersspezifischen Betrachtung war der relativ hohe Prozentsatz von 24,0% (n = 12) der homozygoten mutanten Allel-Variante 87/87 im Alter von 41-45 Jahren. Dieser Wert aus der Einteilung in Risikoaltersgruppen bestätigte sich auch im Vergleich der Altersdekaden, wobei im Alter von 40-49 Jahren mit 21,6% (n = 29) der höchste Wert erreicht wurde. Die zahlenmäßig höchste Rate an Merkmalsträgern der heterozygoten Variante 91/87 wurde im Alter unter 41 Jahren (Risikoaltersgruppen) beobachtet (51,3%; n = 98).

Durch die Analyse der Altersdekaden konnte das Maximum auf ein Alter von 18-29 Jahren konkretisiert werden (58,5%; n = 38). Während die Anzahl der Merkmalsträger der homozygoten mutanten Variante 87/87 im Alter von 40-49 Jahren sprunghaft anstieg und im höheren Alter wieder sank, nahm die Frequenz der heterozygoten Allel-Träger (91/87) mit steigendem Alter kontinuierlich ab.

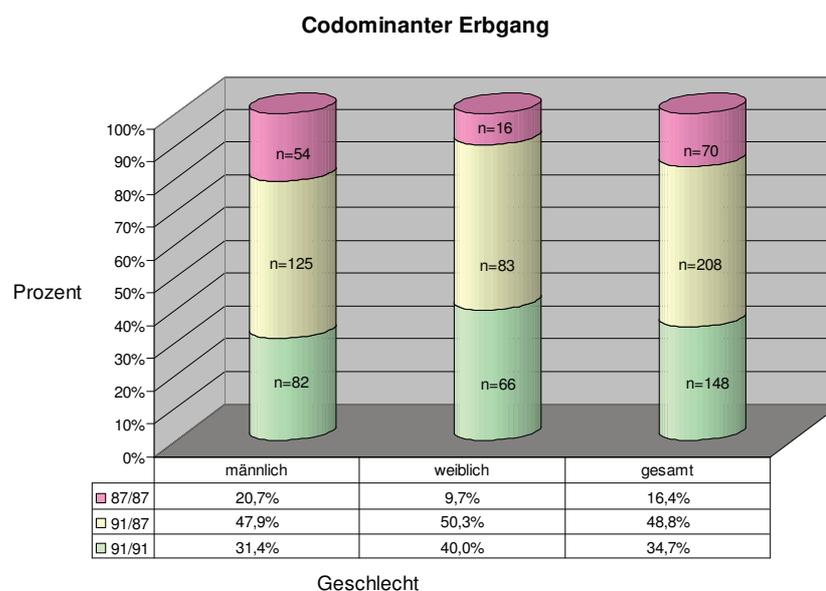


Abb.10: Darstellung des codominanten Erbganges in Abhängigkeit vom Geschlecht beim LRP1-5`-Tetranucleotid-Polymorphismus

Signifikant war der Verteilungsunterschied im Vergleich der Geschlechter ( $p = 0,008$ ). Frauen trugen mit 9,7% ( $n = 16$ ) deutlich seltener die auffällige Variante 87/87 (Männer: 20,7%;  $n = 54$ ) und mit 40,0% ( $n = 66$ ), versus 31,4% ( $n = 82$ ) der Männer, häufiger die Gen-Variante 91/91, welche als Wildtyp betrachtet wird. Die heterozygote Variante 91/87 kam mit 47,9% ( $n = 125$ ) der männlichen und 50,3% ( $n = 83$ ) der weiblichen Probanden etwa gleich häufig vor.

Das dominante Model des Erbganges (87/87+91/87 versus 91/91) unterstrich die relativ hohe Frequenz des Allels 87 bp mit besonderer Häufung im Alter von 41- 45 Jahren. Die geschlechtsspezifischen Prozentwerte zeigten in diesem Model keinen signifikanten Unterschied. Der Vergleich der Geschlechter bei Annahme der Rezessivität des 87 bp-Allels (87/87 versus 91/87+91/91) verdeutlichte durch Signifikanz ( $p=0,003$ ) die Betrachtung des codominanten Erbganges.

Unter der Voraussetzung, dass nur Individuen, welche das reinerbige mutante Allel 87 bp tragen ein erhöhtes Risiko für Herz-Kreislaufkrankungen haben, wären Frauen mit 9,7% ( $n = 16$ ), versus 20,7% ( $n = 54$ ) bei Männern, deutlich weniger gefährdet.

Bei der Betrachtung der Altersgrenzen fiel eine relativ konstante Frequenz der reinerbigen 91 bp – Fragmentgröße auf. Die Prozentsätze schwankten zwischen 33,2% ( $n = 80$ ) und 35,1% ( $n = 67$ ), wobei in den Altersstufen 18-45 und 18-50 die geringsten Werte zu beobachten waren.

#### 4.5. Der LRP 1 Promotor-Polymorphismus

Anhand von 426 Fällen, davon 262 männliche und 164 weibliche Studienteilnehmer, konnte die Verteilung des Wildtyps (C-Allel) und der mutanten Variante (G-Allel) des LRP-Polymorphismus der Promotor-Region dargestellt werden (siehe Tabelle 6).

Auffällig war, dass die mutmaßlich pathologische Variante (G-Allel) in der homozygoten Form GG nur bei einem weiblichen Individuum im Alter zwischen 51 und 55 Jahren vorkam. Der heterozygote Mischtyp CG fand sich ebenfalls relativ selten. Die Frequenz der einzelnen allelen Varianten verteilte sich wie folgt: CC 84,3% ( $n = 359$ ); CG 15,5% ( $n = 66$ ); GG 0,2% ( $n = 1$ ). In Tabelle 6 wurden die Ergebnisse im Überblick dargestellt.

Prozentual kam der mischerbige Typ am häufigsten im Alter nach dem 55. Lebensjahr und am seltensten im Alter zwischen dem 51. und 55. Lebensjahr vor. Es überwog in allen Risikoaltersgruppen der unauffällige Wildtyp CC. Individuen im Alter über 60 Jahre trugen doppelt so häufig den heterozygoten Genotyp CG im Vergleich zu Probanden im Alter von 18-29 Jahren. Die tendenzielle Abnahme der allelen Variante CC und Zunahme der Variante CG konnte auch bei der Auswertung der Prozentsätze bezüglich der Altersgrenzen beobachtet werden.

Geschlechtsspezifisch ergaben sich geringe, nicht signifikante Unterschiede ( $p = 0,296$ ).

Männer trugen mit 16,8% (n = 44), versus 13,4% (n = 22) bei Frauen, häufiger die heterozygote mutante Variante CG. Die Beurteilung des dominanten und rezessiven Erbgang-Modells erbrachte infolge des geringen Aufkommens der Variante GG keine neuen Erkenntnisse.

Tabelle 6: Auswertung der statistischen Daten des LRP1- Promotor -Polymorphismus

Erbgang	Typ	codominant						Allelfrequenz	
		CC	CG	GG	Chi-Test nach Pearson	C	G		
	Probandenanzahl	n=	n=	n=	n=	p=			
<b>Risikoaltersgruppen</b>									
<41	194	168	86,6%	26	13,4%	0	0,0%	0,933	0,067
41-45	51	42	82,4%	9	17,6%	0	0,0%	0,912	0,088
46-50	83	69	83,1%	14	16,9%	0	0,0%	0,916	0,084
51-55	40	34	85,0%	5	12,5%	1	2,5%	0,913	0,087
>55	58	46	79,3%	12	20,7%	0	0,0%	0,897	0,103
gesamt	426	359	84,3%	66	15,5%	1	0,2%	0,921	0,079
<b>Altersdekaden</b>									
18-29	65	58	89,2%	7	10,8%	0	0,0%	0,946	0,054
30-39	120	102	85,0%	18	15,0%	0	0,0%	0,925	0,075
40-49	134	112	83,6%	22	16,4%	0	0,0%	0,918	0,082
50-59	78	65	83,3%	12	15,4%	1	1,3%	0,910	0,090
60-70	29	22	75,9%	7	24,1%	0	0,0%	0,879	0,121
gesamt	426	359	84,3%	66	15,5%	1	0,2%	0,921	0,079
<b>Altersgrenzen</b>									
18-40	194	168	86,6%	26	13,4%	0	0,0%	0,355	0,067
18-45	245	210	85,7%	35	14,3%	0	0,0%	0,361	0,071
18-50	328	279	85,1%	49	14,9%	0	0,0%	0,155	0,074
18-55	367	312	85,0%	54	14,7%	1	0,3%	0,504	0,076
gesamt	426	359	84,3%	66	15,5%	1	0,2%	0,921	0,079
<b>Geschlecht</b>									
männlich	262	218	83,2%	44	16,8%	0	0,0%	0,916	0,084
weiblich	164	141	86,0%	22	13,4%	1	0,6%	0,927	0,073
gesamt	426	359	84,3%	66	15,5%	1	0,2%	0,921	0,079

#### 4.6. Der Ser128Arg-Polymorphismus des E-Selektin

Die Darstellung der statistischen Daten der genetischen Varianten des E-Selektin-Polymorphismus erfolgte unter besonderer Berücksichtigung der mutanten Gen-Variante Arg/Arg, welche als Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen betrachtet wird [106].

Zur Auswertung kamen Proben von 435 Probanden, darunter 265 Männer und 170 Frauen. Die homozygote Mutations-Variante Arg/Arg wurde dabei, wie in Tabelle 7 (siehe Anhang) dargestellt, sehr selten beobachtet. Insgesamt trugen 80,9% (n = 352) der Studienteilnehmer den Wild-Typ Ser/Ser, 17,5% (n = 76) den Mischtyp Ser/Arg und nur 1,6% (n = 7) den homozygoten Gen-Polymorphismus Arg/Arg.

In der altersspezifischen Betrachtung fiel eine Häufung der pathologischen Variante (Arg/Arg) im Alter unter 41 Jahren (2,5%; n = 5) und speziell im Alter zwischen 18 und 29 Jahren auf (6,2%; n = 4).

Beim Vergleich der Geschlechter fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Frauen trugen mit 2,4% (n = 4) etwa doppelt so häufig das Merkmal Arg/Arg im Vergleich zu den männlichen Probanden (1,1%; n = 3). Die Rate der Wildtyp-Variante Ser/Ser lag beim männlichen Geschlecht etwas niedriger als bei Frauen. Beim Mischtyp (Ser/Arg) beobachtete man einen höheren Prozentsatz bei Männern (18,5%; n = 49 versus 15,9%; n = 27 bei Frauen). Durch die Betrachtung im dominanten Erbgangsmode (Ser/Arg+ Arg/Arg) ergaben sich, bedingt durch die geringe Anzahl der Individuen, welche das reinerbige Allel Arg trugen, keine neuen Aspekte.

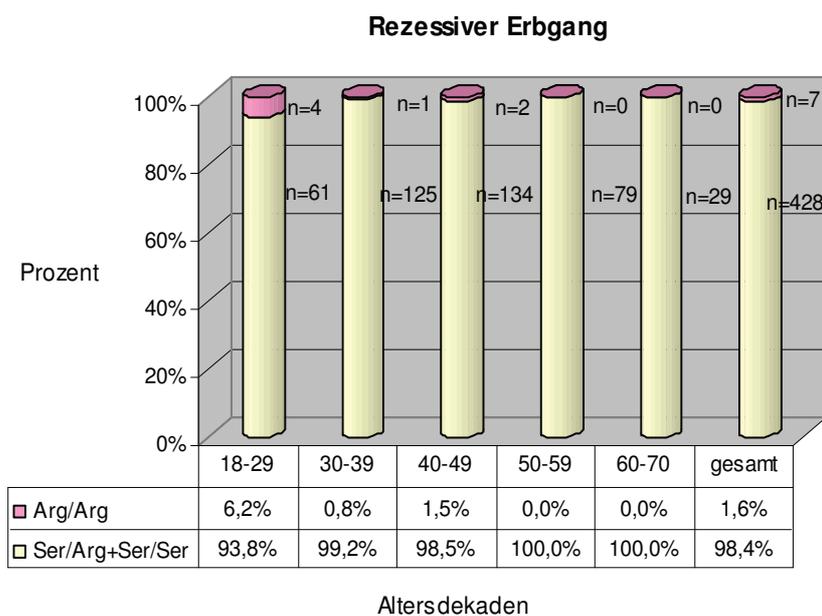


Abb.11: Darstellung des rezessiven Modells des Erbganges des Ser 128 Arg-Polymorphismus des E-Selektins

Ein signifikanter Unterschied ergab sich, wie in Abb.11 dargestellt, in der Verteilung bei Nutzung des rezessiven Vererbungsmodells, da im Alter über 49 Jahren (Altersgruppen 50-59 und 60-70) kein Träger des homozygoten Mutationstyps gefunden wurde.

#### 4.7. Die Leidenmutation des Faktor V

Der als Leidenmutation bezeichnete Polymorphismus des Faktor V wurde bei 435 Probanden untersucht. 268 der Studienteilnehmer waren Männer, 167 Frauen.

Da der als pathologisch definierte homozygote Genotyp AA bei keinem der Individuen der Probandengruppe vorkam, war die Beobachtung der Verteilungsfrequenz der übrigen Varianten (Wildtyp GG und polymorphe Variante AG) nur im codominanten Erbgang sinnvoll. Der Anteil der Variante AG, welche als auffällig anzusehen war, lag bei 7,6% (n = 33). Somit trug der

überwiegende Teil der Untersuchungsgruppe das als unauffällig eingestufte Merkmal GG (92,4%; n = 402).

In Bezug auf die altersspezifische Unterteilung der Studiengruppe in Risikoaltersgruppen ergab sich, wie in Tabelle 8 und Abbildung 12 dargestellt, ein signifikanter Verteilungsunterschied.

Tabelle 8: Darstellung der statistischen Ergebnisse der Leidenmutation des Faktor V

Erbgang	Typ	codominant						Chi-Test nach Pearson	Allelfrequenz	
		aa		ag		gg			a	g
	Probandenanzahl	n=		n=		n=				
<b>Risikoaltersgruppen</b>	<41	201	0	0,0%	13	6,5%	188	93,5%	0,032	0,968
	41-45	52	0	0,0%	3	5,8%	49	94,2%	0,029	0,971
	46-50	84	0	0,0%	13	15,5%	71	84,5%	0,039	0,922
	51-55	42	0	0,0%	1	2,4%	41	97,6%	0,012	0,988
	>55	56	0	0,0%	3	5,4%	53	94,6%	0,027	0,973
	gesamt	435	0	0,0%	33	7,6%	402	92,4%	0,038	0,962
<b>Altersdekaden</b>	18-29	65	0	0,0%	2	3,1%	63	96,9%	0,016	0,984
	30-39	127	0	0,0%	10	7,9%	117	92,1%	0,039	0,961
	40-49	137	0	0,0%	16	11,7%	121	88,3%	0,104	0,941
	50-59	77	0	0,0%	5	6,5%	72	93,5%	0,033	0,967
	60-70	29	0	0,0%	0	0,0%	29	100,0%	0,000	1,000
	gesamt	435	0	0,0%	33	7,6%	402	92,4%	0,038	0,962
<b>Altersgrenzen</b>	18-40	201	0	0,0%	13	6,5%	188	93,5%	0,414	0,968
	18-45	253	0	0,0%	16	6,3%	237	93,7%	0,241	0,969
	18-50	337	0	0,0%	29	8,6%	308	91,4%	0,137	0,957
	18-55	378	0	0,0%	30	7,9%	348	92,1%	0,477	0,961
	gesamt	435	0	0,0%	33	7,6%	402	92,4%	0,038	0,962
<b>Geschlecht</b>	männlich	268	0	0,0%	24	9,0%	244	91,0%	0,045	0,955
	weiblich	167	0	0,0%	9	5,4%	158	94,6%	0,172	0,973
	gesamt	435	0	0,0%	33	7,6%	402	92,4%	0,038	0,962

Der höchste Anteil an Trägern des Genotyps AG konnte dem Alter von 46-50 Jahren zugeordnet werden (15,5%; n = 13). Er spiegelte sich auch im relativ hohen Wert der Altersgruppe der 40 bis 49 jährigen mit 11,7% (n = 16) wider. Im Gegensatz dazu gab es im Alter über 60 Jahre keinen Probanden mehr, welcher die heterozygote Variante trug.

Bei männlichen Probanden konnte mit 9,0% (n = 24) das heterozygote Allel im Vergleich zu den weiblichen Studienteilnehmern (5,4%; n = 9) häufiger nachgewiesen werden. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

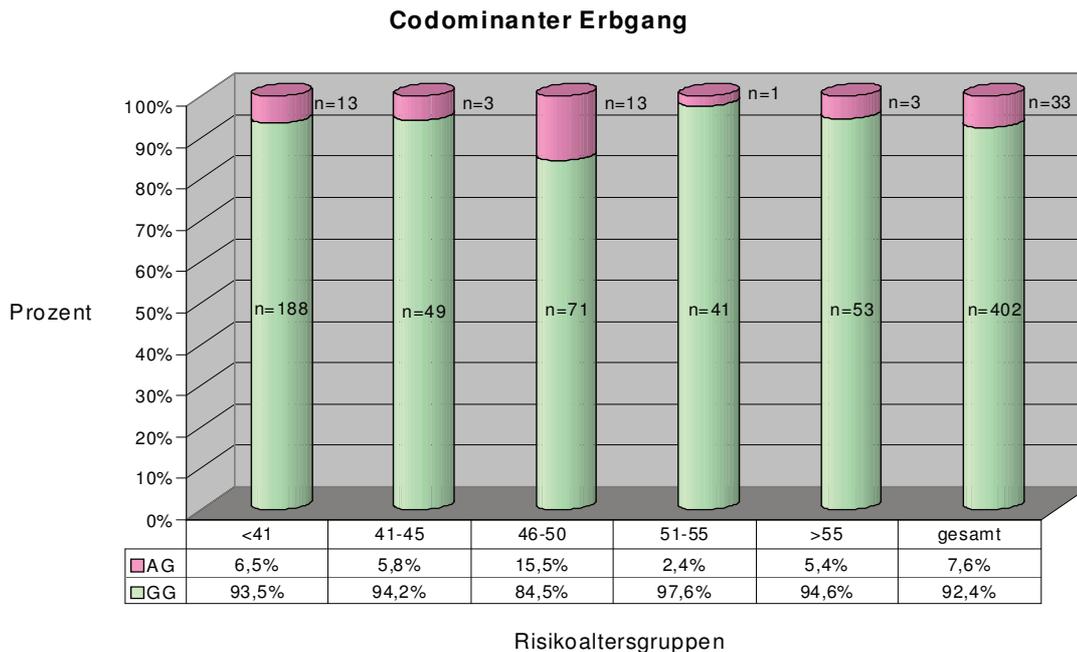


Abb.12 : Darstellung des codominanten Modells des Erbganges der Leidenmutation des Faktor V

#### 4.8. Der C825T-Polymorphismus der $\beta$ -Untereinheit des G-Protein

Der Genotyp T wurde im Falle des C825T-Polymorphismus des G-Proteins in der Literatur [93, 94] als mutante Variante bewertet, welche ein erhöhtes Erkrankungsrisiko des Herz-Kreislauf-Systems bedingt. 437 DNA-Proben von 266 Männern und 171 Frauen kamen im Falle des oben erwähnten Polymorphismus zur Auswertung (siehe Tabelle 9 im Anhang).

54,0% (n = 236) der Blutspender trugen die unauffällige Wildtyp-Variante CC, 39,1% (n = 171) den heterozygoten mutanten Typ CT und 6,9% (n = 30) das reinerbige T-Allel. Von den 30 Trägern des Genotyps TT waren 20 Individuen (10%) der Gruppe der bis 40-jährigen zuzuordnen. Dabei fiel eine besondere Häufung dieses Typs im Alter von 18-29 Jahren auf. Die Gruppe der über 55-jährigen zeigte demgegenüber nur 3,4% (n = 2).

Bei einem erheblichen Anteil der Studienteilnehmer wurde die mischerbige polymorphe Variante CT nachgewiesen. Mit 44,8% (n = 26) kam dieser Typ bei Blutspendern im Alter über 55 Jahre besonders häufig, in der Altersdekade der 18 bis 29-jährigen am seltensten vor (36,4%; n = 24). Unter Annahme eines dominanten Erbganges (TT+CT versus CC) bedeutet dies, dass durchschnittlich 46,0% (n=201) der Probanden das auffällige T-Allel trugen.

Bei Annahme der Rezessivität des T-Allels (TT versus CT+CC) lag der Anteil der Träger der Varianten CT und CC bei einem Wert von 93,1% (n = 407). Dieses Erbgangmodell, bei welchem in der Altersverteilung keine signifikanten Unterschiede auftraten, entsprach der erwarteten Risikobelastung von Blutspendern eher als das dominante Modell.

Die Testung auf Unterschiede innerhalb der Altersgrenzen wies beim rezessiven Modell der Vererbung in der Altersstufe 18-40 Jahre im Vergleich zu den Studienteilnehmern über 40 Jahre eine deutliche Differenz auf, wie in Abb.13 dargestellt. Individuen im Alter zwischen dem 18. und 40. Lebensjahr trugen über zweimal so häufig das homozygote T-Allel im Vergleich zu Studienteilnehmern im Alter über 40 Jahre.

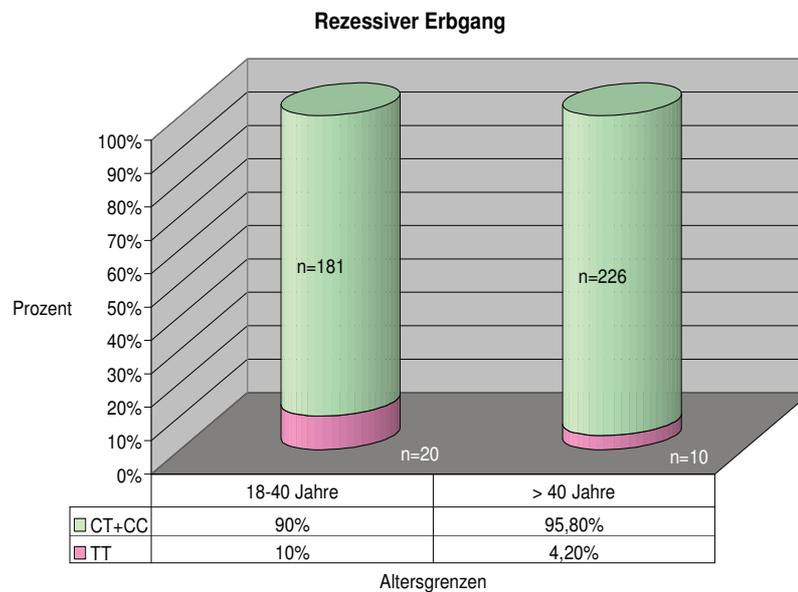


Abb. 13: Darstellung des C825T-Polymorphismus des G-Proteins in Abhängigkeit von Altersgrenzen und rezessivem Erbgang ( Altersgrenze 1 versus übrige Probanden)

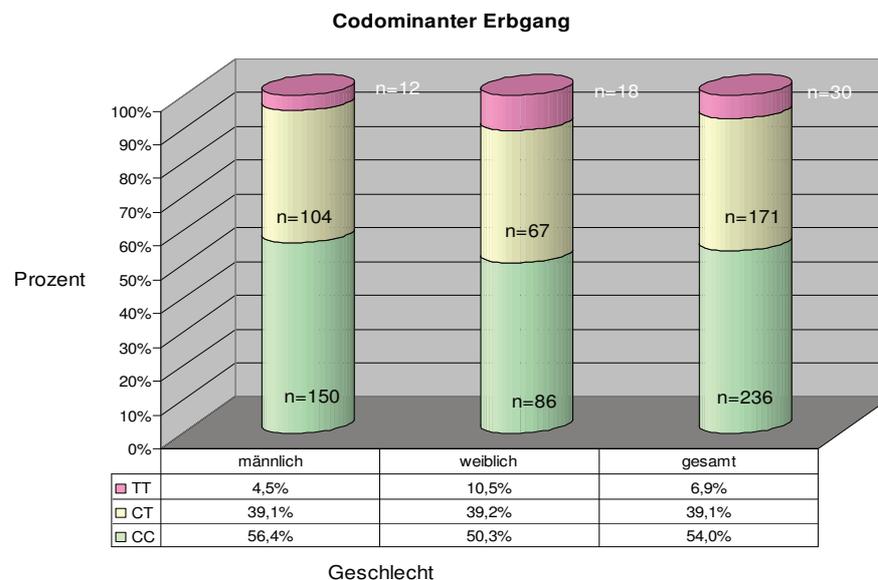


Abb. 14: Darstellung des C825T-Polymorphismus des G-Proteins in Abhängigkeit von Geschlecht und Modell des codominanten Erbganges

Erhebliche Unterschiede ergaben sich auch in der Verteilung der polymorphen Varianten zwischen männlichen und weiblichen Blutspendern (siehe Abb. 14). Bei Frauen kam das homozygote T-Allel mit 10,5% (n = 18) mehr als doppelt so häufig vor als bei Männern (4,5% n = 12). Diese Differenz hielt dem Signifikanz-Test stand ( $p= 0,045$ ) und konnte im rezessiven Erbgangs-Modell ( $p= 0,015$ ) noch deutlicher dargestellt werden (siehe Tab. 9 im Anhang).

#### 4.9. Der p22phox C242T-Polymorphismus

Der C242T-Polymorphismus des p22phox wurde anhand von 432 Fällen, 266 Männern und 166 Frauen, demonstriert.

Die Pathogenität der homozygoten Allel-Variante T, welche in dieser Arbeit bewertet wurde, ist umstritten. Das Merkmal TT wurde als möglicherweise begünstigender Faktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen angesehen [99, 107]. Diese Theorie konnte jedoch in den wenigen bekannten Studien nicht erhärtet werden und wird, wie in Kapitel 1.8. erläutert, kontrovers diskutiert.

Ein relativ geringer Anteil der Probandengruppe trug den Genotyp TT (11,3%; n = 49). Es bestand weiterhin eine annähernde Gleichverteilung der Varianten CC (44,2%; n = 191) und CT (44,4%; n = 192), wie in Tabelle 10 (siehe Anhang) dargestellt.

Die Häufung der Probanden im Alter von 18 bis 29 Jahren, bei welchen das reinerbige T-Allel beobachtet wurde (18,2%; n = 12), stand im Gegensatz zur relativ geringen Rate bei den 41 bis 45-jährigen (4,0%; n = 2). Der Mischtyp CT war im Alter bis 45 Jahre mit 46,0% (n = 91, < 41 Jahre; n = 23, 41.-45.Lebensjahr) besonders häufig. Besonders wenige Merkmalsträger fanden sich im Alter von 51 bis 55 Jahren.

Die Nutzung eines dominanten Modells der Vererbung (TT+CT versus CC) sprach mit 55,8% (n = 241) der Summe der Varianten TT und CT bei gesunden Blutspendern gegen eine Krankheitsrelevanz. Die Schwankungen der Prozentwerte von 59,1% (n = 117, < 41 Jahre und n = 39, 18-29 Jahre) bis 50,0% (n = 25, 41-45 Jahre) waren als nicht signifikant anzusehen.

Das rezessive Modell zeigte eine durchschnittliche Häufigkeit der Summe der Varianten CC und CT bei 88,7% (n = 383). Besonders häufig war diese Konstellation im Alter von 41 bis 45 Jahren mit 96,0%, am seltensten trat sie im Alter von 18 bis 29 Jahren auf (81,8%; n = 54).

Männer und Frauen trugen gleich häufig das homozygote T-Allel (11,3% n = 30 Männer; 11,4% n = 19 Frauen).

#### 4.10. Der T174M- Polymorphismus des Angiotensinogen

Im Gegensatz zum im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Polymorphismus des p22phox wurde ein Zusammenhang zwischen Herz-Kreislauf-Erkrankungen und homozygoter Variante des T-Allels des Angiotensinogen T174M-Polymorphismus in einer Reihe von Studien [108-111] als bewiesen angenommen. Die Ergebnisse der Genotypisierung von 265 männlichen und 167 weiblichen Probanden (insgesamt 432) gingen in die Auswertung ein. Wie durch die Auswahl der Studienteilnehmer (gesunde Blutspender) zu erwarten, war das Aufkommen des Genotyps TT in allen Altersgruppen sehr gering (siehe Tab.11 im Anhang). Die Frequenz der Allele betrug für die gesamte Studiengruppe: CC 73,8% (n = 319); CT 23,6% (n = 102) und TT 2,5% (n = 11).

Beim Modell eines codominanten Erbganges fiel im Vergleich der Risikoaltersgruppen eine relative Häufung des mutanten homozygoten T-Allels im Alter von 51 bis 55 Jahren auf (4,9% n = 2 versus Prozentsätze von 1,7-2,5 in den übrigen Gruppen).

Bemerkenswerterweise stellte sich beim Vergleich der Altersdekaden ein wesentlich anderes Bild dar. 7,6% (n = 5) der Probanden der Gruppe der 18 bis 29-jährigen trugen das auffällige Gen und im Alter von 30 bis 39 Jahren fand sich bei keinem der Blutspender diese polymorphe Variante. Die heterozygote Variante CT war mit etwa 28% ebenfalls im jüngeren Alter häufiger zu finden. Die höchste Rate erreichte die Gruppe der 18 bis 29-jährigen mit 28,8% (n = 19), am niedrigsten war sie im Alter von 51 bis 55 Jahren mit 14,6% (n = 6).

Auch im dominanten Erbgangsmodell (TT+CT versus CC) stellte sich eine besonders hohe Anzahl von Trägern des heterozygoten und homozygoten T-Allels in den jüngeren Altersgruppen dar.

Unter der Voraussetzung einer Rezessivität des T-Allels (TT versus CT+CC) konnte ein signifikanter Verteilungsunterschied innerhalb der Altersdekaden dargestellt werden, was die Häufung der Genvariante TT im jüngeren Alter unterstrich (siehe Abbildung 15).

Beim dominanten Erbgangsmodell der Altersgrenzen trugen 30,8% (n = 61) der bis 40-jährigen die mutanten Merkmale TT und CT, 69,2% (n = 137) die Variante CC. Spender im Alter über 40 hatten gegensätzlich dazu nur zu 22,2% (n = 52) die Varianten TT und CT sowie 77,8% (n = 182) das homozygote C-Allel. Noch deutlicher wurden die Unterschiede unter Annahme der Dominanz des T-Allels im Alter von 18 bis 45 Jahren (versus Probanden im Alter über 45 Jahre). Die Frequenz der Varianten TT und CT lag bei 30,6% (n = 76) im Alter von 18 bis 45 und 20,1% (n = 37) im Alter über 45. Der Genotyp CC war bei Individuen über 45 mit 79,9% (n = 147) 10,5% höher als bei Spendern bis zum 40. Lebensjahr. Im codominanten Erbgang bestätigte sich die Ergebnisse bei der Altersgrenze der 18 bis 45-jährigen im Vergleich zum höheren Lebensalter (Abb.16).

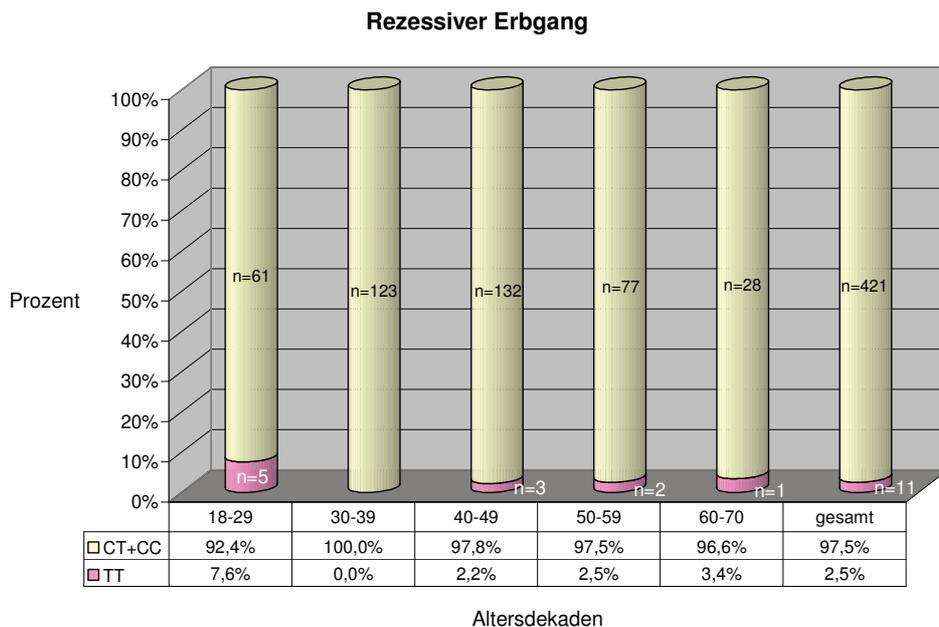


Abb. 15: Darstellung des T174M-Polymorphismus des Angiotensinogens in Abhängigkeit von Altersdekaden und rezessivem Erbgangsmodell

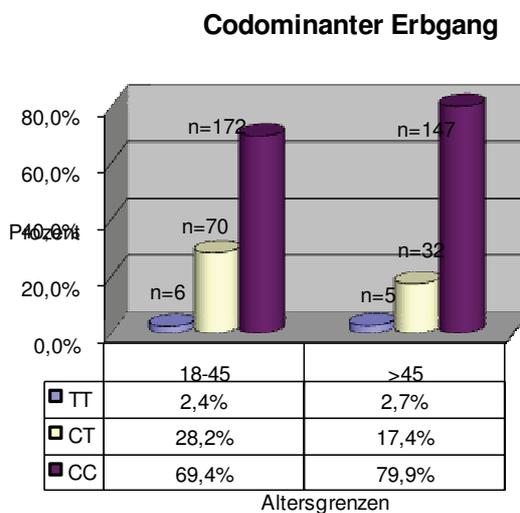


Abb. 16: Darstellung des T174M-Polymorphismus des Angiotensinogens in Abhängigkeit von Altersgrenzen und codominantem Erbgangsmodell

Besonders selten war der Genotyp TT bei den weiblichen Probanden. Mit 1,2% (n = 2) wurde dieser Typ wesentlich seltener detektiert als bei männlichen Studienteilnehmern (3,4%; n = 9). Desweiteren war eine geringere Häufung der polymorphen CT-Variante bei Frauen zu beobachten (22,2% n = 37 Frauen versus 24,5% n = 65 Männer).

## 5. Diskussion

### 5.1. Vorbetrachtungen zur Diskussion

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war die Analyse der Häufigkeiten ausgewählter genetischer Varianten atherosklerotischer Kandidatengene in einer Stichprobe gesunder Probanden aus dem mitteldeutschen Raum und deren Vergleich mit Untersuchungsergebnissen anderer Studien. Ausgehend von den in Kapitel 1.1 beschriebenen statistischen Erhebungen des Gesundheitsberichtes der Jahre 1996-1999 interessierte insbesondere die Verteilung in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht.

Ziel der Diskussion war, eine Aussage darüber treffen zu können, wie die Verteilung der Risiko-Kandidatengene im Vergleich zu anderen Populationen zu bewerten ist. Zur Realisierung der vergleichenden Bewertung erfolgte eine umfangreiche Sichtung der weltweit publizierten Studien, bei welcher auch Unterschiede zwischen erkrankten Probanden und deren in die jeweiligen Untersuchungen involvierten Kontrollgruppen betrachtet wurden. Der Vergleich der prozentualen Häufigkeiten gestaltete sich schwierig, da die Patienten- und Vergleichsgruppen inhomogen waren und der Schwerpunkt der Untersuchungen nicht einheitlich gesetzt wurde. Die Ergebnisse wurden von den einzelnen Autoren kontrovers diskutiert. Zu vermuten ist, dass dies einerseits an den untersuchten ethnischen Gruppen mit ihren genetischen Besonderheiten, andererseits an der Uneinheitlichkeit der Untersuchungen lag. So betrachteten zum Beispiel einige alters- und geschlechtsrandomisierte Gruppen, andere nur Männer oder nur Menschen über 50 Jahre als Vergleichskollektiv.

In den folgenden Ausführungen soll versucht werden, vergleichbare Werte aus der Literatur mit denen in dieser Arbeit ermittelten Daten der mitteldeutschen Population von Blutspendern zu betrachten und dabei Gemeinsamkeiten und Unterschiede darzustellen.

### 5.2. Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE

Man findet in der Literatur zahlreiche Publikationen, welche den Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE untersuchten. Der größte Teil der Autoren befürwortet einen Zusammenhang von polymorphem Typ DD und Erkrankungshäufigkeit [18-19, 22-23, 25, 27-28, 31-38, 42, 46, 48-50, 61, 112-113].

Es gibt jedoch auch eine Reihe von Gegenstimmen [20-21, 24, 26, 29-30, 39-41, 47, 114]. Einige dieser Pro- und Contra-Meinungen werden im folgenden Kapitel erläutert und mit den Ergebnissen dieser Arbeit verglichen.

Mata-Balaguer et al. [31] sprach sich nach Untersuchung von 104 Infarkt-Patienten und 106 Individuen einer Vergleichsgruppe spanischer Abstammung für eine pathologische Relevanz

aus. Es fand sich eine Verteilungshäufigkeit II/ID/DD von 4,81 / 28,85 / 66,34% bei den Patienten und 2,83 / 71,7 / 25,47% bei der Vergleichsgruppe.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stellten sich im Vergleich zu den Prozentsätzen Mata-Balaguer's different dar. Legt man die Verteilung in Abhängigkeit zum codominanten Erbgang zugrunde, so lag die Frequenz der Allele II/ID/DD in der untersuchten Blutspendergruppe bei einem Prozentsatz von 21,1 / 45,5 / 33,4. Die Rate des Mutationstyps DD lag leicht über dem Prozentsatz der gesunden spanischen Population. Der mutmaßliche Wildtyp II war allerdings in der Studiengruppe der Blutspender des Universitäts-Blutspendedienstes Halle wesentlich häufiger vertreten. Die Anzahl der Individuen mit der mischerbigen Variante ID lag mittig zwischen den untersuchten spanischen Patienten und dem spanischen Vergleichskollektiv. Geht man von der Annahme aus, dass sowohl Typ DD, als auch die heterozygote Variante ID als risikorelevant zu werten sind, so müsste die spanische Population insgesamt ein höheres Risiko tragen. Diese Vermutung kann anhand der Untersuchungen von Levi et al. [5] nicht bestätigt werden. Bei der Bewertung ist somit auch ein protektiver Mechanismus nicht auszuschließen. Bei Betrachtung des rezessiven Erbgangsmodells war ein leicht erhöhtes Risiko der deutschen Blutspender im Vergleich zur spanischen Kontrollgruppe zu beobachten. Diese Tatsache könnte dafür sprechen, dass nur der homozygote mutante Typ DD ein medizinisches Problem darstellt, andererseits aber auch auf protektive Eigenschaften dieser Variante hinweisen, da es sich bei Blutspendern um mutmaßlich gesunde Menschen handelt.

Die Arbeit von Agachan et al. [18] sah ebenfalls einen signifikanten Unterschied und sprach sich für eine pathologische Relevanz aus. Unter Voraussetzung eines dominanten Erbganges wurden 109 Hypertoniker und 86 Normotoniker einer türkischen Population untersucht. Dabei trugen hypertone Probanden mit 99,1% deutlich häufiger das D-Allel als die Vergleichsgruppe mit normotonen Kreislaufverhältnissen (80%). Der Prozentsatz der Normotoniker entsprach damit etwa dem bei den deutschen Blutspendern ermittelten von 78%.

Terzic et al. [45] untersuchten CAD-Patienten und eine Kontrollgruppe der Region Tuzla (Bosnien-Herzegowina). Es handelte sich um 212 Patienten mit koronarer Herzkrankheit und 165 Individuen einer Vergleichsgruppe, welche jünger als 50 Jahre alt waren. Die mutante Allel-Variante DD wurde mit 36,2% in der Patientengruppe signifikant häufiger detektiert als in der Kontrollgruppe (25,6%). Betrachtete man im Vergleich dazu die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, so fand man einen bis zum Alter von 49 Jahren ansteigenden Prozentsatz des Typs DD, welcher bereits im Alter von 18-29 Jahren mit 27,3% leicht über der bosnischen Vergleichsgruppe lag und bis zur Altersgruppe 40-49 Jahre auf 40,1% anstieg. Dieser Wert lag sogar über dem Prozentsatz der bosnischen Patientengruppe und könnte ein Indiz für eine höhere Morbidität im mitteldeutschen Lebensraum sein.

Matsubara et al. [33] untersuchten insgesamt 2048 Japaner aus der Region Ohasama, welche 40 Jahre und älter waren. Es fand sich folgende Gen-Frequenz: II 45%, ID 45%, DD 10 %. Die

Arbeit sprach sich für einen geringen Einfluss des ACE-Polymorphismus auf den Blutdruck aus, konnte einen Einfluss auf die Entstehung einer koronaren Herzerkrankung jedoch nicht bestätigen. Bei dieser Studie zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der genetischen Verteilung zur erwähnten spanischen und deutschen Bevölkerung. Nur 10% der untersuchten Japaner trugen das Merkmal DD. In der spanischen Vergleichsgruppe waren es im Gegensatz dazu circa 25%, bei deutschen Blutspendern lagen die Prozentsätze im Alter über 40 Jahren sogar zwischen 32,5 und 40,1% (im Durchschnitt 35%). Diese Zahlen sprechen dafür, dass Japaner in Bezug auf ihre geringe Morbidität an Herz-Kreislauf-Erkrankungen nicht nur von einer ernährungsphysiologisch gesünderen Lebensweise, sondern auch von einer günstigeren genetischen Konstellation profitieren könnten. Für diese These sprächen auch die Ergebnisse von Levi et al. [5] in der Mortalitätsstudie von 2002 (siehe Kap.1.1.)

Volzke et al. [48] wiesen in einer Studie an 247 Patienten, welche sich einer Bypass-OP unterziehen mussten, signifikante Unterschiede in der Mortalität nach. Keiner der 51 Patienten, welcher den Wildtyp II trug, starb im beobachteten Zeitraum von 2 Jahren. Im Gegensatz dazu überlebten 14 der 125 Patienten mit Mischtyp ID (11,2%) und 10 der 71 Patienten mit der auffälligen Variante DD (14,1%) nicht. Damit stellte sich ein deutlicher Zusammenhang des D-Allels mit einer postoperativen Sterblichkeit dar.

Eine österreichische Untersuchung an 182 Hypertonikern mit hypertensiver Krise und gesunden Vergleichspersonen wurde von Sunder-Plassmann et al. [44] publiziert. Bei 38,5% der Patienten wurde das homozygote D-Allel nachgewiesen, bei der Vergleichsgruppe nur in 28,0% der Fälle. Damit lag der Prozentsatz bei den Hypertonikern etwas über und der Wert der Vergleichsgruppe unter dem bei der Studiengruppe deutscher Blutspender ermittelten von 33,4%. Die Studie beschrieb einen möglichen Zusammenhang von Typ DD und Hypertonie, insbesondere bei Männern. Variante DD kam bei 44,0% der männlichen Patienten und 25,3% der männlichen Vergleichsprobanden vor.

Vergleicht man dies mit dem mitteldeutschen Blutspenderkollektiv, so war der Prozentsatz der homozygoten Mutationsvariante in dieser Region bei Männern mit 30,5% noch etwa 5% höher als in der österreichischen Bevölkerung. Da die Mortalität in Österreich in etwa der in Deutschland entsprach [5], könnte dies ebenfalls für einen Zusammenhang mit der hohen Morbidität in der Region Mitteldeutschland sprechen.

Gesang et al. [28] untersuchten im gleichen Jahr die tibetanische Bevölkerung im Distrikt Lhasa. Die Menschen sollen dort relativ isoliert leben und genetisch homogen sein. Zum Vergleich wurden 106 Patienten mit Hypertonie und 135 gesunde Probanden ohne erhöhte Blutdruckwerte gebracht. Während Männer keine signifikanten Verteilungsunterschiede zeigten, konnte bei Frauen ein deutlicher Zusammenhang zwischen der reinerbigen Deletions-Variante und Hypertonie nachgewiesen werden. Die Genotyp-Verteilung aller Probanden lag

für Patienten bei DD n = 27, ID n = 47 und II n = 29, entsprach also einem Prozentsatz von 26,2% / 45,6% / 28,1%. Die Verteilung von DD/ID/II bei den gesunden Probanden betrug n= 15/ 60/ 48 (12,2% / 48,8% / 39%).

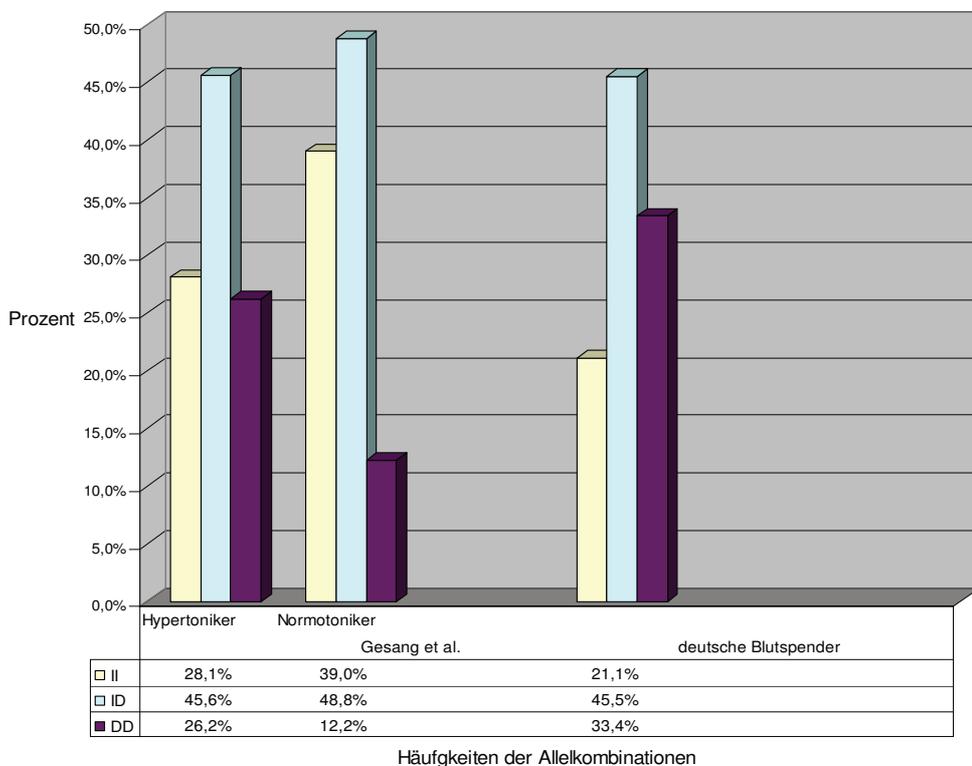


Abb. 17: Ergebnisse der Studie des Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE von Gesang et al. [28] versus mitteldeutsche Blutspender

Diese Ergebnisse standen im klaren Gegensatz zu den Verteilungswerten in der Region Halle/Merseburg. Bedenkt man, dass der Genotyp DD bei mutmaßlich gesunden Menschen mit 33,4% fast drei mal so häufig vorkam wie in der Vergleichspopulation der Tibetaner und die homozygote Insertions-Variante mit 21,1% nur etwa halb so häufig auftrat (normotone Tibetaner 39%), so läßt sich ein Zusammenhang von Erkrankungshäufigkeit durch genetische Disposition vermuten. Bei der Verteilung von I-Allel und der mutanten Deletions-Variante waren ebenfalls deutliche Unterschiede zu beobachten. Deutsche Blutspender trugen mit 56% sogar häufiger das D-Allel als die Hypertoniker unter den Tibetanern (siehe Abb.17).

Es gab in der Literatur jedoch auch eine Reihe von Autoren, welche in ihren untersuchten Studiengruppen keine signifikanten Unterschiede feststellen konnten. So wurde die These eines Zusammenhanges von Mutationsvariante und gehäuftem Auftreten von arterieller Hypertonie durch eine Untersuchung von Ishigami et al. [21] teilweise widerlegt. Untersucht wurden in dieser Studie Japaner. 87 der Probanden waren Hypertoniker mit einer familiären Disposition, 95 Normotoniker mit unauffälliger Familienanamnese. Die Verteilung der Varianten II / ID /

DD war wie folgt: Patienten 51% / 30% / 19%, Vergleichsgruppe: 37% / 45% / 18%. Patienten und Normotoniker trugen somit gleich häufig die homozygote polymorphe Variante, deren Anteil jedoch im Vergleich zum in dieser Arbeit untersuchten Studienkollektiv nur etwa halb so hoch war.

Dzimiri et al. [24] untersuchten 84 Patienten mit koronarer Herzkrankheit, 36 Patienten mit angiografisch unauffälligen Herzkranzgefäßen als Vergleichsgruppe und 327 Blutspender. Alle untersuchten Probanden waren männliche Saudi-Arabier. 52,4% der Patienten hatten zusätzlich Diabetes mellitus. Die Genotypisierung zeigte bei 7,2% der Patienten den Wildtyp II und bei 41% die Mutationsvariante DD. Die Kontrollgruppe trug mit 16,7% deutlich häufiger das homozygote I-Allel, trug aber auch öfter die auffällige Variante DD (58,3%). Bei den saudi-arabischen Blutspendern fand sich eine ähnliche Verteilung der genetischen Varianten wie bei Patienten mit manifester Koronarsklerose (II 7,3%; DD 47,1%). Im Vergleich zu den eben beschriebenen Ergebnissen war der Prozentsatz der homozygoten Insertions-Variante mit 23% bei den männlichen deutschen Blutspender der vorliegenden Arbeit deutlich höher und die Rate an Typ DD mit 30,5% niedriger als in der arabischen Patienten- und Blutspendergruppe. Möglicherweise kann dort ein protektiver Einfluss von Wildtyp II abgelesen werden, da dieser in der Gruppe der koronarangiografisch unauffälligen Patienten doppelt so häufig war wie in der Gruppe der KHK-Patienten und Blutspender.

Eine Studie der Arbeitsgruppe Renner (Universität Graz, Österreich) sah keinen Zusammenhang zwischen reinerbigem D-Allel und Arteriosklerose. Renner et al. [40] typisierten dort 522 Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit und eine Vergleichsgruppe (sex-age-matched) mit ebenfalls 522 Probanden. Signifikante Verteilungsunterschiede wurden nicht beobachtet. 23,4% der Patienten und 23,8% der Vergleichsgruppe trugen die reinerbige Wildtyp-Variante (II); bei 31,8% der Patienten und 27,0% der gesunden Probanden wurde der homozygote Typ DD gefunden. Betrachtete man die statistische Verteilung der verschiedenen genetischen Varianten, so beobachtete man eine große Ähnlichkeit mit der Verteilung in der mitteldeutschen Untersuchungsgruppe dieser Arbeit. Es dürfte also in etwa das gleiche Erkrankungsrisiko zu erwarten sein.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der überwiegende Teil der Autoren von einem Zusammenhang zwischen Erkrankungshäufigkeit und genetischer Prädisposition bei Vorliegen der homozygoten Mutationsvariante DD des ACE-Gens ausgehen. Ein direkter Vergleich der ermittelten Allel-Verteilungen war, wie dargestellt, infolge unterschiedlicher Vorbedingungen und Vergleichsgruppen kaum möglich.

Mit der Probandengruppe dieser Arbeit vergleichbare Verteilungswerte waren nur in einer Studie von Hessner et al. [115] zu finden. Sie untersuchten die Varianten einiger Polymorphismen, unter anderem von ACE und Faktor V (Leiden-Mutation) bei 2689 Blutspendern in Milwaukee (USA). Die Häufigkeit des Typs DD nahm mit steigendem Alter

von 26,1% im Alter zwischen dem 17. und 39. Lebensjahr auf 28,7% im Alter von 60-85 Jahren zu. Der gleiche Effekt war unter Annahme eines dominanten Erbganges zu beobachten. Der Anteil des D-Allels stieg von 51,9% im Alter unter 31 Jahren auf 54,6% im Alter von über 60 Jahren.

Die Prozentsätze des reinerbigen D- Allels bei den mitteldeutschen Blutspendern lagen, wie in Kapitel 4.2. bereits beschrieben, mit Werten zwischen 27,3% und 40,1% etwas höher. Das Maximum lag dabei im Alter von 40 bis 49 Jahren. Noch deutlich höher war der Unterschied beim dominanten Erbgangsmode. Das Merkmal D kam mit Werten zwischen 66,7% und 82,0% eindeutig häufiger vor, als bei den amerikanischen Blutspendern. Diese großen Schwankungen lagen am ehesten an der größeren Varianz der ethnischen Herkunft der Blutspender in den USA, da hier ein großer Anteil an Afroamerikanern, Mexikanern und anderer Nationalitäten zu erwarten war. Laut Levi et al. [5] lagen die Mortalitätsraten von Deutschland und den USA 1995-98 etwa in gleicher Höhe (siehe Kap.1.1.)

### 5.3. C112R-und R158C-Polymorphismus des Apolipoprotein E

Der Vergleich der prozentualen Verteilungswerte war im Falle des Apolipoprotein-Polymorphismus schwierig, da die meisten Autoren nur zwischen der E2-, E3- und E4-Variante unterschieden und die mischerbigen Typen nicht differenzierten. Der überwiegende Teil der Arbeiten war vom negativen Einfluss der Variante E4 überzeugt [15, 102, 116-121] es gab jedoch auch Gegenstimmen [122-127] und einige Untersuchungen, welche keine Wertung abgaben.

Sheehan et al. [15] untersuchten bei 100 irischen Erwachsenen im Alter zwischen 19 und 65 Jahren den Apolipoprotein E-Typ und bestimmten gleichzeitig die jeweiligen Cholesterinwerte. Typ E2 trat in 12% der Fälle auf und hatte niedrige Cholesterinwerte. Typ E3 wurde bei 66% der Untersuchten festgestellt und hatte mittlere Werte von Cholesterin. Bei 22% der Probanden fand sich Typ E4. Die Cholesterinwerte dieser Gruppe waren hoch. Geht man davon aus, dass erhöhte Cholesterinwerte zu Arteriosklerose führen können, so wäre eine genetische Prädisposition für Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei den Trägern der E4-Variante nicht auszuschließen. Unter der Annahme, dass E2 mit dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Typ E2/3 gleichzusetzen war, E3 der Variante E3/3 entsprach und E4 als Typ E3/4 betrachtet werden konnte, so waren die von Sheehan et al. [15] ermittelten Prozentsätze den bei den deutschen Blutspendern bestimmten Werten, wie in Kapitel 4.3. dargestellt, sehr ähnlich. Es bestand in diesem Falle kein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden untersuchten Probandengruppen. Diese Tatsache spricht nicht gegen einen direkten Einfluss des Polymorphismus auf die koronare Herzkrankheit, da die Mortalität in Irland laut Levi et al.

(siehe Kap.1.1.) zwar deutlich über der in Deutschland lag, in Mitteldeutschland die Sterblichkeit jedoch die höchste aller Bundesländer war.

Lethinen et al. [119] fanden in Finnland keinen deutlichen Unterschied zwischen einer Patienten- und Vergleichsgruppe. Bei dieser Studie wurden 309 Patienten mit angiografisch gesicherter koronarer Herzkrankheit und 38 Patienten ohne KHK untersucht. Die prozentualen Verteilungswerte der verschiedenen Varianten des Apolipoprotein E (E2, E3, E4) lagen bei den KHK-Patienten mit 2,3% / 79,0% / 18,7% im gleichen Bereich wie bei den herzgesunden Probanden mit 1,3% / 76,3% / 22,4%. Interessant war die Beobachtung, dass die Plasma-LDL-Level in folgendem Maße anstiegen:  $E2/3 < E3/3 < E3/4 < E4/4$ . Der E4-Prozentsatz der finnischen Probanden würde im Vergleich dem in der vorliegenden Arbeit bei der heterozygoten Variante E3/4 bestimmten Werten entsprechen. Das Vorkommen von Variante E2 war im Falle der deutschen Blutspender mit 12,7% (E2/3) deutlich höher, die Häufigkeit von E3 mit 68,8% etwas geringer.

Ou et al. [102] untersuchten 214 japanische KHK-Patienten, welche vor dem 65. Lebensjahr erkrankten und 310 gesunde Japaner. Die KHK-Patienten hatten mit 22,9% mehr als doppelt so häufig den auffälligen Typ E4 als die Vergleichsgruppe (10%). Mit Werten zwischen 13,0% und 23,3% (E3/4) lagen die untersuchten Blutspender der Region Halle zwischen den in Japan ermittelten Prozentsätzen. In Anbetracht der geringen Herz-Kreislauf-Sterblichkeit der Japaner könnte diese Untersuchung die Erkrankungsrelevanz unterstreichen.

Eine umfangreiche Untersuchung der Apo E-Genotyp-Verteilung wurde 2001 in den USA veröffentlicht. Lahoz et al. [101] untersuchten in der *Framingham Heart Study* 3413 Studienteilnehmer. Bei der Typisierung der Probanden fanden sich Typ E4/4 und E3/4 in 20,7% der untersuchten Fälle und wurden als E4-Typ definiert. E3/3 wurde als E3-Gruppe bezeichnet und trat bei 63,9% auf. Die E2-Gruppe beinhaltete Typ E2/2 und E2/3 und wurde bei 14,1% der Probanden beobachtet. Der heterozygote Typ E2/4 trat nur in 1,3% der Fälle auf und wurde, wie auch in dieser Arbeit, für weitere Untersuchungen aufgrund des geringen Aufkommens ausgenommen. Vergleich man nun die in den USA ermittelten Verteilungswerte mit denen der deutschen Blutspender der Region Halle/Merseburg, so stellte man nur geringe Abweichungen in der statistischen Verteilung fest. Typ E4 und E2 traten bei Blutspendern der MLU Halle etwas seltener auf (E4: 18,5%; E2: 12,7%) und E3 mit 68,8% etwa 5% häufiger. Die Framingham-Studie untersuchte gleichzeitig die KHK-Prävalenz für alle Varianten des Apo E und stellte eine etwa doppelt so hohe Morbidität bei Männern aller Apo E-Typen fest, wobei es für Männer mit Typ E2 und E4 scheinbar ein erhöhtes Risiko gab. Diese Tatsache würde für ein geringes Risiko auch bei den in dieser Arbeit untersuchten Blutspendern sprechen, da über zwei Drittel der untersuchten Individuen Typ E3/3 trugen. Levi et al. [5] (siehe Kap.1.1.) kamen in Bezug auf die Mortalität zum gleichen Ergebnis. Ein Einfluss auf die Morbidität ist möglich.

Eine bemerkenswerte Beobachtung machten auch Mustafina et al. [71] bei einer Studie mit russischen und tatarischen Patienten, welche einen Herzinfarkt erlitten hatten. Russen im Alter unter 45 Jahren hatten seltener Typ E3/3. Tataren, welche an einem akuten Myocardinfarkt erkrankt waren, hatten zu 14,29% Typ E4/4. In der gesunden Vergleichsgruppe wurde in keinem Falle Typ E4/4 ermittelt. Dieser Umstand sprach einerseits für einen starken Einfluss des homozygoten E4-Typs für die Entstehung einer KHK, lässt andererseits auch einen Einfluss des Typs E3/4 auf die Erkrankungshäufigkeit vermuten. Die Kontrollgruppe dieser Studie trug mit 75,47% etwas häufiger das Merkmal E3/3 als die deutschen Blutspender. Typ E3/4 wurde dort deutlich seltener gefunden als in dieser Arbeit (Russen 10,38%; Deutsche 18,5%). Die hohe Mortalität der Russen könnte mit dem hohen Aufkommen der Isoform E4 korrelieren.

Auch im Falle des Apolipoprotein E-Polymorphismus gab es Wissenschaftler, welche sich gegen den Zusammenhang von ApoE-Typ und Erkrankungshäufigkeit aussprachen.

Petrovic et al. [125] untersuchten zum Beispiel in Slowenien 166 Patienten mit KHK und 130 gesunde Vergleichspersonen. Signifikante Unterschiede wurden nicht beobachtet. Lediglich der LDL-Cholesterinwert lag bei Typ E3/4 und E4/4 höher als in den anderen Gruppen. Die Prozentwerte lagen in der Vergleichsgruppe bei 7,7% E2, 84,6% E3 und 7,7% E4. Die auffälligen Varianten E2 und E4 kamen also auch im Vergleich mit dem in dieser Arbeit vorliegenden Probandenkollektiv sehr selten vor.

Eine weitere Studie, welche gegen einen direkten Zusammenhang sprach, wurde von Kolovou et al. [123] in Griechenland veröffentlicht. Es flossen Daten von 143 Patienten mit KHK ohne AMI, 124 Patienten mit AMI und eine 240 Personen umfassende Vergleichsgruppe in die Untersuchung ein. Der Typ E2 trat bei allen untersuchten Gruppen selten auf, mit einem Minimum in der Gruppe der Patienten mit akutem Myocardinfarkt. Der Typ E4 wurde mit Prozentsätzen um 10% in allen Gruppen gleich häufig gefunden. Diese Ergebnisse waren in etwa identisch mit den Studien von Petrovic et al. [125] aus Slowenien und sprechen eventuell für ein insgesamt niedriges Risiko der Bevölkerung der Mittelmeerländer.

Thelma et al. [127] untersuchten 4450 Inder im Alter zwischen 55 und 95 Jahren aus dem Staat Haryana. Die E4-Frequenz wurde mit 7,3% als niedrigste der Welt beschrieben. E3 trat in 88,7% der Fälle auf, E2 bei 3,9% der Inder. Damit wäre der Anteil bei dieser ethnischen Gruppe weiter zugunsten der Variante E3 verschoben.

Auch bei Indianern und Mestizen war, wie von Gamboa et al. [128] bewiesen, der Anteil des homozygoten E3-Typs mit 81,3% beziehungsweise 83,1% sehr hoch. Typ E2 wurde nicht beobachtet. Der Anteil von Variante E4 lag somit wie im Mittelmeerraum bei 10%. Die Abwesenheit der Variante E2 findet sich desgleichen in Studien, welche amerikanische Mexikaner, Mayans, Cayapas und asiatische Bewohner der Arktis typisierten [128]. Der Anteil des Typs E2 wurde bei Kaukasiern mit etwa 8% angegeben. Unter Annahme der Korrektheit

dieser Angabe, lag der E2-Anteil in der Blutspenderpopulation des Raumes Halle mit 12,7% höher als der Durchschnitt der übrigen Kaukasier.

Im Jahre 2002 wurde eine weitere indische Untersuchung von Luthra et al. [124] publiziert. 52 nordindische männliche Patienten mit angiografisch gesicherter KHK im Alter zwischen 38 und 71 Jahren wurden 50 Blutspendern gegenübergestellt. Auch dabei wurden deutlich niedrigere HDL-Spiegel bei Trägern des Typs E3/3 festgestellt. E3 kam mit 86,0% bei Patienten und 86,2% bei den Blutspendern gleich häufig vor und unterschied sich damit deutlich von den bei deutschen Blutspendern ermittelten Werten (68,8%). E2 fand sich bei 2% der Patientengruppe und 6% der indischen Blutspender. Reziprok verhielt sich dementsprechend der Anteil von E4-Trägern (12% der Patienten, 8% der Blutspender). Die Differenz zwischen den Werten der beiden indischen Arbeiten lag am ehesten in der Inhomogenität der untersuchten Probandengruppen und deren Größe begründet.

Schwanke et al. [103] differenzierten im Rahmen des *Projeto Veranópolis* die Verteilung der Apo E-Varianten von 70 älteren Patienten (ab 80. Lebensjahr) aus Portugal. Genotyp E 3/4 wurde dabei im Vergleich mit Typ 3/3 mit höheren LDL-Spiegeln in Zusammenhang gebracht. Eine mögliche frühere Mortalität bei Typ E4/4 wurde nicht ausgeschlossen. Die prozentuale Verteilung der verschiedenen Genotypen war wie folgt: E2/2 = 2%, E2/3 = 6%, E3/4 = 22% und E3/3 = 70%. Diese Ergebnisse ähnelten denen der deutschen Blutspender, wenn auch bei den Portugiesen E3/4 etwas häufiger und E2/3 nur halb so häufig vorkam.

Corbo et al. [69] analysierten die Apo E-Verteilung in der Welt bereits 1999. Sie kamen zu der Erkenntnis, dass E3 die weltweit verbreitetste Variante des Apolipoproteins ist. Insbesondere in Gegenden mit Agrarkultur, wie zum Beispiel im mediterranen Bereich, war dieser Genotyp besonders häufig anzutreffen (84,9%-89,8%). Apo E2 hatte eine Frequenz von 14,5% - 2% und war bei Indianern überhaupt nicht zu finden. Apo E4 war besonders hoch bei Pygmäen (4,7%), Khoi San (37,0%), Ur-Einwohnern von Malaysia (24,0%), australischen Ur-Einwohnern (26,0%), Papuas (36,8%), Indianern (28,0%) und Lappen (31,0%). Leider fanden sich in Bezug auf Erkrankungshäufigkeit und Sterblichkeit in der Literatur keine Angaben für diese speziellen ethnischen Gruppen.

In Summa zeigte sich auch bei Apolipoprotein E die Schwierigkeit vergleichbare Werte zu finden. Der Prozentsatz des mutmaßlich pathogenen Typs E3/4 war in der gesunden deutschen Bevölkerung scheinbar relativ niedrig, wobei Mittelmeerländer noch wesentlich geringere Prozentsätze aufwiesen. Am ehesten vergleichbar ist die Verteilungsfrequenz der in dieser Arbeit untersuchten Studiengruppe mit der der Framingham-Studie aus den USA.

#### 5.4. Polymorphismen des *Lipoprotein –Receptor related Protein*

Zuliani und Hobbs [80] beschrieben 1994 einen 5`-Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP-Gens. Untersuchungen dieses Polymorphismus an Populationen von Patienten und gesunden Probanden erfolgten zum überwiegenden Teil in Hinblick auf ein Erkrankungsrisiko für Morbus Alzheimer, einer degenerativen Hirnerkrankung.

Schulz et al. [74] vermuteten jedoch auch eine entscheidende Rolle des LRP bei der Entstehung der Arteriosklerose. Sie konnten 2003 bei vergleichenden Untersuchungen von männlichen Patienten, welche einen Herzinfarkt erlitten hatten, und männlichen Blutspendern signifikante Unterschiede in mRNA- und Proteinexpression nachweisen. Diese drückte sich in einer Zunahme der mRNA- Expression und Abnahme des Protein-Spiegels bei der Patientengruppe aus. Es wurde als erwiesen angenommen, dass daraus ein erhöhtes Risiko für arteriosklerotische Erkrankungen resultiert. Im Hinblick auf diese Ergebnisse lag der Verdacht nahe, dass genetische Veränderungen des LRP1 gleichfalls für die Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Frage kämen. Unter der Maßgabe, dass der Anteil der Herz-Kreislaufferkrankungen bei Morbidität und Mortalität der mitteldeutschen Bevölkerung eine herausragende Rolle spielte, war der Vergleich der Genfrequenz der in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen mit Populationen anderer Länder interessant.

Harris et al. [104] typisierten den Tetranucleotid-Polymorphismus bei 373 Amerikanern spanischer Herkunft, 522 nichtspanischen weißen Amerikaner sowie Nigerianern aus Sokoto (n = 390) und Benin (n = 800). Das 83bp- Allel fand man nur bei den Amerikanern (0,4-1,1%), nicht aber bei den Afrikanern. Die homozygote Variante des 87bp- Fragmentes, welche als morbiditätsfördernd angesehen wird, fand sich bei 18,1% der Amerikaner spanischer Herkunft und 15,7% der übrigen typisierten Amerikaner. Insbesondere der Prozentsatz der spanischstämmigen Amerikaner lag damit deutlich höher als die Genotyp-Frequenz der Afrikaner (10,3% Sokoto; 14,0% Benin). Der Anteil der Träger der Variante 87/87 betrug in der Population der Studienteilnehmer der mitteldeutschen Region 16,4% (n = 70) und entsprach damit etwa der amerikanischen Population nichtspanischer Herkunft. Die mischerbige Variante 87/91 war bei Amerikanern spanischer Herkunft und deutschen Blutspendern nahezu ident und lag etwa 1% niedriger als bei nichtspanischen Einwohnern der USA. Der im Vergleich niedrigste Prozentsatz dieses Typs zeigte sich, wie auch schon bei der reinerbigen Variante des 87bp- Fragmentes, in der Gruppe der Nigerianer aus Sokoto (44,7%).

Lambert et al. [129] untersuchten über 600 Alzheimer-Patienten in Frankreich (Kaukasier), von welchen 37,8% männlichen Geschlechts waren und deren Durchschnittsalter bei 72 +/-8 Jahren lag. Die Verteilung der Gen-Varianten (87/87 = 17,0%, 87/91 = 47%, 97/91 = 36%) war im Vergleich der bei den mitteldeutschen Blutspendern dieser Arbeit im Alter über 60 Jahren (87/87 = 17,2%, 87/91 = 44,8%, 91/91 = 37,9%) sehr ähnlich. Aufgrund der geringen Anzahl

der Individuen im deutschen Vergleichskollektiv sind die geringen Differenzen bei der heterozygoten Variante 87/91 und dem homozygoten Allel 91 bp als nicht signifikant zu werten. Diese Tatsache sprach in Anbetracht der wesentlich geringeren Mortalitätsrate der Franzosen [5] gegen einen direkten Einfluss der Allel-Varianten auf die Krankheitsentstehung.

Ein gravierender Unterschied wurde bei vergleichender Betrachtung der Ergebnisse von Hatanaka et al. [105] an 246 Japanern deutlich. 54,9% der Japaner trugen den homozygoten Typ 91/91. Das waren 20% mehr als in der deutschen Population. Invers verhielt sich die Häufigkeit der Träger des Allels 87 bp (5,7%). Unter Annahme einer Pathogenität der homozygoten und heterozygoten Variante des Fragmentes 87 bp hätte die japanische Population somit ein wesentlich geringeres Morbiditätsrisiko. Diese Vermutung wird durch die niedrige Mortalitätsrate der Japaner verstärkt.

Mc Ilroy et al. [13] fanden bei der Testung von Alzheimer-Patienten und irischen Blutspendern keine signifikanten Verteilungsunterschiede der Varianten zwischen beiden Gruppen und sprachen sich gegen einen Zusammenhang mit einem Erkrankungsrisiko aus. Besonders auffällig war beim Vergleich der deutschen und nordirischen Blutspender der hohe Anteil des Genotyps 87/87 (29,0%) bei den Nordiren. Die heterozygote Variante 87/91 (51,5%) kam im Unterschied dazu nur gering häufiger vor als im mitteldeutschen Blutspenderstamm (51,5% Iren versus 48,8% Deutsche). Statistisch gesehen müssten Iren demzufolge ein cirka 15% höheres Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen tragen als die mitteldeutsche Bevölkerung und etwa doppelt so häufig erkranken im Vergleich zu Japanern. Die Mortalitätsstudie von Levi et al. [5] könnte diese Vermutung bestätigen.

In einer Studie von Gonzales et al. [72] wurde der Tetranucleotid-Polymorphismus des LRP bei 200 spanischen Männern kaukasischer Abstammung untersucht. Auffallend war ein sehr geringer Anteil der reinerbigen Merkmalsträger der 87 bp-Variante von 2,0% und eine hohe Rate des Genotyps 91/91 von 61,0%. Bei Männern der mitteldeutschen Studienteilnehmer könnte die etwa zehnmal so häufig vorkommende Variante 87/87 für eine Krankheitsrelevanz sprechen.

Der Polymorphismus der Promotor-Region an Position 25 (C>G) wurde 2002 von Schulz et al. [79] beschrieben. Im Vergleich von 214 Koronar-Patienten mit Myocardinfarkt und 224 Blutspendern der mitteldeutschen Population, welche auch in dieser Arbeit untersucht wurden, zeigte sich bei Trägern des mutanten G-Allels ein höheres Niveau der mRNA-Expression. Diese Ergebnisse konnten durch Gläser et al. [130] bestätigt werden. Insbesondere imponierte auch bei den heterozygoten Merkmalsträgern der Mutation erhöhte Gen-Expression und sinkende Proteinexpression. Homozygote Merkmalsträger des polymorphen G-Allels waren in dieser Arbeit untersuchten Studienkollektiv eine Rarität (ein weibliches Individuum). Auch die heterozygote Variante CG wurde mit 15,5% (n = 66) relativ selten beobachtet.

### 5.5. Ser128Arg-Polymorphismus des E-Selektins

1994 brachten Wenzel et al. [88] einen E-Selektin-Polymorphismus an Position 561 der c-DNA, welcher einen Aminosäurewechsel von Serin zu Arginin an Position 128 herbeiführt, mit einem erhöhten Risiko für die Ausbildung einer frühen Arteriosklerose in Verbindung.

In der Literatur fanden sich kaum Untersuchungen an anderen Populationen, außer der in diese Arbeit involvierten. Der Anteil der mutanten homozygoten Variante war im in dieser Arbeit typisierten Kollektiv von mitteldeutschen Blutspendern mit durchschnittlich 1,6% sehr klein. Der Prozentsatz der heterozygoten Mutanten lag mit cirka 17,5% ebenfalls relativ niedrig.

Wenzel et al. [106] fanden in einer Untersuchungsgruppe von 202 deutschen Studienteilnehmern nur 2 homozygote Träger des Ser128Arg-Polymorphismus. Zum Vergleich kamen junge Patienten mit einer früh einsetzenden Arteriosklerose und eine unselektierte Population. Die Frequenz der Mutationsvariante betrug 0,087 bei der Vergleichsgruppe und 0,157 in der Patientengruppe. Damit war in dieser Studie die Anzahl der Träger der polymorphen Variante unter den Patienten doppelt so hoch wie in der Vergleichspopulation.

Im Gegensatz zu den von Wenzel et al. [106] beschriebenen Werten fiel bei den in dieser Arbeit beobachteten Ergebnissen auf, dass die Allel-Frequenz der mutanten Arginin-Variante mit 0,191 (n = 83) noch deutlich über der Patientengruppe lag.

Für eine praxisrelevante Aussage zum Erkrankungs-Risiko wären Untersuchungen an weiteren Patienten und verschiedenen ethnischen Gruppen nötig.

### 5.6. Leiden-Mutation des Faktor V

Bertina et al. [82] beschrieben eine Mutation des Faktor V des Gerinnungssystems, welche eine Resistenz gegen aktiviertes Protein C verursacht. Da die Untersuchung am Universitäts-Hospital Leiden (Niederlande) erfolgte, nannte man diese genetische Variante Leiden-Mutation. Es fand sich an Nukleotid-Position 1691 ein Guanin zu Adenin -Basenaustausch. Die Adenin-Variante konnte bei 18,6% der untersuchten Patienten mit thrombembolischen Erkrankungen nachgewiesen werden. Dabei trugen 2% der Probanden die reinerbige AA-Mutation, 16,6% den mischerbigen Typ GA. Bertina et al. [82] bezeichnete aufgrund dieser Ergebnisse die Leiden-Mutation als höheren Risikofaktor für Thrombosen als alle anderen Risikofaktoren zusammen genommen. 1997 beobachteten Carine et al. [84], ebenfalls am Universitätsklinikum Leiden, in einer Fall-Kontroll-Studie die Prävalenz von arteriellen Thrombosen bei *A-Cariern*. Die Studie untersuchte männliche Herz-Patienten, welche den ersten Myocardinfarkt vor dem 70. Lebensjahr erlitten hatten und als Vergleichsgruppe männliche orthopädische Patienten ohne arteriosklerotische Anamnese. Die Frequenzen von Vergleichsgruppe und Patientengruppe wurden gegenübergestellt. Die mutante Variante A war sowohl in der homozygoten, als auch in

der heterozygoten Form in der Patientengruppe mit KHK in größerer Anzahl zu finden (GG = 93,2%, AG = 6,6%, AA = 0,2%) als in der Patientengruppe mit rein orthopädischen Erkrankungen (GG = 95%, AG = 5%).

Bei der vergleichenden Betrachtung mit den in dieser Arbeit typisierten Blutspendern bemerkt man einen teilweise deutlich höheren Anteil an Trägern der mischerbigen Variante AG. In Abhängigkeit von Alter und Geschlecht variierten die Werte. So wurde bei 9% der männlichen Probanden die heterozygote mutante Variante angetroffen. Die Prozenrate der Frauen lag demgegenüber nur bei 5,4%. Diese Zahlen könnten ein Hinweis auf die Ursache einer höheren Erkrankungsichte der männlichen mitteldeutschen Bevölkerung sein.

Carine et al. [84] konnten in der Weiterführung ihrer Studie auch ein steigendes Risiko in Verbindung mit anderen Faktoren, wie Nikotin, Alkohol, Hypertonie und metabolisches Syndrom, nachweisen.

Makris et al. [131] untersuchten in Griechenland Patienten mit Myocardinfarkt und Hypertonie, welche eine Hochrisikogruppe für arterielle Thrombosen darstellt. Patienten trugen signifikant häufiger (20% der Patienten mit Myocardinfarkt) das A-Allel. Der Vergleich der mitteldeutschen Blutspender dieser Arbeit (7,6%) mit der griechischen Kontrollgruppe (8%) wies eine ähnliche Verteilung des mutanten A-Allels in der gesunden Bevölkerung auf.

Eine gute Vergleichsmöglichkeit ergab sich aus der amerikanischen Studie, welche von Hessner et al. [115] in Milwaukee durchgeführt wurde. Zur Untersuchung kamen dabei 2689 Blutspender kaukasischer Abstammung wobei die Studienteilnehmer in drei Altersgruppen unterteilt wurden. Im Vergleich mit den in Kapitel 4.7. dargestellten Werten fand sich eine Übereinstimmung mit steigenden Prozentsätzen des Genotyps AG im mittleren Alter. Der Anteil bei den deutschen Blutspendern im Alter von 46-50 Jahren lag fast doppelt so hoch (15,5% versus 7,2% bei 40-59 jährigen amerikanischen Blutspendern). Der Vergleich mit den amerikanischen Spendern war schwierig, da die Altersgruppe der Menschen mittleren Alters 20 Jahre umspannte.

Weitere Untersuchungen in Hinblick auf arterielle Thrombosen erfolgten in Ungarn und Indien. Pongracz et al. [132] studierten in Budapest 254 Patienten mit Hirninfarkt und 171 Vergleichspersonen um ein höheres Risiko für Individuen mit mutanter Variante abschätzen zu können. 7,2% der Vergleichsgruppe und 11,9% der Patienten trugen die Genvariante der Leiden-Mutation. Der Unterschied war nicht signifikant und Pongracz sah trotz der Differenz kein erhöhtes Risiko für cerebrale Infarkte. Die Frequenz der heterozygoten Variante AG war bei der ungarischen Vergleichsgruppe fast identisch mit der der deutschen Population (7,6% gesamt).

Gupta et al. [133] negierten die Bedeutung der Leiden-Mutation für KHK-Patienten vollständig. Bei der Testung von Patienten in Nord-Indien, welche teilweise Myocardinfarkte erlitten hatten, konnte sowohl in der Patientengruppe als auch in der Vergleichsgruppe kein Individuum mit der

Leiden-Mutation eruiert werden. Gupta et al. [133] schlussfolgerten, dass dieser Polymorphismus nicht krankheitsrelevant sein kann. Bei dieser Konstellation wäre die Untersuchung der gleichen nordindischen Kohorte auf andere, besser untersuchte Polymorphismen, wie ACE und Apo E, interessant.

### 5.7. C825T- Polymorphismus der $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins

Siffert et al. [93] beschrieben den Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des G-Protein. Nach Genotypisierung von 427 Normotonikern und 426 Hypertonikern sprachen sie sich für eine signifikante Assoziation von T-Allel-Variante und essentieller Hypertonie aus. Die untersuchten Probanden waren alle in mittlerem und höherem Alter (Normotoniker 55,9 +/- 8,5; Hypertoniker 56,0 +/- 13,7). Die Rekrutierung der Studienteilnehmer erfolgte in Berlin, Essen und Heidelberg. Nur 46,9% der Hypertoniker trugen die homozygote Wildtyp-Variante CC, im Gegensatz zu 56,0% der Vergleichsgruppe. Da Siffert das dominante Betrachtungsmodell anwandte, ergaben sich Prozentsätze für Träger des mutanten T-Allels (CT+TT) von 53,1% bei Hypertonikern und 44,0% bei normotonen Probanden. Der durchschnittliche Prozentsatz für die in dieser Arbeit untersuchten Blutspender lag bei etwa 45% im Alter über 40 Jahren. Er entsprach somit etwa dem von Siffert et al. [93] ermittelten Wert für Normotoniker. Bemerkenswert war auch die vergleichende Typisierung von Deutschen, Chinesen und Afrikanern, welche Siffert et al. [93] im Rahmen einer weltweiten Studie publizierte. Im Mittelpunkt dieser Untersuchung stand der Zusammenhang von BMI-Wert und dem G-Protein-Polymorphismus. Die Genotypisierung erfolgte bei 18-30 jährigen Männern aus Afrika (Simbabwe und Süd-Afrika), deutschen Blutspendern des Universitäts-Blutspendedienstes Essen und Chinesen aus nicht näher bezeichneten Regionen. Die deutschen Blutspender hatten die niedrigste T-Allel-Frequenz von 31,9%. Bei den Blutspendern der Region Halle, welche in dieser Arbeit betrachtet wurden, lag die Rate des Aufkommens an T-Allel-Trägern mit 50% (CT+TT) im Alter von unter 30 Jahren deutlich höher. Dieser Wert entsprach eher dem für die chinesische Population bestimmten von 47,7% und legte die Vermutung nahe, dass diese Tatsache ein Indiz für die in der Region Mitteldeutschland erhöhte Morbidität an Herz-Kreislauf-Erkrankungen sein könnte. Dem widersprach allerdings der für Afrikaner ermittelte Wert von 81,4-84,1% der mutanten T-Variante. Geht man von der Richtigkeit dieser Aussage aus, kann der G-Protein-Polymorphismus nicht die alleinige Ursache für Hypertonie und koronare Herzkrankheit sein.

Schunkert et al. [94] untersuchten in Regensburg im Rahmen der WHO-MONIKA (*Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease*) -Studie 1010 Personen, welche zwischen 52 und 67 Jahren alt waren. 608 dieser Probanden konnten erfolgreich auf den G-Protein-Polymorphismus getestet werden. Unterschieden wurden zwei

Gruppen. Patienten mit und ohne Hypertonie, wobei Herz-Kreislaufkrankungen in der Anamnese auch bei Normotonikern vorkamen. Beim Vergleich mit den altersentsprechenden mitteldeutschen Spendern dieser Arbeit fiel eine deutliche Differenz der Gen –Varianten zugunsten der homozygoten C-Variante (> 55 Jahre = 51,7% versus 46% der Normotoniker der MONIKA-Studie) und zulasten des reinerbigen Mutationstyps TT (> 55 Jahre = 3,4% versus 9,9% bei Normotonikern und 15,7% bei Hypertonikern der MONIKA-Studie) auf. Die heterozygote Variante trat mit 44,8% bei über 55-jährigen in etwa gleich häufig auf wie bei den Normotonikern der Schunkert-Studie. Die Beurteilung der differenten Werte von Teilnehmern der MONIKA-Studie und den mitteldeutschen Blutspendern war schwierig, da bei der Untersuchung von Schunkert et al. [94] das Kriterium Normotonie eine andere Erkrankung (zum Beispiel Myocardinfarkt in der Anamnese) nicht ausschloss. Schunkert et al. [94] fanden in ihrer Arbeit einen signifikanten Zusammenhang zwischen homozygoter mutanter Variante, Blutdruck, Alter, Geschlecht, *Body-Mass-Index* und Plasmaspiegel von Renin, Prorenin und Aldosteron. Laut seiner Publikation könnte es einen Zusammenhang zwischen niedrigem Renin-Spiegel, erhöhtem diastolischen Blutdruck und Split-Variante der  $\beta$ -Untereinheit des G- Protein geben. Sartori et al. [134, 135] kamen bei einer Longitudinalstudie in Hinblick auf eine Assoziation von Mutationsvariante und erhöhten Blutdruckwerten bei jungen Patienten zum gleichen Ergebnis.

Norihito et al. [136] widersprachen Siffert et al. [93] und Schunkert et al. [94]. Man untersuchte 1233 Japaner, 718 davon mit Hypertonus und 515 Normotoniker einer Vergleichsgruppe. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Die Allel-Frequenz lag für CC/CT/TT bei 26,0% / 50% / 24% im Falle der Hypertoniker und 24,1% / 51,1% / 24,1% für die Probanden der Vergleichsgruppe. In Auswertung dieser Typisierung bei Japanern imponierte eine vollständig andere Verteilung der Gen-Varianten im Vergleich zu den deutschen Probanden dieser Arbeit (CC = 54,0%; CT = 39,1%; TT = 6,9%). Japaner müssten, in Anbetracht der hohen T-Allel-Frequenz und in Annahme eines Zusammenhanges von T-Variante und Herz-Kreislauf-Risiko, eine wesentlich höhere Morbidität als die mitteldeutsche Bevölkerung aufweisen. Wie in Abbildung 1 dargestellt, war aber das Gegenteil der Fall. Japaner hatten, laut Levi et al. [5], bei beiden Geschlechtern die geringste Mortalitätsrate.

Gläser et al. [130] konnten die von Siffert [93] publizierten Ergebnisse anhand der Genotypisierung von Patienten und Blutspendern der Universitätsklinik Halle ebenfalls nicht bestätigen. Die Untersuchung schloss Patienten mit koronarer Herzkrankheit und mit peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen ein. Als Vergleichsgruppe diente eine randomisierte Gruppe von Blutspendern des Universitätsblutspendedienstes Halle, welche weitgehend der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Population entsprach. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Prozentsatz des T-Allels (CT+TT) bei Patienten mit und ohne Hypertonus eruiert werden (circa 56%). Dieser Wert korreliert in etwa mit dem von Schunkert

in der Regensburger Studie ermitteltem Wert für Teilnehmer der MONIKA-Studie der WHO (54-58,2%). Gläser et al. [130] fand jedoch einen eindeutigen Unterschied zwischen Patienten mit Myocardinfarkt (CT+TT = 56,52%) und Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (CT+TT = 37,04%), was zu der Vermutung Anlass gab, dass die T-Allel-Variante Einfluss auf die Lokalisation der arteriosklerotischen Manifestation haben könnte.

Olszanecka et al. [137] fanden in einer belgischen Studie, bei welcher 286 polnische Eltern und Kinder aus Krakau und 280 Russen (Eltern und Kinder) aus der Region Novosibirsk untersucht wurden, erneut deutliche Anzeichen für einen Zusammenhang zwischen Hypertonie und T-Allel bei den typisierten Populationen. Ein Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen bestand in Hinblick auf den Genotyp nicht (CC = 44,7%; CT = 47,2%; TT = 8,1%). Es fanden sich aber nachweislich höhere Blutdruckwerte bei den Eltern (5-6 mmHg) und eine verminderte Linksherzrelaxation bei Eltern und Kindern mit homozygoter T-Variante. Relevante Unterschiede zur statistischen Verteilung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit waren bei dieser Population nicht gegeben.

Snapir et al. [138] widerlegten in Turku (Finnland) die Vermutung, dass es einen Zusammenhang zwischen mutanem Typ und Hypertonie gibt, durch eine Langzeitstudie über einen Beobachtungszeitraum von circa 4,2 Jahren. Bei dieser Untersuchung wurden 903 Männer im Alter von 42-61 Jahren typisiert. Der Prozentsatz der Gen-Varianten verteilte sich wie folgt: CC = 57%; CT = 38%; TT = 5% und entsprach damit den Ergebnissen der männlichen mitteldeutschen Blutspender (CC = 56,4%; CT = 39,1%; TT = 4,5%). Es ist daher davon auszugehen, dass die Gen-Verteilung in Finnland und Mitteldeutschland ähnlich ist. Im Beobachtungszeitraum gab es bei den finnischen Probanden mit homozygotem T-Allel keine signifikant höheren Blutdruckwerte im Vergleich mit den anderen Gen-Varianten. Gegen eine Krankheitsrelevanz könnte auch die deutlich geringere Mortalität der finnischen Männer an KHK im Vergleich mit deutschen Männern sprechen [5].

Suwazono et al [139] kamen bei der Typisierung und Untersuchung von japanischen Arbeitern zum gleichen Ergebnis. Man fand keine Beziehung zwischen Allel-Variante, Blutdruck und Geschlecht. Deutliche Unterschiede in der Verteilungsfrequenz sind jedoch zwischen Japanern und deutschen Probanden zu finden. Die homozygote Variante CC, welche als Wildtyp angesehen wird, kam bei deutschen Blutspendern etwa doppelt so häufig vor wie bei Japanern (50-56% bei mitteldeutschen Blutspendern versus 23-26% bei Japanern). Die mutante T-Allel-Variante war bei deutschen Probanden als heterozygoter Typ etwa 10% seltener, das homozygote TT-Allel sogar 10-20% seltener (Frauen: 19,8% in Japan versus 10,5% in Mitteldeutschland; Männer: 23,6% bei Japanern versus 4,5% bei mitteldeutschen Blutspendern). Bei dieser Verteilungskonstellation ist es fraglich, ob der Polymorphismus einen Einfluss auf die Entstehung einer Hypertonie haben kann [140, 141, 142]. Man kann den Einfluss auf die

Entstehung arteriosklerotischer Plaques jedoch nicht ausschließen, eventuell in Verbindung mit anderen Faktoren [143, 144, 145].

#### 5.8. C242T-Polymorphismus des p22 phox

Pakos et al. [97] beschrieben 1998 erstmals einen sogenannten C242T-Polymorphismus des CYBA-Gens, welches einen Austausch der Base Histidin zu Tyrosin an Position 72 bedingt.

Inoue et al. [99] berichteten darauf hin, der 242-T-Polymorphismus wäre mit einem sinkenden Risiko für eine koronare Herzkrankheit bei Japanern verbunden. Inspiriert von der Arbeit Inoue's studierten Li et al. [107] die T-Allel-Frequenz bei 252 US-Patienten (149 CAD-Patienten und 103 Patienten mit angiografisch unauffälligem Befund), 83% davon kaukasischer Abstammung. Die Prävalenz der T-Variante differierte zwischen Patienten mit und ohne angiografisch auffälligem Befund nicht und schloss damit den Einfluss auf die Entstehung der koronaren Herzkrankheit aus. Mit 16% homozygoter Variante TT lag der Prozentsatz etwas höher als bei der in dieser Arbeit untersuchten mitteldeutschen Population.

Es folgten Untersuchungen von Gardemann et al. [146] in Deutschland (Giessen) und Saha et al. [147] in Pittsburgh (USA). Gardemann typisierte 2205 Männer mit und ohne KHK und fand keinen Unterschied in der Genfrequenz. Saha [147] untersuchte je eine Patienten- und Vergleichsgruppe von asiatischen Indern und Chinesen. Es zeigte sich zwischen der jeweiligen Patientengruppe und den Vergleichsprobanden kein Unterschied in der Gen-Verteilung, wohl aber zwischen den beiden ethnologischen Gruppen. Die T-Allel-Frequenz war in der indischen Gruppe besonders hoch (0,38 bei Indern; 0,09 bei Chinesen).

Cahilly et al. [99] typisierten im Rahmen der LCAS (*Lipoprotein and Coronary Artherosclerosis*)- Studie 368 Patienten. Die Genverteilung (CC = 43%, CT = 47%, TT = 11%) war nahezu identisch mit der in der vorliegenden Arbeit ermittelten von mitteldeutschen Blutspendern. Man fand nach 2,5-jähriger Beobachtung der Patienten in den USA eine größere Progression und geringere Regression der koronaren Herzkrankheit bei T-Merkmal-Trägern.

In eine italienische Studie von Nasti et al. [148] flossen die Ergebnisse der Genotypisierung von 56 Patienten ein, welche vor dem 55. Lebensjahr bereits Koronarstenosen aufwiesen. Die Kontrollgruppe setzte sich aus 60 Probanden zusammen. Man fand eine signifikant höhere Rate an homo- und heterozygoten Trägern der mutanten T-Variante unter den Patienten (CC+CT: 72,7% in der Patientengruppe versus 44,3% in der Vergleichsgruppe). Der Anteil der T-Variante lag bei den in dieser Arbeit betrachteten Probanden (CT+TT = 55,9%) zwischen dem Wert der italienischen CAD-Gruppe und der Vergleichsgruppe. Die Wildtyp-Variante CC war in der italienischen Vergleichsgruppe etwa 10% häufiger als bei den deutschen Blutspendern. Dieser Umstand sowie eine geringere Mortalität der Italiener könnte für ein höheres Erkrankungsrisiko der mitteldeutschen Population sprechen. Nasti vermutete, dass durch

niedrige enzymatische Aktivität der NAD(P)H-Oxidase bei T-Allel-Trägern eine metabolische oder Redox-Imbalance entsteht.

Drummond et al. [149] typisierten 37 englische Patienten mit angiografisch nachgewiesener CAD (*Coronary Artery Disease*). Man fand bei 46% homozygot C, 11% homozygot das T-Allel und bei 43% der Untersuchten den heterozygoten Genotyp CT. Diese Verteilung entsprach in etwa der in der gesunden deutschen Population dieser Arbeit. Da die Sterbeziffern für männliche Engländer im Vergleich mit der der gesamten deutschen Bevölkerung höher liegen, könnte das Ergebnis ein Indiz für eine erhöhte Morbidität der mitteldeutschen Bevölkerung sein. Schneider et al. [150] beobachteten 114 Patienten aus den Krankenhäusern Gielead (Deutschland) mit Carotisstenosen. 54 Patienten waren homozygot Typ C, 60 Patienten trugen homo- oder heterozygot das T-Allel. In Auswertung dieser Untersuchungen vermutete man einen Einfluss des T-Allels auf den Verlauf der Erkrankung. Patienten mit T-Allel und Hypertonie wiesen höhere Gefäßwanddichten auf und somit könnte ein Einfluss auf die Gefäßstruktur gegeben sein.

Nordwig [151] und Weidhase [152] konnten in ihren klinischen Untersuchungen die Prävalenz des T-Allels bei Patienten und Blutspendern der Universität Halle ausschließen. Es fand sich in beiden Arbeiten kein Zusammenhang von T-Allel-Frequenz und Erkrankungshäufigkeit an koronarer Herzkrankheit. Nordwig bewies jedoch, dass sich Patienten mit arterieller Hypertonie und Allel-Variante T häufiger koronarchirurgischen Operationen unterziehen mussten und vermutete eine höhere Progression der koronaren Herzkrankheit bei dieser Konstellation. Dies würde die These von Schneider et al. [150] bestätigen.

Eine für die Allel-Verteilung bemerkenswerte Studie führten Mata-Balaguer et al. [31] an einer mediterranen Population von Spaniern kaukasischer Abstammung durch. Die Genotypisierung erfolgte bei 215 Individuen im Alter unter 55 Jahren. 104 der Probanden waren Patienten mit Myocardinfarkt, 106 dienten als gesunde Vergleichspopulation. Sie fanden keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der beiden Gruppen und somit keine Relevanz für ein Erkrankungsrisiko. Es gab jedoch signifikante Unterschiede im Vergleich zu anderen ethnischen Populationen. Die geringste Häufung von Merkmalsträgern der homozygoten T-Variante war in der spanischen Population zu beobachten (1,9%). Höhere Werte zeigten sich in der Probandengruppe der Deutschen (11,3%) und US-Amerikanern (16%).

### 5.9. T174M - Polymorphismus des Angiotensinogens

Schon 1992 wurde die Rolle des Angiotensinogens bei der Entstehung des Hypertonus von Jeunemaitre et al. [56] diskutiert. In einer französisch-amerikanischen Studie konnten 15 molekulare Varianten des Angiotensinogens beschrieben werden, darunter zwei Varianten mit Signifikanz für eine Hypertonie-Assoziation.

Caulfield et al. [153] verglichen in London die Genotypen des Angt174-Polymorphismus von 63 weißen, europäischen Familien mit Hypertonie-Anamnese. Man fand dabei keinen Einfluss der beiden Varianten auf die Hypertonie. Im Gegensatz dazu wies Hegele et al. (57) in Kanada bei der genetisch isoliert lebende Gruppe der „Hutterite Brethren“ (741 Probanden) signifikant höhere systolische Blutdrücke bei Männern nach, welche die mutante Variante des T174M-Polymorphismus trugen. Niu et al. [154, 155] untersuchten den gleichen Polymorphismus an einer ebenfalls isoliert lebenden Population von Chinesen in der Anhui-Province. Man fand keinen Zusammenhang zwischen der polymorphen Variante und Hypertonie bei der chinesischen Bevölkerung, wollte aber eine Relevanz bei anderen ethnologischen Gruppen nicht ausschließen.

Im Gegensatz zur chinesischen Untersuchung fanden Cong et al. [108] einen signifikanten Zusammenhang bei Japanern. Im Vergleich zwischen 104 Patienten mit CAD und 170 Vergleichsprobanden waren homozygote Träger der mutanten T-Allel-Variante häufiger in der Gruppe der Patienten zu finden.

Diese These wurde durch Chistiakov et al. [109] bestätigt. In dieser russischen Studie wurden Patienten und Vergleichsprobanden aus der Moskauer Bevölkerung rekrutiert. 45 Patienten mit akutem Myocardinfarkt (CC=57,8%; TT=32,1%), 53 Patienten mit Linksherzhypertrophie (CC=64,0%; TT=22,6%) und 60 Probanden einer Vergleichsgruppe (CC=80%; TT=10,8%) wurden genotypisiert.

Die Verteilung der allelen Varianten lässt vermuten, dass die Mutation Einfluss auf die Entstehung von KHK und Linksherzhypertrophie haben könnte. Im Vergleich mit den gesunden Probanden der Moskauer Population war die Anzahl der homozygoten Träger des T-Allels bei den Blutspendern der mitteldeutschen Population deutlich niedriger (CC=73,8%; TT=2,5%), der Prozentsatz der Wildtyp-Variante CC gering erniedrigt.

Die prozentual geringste Häufung der homozygoten Mutations-Variante des T174M-Polymorphismus lag, wie Wang et al. [156] bei der Typisierung von 107 Hypertonikern und 96 Vergleichspersonen zeigten, in der Bevölkerung Taiwans (CC>80%; TT=1%).

Wang et al. [156] konnten, wie auch Vasco et al. [157] in der Tschechischen Republik, keine Beziehung zwischen T-Variante und Hypertonus herstellen. Der Vergleich mit anderen ethnischen Gruppen war jedoch bemerkenswert. Die homozygote Mutationsvariante kam in der deutschen Population etwa doppelt so häufig vor. Auch die mischerbige CT-Variante lag geringfügig höher. Das Aufkommen des reinerbig mutanten Typs war bei den Asiaten, Deutschen und Russen statistisch vergleichbar mit der Mortalitätsrate der jeweiligen Länder, was für einen Einfluss des T-Allels sprechen könnte [5].

Im Gegensatz zu Wang fanden Agachan et al. [18] bei der türkischen Bevölkerung eine deutliche Korrelation zwischen TT-Typ und Hypertonie. Man vermutete eine Interaktion zwischen Genverteilung und Hypertonie, da die Frequenz des homozygoten T-Allels in der

untersuchten Gruppe von Hypertonikern (109 Patienten) mit 8,76% etwa doppelt so hoch war wie die in der Kontrollgruppe (86 Normotoniker) mit 4,81%. Damit trugen auch die gesunden Individuen der Vergleichsgruppe doppelt so häufig das Merkmal TT wie die mitteldeutschen Blutspender dieser Arbeit.

#### 5.10. Fehlerdiskussion

Bei den in dieser Arbeit eingeschlossenen Probanden, Blutspendern des Blutspendedienstes der MLU Halle, konnte man von einem Querschnitt der gesunden Bevölkerung der mitteldeutschen Region ausgehen. Es handelte sich um Langzeitblutspender, bei welchen auch vier Jahre nach Aufnahme in die Studie keine hypertonen Blutdruckwerte feststellbar waren. Während man bei den Blutspendern höheren Lebensalters mit großer Wahrscheinlichkeit Herz-Kreislauf-Erkrankungen ausschließen konnte, war im Falle der jüngeren Spender eine im späteren Leben auftretende Hypertonie oder koronare Herzkrankheit möglich. Träger potentiell pathologischer Genvarianten im jüngeren Anteil der Probanden waren somit nicht unwahrscheinlich.

Die statistischen Ergebnisse könnten demzufolge sowohl in Hinblick auf den Durchschnitt der Gesamtbevölkerung der mitteldeutschen Region als auch unter der Annahme einer genetisch nicht belasteten Population verschoben sein. Diese Tatsache könnte unter anderem für die in den vorhergehenden Kapiteln beschriebenen Diskrepanzen mit Studien anderer Populationen ursächlich sein. Weitere Faktoren für eine eingeschränkte Vergleichbarkeit der statistischen Werte der verschiedenen Arbeiten waren fehlende Angaben von Alter und Geschlecht der Probanden und Einfluss möglicher weiterer Risikofaktoren (z.B. Adipositas, Stoffwechselerkrankungen, Rauchen, Stress u.s.w.).

Mit Hilfe einer gezielten Auswahl einer jeweils ähnlichen Studiengruppe wurde in dieser Arbeit versucht, eine höchstmögliche Homogenität der zu vergleichenden Probanden der mitteldeutschen Blutspender mit den Patienten- und Vergleichsgruppen anderer Studien herzustellen. Aufgrund einer großen Heterogenität der untersuchten ethnischen Populationen hinsichtlich Alter, Geschlecht und Begleiterkrankungen waren exakte vergleichende Aussagen nicht immer möglich.

#### 5.11. Wissenschaftliche Anwendung und Perspektiven

Die Entstehung der Arteriosklerose als multifaktorielles Geschehen ist, wie aus den vorhergehenden Kapiteln ersichtlich, sicher nicht durch einzelne polymorphe Genvarianten erklärbar. Die kontroversen Studienergebnisse in der Literatur lassen vermuten, dass außer den in dieser Arbeit untersuchten mutanten Gen-Varianten weitere Einflussfaktoren bei der Entstehung wirken müssen. Insbesondere die großen prozentualen Differenzen der genomischen

Varianten zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen gaben Anlass zu dieser Vermutung. Mögliche Einflüsse wären zum Beispiel Clusterbildungen einzelner Kandidatengene, die klassischen Risikofaktoren (Hypertonie, Stoffwechselerkrankungen, Adipositas, Stress) oder Infektionen (z.B. Parodontitis).

Die Inhomogenität der Patienten- und Vergleichsgruppen der einzelnen publizierten Studien bedingt die Schwierigkeit einer vergleichenden Betrachtung zwischen den einzelnen ethnischen Populationen. Statistisch aussagekräftige Ergebnisse zum Vergleich der Ethnien erfordern eine Standardisierung der Untersuchungsgruppen.

Da die Arteriosklerose und ihre Folgeerkrankungen in den Industrieländern eine der häufigsten Todesursachen darstellt und ihr Vorkommen in den Entwicklungsländern laut Muna [158] wegen fehlender diagnostischer Möglichkeiten und statistischer Untersuchungen sowie der hohen Mortalität an Infektionskrankheiten noch nicht abschätzbar ist, sind weitere aussagekräftige Studien notwendig. So wäre zum Beispiel die Typisierung einer größeren Anzahl von kreislaufgesunden Blutspendern (alters- und geschlechts-homogen) verschiedener Regionen der Bundesrepublik für weiterführende Fall-Kontroll-Studien in Deutschland sinnvoll.

## 5.12. Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit konnte Verteilungsunterschiede sowohl innerhalb der untersuchten mitteldeutschen Blutspender der Region Halle als auch im Vergleich zu anderen ethnischen Populationen darstellen.

Signifikante Verteilungsunterschiede wurden innerhalb der mitteldeutschen Blutspender-Population beim Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE, 5`Tetranucleotid-Polymorphismus des LRP, Ser128Arg- Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des E-Selektin, der Leiden-Mutation des Faktor V und dem C825T- Polymorphismus des G-Proteins nachgewiesen. Die polymorphe homozygote Variante D des Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE wurde gehäuft im Alter von 40-45 Jahren beobachtet. Da die Allel-Frequenz der D-Variante mit 0,562 ein relativ häufiges Vorkommen erkennen lässt, würde, unter der Maßgabe einer Pathogenität dieses Typs, ein nicht unerheblicher Teil der gesunden Bevölkerung der Region ein erhöhtes Erkrankungsrisiko tragen.

Ein besonders gravierender Unterschied der Gen-Verteilung fand sich beim 5`Tetranucleotid-Polymorphismus des LRP. Mit 20,7% trugen Männer doppelt so häufig die auffällige homozygote 87bp-Variante als Frauen (9,7%). Bemerkenswert war auch eine relative Häufung dieses Typs im Alter von 41-45 Jahren.

Der Ser128Arg - Polymorphismus des E-Selektins imponierte mit einem geringen Vorkommen der als auffällig beschriebenen Arginin-Variante. Sie kam nur zu 1,6% in ihrer homozygoten

Form vor und war im Alter über 49 Jahre bei den untersuchten Blutspendern nicht mehr nachzuweisen.

Bei der Untersuchung der Leidenmutation, bei welcher die A-Allel-Variante für die Entstehung von venösen Thromben und arteriosklerotischen Veränderungen verantwortlich gemacht wird, fand sich im untersuchten Kollektiv kein homozygoter Merkmalsträger. Bei der heterozygoten Variante AG konnte ein signifikant höherer Anteil an Merkmalsträgern im Alter von 46-50 Jahren beschrieben werden.

Ein interessanter Aspekt ergab sich auch bei der Testung der polymorphen Varianten des C825T-Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins. Signifikant häufiger fand sich der mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie in Verbindung gebrachte, homozygote T-Typ bei Blutspendern im Alter zwischen 18 und 40 Jahren sowie bei Frauen. Diese Tatsache könnte für ein erhöhtes Risiko bei älteren Spendern im Sinne einer Selektion (Ausschluß von Hypertonikern von der Blutspende) sprechen aber auch auf einen protektiven Einfluß bei Frauen hinweisen. Vor diesem Hintergrund erschien es im Anschluss an die Auswertung der Verteilung der Gen-Varianten innerhalb der mitteldeutschen Blutspender der Region Halle/Merseburg interessant zu prüfen, wie sich die Ergebnisse im Vergleich zu anderen ethnischen Gruppen verhalten. Es erfolgte dazu eine umfangreiche Sichtung weltweit publizierter Studien.

Der Hauptunterschied ergab sich bei einer Reihe von Polymorphismen im Vergleich mit japanischen Populationen. So wurden beim Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE, C112R- und R158C- Polymorphismus des Apo E, 5' Tetranucleotid- Polymorphismus des LRP und T174M- Polymorphismus des Angiotensinogen in den japanischen Patienten- und Vergleichsgruppen jeweils die niedrigsten Prozentsätze für die als auffällig betrachteten Gen-Varianten ermittelt. Im Gegensatz dazu fiel bei Japanern ein besonders häufiges Vorkommen des mit Hypertonie in Verbindung gebrachten homozygoten T-Allels des C825T-Polymorphismus des G-Proteins (cirka 24% bei Japanern versus 6,9% bei deutschen Blutspendern) auf.

Besonders gravierende Verteilungsunterschiede konnten beim T174M – Polymorphismus des Angiotensinogen beobachtet werden. Eine Studie von Wang et al. [156] beschreibt bei taiwanesischen Probanden ein Vorkommen des für die Entstehung von arterieller Sklerose diskutierten T- Allels von 1%. Chistiakov et al. [110] fanden im Gegensatz dazu bei russischen Probanden Werte von 32,1% (KHK- Patienten) und 10,8% (Vergleichsgruppe). Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Prozentsätze (durchschnittlich 2.5%) lagen somit etwas höher als in der japanischen Population und deutlich unter der russischen KHK- Gruppe.

In Folge der Inhomogenität der Patienten- und Vergleichsgruppen bleibt die Einschätzung einer Krankheitsrelevanz der einzelnen Polymorphismen schwierig. Epidemiologische Einflüsse werden vermutlich durch die Homogenität beziehungsweise Inhomogenität der jeweiligen Gen-

Pools bestimmt. Das überwiegend geringe Aufkommen an reinerbigen Mutationsvarianten innerhalb der in dieser Arbeit untersuchten Blutspendergruppe entsprach den Erwartungen bei einem Kollektiv gesunder Probanden. Der Vergleich mit internationalen Studien zeigte teilweise differente Ergebnisse. Einflüsse der polymorphen Varianten sind partiell als wahrscheinlich zu betrachten, im komplexen Geschehen jedoch vermutlich nicht immer vordergründig. Durch die Individualisierung der Risikoprofile entstehen komplexe Beziehungsgefüge, welche nicht die Simplizität von reinen Laborwerten (z.B. Cholesterin oder Triglyzeride) aufweisen. Durch die Vielzahl der Einflussmöglichkeiten wird in Zukunft eine polyvalente Betrachtungsweise notwendig sein. Mit der Verfügbarkeit von Gen-Chips, welche eine kostengünstige Analyse auch komplexer Risikokonstellationen erlauben, wird sich die Chance ergeben, einerseits die Wertigkeit einzelner Marker zu evaluieren und andererseits hinsichtlich dieser Erkenntnisse in höchstmöglichem Grade Risikoprofile zu erstellen.

## 6. Zusammenfassung

Als Ursache für die Entstehung von arteriosklerotischen Gefäßveränderungen, einem komplexen und multifaktoriell bedingten Prozess, werden neben den klassischen Risikofaktoren, wie Hypertonie, Stoffwechelerkrankungen, chemischen Noxen und Stress, auch zunehmend inflammatorische Prozesse, Infektionen, Gefäßlaesionen und Gerinnungsstörungen verantwortlich gemacht. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Analyse der Häufigkeiten ausgewählter genetischer Varianten der atherosklerotischen Risiko-Kandidaten-Gene ACE, Angiotensinogen, Apo E, LRP1, E-Selektin, Faktor V (Leiden), G-Protein und p22 phox in einer Stichprobe gesunder Probanden (Langzeitblutspender) aus dem mitteldeutschen Raum im Sinne einer Horizontalstudie und in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht. Im Anschluss daran wurden die Ergebnisse mit den Resultaten internationaler Publikationen verglichen. Zur Untersuchung kamen Blutproben von 442 gesunden Blutspendern des Universitäts-Blutspendedienstes Halle. Hierbei waren 271 (61,3%) Männer und 171 (38,7%) Frauen. Das durchschnittliche Alter lag bei 42,2 +/- 11,2 Jahren (Mittelwert Männer 43,69 +/- 10,7; Frauen 39,46 +/- 11,3). Nach der Gewinnung der Blutproben im Universitäts-Blutspendedienst Halle wurden die Präparation der DNA sowie die weiteren molekulargenetischen Untersuchungen mittels PCR- und RFLP- Techniken am Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie der MLU durchgeführt. Bei der Auswertung der Analysen konnten innerhalb der untersuchten Population beim Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE, 5`Tetranucleotid-Polymorphismus des LRP, Ser128Arg- Polymorphismus des E-Selektin, der Leiden-Mutation des Faktor V und dem C825T- Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins mehrere signifikante alters- und geschlechtsabhängige Verteilungsunterschiede nachgewiesen werden. Ein überwiegend geringes Aufkommen an reinerbigen Mutationsvarianten innerhalb der Blutspender könnte auf Selektionseffekte im Blutspenderpool hindeuten. Bemerkenswert war der Vergleich der untersuchten Polymorphismen mit internationalen Studien. Die deutlichsten Unterschiede fanden sich im Hinblick auf die japanischen Populationen, deren kardiale Morbidität und Mortalität vergleichsweise niedrig sind [5]. Beim Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE, C112R- und -R158C- Polymorphismus des Apo E, 5`Tetranucleotid- Polymorphismus des LRP1 und T174- Polymorphismus des Angiotensinogen wurden in den japanischen Patienten- und Vergleichsgruppen jeweils die niedrigsten Prozentsätze für die als auffällig betrachteten Gen-Varianten ermittelt. Durch die Inhomogenität von Patienten- und Vergleichsgruppen bleibt die Einschätzung einer Krankheitsrelevanz der einzelnen Polymorphismen schwierig. Epidemiologische Einfüße und weitere pathogene Einflussfaktoren werden auch in Zukunft zur Notwendigkeit einer polyvalenten Betrachtungsweise führen.

## 7. Literaturverzeichnis

- [1] Gesundheitsbericht für Deutschland des Jahres 1995
- [2] Moebus S, Hanisch J, Bramlage P, Lösch C, Hauner H, Wasem J, Jöckel K-H (2008) Regional unterschiedliche Prävalenz des metabolischen Syndroms. Dtsch Arztebl 105(12): A 207-213.
- [3] Bericht über die „Gesundheitliche Lage der Bevölkerung im Land Sachsen-Anhalt“ für das Jahr 1996 von Fr. Dr. Gerlinde Kuppe
- [4] Auszüge aus Statistiken des Statistischen Landesamtes Sachsen-Anhalt der Jahre 1996-99
- [5] Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C (2002) Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world. Heart 88: 119-124.
- [6] Tiedt-Zwienert: Taschenbuch der Pathophysiologie. 2. Auflage VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1988, S. 264-266.
- [7] Koenig W, Hoffmeister A, Khuseyinova K, Imhof A (2003) Atherosklerose als inflammatorischer Prozeß. Dtsch Arztebl 100 (23): 1622
- [8] Boer JM, Ehnholm C, Menzel HJ, Havekes LM, Rosseneu M, O'Reilly DS, Tiret (1997) Interaction between lifestyle-related factors and the ApoE polymorphism on plasma lipids and apolipoproteins. The EARS Study. European Artherosclerosis Research Study. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 17 (9): 1975-1981.
- [9] Boucher P, Gotthardt M, Li W-P, Anderson R.G.W., Herz J: LRP (2003): Role in Vascular Wall Integrity and Protection from Atherosclerosis. Science Vol 300.no. 5617: 329-332.
- [10] Breslow J, Zannis V, San Giacomo TR, Third JLHC (1982) Studies of familial type III hyperlipoproteinemia using as a genetic marker the Apo E phenotype E2/2. J. Lipid Res. 23: 1224-1235.
- [11] Dzimiri N, Meyer BF, Hussain SS, Basco C, Afrane B, Halees Z (1999) Relevance of apolipoprotein E polymorphism for coronary artery disease in the Saudi population. Arch. Pathol. Lab. Med. 123 (12): 1241-1245.
- [12] Guidelines Subcommittee (1999) World Health Organisation- International Society of Hypertension - Guidelines of Management of Hypertension. J. Hypertens 17 (2): 151-183
- [13] Mc Ilroy SP, Dynan KB, Vahidassr DJ, Lawson JT, Patterson CC, Passmore P (2001) Common polymorphisms in LRP and A2M do not affect genetic risk for Alzheimer disease in Northern Ireland. Am. J. Med. Genet. 105 (6): 502-506.
- [14] Reider A (2004) Epidemiologie der Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Journal für Kardiologie 11: 3-4.

- [15] Sheehan D, Bennet T, Cashman K (2000) Apolipoprotein E gene polymorphism and serum cholesterol in healthy Irish adults: a proposed genetic marker for coronary artery disease risk. *Ir. J. Med. Sci.* 169 (1): 50-54.
- [16] Varsan RS, Beiser A, Seshadri S, Larson MG, Kannel WB, D'Agostino RB, Levi D (2002) Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged woman and men: The Framingham Heart Study. *JAMA* 287 (8): 1003-1010.
- [17] Mastragelopoulos N, Rogge S, Kielbassa AM (2004) Bakterielle Besiedelung der atheromatösen Plaques. *Parodontitis und Arteriosklerose. Gefäßchirurgie* 9: 332-338.
- [18] Agachan B, Isbir T, Yilmaz H, Akoglu E (2003) Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen T174M- M235T and angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism in Turkish hypertensive patients. *Exp. Mol. Med.* 35 (6): 545-549.
- [19] Akar N, Aras O, Omurlu K, Cin S. (1998) Deletion polymorphism at the angiotensin-converting enzyme gene in Turkish patients with coronary artery disease. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 58 (6): 491-495.
- [20] Arca M, Pannitteri G, Campagna F, Candeloro A, Montali A, Cantini R, Seccareccia F, Campa PP, Marino B, Ricci G (1998) Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is not associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction in a sample of Italian patients. *Eur. J. Clin. Invest.* 28 (6): 485-490.
- [21] Araz M, Aynacioglu S, Okan V, Akdemir I, Aktaran S (2002) Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and coronary heart disease in Turkish type 2 diabetic patients. *Acta. Cardiol.* 57 (4) : 265-269.
- [22] Balkenstein EJ, Wang JG, Struijker-Boudier HA, Barlassina C, Bianci G, Birkenhager WH, Brand E, Den Hond E, Fagard R, Herrmann SM, Van Bortel LM, Staessen J (2002) Carotid and femoral intima-media Thickness in relation to three candidate genes in a Caucasian population. *Hypertension* 20 (8): 1551-1561.
- [23] Di Pasquale P, Cannizzaro S, Paterna S (2004) Does angiotensin-converting enzyme gene polymorphism affect blood pressure? Findings after 6 years of follow-up in healthy subjects. *Eur. J. Heart Fail.* 6 (1): 11-16.
- [24] Dzimiri N, Basco C, Moorji A, Meyer BF (2000) Angiotensin-converting enzyme polymorphism and the risk of coronary heart disease in the Saudi male population. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 124 (4): 531-534.
- [25] Fatini C, Abbate R, Pepe G, Battaglini B, Gensini F, Ruggiano G, Gensini GF, Guazzelli R (2000) Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms. *Eur. Heart J.* 21 (8): 611-613.

- [26] Ferrieres J, Ruidavets JB, Fauvel J, Perret B, Taraszkievicz D, Fourcade J, Nieto M, Chap H, Puel J (1999) Angiotensin I- converting enzyme gene polymorphism in a low-risk European population for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 142 (1): 211-216.
- [27] Gardemann A, Fink M, Stricker J, Nguyen QD, Humme J, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W (1998) ACE I/D polymorphism: presence of the ACE D allele increases the risk of coronary artery disease in younger individuals. *Atherosclerosis* 139 (1): 153-159.
- [28] Gesang L, Liu G, Cen W, Qiu C, Zhuoma C, Zhuang L, Ren D, Pincuo Z, Chan Y (2002) Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and its association with essential hypertension in a Tibetan population. *Hypertens. Res.* 25 (3): 481-485.
- [29] Ishigami T, Iwamoto T, Tamura K, Yamaguchi S, Iwasawa K, Uchio K, Umemura S, Ishii M (1995) Angiotensin I converting enzyme (ACE) gene polymorphism and essential hypertension in Japan. Ethnic difference of ACE genotype. *Am. J. Hypertens.* 8 (1) : 95-97.
- [30] Mansur AP, Annichino-Bizzacchi J, Favarato D, Avakian SD, Cesar LA, Ramires JA (2000) Angiotensin-converting enzyme and apolipoproteins genes polymorphism in coronary artery disease. *Cli. Cardiol.* 23 (5) 335-340.
- [31] Mata-Balaguer T, De La Herran R, Ruiz-Rejon C, Ruis-Rejon M, Garrido-Ramos MA, Ruiz-Rejon F (2004) Angiotensin-converting enzyme and p22(phox) polymorphism and the risk of coronary artery heart disease in a low-risk Spanish population. *Int. J. Cardiol.* 95 (2-3): 145-151.
- [32] Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Sayed-Tabatabaei FA, van Popele NM, Asmar R, Schalkenkamp MA, Hofman A, van Duijn CM, Witteman JC (2004) Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and common carotid stiffness. The Rotterdam study. *Atherosclerosis* 174 (1): 121-126.
- [33] Matsubara M, Suzuki M, Fujiwara T, Kikuya M, Metoki H, Michimata M, Araki T, Kazama I, Satho T, Hashimoto J, Hozawa A, Ohkubo T, Tsuji I, Katsuya T, Higaki J, Ogihara T, Satoh H, Imai Y (2002) Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and hypertension: the Ohasama study. *J. Hypertens.* 20 (6): 1049-1051.
- [34] Morshed M, Khan H, Akhteruzzaman S (2002) Association between angiotensin I- converting enzyme gene polymorphism and hypertension in selected individuals of the Bangladeshi population. *Biochem. Mol. Biol.* 35 (3): 251-254.
- [35] Naber CK, Husing J, Wolfhard U, Erbel R, Siffert W (2000) Interaction of the ACE D allele and the GNB3 825T allele in myocardial infarction. *Hypertension* 36 (6): 986-989.
- [36] O`Malley JP, Maslen CL, Illingworth DR (1998) Angiotensin-converting enzyme DD genotype and cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 97 (18): 1780-1783.

- [37] Peterlin B, Petrovic D, Zorc M, Keber I (2000) Deletion/insertion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene as a risk factor in the Slovenian patients with coronary heart disease. *Pflugers Arch.* 439 (3): 40-41.
- [38] Petrovic D, Bregar D, Guzic-Salobir B, Skof E, Span M, Terzic R, Petrovic MG, Keber I, Letonja M, Zorc M, Podbregar M, Peterlin B (2004) Sex difference in the effect of ACE-DD genotype on the risk of premature myocardial infarction. *Angiology* 55 (2): 155-158.
- [39] Ranjith N, Pegoraro RJ, Rom L, Lanning PA, Naidoo DP (2004) Renin-angiotensin system and associated gene polymorphisms in myocardial infarction in young South African Indians. *Cardiovasc. J. S. Afr.* 18 (1): 22-26.
- [40] Renner W, Pabst E, Paulweber B, Malaimare L, Iglseder B, Wascher TC, Pilger E (2002) The angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism is not a risk factor for peripheral arterial disease. *Artherosclerosis* 165 (1): 175-178.
- [41] Rodriguez-Perez JC, Rudriguez-Esparragon F, Hernandez-Perera O, Anabitarte A, Losada A, Medina A, Hernandez E, Fiuza D, Avalos O, Yunis C, Ferrario CM (2001) Association of angiotensinogen M235T and A(-6)G gene polymorphisms with coronary heart disease with independence of essential hypertension : the PROCAGENE study. *J. Coll. Cardiol.* 37 (6): 1536-1542.
- [42] Schut AF, Sayed-Tabatabaei FA, Witteman JC, Avella AM, Vereer Pols HA, Hofman A, Deinum J, van Duijn CM (2004) Smoking-dependent effects of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism on blood pressure. *Hypertension* 22 (2): 313-319.
- [43] Stankovic A, Zivkovic M, Alavantic D (2002) Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in a Serbian population: a gender-specific association with hypertension. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 62 (6): 469-475.
- [44] Sunder-Plassmann G, Kittler H, Eberle C, Hirschl MM, Woisetschlager C, Derhaschnig U, Laggner AN, Horl WH, Fodinger M (2002) Angiotensin converting enzyme DD genotype is associated with hypertensive crisis. *Crit. Care Med.* 30 (10): 2236-2239.
- [45] Terzic R, Letonja M, Terzic I, Sehic A, Meric M, Teran N (2003) Insertion/deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene-risk factor for coronary artery disease in the Tuzla region population (Bosnia and Herzegovina). *Coll. Antropol.* 27 (2): 537-540.
- [46] Thayer JF, Merritt MM, Soller JJ 3rd, Zonderman AB, Evans MK, Yie S, Abernethy DR (2003) Effect of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism DD genotype on high-frequency heart rate variability in African Americans. *Am. J. Cardiol.* 92 (12): 1487-1490.
- [47] Tokunaga S, Tsuji H, Nishiue T, Yamada K, Miyasaka Y, Saitou D, Iwasaka T (2001) Lower mortality in patients with the DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene after acute myocardial infarction. *Acta Cardiol.* 56 (6): 351-355.

- [48] Volske H, Engel J, Kleine V, Schwan C, Dahm JB, Eckel L, Rettig I (2002) Angiotensin I-converting enzyme insertion/ deletion polymorphism and cardiac mortality and morbidity after coronary artery bypass graft surgery. *Chest* 122 (1): 31-36.
- [49] Wang JG, He X, Wang GL, Li Y, Zhou HF, Zhang WZ, Zhang YM (2004) Family-based association between the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and multiple cardiovascular risk factor in Chinese. *Hypertension* 22 (3): 487-491.
- [50] Wiwanitkit, V. (2004) Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism: I and D alleles from some different countries. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 10 (2): 179-182.
- [51] Till U./ Thielmann K. : Pathobiochemie. 2. Auflage VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1989, S. 302-326.
- [52] Baudin, B. (2002) New aspects on angiotensin-converting enzyme: from gene to disease. *Clin.Chem. Lab. Med.* 40 (3): 256-265.
- [53] Bühlmann/Froesch: Pathophysiologie. 5. Auflage Springer-Verlag, Berlin, 1989, S.206-209.
- [54] Gaillard I, Clauser E, Corvol P (1989) Structure of human angiotensinogen gene. *DNA* 8 (2): 87-99.
- [55] Griendling K, Murphy TJ, Alexander RW (1993) Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation* 87 (6): 1816-1828.
- [56] Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charrn A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel JM (1992) Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 71 (1): 169-80
- [57] Gambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B (1988). Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy Study. *Am. J. Hum. Genet.* 43: 773-780
- [58] Rappoport, SM : Medizinische Biochemie. 9. Auflage VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1987, S.224-225, 305-306, 546-548, 575-576.
- [59] Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Gambien F (1990) An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J.Clin. Invest.* 86: 1343-1346.
- [60] Castellano M, Muisan ML, Rizzoni D, Beschi M, Pasini G, Cinelli A, Salvetti M, Porteri E, Bettoni G, Kreutz R (1995). Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and artery wall thickness in a general population. The Vobarno Study. *Circulation* 91 (11) : 2721-2724.
- [61] Castellano M, Glorioso N, Cusi D, Sarzani R, Fabris B, Opocher G, Zoccali R, Golin R, Veglio F, Volpe M, Mantero F, Fallo F, Rossi GP, Barlassina C, Tizzoni L, Filigheddu F, Giacche M, Rossi F (2003). Genetic polymorphism of the renin-angiotensin-aldosterone system and arterial hypertension in the Italian population: the GENIPER Project. *J. Hypertens.* 21 (10): 1853-1860.

- [62] Di Pasquale P, Cannizzaro S, Scalzo S, Giubilato A, Maringhini G, Giambanco F, Sarullo F, Tarsia G, Giammanco M, Gaspare P, Paterna S (2004) Relationship between ACE-DD polymorphism and diastolic performance in healthy subjects. *Scand. Cardiovasc. J.* 38 (2): 93-97.
- [63] Kawamoto R, Kohara K, Tabara Y, Miki T (2002) An interaction between systolic blood pressure and angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on caroti atherosclerosis. *Hypertens. Res.* 25 (6): 875-880.
- [64] Karlson P, Gerok W, Groß W : *Pathobiochemie. 2. Auflage* G.Thieme-Verlag, Stuttgart, 1982, S. 54-56, 298-299, 350-355.
- [65] Karlson P. : *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 13. Auflage* G.Thieme-Verlag, Stuttgart, 1988, S. 293-296, 324-326, 369-371, 395.
- [66] Scheider WJ, Kovanen PT, Brown MS, Goldstein JL, Utermann G, Weber W, Havel RJ, Kotite L, Kane JP (1981) Familial dysbetalipoproteinemia: abnormal binding of mutant apoprotein E to low density lipoprotein receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal of rats, rabbits and cows. *J. Clin. Invest.* 68: 1075-1085.
- [67] Weisgraber KH, Rall Jr. SU, Mahley RW (1981) Human E apoprotein heterogeneity: cystein-arginin interchanges in the amino acid sequence of the apo E isoforms. *J. Biol. Chem.* 256: 9077-9083.
- [68] Höppner, Jens (2000) *Der LDL-Rezeptor und das LDL-Rezeptor Related Protein als Recyclingrezeptoren für triglyceridreiche Lipoproteine. Dissertation; Universität Hamburg, Fachbereich Medizin*
- [69] Corbo RM, Scacchi R, Mureddu L, Mulas G, Castrechini S, Rivasi AP (1999) Apolipoprotein B, apolipoprotein E and angiotensin-converting enzyme polymorphisms in 2 Italian populations at different risk for coronary artery disease and comparison of allele frequencies among European populations. *Hum. Biol.* 71 (6): 933-945.
- [70] Schultz S, Birkenmeier G, Schagdarsurengin U, Wenzel K, Müller-Werdan U, Rehfeld D, Suss T, Kabisch A, Werdan K, Gläser C (2003) Role of LDL receptor-related protein (LRP) in coronary atherosclerosis. *Int.J. Cardiol.* 92 (2-3): 137-144.
- [71] Mustafina OE, Shagisultanova EI, Tuktarova IA, Khusnutdinova EK (2002) Polymorphism of the apolipoprotein E gene and the risk of myocardial infarction. *Mol. Biol. (Mosk)* 36 (6): 978-984.
- [72] Gonzales P, Alvarez R, Regnero JR, Batalla A, Alvarez V, Cortina A, Cubero G, Garcia-Castro M (2002) Variation in the lipoprotein receptor-related protein, alpha 2-macroglobulin and lipoprotein receptor-associated protein genes in relation to plasma lipid levels and risk of early myocardial infarction. *Coron.Artery Dis.* 13(5): 251-254.

- [73] Narita M, Holtzmann DM, Fagan AM, La Du MJ, Yu L, Han X, Gross RW, Bu G, Schwartz AL (2002) Cellular catabolism of lipid poor apolipoprotein E via cell surface LDL receptor-related protein. *J. Biochem. (Tokyo)* 132 (5): 743-749.
- [74] Patel M, Morrow J, Maxfield FR, Strichland DK, Greenberg S, Tabas I (2003) The cytoplasmatic domain of the low density lipoprotein (LDL) receptor-related protein, but not that of the LDL receptor, trigger phagocytosis. *J. Biol. Chem.* 278 (45): 44799-4807.
- [75] Laatsch, Alexander (2005) Die Rolle des low density lipoprotein receptor-related protein 1 im humanen Lipidstoffwechsel. Dissertation. Department Biologie der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Universität Hamburg
- [76] Biedermann, Dr. Barbara (2003) LRP= CD91= HSPgp96-Rezeptor= ApoE-Rezeptor=  $\alpha$ 2-Makroglobulin- Rezeptor: Überraschende Klarheit trotz Namensalat. *Schweiz Med Forum* Nr.28: 675.
- [77] Bullido MJ, Gullar-Castillon P, Artiga MJ, Ramos MC, Sastre I, Aldudo J, Frank A, Coria F, Rodriguez-Artalejo F, Valdivieso F (2000). Alzheimer's risk associated with human apolipoprotein E, alpha-2 macroglobulin and lipoprotein receptor related protein polymorphisms: absence of genetic interactions, and modulation by gender. *Neurosci. Lett.* 289 (3): 213-216.
- [78] Verpillat P, Bouley S, Campion D, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Agid Y, Brice A, Clerget-Darpoux F (2001) Use of haplotype information to test involvement of the LRP gene in Alzheimer's disease in the French population. *Eur. J. Hum. Genet.* 9 (6): 464-468.
- [79] Schultz S, Schagdarsurengin U, Greiser P, Birkenmeier G, Müller-Werdan U, Hagemann M, Riemann D, Werdan K, Gläser C (2002) The LDL receptor-related protein (LRP1/A2MR) and coronary atherosclerosis – novel genomic variants and functional consequences. *Hum. Mutat.* 20 (5): 404.
- [80] Zuliani G, Hobbs HH (1994) Tetranucleotide length polymorphism 5' of the alpha 2-macroglobulin receptor (A2MR) / LDL receptor-related protein (LRP) gene. *Hum. Mol. Genet.* 3 (1): 215.
- [81] Keitel, Wolf-Dieter: *Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie*, 6. Auflage, G.-Thieme-Verlag Stuttgart 1985, S.318-321.
- [82] Bertina RM, Koelman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH (1994) Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 369 (6475): 14-15.
- [83] Kalafatis M, Bertina RM, Rand MD, Mann KG (1995) Characterisation of the molecular defect in Factor V. *Am. Society for Biochem. and Mol. Biol.* 270 (8) : 4053-4057.

- [84] Carine JM., Doggen MSc, Volkert Manger Cats MD, Bertina RM, Frits R, Rosendal MD (1998) Interaction of coagulation defekts and cardiovascular risk factors. *Circulation* 97 : 1037-1041.
- [85] Vestweber D. (2000) Molecular mechanisms that control endothelial cell contacts. *J. Pathol.* 190 (3): 281-291.
- [86] Vestweber D, Blanks JE (1999) Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol. Rev.* 79 (1): 181-213.
- [87] Collins T, Williams A, Johnston G, Kim., Eddy R, Shows T, Gimbrone Jr. MA, Bevilacqua MP (1991) Structure and chromosomal location of the gene for endothelial-leukocyte adhesion molecule 1. *J. Biol. Chem.* 266 (4): 2466-2473.
- [88] Wenzel K, Felix S, Kleber FX, Brachold R, Menke T, Schattke S, Gläser C, Rohde C, Baumann G (1994) E-Selektin polymorphism and atherosklerosis: an association study. *Hum. Mol. Genet.* 3 (11): 1935-1937.
- [89] Kaziro Y, Itho H, Kozasa T, Nakafuku M, Satho TM (1991) Structure and function of signal-transducing GTP-binding proteins. *Annu.Rev. Biochem.* 60 : 349-400.
- [90] Radhika V, Dhanasekaran N (2001) Transforming G protein. *Oncogene* 20 (13): 1607-1614.
- [91] Simon MI, Strathmann MP, Gautam N (1993) Diversyty of G protein in signal transduction. *Science* 252: 802-808.
- [92] Tkachuk VA, Avakian AE (2003) Molecular mechanisms of G-protein coupling with membran receptors and messenger systems. *ISSN : 0869-8139*: 1478-1490.
- [93] Siffert W, Roskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann H.-E, Jakobs KH, Horsthemke B (1998) Association of human G-protein  $\beta 3$  subunite variant with hypertension. *Nat. genetics* 18: 45-48.
- [94] Schunkert H, Hense HW, Döring A, Riegger GAJ, Siffert W (1998) Association between a Polymorphism in the G-Protein  $\beta 3$  Subunit Gene and Lower Renin and Elevated Diastolic Blood Pressure Levels. *Hypertension* 32: 510-513.
- [95] Ushio-Fukai M, Zafari A.M, Fukui T, Ishizakal N, Griendling KK (1996) P 22 phox is a critical component of the superoxid-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells. *American Society for Biochem. and Biology* 221 (38): 23317-23321.
- [96] de Boer M, de Klein A, Hossle JP, Seger R, Corbeel L, Weening RS, Roos D (1992) Cytochrome b (558)- negative, autosomal recessive chronic granulomatosus disease: two new mutations in the cytochrome b (558) light chain of the NADPH oxidase (p 22- phox). *Am. J. Hum. Genet.* 51: 1127-1135.

- [97] Parkos CA, Dinauer MC, Walker LW, Allen RA, Jesaitis AJ, Orkin SH (1988) Primary structure and unique expression of the 22-kilodalton light chain of human neutrophil cytochrome b. *Biochemistry* 85 : 3319-3323.
- [98] Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M (1998) Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 97: 135-137.
- [99] Cahilly C, Ballantyne C.M, Do-Sun Lim, Gotto A, Marian AJ (2000) A variant of p 22 phox, involved in generation of reactive oxygen species in the vessel wall, is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Circulation Research* 86: 391.
- [100] Sambrook j., Fritsch EF, Maniatis T: *Molekular cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor, Cold Spring Laboratory Press, New York, 1989
- [101] Lahoz C, Schaefer EJ, Cupples LA, Wilson PW, LevY D, Osgood D, Parpos S, Pedro-Botet J, Daly JA, Ordovas JM (2001) Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 154 (3): 529-537.
- [102] Ou T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T, Amemiya H, Fujiwara H, Kawata K, Saito M, Kikuchi S, Noguchi Y, Sugidhita Y, Hamaguchi H (1998) Methylenetetrahydrofolate reductase and apolipoprotein E polymorphisms are independent risk factors for coronary heart disease in Japanese: a case-control study. *Artherosclerosis* 137 (1): 23-28.
- [103] Schwanke CH, da Cruz IB, Leal NF, Scheibe R, Moriguchi Y, Moriguchi EH (2002) Analysis of the association between apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular risk factor in an elderly population with longevity. *Arq. Bras. Cardiol.* 78 (6): 561-579.
- [104] Harris MR, Burkner CH, Hamman RF, Sanghera DK, Aston CE, Kamboh MI (1998) Radical differences in the distribution of a low density lipoprotein receptor-related protein (LRP) polymorphism and its association with serum lipoprotein, lipid and apolipoprotein levels. *Atherosclerosis* 137 (1): 187-195.
- [105] Hatanaka Y, Kamino K, Fukuo K, Mitsuda N, Nishiwaki-Ueda Y, Sato N, Satho T, Yamamoto H, Yoneda H, Imagawa M, Miki T, Ohta S, Ogihara T (2000) Low density lipoprotein receptor-related protein gene polymorphisms and risk for late-onset Alzheimer`s disease in a Japanese population. *Clin. Genet.* 58 (4): 319-323.
- [106] Wenzel K, Stahn R, Speer A, Denner K, Gläser C, Affeldt K, Moobed M, Scheer A, Baumann G, Felix SB (1999) Functional Characterization of Atherosclerosis-Associated Ser128Arg and Leu554Phe E-Selektin Mutations. *Biol. Chem.* 380: 661-667.
- [107] Li A, Prasad A, Mincemoyer R, Satorius C, Epstein N, Finkel T, Quyyumi AA (1999) Relationship of the C242T p 22-phox gene polymorphism to angiographic coronary artery disease and endothelial function. *Am. J. Med. Genet.* 86: 57-61.

- [108] Cong ND, Hamaguchi K, Saikawa T, Hara M, Sakata T (1998) A polymorphism of angiotensinogen gene codon 174 and coronary artery disease in Japanese subjects. *Am. J. Med. Sci.* 316 (5): 339-344.
- [109] Chistiakov DA, Turakulov RI, Moiseev VS, Nosikov VV (1999) Polymorphism of angiotensinogen T174M gene and cardiovascular disease in the Moscow population. *Genetika* 35 (8): 1160-1164.
- [110] Hegele RA, Brunt JH, Connelly PW (1994) A polymorphism of the angiotensinogen gene associated with variation in blood pressure in a genetic isolate. *Circulation* 90 (5): 2207-2212.
- [111] Martinez E, Puras A, Escibano J, Sanchis C, Carrion L, Artigao M, Divison JA, Masso J, Fernandez JA (2002) Threonines at position 174 and 235 of the angiotensinogen polypeptide chain are related to familial history of hypertension in a Spanish-Mediterranean population. *Br. J. Biomed. Sci.* 59 (2): 95-100.
- [112] Shabalin AV, Maksimov VN, Dolgikh MM, Kulikov IV, Pentegova VA, Shakhtshneider EV, Ustinov SN, Ivanova MV, Kobzev VF, Romashchenko AG (2003) Polymorphism of the gene angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein E gene in long-livers of Novosibirsk city. *Adv. Gerontol.* 12: 77-81.
- [113] Wang JG, Liu L, Zagato L, Xie J, Fagard R, Jin K, Wang J, Li Y, Bianchi G, Staessen JA, Liu L (2004) Blood pressure in relation to three candidate genes in a Chinese population. *Hypertension* 22 (5): 937-944.
- [114] Vargas-Alarcon G, Hernandez-Pacheco G, Rodriguez-Perez JM, Perez-Hernandez N, Pavon Z, Fragoso JM, Juarez-Cedillo T, Villarreal-Garza C, Granados J (2003) Angiotensin-converting enzyme gene (ACE) insertion/deletion polymorphism in Mexican populations. *Hum. Biol.* 75 (6): 889-896.
- [115] Hessner MD, Dinauer DM, Kwiatkowski R, Neri B, Raife TJ (2001) Age-dependent prevalence of vascular disease-associated polymorphisms among 2689 volunteer blood donors. *Clin. Chem.* 47 (10) : 1879-1884.
- [116] Chun S, Min WK, Kim, Park H, Jang S, Yang SE, Kim JQ (2001) Apolipoprotein E polymorphism and serum lipoprotein (a) concentrations in a Korean male population. *Ann. Clin. Biochem.* 38 (Pt 2): 129-134.
- [117] Ilveskoski E, Perola M, Lehtimaki T, Laippala P, Savolainen V, Pajarinen J, Penttila A, Lalu KH, Mannikko A, Liesto KK, Koivula T, Karhunen PJ (1999) Age-dependent association of apolipoprotein E genotyp with coronary and aortic atherosclerosis in middle-aged men: an autopsy study. *Circulation* 100 (6): 608-613.
- [118] Kataoka S, Robbins DC, Cowan LD, Go O, Yeh JL, Devereux RB, Fabsitz RR, Lee ET, Welty TK, Howard BV (1996) Apolipoprotein E polymorphism in American Indians and its relation to plasma lipoproteins and diabetes. The Strong Heart Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 16 (8): 918-925.

- [119] Lethinen S, Lethimaki T, Sisto T, Salenius JP, Nikkila M, Jokela H, Koivula T, Ebeling F, Ehnholm C (1995) Apolipoprotein E polymorphism, serum lipids, myocardial infarction and severity of angiographically verified coronary artery disease in men and woman. *Artherosclerosis* 114 (1): 83-91.
- [120] Newman MF, Laskowitz DT, White WD, Kirchner JK, Grocott HP, Stafford-Smith M, Sketch MH, Jones RH, Reves JG, Saunders AM (2001) Apolipoprotein E polymorphisms and age at first coronary artery bypass graft. *Anesth. Analg.* 92 (4): 824-829.
- [121] Sorli JV, Velert R, Guillen M, Portoles O, Ramirez JV, Iborra J, Corella D (2002) Effects of the apolipoprotein E polymorphism on plasma lipid levels and cardiovascular disease risk in a Mediterranean population. *Med. Clin. (Barc)* 118 (15): 569-574.
- [122] Benes P, Muzik J, Benedik J, Frelich M, Elbl L, Vasca A, Znojil V, Vacha J (2000) Single effects of apolipoprotein B, (a), and E polymorphisms and interaction between plasminogen activator inhibitor-1 and apolipoprotein (a) genotypes and the risk of coronary artery disease in Czech male caucasians. *Mol. Genet. Metab.* 69 (2): 137-143.
- [123] Kolovou G, Yiannakouris N, Hatzivassiliou M, Malakos J, Daskalova D, Hatzigeorgiou G, Cariolou MA, Cokkinos DV (2002) Association of apolipoprotein E polymorphism with myocardial infarction in Greek patients with coronary artery disease. *Curr. Med. Res. Opin.* 18 (3): 118-124.
- [124] Luthra K, Bharghav B, Chabbra S, Das N, Misra A, Agarwal DP, Pandey RM, Srivastava LM (2002) Apolipoprotein E polymorphism in Northern Indian patients with coronary heart disease: phenotype distribution and relation to serum lipids and lipoproteins. *Mol. Cell Biochem.* 232 (1-2): 97-102.
- [125] Petrovic D, Zorc M, Peterlin B (2000) Effect of apolipoprotein E polymorphism and apolipoprotein A-1 gene promotor polymorphism on lipid parameters and premature coronary artery disease. *Folia Biol. (Krakow)* 46 (5): 181-185.
- [126] Scaglione L, Bergerone S, Gambino R, Imazio M, Macchia G, Cravetto A, Gaschino G, Baralis G, Rosettani E, Pagano G, Cassader M (1999): Role of lipid, apolipoprotein levels and apolipoprotein E genotype in younger Italian patients with myocardial infarction. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 9 (3): 118-124.
- [127] Thelma BK, Juyal RC, Dodge HH, Pandav R, Chandra V, Ganguli M (2001) APOE polymorphism in a rural older population-based sample in India. *Hum. Biol.* 73 (1): 135-144.
- [128] Gamboa R, Hernandez-Pacheco G, Hesiquio R, Zuniga J, Masso F, Montano LF, Ramos-Kuri M, Estrada J, Granados J, Vargas-Alarcon G (2000) Apolipoprotein E polymorphism in Indian and Mestizo population of Mexico. *Hum. Biol.* 72 (6): 975-981.
- [129] Lambert JC, Chartier-Harlin MC, Cottel D, Richard F, Neuman E, Guez D, Legrain S, Berr C, Amouvel P, Helbecque N (1999) Is the LDL receptor-related protein involved in Alzheimer's disease ? *Neurogenetics* 2 (2): 109-113.

- [130] Gläser C, Schulz S, Handschug K, Huse K, Birkenmeier G (2004) Genetic and functional characteristics of the human in vivo LRP1/A2MR receptor suggested a risk marker for Alzheimer`s disease and other complex (degenerative) diseases. *Neuroscience Research* 50: 85-101.
- [131] Makris TK, Krespi PG, Hatzizacharias AN, Gialeraki AE, Anastasiadis G, Triposkiadis FK, Mandalaki T, Kyriakidis MK (2000) Resistance to activated protein C and FV leiden mutation in patients with a history of acute myocardial infarction or primary hypertension. *Am. J. Hypertens.* 13 (1): 61-65.
- [132] Pongracz E, Tordai A, Csornai M, Bela Z, Nagy Z (2003) Significance of Factor V gene A5056G mutation (Leiden) in the pathogenesis of ischemic stroke. *Ideggyogy Sz.* 56 (5-6): 157-164.
- [133] Gupta N, Khan F, Tripathi M, Singh VP, Tewari S, Ramesh V, Sinah , Agrawal S (2003) Absence of factor V (G1691) mutation, F II G20210A allele in coronary artery disease in North India. *Indian J. Med. Sci.* 57 (12): 535-542.
- [134] Sartori M, Semplicini A, Siffert W, Mormino P, Mazzer A, Pegoraro F, Mos L, Winnicki M, Palatini P (2003) G-Protein beta3-subunit gene 825T allele and hypertension: a longitudinal study in young grade I hypertensives. *Hypertension* 42 (5): 909-914.
- [135] Sartori M, Parotto E, Ceolotto G, Papparella I, Lenzini L, Calo LA, Semplicini A (2004) C825T polymorphism of GNB3 gene codifying the G-protein beta3-subunit and cardiovascular risk. *Ann. Ital. Med.Int.* 19 (4): 240-248.
- [136] Norihito K, Sugiyama T, Morita H, Kurihara H, Yamori Y, Yazaki Y (1998) G protein  $\beta$ 3 Subunit and Essential Hypertension in Japanese. *Hypertension* 32: 935-938.
- [137] Olszenecka A, Kawecka-Jaszcz K, Kuznetsova T, Stolarz K, Brand E, Ryabikov A, Herrmann SM, Nikitin Y, Staessen JA, European Project Genes in Hypertension (EPOGH) Investigators (2003) Ambulatory blood pressure and left ventricular structure and function in relation to G-protein beta 3-subunit polymorphism C825T in White Europeans. *J. Hum. Hypertens.* 17 (5): 325-332.
- [138] Snapir A, Heinonen P, Tuomainen TP, Lakka TA, Kauhanen J, Salonen JT, Scheinin M (2001) G-protein beta3 subunit C825T polymorphism: no association with risk for hypertension and obesity. *J. Hypertens.* 19 (12): 2149-2155.
- [139] Suwazono Y, Okubo Y, Kobayashi E, Miura K, Morikawa Y, Ishizake, Kido T, Nakagawa H, Nogawa K (2004) Lack of association of human G-protein beta 3 subunit variant with hypertension in Japanese workers. *J. Hypertens.* 22 (3): 493-500.
- [140] Brand E, Herrmann SM, Nicaud V, Ruidavets JB, Evans A, Arveiler D, Luc G, Plouin PF, Tiret L, Cambien F (1999) The 825C/T polymorphism of the G-protein subunit beta3 is not related to Hypertension. *Hypertension* 33 (5): 1175-1178.

- [141] Huang X, Ju Z, Song Y, Zhang H, Sun K, Yang Z, Jose PA, Zhou G, Wang M, Wang W, Feng S, Hui R (2003) Lack of association between the G protein beta 3 subunit gene and essential hypertension in Chinese: a case-control and a family-based study. *J. Mol. Med.* 81 (11): 729-735.
- [142] Wang X, Wang S, Lin R, Jiang X, Cheng Z, Turdi J, Ding J, Wu G, Wen H (2004) GNB3 gene C825T and ACE gene I/D polymorphisms in essential hypertension in a Kazakh genetic isolate. *J. Hum. Hypertens.* 18(9): 663-668.
- [143] Izawa H, Yamada Y, Okada T, Tananaka M, Hirayama H, Murohara, Yokota M (2004) Prediction of genetic risk for hypertension. *J. Cardiol.* 43 (2): 92-93.
- [144] Tozawa Y (2001) G protein beta3 subunit variant: tendency of increasing susceptibility to hypertension in Japanese. *Blood Press.* 10 (3): 131-134.
- [145] Yamamoto M, Abe M, Jin JJ, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J (2004) Association of GNB 3 gene with pulse pressure and clustering of risk factors for cardiovascular disease in Japanese. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 316 (3): 744-748.
- [146] Gardemann A, Mages P, Katz N, Tillmanns H, Haberbosch W (1999) The p22phox A640G gene polymorphism but not the C242 gene variation is associated with coronary heart disease in younger individuals. *Atherosclerosis* 145 (2): 315-323.
- [147] Saha N, Sanghera DK, Kamboh MI (1999) The p22phox polymorphism C242T is not associated with CHD risk in Asian Indians and Chinese. *Eu. J. Clin. Invest.* 29 (12): 999-1002.
- [148] Nasti S, Balbi M, Fabbi P, Altieri P, Manca V, Garibaldi S, Olivotti L, Bacino L, Casalino L, Ghigliotti G, Barsotti A, Brunelli C (2002) CYBA polymorphism associated with oxidative stress in Italian patients with early onset of coronary artery disease. *Ital.Heart J.* 3 (4): 52-54.
- [149] Drummond RS, Brosnan MJ, Lee WK, Kirk A, Pathi V, Hamilton CA, Dominiczak AF (2003) A single nucleotide polymorphism in the p22phox gene affects arterial compliance. *Endocrine Abstracts* 5 OC14
- [150] Schneider M, Ludwig M, Huang Y, Krekler M, Stumpe K, Schmieder R (2004) The C242T p22phox Genotype is associated with Intima Media Thickness. Meeting Abstract Hypertonie 2003. *Ger.Med.Science. Doc* 03hochP55
- [151] Nordwig, Antje (2003) Untersuchungen zum Stellenwert von polymorphen genetischen Markern bei der arteriellen Hypertonie. Dissertation. Martin-Luther-Universität Halle
- [152] Weidhase, Lorenz Arndt (2002) Untersuchungen zum Stellenwert von polymorphen genetischen Markern bei koronarer Atherosklerose unter Berücksichtigung einer Restenose nach PTCA. Dissertation. Martin-Luther-Universität Halle
- [153] Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner M, Clark AJ (1994) Linkage of the angiotensinogen gene to essential Hypertension. *N. engl. J. Med.* 330 (23): 1629-1633.

- [154] Niu T, Chen X, Xu X (2002) Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion poly-morphism and cardiovascular disease: therapeutic implication. *Drugs* 62 (7): 977-993.
- [155] Niu T, Xu X, Rogus J, Zhou Y, Chen C, Yang J, Fang Z, Schmitz C, Zhao J, Rao VS, Lindpaintner K (1998) Angiotensinogen Gene and Hypertension in Chinese. *J. Clin. Invest.* 101 (1): 188-194.
- [156] Wang JH, Lin CM, Wang LS, Lai NS, Chen DY, Cherng JM (2002) Association between molecular variants of the angiotensinogen gene and hypertension in Amis tribes of eastern Taiwan. *J. Formos. Med. Assoc.* 101 (3): 183-188.
- [157] Vasku A, Soucek M, Tschoplova S, Stejskalova A (2002) An association of BMI with A(-6), M235T and T174M polymorphism in angiotensinogen gene in essential hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 16 (6): 427-430.
- [158] Muna WF (1993) Cardiovascular disorders in Africa. *World Health Stat. Q.*, 46 (2): 125-133.

Tabelle: 1 Zusammenfassung der Definitionen, Methoden und Materialien der untersuchten Polymorphismen (Teil 1)

Name des Genes	ACE	APOE	LRP1	
<b>Chromosom</b>	17q23.3	19q13.2	12q13-q14	
<b>Polymorphismus</b>  (Datenbank)	ACE- I/D - PM  (X 62855)	APOE- C112R - PM (rs 429358)  APOE - R158C-PM ( rs 7412)	LRP1 - Tetranucleotid - PM (rs 55727814)	LRP1 - Promotor -PM  (y 18524)
<b>Autor / Jahr</b>	Rigat et al.  1990	Handschug (modifiziert nach Hixon und Vernier) 1998	Zulani und Hobbs  1994	Schulz et al.  2002
<b>Datenbank OMIM</b>	+106180	+107741	+107770	+107770
<b>Gen</b>	ENSG 00000159640	ENSG 00000130203	ENSG 00000123384	ENSG 00000123384
<b>Transkript</b>	ENST 00000290866	ENST 00000252486	ENST 00000243077	ENST 00000243077
<b>Methode Primer</b>				
forward (5' → 3')	CTGGAGAGCCACTCCCATCCTTCT	ATGGACGAGACCATGAAGGAGTTG	TGGGCAACAAGAGTGCAACTCCATC	GGGCAGCGCGTCAAATCGGC
reverse (5' → 3')	GACGTGGCCATCACATTTCGTGAGA	CCCGCCTGGTACAC	TGTCTGTAAGGTGAGAGAATGCATA	CTCCCCTTGTTCCGCCTCCTCAG
<b>Methode / Enzym</b>	Fragmentlängenanalyse	RLFP / Hha I	Fragmentlängenanalyse	SSCP / Sequenzierung
<b>Annealing / Zyklen</b>	60°C / 30 Zyklen	60°C / 30 Zyklen	60°C / 30 Zyklen	64°C / 35 Zyklen
<b>Gel Visualisierung</b>	Agarose 2% Ethidiumbromid	PAA 10% Silberfärbung	PAA 10% Silberfärbung	PAA 10% Silberfärbung

\* Stand 4/10

Tabelle: 1 Zusammenfassung der Definitionen, Methoden und Materialien der untersuchten Polymorphismen (Teil 2)

Name des Genes	F5	SELE	GNB3	AGT	CYBA
<b>Chromosom</b>	1q23	1q24.2	12q13.31	1q42-q43	16q24.3
<b>Polymorphismus</b>  (Datenbank)	Leiden-Mutation  (rs 6025)	Ser128Arg - PM des E-Selektin  (rs 5361)	C825T - PM der $\beta$ - Untereinheit des G- Protein (rs 5443)	T174M - PM des Angiotensinogen  (rs 4762)	p22phox - C242T - PM  (rs 4673)
<b>Autor / Jahr</b>	Bertina et al. 1994	Wenzel et al. 1994	Siffert et al. 1998	Jeunemaitre et al. 1992	Pakos et al. 1988
<b>Datenbank OMIM</b>	+612309	+131210	+139130	+106150	+608508
<b>Gen</b>	ENSG 00000198734	ENSG 00000007908	ENSG 00000111664	ENSG 00000135744	ENSG 00000051523
<b>Transkript</b>	ENST 00000367797	ENST 00000333360	ENST 00000229264	ENST 00000366667	ENST 00000261623
<b>Methode Primer</b>					
forward (5' → 3')	TGCCCAGTGCTTAACAAGAC	AGTAATAGTCCTCCTCATCAT	TCTGCACGGGCTCGGATGAC	TCGCTGCAAACCTTGACACC	GTGCAGCTGTGACTCATGGG
reverse (5' → 3')	ATGCCCCATTATTAGCCAG	ACCATCTCAAGTGAAGAAAGA	TGGCCCTTACCCACACGCTCAGACTT	GAGCAGCCAGCTTCCATCC	CAGAGCCAGGGACCCGAATT
<b>Methode / Enzym</b>	RFLP / Mnl I	RLFP / Pst I	RLFP / Bsa J I	RFLP / Nco I	RLFP / Rsa I
<b>Annealing / Zyklen</b>	52°C / 26 Zyklen	47°C / 32 Zyklen	62°C / 30 Zyklen	53°C / 32 Zyklen	52°C / 35 Zyklen
<b>Gel Visualisierung</b>	Agarose 2% Ethidiumbromid	Agarose 2% Ethidiumbromid	Agarose 2% Ethidiumbromid	Agarose 2% Ethidiumbromid	Agarose 2% Ethidiumbromid

Stand 4/10

Tabelle 3: Auswertung der statistischen Daten des Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE

Erbgang	Typ	dominant				codominant				rezessiv				Allelfrequenz						
		DD+ID	II		Chi-Test nach Pearson	DD	ID		II	Chi-Test nach Pearson	DD	ID+II		Chi-Test nach Pearson	Insertion	Deletion				
	Probandenanzahl	n=	n=	n=	n=	n=	n=	n=	n=	n=	n=	n=	n=	p=						
<b>Risikoaltersgruppen</b>																				
<41	203	157	77,3%	46	22,7%	60	29,6%	97	47,8%	46	22,7%	60	29,6%	143	70,4%	0,466	0,534			
41-45	52	42	80,8%	10	19,2%	25	48,1%	17	32,7%	10	19,2%	25	48,1%	27	51,9%	0,355	0,645			
46-50	85	67	78,8%	18	21,2%	29	34,1%	38	44,7%	18	21,2%	29	34,1%	56	65,9%	0,435	0,565			
51-55	43	34	79,1%	9	20,9%	10	23,3%	24	55,8%	9	20,9%	10	23,3%	33	76,7%	0,488	0,512			
>55	57	47	82,5%	10	17,5%	23	40,4%	24	42,1%	10	17,5%	23	40,4%	34	59,6%	0,385	0,615			
gesamt	440	347	78,9%	93	21,1%	147	33,4%	200	45,5%	93	21,1%	147	33,4%	293	66,6%	0,438	0,562			
<b>Altersdekaden</b>																				
18-29	66	44	66,7%	22	33,3%	18	27,3%	26	39,4%	22	33,3%	18	27,3%	48	72,7%	0,530	0,470			
30-39	128	105	82,0%	23	18,0%	38	29,7%	67	52,3%	23	18,0%	38	29,7%	90	70,3%	0,442	0,558			
40-49	137	110	80,3%	27	19,7%	55	40,1%	55	40,1%	27	19,7%	55	40,1%	82	59,9%	0,397	0,603			
50-59	80	65	81,3%	15	18,8%	26	32,5%	39	48,8%	15	18,8%	26	32,5%	54	67,5%	0,432	0,568			
60-70	29	23	79,3%	6	20,7%	10	34,5%	13	44,8%	6	20,7%	10	34,5%	19	65,5%	0,431	0,569			
gesamt	440	347	78,9%	93	21,1%	147	33,4%	200	45,5%	93	21,1%	147	33,4%	293	66,6%	0,438	0,562			
<b>Altersgrenzen</b>																				
18-40	203	157	77,3%	46	22,7%	0,484	60	29,6%	97	47,8%	46	22,7%	0,281	60	29,6%	143	70,4%	0,113	0,466	0,534
18-45	255	199	78,0%	56	22,0%	0,638	85	33,3%	114	44,7%	56	22,0%	0,873	85	33,3%	170	66,7%	0,968	0,444	0,556
18-50	340	266	78,2%	74	21,8%	0,552	114	33,5%	152	44,7%	74	21,5%	0,790	114	33,5%	226	66,5%	0,921	0,438	0,562
18-55	382	300	78,5%	82	21,5%	0,662	124	32,5%	176	46,1%	82	21,5%	0,556	124	32,5%	258	67,5%	0,279	0,446	0,554
gesamt	440	347	78,9%	93	21,1%		147	33,4%	200	45,5%	93	21,1%		147	33,4%	293	66,6%		0,438	0,562
<b>Geschlecht</b>																				
männlich	269	207	77,0%	62	23,0%		82	30,5%	125	46,5%	62	23,0%		82	30,5%	187	69,5%		0,463	0,537
weiblich	171	140	81,9%	31	18,1%	0,218	65	38,0%	75	43,9%	31	18,1%	0,209	65	38,0%	106	62,0%	0,103	0,399	0,601
gesamt	440	347	78,9%	93	21,1%		147	33,4%	200	45,5%	93	21,1%		147	33,4%	293	66,6%		0,438	0,562

Tabelle 5: Auswertung der statistischen Daten des 5`Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP

Erbgang	Typ	dominant				codominant				rezessiv				Allelfrequenz			
		87/87+91/87		91/91		91/91		91/87		87/87		87/87		91/87+91/91		87	91
	Probandenanzahl	n=	n=	Chi-Test nach Pearson	n=	n=	n=	n=	n=	Chi-Test nach Pearson	n=	n=	Chi-Test nach Pearson				
<b>Risikoaltersgruppen</b>																	
<41	191	124	64,9%	67	35,1%	67	35,1%	98	51,3%	26	13,6%	26	13,6%	165	86,4%	0,393	0,607
41-45	50	37	74,0%	13	26,0%	13	26,0%	25	50,0%	12	24,0%	12	24,0%	38	76,0%	0,490	0,510
46-50	84	56	66,7%	28	33,3%	28	33,3%	40	47,6%	16	19,0%	16	19,0%	68	81,0%	0,428	0,572
51-55	43	26	60,5%	17	39,5%	17	39,5%	19	44,2%	7	16,3%	7	16,3%	36	83,7%	0,376	0,624
>55	58	35	60,3%	23	39,7%	23	39,7%	26	44,8%	9	15,5%	9	15,5%	49	84,5%	0,379	0,621
gesamt	426	278	65,3%	148	34,7%	148	34,7%	208	48,8%	70	16,4%	70	16,4%	356	83,6%	0,408	0,592
<b>Altersdekaden</b>																	
18-29	65	46	70,8%	19	29,2%	19	29,2%	38	58,5%	8	12,3%	8	12,3%	57	87,7%	0,415	0,585
30-39	117	73	62,4%	44	37,6%	44	37,6%	58	49,6%	15	12,8%	15	12,8%	102	87,2%	0,376	0,624
40-49	134	94	70,1%	40	29,9%	40	29,9%	65	48,5%	29	21,6%	29	21,6%	105	78,4%	0,459	0,541
50-59	81	47	58,0%	34	42,0%	34	42,0%	34	42,0%	13	16,0%	13	16,0%	68	84,0%	0,370	0,630
60-70	29	18	62,1%	11	37,9%	11	37,9%	13	44,8%	5	17,2%	5	17,2%	24	82,8%	0,396	0,604
gesamt	426	278	65,3%	148	34,7%	148	34,7%	208	48,8%	70	16,4%	70	16,4%	356	83,6%	0,408	0,592
<b>Altersgrenzen</b>																	
18-40	191	124	64,9%	67	35,1%	67	35,1%	98	51,3%	26	13,6%	26	13,6%	165	86,4%	0,157	0,392
18-45	241	161	66,8%	80	33,2%	80	33,2%	123	51,0%	38	15,8%	38	15,8%	203	84,2%	0,673	0,413
18-50	325	217	66,8%	108	33,2%	108	33,2%	163	50,2%	54	16,6%	54	16,6%	271	83,4%	0,855	0,417
18-55	367	243	66,2%	124	33,8%	124	33,8%	182	49,6%	61	16,6%	61	16,6%	306	83,4%	0,793	0,414
gesamt	426	278	65,3%	148	34,7%	148	34,7%	208	48,8%	70	16,4%	70	16,4%	356	83,6%	0,408	0,592
<b>Geschlecht</b>																	
männlich	261	179	68,6%	82	31,4%	82	31,4%	125	47,9%	54	20,7%	54	20,7%	207	79,3%	0,446	0,554
weiblich	165	99	60,0%	66	40,0%	66	40,0%	83	50,3%	16	9,7%	16	9,7%	149	90,3%	0,348	0,652
gesamt	426	278	65,3%	148	34,7%	148	34,7%	208	48,8%	70	16,4%	70	16,4%	356	83,6%	0,408	0,592

Tabelle 7: Darstellung der statistischen Ergebnisse des Ser128Arg-Polymorphismus des E-Selektins

Erbgang	Typ	dominant				codominant				rezessiv				Allelfrequenz					
		Probanden- anzahl	Arg/Arg+Ser/Arg		Chi-Test nach Pearson p=	Ser/Ser		Ser/Arg		Chi-Test nach Pearson p=	Arg/Arg		Chi-Test nach Pearson p=	Arg	Ser				
			n=	n=		n=	n=	n=	n=		n=	n=							
<b>Risikoaltersgruppen</b>	<41	200	35	17,5%	165	82,5%	165	82,5%	30	15,0%	5	2,5%	5	2,5%	195	97,5%	0,100	0,900	
	41-45	51	11	21,6%	40	78,4%	40	78,4%	10	19,6%	1	2,0%	1	2,0%	50	98,0%	0,118	0,882	
	46-50	85	16	18,8%	69	81,2%	69	81,2%	15	17,6%	1	1,2%	1	1,2%	84	98,8%	0,100	0,900	
	51-55	42	11	26,2%	31	73,8%	31	73,8%	11	26,2%	0	0,0%	0	0,0%	42	100,0%	0,131	0,869	
	>55	57	10	17,5%	47	82,5%	47	82,5%	10	17,5%	0	0,0%	0	0,0%	57	100,0%	0,087	0,913	
	gesamt	435	83	19,1%	352	80,9%	352	80,9%	76	17,5%	7	1,6%	7	1,6%	428	98,4%	0,104	0,896	
<b>Altersdekaden</b>	18-29	65	11	16,9%	54	83,1%	54	83,1%	7	10,8%	4	6,2%	4	6,2%	61	93,8%	0,116	0,884	
	30-39	126	22	17,5%	104	82,5%	104	82,5%	21	16,7%	1	0,8%	1	0,8%	125	99,2%	0,092	0,908	
	40-49	136	29	21,3%	107	78,7%	107	78,7%	27	19,9%	2	1,5%	2	1,5%	134	98,5%	0,115	0,885	
	50-59	79	17	21,5%	62	78,5%	62	78,5%	17	21,5%	0	0,0%	0	0,0%	79	100,0%	0,107	0,893	
	60-70	29	4	13,8%	25	86,2%	25	86,2%	4	13,8%	0	0,0%	0	0,0%	29	100,0%	0,069	0,931	
	gesamt	435	83	19,1%	352	80,9%	352	80,9%	76	17,5%	7	1,6%	7	1,6%	428	98,4%	0,104	0,896	
<b>Altersgrenzen</b>	18-40	200	35	17,5%	165	82,5%	165	82,5%	30	15,0%	5	2,5%	5	2,5%	195	97,5%	0,173	0,100	0,900
	18-45	251	46	18,3%	205	81,7%	205	81,7%	40	15,9%	6	2,4%	6	2,4%	245	97,6%	0,130	0,104	0,896
	18-50	336	62	18,5%	274	81,5%	274	81,5%	55	16,4%	7	2,1%	7	2,1%	329	97,9%	0,148	0,103	0,897
	18-55	377	72	19,1%	305	80,9%	305	80,9%	65	17,2%	7	1,9%	7	1,9%	370	98,1%	0,295	0,105	0,895
	gesamt	435	83	19,1%	352	80,9%	352	80,9%	76	17,5%	7	1,6%	7	1,6%	428	98,4%	0,104	0,896	
	<b>Geschlecht</b>	männlich	265	52	19,6%	213	80,4%	213	80,4%	49	18,5%	3	1,1%	3	1,1%	262	98,9%	0,104	0,896
weiblich		170	31	18,2%	139	81,8%	139	81,8%	27	15,9%	4	2,4%	4	2,4%	166	97,6%	0,323	0,104	0,896
gesamt		435	83	19,1%	352	80,9%	352	80,9%	76	17,5%	7	1,6%	7	1,6%	428	98,4%	0,104	0,896	

Tabelle 9: Darstellung der statistischen Ergebnisse des C825T-Polymorphismus der  $\beta$ -Untereinheit des G-Proteins

Erbgang	Typ	dominant					codominant					rezessiv				Allelfrequenz		
		Probanden- anzahl	n=	n=	Chi-Test nach Pearson p=	n=	n=	n=	Chi-Test nach Pearson p=	n=	n=	Chi-Test nach Pearson p=	c	t				
<b>Risikoaltersgruppen</b>	<41	201	97	48,3%	104	51,7%	104	51,7%	77	38,3%	20	10,0%	20	10,0%	181	90,0%	0,708	0,292
	41-45	51	21	41,2%	30	58,8%	30	58,8%	19	37,3%	2	3,9%	2	3,9%	49	96,1%	0,775	0,225
	46-50	85	36	42,4%	49	57,6%	49	57,6%	32	37,6%	4	4,7%	4	4,7%	81	95,3%	0,764	0,236
	51-55	42	19	45,2%	23	54,8%	23	54,8%	17	40,5%	2	4,8%	2	4,8%	40	95,2%	0,751	0,249
	>55	58	28	48,3%	30	51,7%	30	51,7%	26	44,8%	2	3,4%	2	3,4%	56	96,6%	0,741	0,259
	gesamt	437	201	46,0%	236	54,0%	236	54,0%	171	39,1%	30	6,9%	30	6,9%	407	93,1%	0,735	0,265
<b>Altersdekaden</b>	18-29	66	33	50,0%	33	50,0%	33	50,0%	24	36,4%	9	13,6%	9	13,6%	57	86,4%	0,682	0,318
	30-39	126	62	49,2%	64	50,8%	64	50,8%	51	40,5%	11	8,7%	11	8,7%	115	91,3%	0,711	0,289
	40-49	136	55	40,4%	81	59,6%	81	59,6%	50	36,8%	5	3,7%	5	3,7%	131	96,3%	0,780	0,220
	50-59	80	37	46,3%	43	53,8%	43	53,8%	34	42,5%	3	3,8%	3	3,8%	77	96,3%	0,751	0,249
	60-70	29	14	48,3%	15	51,7%	15	51,7%	12	41,4%	2	6,9%	2	6,9%	27	93,1%	0,724	0,276
	gesamt	437	201	46,0%	236	54,0%	236	54,0%	171	39,1%	30	6,9%	30	6,9%	407	93,1%	0,735	0,265
<b>Altersgrenzen</b>	18-40	201	97	48,3%	104	51,7%	104	51,7%	77	38,3%	20	10,0%	20	10,0%	181	90,0%	0,708	0,292
	18-45	252	118	46,8%	134	53,2%	134	53,2%	96	38,1%	22	8,7%	22	8,7%	230	91,3%	0,723	0,277
	18-50	337	154	45,7%	183	54,3%	183	54,3%	128	38,0%	26	7,7%	26	7,7%	311	92,3%	0,733	0,267
	18-55	378	173	45,8%	205	54,2%	205	54,2%	145	38,4%	28	7,4%	28	7,4%	350	92,6%	0,734	0,266
	gesamt	437	201	46,0%	236	54,0%	236	54,0%	171	39,1%	30	6,9%	30	6,9%	407	93,1%	0,735	0,265
	<b>Geschlecht</b>	männlich	266	116	43,6%	150	56,4%	150	56,4%	104	39,1%	12	4,5%	12	4,5%	254	95,5%	0,759
weiblich		171	85	49,7%	86	50,3%	86	50,3%	67	39,2%	18	10,5%	18	10,5%	153	89,5%	0,699	0,301
gesamt		437	201	46,0%	236	54,0%	236	54,0%	171	39,1%	30	6,9%	30	6,9%	407	93,1%	0,735	0,265

Tabelle 10: Darstellung der statistischen Ergebnisse des C242T-Polymorphismus des p22phox

Erbgang	Typ	dominant					codominant					rezessiv			Allelfrequenz	
		Probanden- anzahl	tt+ct	cc	Chi-Test nach Pearson p=	cc	ct	tt	Chi-Test nach Pearson p=	tt	ct+cc	Chi-Test nach Pearson p=	c	t		
<b>Risikoaltersgruppen</b>	<41	198	117 59,1%	81 40,9%	0,659	81 40,9%	91 46,0%	26 13,1%	0,728	26 13,1%	172 86,9%	0,421	0,639	0,361		
	41-45	50	25 50,0%	25 50,0%		25 50,0%	23 46,0%	2 4,0%		2 4,0%	48 96,0%		0,730	0,270		
	46-50	86	47 54,7%	39 45,3%		39 45,3%	38 44,2%	9 10,5%		9 10,5%	77 89,5%		0,674	0,326		
	51-55	41	20 48,8%	21 51,2%		21 51,2%	16 39,0%	4 9,8%		4 9,8%	37 90,2%		0,707	0,293		
	>55	57	32 56,1%	25 43,9%		25 43,9%	24 42,1%	8 14,0%		8 14,0%	49 86,0%		0,649	0,351		
	gesamt	432	241 55,8%	191 44,2%		191 44,2%	192 44,4%	49 11,3%		49 11,3%	383 88,7%		0,664	0,336		
<b>Altersdekaden</b>	18-29	66	39 59,1%	27 40,9%	0,841	27 40,9%	27 40,9%	12 18,2%	0,600	12 18,2%	54 81,8%	0,243	0,614	0,386		
	30-39	123	72 58,5%	51 41,5%		51 41,5%	58 47,2%	14 11,4%		14 11,4%	109 88,6%		0,645	0,355		
	40-49	136	73 53,7%	63 46,3%		63 46,3%	63 46,3%	10 7,4%		10 7,4%	126 92,6%		0,694	0,306		
	50-59	79	41 51,9%	38 48,1%		38 48,1%	32 40,5%	9 11,4%		9 11,4%	70 88,6%		0,684	0,316		
	60-70	28	16 57,1%	12 42,9%		12 42,9%	12 42,9%	4 14,3%		4 14,3%	24 85,7%		0,644	0,356		
	gesamt	432	241 55,8%	191 44,2%		191 44,2%	192 44,4%	49 11,3%		49 11,3%	383 88,7%		0,664	0,336		
<b>Altersgrenzen</b>	18-40	198	117 59,1%	81 40,9%	0,203	81 40,9%	91 46,0%	26 13,1%	0,346	26 13,1%	172 86,9%	0,281	0,639	0,361		
	18-45	248	142 57,3%	106 42,7%	0,475	106 42,7%	114 46,0%	28 11,3%	0,744	28 11,3%	220 88,7%	0,968	0,657	0,343		
	18-50	334	189 56,6%	145 43,4%	0,537	145 43,4%	152 45,5%	37 11,1%	0,712	37 11,1%	297 88,9%	0,749	0,662	0,338		
	18-55	374	209 55,9%	165 44,1%	0,919	165 44,1%	168 44,9%	41 11,0%	0,778	41 11,0%	333 89,0%	0,527	0,666	0,334		
	gesamt	432	241 55,8%	191 44,2%		191 44,2%	192 44,4%	49 11,3%		49 11,3%	383 88,7%		0,664	0,336		
<b>Geschlecht</b>	männlich	266	151 56,8%	115 43,2%	0,604	115 43,2%	121 45,5%	30 11,3%	0,851	30 11,3%	236 88,7%	0,957	0,659	0,341		
	weiblich	166	90 54,2%	76 45,8%		76 45,8%	71 42,8%	19 11,4%		19 11,4%	147 88,6%		0,672	0,328		
	gesamt	432	241 55,8%	191 44,2%		191 44,2%	192 44,4%	49 11,3%		49 11,3%	383 88,7%		0,664	0,336		

Tabelle 11: Darstellung der statistischen Ergebnisse des T174M-Polymorphismus des Angiotensinogens

Erbgang	Typ	dominant				codominant				rezessiv				Allelfrequenz	
		TT+CT	CC	Chi-Test nach Pearson	CC	CT	TT	Chi-Test nach Pearson	TT	CT+CC	Chi-Test nach Pearson	C	T		
	Probandenanzahl	n=	n=	p=	n=	n=	n=	p=	n=	n=	p=				
<b>Risikoaltersgruppen</b>															
<41	198	61	137	0,144	137	56	5	0,338	5	193	0,890	0,834	0,166		
41-45	50	15	35		69,2%	28,3%	2,0%		2,5%	49		98,0%	0,840	0,160	
46-50	85	15	70		30,0%	15,3%	2,4%		2,4%	83		97,6%	0,901	0,099	
51-55	41	8	33		17,6%	14,6%	4,9%		4,9%	39		95,1%	0,878	0,122	
>55	58	14	44		24,1%	22,4%	1,7%		1,7%	57		98,3%	0,871	0,129	
gesamt	432	113	319	73,8%	73,8%	23,6%	2,5%	11	2,5%	421	97,5%	0,856	0,144		
<b>Altersdekaden</b>															
18-29	66	24	42	0,223	42	19	5	0,072	5	61	0,039	0,780	0,220		
30-39	123	34	89		63,6%	28,8%	0,0%		7,6%	123		100,0%	0,862	0,138	
40-49	135	30	105		27,6%	20,0%	2,2%		2,2%	132		97,8%	0,878	0,122	
50-59	79	17	62		22,2%	19,0%	2,5%		2,5%	77		97,5%	0,880	0,120	
60-70	29	8	21		21,5%	24,1%	3,4%		3,4%	28		96,6%	0,845	0,155	
gesamt	432	113	319	73,8%	73,8%	23,6%	2,5%	11	2,5%	421	97,5%	0,856	0,144		
<b>Altersgrenzen</b>															
18-40	198	61	137	0,648	137	56	5	0,852	5	193	0,655	0,834	0,166		
18-45	248	76	172		69,2%	28,2%	2,4%		2,4%	242		97,6%	0,846	0,154	
18-50	333	91	242		30,6%	24,9%	2,4%		2,4%	325		97,6%	0,728	0,272	
18-55	373	99	274		27,3%	23,9%	2,7%		2,7%	363		97,3%	0,858	0,142	
gesamt	432	113	319		73,8%	73,8%	23,6%		2,5%	11		2,5%	421	97,5%	0,856
<b>Geschlecht</b>															
männlich	265	74	191	0,292	191	65	9	0,290	9	256	0,158	0,844	0,156		
weiblich	167	39	128		72,1%	24,5%	3,4%		3,4%	165		98,8%	0,877	0,123	
gesamt	432	113	319		73,8%	73,8%	23,6%		2,5%	11		2,5%	421	97,5%	0,856

## 9. Thesen

1. Arteriosklerose als ein komplexer und multifaktoriell bedingter Prozess stellt ein gesundheitspolitisches und ethisches Problem dar. Neben den klassischen Risikofaktoren wie Hypertonie, Stoffwechselerkrankungen, chemischen Noxen und Stress, werden auch zunehmend inflammatorische Prozesse, Infektionen, Gefäßlaesionen und Gerinnungsstörungen als Ursache für die Entstehung von arteriosklerotischen Gefäßveränderungen verantwortlich gemacht.
2. Im Mittelpunkt des Interesses dieser Arbeit stand die Untersuchung der Kandidatengene Angiotensinogen, ACE, Apo E, LRP 1, Faktor V, E-Selektin, G-Protein und p22phox mit zentraler Bedeutung für Blutdruckregulation, Lipidstoffwechsel und Blutgerinnung.
3. Bei dem in dieser Arbeit untersuchten T174M-Polymorphismus des ACE imponierte ein relativ hoher Prozentsatz des mutanten D-Allels in homozygoter (33%) und heterozygoter Form mit Maximum in den Risikoaltersgruppen 40-45 und über 55 Jahre. Im Vergleich zu anderen Studien fand sich die Mutationsvariante deutlich häufiger bei spanischen KHK-Patienten (66%) und besonders selten in japanischen und tibetanischen Populationen (10-19%).
4. Das untersuchte Apo E liegt in drei Allel-Formen vor (E2, E3, E4), wobei die Allel-Variante E4 in der Literatur mit erhöhtem Cholesterinlevel in Verbindung gebracht wurde. Bei der untersuchten mitteldeutschen Population trugen durchschnittlich 18,5% die heterozygote Form des E4-Allels (E3/4) mit tendenzieller Häufung im Alter von 30-39 Jahren (23,3%). Die Isoform E4 wurde in der homozygoten Variante nicht beobachtet. Die Häufung der reinerbigen E4-Variante bei russischen KHK-Patienten und das geringe Vorkommen bei Japanern (10%) spricht für eine Krankheitsrelevanz.
5. Die Verteilung der Fragmentgrößen (83bp, 87bp, 91bp, 95bp) des Tetranucleotid-Längenpolymorphismus des LRP, bei welchem die homozygote 87bp-Variante als möglicherweise pathogen betrachtet wird, zeigte bei der mitteldeutschen Population dieser Arbeit mit durchschnittlich 16,4% ein relativ seltenes Vorkommen der homozygoten Mutationsvariante. Der signifikante Verteilungsunterschied zwischen den Geschlechtern (Männer 20,7%; Frauen 9,7%) und ein besonders geringes Vorkommen bei Japanern (5,7%) implizieren die Möglichkeit einer Risikokonstellation für männliche Individuen.
6. Eine Mutation des Faktors V, welcher ein wichtiger Faktor der Gerinnungskaskade ist, mit einer Neigung zu Thrombosen einhergeht und als Faktor V- Leidenmutation bezeichnet wird, fand sich in der mitteldeutschen Population dieser Arbeit nur zu 9% in der mischerbigen Variante AG. Das homozygote A-Allel wurde nicht beobachtet. Spender im Alter von 46-50 Jahren trugen mit 15,5% signifikant häufiger den heterozygoten Typ AG.

7. Ein Polymorphismus des E-Selektins an Position 561 der cDNA (Ser128Arg-PM) wird mit der Entstehung einer Arteriosklerose in Zusammenhang gebracht. Die in dieser Arbeit involvierte Probandengruppe gesunder Blutspender hatte in 1,6% der Fälle die reinerbige Mutationsvariante und zeigte bei 17,5% aller Spender den heterozygoten Typ Ser/Arg. Im Alter von über 49 Jahren fehlte die homozygote Mutationsvariante generell. Dies dürfte ein Selektionseffekt bei Blutspendern in höherem Alter sein, der die Bedeutung des betreffenden Polymorphismus unterstreicht.
8. Bei Hypertonikern wurde ein gehäuftes Vorkommen der Mutationsvariante eines Polymorphismus der  $\beta$ 3-Untereinheit des G-Protein nachgewiesen, welcher als C825T-Polymorphismus bezeichnet wurde. Die reinerbige Mutationsvariante TT war bei den Blutspendern der Region Halle relativ selten (6,9%). Signifikante Unterschiede wurden bei der geschlechtsspezifischen Betrachtung beobachtet. Frauen trugen häufiger den homozygoten mutanten Typ als Männer (10,5% versus 4,5%). Eine signifikante Häufung kam außerdem im Alter von 18-40 Jahren vor. Die Ergebnisse sprechen deutlich für einen Effekt der Selektion der Blutspender, da Hypertoniker ausgeschlossen wurden.
9. Der C242T-Polymorphismus des CYBA-Gens wurde sowohl als protektiv als auch als krankheitsfördernd für koronare Herzkrankheit diskutiert und in dieser Arbeit betrachtet. Die bei der mitteldeutschen Blutspenderpopulation ermittelten Werte lagen mit 11,3% für die homozygote Variante T und 44,0% für den mischerbigen Typ CT im vergleichbaren Rahmen mit Populationen aus England und den USA. Eine relative Häufung der reinerbigen Mutationsvariante beobachtete man im Alter von 18-29 Jahren (18,2%), besonders selten war er im Alter von 40-45 Jahren (4%).
10. Die reinerbige mutante Variante TT des T174M-Polymorphismus des Angiotensinogen war im beobachteten Studienkollektiv dieser Arbeit sehr selten (2,5%). Eine Häufung der mutanten Variante TT im Alter von 18-29 Jahren (7,6%) sowie ein gehäuftes Vorkommen des reinerbigen Wildtyps CC im Alter über 45 Jahre waren auffällig. Vergleichbare internationale Studien zeigten differente Häufigkeiten. Während in Taiwan mit 1,0% bei Hypertonikern und gesunden Probanden geringere Werte ermittelt wurden, zeigten sich in Russland bei AMI-Patienten (32,1%) und Vergleichsgruppen (10,8%) hohe Prozentsätze, welche für einen Einfluss bei der KHK-Entstehung sprechen könnten.
11. In den eigenen Untersuchungen ist ein deutlicher Trend zur Ausdünnung der als pathogen angesehenen Mutationen in den höheren Altergruppen zu verzeichnen. Dies spricht für den Effekt einer Selektion der Blutspendekandidaten und für die klinische Bedeutung der Gen-Polymorphismen.

## Tabellarischer Lebenslauf

Name:		Andrea Sybille Kabisch
Geburtsdatum:		18.07.1965
Geburtsort:		Zeitz
Wohnort:		06120 Halle Gneisenaustraße 57
Familienstand:		ledig
Schulbesuch:	1971-1981	Polytechnische Oberschule (1971-79 in Zeitz, 1979-81 in Halle)
	1981-1984	Berufsschule (mit Abitur)
Berufsausbildung:	1981-1984	Lehre-Baufacharbeiter mit Abitur (BBS Robert Siewert, Halle)
	1985-1986	Facharbeiter für Krankenpflege (Erwachsenenqualifizierung)
Studium:	1987-1993	Humanmedizin Martin-Luther-Universität Halle
Berufstätigkeit:	1984-1987	Pflegerische Hilfskraft im Krankenhaus Saalkreis Abt. Teutschenthal
	01.10.1993-31.03.1995	Arzt im Praktikum im St.Elisabeth-Krankenhaus Halle
	01.04.1995-31.08.1995	Assistenzarzt im Reha-Zentrum Plau am See
	01.09.1995-30.06.1997	Stationsarzt im Saale-Reha-Zentrum Bad Kösen
	18.09.1997-31.12.2005 und seit 01.04.2006	Assistenzarzt in der Einrichtung für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie am Universitätsklinikum Halle (Saale)

Andrea Kabisch

## **Selbstständigkeitserklärung und Erklärung über frühere Promotionsversuche**

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbstständig und ausschließlich unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt zu haben.

Die wörtlich oder inhaltlich den im Literaturverzeichnis aufgeführten Quellen und Hilfsmittel entnommenen Stellen sind in der Arbeit als Zitat kenntlich gemacht.

Diese Promotionsarbeit wurde bisher weder anderen Interessenten zugänglich gemacht, noch einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt. Es gab keine weiteren Promotionsversuche.

Andrea Kabisch

## **Danksagung**

Für die Bereitstellung aller zur Durchführung meiner Promotion erforderlichen Daten und materiellen Voraussetzungen danke ich dem Direktor des Instituts für Humangenetik und Medizinische Biologie der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Herrn Prof. Dr. I. Hansmann.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Christiane Gläser und ihrer Arbeitsgruppe, die mich bei der Konzeption und Durchführung der Arbeit sowie der Erstellung der Dissertationsschrift betreuten und mir in allen fachlichen Fragen stets zur Seite standen.

Für ihre konstruktiven Anregungen und Hinweise zur Realisierung der Arbeit danke ich auch besonders den Herren Prof. Dr. D. Ribbert und Dr. Thomas Langer.

Bedanken möchte ich mich darüber hinaus auch bei all denjenigen, die direkt und indirekt zum Gelingen der Arbeit beitrugen, indem sie mir durch ihren Rat und ihre Unterstützung behilflich waren.