

**Aus der Schüchtermann-Klinik Bad Rothenfelde, Chefarzt Prof. Dr. med. J. Thale  
und aus dem Institut für Herz-Kreislaufforschung an der Universität Witten-Herdecke,  
Wissenschaftlicher Direktor Dr. med. Th. Scheffold**

**Assoziation des AC-Polymorphismus im  
Gen für den Angiotensin II Rezeptor Typ 1 (AT1 R)  
mit der koronaren Herzerkrankung und  
der Restenose nach perkutaner Koronarintervention**

**Inaugural-Dissertation**

**zur**

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

vorgelegt von Blum, Eva-Maria

aus Bonn

2006

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

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

**1. Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Wichter

**2. Berichterstatter:** Prof. Dr. med Joachim Thale

**Tag der mündlichen Prüfung:** 07. 02. 2007

Aus der Schüchtermann-Klinik Bad Rothenfelde, Chefarzt Prof. Dr. med. J. Thale  
und aus dem Institut für Herz-Kreislaufforschung an der Universität Witten-Herdecke,  
Wissenschaftlicher Direktor Dr. med. Th. Scheffold  
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. T. Wichter  
Koreferent: Prof. Dr. med. J. Thale

### ZUSAMMENFASSUNG

#### **Assoziation des AC-Polymorphismus im Gen für den Angiotensin II Rezeptor Typ 1 (AT1 R) mit der koronaren Herzerkrankung und der Restenose nach perkutaner Koronarintervention**

Eva-Maria Blum

Eine kausale Therapie der koronaren Herzerkrankung (KHK), der häufigsten Todesursache in den westlichen Industrienationen, ist zurzeit trotz großer Fortschritte in der Kardiologie und Herzchirurgie noch nicht möglich. Neben den klassischen Risikofaktoren wurden in den letzten Jahren zunehmend auch genetische prädisponierende Faktoren für die Arteriosklerose identifiziert. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System spielt eine wichtige Rolle für die Herz-Kreislaufregulation und gilt damit auch als Ausgangspunkt für die Pathogenese von Herz-Kreislaufkrankungen. Zahlreiche genetische Polymorphismen in den Genen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) wurden auf ihre Assoziation mit der Koronarsklerose, dem akuten Myokardinfarkt oder einer Restenose nach perkutaner Koronarintervention (PCI) untersucht. Es wird bis jetzt kontrovers diskutiert, in wie weit der A1166C-Polymorphismus im Gen des Angiotensin II Rezeptors Typ 1 (AT1 R) mit der KHK und der Restenosierung nach primär erfolgreicher PCI assoziiert ist. Ziel der vorliegenden Assoziationsstudie war es deshalb, an einem umfangreichen Patientenkollektiv mit KHK, primär erfolgreicher PCI und angiographisch ermittelter Restenoserate im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv mit angiographisch gesichertem Ausschluss einer KHK die Bedeutung dieses Polymorphismus zu überprüfen.

Vom 01. Januar 1997 – 31. Dezember 1998 wurden insgesamt n=607 Patienten in die Studie eingeschlossen. Davon bildeten n=426 Patienten mit KHK ( $\sigma$ =356;  $\varphi$ =70;  $\bar{\text{Ø}}$  Alter 60,47  $\pm$  8,96) das KHK-Kollektiv. Bei ihnen wurde 6 Monate nach primär erfolgreicher PCI angiographisch die Restenoserate (30,6%) ermittelt. Als Kontrollkollektiv wurden n=181 Patienten ( $\sigma$ =67;  $\varphi$ =114;  $\bar{\text{Ø}}$  Alter 57,46  $\pm$  10,26) herangezogen, bei denen koronarangiographisch eine KHK ausgeschlossen werden konnte.

Bei der Untersuchung des AT1 R-Gens im KHK-Kollektiv (KHKK) vs. dem Kontrollkollektiv (KK) fand sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung der Genotypen (**KHKK** AA : AC : CC = 47,6% : 44,4% : 8,0% vs. **KK** AA : AC : CC = 46,4% : 40,9% : 12,7%; {p=0,579}). Innerhalb des KHKK wurde auch keine signifikant unterschiedliche Verteilung der Genotypen im Restenose-Kollektiv (RSK) gegenüber dem Nicht-Restenosekollektiv (Nicht-RSK) gefunden (**RSK** AA : AC : CC = 50,0% : 42,3% : 7,7% vs. **Nicht-RSK** AA : AC : CC = 46,4% : 45,4% : 8,2%; {p=0,795}).

Die Daten der vorliegenden Studie belegen, dass der AT1 R AC-Polymorphismus weder mit der koronaren Herzkrankheit noch mit der Restenosierung nach PCI eine Assoziation aufweist. Da es international zu dieser Fragestellung lediglich eine valide Studie mit angiographisch untersuchtem KHK- und Kontrollkollektiv gibt, kann die hier vorgelegte Arbeit, als wesentlicher Beitrag zur weiteren Klärung dieses kontrovers diskutierten Sachverhaltes angesehen werden.

**Tag der mündlichen Prüfung:** 07. 02. 2007

meinen Eltern gewidmet

in Liebe und Dankbarkeit

und Petra und Karen

für ihre unermüdliche Geduld und Unterstützung

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit (KHK)</b>	<b>1</b>
<b>1.2</b>	<b>Klinik der KHK</b>	<b>2</b>
1.2.1	Diagnostik der KHK	2
1.2.2	Therapie der KHK	5
<b>1.3</b>	<b>Pathophysiologie der KHK</b>	<b>9</b>
1.3.1	Entstehung der Arteriosklerose	9
<b>1.4</b>	<b>Risikofaktoren der KHK</b>	<b>11</b>
1.4.1	'Klassische' Risikofaktoren der KHK	11
1.4.2	'Neue' Risikofaktoren der KHK	13
1.4.3	Genetische Risikofaktoren der KHK	15
<b>1.5</b>	<b>Studienziel</b>	<b>22</b>
<b>2</b>	<b>Materialien und Methoden</b>	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Patientenkollektive</b>	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Das Angiotensin II Rezeptor Typ 1-Gen (AT1 R-Gen)</b>	<b>24</b>
<b>2.3</b>	<b>Isolierung genomischer DNA und Quantifizierung</b>	<b>26</b>
2.3.1	Isolierung	26
2.3.2	Quantifizierung der isolierten DNA	28
2.3.3	Herstellung von Arbeitslösungen	29
<b>2.4</b>	<b>Nachweis des AT1 R A1166C-Polymorphismus über Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus-Analyse (RFLP)</b>	<b>29</b>
2.4.1	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)/Amplifikation des 350 bp-Fragments	29
2.4.2	Analyse der PCR- und Restriktionsverdau-Produkte	31
2.4.3	Restriktionsverdau mit Dde I zur Detektion des AC-Polymorphismus im AT1 R-Gen	33
2.4.4	Darstellung des Restriktionsverdaus im Agarose-Gel	35
<b>2.5</b>	<b>Statistische Auswertung der Daten</b>	<b>36</b>

<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>37</b>
3.1	Patientenkollektive	37
3.2	Methoden der RFLP-Analyse	38
3.3	Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der KHK	41
3.4	Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der Restenose nach PCI	42
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>44</b>
4.1	Genpolymorphismen in der Pathogenese der Arteriosklerose	44
4.2	Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der KHK	45
4.3	Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der Restenose nach PCI	49
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>66</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>I-X</b>





## **Verzeichnis der Tabellen**

- Tab. 1:** Todesursachenstatistik 2003
- Tab. 2:** Therapiestrategien bei KHK
- Tab. 3:** Risikofaktoren der KHK
- Tab. 4:** Beschreibung der Patientenkollektive
- Tab. 5:** Verteilung der Genotypen im KHK- und im Kontrollkollektiv
- Tab. 6:** Verteilung der Genotypen im KHK-Kollektiv mit und ohne Restenose nach interventioneller PCI
- Tab. 7:** Studien zum M235T und T174M-Polymorphismus des AGT-Gens
- Tab. 8:** Studien zum ID-Polymorphismus des ACE-Gens
- Tab. 9:** Studien zum A1166C-Polymorphismus des AT1 R-Gens

## Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ACE ID	ACE Insertions/Deletions-Polymorphismus
AGT	Angiotensinogen
Apo A1	Apolipoprotein A1
Apo B	Apolipoprotein B
ARB	Angiotensin-Rezeptoren-Blocker
ASS	Azetylsalizylsäure
AT1 R	Angiotensin II Rezeptor Typ 1
CMV	Cytomegalie-Virus
CRP	C-reaktives Protein
DCM	dilatative Kardiomyopathie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EKG	Elektrokardiogramm
HCM	hypertrophe Kardiomyopathie
i.v.	intravenös
IVUS	intravasaler Ultraschall
KHK	koronare Herzkrankheit
KHKK	KHK-Kollektiv
KK	Kontrollkollektiv
LCAT	Lezithin-Cholesteryltransferase
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LV-angiographisch	linksventrikulär angiographisch
LVH	linksventrikuläre Hypertrophie
LVM	linksventrikuläre Masse
M	Marker
Nicht-RSK	Nicht-Restenosekollektiv
NMR	Magnetresonanztomographie
P	Polymorphismus
PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor

PCI	Perkutane Koronarintervention
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PK	Patientenkollektiv
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RNV	Radionuklidventrikulographie
RSK	Restenosekollektiv
V.	Vena

# 1 Einleitung

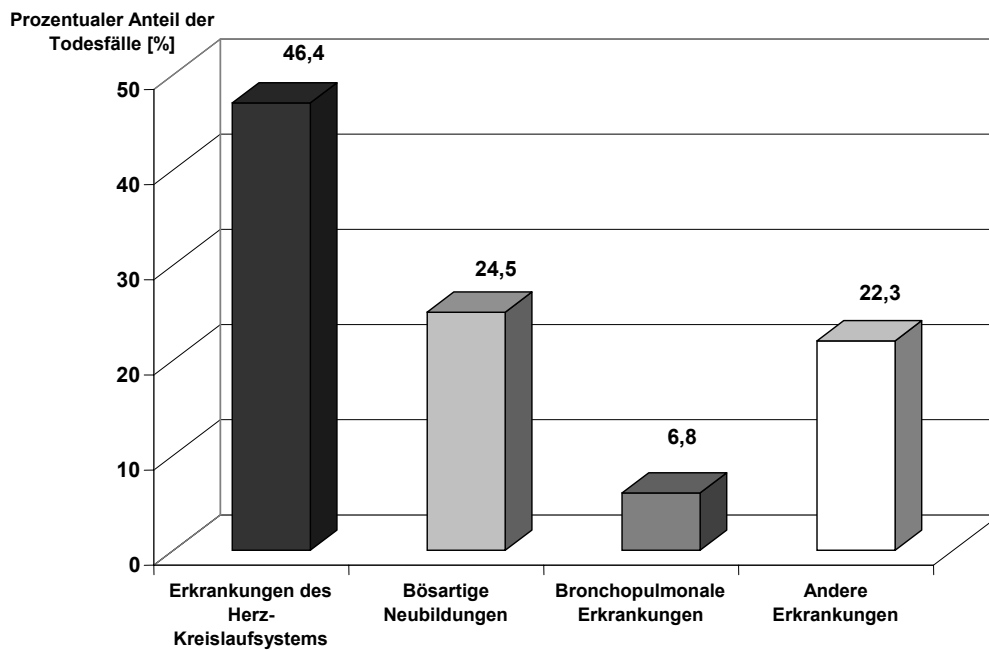
## 1.1 Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit (KHK)

Herz-Kreislaferkrankungen zählen zu den häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen. Im Jahr 2003 waren gemäß Angaben des statistischen Bundesamtes von insgesamt 853946 Todesfällen allein 227674 (26,7%) an den Folgen einer akuten oder chronischen koronaren Herzerkrankung verstorben.

**Tabelle 1: Todesursachenstatistik 2003**

Todesursachen	Zahlen absolut	Angaben in Prozent
Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems	396622	46,4%
Bösartige Neubildungen	209255	24,5%
Krankheiten des Atmungssystems	58014	6,8%
Andere	190055	22,3%

Statistisches Bundesamt: Todesursachenstatistik 2003 (Stand 15.03.05)



**Abbildung 1: Todesursachenstatistik 2003**

Betroffen sind v.a. Männer jenseits des 40. Lebensjahres. Postmenopausal und bei Vorliegen bestimmter Risikofaktoren (Rauchen!) nähern sich die Daten für Frauen denen für Männer zunehmend an.

## **1.2 Klinik der KHK**

Die KHK manifestiert sich im präklinischen Stadium als morphologische Veränderung der Koronararterien. Die Arteriosklerose wird im Allgemeinen erst klinisch apparent bei einer Lumenverengung der Koronararterien  $>80\%$ . Allerdings ist bekannt, dass auch bei geringerer Lumenverengung eine klinische Symptomatik auftreten kann, wenn das Lumen durch die Ruptur eines arteriosklerotischen Plaques verlegt wird. Die Übergänge von der asymptomatischen Arteriosklerose zur stabilen Angina pectoris bis hin zum akuten Koronarsyndrom sind fließend. Das akute Koronarsyndrom umfasst definitionsgemäß die instabile Angina pectoris ohne Anstieg von Troponin T oder I, den Myokardinfarkt mit Anstieg von Troponin T/I, aber ohne ST-Streckenhebung, sowie den Myokardinfarkt mit Troponin T/I-Anstieg und initialer ST-Hebung im EKG.

Die Prognose der KHK hängt davon ab, welche Koronararterien in welchem Ausmaß von Stenosierungsprozessen betroffen sind und welche sekundärpräventiven Maßnahmen ergriffen werden. Mehrgefäßerkrankungen, Hauptstammstenosen, Verschärfungen und zusätzliche Risikofaktoren wirken sich ungünstig auf die Prognose aus.

### **1.2.1 Diagnostik der KHK**

#### **Symptomatik**

Das klinische Spektrum der KHK umfaßt die stabile und instabile Angina pectoris, den Myokardinfarkt, die Herzinsuffizienz, brady- und tachykarde Herzrhythmusstörungen und den plötzlichen Herztod.

### Labor

Es existiert keine spezifische Labordiagnostik für die KHK. Lediglich Troponin T und I sowie eingeschränkt auch CK-MB können zur Differentialdiagnostik des akuten Koronarsyndroms herangezogen werden.

Zur Risikostratifizierung eines Patienten können außerdem die sogenannten klassischen bzw. neuen Risikofaktoren (Blutfette, Glukose, CRP, Apo A1/B, Histidin) bestimmt werden.

### Apparative Untersuchungen

#### Elektrokardiogramm (EKG)

Das Standard-Ruhe-EKG umfaßt die Ableitungen nach Einthoven (I-III), Goldberger (aVR, aVL, aVF), Wilson (V<sub>1</sub>-V<sub>6</sub>) und V<sub>7</sub>-V<sub>9</sub>.

Es dient der Diagnostik von Myokardinfarkten, Erregungsüberleitungs- und Rückbildungsstörungen, Ruheischämien und der Links- und Rechtsherzhypertrophie.

Das 24-Stunden-EKG mit ST-Streckenanalyse kann für die Diagnostik stummer Myokardischämien herangezogen werden, wird aber selten in der Routinediagnostik eingesetzt.

Das Belastungs-EKG ist das Standard-Screeningverfahren zur Erfassung der KHK. Da die KHK häufig asymptomatisch verläuft, ist der Ischämienachweis und damit die Erhärtung der Verdachtsdiagnose häufig erst in der Funktionsdiagnostik möglich. Im Belastungs-EKG kann die KHK mit einer Sensitivität von 60-70% und einer Spezifität von 90% diagnostiziert werden.

#### Echokardiogramm

Die Echokardiographie erlaubt die Beurteilung der Morphologie des Herzens und der Funktion des Herzmuskels. Die Ruhe-Echokardiographie zeigt globale und regionale Kontraktionsstörungen im Rahmen einer durch eine KHK hervorgerufenen ischämischen Kardiomyopathie. Die Streß-Echokardiographie dient der Erfassung induzierbarer Myokardischämien. Die Belastungssituation wird dabei entweder durch physische Anstrengung oder pharmakologisch (Dobutamin, Arbutamin, Dipyridamol)

hergestellt.

Die Erstellung der Schallbilder erfolgt transthorakal. Als Beurteilungskriterien werden das Ausmaß der systolischen Wandverdickung, die Einwärtsbewegung des Endokards und das Gesamtkontraktionsmuster des linken Ventrikels herangezogen.

Bezüglich der Diagnostik der KHK liegt die Sensitivität bei 85-90% und damit höher als die des Belastungs-EKGs, bei vergleichbarer Spezifität.

### Radiologische und nuklearmedizinische Diagnostik

Die radiologische und nuklearmedizinische Diagnostik umfaßt folgende Untersuchungen:

- Röntgenthorax in zwei Ebenen
- Myokardszintigraphie
- Radionuklidventrikulographie (RNV)
- Positronen-Emissions-Tomographie (PET)
- Computertomographie (CT)
- Magnetresonanztomographie (NMR)

Diese Verfahren gehören nicht zur Standarddiagnostik.

### Invasive Diagnostik

Die invasive Diagnostik umfaßt folgende Untersuchungen:

- Koronarangiographie
- Lävokardiographie (selektive linksventrikuläre Angiographie)
- Einschwemmkatheter-Untersuchungen
- Intravasaler Ultraschall (IVUS)
- Intrakoronare Angioskopie.

Die Standardmethode zur Darstellung der Koronararterien und ihrer Veränderungen ist die Koronarangiographie. Mittels Koronarangiographie können arteriosklerotische Veränderungen der Gefäße mit großer Sicherheit erkannt werden. Die Koronarangiographie ermöglicht die Lokalisation und quantitative Beurteilung von Stenosen und Gefäßverschlüssen. Der Therapieerfolg nach perkutaner Koronarintervention (PCI) oder Bypass-Operation kann kontrolliert werden.

### Differentialdiagnosen

Die Differentialdiagnosen der KHK umfassen kardiovaskuläre, pulmonale, gastrointestinale und Nerven- und Skeletterkrankungen, sowie vegetative Störungen. Von besonderer Wichtigkeit sind das dissoziierende Aortenaneurysma, sowie die Lungenembolie. Unter den gastrointestinalen Erkrankungen ist aufgrund seiner Häufigkeit der gastroösophageale Reflux von besonderer Bedeutung. Unter quantitativen Gesichtspunkten sind unter den zahlreichen Differentialdiagnosen der KHK außerdem funktionelle Beschwerden hervorzuheben. Bis zu 20% der in der kardiologischen Praxis vorgestellten Patienten leiden unter diesen unterschiedlichen Ausprägungen herzneurotischer Symptome.

### **1.2.2 Therapie der KHK**

Die Therapie der KHK umfaßt konservative, operative und interventionelle Therapieverfahren.

**Tabelle 2: Therapiestrategien bei KHK**

<b>Therapiestrategien</b>	<b>Therapieformen</b>
Konservative Therapie	Reduktion der Risikofaktoren, medikamentöse Behandlung
Operative Therapie	Bypass-Chirurgie
Interventionelle Therapie	Perkutane transluminale Koronarintervention, Stentimplantation, Rotablations-Angioplastie, Atherektomie, Laserangioplastie

#### Konservative Therapie

Die konservative Therapie besteht aus allgemeinen Maßnahmen zur Reduktion der vorhandenen Risikofaktoren sowie aus der medikamentösen Behandlung der stabilen Angina und des akuten Koronarsyndroms:

Im Rahmen der Primär- und Sekundärprävention sollten Risikofaktoren weitestgehend ausgeschaltet werden. Im Vordergrund stehen die Nikotinabstinenz sowie die optimale Einstellung einer Hypertonie, eines Diabetes mellitus und einer Dyslipidämie. Desweiteren dienen Gewichtsnormalisierung, körperliches Training, medi-



terrane Kost und Abbau von negativem Stress der Risikoreduzierung.

Die medikamentöse Therapie stellt die Basistherapie der KHK dar und begleitet jede darüber hinaus notwendige Massnahme.

In der Therapie der stabilen Angina pectoris werden symptomatisch Nitrate (z.B. Nitroglycerin) und, unter Einschränkungen, auch Calciumantagonisten eingesetzt. Betablocker zeigen neben der antianginösen Wirkung zusätzlich eine Prognoseverbesserung. Sie bewirken eine Senkung von Reinfarkten und Sterblichkeit. Desweiteren werden Thrombozytenaggregationshemmer (ASS, ggf. Clopidogrel) und Lipidsenker präventiv eingesetzt. Die wichtigsten lipidsenkenden Medikamente sind die HMG-CoA-Reduktasehemmer (z.B. Atorvastatin). Sie bewirken neben einer Korrektur der Dyslipidämie auch eine Plaquestabilisierung.

Die Basistherapie beim akuten Koronarsyndrom umfasst neben Sauerstoffgabe, i.v.-Zugang, EKG-Überwachung und CPR-Bereitschaft die Gabe von ASS (Prognoseverbesserung), suffizienten Analgetika, Betablockern (symptomatische Therapie und Prognoseverbesserung), Nitraten (symptomatische Therapie) und Heparin. Beim akuten Koronarsyndrom ohne ST-Elevation werden ggf. zusätzlich Glykoprotein IIb/IIIa-Antagonisten eingesetzt, die nachweislich eine Reduzierung von Myokardinfarkten und Sterblichkeit bewirken. Beim Postinfarktpatienten, insbesondere bei eingeschränkter linksventrikulärer Funktion, wirken ACE-Hemmer prognostisch günstig.

Zur kausalen Therapie des akuten Koronarsyndroms wird möglichst rasch eine PCI in einem kardiologischen Zentrum durchgeführt. Sollte diese Möglichkeit nicht bestehen, kommt alternativ ggf. eine medikamentöse Lysetherapie in Frage.

### Operative Therapie

Schwerpunkt der operativen Therapie ist die Bypass-Chirurgie. Das häufigste Revascularisationsverfahren ist die aortokoronare Bypass-Operation unter Verwendung der V. saphena magna, seltener der V. saphena parva. Alternativ kommt, insbesondere bei jüngeren Patienten, ein arteriokoronarer Bypass in Frage. Dabei wird eine Anastomose zwischen der freipräparierten distalen A. mammaria interna und der betreffenden Koronararterie geschaffen. Vorteil ist die höhere Offenheitsrate, Nachteile sind die längere Präparationsdauer, sowie die sich erst langsam ent-

wickelnde Funktion eines Mammariagrafts. Neben den standardmäßig offenen Bypass-Operationen mit Sternotomie werden neuerdings auch minimal invasive Verfahren durchgeführt. Dabei wird nach anterolateraler Thorakotomie das distale Ende der linken A. mammaria interna freipräpariert und mit einem Koronargefäß der Vorderwand anastomosiert. Diese Operation ist auch ohne Einsatz der Herz-Lungenmaschine am schlagenden Herzen möglich.

Indikationen zur aortokoronaren Bypass-Operation sind:

- Stenose >50% des linken Hauptstammes
- stammnahe Stenose des Ramus interventricularis anterior (RIVA)
- schwere koronare Dreigefäßerkrankung
- nicht interventionell behandelbare Befunde
- Komplikationen nach interventionellen Eingriffen.

### Interventionelle Therapie

Die interventionellen Therapien sind in Tabelle 2 aufgeführt. Das Standardverfahren ist die PCI mit (60-90%) und ohne Implantation eines Stents. Hierdurch können arteriosklerotische Koronarstenosen in > 90% primär erfolgreich beseitigt werden. Die Indikation zur PCI ist gegeben ab einer Einengung des Lumens >70%, verbunden mit Angina pectoris-Symptomatik oder Myokardischämie. Der interventionelle Erfolg ist definiert als Reduktion der Stenoseparameter auf mindestens <50%, wobei ein "stentlike"-Ergebnis immer angestrebt wird. In wenigen Fällen ist die PCI primär nicht erfolgreich: In ca. 3-4% der Fälle ist die Passage der Stenose nicht möglich. In ca. 1-3% der Interventionen kann der Ballon nicht aufgeweitet werden. Außerdem können Komplikationen auftreten, wie der Verschluss des behandelten Gefäßes (5%), der akute Myokardinfarkt (2-4% mit einer Letalität von 0,5-1%) und die notfallmäßige Bypass-OP (Letalität >10%). Bei unzureichendem Ergebnis der PCI bezüglich einer Reduktion des Stenosegrades, bzw. bei Auftreten einer Gefäßdissektion mit konsekutivem Gefäßverschluss wird ein Stent implantiert. Ein gravierendes Problem bei der Ballondilatation ist die Restenosierung von >50% des Gefäßlumens. Sie tritt in 10-60% der Fälle innerhalb der ersten 4-6 Monate auf und macht häufig die Wiederholung der Intervention notwendig (Agema et al 2004, Leimgruber et al 1986, Serruys et al 1988). Es wurden zahlreiche klinische und angiographische Prädiktoren der Restenose nach PCI untersucht (Rensing et al 1993,

Singh et al 2005, Weintraub et al 1993). Ihr Vorhersagewert ist allerdings gering. Zur Vorbeugung der Restenose wurden verschiedene Strategien entwickelt, darunter der Einsatz von Stents, in den letzten Jahren zunehmend auch die Verwendung beschichteter Stents ("drug eluting stents"). Die Restenose-Rate nach PCI mit koronarem Stenting (12-32%) ist niedriger als nach Ballonkatheter-Intervention ohne Stenteinlage (Fischman et al 1994, Serruys et al 1994). Durch den Einsatz Sirolimus- oder Paclitaxel-freisetzender Stents konnte die In-Stent-Restenose-Rate um weitere 50-60% gesenkt werden (Winslow et al 2005).

Die Pathogenese der Restenose nach Ballondilatation unterscheidet sich grundlegend von der der In-stent-Restenose. Die Restenose nach PCI ist v.a. durch frühes "recoil" und "remodeling", ferner durch späte neointimale Hyperplasie gekennzeichnet. Die In-Stent-Restenose beruht fast ausschließlich auf neointimaler Hyperplasie:

Bei der Restenosierung nach PCI steht zunächst das "elastic recoil" im Vordergrund. Es bezeichnet die sofortige Kontraktion der Arterienwand nach PCI durch elastische Bestandteile der Arterienwand (Wong 2004). Im weiteren Verlauf kommt es zum sogenannten negativen "remodeling". Nach Glagov et al (1987) kommt es erst ab einer > 40%igen Verengung einer Koronararterie tatsächlich zur Lumenreduktion, da sich zunächst die Lamina elastica interna der Arterienwand kompensatorisch erweitert (positives "remodeling"). Bei Versagen dieses Kompensationsmechanismus und zunehmender Plaquegröße kommt es zur Arteriosklerose bzw. Restenose. Eine untergeordnete Bedeutung kommt der neointimalen Hyperplasie bei der Entstehung der Restenose nach PCI zu. Sie ist aber der entscheidende Faktor für die Entstehung der In-Stent-Restenose:

Durch das Einsetzen eines Stents können "elastic recoil" und negatives "remodeling" weitgehend verhindert werden. Durch das Stenting kommt es jedoch zur Zerstörung des Endothels und zu Plättchenaggregation, Fibrinablagerung, und Thrombusformation. Der weitere Verlauf ist gekennzeichnet durch Infiltration von Makrophagen und Lymphozyten, Stimulierung von Wachstumsfaktoren und Cytokinen, der Aktivierung von glatten Muskelzellen in der Media und deren Proliferation und Migration in den Thrombus, der schließlich durch Neointima ersetzt wird (Wong et al 2004).

Die Entstehung der neointimalen Hyperplasie kann durch den Einsatz von "drug eluting stents" deutlich vermindert bzw. verzögert werden (Vishnevetsky et al 2004). Der Langzeiterfolg bleibt Gegenstand aktueller und zukünftiger Studien.

## 1.3 Pathophysiologie der KHK

### 1.3.1 Entstehung der Arteriosklerose

Das gesunde Herz reagiert auf den erhöhten Sauerstoffbedarf des Myokards bei Belastung mit einer Steigerung der Durchblutung. Dies geschieht durch Dilatation der im Normalzustand konstringierten distalen Koronararterien (sogenannte Koronarreserve). Die Durchblutung kann auf das 5-fache des Ruhewertes gesteigert werden. Das entspricht einer Abnahme des Koronarwiderstandes auf 20% des Ruhewertes. Bei der KHK ist die Koronarreserve vermindert. Der erhöhte O<sub>2</sub>-Bedarf des Myokards bei Belastung kann nicht gedeckt werden. Davon besonders betroffen sind die subendokardialen Myokardschichten.

Ursache der eingeschränkten Koronarreserve ist eine Arteriosklerose v.a. der großen proximalen epikardialen Koronararterien.

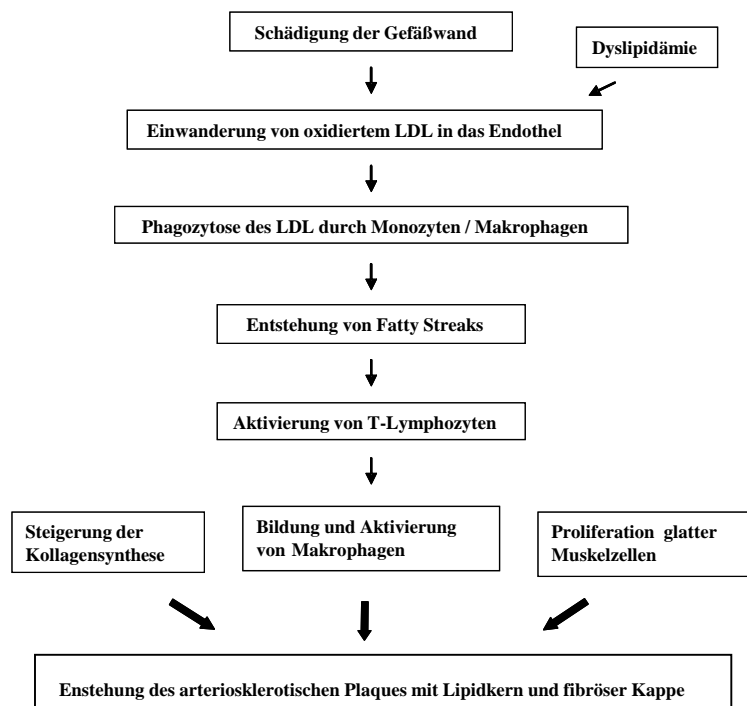


Abbildung 2: Entstehung der Arteriosklerose

Durch Verletzung der Gefäßwand kommt es zur Einwanderung von oxidiertem Low-Density-Lipoprotein (LDL) in das Endothel. Die Lipoproteine werden in den subendothelialen Schichten der Gefäßwand von eingewanderten Monozyten phagozytiert. Die Monozyten wandeln sich daraufhin in Makrophagen um (Ross 1993). Es entstehen aus Schaumzellen gebildete 'fatty streaks'. Im Lipidkern des Plaques befinden sich viele aktivierte T-Lymphozyten. Diese regen durch Sekretion von Interferon- $\gamma$  die Kollagensynthese an. Interferon- $\gamma$  bewirkt außerdem die Bildung und Aktivierung von Makrophagen. Zusätzlich kommt es zur Proliferation glatter Muskelzellen. Es entsteht eine von einer fibrösen Kappe bedeckte Höhle mit extrazellulärem Lipid und Schaumzellen, das Atherom bzw. arteriosklerotische Plaque.

Stabile Plaques haben einen kleinen Lipidkern mit einer dicken fibrösen Kappe. Die Proliferation glatter Muskelzellen stabilisiert den Plaque. Sie reduziert das Risiko der Plaqueruptur und Thromboseentstehung.

Sind die Koronargefäße arteriosklerotisch verändert, steigt die Herzarbeit bereits in Ruhe an. Sie muß den durch Stenosen erhöhten Widerstand überwinden. Besonders ungünstig sind längere und hintereinander geschaltete Stenosen. Eine Einengung des Lumen um 60-70% bewirkt eine Belastungskoronarinsuffizienz. Stenosen >90% führen zum eingeschränkten Blutfluß in Ruhe.

Die Arteriosklerose ist häufig verbunden mit einer entzündlich-proliferativen Reaktion auf eine initiale Endothelschädigung. Erhöhte Serumspiegel von C-reaktivem Protein werden als ein unabhängiger Risikofaktor der KHK diskutiert (Haverkate et al 1997, Koenig et al 1999, Ridker et al 1997).

Verschiedene Erreger wurden in den vergangenen Jahren mit der Entstehung der Arteriosklerose in Verbindung gebracht. Es handelt sich um Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, Herpes simplex Virus und Cytomegalie-Virus (CMV) (Eryol et al 2005, Saikku et al 1988). Welche Rolle bakterielle und virale Infektionen tatsächlich in der Pathogenese der Arteriosklerose spielen, ist nicht geklärt.

## 1.4 Risikofaktoren der KHK

Die Entstehung der KHK wird bei Vorliegen der folgenden Risikofaktoren entscheidend begünstigt.

**Tabelle 3: Risikofaktoren der KHK**

<b>Klassifizierung der Risikofaktoren:</b>	<b>Risikofaktoren:</b>
<b>klassische Risikofaktoren</b>	Dyslipidämie
	Nikotinabusus
	Arterielle Hypertonie
	Adipositas
	Diabetes mellitus
	Alter, Geschlecht
<b>'neue' Risikofaktoren</b>	C-reaktives Protein (CRP)
	Apolipoprotein A1/B
	Histidin
	Fibrinogen, Homozystein und Lipoprotein a
<b>genetische Risikofaktoren</b>	Angiotensinogen-Gen (M235T-, T174M- Polymorphismus (P.))
	ACE-Gen (ID-P.)
	Angiotensin 1-Rezeptor-Gen (A1166C-P.)
	andere Polymorphismen

### 1.4.1 Klassische Risikofaktoren der KHK

Die wichtigsten epidemiologisch belegten Risikofaktoren der KHK sind: Dyslipidämie, Nikotinabusus, arterielle Hypertonie, Adipositas, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht. Sie wirken v.a. begünstigend auf die Entstehung atheromatöser Gefäßveränderungen.

### Dyslipidämie

Früher wurde in erster Linie die Hyperlipoproteinämie als KHK-Risikofaktor betrachtet. Da auch die Hypoalphalipoproteinämie als Risikofaktor der KHK gilt, wird heute der Begriff Dyslipidämie bevorzugt.

Erhöhte Serum-Cholesterinspiegel sind ein unabhängiger Risikofaktor der KHK. Es besteht ein kontinuierlicher Zusammenhang zwischen Serum-Cholesterin und KHK-Inzidenz, -Mortalität und angiographischem Ausmaß der KHK.

### Nikotinabusus

Nikotinabusus stellt neben der Dyslipidämie den wichtigsten unabhängigen Risikofaktor der KHK dar.

### Arterielle Hypertonie

Sowohl die systolische als auch die diastolische Hypertonie stellen unabhängige Risikofaktoren der KHK dar.

Die arterielle Hypertonie begünstigt einerseits die Entstehung einer Arteriosklerose in den koronaren Arterien. Andererseits besteht bei Vorliegen einer Hypertonie eine erhöhte Rupturgefährdung vorhandener Plaques.

Insbesondere die Kombination aus arterieller Hypertonie, Dyslipidämie und Diabetes mellitus im Rahmen des metabolischen Syndroms wirkt proatherogen.

### Adipositas

Die Adipositas beeinträchtigt wichtige Organfunktionen und verursacht eine erhöhte Morbidität und Mortalität.

Die Adipositas ist ein abhängiger Risikofaktor. Sie begünstigt die Verschlechterung des atherogenen Index durch Assoziation mit anderen Störungen.

### Diabetes mellitus

Menschen mit insulinpflichtigem oder nichtinsulinpflichtigem Diabetes mellitus haben ein hohes Risiko, an einer KHK zu erkranken. Sie zeigen häufig diffus verbreitete arteriosklerotische Koronarveränderungen sowie Mehrgefäßerkrankungen, wobei die entstehenden Myokardischämien oft asymptomatisch sind. Neben der

erhöhten Infarktmortalität weisen Patienten mit Diabetes mellitus nach einem Infarkt vermehrt Linksherzinsuffizienzen und kardiogene Schocks auf. Die Restenoserate nach Katheterintervention ist erhöht.

Das besondere Risiko bei Diabetes mellitus wird bestimmt durch:

- Störungen des Lipidstoffwechsels
- erhöhte Inzidenz der Hypertonie
- Insulinresistenz und Hyperinsulinämie
- Störungen des Gefäßwandaufbaus und endotheliale Dysfunktion
- Störungen des Gerinnungssystems.

#### Alter, Geschlecht

Das KHK-Risiko ist altersabhängig. Bei Männern steigt das KHK-Risiko ab dem 30. Lebensjahr kontinuierlich an. Bei den Frauen steigt das KHK-Risiko nach der Menopause an.

Männer erkranken häufiger als Frauen an KHK. Nach der Menopause der Frau besteht diese Differenz nicht mehr. Dies legt die Vermutung nahe, dass unterschiedliche hormonelle Einflüsse zum Risikoprofil der KHK beitragen.

### **1.4.2 'Neue' Risikofaktoren der KHK**

#### C-reaktives Protein (CRP)

In den letzten Jahren wurde gezeigt, dass CRP ein unabhängiger Risikofaktor kardiovaskulärer Erkrankungen ist (Haverkate et al 1997, Koenig et al 1999, Ridker et al 1997). Bei Patienten mit hohen CRP-Werten konnte eine Senkung des Myokardinfarkttrisikos durch antiinflammatorische Therapie mit Aspirin erreicht werden (Ridker et al 1997). Allerdings wird die Bedeutung von CRP als unabhängiger Risikofaktor der KHK in neueren Studien teilweise wieder in Frage gestellt (Lawlor et al 2005).



### Apolipoprotein A1 (Apo A1)

Apo A1 ist Kofaktor der Lecithin-Cholesterinacyltransferase (LCAT) und damit mitverantwortlich für die Bildung der meisten Cholesterylester im Plasma. Außerdem unterstützt es den Efflux von Cholesterol aus den Zellen.

Es ist nicht geklärt, ob Apo A1 ein Risikofaktor der KHK ist. Eine Reihe verschiedener Polymorphismen und Mutationen des Apo A1-Gens sind mit Veränderungen des Apo A1-Serumspiegels assoziiert. Darüber hinaus wird teilweise von Assoziationen mit Hyperlipoproteinämien, Hypoalphalipoproteinämien und kardiovaskulären Erkrankungen berichtet (Moll et al 1989, Ordovas et al 1986, Yamakawa-Kobayashi et al 1999).

### Apolipoprotein B (Apo B)

Apo B ist das Haupt-Apolipoprotein der Chylomikronen und der LDLs. Es erscheint in zwei verschiedenen Plasmaformen. Apo B48 wird im Darm, Apo B100 in der Leber synthetisiert.

Mutationen und Polymorphismen des Apo B-Gens könnten verschiedene Störungen des Lipidmetabolismus hervorrufen und mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen einhergehen (Pulai et al 1998, Soria et al 1989, Young et al 1987).

### Histidin

Histidin ist eine alpha-Aminosäure, aus der durch Decarboxylierung Histamin entsteht. Histamin kommt v.a. in den Granula von Mastzellen vor, in geringerer Menge auch in basophilen Leukozyten und Thrombozyten.

Verschiedene Studien legen einen Zusammenhang zwischen Histidin und der Entstehung der Arteriosklerose nahe (Takagishi et al 1995). Eine andere Untersuchung bestreitet die Risikoerhöhung durch Histidin (Azuma et al 2001).

### Fibrinogen, Homozystein und Lipoprotein a:

Fibrinogenspiegel über 300-350 mg/dl stellen einen unabhängigen Risikofaktor dar.

Dies gilt vermutlich ebenfalls für erhöhte Homozysteinspiegel im Serum.

Lipoprotein a ist ein unabhängiger Risikofaktor der KHK.

### 1.4.3 Genetische Risikofaktoren der KHK

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Polymorphismen in Genen mit dem Auftreten einer KHK assoziiert. Einer der ersten Genpolymorphismen wurde in dem Gen entdeckt, das für das Angiotensin-Converting-Enzyme (Teil des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems) kodiert.

#### 1.4.3.1 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) spielt eine zentrale Rolle in der Blutdruckregulation und in der Flüssigkeits- und Elektrolythomöostase. Störungen dieses Systems können zu arterieller Hypertonie und assoziierten kardiovaskulären Erkrankungen wie der Koronarsklerose führen.

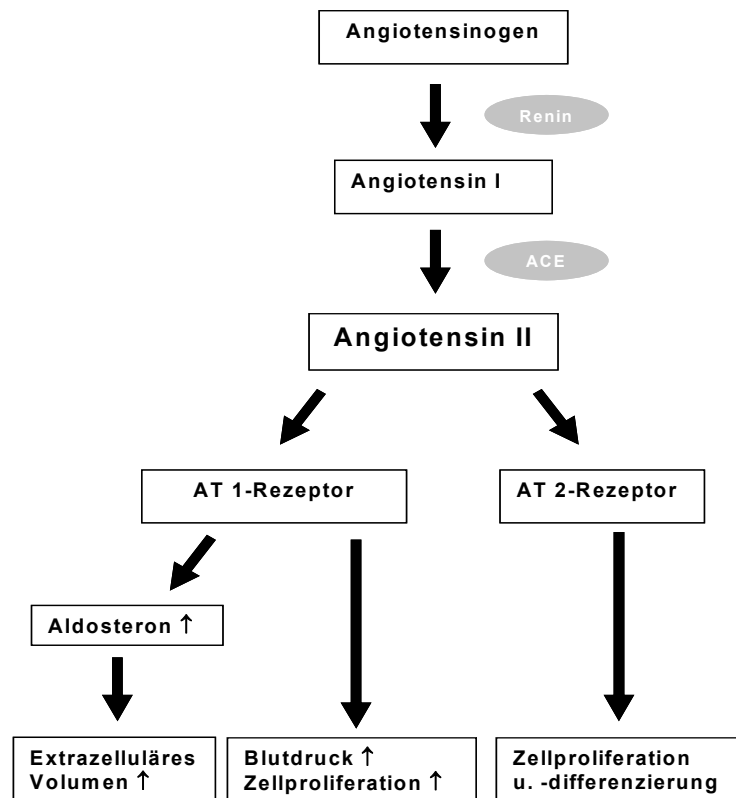


Abbildung 3: Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Barorezeptoren im renal-arteriellen System registrieren Erniedrigungen des Blutdruckes. Die Rezeptoren bewirken die Freisetzung von Renin aus den Epitheloidzellen der Vasa afferentia der Niere (juxtaglomerulärer Apparat).

Renin verursacht die Bildung des Dekapeptids Angiotensin I aus dem in der Leber gebildeten  $\alpha_2$ -Globulin Angiotensinogen. Angiotensin I wird durch das hauptsächlich in der Lunge und im Blut vorkommenden Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) in das stark vasokonstriktorisch wirksame Oktapeptid Angiotensin II umgewandelt.

ACE ist über einen C-terminalen, hydrophoben,  $\alpha$ -helikalen Bereich in der Plasmamembran v.a. von Endothelzellen und glatten Muskelzellen verankert. Es zirkuliert aber auch in löslicher Form im Plasma. ACE bewirkt neben der Umwandlung von Angiotensin auch die Inaktivierung von Bradykinin. Bradykinin entsteht aus Kallidin, welches aus dem in der Niere gebildeten Kininogen mittels Kallikrein freigesetzt wird. Bradykinin wird durch zwei Kininasen in inaktive Fragmente zerlegt, wobei die Kininase II mit ACE identisch ist. Kinine sind vasodilatorische Gewebshormone. Sie wirken natriuretisch und zeigen Wechselwirkungen z.B. mit Prostaglandinen. Kinine hemmen die ADH-Wirkung.

Angiotensin II hat vielfältige Wirkungen an verschiedenen Organen.

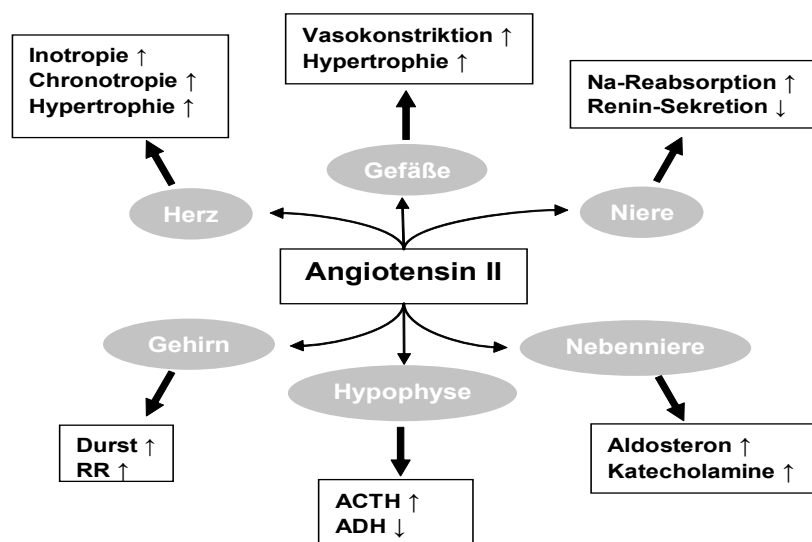


Abbildung 4: Wirkungen von Angiotensin II

Neben seiner wichtigen Rolle in der Blutdruckregulation rückte in den letzten Jahren im Kontext der Arteriosklerose-Forschung eine weitere Wirkung des Angiotensin II in den Mittelpunkt des Interesses: Angiotensin II wirkt proinflammatorisch. Es bewirkt in Gefäßzellen die Freisetzung freier Sauerstoff-Radikale und in Folge den Anstieg redox-sensitiver Cytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren, die auch Teil der Arteriosklerose-Pathogenese sind. Angiotensin II reguliert Wachstum und Migration von glatten Muskelzellen und Fibroblasten, die Apoptose von Endothelzellen und die Differenzierung von Monozyten und Makrophagen (Weiss et al 2001).

Angiotensin II entfaltet seine Wirkung an zwei verschiedenen Rezeptortypen. AT1-Rezeptoren kommen in vielen Geweben, u.a. im Herz, in den Nierenarterien und in den Nebennieren vor (deGasparo et al 1990, Dudley et al 1990, Herblin et al 1991, Whitebread et al 1989). Sie haben sieben Transmembrandomänen und gehören zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Angiotensin II wirkt über die Aktivierung des Phosphatidylinositolcyclus. AT1a-Rezeptoren sind Blutdruckregulatoren (Hein 1998) und stimulieren das Kardiomyozyten-Wachstum. AT1b-Rezeptoren bestimmen möglicherweise in Abwesenheit von AT1a R den Gefäßtonus.

Der AT2-Rezeptor findet sich u.a. in vielen fetalen Geweben (Grady et al 1991, Tsutsumi et al 1991). Seine Aminosäuresequenz ist zu 34% identisch mit der des AT1-Rezeptors. Der Wirkungsmechanismus ist nicht bekannt. Tierexperimente legen die Vermutung nahe, dass der AT2-Rezeptor eine Rolle bei der Blutdruckregulation und bei Wachstums- und Entwicklungsprozessen spielt.

Aldosteron fördert die NaCl<sub>2</sub>- Rückresorption in der Niere. Über diesen Mechanismus werden Blutvolumen und Blutdruck erhöht. Außerdem fördert Aldosteron die Kalium- und Protonenausscheidung. Natriummangel bzw. Kaliumanstieg stimulieren die Zellen der Zona glomerulosa zur Aldosteronabgabe. Auch die erhöhte Freisetzung von Renin (s.o.) bewirkt die Freisetzung von Aldosteron. Aldosteron und Angiotensin II führen über eine negative Rückkopplungsschleife zur verminderten Reninsekretion.

Aldosteron wirkt über einen Rezeptor aus der Familie der Steroidhormonrezeptoren.

Es bindet an den cytoplasmatischen Aldosteron-Rezeptor. Nach Aktivierung gelangt Aldosteron als Mineralocorticoid-Rezeptor-Komplex in den Zellkern. Dort beeinflusst es die Expression spezifischer Gene.

#### **1.4.3.2 Polymorphismen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS)**

Verschiedene Polymorphismen des RAAS wurden in den vergangenen Jahren mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen in Verbindung gebracht.

Die diesbezüglich durchgeführten Studien betrafen v.a. das Angiotensinogen-Gen (AGT) (M235T- und T174M-Polymorphismus), das ACE-Gen (ID-Polymorphismus) und das Angiotensin 1-Rezeptor-Gen (A1166C-Polymorphismus).

##### Der M235T- und der T174M-Polymorphismus im Angiotensinogen-Gen

In zahlreichen Studien über den M235T- und den T174M-Polymorphismus des AGT-Gens wurde die Assoziation der Polymorphismen mit:

- erhöhten Angiotensinogen-Plasmaspiegeln
- Frequenzunterschieden gemäß ethnischer Herkunft
- Hypertonie
- linksventrikulärer Hypertrophie
- KHK
- Myokardinfarkt und
- Restenose nach PCI

untersucht.

Die Ergebnisse dieser Studien sind widersprüchlich. Welche Rolle der M235T- und der T174M-Polymorphismus des Angiotensinogen-Gens für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen spielen, ist noch nicht geklärt. Einen Überblick über diese Studien gibt **Tabelle 7** im Anhang.

##### Der ID-Polymorphismus im Angiotensin-Converting-Enzyme-Gen

In zahlreichen Studien über den ID-Polymorphismus des ACE-Gens wurde ebenfalls

die Assoziation des Polymorphismus mit:

- erhöhten ACE-Plasmaspiegeln
- Frequenzunterschieden gemäß ethnischer Herkunft
- Hypertonie
- linksventrikulärer Masse bzw. Hypertrophie
- KHK
- Myokardinfarkt und
- Restenose nach PCI

untersucht.

Außerdem wurde die Assoziation des Polymorphismus mit:

- Restenose nach PCI mit koronarem Stenting
- diabetischer Nephropathie und
- Interaktionen mit den M235T- und T174M-Polymorphismen des AGT-Gens und dem A1166C-Polymorphismus des AT1 R-Gens bezüglich KHK, Myokardinfarkt und extraventrikulärer Arrhythmien

untersucht.

Die Ergebnisse dieser Studien sind widersprüchlich. Welche Rolle der ACE-ID-Polymorphismus in der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen spielt, ist ebenfalls noch nicht geklärt. Einen Überblick über diese Studien gibt **Tabelle 8** im Anhang.

#### Der A1166C-Polymorphismus im Angiotensin II Typ 1 Rezeptor-Gen

Es gibt zahlreiche Studien über das AT1 R-Gen.

1991 gelang die Klonierung und Sequenzierung des Angiotensin II Rezeptor Typ 1 Gens (AT1 R) beim Rind und bei der Ratte (Sasaki et al 1991, Murphy et al 1991).

1992 wurde das Gen für den humanen Angiotensin II Rezeptor Typ 1 kloniert und sequenziert (Furuta et al 1992).

Im selben Jahr wurde eine AT1 R-Promotorregion in den Positionen -602 (CAAT) und -538 (TATA) vor Translationsbeginn gefunden (Mauzy et al 1992). Die AT1 R-Gensequenz ist homolog zu der des Rinds und der Ratte. Das Gen ist funktionell

gekoppelt mit dem Inositol-Phosphat-Zyklus. Der Rezeptor wird exprimiert in Plazenta, Lunge, Herz, Leber und Niere. Es wurde von der Existenz eines anderen AT1 R-Subtyps berichtet (Mauzy et al 1992).

1994 gelang die Klonierung des AT1b R (Konishi et al 1994). Das Polypeptid besteht aus 359 Aminosäuren und weist eine 97,2%ige Identität mit dem AT1a R auf. Alle Aminosäure-Substitutionen befinden sich in der C-terminalen Hälfte. Der Subtyp wird in Lunge, Leber und Plazenta exprimiert.

1994 wurde die genomische Organisation des humanen AT1 R-Gens beschrieben (Guo et al 1994). Es besteht aus fünf Exons. Seine Länge ist größer als 55 kb. Die Exongrößen liegen zwischen 59-2014 Basenpaaren, wobei vier der Exons 5'-untranslatierte Bereiche kodieren.

1999 wurde ein Review-Artikel über Funktion und Regulation der Angiotensin II-Rezeptoren in vaskulären Geweben und in der Nebenniere veröffentlicht (Wang et al 1999). Es wurde die Frage gestellt, inwieweit dieses Wissen die Basis zukünftiger Therapieansätze sein könnte.

Seitdem sind neben vielen klinischen Studien weitere Arbeiten zu biochemischem und molekulargenetischem Spezialwissen der AT Rezeptoren erschienen (Abdalla et al 2000; Amedeo et al 2002).

Außerdem gibt es zahlreiche Studien über den AC-Polymorphismus des AT1 Rezeptor-Gens.

Es wurden fünf Polymorphismen im humanen AT1-Rezeptor identifiziert (Bonnardeaux et al 1994). Keiner dieser Polymorphismen verändert die kodierte Aminosäuresequenz. Dennoch wurde eine Assoziation zwischen dem A1166C Polymorphismus des AT1-Rezeptors und der arteriellen Hypertonie gefunden (Bonnardeaux et al 1994).

Im selben Jahr wurde von einem synergistischen Effekt des AT1 R AC-Polymorphismus und des ACE ID-Polymorphismus auf das Myokardinfarkt-Risiko berichtet. Eine Assoziation des des AT1 R AC-Polymorphismus allein mit dem Myokardinfarkt konnte allerdings nicht festgestellt werden (Tiret et al 1994).

Seitdem sind zahlreiche Studien über die Assoziation des AT1 R-AC-Polymorphismus mit

- der KHK (Gardemann et al, 1998)
- der Restenose nach PCI (Völzke et al, 2000)
- der Hypertonie (Bonnardeaux et al, 1994)
- der kardialen Hypertrophie (Wang et Staessen, 2000)
- dem Myokardinfarkt (Tiret et al, 1994) und
- über Interaktionen mit dem ACE ID- und dem AGT MT-Polymorphismus

erschienen.

Die Ergebnisse dieser Studien sind widersprüchlich. Sie lassen keine abschließende Beurteilung der Rolle des AT1 R AC-Polymorphismus in der Pathogenese und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen zu.

Einen Überblick über Studien zum A1166C-Polymorphismus des AT1-Rezeptor-Gens gibt **Tabelle 9** im Anhang.

#### **1.4.3.3 Andere Polymorphismen**

Andere Polymorphismen wurden ebenfalls in zahlreichen Studien auf eine Assoziation mit kardiovaskulären Erkrankungen untersucht. Kandidatengene betrafen die Gefäßwand (Boerma et al 1999, Cahilly et al 2000, Guzik et al 2000, Inoue et al 1998), Plättchen und Leukozyten (Weiss et al 1996), das Gerinnungs- und Fibrinolyse-System (Eriksson et al 1995, Iacoviello et al 1998, Ridker et al 1997, Roest et al 2000), den Lipid- und Glucose-Metabolismus (Kuivenhoven et al 1998) und andere metabolische Faktoren. In einer großen Screening-Studie wurden 112 Polymorphismen bei 909 Personen, 19 Polymorphismen bei 2858 Männern und 18 Polymorphismen bei 1294 Frauen untersucht (Yamada et al 2002). Es wurde bei Männern eine Assoziation des Myokardinfarktes mit dem C1019T-Polymorphismus im Connexin 37-Gen gefunden. Bei Frauen wurde eine Assoziation des Myokardinfarktes mit dem 4G-668/5G-Polymorphismus im Plasminogen-Aktivator Inhibitor Typ 1-Gen und dem 5A-1171/6A-Polymorphismus im Stromalysin-1-Gen nachgewiesen.



## 1.5 Studienziel

Die KHK ist eine weitverbreitete kardiovaskuläre Erkrankung. Trotz vielfältiger therapeutischer Möglichkeiten stellt die KHK gegenwärtig die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen dar. Ein wesentliches Problem in der Therapie der KHK ist das Auftreten einer Restenose nach interventioneller PCI.

Es wurden zahlreiche Risikofaktoren der KHK identifiziert. Unter den genetischen Risikofaktoren wurde u.a. der A1166C-Polymorphismus im Gen für den Angiotensin II Typ 1-Rezeptor untersucht. In zahlreichen Studien wurde versucht, eine Assoziation des AT1-Rezeptor AC-Polymorphismus mit dem Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen nachzuweisen. Die Ergebnisse dieser Studien sind widersprüchlich und aufgrund unzureichender Studiendesigns nur eingeschränkt auswertbar.

Mit der vorliegenden prospektiv durchgeführten Untersuchung soll daher erneut eine mögliche Assoziation des A1166C-Polymorphismus im AT1 R-Gen mit der KHK und mit der Restenose nach PCI überprüft werden. Dies geschieht anhand einer hinreichend großen Datenmenge und unter Beachtung der notwendigen Ausschlußkriterien auf Grundlage sorgfältiger diagnostischer Untersuchungen.

Das Ziel dieser Studie ist:

1. die Häufigkeit des AC-Polymorphismus im AT1 R-Gen bei KHK-Patienten im Vergleich mit einem gesunden Kontrollkollektiv darzustellen und
2. bei KHK-Patienten eine Assoziation des AC-Polymorphismus im AT1 R-Gen mit der Restenose nach interventioneller PCI nachzuweisen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sollen zur Klärung der bisher vorliegenden widersprüchlichen Daten beitragen.

Alle im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten DNA-Analysen wurden im Labor des Instituts für Herz-Kreislaufforschung an der Universität Witten-Herdecke unter Leitung von Dr. med. Th. Scheffold durchgeführt. Die klinisch kardiologische Betreuung der Arbeit erfolgte durch Prof. Dr. med. J. Thale, Schüchtermann-Klinik Bad-Rothenfelde.

## 2 Materialien und Methoden

### 2.1 Patientenkollektive

#### KHK-Kollektiv

Das KHK-Kollektiv wurde aus dem Kollektiv einer großen Restenosestudie (VESPA) rekrutiert (Bestehorn et al, 2004). Die Patienten stammen aus folgenden Kliniken: Herz-Zentrum Bad Krozingen, Deutschland, Herz- und Gefäßklinik Bad Neustadt, Deutschland und Herz-Zentrum Lahr, Deutschland. Die Bestehorn-Kollektive aus zwei französischen Kliniken konnten aufgrund französischer Gesetze, die den Transport von DNA-Proben über die Grenze verbieten, nicht in die vorliegende Studie eingeschlossen werden. Es wurden 426 Patienten (356 ♂, 70 ♀) zwischen 35 und 80 Jahren (Durchschnittsalter 61 Jahre) mit durch PCI gesicherter KHK eingeschlossen. Von allen Patienten lag eine schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie vor. Die erfolgreiche Intervention wurde definiert als Reststenose <30% und, im Falle eines Stenting (83,6%), durch erfolgreiche Stentimplantation ohne Reststenose. Bei 425 Patienten wurde spätestens nach einem halben Jahr, bei erneuter pektanginöser Symptomatik auch früher, eine Kontrollangiographie zum Ausschluss einer Restenose ( $\geq 50\%$  Einengung des Lumens einer Koronararterie) durchgeführt. Das KHK-Kollektiv unterteilt sich dementsprechend in ein Restenose- und ein Nicht-Restenosekollektiv. Ausschlusskriterien der Studie waren: Restenose bei Studienbeginn, Okklusionen, Stenosen in Bypässen, instabile Angina, akuter Myokardinfarkt, Mehrgefäß-PCI, insulinabhängiger Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz, Sick-Sinus-Syndrom, AV-Blöcke, Herzinsuffizienz, linksventrikuläre Ejektionsfraktion <40%, schwere Begleiterkrankungen und eingeschränkte Einwilligungsfähigkeit des Patienten.

#### Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv rekrutierte sich aus konsekutiv im Herz-Zentrum Lahr, Deutschland, untersuchten Patienten, bei denen eine KHK koronarangiographisch ausgeschlossen wurde. Das Kontrollkollektiv besteht aus 181 Personen (67 ♂, 114 ♀) mit einem Durchschnittsalter von 57 Jahren. Eine hypertrophe oder dilatative

Kardiomyopathie (HCM, DCM) und Klappenerkrankungen wurden LV-angiographisch sowie echokardiographisch ausgeschlossen.

### Blutproben

Von 431 KHK-Patienten und 185 Kontrollpersonen lag Blut zur Isolation von DNA für molekulargenetische Analysen vor. Das EDTA-Blut wurde bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert. Bei 5 Proben des KHK-Kollektivs und bei 4 Proben des Kontrollkollektivs war die molekulargenetische Analyse wegen schlechter Probenqualität nicht auswertbar.

## **2.2 Das Angiotensin II Rezeptor Typ 1- Gen (AT1 R-Gen)**

Das AT1 R-Gen befindet sich am Genlocus 3q21-q25. Es besteht aus fünf Exons und umfaßt mehr als 55 kb. Die Exongrößen reichen von 59 bis 2014 bp. Lediglich das fünfte Exon kodiert eine translatierte Sequenz (Guo et al 1994).

Das humane AT1 R-Gen wurde von Furuta et al (1992) sequenziert (Accession Number GenBank: Z11162). Die codierende Sequenz (CDS) befindet sich im Bereich von 464...1543 bp.

Der A1166C-Polymorphismus liegt im 3' untranslatierten Bereich (Bonnardeaux et al 1994). Es können folgende Genotypen auftreten:

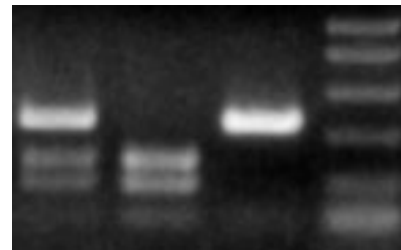
- AA homozygot
- CC homozygot
- AC heterozygot.

Die Analyse dieses Polymorphismus erfolgte wie in Katsuya et al (1995) beschrieben. Es wurde mit folgenden Primern ein 350 bp langes Genfragment amplifiziert: Primer 20/01 / sense = 5'-ATAATGTAAGCTCATCCACC; Primer 20/02 / antisense = 5'-GAGATTGCATTTCTGTCAGT (Katsuya et al 1995).

Das Vorhandensein des C- Nukleotids anstelle des A-Nukleotids schafft an Position

1166 eine Schnittstelle für die Restriktionsendonuklease Dde I. Je nach Genotyp entstehen beim Restriktionsverdau der PCR-Fragmente durch Dde I daher unterschiedlich große DNA-Fragmente. Durch Darstellung der Fragmente auf einem Agarose-Gel ist die Bestimmung der Genotypen möglich.

- AA: 350 bp lange Fragmente
- CC: 139 und 211 bp lange Fragmente
- AC: 350, 139 und 211 bp lange Fragmente.



AC CC AA M

Abbildung 5: Genotypen des AT1-Rezeptors

In der Normalbevölkerung sind die Genotypen AA : AC : CC wie 49% : 44% : 7% verteilt (Tiret et al 1994).

In der männlichen Normalbevölkerung ist die Verteilung der Genotypen AA : AC : CC wie 51% : 42% : 7%, in der weiblichen Normalbevölkerung wie 44% : 50% : 6% (Abdollahi et al 2005).

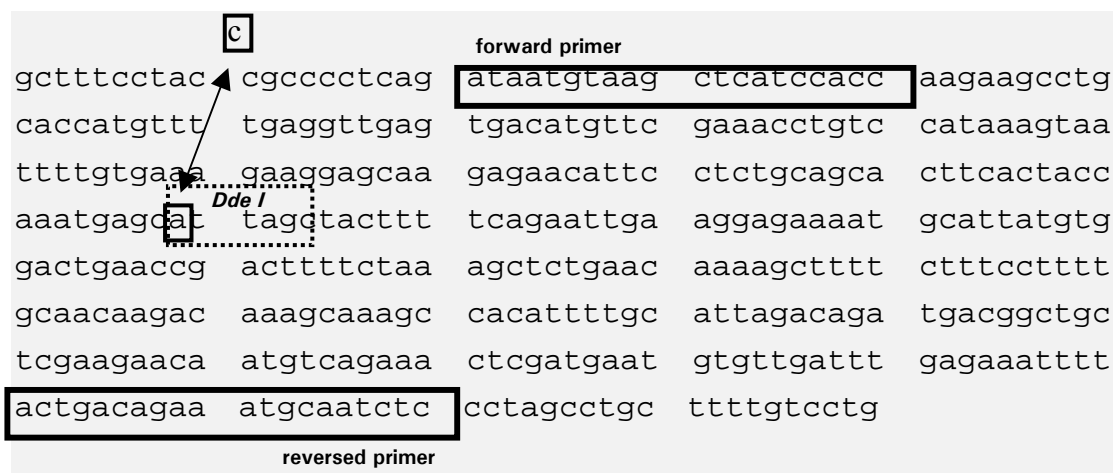


Abbildung 6: Sequenz des AT1 R-Gens (Accession Number GenBank: Z 11162)

Abbildung 6 zeigt die Sequenz des AT1 R-Gens im Bereich 1008 – 1407.

An Position 1166 ist der AC-Polymorphismus lokalisiert ([a](#)).

Die Primer zur Amplifikation des 350 bp-Fragmentes sind markiert:

- forward primer = 5'-ATAATGTAAGCTCATCCACC,
- reversed primer = 5'-GAGATTGCATTTCTGTCAGT.

Ebenfalls markiert ist die Schnittstelle für das Enzym Dde I.

## 2.3 Isolierung genomischer DNA und Quantifizierung

### 2.3.1 Isolierung

Die DNA wurde aus sich in Vollblut befindenden Leukozyten isoliert.

Die Präparation erfolgte unter Verwendung des QIAamp DNA Blood Mini Kits (*QIAGEN, Hilden, Deutschland*). Das Funktionsprinzip dieses Kits beruht auf Zentrifugations-säulen, die eine selektiv DNA bindende Membran enthalten.

#### Material:

- EDTA-Vollblut
- QIAamp DNA Mini Kit (*QIAGEN, Hilden, Deutschland*):
  - Zentrifugationssäulen mit Membran
  - Auffang-Gefäße (2ml)
  - Proteinase K, lyophilisiert
  - AL-Lysepuffer
  - AW1-Waschpuffer-Konzentrat
  - AW2-Waschpuffer-Konzentrat
  - AE-Elutionspuffer

Zusätzlich benötigt wurden:

- Ethanol (96-100%)
- sterile Reaktionsgefäße (1,5 ml)
- Mikroliter-Pipetten (*Model Reference, Eppendorf, Wesseling, Deutschland*)
- Pipettenspitzen mit Filter (*Sarstedt, Nürnberg, Deutschland*)

- Kleinschüttelgerät (*VORTEX GENIE 2 Modell G 560 E, Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA*)
- temperierbares Wasserbad (*GFL, Burgwedel, Deutschland*)
- Mikrozentrifuge (*Biofuge pico, Heraeus, Hanau, Deutschland*)

#### Vorbereitung:

- Bei Öffnen eines neuen Kits mußten die Komponenten den Herstellerangaben entsprechend vorbereitet werden:
  - 24 mg Proteinase K wurde in 1,2 ml Proteasereagenz gelöst und aliquotiert
  - 19 ml AW1-Waschpuffer-Konzentrat wurden in 25 ml 96-100% Ethanol gelöst
  - 13 ml AW2-Waschpuffer-Konzentrat wurden in 30 ml 96-100% Ethanol gelöst
- Auftauen der Blutproben
- Vorheizen des Wasserbades auf 56°C

#### Durchführung:

Für die Isolation wurden 200 µl EDTA-Vollblut eingesetzt. Es wurden 20 µl Proteinase K in ein Reaktionsgefäß pipettiert. Das Blut wurde dazu pipettiert. Die Proteinase baut Zellproteine ab. Nach Hinzupipettieren von 200 µl Lysepuffer wurde die Probe sorgfältig gemischt und bei 56°C für 10 min im Wasserbad inkubiert. Der Lyse-Puffer lysiert die Zellmembran, so dass neben den Zellorganellen auch die DNA in den Zellkernen freigesetzt und isoliert werden kann. Dann wurden 200 µl Ethanol dazupipettiert, die Probe gemischt und auf die Zentrifugationssäule pipettiert. Es schloß sich ein Zentrifugationsschritt bei 8000 rpm für 1 min an. Dabei pasierten Proteine und andere Blut- und Zellbestandteile die Membran und befanden sich im Filtrat, während die DNA spezifisch gebunden wurde. Die Zentrifugationssäule wurde in ein neues Reaktionsgefäß gestellt und das Filtrat verworfen.

Es folgten zwei Waschschrte, in denen Verunreinigungen, die sich noch in der Membran befanden, entfernt wurden. Zuerst wurden 500 µl AW1-Waschpuffer auf die Zentrifugationssäule pipettiert und diese bei 8000 rpm für 1 min zentrifugiert. Die Zentrifugationssäule wurde in ein neues Reaktionsgefäß gestellt und das Filtrat

verworfen. Dann wurden 500 µl AW2-Waschpuffer auf die Zentrifugationssäule pipettiert und diese bei 12000 rpm für 3 min zentrifugiert. Die Zentrifugationssäule wurde in ein neues Reaktionsgefäß gestellt und das Filtrat verworfen.

Es schloß sich eine Zentrifugation bei 12000 rpm für 2 min an, um das restliche Ethanol zu entfernen. Ethanolreste in der DNA-Probe können die folgende PCR-Reaktion inhibieren.

Die Zentrifugationssäule wurde nach Verwerfen des Filtrats in ein steriles 1,5 ml Reaktionsgefäß gestellt, und 150 µl AE-Elutionspuffer wurden vorsichtig auf die Membran pipettiert. Es folgte eine Inkubation für 5 min bei Raumtemperatur, gefolgt von einem Zentrifugationsschritt bei 8000 rpm für 1 min. Die DNA lag jetzt im Puffer gelöst vor.

Die DNA wurde im Kühlschrank (4°C) aufbewahrt oder für längere Lagerung bei -20°C tiefgefroren.

### **2.3.2 Quantifizierung der isolierten DNA**

#### Material:

- Photometer (*Gene Quant II, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NY, USA*)
- Quarzküvette (*Suprasil, HELLMMA, Müllheim, Deutschland*)
- Mikroliter-Pipetten (*Model Reference, Eppendorf, Wesseling, Deutschland*)
- Pipettenspitzen mit Filter (*Sarstedt, Nürnberg, Deutschland*)
- deionisiertes, steriles Wasser

#### Durchführung:

Die Bestimmung der Konzentration der isolierten DNA erfolgte photometrisch. Gemessen wurde die Absorption von Licht der Wellenlängen 260 nm und 280 nm in einer definierten DNA-Lösung (s.u.). Aus dem Ausmaß der Absorption bei 260 nm konnte die Konzentration der DNA errechnet werden: Eine Absorption von 1 entspricht einem DNA-Gehalt von 50 µg/ml .

Der Quotient  $A_{260}/A_{280}$  ist ein Maß für die Reinheit der Probe. Lag dieser zwi-

schen 1,7-1,9, so lag proteinfreie DNA vor.

Zur Messung wurde eine Verdünnung von 1:7 hergestellt (10 µl gereinigte DNA mit 60 µl Wasser), in die Quarzküvette pipettiert und im Photometer gemessen.

### **2.3.3 Herstellung von Arbeitslösungen**

Es wurden Arbeitslösungen für die PCR mit einer einheitlichen DNA-Konzentration von 25 ng/µl hergestellt.

## **2.4 Nachweis des AT1 R A1166C-Polymorphismus über Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus-Analyse (RFLP)**

### **2.4.1 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)/Amplifikation des 350 bp-Fragments**

#### Material:

- DNA-Arbeitslösung (25 ng/µl)

- 10 x Puffer (1M Tris-Puffer, pH 9)

Rezept: 10 ml 10 x PCR-Puffer:

1 ml 1M Tris-Puffer pH 8; 8,5 oder 9

5 ml 1M KCl

1 ml Gelatine (1%)

mischen, mit deionisiertem, sterilem Wasser auf 10 ml auffüllen, ph-Wert nachmessen und eventuell mit HCl nachjustieren

- MgCl<sub>2</sub> (15mM)

- dNTPs (5mM) (*Roche, Basel, Schweiz*)

- Taq-Polymerase (10 U/µl) (*Promega, Mannheim, Deutschland*)



- Primer 20/01 forward (20 pmol/μl)
- Primer 20/02 reversed (20 pmol/μl)
- deionisiertes steriles Wasser
- sterile 0,2 ml Reaktionsgefäße (*Eppendorf, Wesseling, Deutschland*)
- Mikroliter-Pipetten (*Model Reference, Eppendorf, Wesseling, Deutschland*)
- Pipettenspitzen mit Filter (*Sarstedt, Nürnbergrecht, Deutschland*)
- Thermocycler (*T personal, Biometra, Göttingen, Deutschland*)

Durchführung:

- PCR-Ansatz in 25 μl Gesamtvolumen:
  - 2 μl DNA
  - 2,5 μl 10 x Puffer pH 9
  - 2,5 μl MgCl<sub>2</sub>
  - 1 μl dNTPs
  - 0,2 μl Taq-Polymerase (entspricht 2 Units)
  - 0,5 μl Primer 20/01 forward
  - 0,5 μl Primer 20/02 reversed
  - 15,8 μl Wasser

- Amplifikationsbedingungen:

Zunächst erfolgte die Ermittlung der optimalen PCR-Bedingungen. Diese waren Voraussetzung dafür, dass die Primer nur ein spezifisches Produkt amplifizierten. Zur Optimierung der Amplifikation des 350 bp Fragmentes wurden PCRs mit drei verschiedenen Puffer-pH-Werten (8; 8,5; 9) und bei drei verschiedenen Anneling-Temperaturen (50°C, 55°C, 60°C) durchgeführt. Der PCR-Puffer pH 9 und die Anneling-Temperatur 55°C erwiesen sich als optimal.

Zur Amplifikation wurden folgende Schritte im Thermocycler durchgeführt:

1. Anfangs-Denaturierung:	94°C	2 min	} <u>Cycles</u> 35 x Schritt 2-4
2. Denaturierung:	94°C	45 sec	
3. Anneling:	55°C	30 sec	
4. Elongation:	72°C	45 sec	
5. End- Elongation:	72°C	5 min	
6. Pause	4°C		

## 2.4.2 Analyse der PCR- und Restriktionsverdau-Produkte

Die Analyse der PCR-Produkte und die Restriktionsverdauanalyse erfolgten auf 1,5 bzw. 1,7% igen Agarose Maxi Gelen. 40 Proben konnten parallel analysiert werden.

### 2.4.2.1 Herstellung der Agarose-Gele

#### Material:

- Agarose LE (*Roche, Basel, Schweiz*)
- 50 x TAE-Puffer (Tris-Acetat-EDTA ph 8,3)

Rezept: 500 ml 50 x TAE-Puffer: 121 g Tris Base mit Wasser auf 400 ml auffüllen  
22 ml Essigsäure (99%)  
50 ml 0,5 M EDTA pH 8.0  
mischen, dann mit Essigsäure pH 8,3 einstellen, mit Wasser ad 500 ml auffüllen, sterilfiltrieren, bei 4 °C lagern

- deionisiertes steriles Wasser
- Ethidiumbromid (1%)
- Gelträger und Abdichtungen
- Kamm mit 40 Zähnen
- Magnet-Rührer, heizbar (*Heidolph, MR 3001, Schwabach, Deutschland*)

#### Durchführung:

Als Gel- und Laufpuffer wurde 1 x TAE verwendet. Um die DNA-Fragmente sichtbar zu machen wurde der Gellösung vor dem Auspolymerisieren der Fluoreszenzfarbstoff Ethidiumbromid zugesetzt.

#### Ansatz für ein 1,5% (bzw. 1,7%)-Maxi Gel:

1,9 g (2,1 g) Agarose wurden unter Hitze und Rühren in 130 ml 1 x TAE-Puffer in einem 150 ml Glaskolben gelöst. Nach Abkühlen auf etwa 60 °C der Lösung wurden 6 µl Ethidiumbromid zugegeben.

Der Gelträger wurde zur Gelgießvorrichtung abgedichtet. Es wurde ein Kamm eingesteckt, der die Aussparungen für die Proben schaffte. Die warme noch flüssige Agarose wurde in die Gießkammer eingefüllt. Nach etwa 30min war die Agarose auspolymerisiert und die Abdichtungen und der Kamm konnten entfernt werden.

#### **2.4.2.2 Elektrophorese**

##### Material:

- 1,5% (bzw. 1,7%) ige Agarose-Gel
- 1 l TAE Elektrophoresepuffer
- PCR-Produkt (bzw. Verdau-Produkt)
- Loading dye: 0,25% Bromphenol-Blau, 0,25% Xylene Cyanol, 30% Glycerol in 6 x Auftragspuffer (LD)
- DNA-Marker (*pGEM*, Promega; Mannheim, Deutschland)
- Elektrophoresekammer (*Agagel Maxi*, Biometra, Göttingen, Deutschland)
- Netzgerät (*Electrophoresis Power Supply EPS 601*, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NY, USA)
- UV-Transilluminator (*UVP*, Cambridge, UK)
- Kamera (*EP H7 0,7X Electrophoresis Hood*, Polaroid, Dreieich, Deutschland)

##### Durchführung:

Den PCR- bzw. Restriktionsverdau-Produkten wurde ein 6-fach konzentrierter Auftragspuffer (LD) zugegeben. Die darin enthaltenen Farbstoffe hatten unterschiedliche Laufeigenschaften. Sie dienten damit als optische Kontrolle, wie weit die Elektrophorese fortgeschritten war. Die Bromphenolblau-Bande markierte den niedermolekularen Bereich, die Xylene-Cyanol-Bande den hochmolekularen Bereich. Außerdem enthielt der Auftragspuffer Glycerol, welches das Auftragen der Proben in den Auftragstaschen ohne Vermischung mit dem Laufpuffer erlaubte.

Das Agarose-Gel wurde mit dem Gelträger in die Elektrophoresekammer gestellt. 1 x TAE Laufpuffer wurden in die Elektrophoresekammer eingefüllt, bis das Gel vollständig bedeckt war. 5 µl PCR-Produkt wurden mit 1µl LD gemischt und in eine

Auftragstasche pipettiert. Parallel zu den Proben wurden in einer Tasche 5µl DNA Marker aufgetragen.

Die Elektrophorese wurde bei 150 V für 30 Minuten durchgeführt.

Im Anschluß an die Elektrophorese wurde das Gel auf dem UV-Transilluminator photographiert und ausgewertet.

### **2.4.3 Restriktionsverdau mit Dde I zur Detektion des AC-Polymorphismus im AT1 R-Gen**

#### **2.4.3.1 Aufreinigung der PCR-Produkte**

Die PCR-Produkte wurden vor dem Verdau mit dem QIAamp PCR Purification Kit (*QIAGEN, Hilden, Deutschland*) aufgereinigt. Dabei wurden Reste des PCR-Ansatzes (Puffer, dNTPs, Primer) entfernt.

#### **2.4.3.2 Quantifizierung der PCR-Produkte**

Vor dem Verdau war eine einmalige Bestimmung der durchschnittlichen DNA-Konzentration des aufgereinigten PCR-Produktes notwendig. Es mußte das optimale Verhältnis von DNA-Menge zu Enzymmenge ermittelt werden. Die semiquantitative Bestimmung erfolgte unter Verwendung eines DNA-Markers, dessen Banden eine genau definierte Menge DNA enthielten. Der Vergleich mit dem in gleicher Menge auf ein Agarose-Gel aufgetragenen PCR-Produkt erlaubte eine Abschätzung von dessen DNA-Gehalt.

#### Material:

- 1,5%iges Agarose-Gel (s. 2.4.2.1)
- aufgereinigtes PCR-Produkt
- DNA-Marker 50-1000 bp (*Bio Whittaker Molecular Applications, Borken, Deutschland*)  
(Auftrag von 5 µl entsprach einem DNA-Gehalt von 50 ng/Bande)

Durchführung (s. auch 2.4.2.2):

Es wurden jeweils 5 µl PCR-Produkt bzw. DNA-Marker mit 1 µl LD gemischt und aufgetragen.

Die Elektrophorese wurde bei 150V und einer Laufzeit von 30 min durchgeführt.

### **2.4.3.3 Restriktionsverdauansatz**

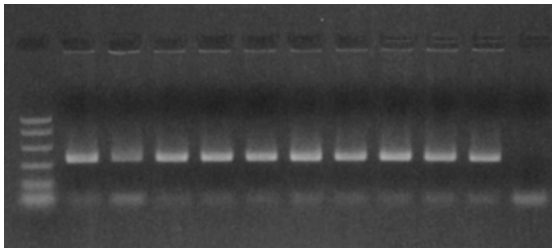
Material:

- aufgereinigtes PCR-Produkt
- Dde I (1U/µl) (Internationaler Standard-Code: 81811-53-2) (*Roche, Basel, Schweiz*)
- Sure Cut H-Puffer (*Roche, Basel, Schweiz*)
- deionisiertes steriles Wasser
- sterile 0,3 ml Reaktionsgefäße
- Mikroliter-Pipetten (*Model Reference, Eppendorf, Wesseling, Deutschland*)
- Pipettenspitzen mit Filter (*Sarstedt, Nürnberg, Deutschland*)
- Thermocycler: Omn-E Thermal Cycler (*Hybaid, Heidelberg, Deutschland*)

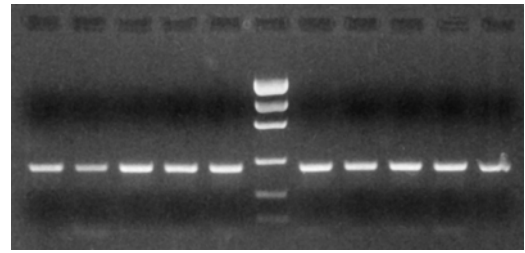
Durchführung:

10 µl PCR-Produkt wurden mit 2 µl Dde I, 2,5 µl 10 x H-Puffer und 5,5 µl Wasser gemischt und bei 37 °C für drei Stunden inkubiert.

Der dargestellte Restriktionsverdau mit vorheriger Aufreinigung der PCR-Produkte und Quantifizierung stellte den idealen Verdauablauf dar. Es stellte sich heraus, dass auch die direkte Zugabe von Dde I zu dem unaufgereinigten PCR-Produkt zu eindeutigen Analyseergebnissen führte. Im Folgenden wurden 20 µl PCR-Produkt mit 2 µl Dde I für drei Stunden bei 37 °C im Thermocycler inkubiert.



a) PCR-Produkt nicht aufgereinigt



b) PCR-Produkt aufgereinigt

Abbildung 7: PCR-Produkte

#### 2.4.4 Darstellung des Restriktionsverdaus im Agarose-Gel

##### Material:

- 1,7% iges Agarose-Gel (s. 2.4.2.1)
- Restriktionsverdau-Produkte
- 6 x Loading-Dye
- DNA-Marker (*pGEM*, Promega, Mannheim, Deutschland)

##### Durchführung:

22  $\mu$ l Restriktionsverdau-Produkt wurden 4  $\mu$ l Loading-Dye zugeben. Pro Tasche wurden 6,5  $\mu$ l aufgetragen.

Neben den Restriktionsverdau Proben wurden 5  $\mu$ l DNA-Marker, unverdautes PCR-Produkt (die verdauten Proben durften keine längeren Fragmente als die unverdaute Probe aufweisen) und je Genotyp (AA, AC, CC) ein bekannter Standard aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte bei 150 V für 30 min.

Das Gel wurde zur Dokumentation auf dem UV-Transilluminator mit der Polaroid-Kamera photographiert.

## 2.5 Statistische Auswertung der Daten

Die Deskription kategorialer und ordinaler Merkmale erfolgt durch Angabe absoluter und relativer Häufigkeiten. Metrische Merkmale werden durch Angabe von Mittelwert und Standardabweichung beschrieben.

Um die Nullhypothese zu testen, dass die Genotyp-Verteilung unabhängig vom Kollektiv ist (KHKK vs. KK, bzw. RSK- vs. Nicht-RSK), wird der  $\chi^2$ -Test auf Unabhängigkeit benutzt.

Alle Tests erfolgen zweiseitig zum Signifikanzniveau 0,05.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Patientenkollektive

In die Studie wurden insgesamt 616 Patienten eingeschlossen. Bei 9 Blutproben war die molekulargenetische Analyse wegen schlechter Probenqualität nicht auswertbar. Die Daten von 607 Patienten wurden in die statistische Auswertung einbezogen.

Bei allen Patienten wurde eine Koronarangiographie durchgeführt. Bei n=181 Patienten konnte eine KHK koronarangiographisch ausgeschlossen werden. Es handelte sich um Patienten, bei denen aufgrund einer pektanginösen Symptomatik oder falsch positiver Befunde im Belastungs-EKG oder in der Thallium-Szintigraphie eine Koronarangiographie durchgeführt wurde. Sie bildeten das Kontrollkollektiv. Bei n=426 Patienten wurde eine KHK koronarangiographisch gesichert. 356 Patienten (83,6%) wurden im Rahmen der PCI zusätzlich mit einem Stent versorgt. Bei 425 der KHK-Patienten konnte eine Kontrollangiographie durchgeführt werden. Eine Restenose wurde definiert als  $\geq 50\%$  Einengung des Gefäßlumens einer Koronararterie. Die Restenoserate betrug 30,6%. Die demographischen Daten der Patientenkollektive sind aus **Tabelle 4** ersichtlich. Erwartungsgemäß zeigt das KHK-Kollektiv verglichen mit dem Kontrollkollektiv eine deutlich unterschiedliche Risikokonstellation, mit einer höheren Prävalenz der arteriellen Hypertonie, des Nikotinabusus und der Dyslipidämie.



**Tabelle 4: Beschreibung der Patientenkollektive**

	<b>KHK-Kollektiv n=426</b>	<b>Kontrollkollektiv n=181</b>
<b>Geschlecht männlich (%)</b>	356 (83,6%)	67 (37,0%)
<b>Geschlecht weiblich (%)</b>	70 (16,4%)	114 (63%)
<b>Alter (Mittelwert)</b>	60,47 ± 8,96	57,46 ± 10,26
<b>Dyslipidämie</b>		
Ja	364 (85,4%)	141 (78%)
<b>Nikotinabusus (%)</b>		
ja	159 (37,3%)	29 (16,0%)
Ex-Nikotin	167 (39,2%)	32 (17,7%)
nein	100 (23,5%)	111 (61,3%)
nicht erfasst	0 (0%)	9 (5%)
<b>arterielle Hypertonie (%)</b>		
ja	268 (62,9%)	85 (47%)
nein	158 (37,1%)	44 (24,3%)
nicht erfasst	0 (0%)	52 (28,7%)
<b>PCI mit Stentversorgung</b>	356 (83,6%)	Keine (0%)

*Definitionen und Grenzwerte:*

*Dyslipidämie:* Cholesterin >200 mg/dl  
und/oder HDL-Cholesterin <40 mg/dl  
und/oder Triglyceride >200 mg/dl

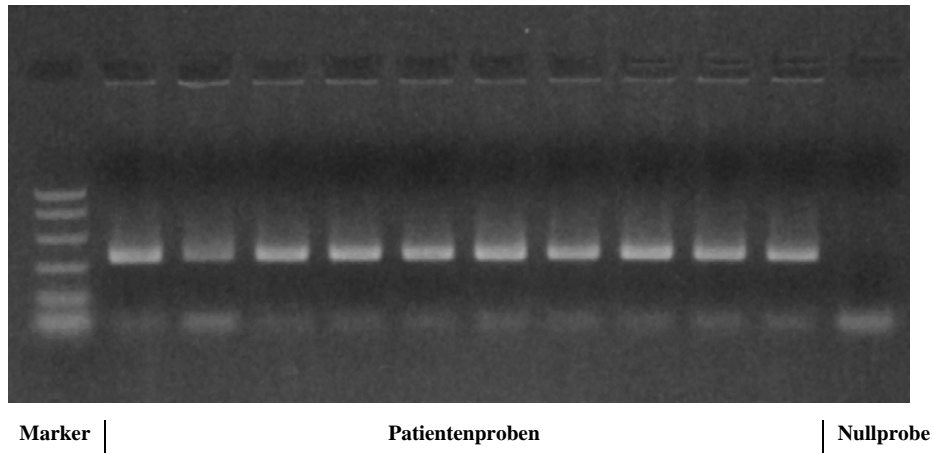
*arterielle Hypertonie:* RR >140/90 mm Hg

## 3.2 Methoden der RFLP-Analyse

### PCR-Optimierung

Als optimale PCR-Bedingungen ergaben sich der PCR-Puffer-pH-Wert von 9 und die Anneling-Temperatur von 55°C.

Zur Darstellung der PCR-Produkte erwies sich ein 1,5%iges Agarose-Gel als optimal.

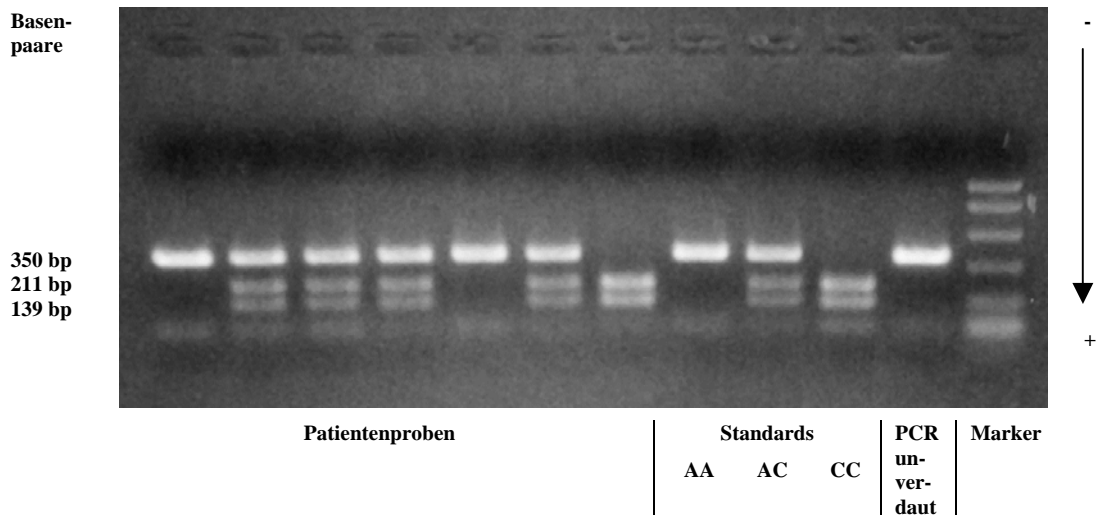


**Abbildung 8: PCR-Produkt nativ**

Abbildung 8 zeigt die Photographie eines zur Überprüfung der PCR angefertigten 1,5%igen Agarose-Geles. Es wurden 5 µl PCR-Produkt mit 1 µl Loading-Dye auf das Ethidiumbromid-haltige Gel aufgetragen. Am oberen Bildrand stellen sich dunkel die leeren Auftragsaschen dar. Die Spannung betrug 150 V bei einer Laufzeit von 30 min. Die PCR-Produkte bilden eine spezifische Bande. Die Fragmente haben, wie der links aufgetragene Marker zeigt, eine Länge von 350 bp. Die PCR zeigt keine unspezifischen Produkte in Form zusätzlicher Banden oder eines "Schmierfilms" oberhalb der spezifischen Bande. Die am rechten Rand aufgetragene Nullprobe ist rein und schließt Verunreinigungen der PCR-Ansätze aus.

#### Restriktionsverdau-Optimierung

Als optimale Restriktions-Bedingungen ergab sich der Verdau von 20 µl PCR-Produkt (entspricht 1,2 µg DNA) mit 2 µl Dde I (entspricht 2U) bei 37°C für 3 Stunden. Zur Darstellung der Restriktionsverdau-Produkte erwies sich ein 1,7%iges Agarose-Gel als optimal.



**Abbildung 9: Restriktionsverdau**

Abbildung 9 zeigt die Photographie eines zur Analyse (Genotypisierung) der Dde I-verdauten PCR-Produkte angefertigten 1,7%igen Agarose-Gels. Es wurden 6,5 µl des mit Loading-Dye versetzten Verdau-Produktes auf das Ethidiumbromid-haltige Gel aufgetragen. Die Spannung betrug 150 V bei einer Laufzeit von 30 min. Die Verdau-Produkte bilden je nach Genotyp zwischen einer und drei spezifische Banden (AA: 350 bp lange Fragmente, CC 139 und 211 bp lange Fragmente, AC: 350 und 139 und 211 bp lange Fragmente). Deren Länge läßt sich anhand des rechts aufgetragenen DNA-Markers bestimmen. Unter den C-Banden sind als leichte Aufhellung Reste des Verdau-Ansatzes sichtbar. Die vier Spalten vor dem Marker zeigen die Standard-Proben eines bekannten AA-, AC- und CC-Genotypen sowie eine Probe des unverdauten PCR-Produktes. Die Standards zeigen an, dass ein bekannter Genotyp sich mit den spezifischen Banden abbildet und eine entsprechende Interpretation der unbekanntenen Proben erlaubt ist. Unspezifische Banden, Verunreinigungen oder ein unvollständiger Verdau liegen nicht vor.

### 3.3 Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der KHK

Die Verteilung des AC-Polymorphismus zeigte keinen signifikanten Unterschied im KHK-Kollektiv und im Kontrollkollektiv. Es war keine signifikante Abhängigkeit zwischen Genotyp und Kollektivzugehörigkeit nachweisbar. Der  $\chi^2$ -Test auf Unabhängigkeit ergab einen p-Wert von 0,579. Auch bei Analyse nach Geschlecht getrennter Subgruppen mit dem  $\chi^2$ -Test auf Unabhängigkeit ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied. In der männlichen Subgruppe betrug der p-Wert 0,263, in der weiblichen Subgruppe 0,379.

**Tabelle 5: Verteilung der Genotypen im KHK- und Kontrollkollektiv**

	<b>KHK-Kollektiv</b>	<b>Kontrollkollektiv</b>
<b>Genotypen gesamt</b>	<b>n=426</b>	<b>n=181</b>
AA (%)	203 (47,6%)	84 (46,4%)
AC (%)	189 (44,4%)	74 (40,9%)
CC (%)	34 (8,0%)	23 (12,7%)
<b>Genotypen (männlich)</b>	<b>n=356</b>	<b>n=67</b>
AA (%)	168 (47,2%)	37 (55,2%)
AC (%)	160 (44,9%)	23 (34,3%)
CC (%)	28 (7,9%)	7 (10,4%)
<b>Genotypen (weiblich)</b>	<b>n=70</b>	<b>n=114</b>
AA (%)	35 (50,0%)	47 (41,2%)
AC (%)	29 (41,4%)	51 (44,7%)
CC (%)	6 (8,6%)	16 (14%)

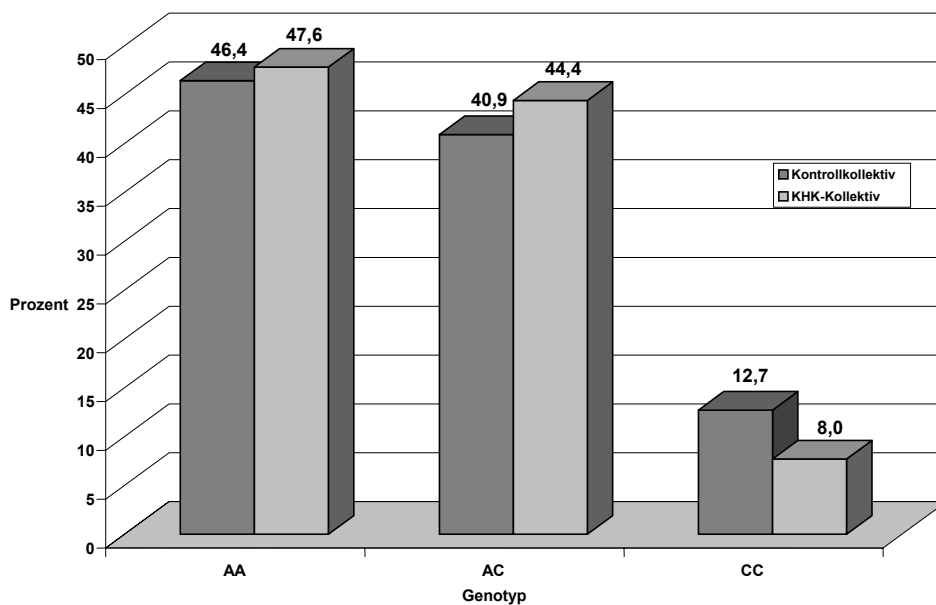


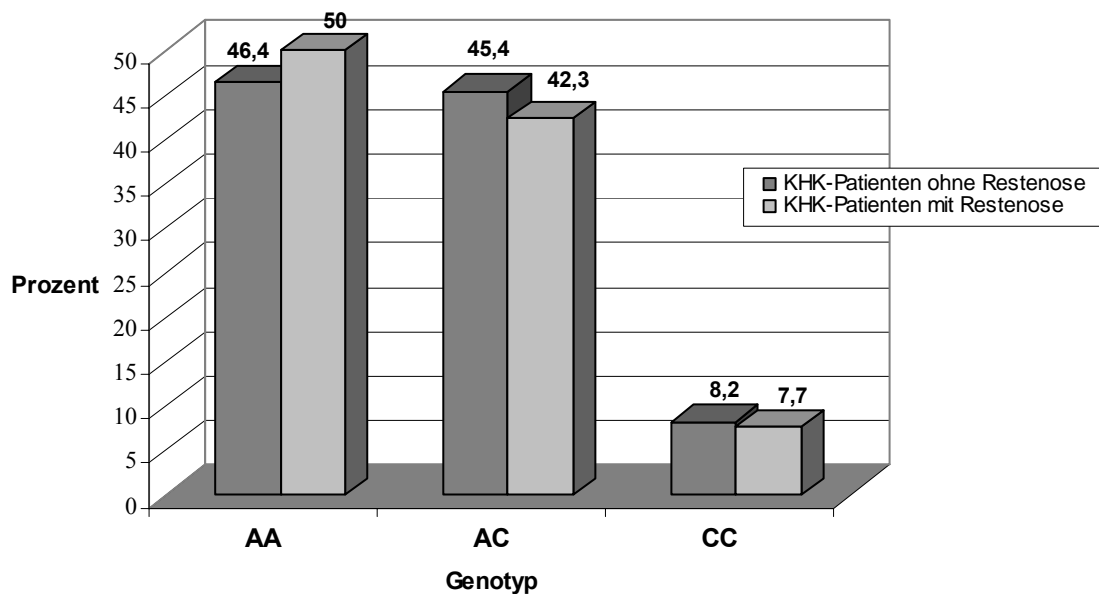
Abbildung 10: Prozentuale Verteilung der Genotypen im KHK- und Kontrollkollektiv

### 3.4 Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der Restenose nach PCI

Die Verteilung des AC-Polymorphismus zeigte keinen signifikanten Unterschied im KHK-Kollektiv mit Restenose versus dem KHK-Kollektiv ohne Restenose. Es war keine signifikante Abhängigkeit zwischen dem Genotyp und dem Auftreten einer Restenose nachweisbar. Der  $\chi^2$ -Test auf Unabhängigkeit ergab einen p-Wert von 0,795. Auch bei Analyse nach Geschlecht getrennter Subgruppen mit dem  $\chi^2$ -Test auf Unabhängigkeit ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied. In der männlichen Subgruppe betrug der p-Wert 0,490, in der weiblichen Subgruppe 0,481.

**Tabelle 6: Verteilung der Genotypen im KHK-Kollektiv mit und ohne Restenose nach interventioneller PCI**

	<b>0</b> KHK-Patienten ohne Restenose	<b>1</b> KHK-Patienten mit Restenose
<b>Genotypen gesamt (%)</b>	<b>n=295</b>	<b>n=130</b>
<b>AA</b>	137 (46,4%)	65 (50,0%)
<b>AC</b>	134 (45,4%)	55 (42,3%)
<b>CC</b>	24 ( 8,2%)	10 ( 7,7%)
<b>Genotyp männlich (%)</b>	<b>n=246</b>	<b>n=109</b>
<b>AA</b>	111 (45,1%)	56 (51,4%)
<b>AC</b>	114 (46,3%)	46 (42,2%)
<b>CC</b>	21 ( 8,6%)	7 ( 6,4%)
<b>Genotyp weiblich (%)</b>	<b>n= 49</b>	<b>n= 21</b>
<b>AA</b>	26 (53,1%)	9 (42,9%)
<b>AC</b>	20 (40,8%)	9 (42,9%)
<b>CC</b>	3 ( 6,1%)	3 (14,2%)



**Abbildung 11: Prozentuale Verteilung der Genotypen im KHK-Kollektiv mit und ohne Restenose nach interventioneller PCI**

## 4 Diskussion

### 4.1 Genpolymorphismen in der Pathogenese der Arteriosklerose

Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden in einem umfangreichen KHK-Kollektiv von 426 Patienten mit gesicherter koronarer Herzerkrankung und einem Kontrollkollektiv von 181 Personen mit angiographischem Ausschluss einer KHK erhoben. Eine Assoziation des AT1 R A1166C-Polymorphismus mit der KHK bzw. der Restenosierung nach primär erfolgreicher PCI wurde ausgeschlossen. Dieses Ergebnis ist ein wesentlicher Beitrag zur Klärung der bis heute kontrovers diskutierten Bedeutung des AT1 R A1166C-Polymorphismus für die Pathogenese der KHK sowie der koronaren Restenose nach PCI.

Die genetischen Ursachen der Arteriosklerose sowie die Mechanismen der Restenosierung von interventionell behandelten Koronar- und Bypass-Gefäßen sind zentrale Themen der Herz-Kreislaufforschung. Allerdings konnte bisher im Bereich der Gefäßerkrankungen nur für wenige genetische Befunde (zum Beispiel im LDL-Rezeptor) ein direkter kausaler Zusammenhang zwischen einer Genmutation und dem Entstehen einer Arteriosklerose nachgewiesen werden.

Für die Mehrzahl der Patienten geht deshalb die aktuelle Grundlagenwissenschaft inzwischen von einer polygenetischen Ätiologie der Arteriosklerose oder Restenose aus, d.h. genetische Befundkonstellationen werden in direktem Zusammenhang mit der Bereitschaft, eine Arteriosklerose zu entwickeln, bzw. nach erfolgreicher Intervention ein Rezidiv zu erleiden, interpretiert.

Die Entdeckung von Genpolymorphismen, also primär nicht kausal mit Krankheiten verknüpfter Genvarianten, eröffnet neue Perspektiven bei der erweiterten Bewertung genetischer Befunde. So wird heute die individuelle genetische Konstellation von Genpolymorphismen auch als Risiko für die Entstehung von Krankheiten interpretiert.

Im Hinblick auf die Pathogenese der KHK und der koronaren Restenose wurde in den vergangenen 10-15 Jahren eine Reihe von Genpolymorphismen in unterschiedlichen Genen untersucht. Dabei schienen die Genvarianten, welche das RAAS betref-

fen, von besonderem Interesse zu sein. Es wurden zuerst ein Insertions-/Deletionspolymorphismus im Gen des Angiotensin Converting Enzyme (ACE) (Cambien et al 1992) und später eine Missense Mutation (A1166C) (Bonnardeaux et al 1994, Tiret et al 1994) im nicht translatierten Bereich des Gens des Angiotensin II Rezeptor Typ 1 mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert.

## **4.2 Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der KHK**

Gegenstand der hier vorgelegten Arbeit war die Analyse des sogenannten AT1 R Polymorphismus. Es ist ungeklärt, welcher pathogenetische Mechanismus einer Assoziation des A1166C-Polymorphismus im AT1 R-Gen mit der KHK zugrunde liegen könnte. Amant et al (1997) wiesen nach, dass CC-Genotyp-Träger in angiographisch normalen Koronararterien auf Infusion eines Vasokonstriktors mit einer signifikant größeren Vasokonstriktion distaler Koronargefäße reagieren. Es wurde ausserdem berichtet, dass Personen mit dem CC-Genotyp eine erhöhte Antwort auf Angiotensin II in den Arterien, verbunden mit einem erhöhten arteriellen Blutdruck, aufweisen (Van Geel et al 2000). Diese blieb auch bei einer Behandlung mit ACE-Inhibitoren bestehen. Die enge Assoziation zur arteriellen Hypertonie ließ auch eine Assoziation zur KHK vermuten.

In klinischen Assoziationsstudien wurde über ein erhöhtes KHK-Risiko durch den CC-Genotyp im AT1-Gen berichtet (Fatini et al 2000). Diese Daten wurden in weiteren Arbeiten nicht bestätigt (Álvarez et al 1998, Gardemann et al 1998, Ortega et al 2002). Auch die vorliegende Studie konnte diese Daten nicht bestätigen. Einige der Studien, in denen eine Assoziation ausgeschlossen wurde, berichteten jedoch über eine Interaktion des AT1 R AC-Polymorphismus mit dem ACE-ID-Polymorphismus (Wang et Staessen 2000) und fanden ein erhöhtes KHK-Risiko bei gleichzeitigem Vorliegen der ACE DD- und AT1 R CC-Genotypen.

Bezüglich der Frage nach einer Assoziation zwischen dem AT1 R-Polymorphismus



und der KHK lag bisher nur eine einzelne Studie mit einem großen, hinreichend untersuchten KHK- und Kontrollkollektiv vor (Gardemann et al 1998). Die negativen Ergebnisse dieser Studie wurden durch die vorliegende Arbeit an einem ebenfalls umfangreichen und invasiv untersuchten Studienkollektiv bestätigt. Die Bewertung der widersprüchlichen Studienergebnisse ist aufgrund der unterschiedlichen Studiendesigns schwierig. Die Studie von Gardemann et al (1998) ist mit Abstand die größte der dargestellten Studien. Sie umfaßt 2244 Patienten, während Fatini et al (2000) 205 Patienten und 209 Kontrollpersonen, Álvarez et al (1998) 181 Patienten und 240 Kontrollpersonen und Ortega et al (2002) 304 Patienten und 315 Kontrollpersonen untersuchten.

Viele Studien sind nur eingeschränkt auswertbar, weil die notwendigen Ausschlusskriterien, besonders für die Kontrollkollektive, nicht sorgfältig genug festgelegt und geprüft wurden. Beispielsweise wird für Kontrollkollektive häufig auf Klinikpersonal oder Blutspender zurückgegriffen, weil die entsprechenden Proben leicht beschafft werden können. Es wird vorausgesetzt, dass diese Kontrollpersonen herzgesund sind. Damit werden in das Kontrollkollektiv auch Personen aufgenommen, deren Erkrankung (noch) nicht bekannt oder, z.B. aufgrund ihres Alters, noch nicht apparent ist. Je nach Studiendesign müssen Kontrollpersonen das „richtige“ Alter haben und objektiv hinreichend untersucht worden sein. In der Studie von Gardemann et al wurden alle Teilnehmer invasiv untersucht. Die Diagnose KHK wurde damit zuverlässig gestellt. Bei Fatini et al wurde nur das KHK-Kollektiv mittels Herzkatheter untersucht. Das Kontrollkollektiv rekrutierte sich aus Angestellten der Universität Florenz auf der Basis einer körperlichen Untersuchung und eines EKGs. Im Kontrollkollektiv wurde damit eine KHK nicht zuverlässig ausgeschlossen. Auch bei Álvarez et al wurde im Kontrollkollektiv nur eine klinische Untersuchung durchgeführt.

Der A1166C-Polymorphismus liegt im untranslatierten Bereich des AT1 R-Gens; er ist nicht funktionell. Es wurde vermutet, dass ein Synergismus zwischen dem AT1 R C-Allel und dem ACE D-Allel für Assoziationen des AC-Polymorphismus mit kardiovaskulären Erkrankungen verantwortlich sein könnte. Synergistische Effekte könnten Ursache der differierenden Studienergebnisse sein. Fatini et al und Álvarez et al berichteten über einen synergistischen Effekt des ACE DD- und des AT1 R CC-Genotypen auf das KHK-Risiko. Gardemann et al konnten diesen synergistischen

Effekt nicht bestätigen, auch nicht bei der Analyse verschiedener Subgruppen. Neben dem A1166C-Polymorphismus sind im AT1 R-Gen andere Polymorphismen bekannt. So wurden 7 Polymorphismen in der 5' flankierenden Region untersucht (Poirier et al 1998). Diese Polymorphismen waren nicht mit dem AC-Polymorphismus assoziiert. Ebenso wurden drei Polymorphismen in der Promotor-Region des AT1 R-Gens erforscht (Zhang et al 2000). Es wurde lediglich eine schwache Assoziation des -2228 G/A-Polymorphismus mit dem 1166 AC-Polymorphismus festgestellt. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass noch unbekannte Polymorphismen des AT1 R-Gens eine Auswirkung auf das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen haben. Möglicherweise existieren Polymorphismen, die eine Assoziation mit dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten A1166C-Polymorphismus haben. Sie könnten für Effekte verantwortlich sein, die dem AC-Polymorphismus zugeschrieben werden. Auf Grundlage des jetzigen Forschungsstandes können hierzu keine Aussagen gemacht werden.

Die Zusammensetzung der Kollektive nach Geschlecht könnte ebenfalls Ursache unterschiedlicher Studienergebnisse sein. Es wurde dargestellt, dass die Substitution von Östrogen insgesamt zu einer Suppression des RAAS führt (Fischer et al 2001). Östrogen senkt Renin, ACE und AT1 R und steigert Angiotensinogen. In den wenigsten Studien sind die Kollektive bezüglich der Geschlechterverteilung ausgeglichen, bzw. werden die Ergebnisse auch nach Geschlecht getrennt statistisch ausgewertet. Beispielsweise wurden in der größten bisher durchgeführten Studie nur Männer untersucht (Gardemann et al 1998). Álvarez et al (1998) untersuchten 181 männliche Patienten, 150 männliche und 90 weibliche Kontrollpersonen. Es ist unklar, in wie weit das Geschlecht Einfluß auf die Ergebnisse der diskutierten Studien hat. Auch in der vorliegenden Arbeit sind die Kollektive bezüglich des Geschlechterverhältnisses nicht ausgeglichen. Zunächst erkennbare Tendenzen, wie das etwas häufigere Auftreten des CC-Genotypen bei Frauen im Kontroll- versus dem KHK-Kollektiv oder das mehr als doppelt so häufige Auftreten des CC-Genotypen im weiblichen Restenose- gegenüber dem Nicht-Restenosekollektiv sind statistisch jedoch nicht signifikant. Es ist daher in der vorliegenden Arbeit nicht von einer Beeinflussung des Ergebnisses durch die Kollektivzusammensetzung auszugehen. In der Arbeit von Abdollahi et al (2005) wird die Häufigkeit des CC-

Genotypen in der weiblichen Normalbevölkerung mit 5,8% angegeben (allerdings war hier eine KHK kein Ausschlusskriterium!), liegt also niedriger als in der vorliegenden Arbeit (CC-Genotyp im weiblichen Kontrollkollektiv: 14%). Die Gründe hierfür sind unklar, relativieren die oben angesprochene Tendenz zu einer vermeintlichen Häufung des CC-Genotypen im weiblichen Kontrollkollektiv aber zusätzlich.

Wie im Ergebnisteil ersichtlich unterscheiden sich die Patientenkollektive der vorliegenden Arbeit deutlich bezüglich ihres Risikoprofils. Dies entspricht den Erwartungen, insofern als Patienten mit vielen Risikofaktoren signifikant häufiger eine KHK entwickeln, als Patienten mit wenigen Risikofaktoren. Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit wird durch diesen Sachverhalt nicht beeinflusst: Zum einen ist keinerlei Assoziation des untersuchten Polymorphismus mit einem der Risikofaktoren, wie z.B. einer Fettstoffwechselstörung, bekannt oder zu erwarten. Zum anderen hat die vorliegende Arbeit keinen signifikanten Unterschied zwischen den Kollektiven bzgl. des Auftretens des A/C-Polymorphismus ergeben, so dass sich die Frage nicht stellt, ob dieser Unterschied ggf. auf die differente Risikokonstellation zurückzuführen sein könnte.

Nach der Kritik aller Studien scheinen die Studie von Gardemann et al sowie die hier vorliegende Arbeit am ehesten der Anforderung nach großen invasiv kontrollierten KHK- und Kontrollkollektiven zu entsprechen. Berücksichtigt man die Daten beider Studien, ist es sehr wahrscheinlich, dass in der Gesamtbevölkerung kein Zusammenhang zwischen dem AT1 R-Polymorphismus und der KHK besteht. Außerdem besteht zur Zeit kein schlüssiges Erklärungsmodell, das für einen pathogenetischen Zusammenhang zwischen dem AT1 R AC-Polymorphismus und der KHK sprechen würde.

### **4.3 Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der Restenose nach PCI**

Anders als bei der nicht bestehenden Assoziation des AC-Polymorphismus mit der KHK könnte es sich im Falle der Restenosierung nach primär erfolgreicher PCI verhalten. Für die langjährige Entstehung einer KHK werden gänzlich andere Mechanismen diskutiert als dies im Falle einer häufig innerhalb weniger Wochen und Monate auftretenden Restenosierung nach primär erfolgreicher PCI der Fall ist. Innerhalb der ersten 4-6 Monate nach PCI tritt in 10-60% der Fälle eine Restenose auf. Die Restenose nach PCI stellt ein gravierendes Problem der interventionellen Therapie der KHK dar.

Einen Zusammenhang zwischen dem RAAS und der Restenose nach PCI kann aufgrund folgender Überlegungen vermutet werden: Es wurde berichtet, dass die Angiotensin-Rezeptoren-Blocker Losartan und UP 269-6 zur Inhibition der Neointimabilidung nach Ballondilatation führen (Virone-Oddos et al 1997, Kauffman et al 1991). Im Tierexperiment wurde nachgewiesen, dass der neue Angiotensin-Rezeptoren-Blocker SK-1080 eine Relaxation und Hypotension nach Ballondilatation der Carotiden bewirkt (Lee et al 2002). SK-1080 reduziert die Intimahyperplasie und dosisabhängig die Stenoserate. Von der VAL-PREST-Studie wurde berichtet, dass Angiotensin II Rezeptoren-Blocker die In-Stent-Restenose-Rate nach Stentimplantation reduzieren (Peters et al 2001).

Es existieren verschiedene pathogenetische Modelle für eine mögliche Assoziation des AT1 R AC-Polymorphismus mit der Restenose nach PCI. Der CC-Genotyp ist mit einer erhöhten Antwort auf Angiotensin II in den Arterien assoziiert (Van Geel et al 2000). Der CC-Genotyp ist ausserdem mit einer verstärkten Vasokonstriktor-Antwort distaler Koronargefäße assoziiert (Amant et al 1997). Angiotensin II fördert über den AT1-Rezeptor die Proliferation glatter Muskelzellen (Watanabe et al 2001). In arteriosklerotischem Gewebe wird der AT1-Rezeptor verstärkt exprimiert (Gross et al 2002). Allerdings konnte in einer anderen Studie eine Assoziation des AC-Polymorphismus mit der Rezeptordichte bzw. -affinität nicht bestätigt werden (Danser et Schunkert 2000). Ebenfalls wurde keine Assoziation zwischen den AC-Polymorphismus und dem Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Anstieg nach PCI gefunden

(Prisco et al 2000). Der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1 (PAI-1) ist Teil des fibrinolytischen Systems. Dieses ist von entscheidender Bedeutung in der Genese kardiovaskulärer Krankheiten. Es hat Einfluss auf die Plaqueeinstellung im Rahmen der Arteriosklerose und der KHK und auf thrombembolische Komplikationen. Daher wurde die Assoziation des AT1 R- und des ACE-Polymorphismus mit dem PAI-1-Anstieg nach PCI untersucht (Prisco et al 2000). Dabei wurde für den ACE DD-Genotyp eine positive Assoziation gefunden; für den AT1 R-Polymorphismus ergab sich jedoch kein Zusammenhang. Der PAI-1-Anstieg nach PCI erklärt einen eventuellen Zusammenhang zwischen dem ACE-Polymorphismus und dem Risiko der Restenose nach PCI nicht.

In zwei Studien konnte eine Assoziation zwischen der Restenose nach PCI und dem AT1 R ACE-Polymorphismus nicht bestätigt werden (Hertwig et al 2002, Völzke et al 2000). Beide Studien basierten auf demselben Kollektiv von 511 KHK-Patienten, bei denen eine erfolgreiche PCI ohne Stenting durchgeführt wurde. 164 Patienten zeigten eine Restenose (32,1%); die Re-PCI (in 16,6% mit Stenting) war bei 154 Patienten erfolgreich (davon wurden 145 Patienten mit vollständigen klinischen und angiographischen Daten in die Analyse einbezogen). Es wurde zum einen die Restenose nach PCI untersucht (Völzke et al 2000), zum anderen die wiederholte Restenose nach Re-PCI bei 46 Patienten (Hertwig et al 2002). Die Re-PCI ist assoziiert mit einer höheren initialen Erfolgsrate, einer niedrigeren Komplikationsrate und einer niedrigeren bis gleichen Restenose-Rate (Dimas et al 1992, Glazier et al 1989, Rapold et al 1987). Beide Studien zeigten in randomisierten Kollektiven eine Assoziation der Restenose mit dem AGT 235T-Allel, aber nicht mit dem ACE ID- oder dem AT1 R ACE-Polymorphismus. Völzke et al fanden für die Restenose nach PCI eine Assoziation mit der initialen Läsionsschwere, dem Stenosegrad vor PCI und der Residualstenose nach PCI. Hertwig et al (2002) konnten keine Assoziation mit angiographischen Parametern feststellen. Es wurde daher die Vermutung geäußert, dass der Restenose und der wiederholten Restenose nach PCI teilweise differierende pathophysiologische Mechanismen zugrunde liegen (Hertwig et al 2002). Als mögliche Ursache der Restenose wurde die lokale Expression von RAAS-Komponenten diskutiert. Sie ist nach Ballondilatation der Carotiden, bzw. der Aorta, bei der Ratte erhöht (Iwai et al 1997, Rakugi et al 1993,

Rakugi et al 1994, Viswanathan et al 1992). Zu kritisieren ist, dass weder bei Hertwig et al (2002), noch in der vorliegenden Arbeit zwischen einer reinen PCI und der PCI mit Stentversorgung bei der Analyse der Restenoserate unterschieden wird. Dies ist insofern problematisch, als nach Stentimplantation seltener eine Restenose auftritt, und als für die Restenose nach PCI und die Restenose nach Stenting verschiedene pathophysiologische Mechanismen verantwortlich gemacht werden (s.1.2.2). Angesichts der unterschiedlichen Stentraten (Völzke et al: 0%, Hertwig et al: 16,6%, vorliegende Arbeit: 83,6%) sind die diskutierten Studien daher auch nur bedingt vergleichbar.

Die vorliegende Untersuchung bestätigt die Ergebnisse der diskutierten zwei Studien, die die fragliche Assoziation des AT1 R-Polymorphismus mit der Restenose nach PCI untersuchten (Hertwig et al 2002, Völzke et al 2000). Es konnte keine Assoziation des A1166C-Polymorphismus im AT1 R-Gen mit der Restenose nach PCI festgestellt werden.

## 5 Literaturverzeichnis

1. **Abd Alla S**, Lothar H, Quitterer U (2000): AT(1)-receptor heterodimers show enhanced G-protein activation and altered receptor sequestration, *Nature* 407: 94-89
2. **Abdollahi MR**, Gaunt TR, Syddall HE, Cooper C, Phillips DIW, Ye S, Day INM (2005): Angiotensin II type I receptor gene polymorphism: anthropometric and metabolic syndrome traits, *J Med Genet* 42: 396-40
3. **Agema WRP**, Monraats PS, Zwinderman AH, de Winter RJ, Tio RA, Doevendans PAFM, Waltenberger J, de Maat MPM, Frants RR, Atsma DE, van der Laarse A, van der Wall EE, Jukema JW (2004): Current PTCA practice and clinical outcomes in The Netherlands: the real world in the pre-drug-eluting stent era, *Eur Heart J* 25: 1163-1170
4. **Álvarez R**, Reguero JR, Batalla A, Iglesias-Cubero G, Cortina A, Álvarez V, Coto E (1998): Angiotensin-converting-enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphisms: association with early coronary disease, *Cardiovasc Res* 40 (2): 375-379
5. **Amant C**, Bauters C, Bodart JC, Lablanche JM, Grollier G, Danchin N, Hamon M, Richard F, Helbecque L, McFadden EP, Amouyel P, Bertrand ME (1997): D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting, *Circulation* 96: 56-60
6. **Amant C**, Hamon M, Bauters C, Richard F, Helbecque N, McFadden E, Escudero X, Lablanche JM, Amouyel P, Bertrand M (1997): The angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction, *J Am Coll Cardiol* 29: 486-490
7. **Amedeo Modesti P**, Zecchi-Orlandini S, Vanni S, Polidori G, Bertolozzi I, Perna AM, Formigli L, Cecioni I, Coppo M, Boddi M, Sernerri GG (2002): Release of preperformed Ang II from myocytes mediates Angiotensinogen and ET-1 gene overexpression in vivo via AT1 receptor, *J Mol Cell Cardiol* 34 (11): 1491-500
8. **Aoki S**, Mukae S, Itoh S, Sato R, Nishio K, Ueda H, Iwata T, Katagiri T (2001): Genetic background in patients with acute myocardial infarction, *Jpn Heart J* 42 (1): 15-28
9. **Arbustini E**, Grasso M, Fasani R, Klersy C, Diegoli M, Porcu E, Banchieri N, Fortina P, Danesino C, Specchia G (1995): Angiotensin converting enzyme gene deletion allele is independently and strongly associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction, *Brit Heart J* 74: 584-591
10. **Azuma Y**, Shinohara M, Wang PL, Hidaka A, Ohura K (2001): Histamine inhibits chemotaxis, phagocytosis, superoxide anion production, and the production of TNFalpha and IL-12 by macrophages via H2-receptors, *Int Immunopharmacol* 1 (9-10): 1867-1875

11. **Basset el-EA**, Berthoux P, Cecillon S, Deprle C, Thibaudin D, De Fillipis JP, Alamartin E, Berthou F (2002): Hypertension after renal transplantation and polymorphism of the genes involved in essential hypertension : ACE, AGT, AT1 R and ecNOS, *Clin. Nephrol* 57 (3): 192-200
12. **Bauters C**, Amouyel P, Bertrand ME, (1999): ACE gene polymorphism and coronary restenosis, *Semin Intervent Cardiol* 4: 145-149
13. **Berge KE**, Berg K(1994): No effect of insertion/deletion polymorphism at the ACE locus on normal blood pressure level or variability, *Clin Genet* 45: 169-174
14. **Bestehorn HP**, Neumann FJ, Büttner HJ, Betz P, Stürzenhofecker P, von Hodenberg E, Verdun, A, Levai L, Monassier JP, Roskamm H (2004): Evaluation of the effect of oral verapamil on clinical outcome and angiographic restenosis after percutaneous coronary intervention, *J Am Coll Cardiol* 43 (12): 2160-2165
15. **Bloem LJ**, Manatunga AK, Tewksbury DA, Pratt JH (1995): The serum angiotensinogen concentration and variants of the angiotensinogen gene in white and black children, *J Clin Invest*
16. **Boerma M**, Forsberg L, van Zeijl L, Morgenstern R, De Faire U, Lemne C, Erlinge D, Thulin T, Hong Y, Cotgreave IA (1999): A genetic polymorphism in connexin 37 as a prognostic marker for atherosclerotic plaque development, *J Intern Med* 246: 211-218
17. **Bohn M**, Berge KE, Bakken A, Erikssen J, Berg K (1993): Insertion/deletion polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and myocardial infarction, *Clin Genet* 44: 292-297
18. **Bonnardeaux A**, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser E, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F (1994): Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension, *Hypertension* 24: 63-69
19. **Cahilly C**, Ballantyne CM, Lim DS, Gotto A, Marian AJ (2000): A variant of tp22 phox, involved in generation of reactive oxygen species in the vessel wall, is associated with progression of coronary atherosclerosis, *Circ Res* 86: 391-395
20. **Cambien F**, Poirier O, Lecerf L Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas F, Soubrier F (1992): Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction, *Nature* 359: 641-644
21. **Caulfield M**, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P, Clark AJ (1994): Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension, *New Eng J Med* 330: 1629-1633
22. **Caulfield M**, Lavender P, Newell-Price J, Farrall M, Kamdar S, Daniel H, Lawson M, De Freitas P, Fogarty P, Clark AJ (1995): Linkage of the angiotensinogen gene locus to human essential hypertension in African Caribbeans, *J Clin Invest* 96: 687-692



23. **Danser** AHJ, Schunkert H (2000): Renin-angiotensin system gene polymorphisms: potential mechanisms for their association with cardiovascular diseases, *Eur J Pharmacol* 410: 303-316
24. **deGasparo** M, Whitebread S, Mele M, Motani AS, Whitcombe PJ, Ramjoue HP, Kamber B (1990): Biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes in the rat, *J Cardiovasc Pharmacol* 16 (suppl 4): 31-35
25. **Deng** J, Zhou Y, Huang D, Yue J, Wang Y, Zhang X, Xie D (2002): Relation between coronary artery disease and polymorphism of angiotensin converting enzyme gene, *Sheng Wu Yi Xue Cheng Xue Za Zhi* 19 (1): 105-107
26. **Dimas** AP, Grigera F, Arora RR, Simpfendorfer CC, Hollman JL, Frierson JH, Franco I, Whitlow PL (1992): Repeat coronary angioplasty as treatment for restenosis, *J Am Coll Cardiol* 19: 1310-1314
27. **Dudley** DT, Panek RL, Major TC (1990): Subclasses of angiotensin II binding sites and their functional significance, *Mol Pharmacol* 38: 370-377
28. **Eriksson** P, Kallin B, van't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A (1995): Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator 1 gene is associated with myocardial infarction, *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1851-1855
29. **Eryol** NK, Kilic H, Gul A, Ozdogru I, Inanc T, Dogan A, Topsakal R, Basar E (2005): Are the high levels of cytomegalovirus antibodies a determinant in the development of coronary artery disease?, *Int Heart J* 46 (2): 205-209
30. **Fatini** C, Abbate R, Pepe G, Battaglin B, Gensini F, Ruggiano G, Gensini GF, Guazzelli R (2000): Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms, *Eur Heart J* 21 (8): 611-613
31. **Ferrari** M, Mudra H, Grip L, Voudris V, Schächinger V, de Jaegere P, Rieber J, Hausmann D, Rothman M, Koschyk DH, Figulla HR (2002): Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism does not influence the restenosis rate after coronary stent implantation, *Cardiology* 97: 29-36
32. **Fischer** M, Baessler A, Schunkert H (2001): Renin angiotensin system and gender differences in the cardiovascular system, *Cardiovasc Res* 53: 672-677
33. **Fischman** DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M (1994): A randomised comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in treatment of coronary artery disease, *N Engl J Med* 331: 496-501

34. **Fornage M**, Turner ST, Sing CF, Boerwinkle E (1995): Variation at the M235T locus of the angiotensinogen gene and essential hypertension: a population-based case-control study from Rochester, Minnesota, *Hum Genet* 96 (3): 295-300
35. **Frossard PM**, Hill SH, Elshahat YI, Obineche EN, Bokhari AM, Lestringant GG, John A, Abdulle AM (1998): Associations of angiotensinogen gene mutations with hypertension and myocardial infarction in a gulf population, *Clin Genet* 54: 285-293
36. **Fuentes RM**, Perola M, Nissinen A, Tuomelehto J (2002): ACE gene and physical activity, blood pressure, and hypertension: a population study in Finland, *J Appl Physiol* 92 (6): 2508-2512
37. **Furuta H**, Guo DF, Inagami T (1992): Molecular cloning and sequencing of the gene encoding human angiotensin II type 1 receptor, *Biochem Biophys Res Commun* 183 (1): 8-13
38. **Gardemann A**, Fink M, Stricker J, Nguyen QD, Humme J, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W (1998): ACE ID gene polymorphism: presence of the ACE D allele increases the risk of coronary artery disease in younger individuals, *Atherosclerosis* 139: 153-159
39. **Gardemann A**, Nguyen QD, Humme J, Stricker J, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W (1998): Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism. Absence of an association with the risk of coronary artery disease and myocardial infarction and of a synergistic effect with angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism on the risk of these diseases, *Eur Heart J* 19 (11): 1657-1665
40. **Glagov S**, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ (1987): Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries, *N Engl J Med* 316: 1371-1375
41. **Glazier JJ**, Varricchione TR, Ryan TJ, Ruocco NA, Jacobs AK, Faxon DP (1989): Outcome in patients with recurrent restenosis after percutaneous transluminal balloon angioplasty, *Br Heart J* 61: 485-488
42. **Goracy I** (2000): Polymorphism of genes coding for angiotensin I converting enzyme and methylenetetrahydrofolate reductase in patients with ischemic heart disease, *Ann Acad Med Stetin* 46: 97-108
43. **Grady EF**, Sechi LA, Griffin CA, Schambelan M, Kalinyak JE (1991): Expression of AT<sub>2</sub> receptors in the developing rat fetus, *J Clin Invest* 88: 921-933
44. **Gross CM**, Gerbaulet S, Quensel C, Kramer J, Mittelmeier HO, Luft FC, Dietz R (2002): Angiotensin II type 1 receptor expression in human coronary arteries with variable degrees of atherosclerosis, *Basic Res Cardiol* 97 (4): 327-333

45. **Gürlek** A, Gülec S, Karabulut H, Bokesoy I, Tutar E, Pamir G, Alpman A, Toydemir R, Aras Ö, Oral D (2000): Relation between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene and restenosis after coronary stenting, *J Cardiovasc Risk* 7 (6): 403-407
46. **Guo** DF, Furuta H, Mizukoshi M, Inagami T (1994): The genomic organization of human angiotensin II type 1 receptor, *Biochem Biophys Res Commun* 200 (1): 113-319
47. **Guzik** TJ, West NEJ, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM (2000): Functional effect of the C242T polymorphism in the NAD(P)H oxidase p22 phox gene on vascular superoxide production in atherosclerosis, *Circulation* 102: 1744-1747
48. **Hata** A, Namikawa C, Sasaki M, Sato K, Nakamura T, Tamura K, Lalouel JM (1994): Angiotensinogen as a risk factor for essential hypertension in Japan, *J Clin Invest* 93: 1285-1287
49. **Haverkate** F, Thompson SG, Pyke SDM, Gallimore JR, Pepys MB, (1997): Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina, *Lancet* 349: 462-466
50. **Hegele** RA, Brunt JH, Connelly PW (1994): A polymorphism of the angiotensinogen gene associated with variation in blood pressure in a genetic isolate, *Circulation* 90: 2207-2212
51. **Hein** L (1998): Genetic deletion and overexpression of angiotensin II receptors, *J Mol Med* 76: 756-763
52. **Herblin** WF, Chiu AT, Mc Call DE (1991): Angiotensin II receptor heterogeneity, *Am J Hypertens* 4: 299-302
53. **Hertwig** S, Volzke H, Robinson DM, Motz W, Rettig R (2002): Angiotensinogen M235T gene polymorphism and recurrent restenosis after repeated percutaneous transluminal coronary angiography, *Clin Sci* 103 (1): 101-106
54. **Hindorff** LA, Heckbert SR, Tracy R, Tang Z, Psaty BM, Edwards KL, Siscovick DS, Kronmal RA, Nazar-Stewart V (2002): Angiotensin II type 1 receptor polymorphisms in the cardiovascular health study: relation to blood pressure, ethnicity and cardiovascular events, *Am J Hypertens* 15 (12): 1050-1056
55. **Iacoviello** L, Di Castelnuovo A, de Knijff P, D’Orazio A, Amore C, Arboretti R, Klufft C, Benedetta Donati M (1998): Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction, *N Engl J Med* 338: 79-85
56. **Illiadou** A, Lichtenstein P, Morgenstern R, Forsberg L, Svensson R, De Faire U, Martin NG, Pedersen NL (2002): Repeated blood pressure measurements in a sample of Swedish twins: heritabilities and associations with polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system, *J Hypertens* 20 (8): 1543-1550

57. **Inoue** N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M (1998): Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease, *Circulation* 97: 135-137
58. **Iwai** N, Izumi M, Inagami T, Kinoshita M (1997): Induction of renin in medial smooth muscle cells by balloon injury, *Hypertension* 29: 1044-1050
59. **Jeffery** S, Malik AKS, Crosby A (1999): A dominant relationship between the ACE D allele and serum ACE levels in a Ghanaian population, *J Med Genet* 36: 869-870
60. **Jeunemaitre** X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, alouel JM, Corvol P (1992): Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen, *Cell* 71: 7-20
61. **Jorgensen** E, Kelbaek H, Helqvist S, Jensen GV, Saunamaki K, Kastrup J, Havndrup O, Bundgaard H, Kyst Madsen J, Christiansen M, Andersen PS, Reiber JH (2001): Predictors of coronary in-stent restenosis: importance of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors, *J Am Coll Cardiol* 38 (5): 1434-1439
62. **Katsuya** T, Koike G, Yee TW, Sharpe N, Jackson R, Nortn R, Horiuchi M, Pratt RE, Dzau VJ, MacMahon S (1995): Association of angiotensinogen gene T 235 variant with increased risk of coronary heart disease, *Lancet* 345: 1600-1603
63. **Kauffman** RF, Bean JS, Zimmermann KM, Brown RF, Steinberg MI (1991): Losartan, a nonpeptide angiotensin II (Ang II) receptor antagonist, inhibits neointima formation following balloon injury to rat carotid arteries, *Life Sci* 49: PL 223-PL228
64. **Keavney** B, McKenzie C, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, Delepine M, Lathrop M, Peo R, Collins R (2000): Large-scale test of hypothesized associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls, *Lancet* 355: 434-442
65. **Kee** F, Morrison C, Poirier O, McCrum E, Mallet C, Nicaud V, McMaster D, Dallongeville J, Fruchart JC, Evans AE (2000): Angiotensin II type-I receptor and ACE polymorphisms and risk of myocardial infarction in men and women, *Eur J Clin Invest* 30 (12): 1076-1082
66. **Koch** W, Kastrati A, Mehilli J, Bottiger C, von Beckerath N, Schomig A (2000): Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is not associated with restenosis after coronary stent placement, *Circulation* 102 (2): 197-202
67. **Koenig** W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Lowel H, Doring A, Hutchinson WL, Pepys MB (1999): C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends

- and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984-1992, *Circulation* 99: 237-242
68. **Konishi H**, Kuroda S, Inada Y, Fujisawa Y (1994): Novel subtype of human angiotensin II type 1 receptor: cDNA cloning and expression, *Biochem Biophys Res Commun* 1994: 467-474
  69. **Kuivenhoven JA**, Jukema JW, Zwinderman AH, de Knijff P, McPherson R, Brusckhe AV, Lie KI, Kastelein JJ (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
  70. **Lawlor DA**, Smith GD, umley A, Lowe GD, Ebrahim S (2005): Associations of fibrinogen and C-reactive protein with prevalent and incident coronary heart disease are attenuated by adjustment for confounding factors. British Women's Heart and Health Study, *Thromb Haemost* 93 (5): 955-963
  71. **Lee BH**, Yoo SE, Shin HS (2002): Effects of SK-1080 on intimal thickening and impaired vascular relaxation after balloon injury in rats, *Pharmacology* 66 (2): 81-88
  72. **Leimgruber PP**, Roubin GS, Hollman J et al (1986): Restenosis after successful angioplasty in patients with single-vessel disease, *Circulation* 73: 710-717
  73. **Lifton RP**, Warnock D, Acton RT, Harman L, Lalouel JM (1993): High prevalence of hypertension-associated angiotensinogen variant T235 in African Americans, *Clin Res* 260A
  74. **Lindpainter K**, Lee M, Larson MG, Rao VS, Pfeffer MA, Ordovas JM, Schaefer EJ, Wilson AF, Wilson PW, Vasan RS, Myers RH, Levy D (1996): Absence of association or genetic linkage between the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular mass, *New Eng J Med* 334: 1023-1028
  75. **Lindpainter K**, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, Buring J, Hennekens CH (1995): A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease, *New Eng J Med* 332: 706-711
  76. **Matsubara M**, Suzuki M, Fujiwara T, Kikuya M, Metoki H, Michimata M, Araki T, Kazama I, Satoh T, Hashimoto J, Hozawa A, Ohkubo T, Tsuji I, Katsuya T, Higaki J, Ogihara T, Satoh H, Imai Y (2002): Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and hypertension: The Ohasama study, *20* (6): 1121-1126
  77. **Mauzy CA**, Hwang O, Egloff AM, Wu LH, Chung FZ (1992): Cloning, expression, and characterization of a gene encoding the human angiotensin II type 1A receptor, *Biochem Biophys Res Commun* 186: 277-284

78. **Mettimano** M, Romano-Spica V, Ianni A, Specchia M, Migneco A, Savi L (2002): AGT and AT1 R gene polymorphism in hypertensive heart disease, *Int J Clin Pract* 56 (8): 574-577
79. **Moll** PP, Michels VV, Weidman WH, Kottke BA (1989): Genetic determination of plasma apolipoprotein AI in a population based sample, *J Hum Genet* 44: 124-139
80. **Montgomery** H, Brull D, Humphries SE (2002): Analysis of gene-environment interaction by "stressing-the-genotype" studies: the angiotensin converting enzyme and exercise-induced left ventricular hypertrophy as an example, *Ital Heart* 3 (1): 10-14
81. **Montgomery** HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, Statters D, Jubb M, Girvain M, Varnava A, World M, Deanfield J, Talmud P, McEwan JR, McKenna WJ, Humphries S (1997): Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training, *Circulation* 96: 741-747
82. **Murphy** TJ, Alexander RW, Griendling KK, Runge MS, Bernstein KE (1991): Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor, *Nature* 351 (6323): 233-236
83. **Murphy** TJ, Takeuchi K, Alexander RW (1992): Molecular cloning of AT1 angiotensin receptors, *Am j Hypertens* 5 (12 Pt 2): 236-242
84. **Nakajima** T, Jorde LB, Ishigami T, Umemura S, Emi M, Lalouel JM, Inoue I (2002): Nucleotide diversity and haplotype structure of the human angiotensinogen gene in two populations, *Am J Hum Genet* 70: 108-123
85. **Niu** T, Chen X, Xu X (2002): Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and cardiovascular disease: therapeutic implications. *Drugs* 62 (7): 977-993
86. **Niu** T, Chen C, Yang J, Wang B, Wang Z, Schork N, Fang Z, Xu X (1999): Blood pressure and the T174M and M235T polymorphisms of the angiotensinogen gene, *Ann Epidemiol* 9 (4): 245-253
87. **Niu** T, Rogus J, Zhou Y, Chen C, Yang J, Fang Z, Schmitz C, Zhao J, Rao VS, Lindpaintner K (1998): Angiotensinogen gene and hypertension in chinese, *J Clin Invest* 101 (1): 188-194
88. **Ohishi** M, Fujii K, Minamino T (1993): A potent genetic risk factor for restenosis, *nature genetics* 5: 324-325
89. **Oike** Y, Hata A, Ogata Y, Numata Y, Shido K, Kondo K (1995): Angiotensin converting enzyme as a genetic risk factor for coronary artery spasm: implication in the pathogenesis of myocardial infarction, *J Clin Invest* 96: 2975-2979

90. **Ordovas** JM, Schaefer EJ, Salem D, Ward RH, Glueck CJ, Vergani C, Wilson PW, Karathanasis SK (1986): Apolipoprotein A-I gene polymorphism associated with premature coronary artery disease and familial hypoalphalipoproteinemia, *New Eng J Med* 314: 671-677
91. **Ortega** HE, Fernandez-Aceituno MA, Esparragon RFJ, Perera HO, Nuez MF, Espinosa DA, Perez FD, Prieto AA, Perez RJC (2002): The involvement of the Renin-Angiotensin system gene polymorphisms in coronary heart disease, *Rev Esp Cardiol* 55 (2): 92-99
92. **Paradis** P, Dali-Youcef N, Paradis FW, Thibault G, Nemer M (2000): Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling, *Proc Nat acad Sci* 97: 931-936
93. **Peters** S, Gotting B, Trummel M, Rust H, Brattstrom A (2001): Valsartan for prevention of restenosis after stenting of type B2/C lesions: the VAL-PREST trial, *J Invasive Cardiol* 13 (2): 98-99
94. **Petrovic** D, Zorc M, Kanic V, Peterlin B (2001): Interaction between gene polymorphisms of renin-angiotensin system and metabolic risk factors in premature myocardial infarction, *Angiology* 52 (4): 247-252
95. **Poirier** O, Georges J-L, Ricard S, Arveiler D, Ruidavets J-B, Luc G, Evans A, Cambien F, Tiret L (1998): New polymorphisms of the angiotensin II type 1 receptor gene and their associations with myocardial infarction and blood pressure: the ECTIM study, *J. Hypertension* 16: 1443-1447
96. **Prisco** D, Fatini C, Battaglini B, Gensini F, Fedi S, Falai M, Chioccioli M, Gori AM, Margheri M, Gensini GF (2000): Angiotensin converting enzyme DD genotype affects the changes of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity after primary percutaneous transluminal coronary angioplasty in acute myocardial infarction patients, *Int J Clin Lab Res* 30 (4): 179-185
97. **Pulai** JI, Neuman RJ, Groenewegen AW, Wu J, Schonfeld G (1998): Genetic heterogeneity in familial hypobetalipoproteinemia: linkage and non-linkage to the apoB gene in Caucasian families, *Am J Med Genet* 76: 79-86
98. **Rakugi** H, Jacob HJ, Krieger JE, Ingelfinger JR, Pratt RE (1993): Vascular injury induces angiotensinogen gene expression in the media and neointima, *Circulation* 87: 283-290
99. **Rakugi** H, Kim DK, Krieger JE, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE (1994): Induction of angiotensin converting enzyme in the neointima after vascular injury. Possible role in restenosis, *J Clin Invest* 93: 339-346
100. **Rapold** HJ, David PR, Guiteras Val P, Mata AL, Crean PA, Bourassa MG (1987): Restenosis and its determinants in first and repeat coronary angioplasty, *Eur Heart J* 8: 575-586

101. **Rensing** BJ, Hermans WRM, Vos J, Tissen JG, Rutch W, Danchin N, Heyndrickx GR, Mast EG, Wijns W, Serruys PW (1993): Luminal narrowing after percutaneous transluminal coronary angioplasty: a study of clinical, procedural, and lesional factors related to long-term angiographic outcome, *Circulation* 88: 975-983
102. **Rice** GI, Foy CA, Grant PJ (1999): Angiotensin converting enzyme and angiotensin II type I-receptor gene polymorphisms and risk of ischaemic heart disease, *Cardiovasc Res* 41 (3): 746-753
103. **Ridker** PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH (1997): Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men, *N Engl J Med* 336: 973-979
104. **Ridker** PM, Hennekens CH, Lindpainter K, Stampfer MJ, Miletich JP (1997): Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promotor of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men, *Circulation* 95: 59-62
105. **Rigat** B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F (1990): An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels, *J Clin Invest* 86 (4): 1343-1346
106. **Roest** M, van der Schouw YT, Banga JD, Tempelman MJ, de Groot PG, Sixma JJ, Grobbee DE (2000): Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated with decreased risk of cerebrovascular mortality in older women, *Circulation* 101: 67-70
107. **Ross** R (1993): The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s, *Nature* 362: 801-809
108. **Ryu** SK, Cho EY, Park HY, Im EK, Jang YS, Shin GJ, Shim WH, Cho SY (2002): Renin-Angiotensin-Aldosterone system (RAAS) gene polymorphism as a risk factor of coronary in-stent restenosis, *Yonsei Med J* 43 (4): 461-472
109. **Saikku** P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V (1988): Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction, *Lancet* 2 (8618): 983-986
110. **Sasaki** K, Yamano Y, Bardhan S, Iwai N, Murray JJ, Hasegawa M, Matsuda Y, Inagami T (1991): Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor, *Nature* 351: 230-233
111. **Schunkert** H, Hense H-W, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, Lorell BH, Riegger GA (1994): Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy, *New Eng J Med* 330: 1634-1638



112. **Serruys P**, De Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P (1994): A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary heart disease, *N Engl J Med* 331: 489-495
113. **Serruys PW**, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ, van den Brand M, Reiber JH, ten Katen HJ, van Es GA, Hugenholtz PG (1988): Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: a time-related phenomenon. A quantitative angiographic study in 342 consecutive patients at 1, 2, 3, and 4 month, *Circulation* 77: 361-371
114. **Shlyakhto EV**, Shwartz EI, Nefedova YB, Zukova AV, Vinnic TA, Conrady AO (2001): Lack of association of the renin-angiotensin system genes polymorphisms and left ventricular hypertrophy in hypertension, *Blood Pressure* 10: 135-141
115. **Singh M**, Gersh BJ, McClelland RL, Ho KKL, Willerson JT, Penny WF, Holmes DR (2005): Predictive factors for ischemic target vessel revascularisation in the Prevention of Restenosis with Tranilast and its Outcomes (PRESTO) trial, *J Am Coll Cardiol* 45 (2): 198-203
116. **Soria LF**, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ (1989): Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100, *Proc Nat Acad Sci* 86: 587-591
117. **Staessen JA**, Ginocchio G, Wang JG, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R, Fagard R (1997): Genetic variability in the renin-angiotensin system: prevalence of alleles and genotypes, *J Cardiovasc Risk* 4: 401-422
118. **Staessen JA**, Kuznetsova T, Wang JG, Emelianov D, Vlietinck R, Fagard (1999): M235T angiotensinogen gene polymorphism and cardiovascular renal risk. *J Hypertens* Jan;17(1): 9-17.
119. **Statistisches Bundesamt**: Todesursachenstatistik 2003 (Stand 15.03.2005)
120. **Steeds RP**, Wardle A, Smith PD, Martin D, Channer KS, Samani NJ (2001): Analysis of the postulated interaction between the angiotensin II sub-type 1 receptor gene A1166C polymorphism and the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene on risk of myocardial infarction, *Atherosclerosis* 154 (1): 123-128
121. **Takagishi T**, Sasaguri Y., Nakano R, Arima N, Tanimoto A, Fukui H, Morimatsu M (1995): Expression of the histamine H1 receptor gene in relation to atherosclerosis, *Am J Pathol* 146 (4): 981-988
122. **Tiret L**, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marques-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, Kee F, Ducimetière P, Soubrier F, Cambien F (1994): Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction, *Lancet* 344 (8927): 910-913

123. **Toyofyuku** M, Imazu M, Sumii K, Yamamoto H, Hayashi Y, Hiyama K, Kohno N (2002): Influence of angiotensinogen M235T gene polymorphism and an angiotensin converting enzyme inhibitor on restenosis after percutaneous coronary intervention, *Atherosclerosis* 160: 339-344
124. **Tsutsumi** K, Saavedra JM (1991): Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub>) in rat brain, *Am J Physiol* 261: R209-R216
125. **Tsutsumi** K, Strömberg C, Viswanathan M, Saavedra JM (1991): Angiotensin II receptor subtypes in fetal tissue of the rat: autoradiography, guanine nucleotide sensitivity, and association with phosphoinositide hydrolysis, *Endocrinology* 129: 1075-1082
126. **Van Geel** PP, Pinto YM, Voors AA, Buikema H, Oosterga M, Crijns HJ, van Gilst WH (2000): Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to Angiotensin II in human arteries, *Hypertension* 35 (3): 717
127. **Virone-Oddos** A, Desangle V, Provost D, Cazes M, Caussade F, Cloarec A (1997): In vitro and in vivo effects of UP 269-6, a new potent orally active nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, on vascular smooth muscle cell proliferation, *Br J Pharmacol* 120: 488-494
128. **Vishnevetsky** D, Patel P, Tijerino H, Gandhi PJ (2004): Sirolimus-eluting coronary stent, *Am J Health-Syst Pharm* 61: 449-456
129. **Viswanathan** M, Stromberg C, Seltzer A, Saavedra JM (1992): Balloon angioplasty enhances the expression of angiotensin II AT1 receptors in neointima of rat aorta, *J Clin Invest* 90: 1707-1712
130. **Völzke** H, Hertwig S, Rettig R, Motz W (2000): The angiotensinogen gene 235T variant is associated with an increased risk of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty, *Clin Sci* 99 (1): 19-25
131. **Wang** DH, Elijovich F (1999): Modulation and function of extrarenal angiotensin receptors, *Cell Biochem Biophys* 31 (1): 1-17
132. **Wang** WY, Glenn CL, Zhang W, Benjafield AV, Nyholt DR, Morris BJ (1999): Exclusion of angiotensinogen gene in molecular basis of human hypertension: sibpair linkage and association analyses in Australian Anglo-Caucasians, *Am J Med Genet* 87: 53-60
133. **Wang** J-G, Staessen JA (2000): Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease, *Eur J Pharmacol* 410: 289-302
134. **Wang** WY, Zee RY, Morris BJ (1997): Association of angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism with essential hypertension, *Clin Genet* 51: 31-34
135. **Watanabe** T, Pakala R, Katagiri T, Benedict CR (2001): Serotonin potentiates angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation, *Atherosclerosis* 159 (2): 269-279

136. **Weintraub** WS, Kosinski AS, Brown CL 3<sup>rd</sup>, King SB 3<sup>rd</sup> (1993): Can restenosis after coronary angioplasty be predicted from clinical variables?, *J Am Coll Cardiol* 21: 6-14
137. **Weiss** EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ (1996): A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis, *N Engl J Med* 334: 1090-1094
138. **Weiss** D, Sorescu D, Taylor WR (2001): Angiotensin II and atherosclerosis, *Am C Cardiol* 87 (suppl): 25C-32C
139. **Whitebread** S, Mele M, Kamber B, de Gasparo M (1989): Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes, *Biochem Biophys Res Commun* 163 (1): 284-291
140. **Winkelmann** BR, Nauck M, Klein B, Russ AP, Bohm BO, Siekmeier R, Ihnken K, Verho M, Gross W, Marz W (1996): Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with increased plasma angiotensin-converting enzyme activity but not with increased risk for myocardial infarction and coronary artery disease, *Ann Intern Med* 125: 19-25
141. **Winslow** RD, Sharma SK, Kim MC (2005): Restenosis and drug-eluting stents, *The Mount Sinai Journal of Medicine* 72 (2): 81-89
142. **Wong** A, Chan C (2004): Drug-eluting stents: the end of restenosis?, *Ann Acad Med Singapore* 33: 423-431
143. **Yamada** Y, Izawa H, Ichihara S, Takatsu F, Ishihara H, Hirayama H, Sone T, Tanaka M, Yokota M (2002): Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes, *N Engl J Med*. 347: 1916-1923
144. **Yamakawa-Kobayashi** K, Yanagi H, Fukayama H, Hirano C, Shimakura Y, Yamamoto N, Arinami T, Tsuchiya S, Hamaguchi H (1999): Frequent occurrence of hypoalphalipoproteinemia due to mutant apolipoprotein A-I gene in the population: a population-based survey, *Hum Molec Genet* 8: 331-336
145. **Young** SG, Bertics SJ, Curtiss LK, Dubois BW, Witztum JL (1987): Genetic analysis of a kindred with familial hypobetalipoproteinemia: evidence for two separate gene defects: one associated with an abnormal apolipoprotein B species, apolipoprotein B-37; and a second associated with low plasma concentrations of apolipoprotein B-100, *J Clin Invest* 79: 1842-1851
146. **Zee** RY, Fernandez-Ortiz A, Macaya C, Pintor E, Lindpaintner K, Fernandez-Cruz A (2001): Ace D/I polymorphism and incidence of post-PTCA restenosis: a prospective, angiography-based evaluation, *Hypertension* Mar;37(3): 851-855

147. **Zee** RY, Solomon SD, Ajani UA, Pfeffer MA, Lindpaintner K (2002): A prospective evaluation of the angiotensin-converting enzyme DI polymorphism and left ventricular remodeling in the 'Healing and Early Afterload Reducing Therapy' study, *Clin Genet* 61 (1): 21-25
148. **Zhang** X, Erdmann J, Regitz-Zagrosek V, Kürzinger S, Hense H-W, Schunkert H (2000): Evaluation of three polymorphisms in the promotor region of the angiotensin II type I receptor gene, *J. Hypertension* 18: 267-272
149. **Zhong** Y, Ha D (2002): Influence of angiotensin II receptor gene polymorphism on patients with essential hypertension complicated by brain infarction, *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 19 (3): 201-204

## 6 Lebenslauf

<b>Name:</b>		Eva-Maria Blum
<b>Geburtsdatum:</b>		30.05.1978
<b>Geburtsort:</b>		Bonn
<b>Familienstand:</b>		ledig
<b>Staatsangehörigkeit:</b>		Deutsch
<b>Konfession:</b>		Evangelisch
<b>Eltern:</b>		Dr. Franz Blum, Unternehmensberater Waltraud Blum, Lehrerin
<b>Schulbildung:</b>	08.1984 – 07.1988	Evangelische Grundschule Meckenheim
	08.1988 – 06.1997	Konrad-Adenauer-Gymnasium Meckenheim
	06.1997	Abitur, Gesamtnote: 1,1
<b>Freiwilliges Soziales Jahr:</b>	1997 – 1998	Behindertenreferat des Diakonischen Werkes, Bonn
<b>Medizinstudium:</b>	10.1998	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität Bonn
	04.1999	Studium der Humanmedizin an der Universität Witten/Herdecke
	04.2001	Ärztliche Vorprüfung, Gesamtnote: gut
	04.2002	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Gesamtnote: gut
	04.2003 – 08.2003	Studium an der Universität Stellenbosch/Südafrika

	04.2004	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Gesamtnote: gut
	26.04.2005	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Gesamtnote: sehr gut
	09.05.2005	Approbation als Ärztin
<b>Famulaturen:</b>	Allgemeinmedizin:	Dr. Haberl, Witten (2002)
	Chirurgie/Ambulanz:	Krankenhaus Herdecke (2003)
	Gynäkologie:	Krankenhaus Herdecke (2002)
	Neurologie:	Klinik Weißensee, Berlin (2002)
	Forschung:	Institut für Herz-Kreislauf-Forschung an der Universität Witten/Herdecke, Dortmund (2001)
<b>Praktisches Jahr:</b>	04.2004 – 08.2004	Gynäkologie, Marienhospital Witten
	08.2004 – 11.2004	Innere Medizin, MetroHealth Medical Center, Cleveland/Ohio USA
	11.2004 – 03.2005	Chirurgie, Evangelisches Krankenhaus Witten
<b>Berufliche Tätigkeit:</b>	seit 15.05.05	Assistenzärztin in der Gynäkologie, Marienhospital Witten

## 7 Anhang

**Tab. 7: Studien zum M235T- und T174M-Polymorphismus des AGT-Gens**

<b>Veränderungen/Erkrankungen und diesbezügliche Studien</b>	<b>Polymorphismus</b>	<b>Kollektivgröße (n)</b>	<b>Assoziation ja (+)/nein (-)</b>
<b>1. Angiotensinogen-Plasmaspiegel-Erhöhung:</b>			
Danser et Schunkert, 2000	M235T	Review	+
Staessen et al, 1999	M235T	27906 (Meta-Analyse)	+
<b>2. Frequenzunterschiede gemäß ethnischer Herkunft:</b>			
Bloem et al, 1995	M235T	n=210	+
Lifton et al, 1993	M235T	n=200	+
Nakajima et al, 2002	M235T	n=165	+
<b>3. Hypertonie:</b>			
Basset el et al, 2002	M235T	n=294	-
Caulfield et al, 1994	M235T T174M	n=63 Familien	+ +
Caulfield et al, 1995	M235T Angiotensinogen	n=126	- +
Fornage et al, 1995	M235T	n=299	-
Frossard et al, 1998	T174M M235T	n=229	- +
Hata et al, 1994	M235T	n=186	+
Hegele et al, 1994	T174M M235T	n=741	+ -
Jeunemaitre et al, 1992	T174M	n=758	+

	M235T		+
Mettimano et al, 2002	M235T	n=190	+
Niu et al, 1998	T174M M235T	n=620	- -
Niu et al, 1999	T174M M235T	n=1555	- -
Staessen et al, 1999	M235T	n=27906 (Meta-Analyse)	+ (Weiße) - (Schwarze u. Asiaten)
Wang et al, 1999	M235T	n=301	-
<b>4. Linksventrikuläre Hypertrophie:</b>			
Frossard et al, 1998	T174M	n=414	-
Shlyakhto et al, 2001	M235T	n=156	-
<b>5. KHK:</b>			
Fatini et al, 2000	M235 T	n=414	-
Frossard et al, 1998	T174M	n=414	-
Katsuya et al, 1995	M235T	n=828	+
<b>6. Myokardinfarkt / akzidentelles kardiovaskuläres Ereignis:</b>			
Frossard et al, 1998	T174M M235T	n=229	- +
Katsuya et al, 1995	M235T	n=828	+
Ortega et al, 2002	M235T	n=619	+
Petrovic et al, 2001	M235T	n=284	- (aber positiver interaktiver Effekt mit ACE DD)
Staessen et al, 1999	M235T	n=27906 (Meta-Analyse)	-



<b>7. Restenose nach (wiederholter) PCI:</b>			
Hertwige et al, 2002	M235T	n=164	+
Ryu et al, 2002	M235T	n=238	-
Toyofyuku et al, 2002	M235T	n=204	-
Völzke et al, 2000	T174M	n=511	-
	M235T		+

**Tab. 8: Studien zum ID-Polymorphismus des ACE-Gens**

<b>Veränderungen/Erkrankungen und diesbezügliche Studien</b>	<b>Kollektivgröße (n)</b>	<b>Assoziation ja (+)/nein (-)</b>
<b>1. ACE-Plasmaspiegel-Erhöhung:</b>		
Cambien et al, 1992	n=1343	+
Danser et Schunkert, 2000	Review	+
Jeffery et al, 1999	n=97	+
Rice et al, 1999	n=618	+
Rigat et al, 1990	n=80	+
<b>2. Frequenzunterschiede gemäß ethnischer Herkunft:</b>		
Matsubara et al, 2002	n=2048	+
<b>3. Hypertonie:</b>		
Álvarez et al, 1998	n=421	-
Arbustini et al, 1995	n=678	-
Basset el et al, 2002	n=294	+
Berge et Berg, 1994	n=140	-
	n=90	-
	n=136	-
	n=260	-
	n=176	-
Fuentes et al, 2002	n=455	-
Wang et Staessen, 2000	Review	
<b>4. Linksventrikuläre Masse (LVM) / Hypertrophie (LVH):</b>		
Fatini et al, 2000	n=183	+ (Massenzunahme nach Training)
Goracy, 2000	n=200	- (LVM)
Lindpainter et al, 1996	n=2439	- (LVM +LVH)

Montgomery et al, 1997	n=121	+ (LVH)
Montgomery et al, 2002	n=1200	+ (Massenzunahme nach körperlicher Belastung)
Schunkert et al, 1994	n=1428	+ (LVH)
Shlyakhto et al, 2001	n=156	- (LVH)
Wang et Staessen, 2000	Review	
Zee et al, 2002	n=265	- (LVM)
<b>5. KHK:</b>		
Álvarez et al, 1998	n=421	-
Cambien et al, 1992	n=1343	+
Deng et al, 2002	n=207	-
Fatini et al, 2000	n=414	+
Gardemann et al, 1998	n=2267	+(bei Patienten <61,7 Jahre)
Goracy, 2000	n=200	-
Ortega et al, 2002	n=619	-
Katsuya et al, 1995	n=828	-
Lindpainter et al, 1995	n=3590	-
Matsubara et al, 2002	n=2048	-
Winkelmann et al, 1996	n=301	-
<b>6. Myokardinfarkt (MI):</b>		
Arbustini et al, 1995	n=388	+
Bohn et al, 1993	n=234	+ (entgegen den anderen Studien ist hier bei Vorliegen des D-Allels das MI-Risiko vermindert!)
Cambien et al, 1992	n= 1343	+
Fatini et al, 2000	n=414	+
Gardemann et al, 1998	n=2267	+ (bei Patienten >61,7 Jahre)
Katsuya et al, 1995	n=828	-

Keavney et al, 2000	n=10563	+ (sehr schwach korreliert)
Lindpainter et al, 1995	n=3590	-
Niu et al, 2002	Review	+
Oike et al, 1995	n=150	+
Petrovic et al, 2001	n=284	+
Rice et al, 1999	n=618	-
Winkelmann et al, 1996	n=301	-
<b>7. Restenose nach PCI:</b>		
Bauters et al, 1999	Review	-
Hertwig et al, 2002	n=511	- (bei wiederholter Restenose)
Ohishi et al, 1993	n=82	+
Völzke et al, 2000	n=511	-
Zee et al, 2001	n=779	-
<b>8. Restenose nach PCI mit koronarem Stenting:</b>		
Amant et al, 1997	n=146	+
Bauters et al, 1999	Review	+
Ferrari et al, 2002	n=154	-
Gürlek et al, 2000	n=289	+
Jorgensen et al, 2001	n=369	-
Koch et al, 2000	n=1850	-
Ryu et al, 2002	n=238	+
<b>9. Interaktion/synergistische Effekte des ACE-ID-, AT1 R AC- und AGT MT-Polymorphismus:</b>		
<b>9.1 KHK:</b>		
Álvarez et al, 1998	n=421	+ (AT1 R u. ACE)
Fatini et al, 2000	n=414	+ (AT1 R u. ACE)
Gardemann et al, 1998	n=2244	- (ACE + AT1 R)

<b>9.2 Myokardinfarkt:</b>		
Gardemann et al, 1998	n=2244	- (ACE + AT1 R)
Petrovic et al, 2001	n=284	+ (ACE + AT1 R + AGT)
Steeds et al, 2001	n=1048	- (ACE + AT1 R)
Tiret et al, 1994	n=1326	+ (ACE + AT1 R)

**Tab. 9: Studien zum A1166C-Polymorphismus des AT1-Rezeptor-Gens:**

<b>Veränderungen/Erkrankungen und diesbezügliche Studien</b>	<b>Kollektivgröße (n)</b>	<b>Assoziation ja (+)/nein (-)</b>
<b>1. Genetische und biochemische Grundlagen:</b>		
AbdAlla et al, 2000		
Amedeo et al, 2002	Tierexperiment	
Furuta et al, 1992		
Guo et al, 1994		
Hein, 1998	Review	
Konishi et al, 1994		
Mauzy et al, 1992		
Murphy et al, 1991		
Murphy et al, 1992		
Sasaki et al, 1991		
Wang et Elijovich, 1999	Review	
<b>2. Hypertonie:</b>		
Bonnardeaux et al, 1994	n=504	+
Hindorff et al, 2002	n=2171	-
Illiadou et al, 2002	n=596	-
Wang et al, 1997	n=108	+
Wang et Staessen, 2000	Review	
Zhong et Ha, 2002	n=212	+
<b>3. Kardiale Hypertrophie:</b>		
Mettimano et al, 2002	n=200	+
Paradis et al, 2000	Tierexperiment	+ (vorzeitiger Tod durch Herzversagen)
Shlyakhto et al, 2001	n=156	-
Wang et Staessen, 2000	Review	

<b>4. Erhöhtes KHK-Risiko:</b>		
Álvarez et al, 1998	n=421	-
Fatini et al, 2000	n=414	+
Gardemann et al, 1998	n=2244	-
Ortega et al, 2002	n=619	-
Wang et Staessen, 2000	Review	
<b>5. Akuter Myokardinfarkt / akzidentelles kardiovaskuläres Ereignis:</b>		
Aoki et al, 2001	n=300	+
Fatini et al, 2000	n=414	+
Gardemann et al, 1998	n=2244	-
Hindorff et al, 2002	n=2171	-
Kee et al, 2000	n=1343	-
Ortega et al, 2002	n=619	-
Petrovic et al, 2001	n=284	-
Rice et al, 1999	n=618	-
Steeds et al, 2001	n=1048	-
Tiret et al, 1994	n=1336	-
Wang et Staessen, 2000	Review	-
<b>6. Restenose nach PCI:</b>		
Hertwig et al, 2002	n=511	-
Völzke et al, 2000	n=511	-
<b>7. Interaktion/synergistischer Effekt von AT1 R AC-, ACE ID- und AGT MT-Polymorphismus:</b>		
<b>7.1 KHK</b>		
Álvarez et al, 1998	n=421	+ (AT1 R u. ACE)
Fatini et al, 2000	n=414	+ (AT1 R u. ACE)
Gardemann et al, 1998	n=2244	- (AT1 R u. ACE)

<b>7.2 Myokardinfarkt</b>		
Petrovic et al, 2001	n=284	+ (ACE) - (AT1 R, AGT) + synerg. Effekte: ACE u. AGT u. AT1R
Fatini et al, 2000	n=414	+ (AT1 R u. ACE)
Steeds et al, 2001	n=1048	- (AT1 R u. ACE)
Tiret et al, 1994	n=1336	+ (AT1 R u. ACE)