

Aus dem
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Assmann-

**Die Faktor II G20210A-Mutation
als kardiovaskulärer Risikofaktor bei jungen Patienten**

INAUGURAL - DISSERTATION

Zur
Erlangung des doctor medicinae dentium
der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Tran, Bao Long
aus Bien Hoa, Vietnam

2008

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Volker Arolt

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. U. Nowak-Göttl

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Junker

Tag der mündlichen Prüfung: 09.01.2008

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Assmann -

Referent: Prof. Dr. med. U. Nowak-Göttl

Koreferent: Prof. Dr. med. R. Junker

ZUSAMMENFASSUNG

Die Faktor II G20210A-Mutation als kardiovaskulärer Risikofaktor bei jungen Patienten
Bao Long Tran

Die Faktor II G20210A-Mutation ist ein etablierter Risikofaktor für venöse Thrombosen. Die Bedeutung für arterielle Verschlüsse ist bislang unklar. Die Fragestellung der vorliegenden Arbeit war, ob diese Mutation alleine oder in Kombination mit anderen Risikofaktoren ein erhöhtes Risiko für Myokardinfarkte darstellt. Die Besonderheit der Studie liegt bei der Rekrutierung junger Patienten, da aufgrund der geringeren Ausprägung bzw. Häufigkeit anderer Risikofaktoren in dieser Gruppe eine Gen-Krankheits-Assoziation deutlicher herausgearbeitet werden kann.

An der Untersuchung nahmen 241 männliche Patienten im Alter von 35 bis 45 Jahre teil, die einen Herzinfarkt erlitten hatten. 239 offensichtlich gesunde Personen dienten als Kontrollkollektiv. Die Patienten und Kontrollpersonen wurden auf Vorliegen der Faktor II G20210A-Mutation untersucht. Daneben wurden umfangreiche klinische Untersuchungen durchgeführt und Labordaten erhoben.

Bei der Genotypenverteilung gab es zwischen Patienten und Kontrollen keine signifikanten Unterschiede: Für die Faktor II G20210A-Variante ergab sich ein Genotypenanteil von 0,9% (2 von 225 Patienten) bzw. 1,7% (4 von 234 Kontrollen). Aus den eigenen Ergebnissen und der Auswertung zahlreicher Literaturdaten konnte damit keine eindeutige Beziehung zwischen Genotyp und arteriellem Risiko festgestellt werden, auch nicht innerhalb der zahlreichen Subgruppenanalysen.

Tag der mündlichen Prüfung: 09.01.2008

Für meine Frau und meinen Sohn

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	- 1 -
1.1 Definition und Pathogenese des Myokardinfarktes.....	- 1 -
1.2 Auslösermechanismen des Myokardinfarktes.....	- 2 -
1.3 Epidemiologie des Myokardinfarktes.....	- 3 -
1.4 Grundlagen der Arteriosklerose.....	- 3 -
1.5 Die Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen.....	- 5 -
1.6 Morphologische Aspekte der Arteriosklerose.....	- 8 -
1.7 Risikofaktoren der Arteriosklerose.....	- 9 -
1.8 Genpolymorphismen der Hämostase und koronares Risiko.....	- 10 -
1.9 Faktor II.....	- 12 -
1.9.1 Das Faktor II-Gen und die G20210A-Mutation.....	- 13 -
1.9.2 Die Faktor II G20210A-Mutation in gesunden Populationen.....	- 14 -
1.9.3 Die Faktor II G20210A-Mutation und das Risiko venöser Thrombosen.....	- 14 -
1.9.4 Die Faktor II G20210A-Mutation und das Risiko arterieller Thrombosen....	- 15 -
1.10 Inhalt und Zielsetzung der Dissertation.....	- 19 -
2. Material und Methoden.....	- 20 -
2.1 Patienten- und Kontrollkollektiv.....	- 20 -
2.2 Allgemeine Blutuntersuchungen.....	- 21 -
2.3 Genetische Untersuchungen.....	- 21 -
2.4 Qualitätskontrolle.....	- 30 -
2.5 Statistische Verfahren, Definitionen und Auswertung.....	- 30 -
3. Ergebnisse.....	- 31 -
3.1 Patientenmerkmale.....	- 31 -
3.2 Faktor II- und Faktor V-Genotypisierung - Gesamtkollektiv.....	- 33 -
3.3 Faktor II-Genotypisierung - Teilkollektive.....	- 34 -
3.4 Faktor V-Genotypisierung - Teilkollektive.....	- 35 -
3.5 Vergleich der Populationscharakteristika abhängig von der Faktor II G20210A- Mutation.....	- 36 -
3.6 Vergleich der Populationscharakteristika abhängig von der Faktor V G1691A- Mutation.....	- 37 -
3.7 Beschreibung der Faktor II G20210A-Träger.....	- 38 -
3.8 Vergleich der Populationscharakteristika bei positiver und negativer Familienanamnese.....	- 40 -
4. Diskussion.....	- 43 -

5. Literaturverzeichnis	- 52 -
6. Glossar	- 64 -
7. Danksagung.....	- 65 -
Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.

1. Einleitung

1.1 Definition und Pathogenese des Myokardinfarktes

Unter MI versteht man den "Untergang eines Gewebsbezirks (Nekrose) des Herzens nach schlagartiger Unterbrechung der Blutzufuhr in den Herzkranzgefäßen infolge Koronarthrombose, Embolie in den Koronarien, Koronarsklerose oder Koronarstenose; je nach Lokalisation unterscheidet man: Hinterwandinfarkt, Seitenwandinfarkt und Vorderwandinfarkt" (1).

Die Lokalisierung der Nekrose ist abhängig vom Versorgungsgebiet der jeweils betroffenen Koronararterie (2). Je nach Ausdehnung der Ischämie-Zonen, kommen transmurale oder subendokardiale Infarzierungen vor. Die stenosierende Koronarsklerose als letzte Ursache der Thrombenbildung besitzt im Bereich der Koronararterien Prädilektionsstellen. Der Ramus descendens der linken Koronararterie ist die am häufigsten betroffene Koronararterie. An nächster Stelle stehen die rechte Kranzarterie und dann der Ramus circumflexus der linken Koronararterie (3).

Das Ausmaß der Nekrose wird neben der Lokalisation des Verschlusses und dem davon abhängigen Myokardareal durch den momentanen Sauerstoffbedarf des Muskels und dem Vorhandensein bzw. dem Fehlen von Kollateralgefäßen bestimmt. Die Dauer der Minderperfusion des betroffenen Muskelbezirks ist dabei von ausschlaggebender Bedeutung. Wenn eine Anoxie auftritt, folgt zunächst ein geringer Zeitabschnitt, in dem die Zellfunktion noch vollständig unter Ausschöpfung ihrer Energiereserven erhalten bleibt. Sobald mit abnehmendem Energievorrat auch ein Tätigkeitsumsatz der Zelle nicht mehr möglich ist, tritt eine vollständige Lähmung der Zellfunktion ein (4).

Danach sind Zellschäden noch für einen bestimmten Zeitraum reversibel, bevor sie völlig ihre Funktion aufgeben. Je nach Ausmaß der Energiereserven und je nach Energiebedarf tritt der Zelltod unterschiedlich schnell ein. Demnach kann man Lähmungszeit, Wiederbelebungszeit und Zelltod zeitlich unterscheiden. Hier finden Lysertherapie und perkutane transluminale koronare Angioplastie ihre Berechtigung, wenn die Diagnose rechtzeitig gestellt wird und die Reperfusion stattfinden kann, bevor das Stadium des irreversiblen Zelluntergangs erreicht wird. Wenn jedoch der Zeitpunkt der einsetzenden Therapie zu spät liegt, bildet sich Narbengewebe im Bereich des untergegangenen Myokards. Elektromechanische Störungen und Insuffizienz der

betroffenen Muskulatur, mit einer daraus resultierenden Störung der Hämodynamik sind die Folgen.

1.2 Auslösermechanismen des Myokardinfarktes

Das Auftreten eines Infarkts wie auch des plötzlichen Herztodes unterliegt einer zirkadianen Rythmik.

Ungefähr ein Viertel alle MI-patienten erwacht im Zusammenhang mit MI bedingten Symptomen. In dem 6-Stunden-Intervall zwischen 6 Uhr morgens und 12 Uhr mittags treten ca. 35% der MI ein (5-7). Dieser morgendliche Gipfel wird dem erhöhten adrenergen Tonus in dieser Zeitphase zugeordnet. Ein indirekter Beweis dafür ist, daß dieser „morning peak“ der Ereignisrate bei Patienten nicht nachzuweisen ist, die unter laufender Betablocker-Therapie ihren MI entwickeln (5,8-10).

Ein zweiter Ereignisgipfel läßt sich ca. 12 Stunden nach dem Aufwachen nachweisen (11). Er ist jedoch wesentlich schwächer ausgebildet. Die Häufigkeit zwischen 0 und 6 Uhr beträgt nur 15%. Für den MI wurde besonders bei Berufstätigen ein Montagsgipfel festgestellt (12). Immer wieder wurde die Bedeutung seelischer und ganz besonders auch körperlicher Belastungen als Auslöser akuter MI diskutiert und vielfach auch kasuistisch nachgewiesen. Zwei Untersuchungen aus den USA (13) und aus Deutschland (14) haben dazu wesentliche Erkenntnisse erbracht: Ca. 5% aller akuten MI dürften ursächlich mit starker körperlicher Belastung verbunden sein. Extreme körperliche Anstrengung beinhaltet nach Berechnung beider Autorenguppen ein 3- bis 6-fach erhöhtes relatives MI-Risiko, und sie ist somit als wichtiger Auslöser zu interpretieren. Dieses Risiko besteht jedoch fast ausschließlich bei Personen, die sich sehr unregelmäßig körperlich oder sportlich betätigen.

Im Rahmen des MONICA-Projekts (15) wurde in einer Langzeitstudie über zehn Jahre der Zusammenhang zwischen Temperatur und Luftdruck und Auftreten des akuten MI und koronarbedingten Todesereignissen untersucht. Die Untersuchungen ergaben, daß Koronarereignisse am seltensten bei einem Luftdruck von 1016 mbar auftraten. Änderte sich der Luftdruck um plus/minus 10 mbar, dann bewirkte das einen Anstieg von 11% bzw. 12%. Wenn die Temperatur um 10° C fiel, dann stieg die Ereignisrate um 13% an. Diese Einflüsse wirkten unabhängig. Sowohl das Auftreten des MI als auch das Ereignis

des Koronartodes wurde von ihnen beeinflusst. Bei älteren Personen und Patienten mit vorausgehenden Ereignissen war dieser Effekt stärker ausgeprägt. Darüber hinaus existieren verschiedene unspezifische Auslöser für den akuten MI. Bei diesen handelt es sich um psychische Erregungen, allgemeine Ermüdung und Einnahme größerer Mahlzeiten, jeweils verbunden mit körperlichen Belastungen (16,17).

1.3 Epidemiologie des Myokardinfarktes

Obwohl nach Angaben des statistischen Bundesamtes (1999) die Inzidenz zwischen 1982 und 1997 (18) sank, bleibt der MI eine der häufigsten Krankheiten in Deutschland und in anderen westlichen Industrieländern (Tabelle 1).

Gruppe	1972	1982	1992	1997
Gesamt	70.943	82.771	69.940	64.840
Männer	45.996	49.705	39.358	25.491
Frauen	24.947	33.066	30.582	29.349

Tabelle 1. Todesfälle bedingt durch Myokardinfarkt in den alten Bundesländern (18)

1.4 Grundlagen der Arteriosklerose

Maßgeblich an der Pathogenese des MI, des zerebralen Insults und der chronischen arteriellen Verschlusskrankheit sind arteriosklerotische Gefäßwandveränderungen (19).

In den meisten Fällen entwickelt sich der akute Verschluss einer Koronararterie auf dem Boden fokaler, arteriosklerotischer Veränderungen der Gefäßwand. Der völlige thrombotische Verschluss einer hochgradigen arteriosklerotischen Stenose löst beim Menschen das akute Infarktereignis aus.

Embolien im Rahmen von Herz-Klappenfehlern, entzündliche Veränderungen und Koronarspasmen sind viel seltenere Ursachen für den Verschluss der Koronargefäße. Während bei Erwachsenen die meisten MI auf einer Koronarsklerose

beruhen, sind bei Neugeborenen und Kindern häufiger entzündliche Veränderungen und Embolien die Ursache (20).

Nach der World Health Organization (21) ist die Arteriosklerose eine variable Kombination von Intimaveränderungen, die aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlehydraten, Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen bestehen und mit Veränderungen der Arterienmedia verbunden sind. Aus diesen Intimaveränderungen können sich nach und nach fibröse Plaques bilden. In den fibrösen Plaques und in ihrer näheren Umgebung können zusätzlich Nekrosen auftreten (22).

Die Arteriosklerose ist nosologisch vielförmig. Sie umfaßt einen morphologischen Symptomenkomplex und bildet ihre Gesamtausprägung in einem chronischen Prozeß aus (23).

Das arteriosklerotische Geschehen entwickelt sich klinisch latent über einen Zeitraum von mehreren Jahren bis Jahrzehnten. Danach manifestiert es sich vorwiegend durch Thromboembolien, Gefäßverschlüsse, Aneurysmata und deren Folgen an Herz, Gehirn und unteren Extremitäten (24). Prädilektionsstellen für die Entstehung eines arteriosklerotischen Prozesses sind die Herzkranzarterien, die Hirnarterien, die Karotisgabel an ihrer Aufteilung in die Arteriae carotes interna und externa, die Aorta und die Arteriae iliacae. Da, wo sich große Arterien aufzweigen und krümmen, kommt es zu Strömungsveränderungen und Wirbelbildungen. Diese rufen eine mechanische Belastung des Gefäßes hervor und können dann zu Endothelschäden führen (25).

Mehrere Ausbreitungstypen der Arteriosklerose kommen vor (21). Der zentrifugale senile Typ ist sehr langsam progredient. Sein Beginn liegt an der Bauchaorta, von dort zeigt er eine peripherwärts gerichtete Entwicklung. Der multifokal juvenile Typ beruht auf Störungen des Lipidstoffwechsels. Diese sind diffus verteilt und entstehen bereits im Jugendalter. Der zentripetale Typ ist charakteristisch für die diabetische Makroangiopathie. Dieser Typ beginnt in der Peripherie und breitet sich diffus und schnell aus. Der therapeutisch induzierte Typ wird von gefäßchirurgischen Maßnahmen wie Venenbypass, Kunststoffgefäßprothesen, perkutane transluminale Angioplastie und Desobliteration verursacht.

1.5 Die Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen

Die Arteriosklerose ist sowohl eine gefäßeigene Erkrankung als auch eine Reaktion auf die unterschiedlichsten Störungen des Allgemeinstoffwechsels (23). Sie spielt sich an der Gefäßwand ab, die mit dem arteriosklerotischen Umbau reagiert (24). Wegen der heterogenen Ursachen existiert aber keine einheitliche Pathogenese der Arteriosklerose.

Verschiedene Hypothesen der Initiierung der Arteriosklerose sind aufgestellt worden. Dabei kommt dem Endothel die zentrale Rolle zu (26). Die Endothelverletzung nach der Response-to-injury-Hypothese ist von dem komplexeren Konzept eines aktivierten Endothels verdrängt worden (27), weil die frühe arteriosklerotische Läsion sich ebenfalls unter einem morphologisch intakten Endothel entwickelt (28).

Zytokine, virale Infektionen, oxidiertes LDL und andere Faktoren aktivieren das Endothel, was zu einer Funktionsänderung führt (29).

Bindungsstellen für Monozyten werden exprimiert, Monozytenaktivatoren sezerniert. Außerdem entwickeln sich freie Sauerstoffradikale. Diese oxidieren LDL oder zerstören direkt die Nachbarzellen. Die veränderte endotheliale Oberfläche wirkt prokoagulatorisch (30). PDGF und/oder andere Mitogene und chemotaktische Stoffe für glatte Muskelzellen werden gebildet und freigesetzt.

Die Endothelzellen reagieren auf die Stimulation mit der Neusynthese des Plättchenaktivierenden Faktors und dessen Expression an der Oberfläche (31). Plättchenaktivierender Faktor wirkt in dreifacher Hinsicht. Er bewirkt eine Modifikation der Glykokalix. Dadurch erhöht sich die Anzahl der adhärenen Leukozyten. Außerdem wird das Zytoskelett der Endothelzellen modifiziert. Dabei verlieren die Zellen u.a. ihren Kontakt untereinander, und die Permeabilität des Endothels steigt für höhermolekulare Plasmaproteine, wie Albumin, Fibrinogen und Cholesterin. Zuletzt determiniert der Plättchenaktivierende Faktor eine autokrine Stimulation der Endothelzellen zur Bildung von Adhäsionsmolekülen. Dadurch wird die Interaktion zwischen Endothel und Monozyten eingeleitet, die für den arteriosklerotischen Prozeß wichtig ist. Die endothelialen Adhäsionsmoleküle können in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden, nämlich in Selektine und in Proteine. Sie gehören der Gruppe der Immunglobuline an. Die Selektine auf den Endothelzellen lassen sich in Endothel- und

Plättchen-Selektine differenzieren (32). Ein sehr wichtiges exprimiertes Protein ist das Interzelluläre Adhäsionsmolekül 1.

Die Monozyten benötigen ebenfalls Adhäsionsmoleküle zur Adhäsion. Sie produzieren Leukozyten-Selektine.

Nach Buchters Theorie (33) heften sich in einer ersten Phase die Monozyten über die Selektine reversibel an das Endothel. Sie „rollen“ sozusagen auf ihm.

In einer zweiten Phase aktivieren chemotaktische Faktoren wie Plättchenaktivierender Faktor, Plättchenfaktor 4 und Leukotrien B₄ die Monozyten. Die Monozyten binden sich über monozytäre und endotheliale Adhäsionsmoleküle stabil an das Endothel. Die Adhäsionsmoleküle sind Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1 und das Vaskuläre Zelladhäsionsmolekül 1. Beide gehören der Familie der Immunglobuline an.

Die Monozyten migrieren in einer dritten Phase transendothelial. Chemotaktische Stoffe der aktiven Endothelzellen, sowie die in der Intima gelegenen Makrophagen und glatten Muskelzellen und schließlich das stark chemotaktisch wirkende oxLDL lösen diese Migration, die über die Bindung an Integrine ermöglicht wird, aus.

Das oxLDL regt zusätzlich die Endothelzellen zur Produktion des Makrophagenkoloniestimulierenden Faktors und des Monozyten chemotaktischen Proteins 1 an. Diese beiden sind die bedeutendsten chemotaktischen Stoffe für Monozyten. Monozyten chemotaktischen Protein 1 wird auch von glatten Muskelzellen nach Aktivierung durch oxLDL gebildet.

Die Monozyten akkumulieren nach der transendothelialen Migration in der Intima und differenzieren sich durch den Kontakt mit der extrazellulären Matrix, den Lipoproteinen, den chemotaktischen Faktoren und den Zytokinen zu Makrophagen. Vor allem über den Scavenger-Rezeptor internalisieren sie das oxLDL und entwickeln sich dadurch zu Schaumzellen (34).

Weitere Lipideinlagerungen und fibroproliferative Vorgänge bewirken weitgehend das Fortschreiten der Arteriosklerose. An der fibroproliferativen Komponente haben vorwiegend die Makrophagen und die Muskelzellen einen Anteil.

Die Makrophagen beeinflussen ihre Umgebung über mehrere Mechanismen:

- Aktiviert durch die Lipidphagozytose, bilden sie Wachstumsfaktoren und Zytokine. Diese ändern die Aktivität ihrer Nachbarzellen. Die Makrophagen produzieren PDGF, Interleukin-1, Tumor-Nekrose-Faktor und Transformierenden Wachstumsfaktor beta β . Dadurch beziehen sie die glatten Muskelzellen in den arteriosklerotischen Prozeß ein. Diese migrieren wegen der chemotaktischen Wirkung von PDGF in die Intima und werden autokrin stimuliert (19,30,32).
- Die Makrophagen generieren zytotoxische Stoffe, die eine Funktionsstörung oder den Tod von glatten Muskelzellen und Endothelzellen herbeiführen.
- Das Endothel wird von lipidbeladenen Makrophagen geschädigt, wenn sie den subendothelialen Raum verlassen.

Der Cholesterinmetabolismus der Makrophagen hat einen sehr bestimmenden Anteil an dem fortschreitenden Arterioskleroseprozeß. Bis heute ist jedoch nicht eindeutig nachgewiesen, wie sich Lipidphagozytose und inflammatorische Antwort der Makrophagen gegenseitig beeinflussen (35).

Die Lipide werden in den Schaumzellen lysosomal hydrolysiert. Dadurch wird Cholesterin freigesetzt. Die HDL transportieren das Cholesterin ab. Überschüssiges Cholesterin, das beispielsweise durch eine Hyperlipidämie induziert ist, verbleibt in den Schaumzellen. Es ist jedoch den Enzymen gegenüber untätig. Es bildet charakteristische Kristalle. Diese zerstören die Schaumzellen. Dadurch werden die Kristalle freigesetzt. Durch seine zytotoxische Wirkung bewirkt so das Cholesterin eine Nekrose, die über Granulations- und Narbengewebe bindegewebig repariert wird. Die Cholesterinkristalle lösen außerdem eine Fremdkörpergranulombildung und somit eine chronisch granulomatöse Entzündung aus. Dadurch wirken sie sklerogen.

Sowohl die Nekroseherde als auch die Reparationsprozesse können sich im weiteren Verlauf weiter ausdehnen. Es steigt dadurch die Wahrscheinlichkeit, daß die Oberfläche der Läsion aufreißt, sich Detritus entleert und Kollagen mit Blutkomponenten in Berührung kommt. Eine fortschreitende Stenosierung des Gefäßlumens und die Bildung von Thromben ist die Folge. Thrombozytenaggregate wiederum setzen Wachstumsfaktoren frei. Sie stimulieren die glatten Muskelzellen und verstärken deshalb die fibroproliferative Komponente des arteriosklerotischen Prozesses.

Die glatten Muskelzellen produzieren in der Intima einerseits extrazelluläre Substanzen wie Proteoglykane, Elastin und Kollagen. Andererseits inkorporieren sie auch gealterte Lipide und wandeln sich in Schaumzellen um. Beides führt dazu, daß die Intima sich zunehmend verdickt.

So vermag der einmal initiierte arteriosklerotische Vorgang über mehrere Mechanismen, sich selbst aufrechtzuerhalten, und er bildet dadurch einen Circulus vitiosus.

1.6 Morphologische Aspekte der Arteriosklerose

Die verschiedenen Veränderungen an der Gefäßwand sind das kennzeichnende Merkmal der Arteriosklerose. Diese können im zeitlichen Verlauf sowohl nacheinander als auch nebeneinander auftreten. Dabei ist keine Stufe für das Erscheinen der nächsten Stufe erforderlich (22,27,36).

Die gelatinöse Läsion ist gekennzeichnet durch die permeabel gewordene Endothelschicht. Dadurch dringt Blutplasma in die Intima ein. Es bildet sich ein Intimaödem, das eine erhöhte Konzentration an Fibrinogen, Fibrin und LDL hat (37). Dieses ist eine leicht erhabene Läsion und von geringer Festigkeit.

Der Lipidfleck (Fatty streak) besteht zum größten Teil aus Schaumzellen. Diese stammen von Makrophagen und glatten Muskelzellen ab. Die Schaumzellen haben intra- und extrazelluläre akkumulierte Lipide aufgenommen. Makroskopisch sieht man kleine gelbliche, erhabene Herde.

Beim Atherom (transitionale Läsion) ist die Intima deutlich verdickt, engt jedoch nur minimal das Gefäßlumen ein. Die extrazellulären Lipide in der Intima haben sich stark vermehrt. Dadurch werden sie gut sichtbar und teilen die Intima in eine äußere und eine innere Schicht.

Die als Fibroatherom bezeichnete Veränderung des fibrösen Plaques erscheint als Vorwölbung der Intima. Sie hat eine perlmuttfarbene und teilweise feingefurchte Oberfläche. Die Fibroblasten produzieren kollagenes Bindegewebe und die glatten Muskelzellen wuchern, wodurch sie eine fibröse Kapsel bilden. Diese schließt die Lipidmassen und Nekroseherde ein.

Die Kalzifizierung ist das Hauptcharakteristikum der komplizierten Läsion. Durch diesen Vorgang ist es möglich, daß die fibröse Deckplatte einreißt und eine Detritusentleerung, eine Hämorrhagie oder Thrombenbildung folgen (22,27,37).

1.7 Risikofaktoren der Arteriosklerose

Zahlreiche Faktoren stehen mit der Entwicklung der Arteriosklerose in kausalem Zusammenhang (36). In prospektiven Studien wurden beispielsweise Fettstoffwechselstörungen, Nikotinabusus, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus als Risikofaktoren identifiziert (38-41).

Für die Praxis sind diese Risikofaktoren unterschiedlich relevant. Deshalb werden sie verschiedenen Gruppen zugeordnet (42). Ein Schwerpunkt liegt in der Spezifizierung häufig vorhandener und beeinflubarer Risikofaktoren, weil diese eine Prävention ermöglichen könnten (43) (Tabelle 2).

Risikofaktor		
<u>nicht beeinflubar</u>	<u>beeinflubar</u>	<u>partiell beeinflubar</u>
Alter	Nikotinkonsum	Hyperlipidämie
männliches Geschlecht	arterielle Hypertonie	Diabetes mellitus
genetische Prädisposition	Adipositas	niedriges HDL-Cholesterin
Menopause		

Tabelle 2. Risikofaktoren für Arteriosklerose und Myokardinfarkt

Die Fettstoffwechselstörungen zeigen sich in veränderten Verhältnissen der verschiedenen Lipidfraktionen. Für die Arteriosklerose sind die LDL-Fraktion, die HDL-Fraktion und das Gesamtcholesterin von größter Bedeutung. Es besteht zwischen dem Gesamtcholesterin, dem LDL und dem Arterioskleroserisiko eine positive Korrelation. Dagegen korrelieren HDL und Arteriosklerose negativ (44).

Nikotinkonsum und das Auftreten arteriosklerotischer Folgekrankheiten sind über eine Dosis-Wirkungs-Beziehung gekoppelt. Je höher der Nikotinmißbrauch ist, umso wahrscheinlicher ist die Schädigung der Koronararterien und anderer Gefäße (45).

Die arterielle Hypertonie kann als Einzelfaktor einerseits eine Arteriosklerose hervorrufen, andererseits aber auch von dieser induziert werden. Das Arterioskleroserisiko steigt, wenn zusätzlich andere Risikofaktoren wie Nikotinabusus und Hypercholesterinämie vorhanden sind.

Der Diabetes mellitus geht ebenfalls mit dem Auftreten einer Arteriosklerose einher. Viele Risikofaktoren wie Hypo- und Hyperglykämie, Fettstoffwechselstörungen und Kollagenstoffwechselstörungen wirken hier zusammen. Durch deren Interaktion verstärkt sich die atherogene Wirkung.

In der Regel ist die Adipositas mit anderen Risikofaktoren kombiniert. Deshalb ist ihre Bedeutung als Arterioskleroserisiko nur schwer einzuschätzen.

Daneben wurden weitere mögliche Risikofaktoren identifiziert. Genannt seien hier: Erhöhte Fibrinogenkonzentration im Plasma, gesteigerte Thrombozytenaggregabilität, erhöhte Aktivität verschiedener Gerinnungsproteine, linksventrikuläre Hypertrophie und psychosoziale Variablen wie z.B. physische Inaktivität, emotionaler Streß, Persönlichkeitstypus (46-51).

1.8 Genpolymorphismen der Hämostase und koronares Risiko

An der Entstehung der Arteriosklerose und ihrer akuten Koronarsyndrome sind Parameter des Hämostasesystems entscheidend beteiligt. In zahlreichen klinischen Studien wurde nachgewiesen, daß eine gesteigerte Aktivierung der Thrombozyten, verstärkte Fibrinbildung und erhöhte bzw. erniedrigte Spiegel prokoagulatorischer und fibrinolytischer Plasmaproteine mit akuten Koronarsyndromen verbunden sind. Sie können den Ereignissen lange vorausgehen (52-54).

Die Hämostase steht in enger Wechselbeziehung zu weiteren Regelsystemen. Diese bestimmen wesentlich die Entstehung und den Verlauf der Arteriosklerose und deren Komplikationen mit. Dazu gehören die vaskulären Regulatoren, der Fettstoffwechsel,

der insulinsteuerte Metabolismus, der Homocysteinstoffwechsel und das inflammatorische System (55).

Inhalte von Untersuchungen der letzten Jahre waren neben biochemischen Parametern auch zahlreiche Genpolymorphismen der Hämostase und deren Assoziation zum koronaren Risiko. Zu ihnen gehören Polymorphismen der Thrombozyten-Glykoproteine, des Fibrinogens, von FII, FV, FVIII, und FXIII sowie von PAI-1 und des Tissue-Type-Plasminogenaktivators. Bisher konnte keiner der untersuchten Polymorphismen als eindeutiger Risikofaktor der Arteriosklerose identifiziert werden, obwohl vor allem zurückliegende Fallkontrollstudien entsprechende Assoziationen dokumentierten. Begründet ist dies in der Komplexität der Arteriosklerose und deren Komplikationen sowie der relativ geringen Wirkung eines einzelnen Genpolymorphismus auf das Gesamtrisiko (55).

Weiterhin wird die Relevanz von Genpolymorphismen durch multiple Expositions- oder Umweltfaktoren beeinflusst (Gen-Umwelt-Interaktionen). Hierzu gehören Lebensalter, Ernährung, Rauchen, körperlicher Trainingszustand, physischer und mentaler Streß, Alkoholkonsum, Hormone, Arzneimittel, und entzündungsfördernde Noxen (55).

Ein bisher unzureichend aufgeklärtes Zusammenwirken von Umweltfaktoren und genetischer Disposition verursacht das individuelle koronare Risiko. Dabei hat die positive Familienanamnese für das Koronarrisiko einen hohen Stellenwert. Diese Tatsache macht deutlich, daß genetische Faktoren im Rahmen der multifaktoriellen Ätiologie und der komplexen Pathogenese der Arteriosklerose und deren Komplikationen von wesentlicher Bedeutung sind. Es konzentrieren sich deshalb zunehmend epidemiologische Studien auf die Charakterisierung und klinische Bedeutung von Genpolymorphismen, die einen modulatorischen Einfluß auf Empfänglichkeit, klinische Manifestation und Prognose der Arteriosklerose vermuten lassen. Eine verbesserte Effizienz pharmakotherapeutischer Interventionen, die durch genetische Faktoren wesentlich mitbestimmt wird und deshalb eine individualisierte Therapie erfordert, ist dabei das wichtigste Ziel dieser Bemühungen (55).

1.9 Faktor II

Humaner FII (Prothrombin) ist ein aus einer 72 kDa-Kette bestehendes Glycoprotein. Seine Synthese ist Vitamin-K-abhängig und findet in der Leber statt (56,57). Die FII-Konzentration im Blut beträgt durchschnittlich 100-200 μ g/ml. Die Halbwertszeit liegt zwischen 72 und 96 Stunden (58,59).

Die Primärstruktur des FII enthält 579 Aminosäuren (60), das Molekül besteht aus vier Domänen (56,57):

- einer Gla-Domäne (Reste 1-40),
- einer kringle-1-Domäne (Reste 41-155),
- einer kringle-2-Domäne (Reste 156-271) und
- einer Serin-Protease-Domäne (Reste 272-579) (59,60).

FII spielt als inaktive Form des Thrombins eine zentrale Rolle in der Hämostase. Die Serinprotease hat prokoagulatorische, antikoagulatorische und antifibrinolytische Aufgaben. Es wird in der letzten Phase der Blutgerinnung benötigt, in der es hauptsächlich Fibrinogen zu Fibrin umwandelt. Weitere Funktionen des Thrombins sind die Aktivierung der Faktoren V, VIII, XIII und Protein C sowie die Stimulation von Blutplättchen, Monozyten, Lymphozyten und Endothelzellen.

Die Umwandlung von FII zu Thrombin erfolgt durch den FXa, der in Anwesenheit von FVa, Ca^{2+} und Phospholipiden zum Prothrombinase-Komplex auf Phospholipidoberflächen zusammengesetzt wird. Die Umwandlung wird durch die Hydrolyse zweier innerer Peptidbindungen (Arg271-Thr und Arg320-Ile) eingeleitet, was zur Abspaltung des Thrombins (35 kDa) vom Carboxylende von FII führt. Die Gla- und Kringle-Regionen hingegen verbleiben am Phospholipid. Obwohl FVa die Umwandlungsrate stark erhöht, ist wahrscheinlich ein langsamer, allein auf FXa basierender Mechanismus, für die Einleitung der Reaktion verantwortlich. Nach der Umwandlung von FX in FXa wird FV durch FXa zu FVa gespalten. Zusätzlich konvertiert FXa FII zu Thrombin, das ebenfalls FV aktiviert. Sobald die Faktoren Xa und Va vorhanden sind, kann sich der Prothrombinase-Komplex an Zellmembranen bilden (56,57,61-63) (Abbildung 1).

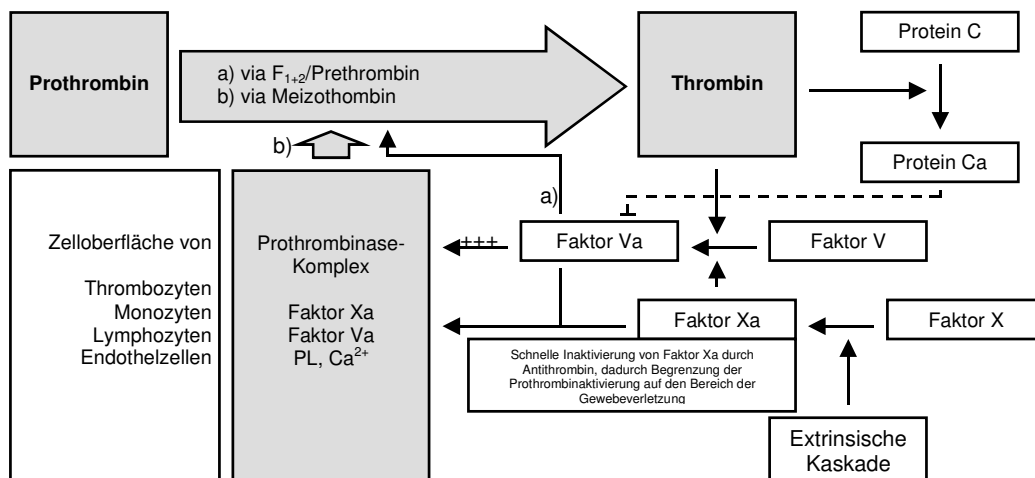


Abbildung 1. Rolle von FII (Prothrombin) und seine Regulationsmechanismen in der Hämostase

1.9.1 Das Faktor II-Gen und die G20210A-Mutation

Das FII-Gen befindet sich auf dem elften Chromosom in der Region 11p11q12 (64). Es ist etwa 21kb lang und enthält 14 Exons (25-215 Basenpaare) sowie 13 Introns (84-9447 Basenpaare, 90% des Gens). Es gibt eine nicht translatierte 5'- und 3'-Region. (60,65).

Einige Mutationen innerhalb des FII-Gens führen zu Hypo- oder Dysprothrombinämie, und demzufolge zu einem pathologischen Blutungsrisiko (66). Poort et al. (67) haben 1996 eine G-A-Transition an Position 20210 der nicht translatierten 3'-Region gefunden, die mit einem erhöhte Risiko für venöse Thrombosen assoziiert ist.

Der Mechanismus, der zu diesem erhöhten Risiko führt, ist noch ungeklärt. Jedenfalls gibt es in Folge dessen, daß sich die Transition auf der nicht translatierten 3'-Kette befindet, keine strukturellen Veränderungen des FII-Proteins durch diese Mutation.

Möglicherweise könnten erhöhte FII-Werte der das A-Allel tragenden Personen auf eine höhere FII-Generierung schließen lassen, die ihrer seits zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems führen würde. Demzufolge wären hohe FII-Werte durch eine gesteigerte Effizienz der Translation oder eine größere Stabilität der transkribierten

mRNA zu erklären (67). Jedoch konnte dieser Zusammenhang bis heute nicht bestätigt werden (68). Eine weitere Erklärung wäre, daß die FII-Mutation mit einer weiteren Sequenz-Variante zusammen die Genexpression beeinflusst (67).

1.9.2 Die Faktor II G20210A-Mutation in gesunden Populationen

Das Vorkommen der FII G20210A-Mutation variiert zwischen 0,7 und 4,0%. In Europa existiert ein Süd-Nord-Gefälle. Südlich von 50°N (Paris, Wien, Ferrara, Tel Aviv) wurden etwa 3% der Bevölkerung als Träger identifiziert (95%-CI 2,3-3,7%). Nördlich davon (Malmö, Manchester, Sheffield, Amsterdam, Leiden) lag das durchschnittliche Vorkommen bei 1,7% (95%-CI 1,3-2,2%) (69). In Island liegt das Vorkommen bei 0,9%, im griechischen Zypern bei 4,0% (70) (Abbildung 2).

In Nordamerika liegt das Vorkommen zwischen 1,6 und 2,4%. In Südamerika (Brasilien) liegt es bei 0,7% (71-74). Weder in Afrika noch in Asien konnte die Mutation nachgewiesen werden (ausgenommen Afro-Brasilianer: 2,0%) (70,73-76).

1.9.3 Die Faktor II G20210A-Mutation und das Risiko venöser Thrombosen

Die FII G20210A-Mutation stellt einen Risikofaktor für venöse Thrombosen dar. Seit der ersten Beschreibung von Poort et al. (67) gab es mehrere Veröffentlichungen, die die erste Studie bestätigten. Die meisten Untersuchungen bezogen sich auf Patienten, die an tiefer Beinvenenthrombose litten (67,77-79). In einigen Studien wurden Patienten mit Lungenembolie (70,72,73,80-83) oder anderen thrombotischen Manifestationen (84) untersucht. In (85) wurde gezeigt, daß die Mutation ein Risikofaktor für zerebrovenöse Thrombosen ist, insbesondere bei Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen. Die Häufigkeit heterozygoter Träger beträgt in Patientengruppen mit venösen Thrombosen bis zu 20%, bei den entsprechend gesunden Kontrollpersonen und Neugeborenen von 0 bis 4%, woraus ORs von 2,0 bis 11,5% resultieren. Eine isländische Studie hat jedoch ein gegenteiliges Ergebnis geliefert: Obwohl die FV G1691A-Mutation hier wie in anderen europäischen Populationen einen Risikofaktor für venöse Thrombosen darstellt, wurde die FII G20210A-Mutation nur bei einem von 99 Patienten und bei einer von 108 gesunden Personen nachgewiesen (78).

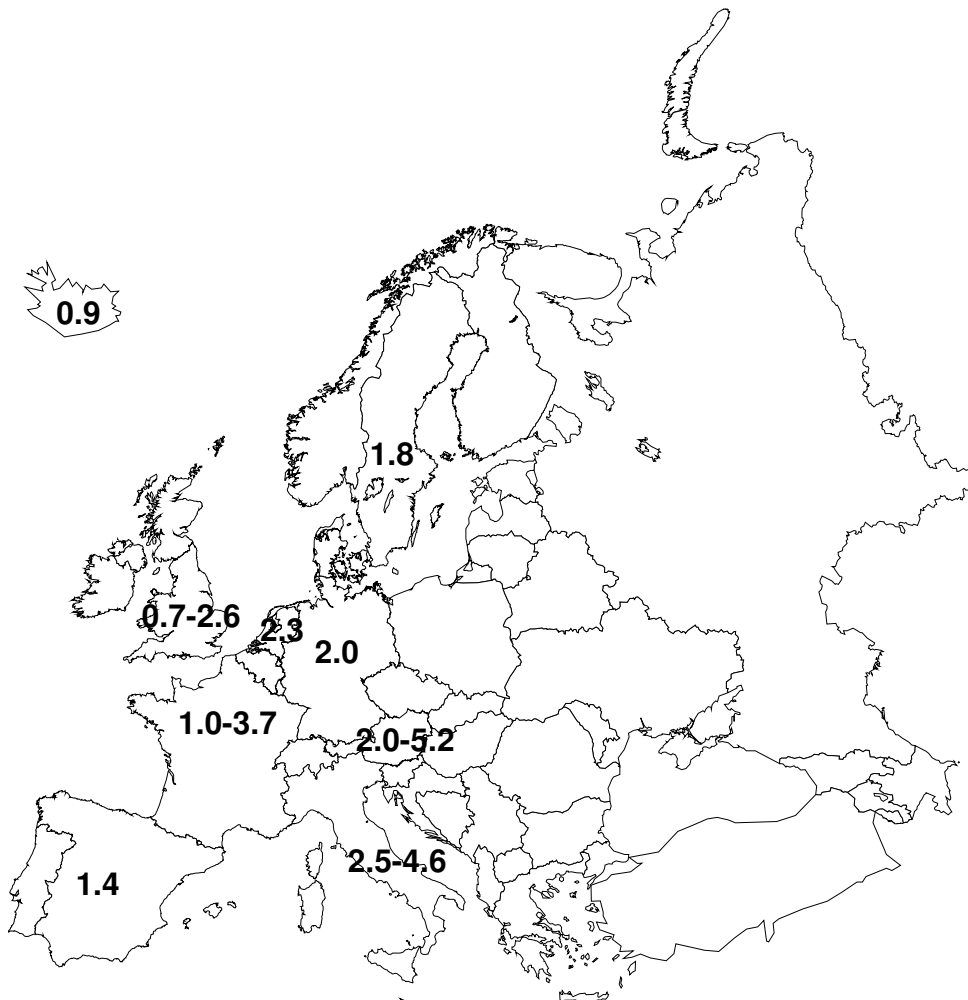


Abbildung 2. Vorkommen der FII G20210A-Mutation in der gesunden europäischen Bevölkerung (% Träger)

1.9.4 Die Faktor II G20210A-Mutation und das Risiko arterieller Thrombosen

Es wurden überwiegend die beiden häufigsten Manifestationsformen der arteriellen Thrombose untersucht: Schlaganfall (70-73,77,86-90) und MI (70,72,73,77,91-93). Einige Studien (70,72,73,76) fassen Patienten mit koronaren Herzleiden, Schlaganfällen, peripheren arteriellen Krankheiten und anderen Arten der arteriellen Thrombose zusammen. Die Anzahl der untersuchten Patienten variiert in diesen Erhebungen zwischen 20 und 220. Die Zahl untersuchter Kontrollpersonen lag zwischen 20 und 400. Die Mutation wurde bei 0,7-5,2% der Kontrollpersonen

nachgewiesen, jedoch konnten die meisten Untersucher die FII G20210A-Mutation nicht als potentiellen Risikofaktor der arteriellen Thrombose nachweisen, was zum einen an den zu kleinen Subgruppen, zum anderen an der fehlenden Differenzierung der Lokalität der Thrombosen liegen könnte. Ein weiteres Problem ist, daß alle Untersuchungen zurückblickende Fallstudien waren. Die Möglichkeit, daß Träger prothrombotischer Mutationen schwerere Thrombosen entwickeln könnten und daher eher sterben könnten als Nichtträger, könnte die erhaltenen Ergebnisse verfälschen. Träger einer möglichen oder noch nicht entdeckten prothrombotischen Mutation, die nach einem Schlaganfall oder an MI gestorben sind, werden in den Fallkontrollstudien nicht berücksichtigt (70,72,73,77,93) (Tabelle 3 und 4).

Die Faktor II G20210A-Mutation bei Patienten mit zerebrovaskulären Krankheiten

Die Prävalenz der FII G20210A-Mutation bei Patienten mit zerebraler Ischämie variiert zwischen 0 und 10% (73-76,80,89,90). Jedoch hat bislang nur eine einzige Studie die FII G20210A-Mutation als einen signifikanten Risikofaktor zerebraler Ischämie nachweisen können. Diese Studie wurde an hochselektierten Schlaganfallpatienten unter 50 Jahren durchgeführt. Abgesehen von der fehlenden statistischen Signifikanz kamen einige andere Untersuchungen zu interessanten Ergebnissen. Eine Studie an jungen männlichen wie weiblichen Schlaganfallpatienten zwischen 18 und 49 Jahren zeigte eine erhöhte Prävalenz der FII G20210A-Mutation in der Patientengruppe verglichen mit der Kontrollgruppe, sofern ein weiterer Risikofaktor (Protein S oder Protein C Mangel, arterielle Dissektion, kardiale Embolie) vorlag. Dieses Resultat führte zu der Vermutung, daß die FII G20210A-Mutation allein keinen außerordentlichen Risikofaktor der zerebralen Ischämie darstellt, daß sie aber arterielle Thrombosen bei Patienten mit Thrombophilie oder anderen Risikofaktoren des Schlaganfalls begünstigt (86). Diese Annahme wird von einer anderen Untersuchung an Patienten beider Geschlechter unterstützt. Es wurde keine unterschiedliche Prävalenz der Mutation bei jungen und älteren Personen gefunden (87).

In einer gut definierten Erhebung weiblicher Schlaganfallpatienten unter 45 Jahren waren 2 von 106 (1,9%) Patientinnen Trägerinnen der Mutation. Eine der zwei

Trägerinnen war in der venösen, die andere in der arteriellen Schlaganfallgruppe (71) (Tabelle 3).

Studienzentrum	Diagnose	n (m/w)	Alter (Jahre)	Träger (%)	p	OR/95%-CI
USA (71)	Schlaganfall	-/105	37/18-44	1,9		1.2/0.1-6.9
Frankreich (86)	Schlaganfall	72/53	41/18-49	6,4	ns	
Österreich (88)	Schlaganfall	10/10	39±8	10	ns	
Österreich (89)	TIA, Schlaganfall	58/38	64/28-91	5,2		1.0/0.53-1.91 ¹
Italien (90)	Schlaganfall	35/37	37 (MW)/2-50	12,4 ²	<0.001	5.1/1.6-16.3 ¹
Italien (87)	TIA, Schlaganfall	85/70	43/13	3,8		1.2/0.4-4.0 ³
Italien (70)	KHK, Schlaganfall	105 (total)	kA	1,9	ns	
Spanien (77)	TIA, Schlaganfall	54/50	66/24-88	1,0	ns	
USA (72)	Arterielle Thrombose ⁴	22/7	59	0	ns	
Brasilien (73)	Arterielle Thrombose ⁴	35/35	40 (MW)/17-56	5,7	0.013	8.4/1.58-45
Großbritannien (94)	Abdominalvenen- thrombose und Milzinfarkt	-/1	15	heterozygot ⁵		Fallbericht

¹einschließlich Patienten mit zusätzlichen hereditären Risikofaktoren (Protein C-, Protein S- oder Antithrombin-Mangel, FV G1691A-Mutation); ²inklusive 2 homozygote Patienten; ³Subgruppenanalyse von 96 jungen Patienten (keine Altersangabe), OR 1.3/0.3-5.0; ⁴inklusive KHK und peripherie arterielle Krankheiten; ⁵Einnahme oraler Kontrazeptiva; TIA, transitorisch-ischämische Attacke

Alter, MW oder Median und Bereich oder SD (nicht immer verfügbar); OR für den Vergleich mit einer Kontrollgruppe

Tabelle 3. Die FII G20210A-Mutation bei zerebrovaskulären Krankheiten und bei arteriellen Thrombosen unterschiedlicher Lokalisation

Die Faktor II G20210A-Mutation bei KHK und MI

Erste Hinweise auf die Bedeutung der FII G20210A-Mutation ergeben sich aus zwei neueren Studien, die eine Assoziation zwischen Vorliegen der Mutation und dem Risiko eines MI zeigen (91,92). Eine dieser Studien, in der Patientinnen unter 45 Jahren untersucht wurden, konnte die Mutation nur bei Patientinnen nachweisen, bei denen weitere Risikofaktoren für einen MI vorlagen. Alle Trägerinnen der Mutation rauchten (Träger in Patienten- und Kontrollgruppe: 5,1% zu 1,6% OR 4,0, 95%-CI 1,1-15,1). Die

zweite Studie ergab einen ähnlich signifikanten Unterschied zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe. Die Prävalenz betrug 3% bzw. 0,7%, $p=0,03$. Die Studie wurde an Patienten beiderlei Geschlechts durchgeführt. Es fand sich eine höhere Prävalenz der Mutation bei Patienten unter 45 Jahren verglichen mit älteren Patienten. Weiterhin gab es bei allen für das A-Allel heterozygoten Patienten mindestens einen weiteren Risikofaktor: Raucher, Diabetes, Hypertension, Hyperlipidämie. Bei Frauen war die Anzahl der Träger des Allels in der Patientengruppe mit MI über 45 Jahren höher als bei Männern, bei denen das A-Allel nur bei Patienten unter 45 Jahren gefunden wurde (92) (Tabelle 4).

Studienzentrum	Diagnose	n (m/w)	Alter (Jahre)	Träger (%)	p	OR/95%-CI
USA (91)	MI	-/79	40/18-44	5,1		4.0/1.1-15.1 ¹
Brasilien (92)	MI	124/96	38 (mittel)/17-45 60 (mittel)/46-82	3,2	0.03 ²	
Japan (76)	MI, Angina pectoris, tiefe Beinvenen- thrombose, Lungenembolie	93 (total)	57/21-79	0,0	-	
Österreich (93)	MI, KHK	79/19	männlich, 49±9 weiblich 53±12	männlich, 5,1 weiblich, 5,2	ns	
Italien (70)	MI, Angina pectoris	90 (total)	kA	3,3	ns	
Spanien (77)	MI, instabile Angina pectoris	74/27	63/34-85	4,0	ns	
USA (95)	MI, tiefe Beinvenenthrombose, Lungenembolie	1/-	24	homozygot ³		Fallbericht

¹starker Anstieg der OR in Kombination mit metabolischen Risikofaktoren; ²gleiches Vorkommen bei älteren wie jüngeren Individuen mit einem Trend zu höherem Vorkommen bei Männer > 45 Jahre; ³ebenso heterozygot für die FV-G1691A-Mutation

Alter, MW oder Median und Bereich oder SD (nicht immer verfügbar); OR für den Vergleich mit einer Kontrollgruppe

Tabelle 4. Die FII G20210A-Mutation bei KHK und MI

1.10 Inhalt und Zielsetzung der Dissertation

In der vorliegenden retrospektiven Fall-Kontroll-Studie wurde bei 241 jungen MI-Patienten (nur Männer im Alter von 35 bis 45 Jahren) die Genotypverteilung der FII G20210A-Mutation untersucht.

Ziel der Studie war es, zu klären, ob die FII G20210A-Mutation alleine oder in Kombination mit anderen Risikofaktoren ein erhöhtes Risiko für MI darstellt.

Die Auswahl des Kollektivs erfolgte, weil eine Risikoassoziation eines Genotyps mit MI bei jungen Menschen besser zu erfassen ist, da die Prävalenz anderer interferierender kardiovaskulärer Risikofaktoren niedrig ist (96,97). Als Vergleichskollektiv dienten 239 gesunde Personen.

Bei Patienten und Vergleichspersonen wurden neben der FII G20210A-Mutation zahlreiche labordiagnostische und klinische Risikofaktoren untersucht, insbesondere auch die FV G1691A-Mutation, ein für venöse Thrombosen etablierter Risikofaktor.

Verglichen wurden darüber hinaus klinische und labordiagnostische Charakteristika von Trägern und Nicht-Trägern der Mutation.

2. Material und Methoden

2.1 Patienten- und Kontrollkollektiv

Für die vorliegende Studie wurden 241 Männer mit MI zwischen 35 und 45 Jahren, die zur koronaren Rehabilitation in die LVA-Klinik Salzetal, Bad Salzuflen, eingewiesen worden waren, untersucht. Der MI wurde auf der Grundlage der World Health Organization-Kriterien (98) diagnostiziert (retrosternale Schmerzen mit typischen EKG-Verlängerungen oder einem mindestens dreifachen Anstieg von Creatinkinase in der akuten Phase oder typischen Veränderungen in der Angiographie). Die Koronarangiographie wurde über den femoralen bzw. brachialen Standardzugang nach der Methode von Judkins (99) bzw. Sones (100) durchgeführt.

Patienten unter oraler Antikoagulation wurden nicht berücksichtigt. Hinsichtlich der Einnahme von Antihypertensiva, Thrombozytenaggregationshemmern und Antidiabetika wurden keine Einschränkungen gemacht. Zwei Wochen vor Blutentnahme wurden lipidsenkende Medikamente abgesetzt. Diabetiker wurden nicht untersucht.

Die 239 Kontrollpersonen stammten aus der PROCAM-Studie, die 1979 initiiert wurde (101). In dieser Studie wurden gesunde Beschäftigte westfälischer Betriebe auf kardiovaskuläre Risikofaktoren hin untersucht und blieben unter Beobachtung, um Mortalität, MI- und Schlaganfallinzidenz zu erfassen. Die Erstuntersuchung beinhaltete Anamnese, körperliche Untersuchung, Messung des Blutdruckes, Ruhe-EKG und eine umfassende Laboranalyse des venösen Blutes.

Definitionen:

- Hypertonus: bereits bekannt oder Blutdruck bei aktueller Messung >160/95
- Hypercholesterinämie: Gesamtcholesterin >250 mg/dl
- Raucher: bezogen auf den Zeitpunkt des Infarkts
- Positive Familienanamnese: Herzinfarkt vor dem 60. Lebensjahr bei mindestens einem erstgradigen Verwandten

2.2 Allgemeine Blutuntersuchungen

Die Blutabnahme aus einer Vene erfolgte vier bis sechs Wochen nach dem MI mit einem Entnahmesystem der Firma Sarstedt (Nümbrecht). Innerhalb von 2 Stunden nach Venenpunktion wurde das Citratblut (3,13%) bei Raumtemperatur für 15 Minuten bei 2500 x G zentrifugiert und das Plasma abpipetiert. Serum für klinische Untersuchungen wurde durch Zentrifugieren für 10 Minuten bei 3000 x G gewonnen. Nach der Aliquotierung in Kunststoffröhrchen wurden Plasma und Serum bei -70°C eingefroren. Für die DNA-Analyse wurde Blut in einer Ethylendiamintetraacetat-Monovette abgenommen.

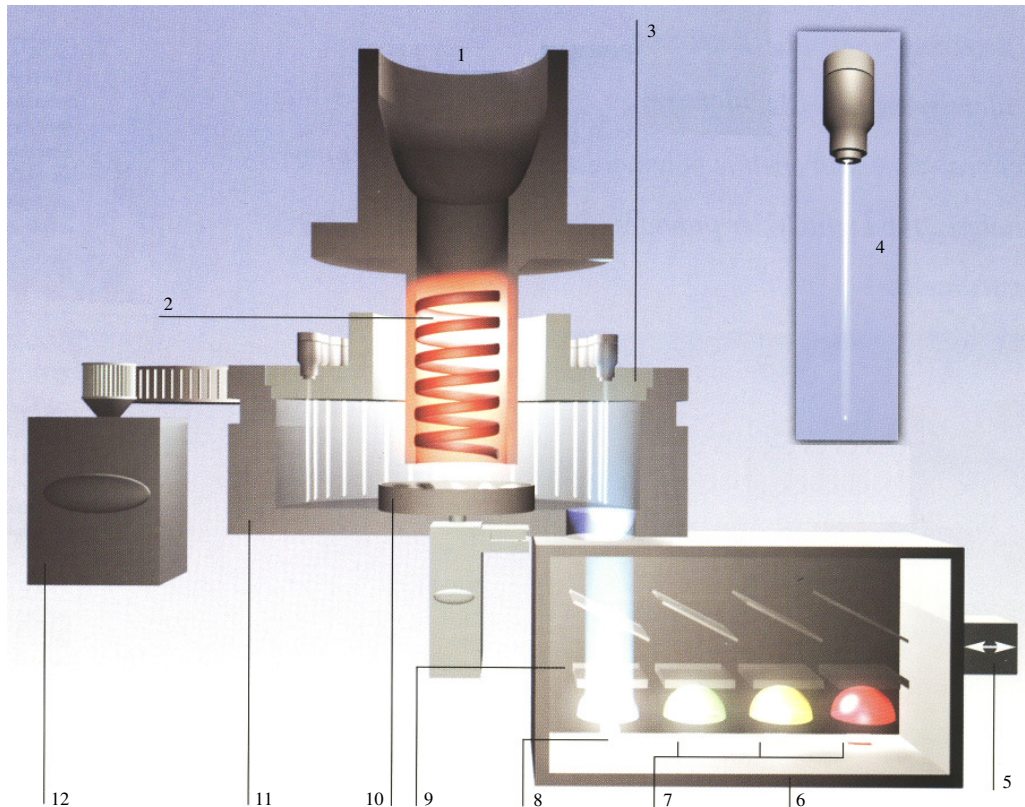
Fibrinogen wurde mit Hilfe des KC10 Gerinnungsanalysegerätes (Amelung, Lemgo) nach Clauss (102) unter Verwendung von Multifibren (Behring, Marburg) bestimmt. D-Dimere (Boehringer, Mannheim) und CRP (Eurogenetics, Tessenderlo, Belgien) wurden mit ELISA-Tests gemessen. Plasminogen wurde mit Hilfe eines chromogenen Tests (Behring) bestimmt. Die Messung von Gesamtcholesterin und Triglyceriden im Serum wurde mit einem Hitachi 737 Autoanalysegerät unter Verwendung von Reagenzien der Firma Boehringer durchgeführt. HDL-Cholesterinkonzentrationen wurden nach Präzipitation mit Phosphorwolframsäure/MgCl₂ (Boehringer) bestimmt. Die LDL-Cholesterinwerte wurden mit der Friedewaldformel ($LDL = \text{Gesamtcholesterin} - \text{Triglyzeride}/5 - HDL$) errechnet (103). Die PAI-1-Konzentration wurde mit kommerziellen Testkits (Behring) in einem Behring Chromotimer (Behring), alternativ in einem Roche Cobas Bio-Zentrifugalanalyser (Roche) ermittelt. Die Lipoprotein(a)-Konzentration wurde mittels Elektroimmunoiffusion unter Benutzung der Standards und Antiseren von Immuno (Heidelberg) bestimmt (104).

2.3 Genetische Untersuchungen

Bei den 241 jungen MI-Patienten und den 239 Kontrollpersonen wurde mit Hilfe des LightCycler Systems die Genotypverteilung der FII G20210A-Mutation bestimmt. FV G1691A wurde im Rahmen der Gesamtstudie ebenfalls genotypisiert.

LightCycler

Das LightCycler System (Roche, Mannheim) wurde entwickelt, um die Zeit, die benötigt wird, um Ergebnisse aus einer PCR zu gewinnen, zu minimieren und gleichzeitig die Aufzeichnung der Verstärkung des PCR-Produktes in Echtzeit zu ermöglichen. Abbildung 3 gibt eine Übersicht über das System (105).



- | | |
|--|---|
| 1 Luftheizung und -kühlung | 7 Photohybriden |
| 2 Heizspirale | 8 LED-Lichtquelle |
| 3 Karussell für 32 Proben | 9 Filter |
| 4 Geschlossene 20 µl Borosilikat-Glas-Kapillare | 10 Ventilator |
| 5 Schrittmotor zur Positionierung des Fluorimeters | 11 Heizkammer |
| 6 Mikrovolumenfluorimeter | 12 Schrittmotor zur Positionierung der Proben |

Abbildung 3. Das LightCycler System (105)

Im LightCycler-System werden die PCR-Temperaturwechsel nicht über einen Wasser-, sondern über einen Luftaustauscher erreicht. Da Luft praktisch keine Masse besitzt, kann der Temperaturwechsel sehr schnell erfolgen. Die Luft wird durch eine Heizspirale erhitzt, die durch Wärmetauscher in einer Heizkammer gesteuert wird. Auf diese Weise können Temperaturen mit einer Genauigkeit von $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ erreicht werden. Die Kammertemperatur kann mit einer Geschwindigkeit von bis zu 20°C pro Sekunde geändert werden.

Die PCR findet in Borosilikat-Glas-Kapillaren mit einem Volumen von $20\ \mu\text{l}$ statt (Abbildung 4). Die Kapillaren haben einen hohen Oberflächen-Volumen-Quotienten, so daß ein schneller Ausgleich zwischen Luft- und Komponententemperatur gewährleistet ist. Ein PCR-Zyklus kann in weniger als 30 Sekunden ausgeführt werden. Eine komplette PCR mit 30-40 Zyklen dauert etwa 20-30 Minuten.



Abbildung 4. Borosilikat-Glas-Kapillaren (105)

Das Meßprinzip des LightCyclers basiert auf einer Fluoreszenzmessung, bei der die Intensität des durch ein Fluorophor produzierten Signals, dessen Größe in proportionalem Verhältnis zur Menge des PCR-Produktes steht, aufgezeichnet wird.

Die optische Einheit sendet blaue Lichtsignale aus einer $470\ \text{nm}$ LED-Lichtquelle auf die Kapillarenspitze der Probe im Lichtgang. Dadurch wird der Fluorophor in der Lösung in der Kapillare angeregt. Das fluoreszierte Licht wird über die Kapillarenspitze in die optische Einheit zurückgeleitet, wo es zu vorprogrammierten Zeitpunkten über eine Reihe von Spiegeln und Filtern in drei Kanäle mit spezifischer Wellenlänge

aufgetrennt wird. Am Ende jedes dieser Kanäle wird die Lichtintensität gemessen und für eine weitergehende Analyse durch die LightCycler-Software gespeichert. Auch Dualkanalanalysen sind möglich. Die Wellenlängen der drei Kanäle betragen 530 nm (Fluoreszin), 640 nm (LightCycler Red 640) und 710 nm (LightCycler Red 710).

In einem Durchlauf können bis zu 32 Proben analysiert werden. Diese befinden sich in 32 Kapillaren in einem Karussell, welches in der Heizkammer durch eine Präzisionsmechanik gedreht wird, die auch die optische Einheit ausrichtet. Die optimalen Positionen des Karussells und des Lichtgangs werden in einem jeder PCR vorausgehenden Suchprozeß für jedes Probenröhrchen ermittelt. In jedem Aufnahmezyklus werden die dabei ermittelten Positionen in µm-Genauigkeit wieder angefahren.

Mutationsnachweis mit dem Light-Cycler

Hybridisierungsverfahren

Für sequenzspezifische Analysen mittels PCR und dem LightCycler-System wurde ein Hybridisierungsverfahren entwickelt, welches zur DNA-Erkennung wie zur Quantifizierung mit maximaler Spezifität zwei Oligonukleotide nutzt, die mit unterschiedlichen Farbstoffen markiert sind. Die beiden Nukleotidketten sind so gewählt, daß sie in einer Kopf-an-Fuß-Formation an der Zielsequenz hybridisieren, wobei die Farbstoffe äußerst nah beieinanderliegen. Einer dieser Farbstoffe, das Fluoreszin, der Donor, wird durch die blaue LED-Lichtquelle (mittlere Wellenlänge: 470 nm) des LightCyclers angeregt, woraufhin er Licht einer etwas längeren Wellenlänge (530 nm) emittiert. Befinden sich die beiden Farbstoffe in großer Nähe, wird der Akzeptorfarbstoff, der sich auf der zweiten Nukleotidkette befindet, von der durch den Donor emittierten Energie angeregt und beginnt seinerseits Licht in einem anderen, ihm spezifischen Frequenzband auszusenden. Dieser als FRET bekannte Effekt hängt stark von der räumlichen Nähe der beiden beteiligten Farbstoffe ab. Die Energie des Donors kann nur in ausreichendem Maß an den Akzeptor übertragen werden, wenn die beiden sich nicht weiter als ein bis fünf Nukleotide voneinander entfernt befinden. Die Leuchtdichte des vom Akzeptor emittierten Lichts ist direkt proportional zur Anzahl der während der PCR gebildeten DNA-Stränge.

Abbildung 5 veranschaulicht das Hybridisierungsverfahren. a) Die Hybridisationsprobe 1 ist am 3'-Ende mit Fluoreszin (Donor) markiert, während Probe 2 am 5'-Ende mit LightCycler Red 640 (Akzeptor) markiert ist. Die Hybridisierung findet nicht während der Denaturierungsphase statt, weshalb auf dem 640 nm Band keine Energieabgabe gemessen werden kann. b) Wenn auf der Ziel-DNA hybridisierte Probenoligonukleotide mit ihren beiden Farbstoffen in Kopf-zu-Fuß-Formation sich nah genug aneinander befinden, lösen sie einen FRET aus. Das Fluoreszin wird von der LightCycler-LED-Lichtquelle angeregt und emittiert in Folge grünes Licht, welches wiederum das LightCycler Red 640 anregt rotes Licht auszusenden, dessen Intensität auf Kanal 2 der optischen Einheit des LightCyclers zum Ende der Annäherungsphasen gemessen wird. c) Nach der Annäherungsphase wird die Temperatur erhöht, und die Hybridisationsproben werden während der Synthesephase (elongation step) durch den komplementären DNA-Strang ersetzt. d) Am Ende dieser Phase liegt die DNA doppelsträngig vor und die Farbstoffe der Hybridisationsproben befinden sich zu weit von einander entfernt um einen FRET zu erlauben (105).

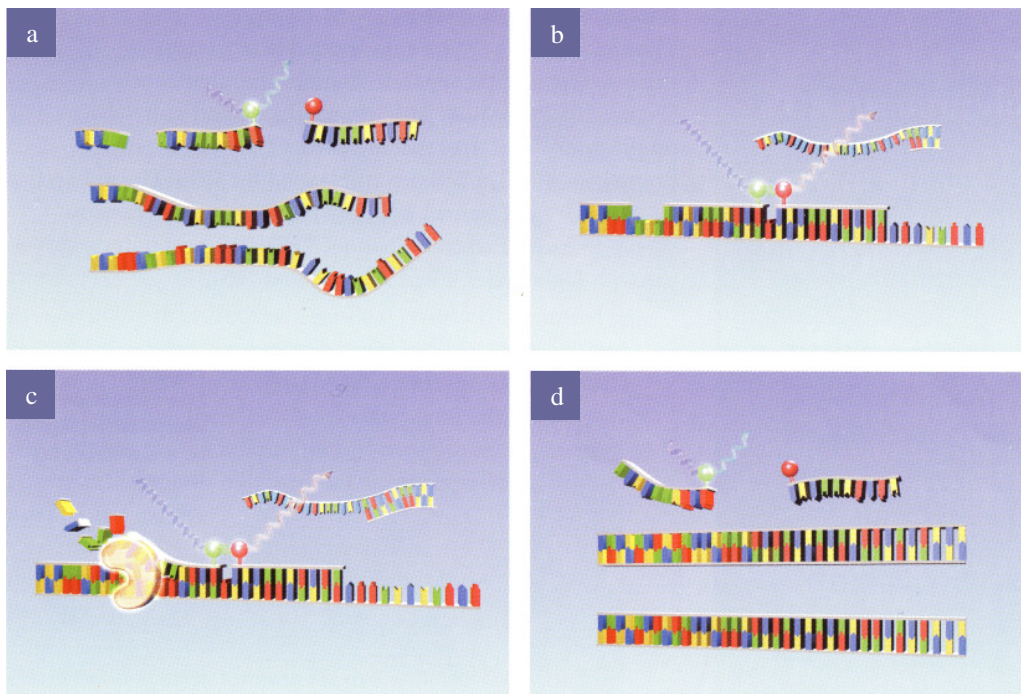


Abbildung 5. a) Markierung der Hybridisationsproben; b) Ziel-DNA hybridisieren Probenoligonukleotide; c) Die Hybridisationsproben werden durch den komplementären DNA-Strang ersetzt; d) Ende der Synthesephase (105)

Schmelzkurvenanalyse

Jede doppelsträngige DNA-Sequenz besitzt einen spezifischen Schmelzpunkt T_M , welcher als die Temperatur definiert ist, zu der genau 50% der DNA-Sequenz doppelsträngig und 50% einzelsträngig vorliegen. Der T_M ist am stärksten durch die Länge der DNA und die Anzahl der GC-Paarungen determiniert. Letzteres kann einen Unterschied von bis zu 40°C zwischen wenigen GC-Paarungen und vielen GC-Paarungen ausmachen. Die Messung des T_M ist also vergleichbar mit der Messung der Länge der amplifizierten DNA-Fragmente bei einer Gel-Elektrophorese. Das LightCycler-System bietet jedoch den Vorteil, daß die T_M -Messung im gleichen Probenröhrchen durchgeführt wird wie die PCR, sodaß sich eine Öffnung der Probe erübrigt und das Risiko der Kontamination gesenkt wird.

Diese Schmelzkurvenanalyse findet im Anschluß an die PCR statt. Die Temperatur in der Heizkammer wird langsam erhöht, wobei in zeitlichem Abstand wiederholt Fluoreszenzmessungen durchgeführt werden (z.B. alle 0,2°C). Dadurch kann das Schmelzverhalten der DNS in den Kapillaren sehr genau untersucht werden. Sobald die dsDNS in der Probe denaturiert, und eine der FRET-Hybridisierungsproben freigesetzt wird, verringert sich das Fluoreszenzverhalten und damit die gemessene Leuchtdichte.

Kombination von Schmelzkurvenanalyse und Hybridisierungsverfahren

Die Kombination der Schmelzkurvenanalyse mit dem Hybridisierungsverfahren bietet eine Möglichkeit zur Genotypisierung von SNPs und zur Mutationserkennung. Das LightCycler-System ermöglicht die eindeutige Diskriminierung durch Beobachtung der temperaturabhängigen Anlagerung der Hybridisationsproben an die einzelsträngige DNA, während gleichzeitig die Schmelzkurvenanalyse durchgeführt wird. Die Schmelztemperatur ist nicht nur abhängig von der Länge der DNA und von der Anzahl der GC-Paarungen, sondern auch vom Grad der Homogenität zwischen den Strängen. DNA mit Fehlpaarungen ist weniger stabil als DNA ohne Fehlpaarungen. Letztere besitzen also eine höhere Schmelztemperatur, wodurch die Messung der T_M zur Genotypisierung von SNPs und zur Analyse von Mutationen eingesetzt werden kann (Abbildung 6).

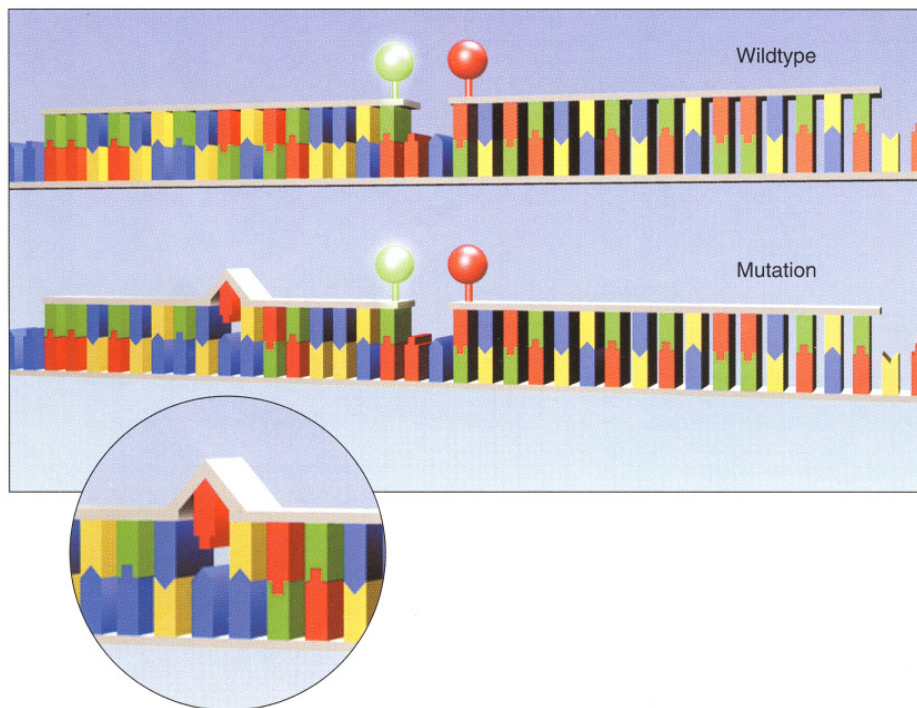


Abbildung 6. Schematische Darstellung einer Mutationsanalyse (105)

Bei Mutationsanalysen hybridisiert eine mit LC Red markierte Hybridisationsprobe an einen nicht mutierten Teil der Zielsequenz. Diese Probe dient als Anker. Die andere Probe, die mit einem anderen Fluorophor (z.B. Fluoreszin) markiert ist, überlagert den Mutationsort. Nach der Anlagerung an die Template-DNA befinden sich die beiden Proben sehr nah beieinander, was zu einem FRET zwischen den beiden Fluorophoren führt. Während der Schmelzkurvenanalyse bedingt die Erhöhung der Temperatur eine Senkung des Fluoreszenz, da, sobald sich die kürzere der beiden Proben, die Mutationsprobe, löst, die Fluorophore sich nicht mehr in starker räumlicher Nähe befinden. Liegt eine Mutation vor, destabilisiert die Fehlpaarung der Mutationsprobe mit der Template-DNA den Hybriden, sodaß die Fluoreszenzabnahme bei einer niedrigeren Temperatur erfolgt. Mit der Wildtyp-DNA gibt es keine Fehlpaarungen und der Hybrid hat einen höheren T_M .

Nachweis der Faktor II G20210A-Mutation

Die FII G20210A-Einzelpunktmutation kann mittels der mit LightCycler-Red-640 markierten Hybridisationsprobe mit dem FII (G20210A)-Mutation-Detection-Kit ermittelt werden. Nachdem die PCR abgeschlossen ist, wird eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Der Graph der ersten negativen Ableitung der bei 640 nm fluoreszierenden Leuchtdichte über der Temperatur $-(dF2/dT)$ zeigt einen oder zwei Peaks mit unterschiedlichem T_M . Die vollständig homologe Sequenz des Wildtyps besitzt eine höhere Schmelztemperatur als die Sequenz mit der Fehlpaarung, die Mutationsprobe. Bei Proben, die beide Sequenzen aufweisen (heterozygote Genotypen), zeigt der Graph zwei Peaks bei den gleichen Temperaturen, an denen auch die jeweiligen homozygoten Sequenzen Peaks zeigen. Die Anwesenheit spezifischer DNA-Sequenzen wird durch die Verwendung von Positivproben bestätigt, welche unter den gleichen Bedingungen wie die unbekanntes DNA-Sequenzen während einer PCR amplifiziert werden (Abbildung 7).

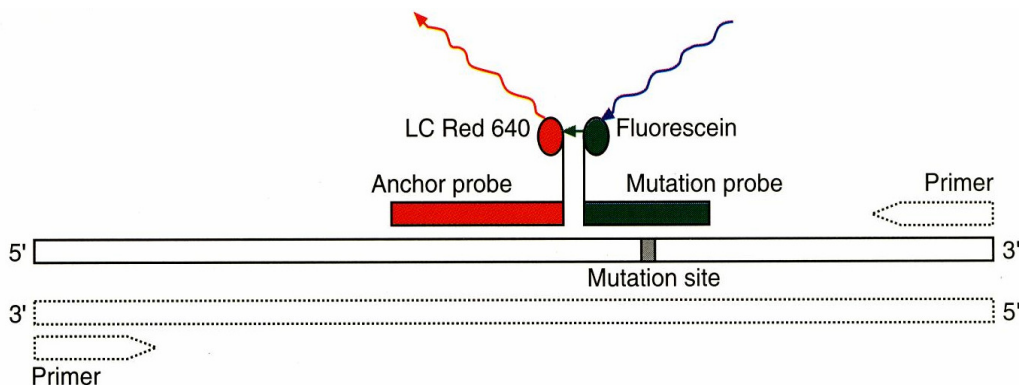


Abbildung 7. Schematische Darstellung eines FII-PCR-Fragments (105)

Abbildung 8 zeigt eine Schmelzkurvenanalyse der drei möglichen Genotypen der FII G20210A-Sequenz. Auf der Ordinate erscheint die erste negative Ableitung der Fluoreszenz des LightCycler-Red 640 (LightCycler Fluoreszenzkanal 2 (F2)) über der Temperaturänderung $-d(F2)/dT$.

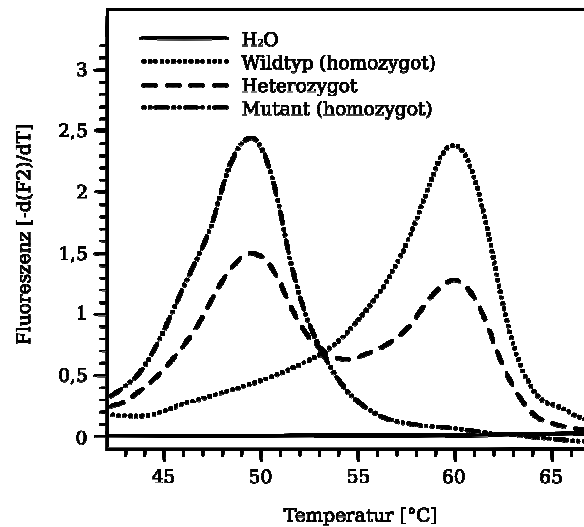


Abbildung 8. Schmelzkurvenanalyse der drei möglichen Genotypen der FII G20210A-Sequenz (121)

Der Graph zeigt zwei Peaks bei den Schmelzpunkten $T_{M1}=59^{\circ}\text{C}$ und $T_{M2}=49^{\circ}\text{C}$. Homozygote Typen besitzen nur einen Peak bei T_{M1} bzw. T_{M2} entsprechend ihres Genotyps (Wildtyp: T_{M1} , Mutant: T_{M2}). Heterozygote zeigen hingegen zwei kleinere Peaks bei den gleichen Schmelzpunkten. Als Negativkontrolle wurde die Template-DNA durch aufgereinigtes Wasser (H_2O) ersetzt. Die Ergebnisse sind noch einmal in Tabelle 5 zusammengefasst.

	Schmelzpunkte (Anzahl)	T_M der Schmelzpunkte ($^{\circ}\text{C}$)	delta T ($^{\circ}\text{C}$)
FII G20210G	1	59	-
FII G20210A	2	59/49	10
FII A20210A	1	49	-

Tabelle 5. Zusammenhang zwischen Schmelzpunkt und Genotyp

2.4 Qualitätskontrolle

Als Negativkontrolle wurde bei der Bestimmung der G20210A-Mutation ein Ansatz mitgeführt, der an Stelle von DNA die entsprechende Menge H₂O enthielt. Bei nicht eindeutigen PCR-Ergebnissen wurde der Ansatz wiederholt.

2.5 Statistische Verfahren, Definitionen und Auswertung

Die statistischen Analysen erfolgten mit Hilfe der SPSS for UnixSoftware (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), Version 6.1. Normalverteilte Daten wurden durch MW und SD beschrieben, nicht-normalverteilte Variablen durch Median und Variationsbreite. Die Daten wurden altersadjustiert.

Zum Vergleich von MW normalverteilter Daten wurde der zweiseitige Student t-Test angewendet, in nicht-normalverteilte Daten wurden zuvor logarithmiert. Proportionale Unterschiede der Genotypverteilung zwischen Untergruppen wurden mit dem Pearson χ^2 -Test mit Yates-Korrektur auf Signifikanz geprüft. Die OR für das MI-Risiko bei Präsenz des G20210A-Mutation wurde errechnet und mit 95%-CI dargestellt.

Als Signifikanzniveau der statistischen Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von <5% ($p < 0,05$) festgelegt.

Zunächst wurden von MI-Patienten und Kontrollpersonen die Populationscharakteristika gegenübergestellt. Im nächsten Schritt wurden die Genotypenverteilungen von Patienten- und Kontrollgruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppen für das Vorliegen verschiedener Risikofaktoren (getrennt für Nichtraucher und Raucher, für Personen mit und ohne MI in der Familie, mit und ohne Angina pectoris, mit und ohne Diabetes mellitus, mit und ohne Hypertonus, sowie mit und ohne Hypercholesterinämie) verglichen. Ergänzend wurden Populationscharakteristika von Trägern und Nicht-Trägern der Mutation dargestellt sowie die Träger im Detail klinisch und labordiagnostisch beschrieben.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenmerkmale

Ingesamt wurden in der vorliegenden Fallkontrollstudie 241 Männer, die im Alter von 35-45 Jahren ihren ersten MI hatten, für die FII G20210A-Mutation genotypisiert. Das Kontrollkollektiv (Vergleichsgruppe) bestand aus 239 offensichtlich gesunden Personen. Anamnestische Daten sowie zahlreiche technische und Labormeßwerte von Patienten und Kontrollpersonen wurden erfaßt und ausgewertet.

Tabelle 6 stellt eine Anzahl möglicher pathologischer Risikoparameter im Vergleich der Patienten- gegen Kontrollgruppen als MW oder prozentual dar.

Die Analyse der überprüften Merkmale ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollpersonen bei diastolischem Blutdruck, der Lipoprotein(a)- und PAI-1-Konzentration.

Zu eindeutig signifikanten Unterschieden ($p < 0,05$) führten dagegen die Vergleiche zwischen Patienten und Kontrollpersonen bei allen anderen Merkmalen (Alter, Gesamtcholesterin, BMI, Raucher, positive Familienanamnese, Angina pectoris, Hypertonus, Hypercholesterinämie, systolischem Blutdruck, HDL- sowie LDL-Cholesterin, D-Dimer, Triglyzerid-, Fibrinogen-, CRP- und Plasminogen-Konzentration).

Insbesondere soll hier auf das Risikoverhältnis bzw. auf die Prävalenz zwischen Patienten und Kontrollen bei den folgenden kardialen Risikofaktoren „Raucher“, „positive Familienanamnese“, „Angina pectoris“, „Hypertonus“ und „Hypercholesterinämie“ hingewiesen werden. So liegt das MI-Risiko z.B. bei Rauchern 13,9-fach (95%-CI: 8,7-22,2) höher als bei Nichtrauchern; und bei Personen mit Hypertonus beträgt die Relation zwischen Patienten und Kontrollen 6,4-fach (95%-CI: 3,6-11,2) zu 1. Der entsprechende Anteil bei Patienten mit Angina pectoris zur Kontrolle beträgt 2,32-fach (95%-CI: 2,1-2,6) zu 1.

Variablen	Patienten (n=241)	Kontrolle (n=239)	p	OR (95%-CI)
Alter (Jahre)	38,6±4,4	34,9±7,1	0,001	
Blutdruck, syst. (mm Hg)	120,7±12,4	125,0±12,4	0,001	
Blutdruck, diast. (mm Hg)	79,0±7,1	79,1±8,4	ns	
Ges.-Cholesterin (mg/dl)	238,1±51,3	210,8±40,9	0,001	
HDL-Cholesterin (mg/dl)	36,2±8,6	48,6±12,0	0,001	
LDL-Cholesterin (mg/dl)	168,5±45,9	137,2±34,1	0,001	
Triglyzeride (mg/dl)	137 (44-862)	92 (27-1823)	0,001	
Lipoprotein(a) (mg/dl)	14 (0-174)	13 (0-174) ¹	ns	
BMI (kg/m ²)	26,7±3,5	25,8±3,5	0,001	
Fibrinogen (g/l)	282,5±60,9	257,1±47,0	0,001	
Plasminogen (%)	98,2±20,1	96,5±13,7	0,036	
PAI-1 (U/l)	2,9 (0,0-21,3)	2,5 (0,0-23,0) ²	ns	
D-Dimer (ng/ml)	281 (57-1280)	252 (80-933)	0,007	
CRP (mg/l)	0,7 (0,0-25,0)	0,5 (0,1-17,5) ³	0,003	
Raucher	210 (87,5%)	80 (33,5%)	0,001	13,9 (8,7-22,2)
Positive Familienanamnese	110 (49,5%)	39 (16,3%)	0,001	5,0 (3,3-7,8)
Angina pectoris	59 (24,5%)	0 (0%)	0,001	2,3 (2,1-2,6)
Hypertonus	79 (32,8%)	17 (7,1%)	0,001	6,4 (3,6-11,2)
Hypercholesterinämie	86 (36,9%)	39 (16,3%)	0,001	3,0 (1,9-4,6)

¹n=114; ²n=117; ³n=164

Angegeben sind MW±SD bzw. Median und Spannweite der Meßwerte und/oder der Anteil der Patienten und Kontrollen. Die Auswertung von Triglyzeriden, Lipoprotein(a), PAI-1, D-Dimer und CRP erfolgte nach Logarithmierung der Daten. Die Vergleiche jeweils für zwei unabhängige Gruppen/Merkmale wurden mit dem Student's t-Test oder mittels des χ^2 -Tests nach Pearson durchgeführt. In letzterem Fall wurden zusätzlich die OR und das 95%-CI bestimmt.

Tabelle 6. Populationscharakteristika von Patienten und Kontrollen

3.2 Faktor II- und Faktor V-Genotypisierung - Gesamtkollektiv

Bei der Genotypverteilung von Patienten und Kontrollpersonen gab es keine signifikanten Unterschiede, wie Tabelle 7 darlegt. Es wurde weder für FII noch für FV homozygote Träger der Mutation bei Patienten oder Kontrollen identifiziert.

Faktoren	Genotyp	Patienten	Kontrollen	p	OR (95%-CI)
FII G20210A	GG	223 (99,1%)	230 (98,3%)	ns	0,5 (0,1-2,8)
	GA	2 (0,9%)	4 (1,7%)		
FV G1691A	GG	220 (91,3%)	218 (92,8%)	ns	1,2 (0,6-2,4)
	GA	21 (8,7%)	17 (7,2%)		

Angegeben sind die Anzahl bzw. der Anteil der Patienten und Kontrollen mit dem jeweiligen Genotyp. Der Vergleich der Häufigkeiten der einzelnen Genotypen erfolgte mittels χ^2 -Tests nach Pearson oder Fisher's exact Test. Zusätzlich wurden die OR und das 95%-CI bestimmt.

Tabelle 7. Verteilung der Faktor II G20210A- und der Faktor V G1691A-Genotypen

3.3 Faktor II-Genotypisierung - Teilkollektive

Tabelle 8 enthält die Verteilung von FII G20210A-Genotypen in Teilkollektiven der Patienten und Kontrollgruppen.

Die Unterschiede der Häufigkeiten in Bezug auf die Genotypen sind zwischen den verglichenen Teilkollektiven der Patienten und der Kontrollen bei allen untersuchten Variablen statistisch nicht signifikant.

Variablen	FII G20210A	Patienten	Kontrollen	p	OR (95%-CI)
Nichtraucher	GG	29	153	ns	1 (Referenz)
	GA	0	2		--
Raucher	GG	193	77	ns	13,2 (8,2-21,3)
	GA	2	2		5,3 (0,7-38,9)
Negative Familienanamnese	GG	102	194	ns	1 (Referenz)
	GA	1	2		0,9 (0,1-10,6)
Positive Familienanamnese	GG	102	36	ns	5,4 (3,4-8,4)
	GA	1	2		0,9 (0,1-10,6)
Keine Angina pectoris	GG	169	230	ns	1 (Referenz)
	GA	0	4		--
Angina pectoris	GG	51	0	--	--
	GA	1	0		--
Kein Hypertonus	GG	150	213	ns	1 (Referenz)
	GA	73	17		0,7 (0,1-3,9)
Hypertonus	GG	2	4	--	6,1 (3,4-10,7)
	GA	0	0		--
Keine Hypercholesterinämie	GG	137	192	ns	1 (Referenz)
	GA	2	4		0,7 (0,1-3,9)
Hypercholesterinämie	GG	79	38	--	2,9 (1,9-4,5)
	GA	0	0		--

Angegeben sind die Anzahl bzw. der Anteil der Patienten und Kontrollen mit dem jeweiligen Genotyp. Der Vergleich der Häufigkeiten der einzelnen Genotypen erfolgte mittels χ^2 -Tests nach Pearson oder Fisher's exact Test. Zusätzlich wurden die OR und das 95%-CI bestimmt.

Tabelle 8: Verteilung der Faktor II G20210A-Genotypen bei Patienten- und Kontroll-Teilkollektiv

3.4 Faktor V-Genotypisierung - Teilkollektive

Tabelle 9 enthält die Verteilung der FV G1691A Genotypen in Teilkollektiven der Patienten und Kontrollgruppen.

Die Unterschiede der Häufigkeiten in Bezug auf die Genotypen sind zwischen den verglichenen Teilkollektiven der Patienten sowie der Kontrollen bei den untersuchten Merkmalen statistisch nicht signifikant.

Variablen	Faktor V G1691A	Patienten	Kontrollen	p	OR (95%-CI)
Nichtraucher	GG	24	144	ns	1 (Referenz)
	GA	6	12		3,0 (1,0-8,8)
Raucher	GG	196	74	ns	15,9 (9,6-26,4)
	GA	14	5		16,8 (5,5-50,9)
Negative Familienanamnese	GG	100	183	ns	1 (Referenz)
	GA	12	14		1,6 (0,7-3,5)
Positive Familienanamnese	GG	103	35	ns	5,4 (3,4-8,4)
	GA	7	3		4,3 (1,1-16,9)
Keine Angina pectoris	GG	164	218	ns	1 (Referenz)
	GA	14	17		1,1 (0,5-2,2)
Angina pectoris	GG	52	0	--	-
	GA	7	0		-
Kein Hypertonus	GG	150	203	ns	1 (Referenz)
	GA	12	15		1,1 (0,4-2,3)
Hypertonus	GG	70	15	ns	6,3 (3,5-11,5)
	GA	9	2		6,1 (1,3-28,6)
Keine Hypercholesterinämie	GG	136	184	ns	1 (Referenz)
	GA	11	13		1,1 (0,5-2,6)
Hypercholesterinämie	GG	78	34	ns	3,1 (1,9-4,9)
	GA	8	4		2,7 (0,8-9,2)

Angegeben sind die Anzahl bzw. der Anteil der Patienten und Kontrollen mit dem jeweiligen Genotyp. Der Vergleich der Häufigkeiten der einzelnen Genotypen erfolgte mittels χ^2 -Tests nach Pearson oder Fisher's exact Test. Zusätzlich wurden die OR und das 95%-CI bestimmt.

Tabelle 9. Verteilung der Faktor V G1691A-Genotypen bei Patienten- und Kontroll-Teilkollektiv

3.5 Vergleich der Populationscharakteristika abhängig von der Faktor II G20210A-Mutation

In Tabelle 10 werden Populationscharakteristika von Trägern und Nichtträgern der FII G20210A-Mutation innerhalb der Patienten- bzw. der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

In keiner Gruppe konnte ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die angegebenen Parameter ermittelt werden.

Variablen	Patienten			Kontrollen		
	<u>FII G20210G</u>	<u>FII G20210A</u>	p	<u>FII G20210G</u>	<u>FII G20210A</u>	p
Alter (Jahre)	38,5±4,4	35,0±8,5	ns	34,7±7,1	38,3±3,4	ns
Blutdruck, syst. (mm Hg)	120,9±12,4	113,3±7,9	ns	124,7±12,4	126,3±6,3	ns
Blutdruck, diast. (mm Hg)	79,1±7,1	76,7±4,7	ns	79,0±8,5	77,5±6,5	ns
Ges.-Cholesterin (mg/dl)	238,1±51,6	192,5±37,5	ns	211,0±41,2	190,0±25,2	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	36,3±8,8	40,5±7,8	ns	48,8±11,9	42,8±12,6	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	168,7±46,4	111,5±16,3	ns	137,1±34,2	132,0±32,5	ns
Triglyzeride (mg/dl)	138 (44-629)	204 (101-307)	ns	93 (27-1823)	73 (48-111)	ns
Lipoprotein(a) (mg/dl)	14 (0-174)	24 (0-47)	ns	12 (0-174)	25 (9-102)	ns
BMI (kg/m ²)	266,4±34,0	260,7±1,5	ns	257,3±34,1	276,5±56,1	ns
Fibrinogen (g/l)	281,0±59,6	338,0±52,3	ns	257,6±47,1	261,8±67,1	ns
Plasminogen (%)	98,7±19,7	103,2±29,8	ns	96,3±13,8	101,3±5,8	ns
PAI-1 (U/l)	3,0 (0,0-21,3)	2,1 (2,0-2,2)	ns	2,5 (0,0-23,0)	2,0 (0,0-3,2)	ns
D-Dimer (ng/ml)	278 (57-1280)	187 (85-289)	ns	252 (80-933)	329 (238-498)	ns
CRP (mg/l)	0,7 (0,0-25,0)	1,2 (0,6-1,9)	ns	0,4 (0,1-17,5)	0,8 (0,4-2,3)	ns

Angegeben sind MW±SD bzw. Median und Spannweite der Meßwerte. Der Vergleich von Triglyzeriden, Lipoprotein(a), PAI-1, D-Dimer and CRP erfolgte nach Logarithmierung. Bei den Vergleichen kam der Student's t-Test zum Einsatz.

Tabelle 10. Ergebnisse der überprüften Merkmale von Patienten und Kontrollpersonen bezüglich des Faktor II G20210A-Genotyp

3.6 Vergleich der Populationscharakteristika abhängig von der Faktor V G1691A-Mutation

In Tabelle 11 werden Populationscharakteristika von Trägern und Nichtträgern der FV G1691A-Mutation innerhalb der Patienten- bzw. der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

In den Patiententeilgruppen unterscheiden sich die Triglyzerid- und D-Dimer-Werte signifikant, und in der Kontrollteilgruppen nur die D-Dimer-Werte. In keiner der beiden Gruppen zeigten sich sonst signifikanten Unterschiede im Hinblick auf anderen angegebenen Parameter.

Variablen	Patienten			Kontrollen		
	FV G1691G	FV G1691A	p	FV G1691G	FV G1691A	p
Alter (Jahre)	38,5±4,4	39,5±3,9	ns	34,8±7,1	34,6±6,6	ns
BMI (kg/m ²)	266,7±33,6	272,6±44,3	ns	255,8±32,0	279,6±53,5	ns
Blutdruck, syst. (mm Hg)	120,8±12,4	119,8±12,9	ns	125,0±12,4	123,8±12,9	ns
Blutdruck, diast. (mm Hg)	79,2±7,1	77,1±7,84	ns	78,9±8,4	81,25±8,47	ns
Ges.-Cholesterin (mg/dl)	237,6±50,3	243,3±62,4	ns	210,4±41,0	214,6±42,4	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	36,0±8,5	38,2±10,0	ns	49,2±11,7	44,1±15,2	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	168,3±44,9	171,4±57,4	ns	137,0±33,5	136,5±43,5	ns
Triglyzeride (mg/dl)	136 (46-862)	150 (44-629)	0,021	91 (27-1823)	147 (43-466)	ns
Lipoprotein(a) (mg/dl)	14 (0-174)	14 (0-128)	ns	14 (0-174)	8 (0-16)	ns
Fibrinogen (g/l)	285,0±61,8	254,6±42,0	ns	258,2±47,0	244,4±46,0	ns
Plasminogen (%)	98,1±20,2	98,6±19,5	ns	96,3±13,5	96,4±16,3	ns
PAI-1 (U/l)	3,0 (0,0-21,3)	2,6 (0,5-20,5)	ns	2,5 (0,0-23,0)	3,0 (0,4-11,3)	ns
D-Dimer (ng/ml)	268 (57-1280)	401 (98-1280)	0,023	249 (80-933)	332 (168-681)	0,008
CRP (mg/l)	0,8 (0,0-25,0)	0,6 (0,0-25,0)	ns	0,4 (0,1-17,5)	0,7 (0,2-8,0)	ns

Angegeben sind MW±SD bzw. Median und Spannweite der Meßwerte. Der Vergleich von Triglyzeriden, Lipoprotein(a), PAI-1, D-Dimer and CRP erfolgte nach Logarithmierung. Bei den Vergleichen kam der Student's t-Test zum Einsatz.

Tabelle 11. Ergebnisse der überprüften Merkmale von Patienten und Kontrollpersonen bezüglich der Faktoren Faktor V G1691G/A-Genotyp

3.7 Beschreibung der Faktor II G20210A-Träger

Für die zwei Patienten und vier Kontrollpersonen, die heterozygot für die FII G20210A-Mutation sind, sind die individuellen Charakteristika in Tabelle 12 dargestellt.

Bei der Gesamt-Cholesterin auffällig, daß Patient 2 und Kontrolle 2 oberhalb des Normwerts liegen. In Bezug auf das HDL-Cholesterin ist der Wert bei Patient 2 grenzwertig und bei Kontrolle 2 unterhalb des Normbereichs.

Kontrollperson zwei liegt auch bei LDL-Cholesterin über dem Referenzbereich. Der Meßwert von Lipoprotein(a) liegt für Patient 1 und Kontrollperson 3 weit über dem Normwert. Beim BMI überschreiten beide Patienten und Kontrollpersonen 2 bis 4 den Normwert.

Ferner sind bei Patient 2 sowohl der Fibrinogen- als auch Plasminogen-Wert erhöht. Bei der Untersuchung des D-Dimers wurde bei den Kontrollpersonen 2 bis 4 eine Erhöhung des Werts festgestellt. Für CRP zeigten sich pathologische Werte bei Patient 1 und 2 sowie bei Kontrolle 2 und 4. Die Frage, ob sie Raucher sind, wurde von Patient 1 und 2 sowie von den Kontrollpersonen 2 und 4 bejaht. Außerdem gaben die Kontrollpersonen 2 und 4 an, daß es bei Verwandten ersten Grades bereits einen MI gegeben hat.

Variablen	Referenzbereich*	Patienten		Kontrollpersonen			
		<u>1</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
Alter (Jahre)	-	29	41	43	37	38	35
Blutdruck, syst. (mm Hg)	< 140	113	113	120	125	125	135
Blutdruck, diast. (mm Hg)	< 90	73	80	80	70	75	85
Stenosierte KoronargefäÙe (n)	-	1	1	-	-	-	-
Ges.-Cholesterin (mg/dl)	< 200	166	219	160	221	194	185
HDL-Cholesterin (mg/dl)	> 35	46	35	56	26	47	42
LDL-Cholesterin (mg/dl)	< 155	100	123	94	173	135	126
Triglyzeride (mg/dl)	< 200	101	307	48	111	60	86
Lipoprotein(a) (mg/dl)	< 30	47	kA	25	9	102	kA
BMI (kg/m ²)	18,5-24,9	26,0	26,1	23,2	27,5	24,3	35,6
Fibrinogen (g/l)	180-350	301	375	166	319	294	268
Plasminogen (%)	75-120	82	124	94	108	100	102
PAI-1 (U/l)	0,3-3,5	2,0	2,2	2,0	3,2	0,0	kA
D-Dimer (ng/ml)	< 300	84,6	289,2	238,2	352,4	498,1	306,4
CRP (mg/l)	< 0,5	0,6	1,9	kA	2,3	0,4	0,8
Raucher	nein	ja	ja	nein	ja	nein	ja
Positive Familienanamnese	nein	ja	nein	nein	ja	nein	ja
Angina pectoris	nein	ja	kA	nein	nein	nein	nein
Hypertonus	nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein
Hypercholesterinämie	nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein
FV G1691A	GG („Wildtyp“)	GG	GG	GG	GG	GG	GG

Bei den quantitativen Laborparametern ist der entsprechende Referenzbereich angegeben, bei den anderen qualitativen Merkmalen gilt die Variable ohne kardiovaskuläres Risiko als „Referenz“. Werte auÙerhalb des Referenzbereichs bzw. die Risikovarianten sind grau unterlegt.

Tabelle 12: Detaillierte Beschreibung von Trägern der Faktor II G20210A-Mutation

3.8 Vergleich der Populationscharakteristika bei positiver und negativer Familienanamnese

Die folgende Tabelle 13 gibt die Ergebnisse aus dem Vergleich der untersuchten Merkmale innerhalb der Patientengruppen und der Kontrollen in Bezug auf eine negative bzw. positive Familienanamnese wieder. Als positive Familienanamnese gilt das Eintreten eines MI vor dem 60. Lebensjahr bei mindestens einem Verwandten 1. Grades.

In den Patientengruppen wurde bei keinem Merkmal ein signifikanter Unterschied zwischen negativer und positiver Familienanamnese festgestellt; dagegen fanden sich bei den Kontrollen signifikante Unterschiede im Bezug auf das Alter, Gesamtcholesterin, Triglyzeride, BMI, Plasminogen und PAI-1 (Tabelle 13).

Im Einzelnen unterschied sich das mittlere Alter der Patienten zwischen negativer und positiver Familienanamnese mit $39,0 \pm 4,5$ und $38,3 \pm 4,2$ Jahren statistisch nicht signifikant; dagegen bestand ein signifikanter Unterschied zwischen dem mittleren Alter in den Kontrollteilgruppen: das entsprechende mittlere Alter in diesen Untergruppen betrug $34,2 \pm 7,1$ Jahre bei den Probanden mit negativer Familienanamnese bzw. $38,5 \pm 5,6$ Jahre bei den Personen mit positiver Familienanamnese.

Beim Gesamtcholesterin lagen die mittleren Konzentrationen in den Patientenuntergruppen eindeutig höher als in den Vergleichsuntergruppen der Kontrollen. Die vorkommenden Differenzen innerhalb der beiden Untergruppen sind wie beim Alter vergleichbar. Ein signifikanter Unterschied ergab sich nur zwischen Personen mit negativer ($207,5 \pm 40,5$ mg/dl) und positiver ($227,4 \pm 39,4$ mg/dl) Familienanamnese in den Untergruppen des Kontrollkollektivs ($p=0,005$). Geringfügige Unterschiede bestehen dagegen zwischen den MW in den Patientenuntergruppen (negative Familienanamnese: $237,1 \pm 53,4$ mg/dl; positive Familienanamnese: $240,7 \pm 50,5$ mg/dl).

Das gleiche Ergebnis ergab sich zwischen Patienten und Kontrollen, was die gemessene Triglyzeridkonzentration anbetrifft. Bei annähernd gleichen MW in den Patientengruppen (negative Familienanamnese: $141/44-862$ mg/dl; positive Familienanamnese: $144/47-521$ mg/dl) fand sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,001$)

bei den Kontrollteilgruppen zwischen negativer und positiver Familienanamnese. Die entsprechenden Werte betragen: 89/27-1772 mg/dl bzw. 120/53-1823 mg/dl.

Für Plasminogen konnte eine nahezu gleiche Meßwertverteilung in den Patientenuntergruppen mit negativer und positiver Familienanamnese festgestellt werden; der Unterschied zwischen $98,6 \pm 20,4$ g/l und $97,8 \pm 20,0$ g/l war nicht signifikant. Demgegenüber unterschieden sich die gefundenen Meßwerte in den Kontrollteilgruppen signifikant ($p=0,001$). Die entsprechenden Werte betragen $95,3 \pm 13,5$ g/l und $103,0 \pm 13,1$ g/l.

Genauso verhielten sich die Meßwerte für die Variable PAI-1. Während sich in den Patientengruppen die gemessenen MW voneinander unterschieden, ergab ein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollen ($p=0,020$). Die entsprechenden Werte betragen in der Untergruppe mit negativer Familienanamnese $2,4/ 0,0-23,0$ U/l und in der Untergruppe mit positiver Familienanamnese $3,0/1,0-9,9$.

Variablen	Familienanamnese					
	Patienten			Kontrollen		
	negativ (n=112)	positiv (n=110)	p	negativ (n=200)	positiv (n=39)	p
Alter (Jahre)	39,0±4,5	38,3±4,2	ns	34,2±7,1	38,5±5,6	0,001
Blutdruck, syst. (mm Hg)	120,1±11,2	121,6±13,3	ns	125,4±12,5	123,2±11,9	ns
Blutdruck, diast. (mm Hg)	79,2±7,0	78,7±7,2	ns	135,1±34,1	148,7±31,9	ns
Ges.-Cholesterin (mg/dl)	237,1±53,4	240,7±50,5	ns	207,5±40,5	227,4±39,4	0,005
HDL-Cholesterin (mg/dl)	36,5±8,3	35,7±7,0	ns	49,0±12,0	46,7±12,1	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	120,1±11,2	121,6±13,3	ns	79,1±8,5	79,4±8,4	ns
Triglyzeride (mg/dl)	141 (44-862)	144 (47-521)	ns	89 (27-1772)	120 (53-1823)	0,001
Lipoprotein(a) (mg/dl)	13 (0-132)	14 (0-128)	ns	11 (0-174)	14 (0-167)	ns
BMI (kg/m ²)	26,8±3,2	26,8±3,7	ns	25,6±3,4	26,8±3,4	0,021
Fibrinogen (g/l)	280,0±56,4	287,2±65,0	ns	257,5±47,2	255,2±46,3	ns
Plasminogen (g/l)	98,6±20,4	97,8±20,0	ns	95,3±13,5	103,0±13,1	0,001
PAI-1 (U/l)	2,7 (0,0-20,5)	3,3 (0,0-21,3)	ns	2,4 (0,0-23,0)	3,0 (1,0-9,9)	0,020
D-Dimer (ng/ml)	286 (57-1280)	271 (81-1280)	ns	249 (98-933)	264 (80-698)	ns
CRP (mg/l)	0,7 (0,0-9,1)	0,8 (0,0-25,0)	ns	0,4 (0,1-17,5)	0,5 (0,1-2,3)	ns

Angegeben sind MW±SD bzw. Median und Spannweite der Meßwerte. Der Vergleich von Triglyzeriden, Lipoprotein (a), PAI-1, D-Dimer and CRP erfolgte nach Logarithmierung mit dem Student's t-Test.

Tabelle 13. Populationscharakteristika von Patienten und Kontrollen in Abhängigkeit von der Familienanamnese

4. Diskussion

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stand die Beantwortung der Frage, ob und in welchem Ausmaß die FII G20210A-Mutation allein oder in Kombination mit anderen Risikofaktoren an der Entstehung des MI beteiligt ist. Die Besonderheit der Studie liegt bei der Rekrutierung junger Patienten, da aufgrund der geringeren Ausprägung bzw. Häufigkeit etablierter Risikofaktoren in dieser Gruppe eine Gen-Krankheits-Assoziation deutlicher herausgearbeitet werden kann (96,97). An der Untersuchung nahmen 241 männliche Patienten im Alter zwischen 35 und 45 Jahre teil, die sich wegen eines vorangehenden MI in koronarer Rehabilitation befanden. Aus dem Projekt „PROCAM-Studie“ dienten 239 Personen ohne MI als Kontrolle. Im Folgenden werden die eigenen Ergebnisse diskutiert und mit entsprechenden Literaturangaben verglichen.

Bezüglich der untersuchten Variablen Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin lagen die MW bei den Patienten bei $238,1 \pm 51,3$, $36,2 \pm 8,6$ und $168,5 \pm 45,9$, bei den Kontrollpersonen bei $210,8 \pm 40,9$, $48,6 \pm 12,0$ und $137,2 \pm 34,1$ mg/dl. Damit lagen die gemessenen mittleren Werte für Gesamt- und LDL-Cholesterin signifikant höher bei den Patienten als bei den Kontrollen, die mittleren HDL-Cholesterinwerte verhalten sich umgekehrt. Ebenso sind die mittleren Werte für Fibrinogen und Plasminogen mit jeweils $282 \pm 60,9$ g/l bzw. $98,2 \pm 20,1$ g/l bei den Patienten signifikant höher als bei den Kontrollen mit jeweils $257 \pm 47,0$ g/l bzw. $96,5 \pm 13,7$ g/l. Wesentliche Unterschiede bestehen auch in Bezug auf die Variablen D-Dimer und CRP. Die entsprechenden Werte betragen bei den Patienten $281/57-1280$ ng/ml bzw. $0,7/0-25$ mg/l und bei den Kontrollpersonen $252/80-933$ ng/ml bzw. $0,5/0,1-17,5$ mg/l. Andere kardiovaskuläre Risikofaktoren wie positive Familienanamnese, Diabetes mellitus, Angina pectoris, Hypertonie, Hypercholesterinämie und Nikotinkonsum waren signifikant häufiger bei Patienten als bei den Kontrollen zu finden (Tabelle 6).

Familienstudien belegen die grundsätzliche Relevanz genetischer Risikofaktoren im Bezug auf die Entstehung von Stenosen bis zu thrombotischen Okklusionen in Koronararterien (106,107). Genetischen Mutationen von Proteinen, die an der Blutgerinnung unmittelbar beteiligt sind, kommt eine besondere Bedeutung für die Pathogenese akuter koronarer Prozesse zu (108-110). Als Ursachen arterieller Thrombosen werden in diesem Zusammenhang hereditäre Varianten von

Gerinnungsfaktoren (111-113) sowie der Methylentetrahydrofolsäure-Reduktase (106,114,115) in Betracht gezogen.

Schwerpunktmäßig wurden in der vorliegenden Studie neben den konventionellen Risikofaktoren für die Entstehung der KHK die genetischen Polymorphismen FII G20210A und FV G1691A auf ihre Risikoassoziation untersucht. Bezüglich der Genotypisierung von FII G20210A konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen festgestellt werden (Tabelle 7).

Die Ergebnisse einiger Studien weisen darauf hin, daß zwischen dem Vorkommen der FII-Mutation und dem Risiko für einen MI ein eindeutiger Zusammenhang besteht (10,6,116,117). Dieser zeigt sich in Kombination mit weiteren kardialen Risikofaktoren besonders deutlich (118-121). Rosendaal et al. zeigten beispielsweise an einer Subpopulation von jungen Frauen mit MI, daß die FII G20210A-Mutation zwar in Kombination mit anderen Faktoren auch einen wesentlichen Risikofaktor darstellt, isoliert betrachtet jedoch nicht (106,122). Diametral dazu ist die Meinung anderer Autoren, die diesbezüglich keine signifikante Korrelation fanden (117,123-126).

Unbestritten ist demgegenüber die Tatsache, daß die FII G20210A- und die FV G1691A-Varianten Risikofaktoren für venöse Thromboembolien darstellen (118-120,122,123,127,128). Die Prävalenz der FII-Mutation bei Patienten mit thrombotischen Erkrankungen variiert nach Literaturangaben zwischen 5 und 19% (73,114,128-133). Heterozygote Träger der FII G20210A-Variante haben dabei ein gegenüber dem Wildtyp ein etwa 2- bis 9-fach erhöhtes Thromboserisiko (114,123,130,131,134,135).

Auf welcher Weise die FII G20210A-Mutation bei veränderter Molekularstruktur eine Thromboembolie determiniert, ist allerdings bis dato noch offen. Vereinzelt wurde der Einfluß erhöhter Faktor II-Mengen auf das Gerinnungssystem und die Widerstandsfähigkeit des Endothels gegenüber Thrombosen nachgewiesen (136). Während dies für das venöse Gefäßsystem überzeugend bestätigt wurde (137), ist der Einfluß von FII G20210A im arteriellen Gefäßsystem bisher Gegenstand kontroverser Diskussionen (138-140).

Die geringe Prävalenz der Mutation stellt bei allen epidemiologischen Untersuchungen des FII-Polymorphismus einen Engpaß für klare Schlußfolgerungen dar. In der

kaukasischen Normalbevölkerung beträgt die Prävalenz der FII G20210A-Mutation bis zu 4% (114,121,122, 129-131,136,141,142). Innerhalb Europas läßt sich eine Zunahme von Nord nach Süd erkennen (103,143). Mit etwa 4% wurde auch die Prävalenz in der israelischen Normalbevölkerung veranschlagt. Dagegen war die FII-Mutation in asiatischen und afrikanischen Regionen selten zu finden (69,76).

Eine zusammenfassende Übersicht der Häufigkeit der FII G20210A-Mutation bei Patienten mit vorausgegangenem MI und entsprechenden Kontrollkollektiven in verschiedenen Ländern liefert Tabelle 14. Die hier aufgelisteten Häufigkeiten der Mutation für das Patientenkollektiv variieren zwischen 7% bei 83 untersuchten Personen und 1,9% bei einer Gruppe mit 560 Personen. Demzufolge sind diese Ergebnisse unterschiedlich valide zu bewerten. Auffällig ist allerdings, daß auch die Kontrollgruppen der erstgenannten Untersuchung mit 3,9% deutlich über der Frequenz anderer Untersuchungen liegen. Aus dem Vergleich zwischen Patienten und Kontrollen ergab sich ein signifikanter Unterschied in den Niederlanden mit einer OR von 4,2 (95%-CI: 1,2-14,5) und in Brasilien (OR: 4,8; 95%-CI: 1,0-23,4), bei den anderen Studien konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Um zuverlässige Ergebnisse zu ermöglichen, müssen daher sehr große Patientenkollektive untersucht werden.

Land	Patienten	Kontrollen	p	OR (95%-CI)	Autoren
USA	4/79 (5,1%) ¹	6/381 (1,6%)	0,053	3,3 (0,9-12,1)	Rosendaal et al. 1997
Israel	6/83 (7,2%) ²	6/166 (3,6%)	0,209	2,3 (2,1-2,6)	Inbal et al. 1997
Holland	10/560 (1,8%) ²	8/646 (1,2%)	0,434	1,5 (0,6-3,7)	Doggen et al. 1998
	7/173 (4,1%)	4/400 (1,0%)	0,021	4,2 (1,2-14,5)	Franco et al. 1999
Brasilien	7/220 (3,2%)	2/295 (0,7%)	0,042	4,8 (1,0-23,4)	Arruda et al. 1998
Italien	11/200 (5,5%)	8/200 (4,0%)	0,481	1,4 (0,5-3,6)	Ardissino et al. 1999

¹nur Frauen; ²nur Männer

Tabelle 14. Literaturangaben über die Häufigkeit der FII G20210A-Mutation bei Patienten mit MI (zusammengefaßt in 116)

Einige Autoren vermuten, daß nur die homozygote Form der FII-Mutation zu thrombotischen Ereignissen prädisponiert (136,144-146). Bisher gibt es nur vereinzelte Beschreibungen homozygoter Träger. Deshalb ist eine Einschätzung zu ihrem thrombogenen Risiko bislang nicht als zuverlässig zu betrachten (114,147,148). Das Vorkommen homozygoter FII G20210A-Träger in der Bevölkerung wird gegenwärtig auf nur 0,014-0,016% geschätzt. In der hier durchgeführten Studie wurden keine homozygoten Träger gefunden.

Beim Vergleich der Ausprägung verschiedener Risikofaktoren bei Trägern und Nichtträgern der Mutation innerhalb derselben Gruppe (Patienten und Kontrollen) konnte weder für die qualitativen noch für die quantitativen Merkmale ein Unterschied nachgewiesen werden (Tabellen 8 und 10).

Auch die FV-Mutation kommt als Risikofaktor für MI in Betracht. Die Überprüfung dieser Annahme soll im Folgenden diskutiert werden. Die Rolle der FV G1691A-Mutation ist bei der Entstehung arterieller Thrombosen, trotz zahlreicher Untersuchungen, bis dato nicht gänzlich geklärt (121,123-126,149). Möglicherweise führt erst das gleichzeitige Vorkommen einer genetischen Mutation mit anderen prothrombotischen Risikofaktoren zu einem Anstieg des Thromboserisikos. So haben heterozygote Träger der FV G1691A-Mutation ein hohes Risiko für das Eintreten eines MI, sobald andere Risiken (wie z.B. Nikotinabusus, metabolische Risikofaktoren) vorliegen (118,120).

Die eigenen Ergebnisse sind weitgehend mit Literaturstellen (106,114,123,150,151) vergleichbar, was die FV-Genotypisierung angeht. Homozygote Träger der Mutation wurden nicht gefunden. Die Zahl der Träger unterschied sich beim Vergleich von Patienten und Kontrollen nicht signifikant (Tabelle 7).

Beim Vergleich der Ausprägung verschiedener Risikofaktoren bei Trägern und Nichtträgern der Mutation innerhalb derselben Gruppe (Patienten bzw. Kontrollen) konnte für einige qualitative Merkmale ein Unterschied nachgewiesen werden (Tabelle 9). Bezüglich der quantitativen Ergebnisse zeigten sich jedoch in wenigen Fällen signifikante Unterschiede: Diese konnten bei den Patienten für die Variablen Triglyzeride und D-Dimer sowie in der Kontrollgruppe für D-Dimer festgestellt werden (Tabelle 11). Die in Tabelle 12 dargestellten Patientencharakteristika bei Trägern der

FII G20210A-Mutation lassen darüber hinaus kein klares Muster erkennen, so daß sich hieraus keine typische Risikokonstellation ableiten läßt.

Brüggemann (114) stellte bei 308 Blut- und Thrombozytenspendern fest, daß sich in der Familienanamnese der genetisch auffälligen Blutspender hoch signifikante Hinweise auf thrombembolische Ereignisse finden lassen. „Dies gilt insbesondere für Spender, die für die FII G20210A- oder die FV G1691A-Mutation heterozygot sind“. Unter Berücksichtigung der Familienanamnese fand sich aber lediglich in der Gruppe der Kontrollpersonen ein statistisch signifikanter Unterschied bei folgenden Merkmalen: Alter, Gesamtcholesterin, Triglyzeride, BMI, Plasminogen und PAI-1 (Tabelle 13). Dieses Ergebnis weist auf eine stärkere genetische Komponente bei der Regulation dieser Faktoren hin, die sich in einer familiären Häufung von MI widerspiegelt. Die Tatsache, daß in der Patientengruppe an keiner Stelle ein solcher Zusammenhang zu finden war, ist möglicherweise auf die zahlreichen Interaktionen der einzelnen Risikofaktoren und therapeutischer Maßnahmen nach dem akuten Ereignis zu verstehen, die eine klare Assoziation nicht mehr erkennen lassen.

Kritische Betrachtung

Polymorphismen sind Genvarianten, die bei über einem Prozent der Bevölkerung vorkommen. In vielen Fällen haben diese einen mittelbaren oder unmittelbaren Effekt auf Expression oder Funktionalität des betreffenden Genproduktes (Protein) zur Folge. Im Gegensatz zu relativ häufig vorkommenden Polymorphismen sind seltene Genmutationen anzusehen, die auf nur wenige Familien beschränkt sind, nämlich so genannte „private“ Mutationen.

Gegenstand zahlreicher klinischer Studien ist die Bedeutung von Polymorphismen als Risikofaktor für komplexe Erkrankungen wie die KHK. Dabei wird die Häufigkeit eines bestimmten Polymorphismus bei Patienten wie auch bei nicht betroffenen Personen untersucht. Kommt dabei ein Polymorphismus signifikant öfter in der Patientengruppe vor, dann gilt er als Risikofaktor für dieses Krankheitsbild.

Der Vorteil der Bestimmung von Genpolymorphismen als Risikofaktor besteht in dem konstanten Ergebnis, weil es bei exakter Analytik keinen Störeinflüssen ausgesetzt ist. Es ist jedoch zu beachten, daß bei Untersuchungen dieser Art schon eine vermeintlich

geringe Fehlerrate von 1% (falsch positive oder falsch negative Befunde) das Ergebnis klinischer Studien entscheidend verfälschen kann (152). Die mit biochemischen Methoden ermittelten Risikofaktoren unterliegen demgegenüber multiplen, präanalytisch und analytisch bedingten Störeinflüssen. Beispielsweise ist die Zuverlässigkeit von Parametern der Fibrinolyse an streng standardisierte Blutentnahmebedingungen gebunden. Dabei müssen tageszeitliche und saisonale Schwankungen der Plasmaspiegel berücksichtigt werden. Ebenso werden die Validität und Vergleichbarkeit von Ergebnissen durch eine unzureichende Standardisierung und Spezifität der Testsysteme beträchtlich erschwert. Im Unterschied zu den Genpolymorphismen stellen die durch biochemische Analytik gewonnenen Ergebnisse lediglich eine Momentaufnahme komplexer Pathomechanismen dar.

Durch die multifaktorielle Ätiologie und die komplexe Pathogenese der KHK und deren Komplikationen wird die Ermittlung der Wertigkeit von Genpolymorphismen für das Koronarrisiko jedoch erheblich erschwert. Während z.B. bestimmte genetische Polymorphismen der Hämostase eindeutig mit dem weniger komplexen venösen Thromboserisiko in Beziehung stehen, ist ihr Stellenwert bei der arteriellen Koronarrisikoerfassung weniger deutlich. Die bisher gemachten klinischen Studien weisen entsprechend sehr widersprüchliche Ergebnisse auf. Es wird deutlich, daß retrospektiv angelegte Fallkontrollstudien mit kleiner Fallzahl häufig signifikante Assoziationen einzelner Genpolymorphismen zu koronaren Ereignissen finden, wohingegen Fallkontrollstudien und prospektive Kohortenstudien mit großer Fallzahl keine entsprechenden Zusammenhänge erfassen. Außerdem ist häufig ein scheinbar paradoxes Phänomen festzustellen: Der Polymorphismus ruft eine signifikante Modulation des korrespondierenden Plasmaspiegels hervor. Dieser wiederum ist selbst mit dem klinischen Risiko assoziiert. Jedoch weisen sowohl der Genpolymorphismus als auch der klinische Phänotyp keine signifikante Beziehung auf. Solche Ergebnisse basieren auf der Tatsache, daß ein einzelner Genpolymorphismus nur einer von vielen Faktoren ist, die sowohl Funktionalität als auch Konzentration eines relevanten Proteins (Phänotyp) determinieren. So beeinflussen z.B. eine Vielzahl von Expositions- und Dispositionsfaktoren den Proteinsspiegel sowohl positiv als auch negativ (123).

Ein Einfluß des Genotyps auf den Phänotyp läßt sich daher nur mit gewissenhaft durchgeführten Studien verifizieren. Wesentliche Gründe für falsch positive bzw. falsch

negative Ergebnisse sind zu geringe Fallzahlen, die ungewollte Selektion von Patienten und Kontrollen, die fehlende Beachtung unterschiedlicher ethnischer und regionaler Prävalenzen von Genpolymorphismen wie auch die mangelnde Festlegung und Feststellung eindeutig definierter klinischer Endpunkte (153).

Zu diesen studienbedingten Schwierigkeiten kommt noch das Patientenalter erschwerend als Problem für die Befundinterpretation hinzu: Wenn das Lebensalter zunimmt, steigt der relative Anteil nichtgenetischer Faktoren am Gesamtrisiko, denn die Expositionsdauer von Umweltfaktoren und deren Bedeutung nimmt mit zunehmendem Alter zu. So erklären beispielsweise genetische Effekte bei Personen im Alter von 20 Jahren etwa 50% der Variabilität der Fibrinogenspiegel, bei 80-Jährigen jedoch nur 20%. Andererseits tragen die wichtigsten Umweltfaktoren im Alter von 20 Jahren 10% zur Variabilität der Fibrinogenspiegel bei, jedoch im Alter von 80 Jahren schon ungefähr 60%. Diese Erscheinungsbilder sprechen für eine starke genetische Komponente, wenn die Erkrankungen früh einsetzen. Deshalb ist die klinische Bedeutung von Genpolymorphismen eher bei jungen Patienten zu verifizieren (154).

Zusammenfassend stehen die eigenen Ergebnisse damit im Einklang mit den Resultaten derjenigen Autoren, die den thrombogenen Faktoren keine besondere Bedeutung beim erhöhten koronaren Risiko zuweisen. Allerdings sollten die für die FII G20210A- und FV G1691A-Mutationen angedeuteten niedrigen Risiken nicht darüber hinwegtäuschen, daß zur genauen Beantwortung dieser komplexen Fragen vor allem prospektive Studien erforderlich sind (114). Die ausgewerteten Patienten- und Kontrollgruppen beinhalteten relativ kleine Fallzahlen, so daß nicht auszuschließen ist, daß ein Fehler 2. Art vorliegt. Damit wird eine so genannte falsch-negative Entscheidung getroffen. Dies gilt vor allem für die untersuchten Teilkollektive (155).

Die widersprüchlichen Forschungsergebnisse können z.B. durch die vorkommenden methodischen Diskrepanzen und unterschiedlichen Erhebungs- und Selektionskriterien sowie die unterschiedlichsten Fallzahlen bedingt sein, so daß eine Verallgemeinerung von einzelnen positiven (signifikanten) Ergebnissen relativiert wird (114,156-159).

Insbesondere sind folgende Punkte hervorzuheben:

- Ein signifikanter Einfluß der FII G20210A-Mutation konnte in dieser Studie wegen der vergleichsweise geringen Patientenzahl sowie der geringen Prävalenz

innerhalb der Patientengruppe nicht bewiesen und nicht widerlegt werden (fehlende Repräsentativität). Für valide Ergebnisse sind Untersuchungen mit großen Fallzahlen notwendig, da die mit 1,2% bis 2,3% angenommene geringe Allel-Frequenz in der Allgemeinpopulation eine reduzierte statistische Nachweiskraft beinhaltet.

- Im Allgemeinen hat neben den Risikofaktoren Lebensalter, Nikotinkonsum, Hypertonus und andere besonders die familiäre Disposition (genetischer Faktor) einen hohen Stellenwert. Allerdings konnte bislang der exakte Beitrag einzelner Genpolymorphismen an der Entstehung der KHK beteiligten Funktionen nicht eindeutig geklärt werden.
- Die spezifischen biochemischen Prozesse bei Trägern der FII G20210A-Mutation sind bislang nicht vollständig identifiziert.
- Bei den untersuchten Patienten- und Kontrollkollektiven liegen unterschiedliche Risikoprofile vor. Eine Kombination atherogener und thrombotischer Faktoren (161,162) als Ursache für koronare Ereignisse ist besonders bei jungen Menschen gegeben. Dabei kommt auch genetischen Markern eine Rolle zu (163). Des Öfteren war vorwiegend bei jüngeren Patienten (<50 Jahre) eine Interaktion zwischen der FII-Mutation und den konventionellen kardiovaskulären Risikofaktoren erkennbar (120,114,124,136,157,164). Mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Hypertonie, insbesondere aber auch Nikotinabusus (144,119,124,136,165) wurde dabei ein stark synergistischer Effekt nachgewiesen. Die Konstellation dieser Bedingungen ist allerdings in der Literatur uneinheitlich. Es ist anzunehmen, daß sich nur dann ein erhöhtes Risiko für FII G20210A-Träger ergibt, wenn auch andere konventionelle Risikofaktoren vorliegen (114,116,144).

Die Bedeutung einzelner Genpolymorphismen können nur durch valide Studien exakt aufgezeigt werden. Auf einer solchen Grundlage ist es möglich, neue Formen der therapeutischen Intervention bei komplexen Erkrankungen der KHK und der akuten Koronarsyndrome unter Berücksichtigung des individuellen Risikos zu entwickeln

(118). Folgende Maßnahmen sollten deshalb bei der Planung und Durchführung neuer Studien unbedingt berücksichtigt werden:

1. exakte Ermittlung des phänotypischen Korrelats von Genpolymorphismen, die als koronare Risikomarker vermutet werden, z.B. Zusammenhang zwischen Basen- und/oder Aminosäureaustausch und geänderter Aktivität des Genproduktes;
2. Fehlerratenminimierung bei der Bestimmung von Genpolymorphismen, weil diese die Studienergebnisse entscheidend verändern können, möglich durch geeignete Wiederholungsuntersuchungen in Stichproben;
3. Vermeidung falsch negativer Untersuchungsergebnisse durch hinreichende Fallzahlen, z.B. durch statistische Fallzahlermittlung zur Erzielung ausreichender statistischer Power vor Beginn der Studie;
4. Vermeidung von falsch positiven Ergebnissen durch Minimierung von Selektionsfehlern bei der Patientenauswahl und bei Kontrollen;
5. Veröffentlichung von unter Umständen auch negativen Ergebnissen;
6. eindeutige Festlegung klinischer Endpunkte vor Beginn der Studie und eine konsequente, exakte Diagnostik;
7. stärkere Fokussierung auf genetische Zusammenhänge, Gen-Expositions-Interaktionen (Gen-Umwelt-Interaktionen) sowie auf Wechselwirkungen zwischen den Regelsystemen, die an der Entstehung der KHK und der akuten Koronarsyndrome beteiligt sind, wie Fettstoffwechsel, Hämostase, Inflammation, Gefäßwand, insulingesteuerter Stoffwechsel, Homocysteinestoffwechsel.

5. Literaturverzeichnis

1. Martin JF, Bath PM, Burr ML (1991) Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet* 338:1409-1411
2. Schmidt RF, Thews G (1980) *Physiologie des Menschen*, 20. Auflage, Springer
3. Siegenthaler W (1984) *Differentialdiagnose Innerer Krankheiten*, 15. Auflage, Thieme
4. Eder M, Gedek P (1977) *Lehrbuch der allgemeinen Pathologie*, 30. Auflage, Springer
5. Tofler GH, Muller JE, Stone PH et al. (1992) Modifiers of timing and possible triggers of acute myocardial infarction in the thrombolysis in myocardial infarction phase II (TIMI II) Study group. *J Am Coll Cardiol* 20:1049-1055
6. Behar S, Halabi M, Reicher-Reiss H et al. (1993) Circadian variation and possible external triggers of onset of myocardial infarction. *Am J Med* 94:395-400
7. Behar S, Zissman E, Zion M et al. (1993) Complete atrioventricular block complicating inferior acute wall myocardial infarction: short-and long-term prognosis. *Am Heart J* 125:1622-1627
8. Willich SN, Linderer T, Wegscheider K et al. (1989) Increased morning incidence of myocardial infarction in the ISAM Study: absence with prior beta-adrenergic blockade. *Circulation* 80:853-858
9. Hjalmarson A, Gilpin EA, Nicod P et al. (1989) Differing circadian patterns of symptom onset in subgroups of patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 80:267-275
10. Woods KL, Fletcher S, Jagger C (1992) Modification of the circadian rhythm of onset of acute myocardial infarction by long-term antianginal treatment. *Br Heart J* 68:458-461
11. Peters RW, Zoble RG, Liebson PR et al. (1993) Identification of a secondary peak in myocardial infarction onset 11 to 12 hours after awakening. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) experience. *J Am Coll Cardiol* 22:998-1003
12. Willich SN, Lowel H, Lewis M et al. (1994) Weekly variation of acute myocardial infarction. Increased Monday risk in the working population. *Circulation* 90:87-93
13. Mittleman MA, Maclure M, Tofler GH et al. (1993) Triggering of acute myocardial infarction by heavy physical exertion. Protection against triggering by regular exertion. *N Engl J Med* 329:1677-1683
14. Willich SN, Lewis M, Lowel H et al. (1993) Physical exertion as a trigger of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 329:1684-1690
15. Danet S, Richard F, Montaye M et al. (1999) Unhealthy effect of atmospheric temperature and pressure on the occurrence of myocardial infarction and coronary death. A 10-year-survey: The

- Lille- World Health Organization MONICA-project (Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease). *Circulation* 100:E1-E7
16. Muller JE, Stone PH, Turi ZG (1985) Circadian variation in the frequency of onset of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 313:1315-1322
 17. Goldberg RJ, Seeley D, Becker RC et al. (1990) Impact of atrial fibrillation on the in-hospital and long-term survival of patients with acute myocardial infarction: a community-wide perspective. *Am Heart J* 119:996-1001
 18. Statistisches Bundesamt (1999) Publikationen des Bundesamtes in Wiesbaden
 19. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362:801-809
 20. Trip MD, Cats VM, van Capelle FJ et al. (1990) Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 322:1549-1554
 21. Riede UN, Schaefer HE (1993) Allgemeine und spezielle Pathologie, 3. Auflage, Thieme
 22. Constantinides P (1988) Neue Aspekte zur Ätiologie und Pathogenese der Arteriosklerose aus pathologisch-anatomischer Sicht. *Z Gesamte Inn Med* 10:257-261
 23. Schettler G, Gross R (1985) Arteriosklerose, Deutscher Ärzte-Verlag
 24. Davies MJ, Woolf N (1993) Atherosclerosis: what is it and why does it occur?. *Br Heart J* 69:3-11
 25. Schmid-Schönbein H (1983) Erinnerung an Alexander Naumann: Sekundärströmungen, wandernde Staupunkte und lokale Wirbel als Ursache von Wandschädigungen bei der Entstehung der Atherosklerose. *Arzeim.-Forsch./Drug Res* 33:1391-1398
 26. Steinberg D (1990) Lipoproteins and pathogenesis of atherosclerosis. In: Glagov S, Newman WP, Schaffer SA (Hrsg) *Pathobiology of the human atherosclerotic plaque*, Springer
 27. Ross R, Glomset JA (1976) The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med* 295:369-377
 28. DiCorleto PE (1993) Cellular mechanisms of atherogenesis. *Am J Hypertens* 6:314-318
 29. Consigny PM (1995) Pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Roentgenol* 164:553-558
 30. Montrucchio G, Emanuelli G, Venco et al. (1995) Alterazioni funzionali dell'endotelio e processo aterosclerotico. *Ann Ital Med Int* 10:31-40
 31. Prescott SM, McIntyre TM, Zimmerman GA (1990) The role of platelet-activating factor in endothelial cells. *Thromb Haemost* 64:99-103
 32. Faruqi RM, DiCorleto PE (1993) Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. *Br Heart J* 69:19-29

33. Butcher EC (1991) Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 67:1033-1036
34. Dresel HA (1989) Die mögliche Bedeutung von LDL Scavenger-Rezeptoren in der Pathogenese der Arteriosklerose bei Hypercholesterinämie. In: Klose G (Hrsg) *Arteriosklerose*, Springer
35. Schmitz G (1989) Bedeutung der Cholesterinhomöostase des Makrophagen für die Atherogenese. In: Klose G (Hrsg) *Arteriosklerose*, Springer
36. Stary HC (1990) Changes in the cells of atherosclerotic lesions as advanced lesions evolve in coronary arteries of children and young adults. In: Glagov S, Newman WP, Schaffer SA (Hrsg) *Pathobiology of the human atherosclerotic plaque*. Springer
37. Smith EB (1994) Fibrin deposition and fibrin degradation products in atherosclerotic plaques. *Thromb Res* 75:329-335
38. Assmann G, Schulte H (1986) PROCAM-Studie, Panscienta
39. Dawber TR (1980) *The Framingham Study*, Harvard University Press
40. Meade TW, Chakrabarti R, Haines AP (1980) Haemostatic function and cardiovascular death: early results of a prospective study. *Lancet* 1:1050-1054
41. Wilhelmssen L, Svärdsudd K, Korsan- Bengtson K et al. (1984) Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 311:501-505
42. Strasser T (1982) Coronary risk factors revisited. *World Health Forum* Bd.3:85-88
43. Parsi RA, Parsi E (2001) *Kardiologie, Angiologie*, 1. Auflage, Urban & Fischer
44. Meister W (1989) Risikofaktoren und Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen. *Internist* 30:276-282
45. Kannel WB (1992) Fibrinogen: a major cardiovascular risk factor. In: Ernst E, Koenig W, Lowe GDO, Meade TW (Hrsg) *Fibrinogen: a „new“ cardiovascular risk factor*. Blackwell
46. Elwood PC, Renaud S, Sharp DS et al. (1991) Ischemic heart disease and platelet aggregation: The Caerphilly Collaborative Heart Disease Study. *Circulation* 83:38-44
47. Hamsten A, Wiman B, De Faire U et al. (1985) Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 313:1557-1563
48. Jenkins CD (1976) Recent evidence supporting psychologic and social risk factors for coronary disease. *N Engl J Med* 294:987-994, 1033-1038
49. Kannel WB, D'Agostino RG (1990) Update on fibrinogen as a major cardiovascular risk factor: The Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 15:156A

50. Levy D, Garrison RJ, Savage DD et al. (1990) Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 322:1561-1566
51. Trip MD, Cats VM, van Capelle FJ et al. (1990) Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 322:1549-1554
52. MacCallum PK, Meade TW (1999) Haemostatic function, arterial disease and the prevention of arterial thrombosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 12:577-599
53. Miller GJ, Bauer KA, Barzegar S et al. (1996) Increased activation of the haemostatic system in men at high risk of fatal coronary heart disease. *Thromb Haemost* 75:767-771
54. Van de Loo J (1995) Circulating factors of the haemostatic systems as indicators of increased or reduced coronary risk. *Br J Haematol* 91:777-782
55. Hellstern P, Bach J, Haubelt H et al. (2001) Genpolymorphismen der Hämostase und Koronarrisiko. *Med Klink* 96:217-227
56. Jackson CM (1994) Physiology and biochemistry of prothrombin. In: Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EGD (Hrsg) *Haemostasis and Thrombosis*, Third Edition, Churchill Livingstone
57. Mann KG (1994) Prothrombin and Thrombin. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (Hrsg) *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*, Third Edition, Lippincott
58. Takeda Y (1972) Studies of the Metabolism and distribution of prothrombin in healthy men with homologous 125I-prothrombin. *Thromb Diath Haemorrh* 27:472-489
59. McDuffie FC, Giffin C, Niedringhaus R (1979) Prothrombin, Thrombin and Prothrombin fragments in plasma of normal individuals and of patients with laboratory evidence of disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res* 16:759-773
60. Degen SJ, Davie EW (1987) Nucleotide sequence of the gene for human prothrombin. *Biochemistry* 26:6165-6177
61. Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W (1991) The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry* 30:10363-10370
62. Bertina RM, van Tilburg NH, de Fouw NJ et al. (1992) Thrombin, a link between coagulation activation and fibrinolysis. *Ann N Y Acad Sci* 667:239-248
63. Dang OD, Vindigni A, Di Cera E. (1995) An allosteric switch controls the procoagulant and anticoagulant activities of thrombin. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:5977-5981
64. Royle NJ, Irwin DM, Koschinsky ML et al. (1987) Human genes encoding prothrombin and ceruloplasmin map to 11p11-q12 and 3q21-24, respectively. *Somat Cell Mol Genet* 13:285-292

65. Degen SJ, MacGillivray RT, Davie EW (1983) Characterization of the complementary deoxyribonucleic acid and gene coding for human prothrombin. *Biochemistry* 22:2087-2097
66. Poort SR, Landolfi R, Bertina RM (1997) Compound heterozygosity for two novel missense mutations in the prothrombin gene in a patient with a severe bleeding tendency. *Thromb Haemost* 77:610-615
67. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH et al. (1996) A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 88:3698-3703
68. Sheets MD, Ogg SC, Wickens MP (1990) Point mutations in AAU-AAA and the poly (A) addition site: effects on the accuracy and efficiency of cleavage and polyadenylation in vitro. *Nucleic Acids Res* 18:5799-5805
69. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A et al. (1998) Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 79:706-708
70. Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C et al. (1997) The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2418-2422
71. Longstreth WT, Rosendaal FR, Siscovick DS et al. (1998) Risk of stroke in young women and two prothrombotic mutations: factor V Leiden and prothrombin gene variant (G20210A). *Stroke* 29:577-580
72. Kapur RK, Mills LA, Spitzer SG et al. (1997) A prothrombin gene mutation is significantly associated with venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2875-2879
73. Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM, Goncalves MS et al. (1997) Prevalence of the prothrombin gene variant (nt20210A) in venous thrombosis and arterial disease. *Thromb Haemost* 78:1430-1433
74. Howard TE, Marusa M, Boisza J et al. (1998) The prothrombin gene 3'-untranslated region mutation is frequently associated with factor V Leiden in thrombophilic patients and shows ethnic-specific variation in allele frequency. *Blood* 91:1092-1093
75. Rahimy MC, Krishnamoorthy R, Ahouignan G et al. (1998) The 20210A allele of prothrombin is not found among sickle cell disease patients from West Africa. *Thromb Haemost* 79:444-445
76. Isshiki I, Murata M, Watanabe R et al. (1998) Frequencies of prothrombin 20210 G @ A mutation may be different among races-studies on Japanese populations with various forms of thrombotic disorders and healthy subjects. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9:105-106
77. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML et al. (1997) The venous thrombosis risk factor 20210 A allele of the prothrombin gene is not a major risk factor for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol* 99:304-307

78. Ólafsson Í, Hjaltadóttir S, Öundurson PT et al. (1998) Prevalence of factor VQ506 and prothrombin 20210 A mutations in an apparently healthy Icelandic population and patients suffering from venous thrombosis. *Thromb Haemost* 79:685-686
79. Hillarp A, Zoller B, Svensson PJ et al. (1997) The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 78:990-992
80. Brown K, Luddington R, Williamson D et al. (1997) Risk of venous thromboembolism associated with a G to A transition at position 20210 in the 3'- untranslated region of the prothrombin gene. *Br J Haematol* 98:907-909
81. Cumming AM, Keeney S, Salden A et al. (1997) The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. *Br J Haematol* 98:353-355
82. Margaglione M, d'Andrea G, d'Addetta M et al. (1998) The methylenetetrahydrofolate reductase TT677 genotype is associated with venous thrombosis independently of the coexistence of the FV Leiden and the prothrombin A20210 mutation. *Thromb Haemost* 79:907-911
83. Leroyer C, Mercier B, Oger E et al. (1998) Prevalence of 20210 A allele of the prothrombin gene in venous thromboembolism patients. *Thromb Haemost* 80:49-51
84. Raoul M, Mathonnet F, Peltier JY et al. (1997) An improved method for the detection of the G20210A transition in the prothombin gene. *Thromb Res* 88:441-443
85. Martinelli I, Sacchi E, Landi G et al. (1998) High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *N Engl J Med* 338:1793-1797
86. Bentolila S, Ripoll L, Drouet L et al. (1997) Thrombophilia due to 20210 G->A prothrombin polymorphism and cerebral ischemia in the young. *Stroke* 28:1846-1847
87. Martinelli I, Franchi F, Akwan S et al. (1997) The transition G to A at position 20210 in the 3'- untranslated region of the prothrombin gene is not associated with cerebral ischemia. *Blood* 90:3806-3806
88. Halbmeier WM, Haushofer A, Hermann KM et al. (1998) The 20210A allele of the prothrombin gene: a risk factor for juvenile stroke? Result of a pilot study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9:209-210
89. Lalouschek W, Aull S, Series W et al. (1998) The prothrombin G20210A mutation and factor V Leiden mutation in patients with cerebrovascular disease. *Blood* 92:704-705
90. de Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K et al. (1998) Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood* 91:3562-3565
91. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM et al. (1997) A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 90:1747-1750

92. Arruda VR, Siquiera LH, Chiaparini LC et al. (1998) Prevalence of the prothrombin gene variant 20210 G->A among patients with myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 37:42-45
93. Watzke HH, Schuttrumpf J, Graf S et al. (1997) Increased prevalence of a polymorphism in the gene coding for human prothrombin in patients with coronary heart disease. *Thromb Res* 87:521-526
94. Gould J, Deam S, Dolan G (1998) Prothrombin 20210A polymorphism and third generation oral contraceptives - a case report of coeliac axis thrombosis and splenic infarction. *Thromb Haemost* 79:1214-1215
95. Dahlbäck B (1995) Factor V gene mutation causing inherited resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism. *J Intern Med* 237:221-227
96. Hoit BD, Gilpin EA, Henning H et al. (1986) Myocardial infarction in young patients: an analysis by age subsets. *Circulation* 74:712-721
97. Riessanen A, Nikkila EE (1981) Role of family history in coronary heart disease at young age. In: Roskamm H (Hrsg) *Myocardial infarction at young age*, Springer
98. World Health Organization Regional Office for Europe. *Myocardial infarction community registers (1976) Public Health in Europe*, World Health Organization
99. Judkins MP (1967) Selective coronary arteriography. I. A percutaneous transfemoral technic. *Radiology* 89: 815-824
100. Sones FM Jr (1967) Cine coronary arteriography. *Anesth Analg* 46:499-508
101. Assmann G, Schulte H (1992) Relation of high-density lipoprotein Cholesterol and triglycerides to incidence of arterosclerotic coronary artery disease-the PROGAM experience: Prospective Cardiovascular Münster study. *Am J Cardiol* 70:733-737
102. Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol* 17:237-246
103. Friedewald WT, Levy R, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein Cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18:499-502
104. Heinrich J, Sandkamp M, Kokott R et al. (1991) Relationship of lipoprotein(a) to variables of coagulation and fibrinolysis in a healthy population. *Clin Chem* 37:1950-1954
105. Roche Molecular Biochemicals (2000) *LightCycler System, Real-time PCR – as flexible as you are*
106. Benze G (2001) *Bedeutung genetischer Polymorphismen thrombozytärer Rezeptoren (GPI C807T und GPIIIa PIA1/A2) als Risikofaktoren für MI. Dissertation, Münster*

107. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF (1994) Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 330:1041-1046
108. Miletich JP, Prescott SM, White R (1993) Inherited predisposition to thrombosis. *Cell* 72:477-480
109. Cambien F, Poirier O, Lecerf L (1992) Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 359:641-644
110. Hegele RA, Huang LS, Herbert PN (1986) Apolipoprotein B-gene DNA polymorphism associated with myocardial infarction. *N Engl J Med* 315:1509-1515
111. Behague I, Poirier O, Nicaud V (1996) Beta fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. *Circulation* 93:440-449
112. Iacoviello L, Castelnovo A, Knijff P (1998) Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 338:79-85
113. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM (1997) Factor V Leiden increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 89:2817-2821
114. Brüggemann N (2003) Bedeutung der hereditären Thrombophilie für Klinik und Hämostasesystem gesunder Thrombozytenspende. Dissertation, Hannover
115. D'Angelo A, Selhub J (1997) Homocysteine and thrombotic disease. *Blood* 90:1-11
116. Franco RF, Trip MD, Cate H (1999) The 20210 G to A mutation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene and the risk for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol* 104:50-54
117. Schüttrumpf J, Panzer S, Watzke HH (1996) Distribution of the G/A Polymorphism in prothrombin in patients with coronary heart disease and myocardial infarction. *J Lab Med* 20:638-89
118. Neudert Christiane (2000) Untersuchungen zum Einfluß von Human-Antigen-1b (HPA-1b), Faktor V-Mutation (G1691A, Faktor V-Leiden), Prothrombin-Mutation (G20210A), und Methylentetrahydrofolat-Reduktase-Polymorphismus (MTHFR 677TT) auf den postoperativen Verlauf nach aortokoronarer Bypass-Operation. Dissertation, Düsseldorf
119. Ardissino D, Mannucci PM, Merlini PA et al. (1999) Prothrombic genetic risk factors in young survivors of myocardial infarction *Blood* 94:46-51
120. Junker R, Nowak-Göttl U (1998) The Prothrombin G20210A Mutation – A Common Cause of Thrombophilia? *J Lab Med* 22:472-478
121. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM (1997) A common Prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 90:1747-1750
122. Cumming A, Keeney S, Salden A et al. (1997) The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. *Br J Haematol* 98:353-355

123. Hellstern P, Bach J, Haubelt H et al. (2001) Genpolymorphismen der Hämostase und Koronarrisiko. *Med Klin* 96:217-227
124. Doggen CJ, Cats VM, Bertina RM (1998) Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors: increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or prothrombin 20210A. *Circulation* 97:1037-1041
125. Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C (1997) The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilia and is not increased in frequency in artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2418-2422
126. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML (1997) The venous thrombosis risk factor 20210A allele of the prothrombin gene is not a major risk factor for arterial thrombotic disease. *Br J Haematol* 99:304-307
127. Zwinge Birga (2003) Prothrombin G20210A Mutation: Klinische Bedeutung und Diagnostik. Dissertation, Wiesbaden
128. Nguyen A (2000) Prothrombin G20210A polymorphism and thrombophilia. *Mayo Clin Proc* 75:595-604
129. Brown K, Luddington R, Williamson D et al. (1997) Risk of venous thromboembolism associated with a G to A transition at position 20210 in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene. *Br J Haematol* 98:907-909
130. Hillarp A, Zöller B, Svensson P et al. (1997) The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 78:990-992
131. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH et al. (1996) A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 88: 3698-3703
132. Kapur RK, Mills LA, Spitzer SG et al. (1997) A prothrombin gene mutation is significantly associated with venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2875-2879
133. Margaglione M, Brancaccio V, Giuliani N et al. (1998) Increased risk for venous thrombosis in carriers of the prothrombin G→A 20210 gene variant. *Ann Intern Med* 129:89-93
134. Cattaneo M, Chantarangkul V, Taioli E et al (1999) The G20210A mutation of the prothrombin gene in patients with previous first episodes of deep-vein thrombosis: prevalence and association with factor V G1691A, methylenetetrahydrofolate reductase C677T and plasma prothrombin levels. *Thromb Res* 93:1-8
135. Salomon O, Steinberg DM, Zivelin A et al (1999) Single and combined prothrombotic factors in patients with idiopathic venous thromboembolism: prevalence and risk assessment. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:511-518

136. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH et al. (1996) A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 88:3698-3703
137. Franco RF, Santos SE, Elion J (1998) Prevalence of the G20210A polymorphism in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene in different human populations. *Acta Haematol* 100:9-12
138. Dilley A, Austin H, Hooper WC (1998) Prevalence of the prothrombin 20210 G to A variant in blacks: infants, patients with venous thrombosis, patients with myocardial infarction, and control subjects. *J Lab Clin Med* 132:452-455
139. Hultin MB, Grimson RC (1999) Factor V Leiden, prothrombin 20210 gene variant, and risk of myocardial infarction. *Circulation* 99:457-458
140. de Winter RJ, Middeldorp S, Gaffar S (1998) Acute myocardial infarction with large bilateral intracoronary thrombi in a young patient with the prothrombin 20210 G to A mutation. *Cathet Cardiovasc Diagn* 44:427-430
141. De Stefano V, Finazzi G und Manucci PM (1996) Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndroms and management. *Blood* 87:3531-3544
142. Ehrenforth S, Ludwig G, Wenke A et al. (1998) Prevalence of the prothrombin 20210 G to A mutation in venous thrombophilia. *Ann Haematol* 76: P 178, A 72
143. Rosendaal FR, Doggen C, Zivelin A et al. (1998) Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost* 79:706-708
144. Inbal A, Freimark D, Modan B (1999) Synergistic effects of prothrombotic polymorphisms and atherogenic factors on the risk of myocardial infarction in young males. *Blood* 93:2186-2190
145. Corral J, Zuazu-Jausoro I, Rivera J (1999) Clinical and analytical relevance of the combination of prothrombin 20210A/A and factor V Leiden: results from a large family. *Br J Haematol* 105:560-563
146. Howard TE, Marusa M, Channell C (1997) A patient homozygous for a mutation in the prothrombin gene 3'-untranslated region associated with massive thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 8:316-319
147. Girolami A, Simioni P, Manfrin D et al. (1999) Asymptomatic homozygous nt 20210 G to A prothrombin polymorphism in two blood donors belonging to two different kindreds. *Clin Appl Thromb Haemost* 5:48-51
148. Howard TE, Marusa M, Channell C et al. (1997) A patient homozygous for a mutation in the prothrombin gene 3'-untranslated region associated with massive thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 8:316-319

149. Watzke HH, Schüttrumpf J, Graf S (1997) Increased prevalence of a polymorphism in the gene coding for human prothrombin in patients with coronary heart disease. *Thromb Res* 87:521-526
150. Brown K, Luddington R, Baglin T (1998) Effect of the MTHFR C677T variant on risk of venous thromboembolism: interaction with factor V Leiden and prothrombin (F2G20210A) mutations. *Br J Haematol* 103:42-44
151. Ehrenforth S, Ludwig G, Klinke S et al. (1998) The prothrombin 20210A allele is frequently coinherited in young carriers of the factor V Arg 506 to Gln mutation with venous thrombophilia. *Blood* 91:2209-2210
152. Winkelmann BR, Hager J, Kraus WE et al. (2000) Genetics of coronary heart disease: current knowledge and research principles. *Am Heart J* 140:11-26
153. Goodall AH, Curzen N, Panesar M et al. (1999) Increased binding of fibrinogen to glycoprotein IIIa-proline33 (HPA-1b, PIA2, Zwb) positive platelets in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J* 20:742-747
154. Friedlander Y, Elkana Y, Sinnreich R et al. (1995) Genetic and environmental sources of fibrinogen variability in Israeli families: the Kibbutzim Family Study. *Am J Hum Genet* 56:1194-1206
155. Sachs L (1992) *Angewandte Statistik. Anwendung statistischer Methoden*, 7. Aufl., Springer
156. Ridker PM, Hennekens CH, Miletich JP (1999) G20210A mutation in prothrombin gene and risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in a large cohort of US men. *Circulation* 99:999-1004
157. Eikelboom JW, Baker RI, Parsons R (1998) No association between the 20210 G/A prothrombin gene mutation and premature coronary artery disease. *Thromb Haemost* 80:878-880
158. Prohaska W, Schmidt M, Mannebach H (1999) The prevalence of the prothrombin 20210 G to A mutation is not increased in angiographically confirmed coronary artery disease. *Thromb Haemost* 81:161-162
159. Croft SA, Daly ME, Steeds RP (1999) The prothrombin 20210A allele and its association with myocardial infarction. *Thromb Haemost* 81:861-864
160. <http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/2236842a.pdf>
161. Jackson CM (1994) *Physiology and biochemistry of prothrombin* In: *Haemostasis and Thrombosis*, Churchill Livingstone
162. Campeau L, Enjalbert M, Lesperance J (1983) Atherosclerosis and late closure of aortocoronary saphenous vein grafts: sequential angiographic studies at 2 weeks, 1 year, 5 to 7 years, and 10 to 12 years after surgery. *Circulation* 68:II1-II7

163. Ridker PM, Stampfer MJ (1999) Assessment of genetic markers for coronary thrombosis: promise and precaution. *Lancet* 353:687-688
164. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM (1997) A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 90:1747-1750
165. Gardemann A, Arsic T, Katz N (1999) The factor II G20210A and factor V G1691A gene transitions and coronary heart disease. *Thromb Haemost* 81:208-213
166. Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH et al. (1998) The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 338:86-93

6. Glossar

B

BMI body mass index

C

°C Grad Celsius

CI Konfidenzintervall

CRP C-reaktives Protein

D

dl Deziliter

DNA desoxyribonucleid acid

dsDNA double stranded DNA

E

ELISA enzyme linked immuno sorbent assay

F

F Gerinnungsfaktor

G

g Gramm

G Gravitation

H

HDL high density lipoprotein

K

kA keine Angabe

kDa Kilodalton

kg/m² Kilogramm/Quadratmeter

KHK koronare Herzkrankheit

L

l Liter

LDL low density lipoprotein

M

m männlich

mbar Millibar

MI Myokardinfarkt

ml Milliliter

mg Milligramm

mmHg Millimeter Quecksilbersäule

mRNA messenger ribonucleid acid

MW Mittelwert

N

n Anzahl

ns nicht signifikant

O

OR odds ratio

P

p probability (Signifikanzniveau)

PAF plättchenaktivierender Faktor

PAI-1 Pasminogenaktivator-Inhibitor 1

PCR polymerase chain reaction

PDGF platelet derived growth factor

PT Prothrombin

PROCAM prospective cardiovascular Münster (Study)

S

SD Standardabweichung

SNP single nucleotide polymorphism

W

w weiblich

7. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Ralf Junker für die Überlassung des Dissertationsthemas, seine Unterstützung im Laufe der Arbeit und seine Hilfsbereitschaft bei den Korrekturen.

