

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

Aktivierter Gerinnungsfaktor VII bei Patienten mit Myokardinfarkt

**INAUGURAL–DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms–Universität Münster**

**vorgelegt von
Kierysch, Eva Katharina
aus Groß Strehlitz
2007**

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

Dekan: Univ.–Prof. Dr. med. V. Arolt

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. U. Nowak-Göttl
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Junker

Tag der mündlichen Prüfung: 24.08.2007

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
– Direktor: Univ.–Prof. Dr. med. G. Assmann –
Referent: Prof. Dr. med. U. Nowak-Göttl
Koreferent: Prof. Dr. med. R. Junker

ZUSAMMENFASSUNG

Aktivierter Gerinnungsfaktor VII bei Patienten mit Myokardinfarkt

Kierysch, Eva Katharina

Arteriosklerotische Gefäßwandveränderungen sind der Ausgangspunkt für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen, zum Beispiel des Myokardinfarktes (MI). Als signifikanter Risikofaktor wurde eine erhöhte Plasmaaktivität des Gerinnungsfaktors VII identifiziert. Die Methodik der anfänglichen Bestimmungsverfahren unterschied jedoch nicht genau zwischen der Gesamt-Aktivität von FVII (FVIIc) und dem Anteil an aktiviertem FVII (FVIIa), sodass eine Aussage bezüglich des Risikofaktorpotentials dieser Parameter nicht exakt war. Die Northwick Park Heart (NPH)-Studie wies im Gegensatz zu anderen Studien einen signifikanten Zusammenhang zwischen erhöhtem FVIIc und tödlichen kardiovaskulären Ereignissen nach. Der in der NPH-Studie verwandte Assay mit aus Kaninchenhirn stammendem Thromboplastin und Protein C-freiem Mangelplasma hatte im Vergleich zu den Assays anderer Studien, in denen Thromboplastine ebenfalls als Extrakte aus Kaninchenhirn oder humaner Herkunft eingesetzt wurden, die Mangelplasmen jedoch Protein C enthielten, eine höhere Sensitivität gegenüber FVIIa. Möglicherweise ist also nur FVIIa mit dem Arterioskleroserisiko assoziiert.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es, in einer Fall-Kontroll-Studie den Zusammenhang zwischen FVIIa und dem Arterioskleroserisiko zu untersuchen. Es wurden FVIIc und FVIIa bei MI-Patienten und Kontrollpersonen untersucht, des weiteren Assoziationen in beiden Kohorten zwischen einerseits FVIIa und zahlreichen klinischen sowie Laborparametern, andererseits auch zwischen FVIIc und diesen Parametern, um zu prüfen, ob es Unterschiede zwischen den FVII-Fractionen und hinsichtlich der untersuchten Zusammenhänge in beiden Gruppen gab.

Die Ergebnisse zeigten, dass FVIIa bei Patienten signifikant und unabhängig von den berücksichtigten Kovariablen erhöht war ($p < 0,001$). Dagegen wies FVIIc bei Kontrollpersonen signifikant erhöhte Werte auf ($p < 0,001$). Einen positiven signifikanten Zusammenhang gab es zwischen FVIIc und Gesamt-Cholesterin ($p < 0,001$), negative signifikante Zusammenhänge zwischen FVIIc und LDL-Cholesterin ($p < 0,001$) sowie zwischen der Ratio FVIIa/FVIIc und Triglyceriden ($p < 0,001$). Des weiteren ergaben die Resultate eine positive signifikante Assoziation zwischen FVIIa und Alter ($p < 0,001$), jedoch eine negative zwischen FVIIc und Alter ($p = 0,02$). Darüberhinaus war FVIIc mit der Ratio TFPI-Aktivität/TFPI signifikant negativ assoziiert ($p < 0,001$), die Ratio FVIIa/FVIIc mit TFPI-Aktivität/TFPI signifikant positiv ($p < 0,001$).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass FVIIa mit der Arterioskleroseerkrankung, dem MI assoziiert war. Weiterhin konnte ein in vorangehenden Arbeiten genannter Zusammenhang zwischen FVIIc und Lipiden bestätigt werden. Es ergab sich ein Hinweis dafür, dass bei der Aktivierung von FVII Interaktionen zwischen Gerinnungsfaktoren und Lipoproteinen eine Rolle spielen. Die postulierte zentrale Rolle von FXII in diesem Kontext konnte nicht bestätigt werden. Ferner ist zu vermuten, dass es eine Assoziation zwischen FVIIc und Apolipoprotein B gibt. Die negative Korrelation des FVIIc mit dem Alter könnte auf dessen gestörte Synthese hinweisen, die ursächlich mit ernährungs- oder krankheitsbedingter Fettmalabsorption in Verbindung steht. Erhöhte FVIIa-Werte und Alter korrelierten andererseits positiv miteinander, was zum einen mit einer erhöhten Arteriosklerose-Prävalenz im Alter im Zusammenhang stehen oder zum anderen einen Risikofaktor für arteriosklerotische Geschehen darstellen könnte. Die vorliegende Studie bestätigte durch eine negative Assoziation von TFPI-Aktivität und FVIIc den Beitrag des TFPI als Inhibitor der prokoagulatorischen Aktivierung.

Tag der mündlichen Prüfung: 24.08.2007

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Arteriosklerose.....	1
1.1.1. Definition und klinisches Erscheinungsbild	1
1.1.2. Pathogenese und Risikofaktoren	1
1.2. Myokardinfarkt	6
1.2.1. Definition und Epidemiologie.....	6
1.2.2. Pathophysiologie des thrombotischen Verschlusses.....	7
1.2.3. Klinisches Bild	7
1.2.4. Diagnostik.....	8
1.3. Hämostaseologische Risikofaktoren für Arteriosklerose	9
1.4. Hämostase.....	10
1.4.1. Definition.....	10
1.4.2. Primäre Hämostase.....	11
1.4.3. Sekundäre Hämostase.....	11
1.4.4. Inhibitoren des Blutgerinnungssystems	15
1.4.5. Das fibrinolytische System	16
1.5. Faktor VII	17
1.5.1. Biochemische und physiologische Grundlagen	17
1.5.2. Die Problematik der Meßmethoden	20
1.5.3. Erhöhte Faktor VII–Spiegel	21
2. Inhalt und Zielsetzung der Dissertation	23
3. Material und Methoden.....	25
3.1. Patienten– und Kontrollkollektiv.....	25
3.2. Blutentnahme und –präparation	25
3.3. Bestimmung klinischer Parameter und Festlegung qualitativer Merkmale ...	26
3.4. Klinisch–chemische und gerinnungsphysiologische Blutuntersuchungen..	26
3.5. Behring Coagulation Analyzer	27
3.6. Bestimmung der Konzentration des aktivierten Faktors VII	29
3.6.1. Prinzip.....	29
3.6.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial	29
3.6.3. Methodik.....	31
3.6.4. Referenzbereich	31

3.7. Bestimmung der Faktor VII–Aktivität.....	31
3.7.1. Prinzip.....	31
3.7.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial	32
3.7.3. Methodik.....	32
3.7.4. Referenzbereich	33
3.8. Bestimmung der Tissue factor–Konzentration	33
3.8.1. Prinzip.....	33
3.8.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial	34
3.8.3. Methodik.....	35
3.8.4. Referenzbereich	36
3.9. Bestimmung der Tissue factor pathway inhibitor–Konzentration.....	36
3.9.1. Prinzip.....	36
3.9.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial	36
3.9.3. Methodik.....	38
3.9.4. Referenzbereich	38
3.10. Bestimmung der Tissue factor pathway inhibitor–Aktivität.....	38
3.10.1. Prinzip.....	38
3.10.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial	39
3.10.3. Methodik	41
3.10.4. Referenzbereich	41
3.11. Statistische Methoden und Definitionen	42
4. Ergebnisse	44
4.1. Kollektivbeschreibungen	44
4.2. Subgruppenbeschreibungen	46
4.2.1. Subgruppe Hypertonus	47
4.2.2. Subgruppe Rauchen	49
4.2.3. Subgruppe Myokardinfarkt in der Familie	51
4.2.4. Subgruppe Diabetes mellitus	53
4.2.5. Subgruppe Hypercholesterinämie.....	55
4.3. Korrelationsberechnungen	57
5. Diskussion.....	62
6. Literaturverzeichnis.....	75
7. Abkürzungsverzeichnis.....	84
8. Lebenslauf.....	86
9. Danksagung	87

1. Einleitung

1.1. Arteriosklerose

1.1.1. Definition und klinisches Erscheinungsbild

Die World Health Organization (WHO) definiert die Arteriosklerose als variable Kombination von Intimaveränderungen, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blutbestandteilen, Bindegewebe und Calciumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia (13). Sie ist die führende Ursache für Tod und Behinderung in den hochindustrialisierten westlichen Ländern (109). In der Altersgruppe der 30– bis 60–jährigen sind 30% der Todesfälle auf Folgen der Arteriosklerose zurückzuführen. In höheren Altersgruppen beträgt die Mortalitätsrate bis zu 50%. Nach einer stetigen Anstiegsphase dieser Zahlen in den 30er bis 70er Jahren gibt es in den letzten Jahren einen langsamen Rückgang (109). Dies ist zurückzuführen auf ein einerseits verändertes Bewusstsein gegenüber der Erkrankung und die damit verbundene Prävention (Änderung der Lebensgewohnheiten), andererseits aber auch auf bessere Behandlungsmethoden und nicht zuletzt auf eine bessere Rezidivprophylaxe.

Unterschiedliche Gefäßregionen können bei Arteriosklerose betroffen sein, was verschiedenartige Beschwerdebilder induziert. So führt die Arteriosklerose der Koronararterien zum Myokardinfarkt und zur Angina pectoris. Sind die ZNS-versorgenden Gefäße betroffen, so ergibt sich das Bild eines Schlaganfalls oder einer transitorischen zerebralen Ischämie. In der peripheren Zirkulation kann sich die Arteriosklerose als Claudicatio intermittens äußern oder eine Gangrän bewirken. Bei Beteiligung der viszeralen Gefäße ist eine Mesenterialischämie möglich (72).

1.1.2. Pathogenese und Risikofaktoren

Die Arteriosklerose ist ein multifaktorieller Prozess, der sich über Jahre oder

sogar Jahrzehnte entwickelt. Es ist kein degenerativer, sondern vielmehr ein aktiver Prozess, der die Elemente chronischer Entzündungs- und Reparaturvorgänge in der Arterienwand beinhaltet.

Unterschiedliche Theorien wurden zur Erklärung der Pathogenese favorisiert: die Filtrationstheorie von Virchow (Lipide aus Blut werden in die Intima filtriert) (46), die thrombotische Theorie von Rokitansky (thrombotisches Material verursacht Intimaveränderungen), die Endothelläsionstheorie (Thrombozyten aggregieren auf Endotheldefekten). Ross entwarf die heute am breitesten akzeptierte „Response to injury“-Hypothese, die all die dynamischen Abläufe zusammenfasst, die zur Entwicklung der Arteriosklerose führen (107).

Nach dieser Vorstellung sind die Intima auskleidenden Endothelzellen und möglicherweise auch die darunter liegenden glatten Muskelzellen wiederholten oder kontinuierlichen Schädigungen durch chemische, mechanische, immunologische oder toxische Einflüsse ausgesetzt. Die geschädigten Zellen induzieren eine spezifische, chronische Entzündungsreaktion mit nachfolgender fibroproliferativer Antwort.

Die Dysfunktion des Endothels hervorgerufen durch die verschiedenen Risikofaktoren fördert die Bildung von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche des Endothels. Diese Adhäsionsmoleküle sind in der Lage, zirkulierende Monozyten zu binden, so dass diese durch Endotheljunctions hindurchtreten und sich zu Makrophagen differenzieren. Low density lipoproteins (LDL), welche über einen hohen Anteil an Cholesterin verfügen, gelangen gleichzeitig aufgrund erhöhter LDL-Plasmaspiegel und/oder aufgrund von Endotheldefekten in den subendothelialen Raum, wo sie akkumulieren und zum Beispiel durch Sauerstoffradikale oder bestimmte Enzyme (Myeloperoxidase, Sphingomyelinase etc.) oxidiert werden. Makrophagen nehmen diese modifizierten LDL über Scavenger-Rezeptoren ungehemmt bis zu ihrer Überladung und Transformation in Schaumzellen auf. Oxidierte LDL-Partikel wirken zudem chemotaktisch auf Monozyten, so dass diese adhäsionsvermittelt in das Endothel aufgenommen werden können (107). Weiterhin setzen Schaumzellen freie Radikale frei, die das LDL oxidieren. So entsteht ein Circulus vitiosus.

Auf dieser Stufe gibt es einen Mechanismus, der dem Entstehungsprozess der Arteriosklerose entgegenwirkt, und zwar sezernieren die Makrophagen Apo-lipoprotein-E, das den Efflux von Cholesterin aus den Makrophagen zu den high density lipoproteins (HDL) erleichtert. Je nach Lipidmenge kann es sich hier aber um keine vollständige Remission handeln. Cholesterin kann in peripheren Geweben nicht abgebaut werden und wird mit dem HDL in die Leber zurücktransportiert, somit sinkt der Cholesteringehalt der Schaumzellen (41). Eine andere Eigenschaft des HDL, die Hemmung der Monozytenadhäsion wirkt ebenfalls protektiv (15).

Störungen im Lipidmetabolismus gehören zu den am besten bekannten Risikofaktoren. Zusammenfassend kann man sagen, dass LDL für die Entwicklung und Progression der Arteriosklerose verantwortlich ist, das HDL hingegen als protektiver Faktor gilt (siehe Tabelle 1).

Neuere Untersuchungen zeigen, dass das LDL-Cholesterin mit dem Renin-Angiotensin-System interagiert, welches ebenfalls Bedeutung bei der Entstehung der Arteriosklerose erlangt hat. Hypercholesterinämie führt zu gesteigerter Expression des Angiotensin II-AT₁-Rezeptors. Hierdurch wird vermehrte Vasokonstriktion, verstärktes Zellwachstum und die Freisetzung freier Radikale vermittelt (95). Die Senkung des LDL-Cholesterins mit Statinen reduziert zahlreichen Studien zufolge die klinischen Folgen der Arteriosklerose (127).

Es wird vermutet, dass das erhöhte kardiovaskuläre Risiko der Patienten mit Typ-2-Diabetes mit abnormem Lipoproteinprofil, welches mit Insulinresistenz assoziiert ist, zusammenhängt. Die diabetische Dyslipidämie ist dadurch gekennzeichnet, dass die LDL-Partikel kleiner und dichter sind (small dense LDL) und somit stärker atherogen, außerdem sind die HDL-Spiegel niedriger und Triglyceride erhöht.

Die frühesten histologisch sichtbaren Veränderungen an den Gefäßwänden bezeichnet man als „fatty streaks“. Sie sind schon in der frühen zweiten Lebensdekade vorhanden. Abhängig von der Lipidmenge entstehen immer mehr Schaumzellen, die im weiteren Verlauf zugrunde gehen und große Mengen oxidiertes Lipide hinterlassen. Die Veränderungen in der Intima fördern

eine entzündliche Reaktion in den Lipidplaques, die mit einer Ausschüttung von Zytokinen einhergeht. Diese Zytokine sowie verschiedene Wachstumsfaktoren stimulieren die Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen, die die extrazelluläre Matrix sezernieren. Dies führt zur Bildung einer fibrösen Kappe (13). Im weiteren Verlauf ergibt sich durch die von den Makrophagen ausgeschütteten Proteinase eine Matrixinstabilität und somit die Gefahr einer Ulzeration.

In den 50er Jahren begann die systematische Suche nach Risikofaktoren für Arteriosklerose. Die prospektive Framingham-Studie lieferte Hinweise dafür, dass Hypercholesterinämie und Hypertonus mit dem kardiovaskulären Risiko assoziiert sind (32) (siehe Tabelle 1). Erhöhung des diastolischen Blutdrucks oder eine isolierte Erhöhung des systolischen Blutdrucks stellen bedeutende koronare Risikofaktoren dar (74). Eine isolierte systolische arterielle Hypertonie dominiert insbesondere bei älteren Menschen, möglicherweise infolge einer Abnahme der Gefäßelastizität. Die Wahrscheinlichkeit, mit der eine Erhöhung des arteriellen Blutdrucks zur Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit (KHK) führt, hängt nicht zuletzt auch von dem Vorliegen weiterer koronarer Risikofaktoren ab (erhöhtes Cholesterin, Nikotinkonsum etc.) (5). Weiterhin können als Zusammenhang zwischen Hypertonie und Atherosklerose die erhöhte mechanische Stresswirkung auf Gefäße und somit auch gesteigerte endotheliale Permeabilität und Dysfunktion angesehen werden (104).

Epidemiologische Untersuchungen haben weiterhin gezeigt, dass Hypertriglyceridämie, Bewegungsmangel, Übergewicht und Rauchen die Häufigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen erhöhen (8, 9, 34, 61, 67) (siehe Tabelle 1).

Die atherogene Wirkung des Rauchens begründet sich auf der Förderung der Thrombozytenaggregation (101). Außerdem korrelieren erhöhte Plasmafibrinogenspiegel mit der Zahl gerauchter Zigaretten (37). Ein bekannter kardiovaskulärer Effekt von Nikotin ist die sympathische Aktivierung, der zufolge der Blutdruck und die Herzfrequenz steigen sowie erhöhte Katecholaminspiegel dazu führen, dass die Lipolyse gefördert wird (18). Raucher haben erhöhte Plasmaspiegel atherogener Lipide und niedriges antiatherogenes HDL

(29).

Außer den oben erwähnten beeinflussbaren Risikofaktoren gibt es die nicht beeinflussbaren Risikofaktoren. Hierzu zählen das Alter, das männliche Geschlecht und die familiäre Disposition (siehe Tabelle1).

Zahlreichen Studien zufolge haben Männer im Vergleich zu Frauen vor der Menopause ein erhöhtes Risiko für KHK. Nach der Menopause steigt jedoch das Risiko für Frauen (94). Östrogene vermindern die Plasma-cholesterinkonzentration, erhöhen die HDL-Plasmaspiegel und vermindern die Insulinresistenz (17). Außerdem führen Östrogene zur Freisetzung von Stickstoffmonoxid und zur Kalziumkanalblockade (132). In der jüngeren Vergangenheit wird die postmenopausale Hormonersatztherapie als Prävention der KHK diskutiert (14). Exogene Zufuhr von Östrogenen beeinflusst die Lipoproteinsituation günstig, HDL- steigt, LDL-Cholesterin sinkt, andererseits werden aber Plasmatriglyceride signifikant erhöht (120). Auch die Auswirkungen auf das Gerinnungssystem sind unterschiedlich. Östrogen kann die Fibrinogenkonzentration reduzieren (129), andere Studien haben wiederum gezeigt, dass ein prokoagulatorischer Effekt auftritt (119).

Die Framingham-Studie erwies, dass mit zunehmendem Alter die Inzidenz der KHK und des Hypertonus steigen, wobei der Hypertonus bei postmenopausalen Frauen deutlicher ausgeprägt ist, als bei gleichaltrigen Männern (22). Zusätzlich zu den klassischen Risikofaktoren Nikotinabusus, Hypertonus, Hypercholesterinämie und Insulinresistenz kommt bei Frauen somit die Postmenopause noch hinzu.

Ein weiterer nicht beeinflussbarer Risikofaktor ist die positive Familienanamnese bezüglich KHK (24). Das Risiko einer KHK ist bei Verwandten ersten Grades erhöht, vor allem dann, wenn der betroffene Verwandte aus der vorangehenden Generation im frühen Lebensalter erkrankt ist.

beeinflussbare Risikofaktoren	nicht beeinflussbare Risikofaktoren
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Dyslipidämie: <ul style="list-style-type: none"> • Hypertriglyceridämie • LDL-Cholesterin erhöht • HDL-Cholesterin erniedrigt ➤ Insulinresistenz ➤ Bewegungsmangel ➤ Adipositas ➤ Rauchen ➤ Hypertonus etc. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Alter ➤ männliches Geschlecht ➤ familiäre Disposition

Tabelle 1: Übersicht über die wichtigsten beeinflussbaren und nicht beeinflussbaren Risikofaktoren der Arteriosklerose.

Zusätzlich zu den oben aufgeführten Risikofaktoren können atherogene Risikofaktoren mit Verbindung zum Gerinnungssystem das Atherom- oder Plaqueswachstum und die Entstehung von Komplikationen fördern. Aus Gründen der Übersicht wird im Kapitel 1.3. darauf eingegangen.

1.2. Myokardinfarkt

1.2.1. Definition und Epidemiologie

Unter Myokardinfarkt versteht man die Nekrose eines umschriebenen Herzmuskelbezirks infolge kritischer Mangeldurchblutung bedingt durch Koronarsklerose mit thrombotischem Verschluss eines Koronargefäßes oder Embolie in die Koronarien (103). Er ist die bedeutendste Komplikation einer KHK und somit auch ein Ausdruck der Arteriosklerose.

Nach Angaben des statistischen Bundesamtes beträgt die jährliche Inzidenz 300 Infarkte pro 100.000 Einwohner. Den Daten des Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease (MONICA)-Projekts

zufolge, beläuft sich die Infarktsterblichkeit in Deutschland auf annähernd 50% bei den über 60-jährigen (73).

1.2.2. Pathophysiologie des thrombotischen Verschlusses

Reißt eine arteriosklerotische Plaque ein oder ulzeriert sie, so führt das zur Aktivierung des Hämostasesystems. Zunächst findet die primäre Hämostase statt, in deren Folge die ersten noch lockeren Aggregate entstehen.

Der aus Thrombozyten gebildete Thrombus kann die Läsion jedoch nur dann verschließen, wenn ihm durch die anschließenden plasmatischen Vorgänge (Einbau von Fibrin in den Thrombus) eine ausreichende Festigkeit verliehen wird. Den entscheidenden Anfang stellt hier die extrinsische Gerinnungskaskade dar. Die innerhalb des Atheroms freigesetzten Entzündungsmediatoren induzieren unter anderem eine vermehrte Expression des tissue factor (TF) oder Gewebsthromboplastins durch Endothelzellen und Makrophagen. Der freigesetzte TF aktiviert Faktor VII (FVII), im Verlauf wird Fibrinogen in Fibrin konvertiert.

Das Resultat ist ein wandständiger Thrombus aus Plättchenaggregaten und Fibrinsträngen am Ort der Plaqueruptur, der zu einer Koronararterienokklusion führt (123).

1.2.3. Klinisches Bild

Schmerz wird als das häufigste Leitsymptom beim akuten Myokardinfarkt beschrieben. Er lässt sich kaum durch Ruhe oder Nitroglycerin beeinflussen. Typisch ist ein präkordialer Schmerz, der ins Epigastrium und/oder Arme, Rücken, Unterkiefer, Nacken ausstrahlen kann. Oft wird er begleitet von Schwächegefühl, Angst, vegetativen Symptomen wie Schwitzen, Übelkeit, Erbrechen und Herzrhythmusstörungen. Teilweise treten Dyspnoe, Blutdruckabfall und ein Lungenödem auf (6).

Obwohl der Schmerz die häufigste Erscheinung ist, muss er nicht immer präsent sein. Die sogenannten „stummen“ Myokardinfarkte (Häufigkeit 15% bis

20%) sind vor allem bei Diabetikern keine Seltenheit.

1.2.4. Diagnostik

Bis zum Jahr 2000 waren die WHO-Kriterien zur Diagnostik eines Myokardinfarktes gültig. Mindestens zwei der nachfolgenden drei Befunde mussten erfüllt sein:

- Brustschmerz:
 - länger als 20 Minuten
 - Nitroderivat-resistent

- EKG-Veränderungen:
 - ST-Hebung/-Senkung
 - T-Wellen-Inversion
 - Q-Zacken
 - verbreiteter QRS-Komplex in zwei benachbarten Ableitungen bei 12-Kanal-EKG

- Herzmarker:
 - erhöhte Serumaktivität, am meisten gebräuchlich Creatinkinase-MB (CK-MB)

50% aller Myokardinfarkte wurden anhand von Klinik und Elektrokardiogramm (EKG) diagnostiziert. Diese Kriterien können aber bei akutem Myokardinfarkt unspezifisch oder wegen eingeschränkter Sensitivität unzuverlässig sein. Die Symptomatik kann häufig atypisch sein, vor allem bei älteren Patienten oder Patienten mit Begleiterkrankungen, zum Beispiel Diabetes mellitus (38). Dies zeigen auch die Ergebnisse der Framingham-Studie. Hier wurden mehr als 25% der aufgetretenen Myokardinfarkte erst retrospektiv erkannt (66).

Im Jahr 2000 erschien das Konsensus-Dokument des European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)-Komitees, mit dem neue Standards in der Diagnostik eines akuten Myokardinfarktes festgesetzt wurden (63). Dabei steht die Labordiagnostik im Vordergrund. Es wird auch die

Differenzierung zwischen akutem und altem Myokardinfarkt berücksichtigt.
Für die Diagnose eines akuten Geschehens gilt nach diesen Kriterien:

- typischer Anstieg und Abfall biochemischer Herzmarker:
 - Troponin I (TnI) oder Troponin T (TnT)
 - CK–MB

- gleichzeitig mindestens einer der folgenden Befunde:
 - EKG–Veränderungen / pathologische Q–Wellen
 - Ischämie–Symptome \ ST–Hebung/–Senkung
 - Koronare Intervention (zum Beispiel Koronarangioplastie).

Kriterien für einen abgelaufenen Herzinfarkt sind folgende:

- neu aufgetretene pathologische Q–Wellen im EKG bei serieller Untersuchung
- histologische Befunde.

1.3. Hämostaseologische Risikofaktoren für Arteriosklerose

Zu den „neuen“ Risikofaktoren gehören unter anderem hämostaseologische Faktoren: Fibrinogen, FVII, Plasminogenaktivator–Inhibitor 1 (PAI–1), Gewebe–plasminogen Aktivator (t–PA) sowie das Lipoprotein (a) (Lp(a)).

Thrombose als finaler Gefäßverschluss ist die schwerste Komplikation der Arteriosklerose. Erhöhte Fibrinogenspiegel begünstigen die Thrombusformation (39).

Die Existenz eines Thrombus wird von der Balance zwischen fibrinolytischen Faktoren (zum Beispiel Plasmin) und der Hemmung des fibrinolytischen Systems (zum Beispiel durch PAI–1) beeinflusst. Genetische Polymorphismen von PAI–1 scheinen mit dem Koronarrisiko in Verbindung zu stehen (7).

Studien zur Rolle von t-PA bei Arteriosklerose sind widersprüchlich. Es gibt sowohl Hinweise für als auch gegen eine Assoziation eines bestimmten Polymorphismus von t-PA mit dem Myokardinfarkt-Risiko (126, 106).

Die Northwick Park Heart (NPH)-Studie zeigte, dass erhöhte FVIIc-Spiegel sowie erhöhte Fibrinogenspiegel mit der Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse assoziiert waren (77). Die Prospektive Cardiovasculäre Münster (PROCAM)-Studie bestätigte den Trend erhöhter FVIIc-Spiegel und tödlicher kardiovaskulärer Ereignisse (65). Des Weiteren stehen Hypertriglyceridämie sowie Hypercholesterinämie im Zusammenhang mit FVII-Aktivierung (100).

Erhöhter Lp(a)-Spiegel, ein weiterer Risikofaktor für KHK ist bis auf das zusätzliche Apolipoprotein A (Apo(A)) mit dem LDL identisch (60). Apo(A) wiederum hat eine starke Sequenzähnlichkeit mit Plasminogen. Daraus resultiert die Blockierung der Fibrinolyse durch kompetitive Effekte mit Plasminogen (124). Die Bindung des Lp(a) an Fibrin führt aber auch weiterhin zu einer Störung der Fibrin-bedingten Plasminogenaktivierung (93). Zusätzlich bindet das Lp(a) an LDL, so dass es zur Ausbildung von Aggregaten kommt, die eine verlängerte Verweildauer in der Gefäßwand haben (96). Ferner kann Lp(a) den endothelial assoziierten tissue factor pathway inhibitor (TFPI) inaktivieren und somit den TF-vermittelten Gerinnungsprozess fördern (33).

1.4. Hämostase

1.4.1. Definition

Die Hämostase umfasst das Zusammenspiel von Gefäßwand, Thrombozyten, plasmatischen Gerinnungsfaktoren und Fibrinolysemechanismen. Die Interaktion dieser Komponenten bewirkt zunächst eine primäre Blutstillung durch einen Plättchenthrombus. Parallel dazu wird Fibrin gebildet, das den Thrombus vergrößert und verfestigt. Im Verlauf wird ein Thrombus organisiert und überflüssiges Fibrin aufgelöst.

1.4.2. Primäre Hämostase

Der Ablauf der primären Blutstillung lässt sich in drei Phasen unterteilen (105): Die Sofortphase (0 bis 15 sec) umfasst eine reflektorische Vasokonstriktion, der die Primäradhäsion der nichtaktivierten Thrombozyten an die freigesetzten subendothelialen Proteine (von Willebrand-Faktor (vWF), Kollagen) über den GPIIb/IX-Komplex folgt.

Durch den Kontakt mit Subendothel kommt es zur Formänderung der Thrombozyten (Pseudopodienausbildung) und Freisetzung plättchenaktivierender Substanzen (zum Beispiel Adenosindiphosphat (ADP), Thromboxan A₂ (TXA₂), plättchenaktivierenden Faktors (PAF), Serotonin, Fibrinogen, vWF).

Die Aktivierung der Thrombozyten hat eine Konformationsänderung ihres GPIIb/IIIa-Rezeptors zur Folge. Das freigesetzte Fibrinogen und der vWF können somit an den „aktivierten“ Rezeptor binden. Es kommt zur Bildung von Proteinbrücken zwischen den Plättchen. So entstehen die ersten noch relativ instabilen Aggregate.

Ein fließender Übergang zur plasmatischen Gerinnung folgt.

1.4.3. Sekundäre Hämostase

Das Endprodukt der sekundären Hämostase ist das Fibrin, das für die mechanische Festigkeit des gebildeten Thrombus entscheidend ist. Das Fibrin ist das Endprodukt des extrinsischen und intrinsischen Gerinnungssystems, die nicht als zwei völlig getrennt existierende Systeme funktionieren, sondern fließende Übergänge und eine gemeinsame Endstrecke beinhalten.

Unter physiologischen Bedingungen zirkulieren die Gerinnungsfaktoren, die in der Mehrzahl Serinproteasen entsprechen und in der Leber gebildet werden, als inaktive Vorstufen (Proenzyme, Zymogene) im Blut, dadurch sind sie dem Einfluss der Inhibitoren entzogen. Sie werden während des Gerinnungsablaufs proteolytisch aktiviert. FV und FVIII sind keine Enzyme, sondern Kofaktoren, welche die Geschwindigkeit des Reaktionsablaufs modifizieren.

Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung werden negativ geladene Phospholipide durch einen sogenannten Flip–Flop–Mechanismus von der inneren Schicht der Plasmamembran in die äußere Schicht verlagert. Die Reaktionen der Gerinnungsfaktoren finden an der Oberfläche von Phospholipiden statt.

Für die komplette Synthese der Faktoren II, VII, IX und X ist Vitamin K erforderlich.

➤ **das extrinsische System**

Der extrinsische Proteasenkomplex bestehend aus TF und FVII ist verantwortlich für die Auslösung der Gerinnung. TF, ein weit verbreitetes Membranprotein, das infolge einer Gefäßverletzung freigesetzt wird, bindet an das im Plasma zirkulierende FVII und FVIIa. Der TF/FVIIa–Enzymkomplex hat zwei wesentliche Substrate, FIX und FX, wobei FX zum einen auf diesem Weg aktiviert wird, zum anderen aber auch durch FIXa. Als Kofaktor wird Ca^{2+} benötigt (siehe Abbildung 2).

Die aktivierten FIX und FX aktivieren nun wiederum FVII (Rückkoppelungsmechanismus) und beschleunigen somit den Gerinnungsablauf (59). Auch FVIIa kann seine inaktive Vorstufe FVII aktivieren.

➤ **das intrinsische System**

Der intrinsische Proteasenkomplex bestehend aus FVIIIa und FIXa dient der Beschleunigung der Blutgerinnung, nachdem diese durch den Komplex TF/FVIIa ausgelöst wurde.

FXII, als Bestandteil des intrinsischen Systems, scheint, nach derzeitigem Stand der Forschung, unter physiologischen Bedingungen als Auslöser der Blutgerinnung irrelevant zu sein. Individuen, die einen FXII–Mangel haben, zeigen keine Beeinträchtigung der Gerinnungsabläufe und benötigen auch keine Therapie (49).

Nach Adsorption an subendotheliale Kollagenfasern wird FXII durch Kallikrein

aktiviert. Als Rückkoppelungsmechanismus katalysiert FXIIa die Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein. Weiterhin aktiviert FXIIa FXI. Bei den Interaktionen spielt das hochmolekulare Kininogen als nichtenzymatischer Kofaktor eine Rolle. In Anwesenheit von Ca^{2+} erfolgt die Aktivierung von FIX durch FXIa. Schließlich aktiviert FIXa unter Mithilfe von Ca^{2+} , Phospholipiden und FVIIIa FX (59) (siehe Abbildung 2).

Die Interaktionen zwischen exogenem und endogenem Weg werden durch die sogenannte Josso–Schleife abgebildet (56) (siehe Abbildung 1).

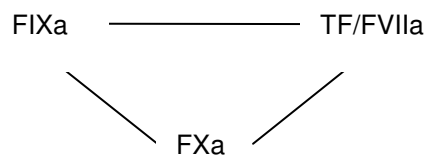


Abb.1: Josso–Schleife.

➤ die gemeinsame Endstrecke

Der weitere Ablauf in der Gerinnungskaskade erfolgt im extrinsischen und intrinsischen System auf dem gleichen Weg. FXa bewirkt eine Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin. Diese Reaktion wird beschleunigt durch die Anwesenheit der Kofaktoren: Phospholipide, Ca^{2+} und FVa.

Thrombin spaltet aus dem langkettigen Fibrinogenmolekül die Fibrinopeptide A und B ab. Es entstehen zunächst lösliche Fibrinmonomere, die sich zu Fibrinpolymeren zusammenlagern. Unter Einwirkung von FXIIIa, der durch die Thrombin–Aktivierung seiner inaktiven Vorstufen entsteht, werden kovalente Bindungen zwischen benachbarten Monomeren gebildet (siehe Abbildung 2). Somit wird das netzartige noch lösliche Thrombozyten–Aggregat durch Quervernetzung stabilisiert (53).

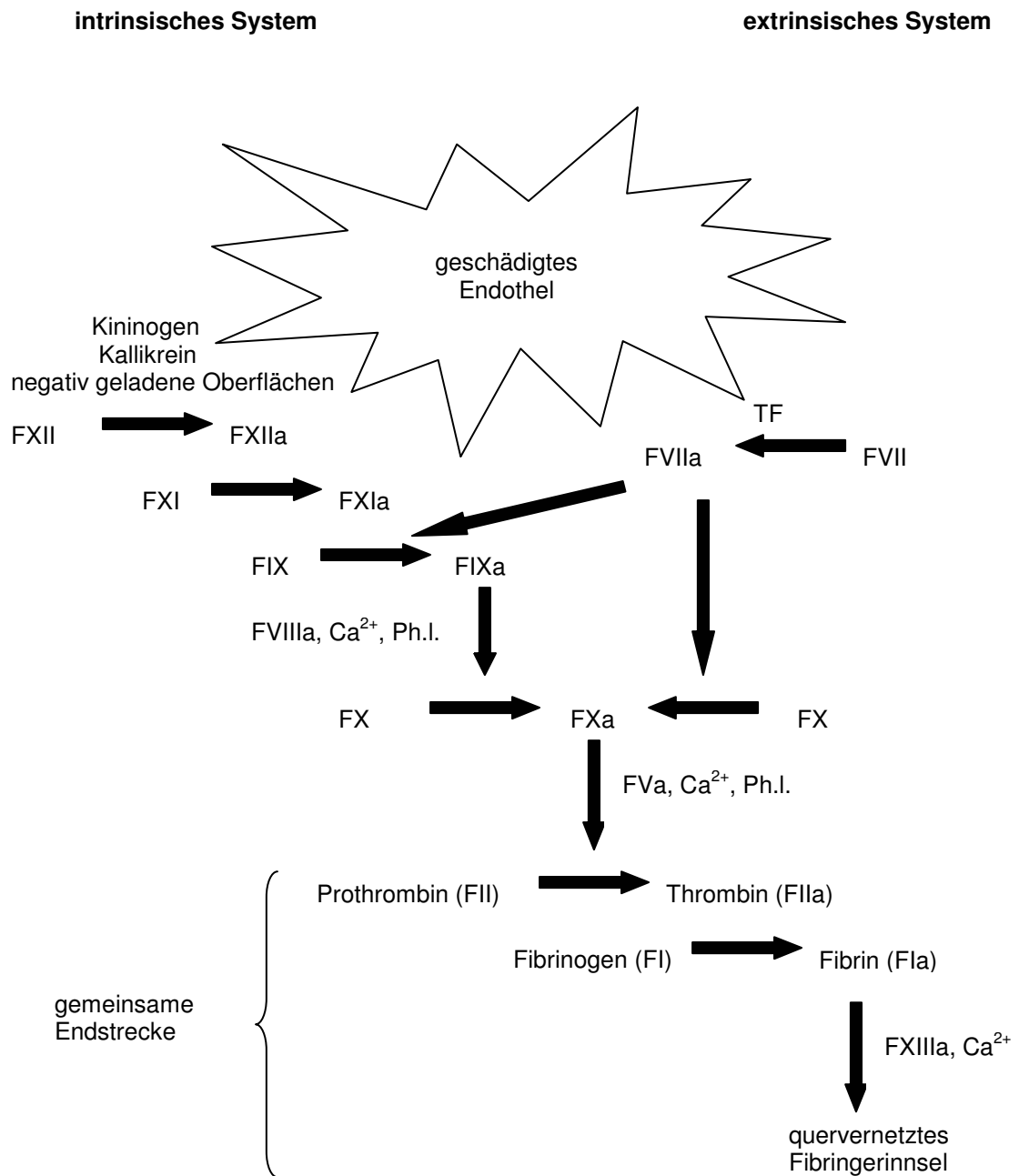


Abb. 2: Darstellung der Gerinnungskaskade des extrinsischen und intrinsischen Systems sowie der gemeinsamen Endstrecke in vereinfachter Form (nach Berg, Tymoczko, Stryer, Biochemie, 5. Aufl., 2003, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin, S. 312). Ph.I.=Phospholipide

1.4.4. Inhibitoren des Blutgerinnungssystems

Dem Gerinnungssystem steht ein ausgewogenes antagonistisches System gegenüber. Seine wichtigsten Aufgaben bestehen in der Hemmung aktivierter Gerinnungsfaktoren sowie dem proteolytischen Abbau überschüssigen Fibrins durch das proteolytische System. Das verhindert eine Vergrößerung des Thrombus über das erforderliche Maß hinaus und wirkt einer Generalisierung des Gerinnungsvorgangs im Gesamtorganismus entgegen.

➤ **Antithrombin**

Antithrombin (AT) ist offenbar der entscheidende Faktor, der eine übermäßige Blutgerinnung verhindert. Er bindet und inaktiviert mit großer Effizienz FXa und Thrombin, mit geringer Effizienz auch FIXa, FXIa, FXIIa und Kallikrein. Heparin bindet an Antithrombin und induziert eine Konformationsänderung, durch die das AT eine ungefähr 1000fach höhere Affinität gegenüber seinen Substraten FXa und Thrombin erhält (1).

➤ **Protein C/S-System**

Der Abbau von FVa und FVIIIa erfolgt durch Protein C. Dieses muss zur Entfaltung seiner antikoagulatorischen Eigenschaften aktiviert werden. Die Aktivierung ist direkt an den plasmatischen Gerinnungsprozess gekoppelt und wird durch Thrombin induziert, welches an das Rezeptorprotein der Membranen der Endothelzellen, Thrombomodulin, gebunden ist. Das Thrombin ist somit nicht nur der zentrale Auslöser der Blutgerinnung, sondern aktiviert auch einen Inhibitor der Blutgerinnung. Ein wichtiger Kofaktor des Protein C ist das Protein S (75). Beide Proteine werden Vitamin K-abhängig in der Leber synthetisiert.

➤ **Tissue factor pathway inhibitor**

Der TFPI bildet zusammen mit FXa, FVIIa und dem TF in Gegenwart von Ca^{2+}

einen Komplex, der die Aktivität der extrinsischen Gerinnungskaskade unterdrückt (19). Der größte Anteil des intravaskulären TFPI ist an die Endotheloberfläche gebunden und kann von dort durch Heparin ins Plasma freigesetzt werden. Im Plasma zirkuliert TFPI vorwiegend als Komplex mit Lipoproteinen und nur in weniger als 10% in freier Form.

Leicht erhöhte Werte wurden bei KHK und mit zunehmender Schwangerschaftsdauer festgestellt. Nach Heparintherapie ist ebenfalls, dosisabhängig, ein Anstieg der TFPI-Aktivität zu verzeichnen (111).

1.4.5. Das fibrinolytische System

Das fibrinolytische System schützt neben den Inhibitoren der plasmatischen Gerinnung den Organismus vor überschießender Gerinnung. Während die oben genannten Inhibitoren die Fibrinbildung verhindern, kann das wirksame Enzym der Fibrinolyse, das Plasmin, bereits gebildetes Fibrin, aber auch Fibrinogen abbauen.

Das aktive Enzym Plasmin entsteht durch Proteolyse aus dem inaktiven Proenzym Plasminogen. Dazu ist die Einwirkung von Plasminogenaktivatoren erforderlich.

Plasmin baut Fibrinogen und Fibrin in unterschiedlich große lösliche Fibrinogen- und Fibrinspaltprodukte ab (25). Die Degradationsprodukte des Fibrins, welche die D-Domänen enthalten, werden auch D-Dimere genannt. Plasmin spaltet zudem FV und FVIII, sodass neben der Auflösung von Blutgerinnseln auch eine Verminderung der Blutgerinnungsfähigkeit resultiert.

Gerinnung und Fibrinolyse stehen unter physiologischen Bedingungen in einem Gleichgewicht.

Einige anerkannte Risikofaktoren der KHK, zum Beispiel Nikotinabusus oder Hyperlipoproteinämie sind mit einer eingeschränkten Aktivität des Fibrinolysesystems assoziiert (115).

➤ **Aktivatoren der Fibrinolyse**

Der wichtigste physiologische Aktivator des Plasminogens ist der t-PA. Er wird von Endothelzellen als einkettige Form synthetisiert und sezerniert. Bereits geringe Mengen von FXa sowie Kallikrein vermögen die einkettige Form in die zweikettige aktive Form umzuwandeln (62). t-PA wird an Fibrin gebunden. Seine enzymatische Aktivität wird durch Fibrin und Fibrinderivate verstärkt, sodass t-PA bevorzugt an Fibrin gebundenes Plasminogen aktiviert. Dadurch wird die Fibrinolyse an den Ort des Bedarfs konzentriert.

Ein weiterer physiologischer Aktivator des Plasminogens ist die Urokinase.

➤ **Inhibitoren der Fibrinolyse**

Entstandenes Plasmin wird im Plasma von Inhibitoren neutralisiert. Der wichtigste Inhibitor ist das α_2 -Antiplasmin. Er inhibiert Plasmin durch Bildung eines stabilen Komplexes. Daneben wird die Adsorption von Plasminogen an Fibrin reduziert.

Ein weiterer physiologischer Inhibitor ist der unter anderem in Endothel und Hepatozyten synthetisierte PAI-1. Er inaktiviert den t-PA und auch die Urokinase (69).

1.5. Faktor VII

1.5.1. Biochemische und physiologische Grundlagen

Das FVII-Gen ist auf Chromosom 13 lokalisiert. Die Synthese von FVII erfolgt in der Leber. Er gehört zu den Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren und muss somit um seine volle Funktion im Gerinnungsablauf zu erhalten carboxyliert werden (130). Die γ -Carboxylierung geschieht an seinem N-terminalen Ende, dabei ist Vitamin K der Kofaktor dieser enzymatischen Reaktion (16) (siehe Abbildung 3).

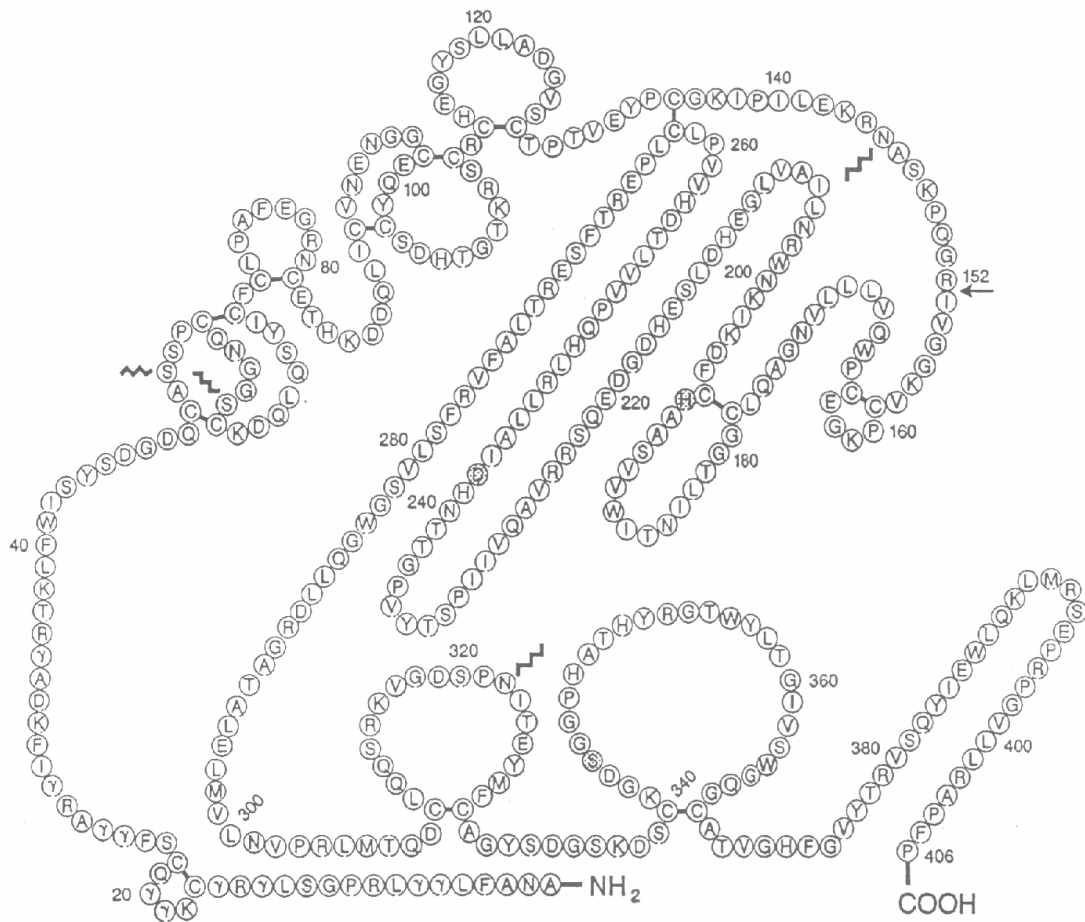


Abb. 3: Aminosäuresequenz und Proteinstruktur von FVII.

←=Zur Aktivierung notwendige Spaltungsstelle in Position 152

γ=γ-Carboxylierungsstellen

(nach Müller-Berghaus, Hämostaseologie, 1. Auflage, 1999, Springer Verlag, S. 258).

Das Proenzym (FVII) ist in sehr geringer Konzentration im Blut enthalten, circa 500 µg/l. Ungefähr 1% davon ist als aktivierte Form (FVIIa) im Plasma nachweisbar (92).

Sowohl FVII, als auch FVIIa binden im ersten Schritt der extrinsischen Gerinnungskaskade an TF, der in der Tunica media lokalisiert ist oder von Monozyten exprimiert wird (128). Dies geschieht in Anwesenheit von Ca^{2+} . Es handelt sich um eine hochaffine Bindung. TF, ein zellmenbrangebundenes Glykoprotein dient als zellulärer Rezeptor und enzymatischer Kofaktor für FVII und FVIIa. Er wird für FVII und FVIIa zugänglich nach Gewebeerletzungen an

Kontaktstellen der verletzten Oberflächen mit zirkulierendem Blut. Der Gerinnungsprozess wird somit auf den Verletzungsbereich begrenzt. Andererseits fanden Wilcox et al. TF mRNA und das Protein in großen Mengen in arteriosklerotischen Plaques und in Makrophagen (128). Die Vorkommen waren größer als in der Tunica media gesunder Gefäße. Die Expression wird induziert durch Zytokine (31).

Bei der Aktivierung von FVII zu FVIIa wird das einkettige Proenzym in eine leichte und eine schwere Peptidkette gespalten. Die schwere Kette enthält das katalytische Zentrum und hat eine 50 bis 150fach höhere Aktivität als die native Einketten-Form (130, 77). Unterschiede bestehen in der Aktivierungsgeschwindigkeit für freien FVII und an TF gebundenen FVII. Im Komplex mit TF kann FVII mit größerer Geschwindigkeit aktiviert werden.

In vivo existieren zwei Wege zur Aktivierung des FVII, der an TF gebunden ist. Die initiale Entstehung von FVIIa ist darauf zurückzuführen, dass einerseits Spuren von FIXa und FXa durch geringe Mengen an TF/FVII-Komplexen sowie TF/FVIIa-Komplexen mit Ca^{2+} und Phospholipiden als Kofaktoren gebildet werden. Diese Spuren an FIXa und FXa können wiederum inaktive TF/FVII-Komplexe zu TF/FVIIa aktivieren. Des Weiteren spielt auch der positive Feedback-Mechanismus des Thrombins bei der Aktivierung von TF/FVII eine Rolle. Zusätzlich gibt es auch die Möglichkeit der autokatalytischen Aktivierung durch ursprünglich schon vorhandene TF/FVIIa-Komplexe (71).

Mit Ca^{2+} gesättigter FVIIa ist auch ohne TF als Serinprotease katalytisch aktiv, jedoch mit geringer Reaktionsgeschwindigkeit. An TF gebunden nimmt die Effizienz von FVIIa erheblich zu.

Der wichtigste Inhibitor des TF/FVIIa-Komplexes ist der TFPI, der zunächst mit FXa einen Komplex bildet und dann in diesem Zustand die TF/FVIIa-Verbindung komplexiert (26). Es entsteht somit ein quartärer Komplex. Das TFPI-Protein wurde gefunden in Thrombozyten, im Plasma, wo es mit LDL assoziiert ist und in der Tunica adventitia, von wo aus es durch Heparin freigesetzt werden kann (36, 52, 97). Arteriosklerotische Plaques wiesen beides auf, TFPI mRNA und Protein. Es wurde ebenso beobachtet, dass TFPI an fokalen Makrophagenansammlungen lokalisiert war, was hinweisend dafür

sein könnte, dass TFPI in Schaumzellen synthetisiert wird (36). Somit könnten Makrophagen beides produzieren, TF und seinen Inhibitor TFPI.

1.5.2. Die Problematik der Meßmethoden

Die Messung des FVII erfolgt routinemäßig als Aktivitätsbestimmung (FVIIc). Der meistgebräuchlichste kommerzielle Test ist eine Endpunktmessung bei Fibrinbildung. Es wird ein Ansatz hergestellt aus Plasma, FVII-Mangelplasma und Ca^{2+} . Die Reaktion wird gestartet durch Zugabe von Thromboplastin-Reagenz. Das Messergebnis stellt eine Mischung aus den Konzentrationen der Zymogenform (FVII-Antigen) und der aktivierten Form dar. Welche Konzentration des basalen FVIIa das Messergebnis beeinflusst, kann im Einzelnen nicht ermittelt werden.

Eine Reihe von Fehlermöglichkeiten ist bei der Aktivitätsbestimmung möglich, da es sich hier nicht um einen standardisierten Test handelt. In der Literatur beschrieben ist eine Vortäuschung höherer FVII-Aktivitäten als tatsächlich vorhanden durch in vitro-Kälteaktivierung (Stehenlassen einer Probe bei 4 °C) des FVII zu FVIIa und durch Kontakt mit Glas (50, 102). Weiterhin gibt es unterschiedliche Messergebnisse bei Benutzung verschiedener Thromboplastine und unterschiedlicher Mangelplasmen. Bovines Thromboplastin ist sensitiver gegenüber FVIIa, während zum Beispiel für das humane Thromboplastin keine Unterschiede hinsichtlich Sensitivität gegenüber der aktivierten und inaktiven Form bestehen (81). Bei Verwendung von Mangelplasma, welches Protein C-frei ist, zeigt sich ein deutlicher Sensitivitätsanstieg gegenüber FVIIa (84). Ferner ist im Einzelfall nicht bekannt, ob alles Proenzym in messbare Aktivität überführt wird (81).

Diese methodischen Unklarheiten führen dazu, dass die klinischen Studien zur Erfassung der FVII-Atherogenität nicht vergleichbar sind beziehungsweise, dass unterschiedliche Studienergebnisse auf die unterschiedlichen Methoden zurückgeführt werden müssen.

Außer der Aktivitätsmessung von FVII ist auch eine Bestimmung der FVIIa-Konzentration möglich. Dazu verwendet man einen rekombinanten TF, welcher

zwar seine Kofaktor-Aktivität beibehält, inaktiven FVII aber nicht zu FVIIa aktivieren kann. Es wird also ausschließlich FVIIa erfasst. Die Aktivierung des TF/FVII-Komplexes durch Spuren von FIXa und FXa oder durch autokatalytische Aktivierung und die sich somit ergebenden Ungenauigkeiten der FVIIa-Bestimmung entfallen hierbei. Der Test stellt damit einen universellen Marker für die Aktivierung des Gerinnungssystems dar. Diese direkte Messung der FVIIa-Konzentration ist erst seit kurzer Zeit möglich, seine klinische Bedeutung ist somit noch nicht gesichert (71).

1.5.3. Erhöhte Faktor VII-Spiegel

Der Zusammenhang zwischen erhöhten FVIIc-Spiegeln und dem Risiko ischämischer kardiovaskulärer Ereignisse wurde in der NPH-Studie als erstes beschrieben (77). Die nachfolgende PROCAM-Studie zeigte ebenfalls diese Tendenz (65). Aufgrund des in der NPH-Studie benutzten Assays stellte man jedoch später die Vermutung auf, erhöhte Konzentrationen von FVIIa seien mit KHK assoziiert und FVIIa somit der bessere Indikator für kardiovaskuläre Ischämien.

Dem gegenüber steht das Ergebnis unter anderem der Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)-Studie, in der die erhöhte FVII-Aktivität nicht als Risikofaktor für KHK bestätigt werden konnte (42, 43).

Die Assoziation von Lipiden und FVIIc-Spiegeln wurde in mehreren Studien nachgewiesen. Erhöhte FVII-Aktivitäten wurden nach Cholesterin-reichen Diäten gemessen (87). Auch die Daten der zweiten NPH-Studie zeigten eine starke positive Assoziation der postprandialen Triglyceridkonzentrationen mit erhöhtem FVIIc und FVII-Antigen (27). Balleisen et al. zeigten eine positive Korrelation zwischen dem Körpergewicht, dargestellt als Broca-Index und FVIIc auf (10).

Die Studie von Balleisen et al. wies zusätzlich eine positive Assoziation zwischen FVIIc und Alter auf. Dies war unabhängig von anderen Charakteristika der Populationen wie Rauchen, Adipositas und Menopause (11). Scarabin et al. stellten ebenso einen Zusammenhang zwischen erhöhten FVIIc-Werten und

Alter fest. Sie erklärten dies jedoch mit einem höheren Anteil an FVIIa (114). Des weiteren ist ein positiver Zusammenhang zwischen FVIIc und weiblichem Geschlecht bekannt (57). Offensichtlich haben postmenopausale Frauen höhere FVIIc-Spiegel, als Männer. Auch hier ist nach Scarabin et al. die erhöhte Basalkonzentration von FVIIa ausschlaggebend (114). Zum Einfluss der genetischen Polymorphismen von FVII-Gen auf das Risiko einen Myokardinfarkt zu erleiden gibt es kontroverse Meinungen. Girelli et al. bestätigten eine Assoziation zwischen erhöhtem FVIIa bei Myokardinfarkt-Patienten und dem 5'F7- sowie R353Q-Polymorphismus (48). Der neuesten Meta-Analyse von Ye et al. zufolge ist dieser Zusammenhang jedoch nicht signifikant (134).

2. Inhalt und Zielsetzung der Dissertation

Erhöhte Aktivität von FVII wird in der Literatur als einer der neuen Risikofaktoren für Arteriosklerose diskutiert. Die NPH-Studie wies einen signifikanten Zusammenhang zwischen erhöhtem FVIIc und tödlichen kardiovaskulären Ereignissen nach. In der PROCAM-Studie zeigte sich diesbezüglich eine Tendenz. Eine Reihe anderer Studien, zum Beispiel Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC), European Atherosclerosis Research Study (EARS), Progetto Lombardo Atero-Trombosi Study (PLAT), Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME) konnte diese Assoziation jedoch nicht bestätigen. Die Ursache für diese Diskrepanz ist vermutlich methodisch bedingt. Die Aktivitätsmessung von FVII, die in diesen Studien durchgeführt wurde, entspricht nahezu der Gesamtkonzentration des Proteins FVII, einschließlich der basalen FVIIa-Konzentration. Möglicherweise ist aber nur FVIIa mit dem Arterioskleroserisiko assoziiert.

In den angewandten Assays wurden unterschiedliche Thromboplastine und Mangelplasmen benutzt. Protein C-freies Mangelplasma in Kombination mit einem aus Kaninchenhirn stammenden Thromboplastin zeigt eine erhöhte Sensitivität gegenüber FVIIa. Diese Zusammensetzung wurde im Assay der NPH-Studie eingesetzt. In den Tests der anderen Studien wurden Thromboplastine eingesetzt, welche humaner Herkunft waren oder ebenfalls vom Kaninchenhirn stammten, jedoch enthielten die Mangelplasmen hier das Protein C.

In der vorliegenden Studie wurde der Zusammenhang zwischen FVIIa und dem Arterioskleroserisiko untersucht. Dazu wurde eine Fall-Kontroll-Studie durchgeführt und eine relativ neue Methode zur Erfassung von FVIIa angewandt, die auf rekombinantem Thromboplastin basiert.

In der Arbeit wurde untersucht, ob es einen Unterschied zwischen den verschiedenen FVII-Fraktionen (FVIIc, FVIIa) bei Myokardinfarkt-Patienten und gesunden Kontrollpersonen gab. Des Weiteren wurden Zusammenhänge zwischen einerseits FVIIc, andererseits FVIIa mit zahlreichen klinischen und

Laborparametern, insbesondere TF und TFPI, geprüft und ebenfalls die Unterschiede diesbezüglich zwischen der Patienten- und Kontrollpopulation.

3. Material und Methoden

3.1. Patienten– und Kontrollkollektiv

Das Patientenkollektiv umfasste 221 Männer mit Myokardinfarkt im Alter von 22 bis 74 Jahren, die zur koronaren Rehabilitation in die LVA–Klinik Salzetal, Bad Salzuflen, eingewiesen worden waren.

Die Diagnose des Myokardinfarktes erfolgte auf der Grundlage der WHO–Kriterien, die zum Zeitpunkt der Studie gültig waren (retrosternale Schmerzen mit typischen EKG–Veränderungen oder einem mindestens dreifachen Anstieg von Creatinkinase in der akuten Phase oder typischen Veränderungen in der Angiographie).

Patienten unter oraler Antikoagulation wurden nicht berücksichtigt. Einnahmen von Antihypertensiva, Thrombozytenaggregationshemmern und Antidiabetika stellten keine Einschränkung dar. Lipidsenkende Medikation wurde zwei Wochen vor Blutentnahme abgesetzt.

Das Kontrollkollektiv (218 Männer) stammte aus der PROCAM–Studie, die 1979 initiiert wurde. Hier wurden gesunde Beschäftigte westfälischer Betriebe auf kardiovaskuläre Risikofaktoren hin untersucht und blieben unter Beobachtung, um Mortalität, Myokardinfarkt– und Schlaganfallinzidenz zu erfassen. Die Erstaufnahme beinhaltete Anamnese, körperliche Untersuchung, Messung des Blutdruckes, Ruhe–EKG, laborchemische sowie gerinnungsphysiologische Analyse des venösen Blutes.

3.2. Blutentnahme und –präparation

Die venöse Blutabnahme erfolgte vier bis sechs Wochen nach dem Myokardinfarkt mit einem Entnahmesystem der Firma Sarstedt, Nümbrecht. Das Citratblut (ein Teil 3,13% Natriumcitrat plus neun Teile Venenblut) wurde innerhalb von 2 Stunden nach Venenpunktion bei Raumtemperatur für 15 Minuten bei 2500 x g zentrifugiert, des weiteren das Plasma abpipettiert. Die Gewinnung des Serums für die klinisch–chemische Analytik erfolgte durch

Zentrifugieren des venösen Blutes für 10 Minuten bei 3000 x g.

Für die Weiterbearbeitung wurden Plasma und Serum in Kunststoffröhrchen (Nunc, Wiesbaden) zunächst aliquotiert und anschließend sofort bei -70°C eingefroren. Auch bei den anschließenden Gerinnungstests wurde der Kontakt des Plasmas mit Glas vermieden, um einer Aktivierung der Gerinnung vorzubeugen.

3.3. Bestimmung klinischer Parameter und Festlegung qualitativer Merkmale

Die Blutdruckmessung erfolgte nach der Riva-Rocci-Methode mit einer an Oberarmumfang adaptierten aufblasbaren Manschette und einem Manometer.

Der Body Mass Index (BMI) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{BMI} = \text{Gewicht in kg} / (\text{Körpergröße in m})^2.$$

Sowohl beim Patienten-, als auch beim Kontrollkollektiv wurde in der Anamnese auf das Rauchverhalten sowie auf die Familienanamnese bezüglich Myokardinfarkte eingegangen.

3.4. Klinisch-chemische und gerinnungsphysiologische Blutuntersuchungen

Die Bestimmung von Gesamtcholesterin und Triglyceriden im Serum fand am Hitachi 737 Analysengerät (Roche) statt unter Verwendung von Reagenzien der Firma Roche.

HDL-Cholesterinkonzentrationsbestimmung erfolgte nach Präzipitation mit Phosphorwolframsäure/ MgCl_2 (Roche).

LDL-Cholesterinkonzentrationen wurden mit der Friedewaldformel errechnet (45):

$$\text{LDL} = \text{Gesamtcholesterin} - \text{Triglyzeride}/5 - \text{HDL}.$$

Lp(a)-Konzentrationen konnten mittels Elektroimmundiffusion unter Benutzung der Standards und Antiseren der Firma Immuno ermittelt werden.

Mit Hilfe des Behring Coagulation Analyzers (BCS) erfolgte die Messung von Fibrinogen nach Clauss (23) unter Verwendung von Multifibren U (Dade Behring). Auch die FXIIc-Bestimmung erfolgte am BCS wobei Pathromtin SL und Mangelplasma eingesetzt wurden (Dade Behring). Die FXIIa-Messung dagegen erfolgte mit einem kommerziellen Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)-Kit (WAK Chemie).

Prothrombin Fragmente 1+2 (F1+2) wurden ebenso mit einem ELISA-Test gemessen (Dade Behring).

Die PAI-1-Bestimmung mit kommerziellen Kits (Dade Behring) fand an einem Roche Cobas Bio-Zentrifugalanalyzer (Roche) statt.

Das Plasminogen wurde unter Verwendung eines chromogenen Tests (Dade Behring) bestimmt.

Die Messungen des C-reaktiven Proteins (CRP) (Eurogenetics) und der D-Dimere (Roche) wurden mit ELISA-Tests durchgeführt.

Die Messung von Blutzucker erfolgte am Hitachi 737 Analysengerät (Roche) mit den Reagenzien der Firma Roche.

3.5. Behring Coagulation Analyzer

Der BCS-Analyzer ist ein Gerinnungssystem zur Abarbeitung koagulometrischer, chromogener und immunochemischer Tests. Es ist ein „Autostart“-System für den gesamten Prozess der Probenidentifikation, Erstellen der Probenvorverdünnungen, Reaktion, Kalibration, Kontrollmessungen über Datenverarbeitung bis zum Ausdruck.

➤ Systemkomponenten des BCS

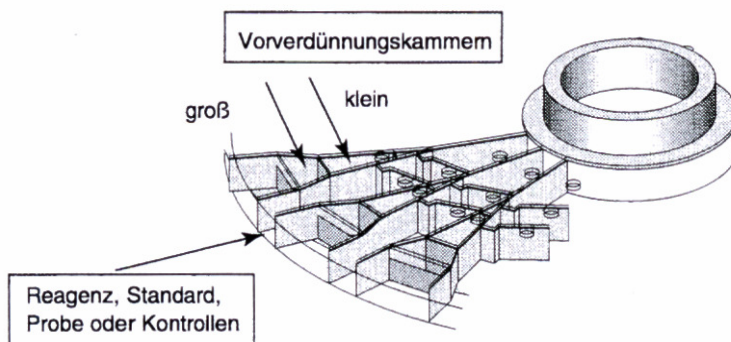


Abb. 4: Schematische Darstellung der Messeinheit am BCS.

Die Kammer für das Ansetzen der Proben mit Reagenzien reicht von der Rotormitte bis nach außen. Sie ist durch zwei Rampen in drei Abschnitte unterteilt (siehe Abb. 4):

- äußere Küvette
- mittlere Küvette
- innere Küvette.

Die Rampen trennen die einzelnen Teile nicht völlig voneinander ab. Wenn die Volumina der einzelnen Komponenten pipettiert werden, bleiben diese zuerst in den einzelnen Küvetten getrennt. Sie werden erst durch eine Mischrotation des Rotors miteinander vermischt. Dabei laufen die Flüssigkeiten aufgrund der Zentrifugalkräfte nach außen und vermischen sich.

➤ Optik des BCS

Der BCS-Analyser arbeitet photometrisch beziehungsweise turbidimetrisch. Die Lichtquelle ist eine breitbandig abstrahlende Xenon-Blitzlampe. Um Licht mit der gewünschten Wellenlänge zu erhalten, wird ein Interferenzfilter mit entsprechender Schwerpunktwellenlänge in den Strahlengang geschwenkt. Während des Gerinnungsvorgangs trübt sich der Ansatz immer mehr ein, beim Durchlaufen der Küvette wird der Lichtstrahl durch Absorption in der Lösung

abgeschwächt.

Trübe, ikterische und hämolytische Proben haben eine erhöhte Eigenextinktion, in diesem Fall wird die Schwelle zur Ermittlung der Gerinnungszeit von der Auswertesoftware dynamisch erhöht.

3.6. Bestimmung der Konzentration des aktivierten Faktors VII

3.6.1. Prinzip

Die Staclot VIIa-rTF-Methode basiert auf rekombinantem TF (rTF), der ein spezifischer Cofaktor für FVIIa ist. In Anwesenheit von Phospholipiden, Ca^{2+} , rTF und FVIIa wird der Gerinnungsvorgang gestartet. Die Zeit bis zum Entstehen eines Fibringerinnsels verhält sich umgekehrt proportional zur FVIIa-Konzentration im untersuchten Plasma. Der rTF kann inaktiven FVII nicht zu FVIIa aktivieren, somit gibt es keine Interferenzen durch FVII bei dieser Messung. Der Test ist nur zu Forschungszwecken zugelassen (35).

3.6.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial

- Puffer (10fach konzentriert)
- FVII-Mangelplasma (lyophilisiertes Humanplasma, dem FVII mittels Immun-Adsorption entzogen wurde, spezifisch für FVIIa-Tests)
- Gemisch aus rTF und Phospholipiden (lyophilisiert)
- FVIIa-Standard (humaner rekombinanter FVIIa)
- Kontroll-Plasma 1
- Kontroll-Plasma 2
- STA- CaCl_2 0,025 M
- Patientenplasma (hier und im folgenden bezieht sich der Ausdruck Patientenplasma auf Plasma sowohl von Patienten, als auch von Kontrollpersonen)

Die Aufbewahrung aller Reagenzien erfolgte bei 2–8°C. Der Puffer wurde vor Gebrauch 1:10 mit aqua dest. verdünnt. Das Mangelplasma erforderte eine

Rekonstitution mit 1 ml aqua dest., es folgte eine Inkubation bei Raumtemperatur (18–25°C) für 30 Minuten. Der rTF wurde genau wie das Mangelplasma angesetzt. Die Vorbereitung des FVIIa–Standards bestand zunächst aus seiner Auflösung in 0,5 ml aqua dest. und der anschließenden Inkubation bei Raumtemperatur für 30 Minuten. So behandelt war dieser 10fach konzentriert und musste 1:10 mit Puffer verdünnt werden, um die vorgegebene Ausgangskonzentration zu erreichen, von der sich dann die weiteren Verdünnungen für die Kalibration ableiteten:

FVIIa–Standard mU/ml	eingesetztes Volumen der Ausgangs- konzentration des FVIIa–Standards	Puffer
t	1000 µl	0 µl
0,3 t	300 µl	700 µl
0,1 t	100 µl	900 µl
0,03 t	30 µl	970 µl

t=Ausgangskonzentration des FVIIa–Standards

Die Vorbereitung der Kontrollplasmen erfolgte nach dem gleichen Schema wie beim Kalibrator. Die CaCl₂–Lösung erforderte eine Vorwärmung auf 37°C vor Gebrauch.

Das Auftauen der Patientenplasmen geschah bei 37°C in maximal 10 Minuten. Einer Studie von Junker zufolge gibt es bei dieser Behandlungsweise keinen systematischen Shift der FVIIa–Spiegel bei frischem versus gefrorenem (–70°C) und wiederaufgetautem Plasma (64).

Sowohl das Patienten– als auch das Kontrollplasma wurden während der präanalytischen und der Messphase bei Raumtemperatur gelagert, um eine Aktivierung des Faktors VII durch das Kallikreinsystem bei 2–8°C zu verhindern.

Der letzte Schritt umfaßte eine 1:10 Verdünnung der Patientenplasmen.

Die Bestimmungen wurden innerhalb von 2 Stunden durchgeführt.

3.6.3. Methodik

Die Messung erfolgte am BCS–Analyser bei einer Wellenlänge von 405 nm. Das Messprotokoll wurde speziell für die vorliegende Studie entwickelt.

➤ **Kalibration**

Um eine Messung quantitativ auswerten zu können, ist für die entsprechenden Reagenzien eine Kalibrationskurve erforderlich. Bei der FVIIa–Messung erfolgte dies mit dem entsprechenden Standard, wobei die Verdünnungsreihe vom BCS automatisch erstellt wurde.

➤ **Interne Qualitätskontrolle**

Normalbereich:	Kontroll–Plasma 1
Pathologischer Bereich:	Kontroll–Plasma 2

3.6.4. Referenzbereich

0,5–8,4 ng/ml (91)

3.7. Bestimmung der Faktor VII–Aktivität

3.7.1. Prinzip

Der Mangel eines der Faktoren des extrinsischen Systems führt zu einer verlängerten Thromboplastinzeit (TPZ).

Zur FVII–Aktivitätsbestimmung wird die TPZ einer Mischung des FVII–Mangelplasmas mit dem Patientenplasma gemessen. Durch Inkubation dieser Plasmenmischung mit der optimalen Menge Thromboplastin und Ca^{2+} wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst, die Zeit bis zur Bildung des Fibringerinnsels wird bestimmt.

Ein Patientenplasma, dem FVII fehlt, ist nicht in der Lage, seine Abwesenheit im Mangelplasma auszugleichen, woraus eine Verlängerung der TPZ resultiert. Die Aktivität des Gerinnungsfaktors in Prozent der Norm wird über eine Bezugskurve ermittelt, die mit Verdünnungen von Standard–Human–Plasma erstellt wird (30).

3.7.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial

- FVII–Mangelplasma (lyophilisiertes Humanplasma mit einer FVII–Restaktivität von <1%)
- Thromborel S (Thromboplastin aus Human–Plazenta, CaCl₂, Stabilisatoren)
- Standard–Human–Plasma
- Kontroll–Plasma N
- Kontroll–Plasma P
- Puffer (Imidazol–Pufferlösung)
- Patientenplasma

Das Aufbewahren aller Reagenzien erfolgte bei 2–8 °C.

Das lyophilisierte Mangelplasma wurde in 1 ml aqua dest. aufgelöst. Es war nach Rekonstitution 8 Stunden bei 15–25 °C haltbar.

Gleiche Vorbereitungen erfolgten für das Standard–Human–Plasma und die Kontroll–Plasmen.

Das Thromborel S wurde in 10 ml aqua dest. rekonstituiert, vor Gebrauch auf 37 °C erwärmt und 30 Minuten bei dieser Temperatur inkubiert. Es war 8 Stunden bei 37 °C haltbar.

Patientenplasmen wurden innerhalb von 10 Minuten bei 37 °C aufgetaut.

3.7.3. Methodik

Die Messung der FVIIc–Konzentration erfolgte am BCS bei einer Wellenlänge von 405 nm. Das Messprotokoll wurde speziell für die vorliegende Studie entwickelt.

➤ **Kalibration**

Zur Erstellung einer Bezugskurve wurde das Standard–Human–Plasma verwendet. Die Verdünnungsreihe erfolgte automatisch am BCS:

% der Norm	Puffer	Standard–Human–Plasma	Überpipettieren der zuvor hergestellten Konz.
100	1900 µl	100 µl	-
50	1000 µl	-	1000 µl
10	1600 µl	-	400 µl
1	900 µl	-	100 µl

➤ **interne Qualitätskontrolle**

Normalbereich: Kontroll–Plasma N

Pathologischer Bereich: Kontroll–Plasma P

3.7.4. Referenzbereich

70–120% der Norm

3.8. Bestimmung der Tissue factor–Konzentration

3.8.1. Prinzip

Der IMUBIND Total Tissue factor ELISA basiert auf der “Sandwich”–Technik zur Quantifizierung von TF im Plasma.

Von der Maus stammende monoklonale Antikörper gegen den humanen TF (primäre Antikörper) benetzen die Öffnungen der Mikrotiterplatten, in die verdünnte Plasmaproben pipettiert werden. Nach erfolgter Inkubationszeit und Abwaschen nichtgebundener Probe wird der gebundene TF mittels eines spezifischen biotinylierten Antikörpers (sekundärer Antikörper) detektiert. Ein

erneutes Abwaschen beseitigt alle nichtgekoppelten Partikel. Über ein Streptavidin–Peroxidase/Tetramethylbenzidin (TMB)–System und die Detektion der Absorption bei 450 nm wird anhand einer Standardkurve die Konzentration ermittelt.

Es werden TF–apo, TF und TF–FVII Komplexe detektiert. Der Test ist so konzipiert, daß es keine Interferenzen durch andere Gerinnungsfaktoren oder Gerinnungsinhibitoren gibt. Er ist nur zu Forschungszwecken zugelassen (3).

3.8.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial

- Mikrotiterplatten mit Antikörpern (primäre Antikörper) gegen den humanen TF beschichtet
- TF–Standards (0, 50, 100, 200, 500, 1000 pg/ml; lyophilisiert)
- sekundärer biotinylierter Antikörper gegen humanen TF (lyophilisiert)
- Enzym–Konjugat (Streptavidin–Meerrettich–Peroxidase)
- Verdünnungsmittel für das Enzym–Konjugat
- Substrat (TMB)
- Waschpuffer (25% Triton X–100)
- PBS–Puffer (pH 7,4)
- H₂SO₄
- Rinderalbumin
- Patientenplasma

Das Aufbewahren aller Reagenzien erfolgte bei 2–8 °C.

Die verschiedenen Standards wurden jeweils in 1 ml (beziehungsweise 2 ml bei 0 pg/ml Standard) aqua dest. aufgelöst.

Die Rekonstitution der monoklonalen Antikörper erfolgte mit 5,5 ml aqua dest. Dem Verdünnungsmittel für das Enzym–Konjugat wurden 20 ml aqua dest. hinzugegeben.

Der Waschpuffer entstand durch Hinzufügen von 4 ml Waschpuffer zum zuvor hergestellten PBS–Puffer (PBS–Puffer in 900 ml aqua dest. auflösen) und anschließendes Auffüllen auf 1000 ml mit aqua dest.

Der Probenpuffer setzte sich zusammen aus Waschpuffer und Rinderalbumin (Endkonzentration 1 Vol.%=1 mg Rinderalbumin/100 ml Waschpuffer).

Die Patientenplasmen tauten für 15 Minuten bei 37°C auf und wurden anschließend 1:4 mit PBS–Puffer verdünnt.

Alle Lösungen wurden zwischendurch sorgfältig auf einem Schüttler gemischt.

3.8.3. Methodik

Die Messung erfolgte an einem automatisierbaren ELISA–Prozessor, Behring ELISA Prozessor 2000 (BEP 2000) (Dade Behring). Dies ist ein vollautomatisches Mikrotiterplatten–Analysegerät, das die komplette Probenbearbeitung (Probenverdünnung, Proben– und Reagenzverteilung, Inkubation, Waschvorgänge, Plattentransport) sowie die photometrische Messung und die Auswertung selbständig durchführt. Das Messprotokoll wurde speziell für die vorliegende Studie entwickelt.

➤ Arbeitsablauf

Die gesamte Arbeitsprozedur erstreckte sich über 2 Tage.

Erster Tag: die TF–Standards und die verdünnten Patientenplasmen wurden in beschichtete Mikrotiterplatten pipettiert und inkubierten über Nacht bei 4°C.

Zweiter Tag: es fand zunächst ein Waschvorgang statt, anschließend wurde der Antikörper gegen den humanen TF hinzupipettiert und der Ansatz inkubierte für 1 Stunde bei Raumtemperatur. Es schloß sich ein erneuter Waschvorgang an. Als nächstes wurde das verdünnte Enzymkonjugat zugefügt, Inkubation für 1 Stunde bei Raumtemperatur und Waschen folgten.

Als letztes erfolgte die Substratzugabe und anschließende Inkubation. Die enzymatische Reaktion wurde mit H₂SO₄ gestoppt.

Die Absorptionsmessung fand am Photometer bei 450 nm innerhalb von 30 Minuten statt.

➤ **Kalibration**

Die quantitative Auswertung erfolgte mittels einer Kalibrationsgeraden, die sich aus der Verdünnungsreihe der TF–Standards ergab.

3.8.4. Referenzbereich

ist noch nicht erarbeitet

3.9. Bestimmung der Tissue factor pathway inhibitor–Konzentration

3.9.1. Prinzip

Der IMUBIND Total Tissue factor pathway inhibitor ELISA basiert auf der “Sandwich”–Technik zur Quantifizierung von TFPI in Plasma.

Vom Kaninchen stammende polyklonale Antikörper, die gegen den humanen TFPI gerichtet sind (primäre Antikörper), benetzen die Öffnungen der Mikrotiterplatten, in die verdünnte Plasmaproben pipettiert werden. Nach erfolgter Inkubationszeit und Abwaschen nichtgebundener Probe wird die Kunitz–1–Domäne des TFPI mittels eines monoklonalen biotinylierten Antikörpers (sekundärer Antikörper) detektiert. Ein erneutes Abwaschen beseitigt alle nichtgekoppelten Partikel. Über ein Streptavidin–Peroxidase/TMB–System und die Detektion der Absorption bei 450 nm wird anhand einer Standardkurve die Konzentration ermittelt.

Es werden sowohl der freie TFPI als auch der, an TF/FVIIa–Komplex gebundene detektiert. Der Test ist nur zu Forschungszwecken zugelassen (4).

3.9.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial

- Mikrotiterplatten mit Antikörpern (primäre Antikörper) gegen den humanen TFPI beschichtet
- TFPI–Standard (5 ng/ml; lyophilisiert)

- TFPI–Mangelplasma (lyophilisiert)
- TFPI–Referenzplasma (lyophilisiert)
- sekundärer biotinylierte Antikörper gegen humanen TFPI (lyophilisiert)
- Enzym–Konjugat (Streptavidin–Meerrettich–Peroxidase)
- Verdünnungsmittel für das Enzym–Konjugat
- Substrat (TMB)
- Waschpuffer (25% Triton X–100)
- PBS–Puffer (pH 7,4)
- H₂SO₄
- Rinderalbumin
- Patientenplasma

Das Aufbewahren aller Reagenzien erfolgte bei 2–8 °C.

Die Vorbereitung der TFPI–Standards setzte sich aus mehreren Schritten zusammen: Zunächst wurde das Mangelplasma in 0,5 ml kaltem (2–8 °C) aqua dest. aufgelöst und anschließend 1:20 mit Proben–Puffer verdünnt. 1 ml des 5%igen Mangelplasmas wurde dem TFPI–Standard hinzugegeben. Es folgte eine Verdünnungsreihe des Standards mit 4 Konzentrationen:

Standard–Konz.	5% TFPI–Mangelplasma	TFPI–Standard 5 ng/ml	Überpipettieren der zuvor hergestellten Konz.
0	1 ml	-	-
2,5 ng/ml	500 µl	500 µl	-
1,25 ng/ml	500 µl	-	500 µl
0,625 ng/ml	500 µl	-	500 µl
0,312 ng/ml	500 µl	-	500 µl

Das Referenzplasma wurde in 0,5 ml kaltem aqua dest aufgelöst und 1:40 mit PBS–Puffer verdünnt. Die übrigen Reagenzien wurden in der gleichen Weise wie beim TF–ELISA–Verfahren vorbereitet.

Die Patientenplasmen tauten für 15 Minuten bei 37 °C auf und wurden

anschließend 1:40 mit PBS–Puffer verdünnt.

Alle Lösungen wurden zwischendurch sorgfältig auf dem Schüttler gemischt.

3.9.3. Methodik

Die Messung erfolgte vollautomatisch am ELISA–Prozessor BEP 2000 bei einer Wellenlänge von 450 nm. Der Arbeitsablauf war vergleichbar dem bei der TF–Messung. Das Messprotokoll wurde speziell für die vorliegende Studie entwickelt.

➤ **Kalibration**

Die quantitative Auswertung erfolgte mittels einer Kalibrationsgeraden, die sich aus der Verdünnungsreihe des TFPI–Standards ergab.

➤ **interne Qualitätskontrolle**

TFPI–Referenzplasma

3.9.4. Referenzbereich

75–120 ng/ml

3.10. Bestimmung der Tissue factor pathway inhibitor–Aktivität

3.10.1. Prinzip

Der ACTICHROME TFPI–Aktivität–Assay misst die Fähigkeit des TFPI die katalytische Aktivität des TF/FVIIa–Komplexes zu inhibieren, sodass weniger FX zu FXa umgesetzt werden kann. Nach Inkubation der Proben mit TF, FVIIa und FX wird die Residualaktivität des TF/FVIIa–Komplexes gemessen; der während der Reaktion aus FX noch entstandene FXa spaltet das zugegebene

chromogene Substrat SPECTROZYME FXa, sodass p-Nitroanilin (pNA) entsteht. Die Spaltung von SPECTROZYME FXa ist FXa spezifisch. Die Absorption des pNA wird bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen. Die Auswertung erfolgt anhand einer Standardkurve mit bekannten TFPI-Aktivitäten. Der Test kann als Endpunkt- oder als kinetische Messung erfolgen. Er ist nur zu Forschungszwecken zugelassen (2).

3.10.2. Reagenzien und Untersuchungsmaterial

- Assay-Puffer
- TFPI-Mangelplasma (lyophilisiert)
- TFPI-Standard (0,2 U/ml, lyophilisiert)
- TFPI-Referenzplasma (1 U/ml, lyophilisiert)
- FX (humaner Herkunft, lyophilisiert)
- TF (lyophilisiert)
- FVIIa (humaner Herkunft, lyophilisiert)
- SPECTROZYME FXa (lyophilisiert)
- Ethylendiamintetraacetat (EDTA)
- Eisessig
- Patientenplasma

Die Aufbewahrung aller Reagenzien erfolgte bei 2–8 °C.

5 ml Puffer wurden mit 20 ml kaltem (2–8 °C), filtriertem, deionisiertem Wasser gemischt. 0,5 ml des Assay-Puffers wurden jeweils in die zwei im Testkit vorhandenen Röhrchen mit TFPI-Mangelplasma pipettiert, gemischt und auf Eis gestellt. Der Inhalt beider Röhrchen wurde zusammengebracht und mit Assay-Puffer auf 19 ml aufgefüllt. Dieses TFPI-Mangelplasma wurde anschließend aliquotiert und konnte so bei –20 °C bis zu einem Monat aufbewahrt werden.

1 ml filtriertes deionisiertes Wasser wurde zum im Testkit vorhandenen TFPI-Standard-Röhrchen zugegeben, sodass eine Endkonzentration von 0,2 U/ml resultierte. Dies war die Ausgangskonzentration für eine Verdünnungsreihe des

Standards, die mit TFPI-Mangelplasma nach folgendem Schema durchgeführt wurde:

TFPI-Standard U/ml	eingesetztes Volumen des 0,2 U/ml Standards	eingesetztes Volumen des TFPI- Mangelplasmas
0,10	100 µl	100 µl
0,08	80 µl	120 µl
0,06	60 µl	140 µl
0,04	40 µl	160 µl
0,02	20 µl	180 µl
0	0 µl	200 µl

Das gebrauchsfertige TFPI-Referenzplasma entstand, indem 0,5 ml filtrierten deionisierten Wassers zum im Testkit enthaltenen TFPI-Referenzplasma-Röhrchen zugegeben wurden. Nach sorgfältigem Mischen und Inkubation von 3 Minuten auf Eis erfolgte eine Aliquotierung des Plasmas. Die so entstandenen Aliquots waren bei -20 °C für einen Monat haltbar.

Der lyophilisierte humane FX wurde mit 2,5 ml filtriertem aqua dest. gut aufgelöst, aliquotiert und war anschließend bei -20 °C für einen Monat haltbar. Die gebrauchten Aliquots wurden auf Eis bearbeitet.

Das Lyophilisat des TF wurde in 100 µl des Assay-Puffers gelöst und aliquotiert. Zum FVIIa-Reagenz wurden 2,25 ml filtrierten aqua dest. pipettiert und sorgfältig gemischt. Anschließend erfolgte das Aliquotieren. Die Proben wurden bei -20 °C aufbewahrt.

Zum Herstellen des TF/FVIIa-Reagenz wurden 13,3 µl der TF-Lösung mit 1 ml FVIIa gemischt. Das Reagenz wurde für jeden Lauf frisch zubereitet.

Das SPECTROZYME FXa-Lyophilisat wurde mit 2,1 ml filtriertem deionisiertem Wasser rekonstituiert. Die so gewonnene Lösung konnte bei -20 °C bis zu einem Jahr aufbewahrt werden.

Das Zubereiten des EDTA beinhaltete das Auflösen von 50 mg der Substanz in 2 ml filtriertem aqua dest. und die anschließende Einstellung des pH auf 8,4 mit NaOH. Als nächstes wurde mit filtriertem aqua dest. auf 2,5 ml aufgefüllt.

Die Patientenplasmen wurden vor Gebrauch rasch bei 37 °C aufgetaut.

Vor der Messung wurden das TFPI–Referenzplasma und jede Patientenprobe 1:20 mit TFPI–Mangelplasma verdünnt.

3.10.3. Methodik

Die Messung erfolgte vollautomatisch am ELISA–Prozessor BEP 2000. Das Messprotokoll wurde speziell für die vorliegende Studie entwickelt.

➤ Arbeitsablauf

Als erstes wurde das TF/FVIIa–Reagenz zu den in den Mikrotiterplatten vorgelegten Patientenproben, zum TFPI–Standard sowie zum zuvor verdünnten TFPI–Referenzplasma pipettiert. Es folgte eine Inkubation bei 37°C für 30 Minuten. Anschließend wurde FX zugegeben und bei 37°C für 15 Minuten inkubiert. Es schloss sich die Zugabe von EDTA sowie SPECTROZYME FXa an. Mit dem letzten Schritt begann die Reaktion. Nach 25 Minuten wurde die Reaktion mit Eisessig gestoppt. Bei einer Wellenlänge von 405 nm konnte die Absorption gemessen werden.

➤ Kalibration

Die quantitative Auswertung erfolgte mittels einer Kalibrationsgeraden, die sich aus der Verdünnungsreihe des TFPI–Standards ergab.

➤ interne Qualitätskontrolle

TFPI–Referenzplasma

3.10.4. Referenzbereich

ist noch nicht erarbeitet

3.11. Statistische Methoden und Definitionen

Die statistischen Analysen erfolgten mit Hilfe der SPSS for Unix Software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), Version 6.1.

Zunächst wurden die Populationscharakteristika von Patienten und Kontrollpersonen gegenübergestellt. Anschließend sind Subgruppen (Hypertonus, Rauchen, Myokardinfarkt in der Familie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie) gebildet und die Charakteristikaverteilung von Patienten und Kontrollen verglichen worden.

Die quantifizierbaren Parameter (Alter, BMI, Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride, Lp(a), RR systolisch, RR diastolisch, Fibrinogen, CRP, PAI-1, D-Dimer, Plasminogen, FVIIc, FVIIa, FXIIc, FXIIa, TF, TFPI, F1+2, FVIIa/FVIIc, FXIIa/FXIIc, TFPI-Aktivität/TFPI) setzten sich zusammen aus normalverteilten Daten, die durch Mittelwert und Standardabweichung beschrieben wurden und nicht normalverteilten Variablen, die durch Median und Spannweite erfasst sind. Nicht normalverteilte Daten, die in Ratios einbezogen wurden, sind zuvor logarithmiert worden.

Die qualitativen Parameter (Hypertonus/Normotonus, Raucher/ Nichtraucher, Personen mit und ohne Myokardinfarkt in der Familie, Diabetiker/Nichtdiabetiker) wurden dargestellt als Absolutwerte und sich daraus ergebenden Häufigkeiten der Gruppe. Hypertonus wurde definiert als RR $\geq 160/105$ mmHg. Zur Rauchergruppe wurden aus dem Patientenkollektiv diejenigen Personen gezählt, die zum Zeitpunkt des Myokardinfarktes Raucher waren beziehungsweise aus dem Kontrollkollektiv diejenigen, die es zum Zeitpunkt der Untersuchung waren. Als Diabetiker wurden Personen definiert, die einen anamnestisch bekannten Diabetes mellitus hatten oder einen Nüchternblutzucker von >120 mg/dl aufwiesen.

Die Kollektive wurden bezüglich Alter adjustiert.

Der Vergleich von Mittelwerten normalverteilter Daten beziehungsweise Medianen nicht normalverteilter Angaben stützte sich auf den Wilcoxon-Test. Die Häufigkeiten der qualitativen Parameter wurden mittels des Chi-Quadrat-Tests nach Pearson verglichen.

Als Signifikanzniveau der statistischen Tests galt $p < 0,05$.

Weiterhin wurde untersucht, ob für FVIIa, FVIIc und die Ratio FVIIa/FVIIc Korrelationen mit klinischen und laborchemischen Parametern bestanden. Dafür ist eine univariate Korrelationsanalyse nach Pearson für die oben benannten Größen mit zuvor ausgewählten Parametern, die bei Patienten und Kontrollpersonen verschieden waren, durchgeführt worden.

Mit der sich anschließenden multiplen Regressionsanalyse (MRA) nach Pearson sollte die Frage beantwortet werden, ob der gegebenenfalls signifikante Zusammenhang zwischen zwei Parametern auch unter Einbeziehung von weiteren Parametern bestehen bleibt und somit echt ist.

In den Korrelationsuntersuchungen wurde das Gesamtkollektiv unter Einbeziehung der Gruppen der Patienten und Kontrollpersonen als Kovariablen (Patienten versus Kontrollpersonen) gemeinsam ausgewertet und als Parameter „Studie“ zusammengefasst.

4. Ergebnisse

Insgesamt 221 Männer, die im Alter von 22 bis 74 Jahren ihren ersten Myokardinfarkt hatten und 218 männliche Kontrollpersonen wurden in der vorliegenden Fall–Kontroll–Studie untersucht.

4.1. Kollektivbeschreibungen

In Tabelle 1 sind die quantifizierbaren Populationscharakteristika von Patienten und Kontrollpersonen dargestellt. Die Ratios FVIIa/FVIIc, FXIIa/FXIIc, TFPI–Aktivität/TFPI sollen den tatsächlichen Anteil des jeweiligen Parameters, der am Gerinnungsvorgang unmittelbar beteiligt ist (FVIIa, FXIIa, TFPI), darstellen.

Zwischen Patienten und Kontrollpersonen bestanden keine signifikanten Unterschiede bezüglich Gesamt–Cholesterin, LDL–Cholesterin, RR systolisch, RR diastolisch, FVIIc und der Ratio FXIIa/FXIIc. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) traten auf bei BMI, HDL–Cholesterin, Triglyceriden, Lp(a), Fibrinogen, CRP, PAI–1, D–Dimer, Plasminogen, FVIIa, FXIIc, FXIIa, TF, TFPI, TFPI–Aktivität, F1+2, FVIIa/FVIIc und TFPI–Aktivität/TFPI.

Tabelle 2 stellt eine Beschreibung des Patienten– und Kontrollkollektivs mit qualitativen Parametern dar. Die Merkmale Hypertonus und positive Familienanamnese wiesen signifikante Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen auf. Im Rauchverhalten und in Hinsicht auf Diabetes mellitus unterschieden sich Patienten nicht von Gesunden.

	Patienten		Kontrollpersonen		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	224	47,2 ± 9,0	218	47,5 ± 8,5	ns
BMI × 10 (kg/m ²)	221	28,0 ± 3,6	213	26 ± 3,2	<0,001
Gesamt-Chol. (mg/dl)	180	224,5 ± 39,7	218	222,3 ± 37,8	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	180	38,1 ± 9,1	218	49,7 ± 13,6	<0,001
LDL-Cholesterin (mg/dl)	178	148,1 ± 37,2	212	145,1 ± 35,7	ns
Triglyceride (mg/dl)	180	121,0 (43,0 – 563,0)	218	115,0 (30,0 – 512,0)	0,012
Lp(a) (g/l)	224	20,0 (0,0 – 227,2)	217	12,4 (0,0 – 174,0)	<0,001
RR syst. (mm Hg)	220	129,1 ± 19,9	217	127,7 ± 14,3	ns
RR diast. (mm Hg)	220	83,3 ± 10,5	217	81,5 ± 10,0	ns
Fibrinogen (g/l)	224	123,4 ± 54,7	218	280,4 ± 59,6	<0,001
CRP (mg/l)	222	0,8 (0,0 – 25,0)	217	0,5 (0,0 – 19,2)	<0,001
PAI-1 (U/ml)	57	3,6 (0,0 – 19,1)	210	2,7 (0,0 – 23,0)	0,004
D-Dimer (ng/ml)	224	339,4 (25,8 – 1524,0)	217	299,6 (120,9 – 836,1)	0,006
Plasminogen (%)	224	105,0 ± 22,6	217	103,7 ± 13,1	0,009
FVIIc (%)	224	111,1 ± 23,9	188	110,5 ± 18,8	ns
FVIIa (%)	221	127,5 (46,7 – 205,3)	218	71,4 (18,6 – 210,7)	<0,001
FXIIc (%)	224	98,7 ± 20,1	188	103,6 ± 20,5	0,020
FXIIa (%)	224	1,4 (0,4 – 13,3)	188	1,5 (0,1 – 3,9)	0,042
TF (pg/ml)	223	101,0 (4,1 – 378,7)	186	151,7 (67,8 – 655,6)	<0,001
TFPI (ng/ml)	224	69,1 ± 16,0	187	57,5 ± 15,0	<0,001
TFPI-Aktivität (U/ml)	224	2,0 ± 0,5	188	1,9 ± 0,5	<0,001
F1+2 (nmol/l)	223	62,7 (24,8 – 375,0)	218	80,0 (39,1 – 366,1)	<0,001
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	221	4,6 ± 1,4	188	4,0 ± 0,6	<0,001
(LN FXIIa×10/FXIIc) × 100	224	2,7 ± 0,5	188	2,6 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	223	7,0 ± 1,7	186	9,5 ± 2,9	<0,001

Tabelle 1: Kollektivbeschreibung von Myokardinfarkt (MI)-Patienten und Kontrollpersonen mit quantifizierbaren Parametern. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (SD) sowie Median mit Bereich. ns=nicht signifikant

		Patienten		Kontrollpersonen		p
		n	%	n	%	
Hypertonus	ja	38	17,2	189	86,7	0,019
	nein	183	82,8	29	13,3	
Rauchen	ja	190	86,4	118	54,1	ns
	nein	30	13,6	100	45,9	
MI in der Familie	ja	91	43,8	59	27,1	<0,001
	nein	117	56,3	159	72,9	
Diabetes mellitus	ja	22	10,0	21	9,6	ns
	nein	199	90,0	197	90,4	

Tabelle 2: Kollektivbeschreibung von MI-Patienten und Kontrollpersonen mit qualitativen Parametern nach Altersadjustierung: anamnestisch bekannter sowie zum Zeitpunkt der Messung festgestellter Hypertonus (RR ≥160/105 mmHg), Rauchen zum Zeitpunkt des MI bei Patienten bzw. zum Zeitpunkt der Blutentnahme bei Kontrollpersonen, positive Familienanamnese bezüglich MI bei erstgradig Verwandten, anamnestisch bekannter Diabetes mellitus oder Nüchternblutzucker >120 mg/dl.

4.2. Subgruppenbeschreibungen

Nachfolgend wurden Subgruppen mit folgenden Merkmalen gebildet: Hypertonus, Rauchverhalten, positive Familienanamnese bezüglich Myokardinfarkt, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie. Myokardinfarkt-Patienten und Kontrollpersonen aus den jeweiligen Subgruppen sind anhand der quantifizierbaren Parameter verglichen worden.

4.2.1. Subgruppe Hypertonus

Als Hypertonus wurde ein RR $\geq 160/105$ mmHg definiert.

Tabellen 3 und 4 stellen die Subgruppe der Hypertoniker/Normotoniker dar. Im Patientenkollektiv treten signifikante Unterschiede bei Alter, Gesamt-, HDL-, LDL-Cholesterin, Triglyceriden, RR diastolisch, Fibrinogen, PAI-1, Plasminogen und FVIIa auf. Im Kontrollkollektiv unterscheiden sich die Hypertoniker von den Normotonikern signifikant in Alter, BMI, RR systolisch, RR diastolisch, Fibrinogen und FXIIa.

	Patienten				
	Hypertoniker		Normotoniker		p
	n	MW \pm SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW \pm SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	38	45,0 \pm 8,6	183	47,7 \pm 9,1	0,025
BMI \times 10 (kg/m ²)	38	28,6 \pm 3,2	183	27,9 \pm 3,6	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	37	242,6 \pm 39,0	140	219,4 \pm 38,8	<0,001
HDL-Cholesterin (mg/dl)	37	35,3 \pm 7,3	140	38,9 \pm 9,5	0,022
LDL-Cholesterin (mg/dl)	35	172,8 \pm 31,9	140	141,5 \pm 35,9	<0,001
Triglyceride (mg/dl)	37	152,0 (43,0 – 427,0)	140	117,0 (52,0 – 563,0)	0,009
Lp(a) (g/l)	38	24,6 (0,0 – 215,0)	183	19,9 (0,0 – 227,3)	ns
RR syst. (mm Hg)	38	131,1 \pm 15,6	182	128,6 \pm 20,8	ns
RR diast. (mm Hg)	38	86,3 \pm 7,9	182	82,7 \pm 10,9	0,003
Fibrinogen (g/l)	38	293,4 \pm 102,8	183	85,3 \pm 37,9	<0,001
CRP (mg/l)	37	0,6 (0,1 – 24,3)	182	0,9 (0,0 – 25,0)	ns
PAI-1 (U/ml)	28	4,2 (0,0 – 19,1)	29	3,0 (0,0 – 8,3)	0,047
D-Dimer (ng/ml)	38	333,9 (148,1 - 1524,0)	183	341,3 (25,8 – 1524,0)	ns
Plasminogen (%)	38	100,0 \pm 25,5	183	106,1 \pm 21,9	0,032
FVIIc (%)	38	113,8 \pm 26,4	183	110,7 \pm 23,5	ns
FVIIa (%)	38	121,3 (46,7 – 200,0)	181	130,7 (51,1 – 205,3)	0,045
FXIIc (%)	38	98,9 \pm 19,2	183	98,5 \pm 20,4	ns
FXIIa (%)	38	1,4 (0,5 – 3,1)	183	1,3 (0,4 – 13,3)	ns
TF (pg/ml)	38	105,5 (47,3 – 193,4)	182	99,1 (4,1 – 378,7)	ns
TFPI (ng/ml)	38	68,7 \pm 16,6	183	69,5 \pm 15,9	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	38	1,9 \pm 0,4	183	2,1 \pm 0,5	ns
F1+2 (nmol/l)	37	63,4 (24,8 – 267,2)	183	62,3 (25,0 – 375,0)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) \times 100	38	4,6 \pm 2,5	181	4,6 \pm 0,9	ns
(LN FXIIa \times 10/FXIIc) \times 100	38	2,7 \pm 0,4	183	2,7 \pm 0,5	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) \times 100	38	7,2 \pm 1,8	182	7,0 \pm 1,7	ns

Tabelle 3: Populationscharakteristika in der Subgruppe Hypertonus bei Patienten. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert \pm Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

	Kontrollpersonen				
	Hypertoniker		Normotoniker		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	29	51,6 ± 8,6	189	47,0 ± 8,4	0,012
BMI × 10 (kg/m ²)	28	27,6 ± 3,4	185	25,8 ± 3,2	0,009
Gesamt-Chol. (mg/dl)	29	234,0 ± 41,8	189	220,8 ± 37,2	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	29	48,3 ± 11,3	189	49,9 ± 13,9	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	27	151,9 ± 37,0	185	144,3 ± 35,6	ns
Triglyceride (mg/dl)	29	116,0 (71,0 – 509,0)	189	113,5 (30,0 – 512,0)	ns
Lp(a) (g/l)	29	14,0 (0,0 – 101,0)	188	12,0 (0,0 – 174,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	29	142,0 ± 18,7	188	125,9 ± 12,7	<0,001
RR diast. (mm Hg)	29	92,0 ± 12,8	188	80,1 ± 8,8	<0,001
Fibrinogen (g/l)	29	292,7 ± 41,8	189	278,8 ± 61,4	0,041
CRP (mg/l)	29	0,6 (0,0 – 4,2)	188	0,5 (0,0 – 19,2)	ns
PAI-1 (U/ml)	28	3,3 (0,4 – 23,0)	182	2,7 (0,0 – 23,0)	ns
D-Dimer (ng/ml)	29	342,9 (204,5 – 672,9)	188	297,4 (120,9 – 836,1)	ns
Plasminogen (%)	29	108,1 ± 18,0	188	103,1 ± 12,3	ns
FVIIc (%)	24	114,7 ± 19,1	164	110,0 ± 18,8	ns
FVIIa (%)	29	74,1 (18,6 – 116,8)	189	70,8 (28,1 – 210,7)	ns
FXIIc (%)	24	110,6 ± 20,5	164	102,8 ± 20,4	ns
FXIIa (%)	24	1,7 (0,9 – 3,9)	164	1,5 (0,1 – 3,1)	0,042
TF (pg/ml)	23	158,8 (67,8 – 249,4)	163	151,5 (72,3 – 655,6)	ns
TFPI (ng/ml)	24	60,8 ± 11,9	163	57,1 ± 15,3	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	24	2,0 ± 0,4	164	1,9 ± 0,5	ns
F1+2 (nmol/l)	29	84,4 (52,6 – 366,1)	189	79,7 (39,1 – 240,2)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	24	3,8 ± 0,6	164	4,0 ± 0,5	ns
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	24	2,7 ± 0,4	164	2,6 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	23	8,6 ± 1,9	163	9,6 ± 3,0	ns

Tabelle 4: Populationscharakteristika in der Subgruppe Hypertonus bei Kontrollpersonen. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

4.2.2. Subgruppe Rauchen

In Tabellen 5 und 6 sind die Subgruppen der Raucher/Nichtraucher veranschaulicht. Die Patienten zeigen sich bezüglich Alter, Triglyceriden, Fibrinogen, CRP, PAI-1, Plasminogen, FVIIc, FXIIc, FXIIa, TFPI, F1+2 sowie der Ratios FVIIa/FVIIc und TFPI-Aktivität/TFPI signifikant unterschiedlich. Das Kontrollkollektiv weist signifikante Unterschiede bei RR systolisch, RR diastolisch, Fibrinogen, CRP, Plasminogen, TFPI-Aktivität und F1+2 auf.

	Patienten				p
	Raucher		Nichtraucher		
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	190	46,2 ± 8,4	30	49,4 ± 10,2	0,041
BMI × 10 (kg/m ²)	190	27,9 ± 3,8	30	28,4 ± 2,9	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	151	227,6 ± 43,3	25	219,2 ± 30,4	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	151	37,7 ± 10,1	25	39,1 ± 6,5	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	149	147,2 ± 40,7	25	152,1 ± 28,8	ns
Triglyceride (mg/dl)	151	139,0 (43,0 – 563)	25	107,0 (58,0 – 285)	0,003
Lp(a) (g/l)	190	20,3 (0,0 – 227,3)	30	19,0 (0,0 – 134,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	189	131,0 ± 22,1	30	124,6 ± 12,6	ns
RR diast. (mm Hg)	189	84,2 ± 11,6	30	81,1 ± 6,9	ns
Fibrinogen (g/l)	190	100,8 ± 50,7	30	177,8 ± 50,3	0,007
CRP (mg/l)	188	1,1 (25,0 – 427,9)	30	0,5 (5,5 – 57,2)	<0,001
PAI-1 (U/ml)	43	4,1 (0,0 – 19,1)	13	3,0 (0,4 – 11,4)	0,036
D-Dimer (ng/ml)	190	349,6 (25,8 – 1524,0)	30	309,9 (150,2 – 1524,0)	ns
Plasminogen (%)	190	108,0 ± 24,2	30	98,1 ± 17,2	<0,001
FVIIc (%)	190	114,6 ± 24,1	30	103,1 ± 22,0	<0,001
FVIIa (%)	188	129,2 (46,7 – 205,3)	30	128,6 (51,1 – 200,0)	ns
FXIIc (%)	190	101,7 ± 21,0	30	91,5 ± 16,0	<0,001
FXIIa (%)	190	1,5 (0,4 – 13,3)	30	1,0(0,6 – 2,2)	<0,001
TF (pg/ml)	189	102,2 (4,1 – 378,7)	30	97,3 (45,5 – 195,5)	ns
TFPI (ng/ml)	190	71,9 ± 16,8	30	63,3 ± 11,8	<0,001
TFPI-Aktivität (U/ml)	190	2,0 ± 0,5	30	2,0 ± 0,6	ns
F1+2 (nmol/l)	189	64,8 (25,0 – 375,0)	30	56,6 (24,8 – 375,0)	<0,001
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	188	4,4 ± 1,5	30	4,8 ± 1,0	<0,001
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	190	2,7 ± 0,5	30	2,7 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	189	6,8 ± 1,7	30	7,6 ± 1,6	<0,001

Tabelle 5: Populationscharakteristika in der Subgruppe Rauchen bei Patienten.
Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

	Kontrollpersonen				
	Raucher		Nichtraucher		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	118	47,0 ± 8,1	100	49,0 ± 9,2	ns
BMI × 10 (kg/m ²)	116	25,8 ± 3,2	97	26,6 ± 3,4	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	118	223,8 ± 38,3	100	218,6 ± 36,9	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	118	49,5 ± 13,9	100	50,3 ± 13,0	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	117	146,4 ± 37,0	95	141,8 ± 32,5	ns
Triglyceride (mg/dl)	118	117,0 (30,0 – 509,0)	100	103,3 (34,0 – 512,0)	ns
Lp(a) (g/l)	118	13,0 (0,0 – 174,0)	99	12,0 (0,0 – 131,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	117	126,1 ± 13,6	100	131,6 ± 15,9	0,010
RR diast. (mm Hg)	117	80,3 ± 10,1	100	84,3 ± 9,4	<0,001
Fibrinogen (g/l)	118	288,5 ± 63,7	100	261,0 ± 43,3	0,002
CRP (mg/l)	117	0,7 (0,0 – 19,2)	100	0,3 (0,0 – 14,3)	<0,001
PAI-1 (U/ml)	116	2,8 (0,0 – 23,0)	94	2,5 (0,0 – 23,0)	ns
D-Dimer (ng/ml)	117	308,4 (136,9 – 836,1)	100	292,6 (120,9 – 790,5)	ns
Plasminogen (%)	117	105,0 ± 13,7	100	100,6 ± 11,2	0,024
FVIIc (%)	118	110,4 ± 19,1	70	110,7 ± 17,8	ns
FVIIa (%)	118	73,4 (34,9 – 210,7)	100	67,7 (18,6 – 166,2)	ns
FXIIc (%)	118	103,2 ± 20,3	70	105,1 ± 21,2	ns
FXIIa (%)	118	1,5 (0,1 – 3,9)	70	1,4 (0,3 – 2,9)	ns
TF (pg/ml)	118	151,6 (67,8 – 423,8)	68	153,4 (76,8 – 655,6)	ns
TFPI (ng/ml)	118	57,8 ± 15,2	69	56,4 ± 14,4	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	118	1,9 ± 0,5	70	1,7 ± 0,5	0,004
F1+2 (nmol/l)	118	82,8 (39,1 – 240,2)	100	77,2 (43,0 – 366,1)	0,025
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	118	4,0 ± 0,6	70	3,9 ± 0,5	ns
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	118	2,6 ± 0,4	70	2,5 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	118	9,4 ± 3,0	68	9,6 ± 2,6	ns

Tabelle 6: Populationscharakteristika in der Subgruppe Rauchen bei Kontrollpersonen. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

4.2.3. Subgruppe Myokardinfarkt in der Familie

Tabellen 7 und 8 stellen die Subgruppen der Personen mit und ohne positive Familienanamnese dar. In der Patientengruppe unterschieden sich die beiden Subgruppen hinsichtlich FXIIc, TFPI-Aktivität und der Ratio FXIIa/FXIIa signifikant voneinander. Die Kontrollgruppe zeigte einen signifikanten Unterschied der Subpopulationen bei HDL-Cholesterin.

	Patienten				
	MI in der Familie		kein MI in der Familie		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	91	47,5 ± 8,4	117	47,6 ± 9,2	ns
BMI × 10 (kg/m ²)	91	28,0 ± 3,8	114	28,4 ± 3,3	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	71	228,8 ± 39,5	93	223,6 ± 41,9	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	71	37,4 ± 9,0	93	39,1 ± 9,4	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	71	151,5 ± 38,2	92	145,0 ± 38,6	ns
Triglyceride (mg/dl)	71	117,0 (43,0 – 537,0)	93	139,0 (52,0 – 563,0)	ns
Lp(a) (g/l)	91	21,9 (0,0 – 227,3)	117	19,5 (0,0 – 191,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	91	129,6 ± 18,5	113	130,9 ± 21,0	ns
RR diast. (mm Hg)	91	83,6 ± 9,0	113	83,9 ± 11,6	ns
Fibrinogen (g/l)	91	104,8 ± 52,1	117	112,3 ± 47,3	ns
CRP (mg/l)	91	0,6 (0,0 – 25,0)	116	0,9 (0,0 – 21,7)	ns
PAI-1 (U/ml)	20	3,7 (1,2 – 9,3)	25	4,1 (0,0 – 19,1)	ns
D-Dimer (ng/ml)	91	340,5 (25,8 – 1460,8)	117	334,6 (115,7 - 1524,0)	ns
Plasminogen (%)	91	104,2 ± 19,9	117	108,1 ± 22,1	ns
FVIIc (%)	91	108,7 ± 25,0	117	112,8 ± 23,3	ns
FVIIa (%)	90	132,7 (52,7 – 200,0)	115	129,3 (46,7 – 205,3)	ns
FXIIc (%)	91	94,9 ± 19,9	117	102,5 ± 19,6	0,006
FXIIa (%)	91	1,3 (0,5 – 13,2)	117	1,4 (0,4 – 13,3)	ns
TF (pg/ml)	91	104,4 (45,5 – 319,5)	116	95,9 (4,1 – 378,7)	ns
TFPI (ng/ml)	91	70,5 ± 14,4	117	69,5 ± 17,3	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	91	2,2 ± 0,5	117	2,0 ± 0,5	0,019
F1+2 (nmol/l)	90	62,2 (24,8 – 375,0)	117	63,2 (25,0 – 375,0)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	90	4,8 ± 1,9	115	4,4 ± 0,9	ns
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	91	2,8 ± 0,6	117	2,6 ± 0,3	<0,001
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	91	6,9 ± 1,6	116	7,0 ± 1,8	ns

Tabelle 7: Populationscharakteristika in der Subgruppe MI in der Familie der Patienten. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

	Kontrollpersonen				
	MI in der Familie		kein MI in der Familie		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	59	47,5 ± 8,1	159	47,5 ± 8,7	ns
BMI × 10 (kg/m ²)	57	26,1 ± 3,4	156	26,0 ± 3,2	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	59	224,2 ± 37,4	159	221,5 ± 38,1	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	59	44,9 ± 9,9	159	51,5 ± 14,4	0,019
LDL-Cholesterin (mg/dl)	58	151,1 ± 36,3	154	142,9 ± 35,4	ns
Triglyceride (mg/dl)	59	124,0 (43,0 – 480,0)	159	109,1 (30,0 – 512,0)	ns
Lp(a) (g/l)	59	11,0 (0,0 – 158,0)	158	13,0 (0,0 – 174,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	59	126,8 ± 11,4	158	128,1 ± 15,3	ns
RR diast. (mm Hg)	59	79,7 ± 7,1	158	82,1 ± 10,9	ns
Fibrinogen (g/l)	59	283,5 ± 66,4	159	279,2 ± 57,2	ns
CRP (mg/l)	59	0,6 (0,0 – 14,3)	158	0,5 (0,0 – 19,2)	ns
PAI-1 (U/ml)	57	2,8 (0,0 – 7,3)	153	2,7 (0,0 – 23,0)	ns
D-Dimer (ng/ml)	59	342,9 (128,8 – 815,0)	158	295,5 (120,9 – 836,1)	ns
Plasminogen (%)	59	104,4 ± 10,2	158	103,4 ± 14,1	ns
FVIIc (%)	54	109,5 ± 18,2	134	110,8 ± 19,1	ns
FVIIa (%)	59	74,0 (29,7 – 140,4)	159	70,3 (18,6 – 210,7)	ns
FXIc (%)	54	105,4 ± 18,8	134	102,9 ± 21,2	ns
FXIIa (%)	54	1,7 (0,4 – 3,1)	134	1,5 (0,1 – 3,9)	ns
TF (pg/ml)	53	151,9 (67,8 – 655,6)	133	152,3 (72,3 – 423,8)	ns
TFPI (ng/ml)	53	55,8 ± 14,8	134	58,1 ± 15,1	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	54	1,9 ± 0,5	134	1,9 ± 0,5	ns
F1+2 (nmol/l)	59	84,2 (43,0 – 136,4)	159	78,8 (39,1 – 366,1)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	54	4,0 ± 0,6	134	4,0 ± 0,5	ns
(LN FXIIa × 10/FXIc) × 100	54	2,6 ± 0,4	134	2,6 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	53	9,7 ± 3,0	133	9,4 ± 2,9	ns

Tabelle 8: Populationscharakteristika in der Subgruppe MI in der Familie der Kontrollpersonen. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

4.2.4. Subgruppe Diabetes mellitus

Als Diabetes mellitus wurde ein Nüchternblutzucker >120 mg/dl definiert. Des weiteren wurden Personen mit einem anamnestisch bekannten Diabetes mellitus in dieser Subgruppe berücksichtigt.

In Tabellen 9 und 10 sind die Subgruppen der Diabetiker/Nichtdiabetiker dargestellt. Bei den Patienten treten signifikant unterschiedliche Ergebnisse bei Alter, BMI, D-Dimer auf. Bei den Kontrollpersonen sind Alter, Triglyceride, CRP, PAI-1, FVIIc, FVIIa und die Ratio FVIIa/FVIIc signifikant verschieden.

	Patienten				
	Diabetiker		Nichtdiabetiker		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	22	51,9 ± 8,0	199	46,5 ± 9,0	0,002
BMI × 10 (kg/m ²)	22	29,5 ± 3,2	199	27,8 ± 3,6	0,017
Gesamt-Chol. (mg/dl)	20	226,6 ± 37,7	157	224,5 ± 40,4	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	20	36,6 ± 6,3	157	38,3 ± 9,5	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	20	150,3 ± 35,6	155	148,3 ± 37,7	ns
Triglyceride (mg/dl)	20	116,1 (56,0 – 563,0)	157	127,1 (43,0 – 529,0)	ns
Lp(a) (g/l)	22	43,8 (0,0 – 134,0)	199	20,0 (0,0 – 227,3)	ns
RR syst. (mm Hg)	22	124,6 ± 11,5	198	129,8 ± 20,7	ns
RR diast. (mm Hg)	22	81,9 ± 5,7	198	83,6 ± 11,0	ns
Fibrinogen (g/l)	22	145,6 ± 47,0	199	122,1 ± 56,4	ns
CRP (mg/l)	22	1,0 (0,2 – 5,5)	197	0,8 (0,0 – 25,0)	ns
PAI-1 (U/ml)	8	4,7 (1,2 – 11,4)	49	3,5 (0,0 – 19,1)	ns
D-Dimer (ng/ml)	22	518,0 (173,2 - 1524,0)	199	335,3 (25,8 – 1524,0)	0,015
Plasminogen (%)	22	102,1 ± 24,0	199	105,4 ± 22,6	ns
FVIIc (%)	22	106,9 ± 25,6	199	111,9 ± 23,8	ns
FVIIa (%)	22	145,1 (58,1 – 200,0)	197	126,6 (46,7 – 205,3)	ns
FXIIc (%)	22	92,1 ± 23,2	199	99,5 ± 19,5	ns
FXIIa (%)	22	1,3 (0,5 – 2,8)	199	1,4 (0,4 – 13,3)	ns
TF (pg/ml)	22	106,6 (4,1 – 147,1)	198	101,4 (44,7 – 378,7)	ns
TFPI (ng/ml)	22	67,2 ± 12,9	199	69,6 ± 16,4	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	22	2,1 ± 0,6	199	2,0 ± 0,5	ns
F1+2 (nmol/l)	22	61,3 (39,5 – 199,8)	198	63,2 (24,8 – 375,0)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	22	4,9 ± 1,3	197	4,5 ± 1,4	ns
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	22	2,7 ± 0,4	199	2,7 ± 0,5	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	22	6,8 ± 1,7	198	7,0 ± 1,7	ns

Tabelle 9: Populationscharakteristika in der Subgruppe Diabetes mellitus bei Patienten. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

	Kontrollpersonen				
	Diabetiker		Nichtdiabetiker		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	21	53,8 ± 7,7	197	46,8 ± 8,3	0,002
BMI × 10 (kg/m ²)	21	28,1 ± 4,8	192	25,8 ± 2,9	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	21	224,7 ± 45,3	197	222,0 ± 37,1	ns
HDL-Cholesterin (mg/dl)	21	45,9 ± 9,0	197	50,1 ± 14,0	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	19	142,3 ± 37,5	193	145,4 ± 35,6	ns
Triglyceride (mg/dl)	21	166,7 (43,0 – 480,0)	197	110,0 (30,0 – 512,0)	0,006
Lp(a) (g/l)	21	11,6 (0,0 – 120,0)	196	13,0 (0,0 – 174,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	21	126,3 ± 14,2	196	127,9 ± 14,4	ns
RR diast. (mm Hg)	21	82,5 ± 11,9	196	81,4 ± 9,8	ns
Fibrinogen (g/l)	21	298,8 ± 50,9	197	278,4 ± 60,3	ns
CRP (mg/l)	20	1,4 (0,0 – 10,0)	197	0,5 (0,0 – 19,2)	0,016
PAI-1 (U/ml)	21	5,4 (0,0 – 23,0)	189	2,5 (0,0 – 23,0)	0,009
D-Dimer (ng/ml)	20	331,2 (153,9 – 815,0)	197	299,3 (120,9 – 836,1)	ns
Plasminogen (%)	20	110,9 ± 18,9	197	103,0 ± 12,2	ns
FVIIc (%)	17	122,2 ± 18,4	171	109,2 ± 18,5	0,016
FVIIa (%)	21	83,6 (24,9 – 142,5)	197	70,4 (18,6 – 210,7)	0,024
FXIIc (%)	17	105,3 ± 21,7	171	103,4 ± 20,4	ns
FXIIa (%)	17	1,6 (0,5 – 3,8)	171	1,5 (0,1 – 3,9)	ns
TF (pg/ml)	17	152,3 (96,8 – 321,7)	169	151,5 (67,8 – 655,6)	ns
TFPI (ng/ml)	17	59,3 ± 14,9	170	57,3 ± 15,0	ns
TFPI-Aktivität (U/ml)	17	2,0 ± 0,5	171	1,9 ± 0,5	ns
F1+2 (nmol/l)	21	82,8 (62,1 – 147,9)	197	79,8 (39,1 – 366,1)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	17	3,7 ± 0,4	171	4,0 ± 0,6	0,027
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	17	2,6 ± 0,4	171	2,6 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	17	8,9 ± 1,8	169	9,5 ± 3,0	ns

Tabelle 10: Populationscharakteristika in der Subgruppe Diabetes mellitus bei Kontrollpersonen. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

4.2.5. Subgruppe Hypercholesterinämie

Als Hypercholesterinämie wurde ein Gesamt-Cholesterin >250 mg/dl definiert. Tabellen 11 und 12 fassen Patienten und Kontrollpersonen mit und ohne Hypercholesterinämie zusammen. Das Patientenkollektiv zeigt sich bezüglich Gesamt-, LDL-Cholesterin, Triglyceriden, PAI-1, FVIIc, FXIIa, TFPI, TFPI-Aktivität, F1+2, und der Ratios FVIIa/FVIIc sowie TFPI-Aktivität/TFPI signifikant verschieden. Im Kontrollkollektiv treten signifikante Unterschiede bei Gesamt-, LDL-Cholesterin, Triglyceriden, RR diastolisch, PAI-1, Plasminogen, FVIIc, FVIIa, FXIIc, FXIIa, TFPI, TFPI-Aktivität und den Ratios FVIIa/FVIIc sowie TFPI-Aktivität/TFPI auf.

	Patienten				
	mit Hyperchol.ämie		ohne Hyperchol.ämie		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	46	44,6 ± 6,7	134	45,8 ± 9,6	
BMI × 10 (kg/m ²)	46	28,5 ± 3,4	131	28,3 ± 3,8	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	46	276,7 ± 25,6	134	207,2 ± 26,0	<0,001
HDL-Cholesterin (mg/dl)	46	38,8 ± 9,9	134	37,9 ± 8,9	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	45	188,6 ± 30,3	133	134,9 ± 28,8	<0,001
Triglyceride (mg/dl)	46	174,1 (74,0 – 537,0)	134	108,3 (43,0 – 563,0)	<0,001
Lp(a) (g/l)	46	28,3 (0,0 – 164,0)	134	20,0 (0,0 – 215,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	46	129,0 ± 18,6	130	126,5 ± 19,4	ns
RR diast. (mm Hg)	46	84,3 ± 9,1	130	82,3 ± 10,6	ns
Fibrinogen (g/l)	46	176,8 ± 67,9	134	145,0 ± 56,4	ns
CRP (mg/l)	45	1,0 (0,1 – 24,3)	133	0,9 (0,0 – 25,0)	ns
PAI-1 (U/ml)	22	4,7 (2,3 – 19,1)	35	2,9 (0,0 – 8,6)	<0,001
D-Dimer (ng/ml)	46	340,1 (120,1 - 1524,0)	134	333,6 (100,2 – 1524,0)	ns
Plasminogen (%)	46	108,4 ± 23,1	134	102,0 ± 23,9	ns
FVIIc (%)	46	122,5 ± 31,3	134	109,4 ± 22,3	<0,001
FVIIa (%)	45	122,1 (46,7 – 200,0)	132	126,4 (51,1 – 205,3)	ns
FXIIc (%)	46	103,1 ± 23,4	134	98,5 ± 18,8	ns
FXIIa (%)	46	1,6 (0,5 – 13,3)	134	1,3 (0,5 – 4,5)	0,015
TF (pg/ml)	46	105,6 (47,3 – 378,7)	133	104,1 (4,1 – 319,5)	ns
TFPI (ng/ml)	46	79,7 ± 17,8	134	64,7 ± 14,3	<0,001
TFPI-Aktivität (U/ml)	46	2,1 ± 0,4	134	2,0 ± 0,5	0,020
F1+2 (nmol/l)	45	70,8 (24,8 – 75,0)	134	62,7 (25,0 – 375,0)	0,035
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	45	4,4 ± 2,5	132	4,6 ± 1,0	<0,001
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	46	2,7 ± 0,6	134	2,6 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	46	6,1 ± 1,5	133	7,5 ± 1,8	<0,001

Tabelle 11: Populationscharakteristika in der Subgruppe Hypercholesterinämie bei Patienten. Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

	Kontrollpersonen				
	mit Hyperchol.ämie		ohne Hyperchol.ämie		p
	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	n	MW ± SD bzw. Median (Min – Max)	
Alter (Jahre)	52	48,3 ± 9,1	166	47,3 ± 8,3	ns
BMI × 10 (kg/m ²)	51	26,5 ± 3,4	162	25,9 ± 3,2	ns
Gesamt-Chol. (mg/dl)	52	274,2 ± 16,3	166	205,4 ± 25,4	<0,001
HDL-Cholesterin (mg/dl)	52	49,9 ± 10,9	166	49,7 ± 14,4	ns
LDL-Cholesterin (mg/dl)	48	191,6 ± 16,9	164	130,8 ± 26,6	<0,001
Triglyceride (mg/dl)	52	161,0 (45,0 – 509,0)	166	108,0 (30,0 – 512,0)	<0,001
Lp(a) (g/l)	52	14,0 (0,0 – 174,0)	165	12,0 (0,0 – 158,0)	ns
RR syst. (mm Hg)	52	129,8 ± 14,8	165	127,0 ± 14,2	ns
RR diast. (mm Hg)	52	85,2 ± 12,0	165	80,2 ± 9,0	0,033
Fibrinogen (g/l)	52	287,3 ± 61,0	166	278,1 ± 59,2	ns
CRP (mg/l)	52	0,6 (0,0 – 7,4)	165	0,5 (0,0 – 19,2)	ns
PAI-1 (U/ml)	49	3,8 (0,2 – 23,0)	161	2,4 (0,0 – 11,3)	<0,001
D-Dimer (ng/ml)	52	298,6 (134,6 – 790,5)	165	302,5 (120,9 – 836,1)	ns
Plasminogen (%)	52	112,0 ± 16,6	165	101,0 ± 10,5	<0,001
FVIIc (%)	48	121,0 ± 23,3	140	106,8 ± 15,5	<0,001
FVIIa (%)	52	77,9 (41,6 – 210,7)	166	70,3 (18,6 – 166,2)	0,036
FXIIc (%)	48	111,2 ± 21,1	140	101,0 ± 19,7	0,003
FXIIa (%)	48	1,8 (0,6 – 3,9)	140	1,5 (0,1 – 3,1)	<0,001
TF (pg/ml)	48	149,1 (67,8 – 299,5)	138	155,0 (72,3 – 655,6)	ns
TFPI (ng/ml)	48	67,0 ± 15,5	139	54,2 ± 13,4	<0,001
TFPI-Aktivität (U/ml)	48	2,1 ± 0,5	140	1,8 ± 0,5	<0,001
F1+2 (nmol/l)	52	78,8 (39,1 – 146,8)	166	80,5 (46,2 – 366,1)	ns
(LN FVIIa/FVIIc) × 100	48	3,7 ± 0,7	140	4,1 ± 0,5	<0,001
(LN FXIIa × 10/FXIIc) × 100	48	2,6 ± 0,5	140	2,6 ± 0,4	ns
(LN TFPI-Akt./TFPI) × 100	48	7,8 ± 2,2	138	10,0 ± 2,9	<0,001

Tabelle 12: Populationscharakteristika in der Subgruppe Hypercholesterinämie bei Kontrollpersonen.
Darstellung der Daten nach Altersadjustierung als Mittelwert ± Standardabweichung sowie Median mit Bereich.

4.3. Korrelationsberechnungen

Der nächste Schritt umfasste die Korrelationsberechnungen. Es wurden die Zusammenhänge zwischen FVIIa, FVIIc und der Ratio FVIIa/FVIIc (abhängige Variablen) mit ausgewählten Parametern untersucht. Dazu wurden univariate Korrelationsrechnungen nach Pearson durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 13 dargestellt. Die Auswahl erfolgte für Parameter, die bei Patienten und Kontrollpersonen verschieden waren.

In Tabelle 14 sind die Parameter zusammengefasst, bei denen signifikante Ergebnisse in der univariaten Pearson-Korrelation auftraten.

Nachfolgend wurde die multivariate Korrelation nach Pearson durchgeführt, um die Unabhängigkeit von den berücksichtigten Kovariablen und somit die Echtheit zu testen.

Tabelle 15 fasst die Ergebnisse der multivariaten Korrelation für die abhängigen Variablen FVIIa, FVIIc, und Ratio FVIIa/FVIIc mit den Parametern Studie, Alter, Rauchen sowie den jeweiligen signifikanten Parametern, die sich bei der univariaten Korrelation zeigten, zusammen.

Unter dem Parameter „Studie“ wurde das Gesamtkollektiv unter Einbeziehung der Gruppen der Patienten und Kontrollpersonen als Kovariablen erfasst (Patienten versus Kontrollpersonen).

Für FVIIa ergaben sich eine negative signifikante Assoziation mit Studie und positive signifikante Assoziationen mit Alter und FVIIc.

FVIIa ist somit bei Patienten und Kontrollpersonen signifikant unterschiedlich. Aufgrund der Verteilung bedeutet die negative signifikante Assoziation des FVIIa mit Studie in der MRA, dass FVIIa bei Patienten signifikant und unabhängig von den berücksichtigten Kovariablen erhöht ist.

Bei FVIIc ist eine positive signifikante Abhängigkeit von der Studie festzustellen, negative Assoziation mit dem Alter, positive mit Gesamt-, aber negative mit LDL-Cholesterin, des weiteren ein negativer Zusammenhang mit der Ratio TFPI-Aktivität/TFPI und ein positiver mit FVIIa.

Auch FVIIc ist somit bei Patienten und Kontrollpersonen signifikant verschieden. Aufgrund der Verteilung sind aber FVIIc-Aktivitäten bei Kontrollpersonen höher

als bei Patienten.

Die Ratio FVIIa/FVIIc weist eine signifikant negative Assoziation bezüglich Studie auf, desgleichen mit Triglyceriden. Der Zusammenhang mit der Ratio TFPI–Aktivität/TFPI ist signifikant positiv.

Pearson-Korrelationen		LN FVIIa	FVIIc	LN FVIIa/FVIIc
Studie	r	-0,657	-0,055	-0,236
	p	<0,001	0,262	<0,001
Alter	r	0,086	-0,04	0,040
	p	0,072	0,418	0,423
Rauchen	r	0,329	0,096	0,039
	p	<0,001	0,053	0,433
Diabetes mellitus	r	0,063	0,043	-0,001
	p	0,192	0,384	0,977
BMI × 10	r	0,141	0,026	0,042
	p	0,003	0,607	0,400
Gesamt-Cholesterin	r	0,099	0,299	-0,106
	p	0,049	<0,001	0,042
HDL-Cholesterin	r	-0,265	-0,002	-0,114
	p	<0,001	0,971	0,03
LDL-Cholesterin	r	0,054	0,125	-0,011
	p	0,287	0,017	0,837
LN TG	r	0,137	0,321	-0,13
	p	0,006	<0,001	0,013
LN Lp(a)	r	0,198	0,112	0,025
	p	<0,001	0,024	0,616
RR systolisch	r	0,070	0,077	-0,035
	p	0,143	0,119	0,487
RR diastolisch	r	0,098	0,128	-0,044
	p	0,040	0,010	0,377
LN TF	r	-0,316	0,042	-0,182
	p	<0,001	0,398	<0,001
TFPI	r	0,320	0,286	-0,08
	p	<0,001	<0,001	0,107
TFPI-Aktivität	r	0,152	-0,025	0,121
	p	0,002	0,619	0,015
TFPI-Aktivität/TFPI	r	-0,159	-0,26	0,195
	p	0,001	<0,001	<0,001
LN FVIIa	r		0,278	
	p		<0,001	
FVIIc	r	0,28		
	p	<0,001		
LN FXIIa × 10	r	-0,02	0,37	-0,21
	p	0,68	<0,001	<0,001
FXIIc	r	-0,05	0,21	-0,18
	p	0,33	<0,001	<0,001
LN FXIIa × 10/FXIIc	r	0,05	0,15	<0,001
	p	0,27	0,002	1,00
LN CRP	r	0,21	0,06	0,11
	p	<0,001	0,26	0,04

Tabelle 13: Univariate Korrelation nach Pearson. r=Korrelationskoeffizient, p=Signifikanzniveau, n=439. Studie: Gesamtkollektiv mit Patienten und Kontrollpersonen als Kovariablen. Signifikante Unterschiede sind grau unterlegt.

Signifikante Unterschiede nach univariater Korrelation	
für FVIIa	
	Studie
	Rauchen
	BMI × 10
	Gesamt-Cholesterin
	HDL-Cholesterin
	LN TG
	LN Lp(a)
	RR diastolisch
	LN TF
	TFPI
	TFPI-Aktivität
	TFPI-Aktivität/TFPI
	FVIIc
	LN CRP
für FVIIc	
	Rauchen
	Gesamt-Cholesterin
	LDL-Cholesterin
	LN TG
	LN Lp(a)
	RR diastolisch
	TFPI
	TFPI-Aktivität/TFPI
	LN FVIIa
	LN FXIIa × 10
	FXIIc
	LN FXIIa × 10/FXIIc
für FVIIa/FVIIc	
	Studie
	Gesamt-Cholesterin
	HDL-Cholesterin
	LN TG
	LN TF
	TFPI-Aktivität
	TFPI-Aktivität/TFPI
	LN FXIIa × 10
	FXIIc
	LN CRP

Tabelle 14: Auswahl der signifikanten Parameter ($p < 0,05$), die sich bei der univariaten Korrelationsrechnung nach Pearson zeigten. Studie: Gesamtkollektiv mit Patienten und Kontrollpersonen als Kovariablen.

Abhängige Variable: LN FVIIa	Standardisierte Koeffizienten β	Signifikanz p
Studie	- 0,59	<0,001
Alter	0,18	<0,001
Rauchen	0,07	0,11
BMI \times 10	0,02	0,75
Gesamt-Cholesterin	- 0,03	0,59
HDL-Cholesterin	- 0,01	0,80
LN TG	- 0,09	0,11
LN Lp(a)Korr.	0,07	0,12
RR diastolisch	0,01	0,90
LN TF	- 0,02	0,66
TFPI	0,08	0,56
TFPI-Aktivität	- 0,04	0,73
TFPI-Aktivität/TFPI	0,05	0,73
FVIIc	0,26	<0,001
LN CRP	0,06	0,16

Abhängige Variable: FVIIc	Standardisierte Koeffizienten β	Signifikanz p
Studie	0,28	<0,001
Alter	- 0,11	0,02
Rauchen	- 0,05	0,32
Gesamt-Cholesterin	0,51	<0,001
LDL-Cholesterin	- 0,43	<0,001
LN TG	0,07	0,23
LN Lp(a)Korr.	0,02	0,72
RR diastolisch	0,01	0,78
TFPI	0,07	0,25
TFPI-Aktivität/TFPI	- 0,15	<0,001
LN FVIIa	0,41	<0,001
LN FXIIa \times 10	0,10	0,56
FXIIc	0,13	0,55
LN FXIIa \times 10/FXIIc	0,11	0,47

Abhängige Variable: LN FVIIa/FVIIc	Standardisierte Koeffizienten β	Signifikanz p
Studie	- 0,24	<0,001
Alter	0,07	0,15
Rauchen	0,01	0,79
Gesamt-Cholesterin	0,03	0,59
HDL-Cholesterin	- 0,10	0,12
LN TG	- 0,17	0,01
LN TF	- 0,04	0,44
TFPI-Aktivität	- 0,04	0,50
TFPI-Aktivität/TFPI	0,26	<0,001
LN FXIIa \times 10	- 0,11	0,16
FXIIc	- 0,01	0,86

Tabelle 15: Multivariate Korrelation nach Pearson. β =Korrelationskoeffizient, p=Signifikanzniveau. Studie: Gesamtkollektiv mit Patienten und Kontrollpersonen als Kovariablen. Signifikante Werte sind grau unterlegt.

5. Diskussion

Arteriosklerose ist eine multifaktorielle Erkrankung, die die häufigste Todesursache und die Hauptursache der Invalidität in den westlichen Industrieländern darstellt (109, 117).

Den Anfangspunkt der Entwicklung der Arteriosklerose stellt die Endotheldysfunktion mit einer gesteigerten Endothelpermeabilität dar. Folglich gelangen LDL aus dem Blut in die Intima. Die ersten histologisch sichtbaren Veränderungen im Bereich der Arterienwand sind intimale Lipideinlagerungen. Die veränderten adhäsiven Eigenschaften des Endothels fördern die Einwanderung von Monozyten aus dem Blut in die Intima und ihre Differenzierung zu Makrophagen. Rezeptoren auf Makrophagen erkennen oxidierte LDL und nehmen diese auf. Dies stellt die Entstehung von Schaumzellen dar, die im weiteren Verlauf zugrunde gehen und oxidierte Lipide hinterlassen. Die Veränderungen in der Intima stimulieren die Proliferation glatter Muskelzellen in diesem Bereich, die wiederum extrazelluläre Matrix sezernieren und somit die Bildung einer fibrösen Kappe einleiten. Mit zunehmendem Wachstum dieser zunächst noch stabilen Plaques kommt es zur Instabilität der fibrösen Kappe, bis schließlich die Plaqueruptur folgt, mit Freilegung von TF aus dem nekrotischen Kern. Üblicherweise erfolgt darauf eine Thrombusbildung mit möglichen Gefäßverschlüssen infolge Aktivierung der Gerinnungskaskade.

Effekte etablierter Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Hypertonie, Rauchen) erklären nur rund die Hälfte der Inzidenz von Myokardinfarkt und Apoplex (47, 55). Die Identifizierung von „neuen“ Risikofaktoren und der zugehörigen Pathomechanismen ist somit notwendig, um eine effektive Prävention für kardiovaskuläre Erkrankungen zu gestalten.

1972 wurde die prospektive NPH-Studie ins Leben gerufen, mit dem Ziel, die Aussage von Messergebnissen von Gerinnungsparametern zu bewerten, hinsichtlich der Verbesserung der Vorhersage von ischämischen kardiovaskulären Ereignissen (76). Die Untersuchungen umfassten unter

anderem die Bestimmung von FVIIc. Erste Resultate nach acht Jahren ergaben, dass die durchschnittlichen Messwerte der Aktivitätsbestimmung von FVII, bei den Studienteilnehmern, die aufgrund von kardiovaskulären Komplikationen verstarben, signifikant erhöht waren. Meade et al. wiesen darauf hin, dass diese Ergebnisse kompatibel waren mit der Idee der Hyperkoagulabilität, die eine Prädisposition für klinisch manifeste ischämische Herzattacken darstellt (78).

Dies war die erste Studie, die eine Assoziation feststellte zwischen erhöhten FVIIc–Werten und kardiovaskulärem Tod. Im zweiten follow–up, acht Jahre später, wurden die frühen Resultate bestätigt (77).

Die 1979 begonnene PROCAM–Studie kam ebenso zu dem Ergebnis, dass das Myokardinfarkt–risiko mit erhöhten FVIIc–Werten assoziiert sein kann (54, 65).

Dem gegenüber stehen die Bilanzen anderer Studien (zum Beispiel ARIC), die FVIIc nicht als signifikanten Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse bestätigten (42, 43).

Vor diesem widersprüchlichen Hintergrund war das Ziel der vorliegenden Arbeit sowohl FVIIc als auch nur den aktivierten Anteil (FVIIa) bei Patienten und Kontrollpersonen zu untersuchen, des weiteren TF, TFPI und eine Reihe klinischer und anderer Laborparameter, um potentielle Assoziationen herzustellen und eine denkbare Erklärung für mögliche signifikante Unterschiede zwischen beiden Populationen zu finden.

FVIIc, FVIIa bei Patienten und Kontrollpersonen

Die Auswertung der MRA der vorliegenden Untersuchungen zeigt, dass FVIIa bei Myokardinfarkt–Patienten signifikant und unabhängig von den berücksichtigten Kovariablen erhöht war.

In prospektiven Studien, wie zum Beispiel der oben schon erwähnten NPH–Studie und der PROCAM–Studie, wird auf eine Assoziation zwischen FVIIc und dem Tod durch kardiovaskuläre Ereignisse hingewiesen. Die Ergebnisse hinsichtlich FVIIc in der PROCAM–Studie unterscheiden sich von denen der NPH–Studie dadurch, dass es in der ersten nur einen marginal signifikanten

Unterschied zwischen der Population mit tödlichem Ausgang von ischämischen Herzattacken und der Gruppe ohne kardiovaskuläre Ereignisse gab und der herausgearbeitete Zusammenhang stärker war bei Vorhandensein von zusätzlichen Risikofaktoren (Rauchen, hohes Fibrinogen, hohes Cholesterin etc.) (54, 65).

Die Studien ARIC- (42, 43), PLAT- (28), EARS- (12), PRIME- (113) sowie andere Querschnittsstudien (44, 125, 90, 70) konnten demgegenüber FVIIc nicht als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen identifizieren.

Eine denkbare Erklärung für diese Diskrepanz könnten die Unterschiede bei der FVII-Messung darstellen, da es sich nicht um einen standardisierten Test handelte.

Es ist möglich, die Aktivität des FVII zu messen oder die Konzentration des aktivierten FVII zu bestimmen. Die Faktorenbestimmung ist eine sogenannte einstufige Aktivitätsmessung. Bei der Messung der FVII-Aktivität wird eine Aktivierung der extrinsischen Gerinnungskaskade mittels zugeführten Thromboplastins vorgenommen, welches einem FVII-Mangelplasma zugegeben wird. Gewebsthromboplastine bestehen aus einem Protein- (TF) und einem Lipidanteil (Phospholipide). Sie werden in Form wässriger Extrakte zugesetzt. Es wird die Zeit bis zur Bildung eines ersten Gerinnsels gemessen. Hierbei wird idealerweise die gesamte Menge des inaktiven FVII (Einketten-Form) in FVIIa (Zweiketten-Form) überführt und zusätzlich die physiologisch im Serum vorhandene aktivierte Form des FVII erfasst. Diese Meßmethode ist den oben erwähnten Studien gemeinsam, jedoch mit unterschiedlichen Modifikationen. Sie war auch ein Bestandteil der vorliegenden Studie. Demgegenüber steht die Konzentrationsbestimmung des aktivierten FVII, die spezifisch für FVIIa ist und in dieser Arbeit ebenfalls durchgeführt wurde.

Der Methodenvergleich der NPH-, ARIC- und PROCAM-Studie von Miller et al. brachte den Hinweis dafür, dass der in der ersten Studie verwandte Assay sensitiver für FVIIa zu sein scheint, als dies die Assays in den übrigen Studien waren (84). Die Anfangstests der NPH-Studie wurden mit aus Humanhirnen extrahierten Thromboplastinen durchgeführt, später erfolgte eine Umstellung auf Thromboplastine aus Kaninchenhirnen. In den anderen Studien wurden

Assays verwandt, in denen aus humanen Plazenten gewonnenes Thromboplastin oder ebenfalls Kaninchenhirn–Thromboplastin Bestandteil war. Der Assay aus der NPH–Studie hatte zusätzlich die Besonderheit, dass das Mangelplasma frei von Protein C und S war.

Die im Methodenvergleich durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass mit abnehmender Konzentration von Protein C im Mangelplasma eine höhere Sensitivität gegenüber FVIIa einhergeht. Diese ließ sich steigern, wenn ein Protein C–freies Mangelplasma in Kombination mit Kaninchenhirn–Thromboplastin im Test eingesetzt wurde. Der Mechanismus, wie Protein C die Bestimmung beeinflusst, ist nicht bekannt.

Es zeigte sich also, dass die Assayzusammenstellung aus der NPH–Studie, eine höhere Sensitivität gegenüber FVIIa hat, als dies in den anderen Studien der Fall war.

Das führt zu der Vermutung, dass die signifikante Assoziation des FVIIc mit dem Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen in der NPH–Studie nicht wie beschrieben auf FVIIc, sondern auf FVIIa zurückzuführen ist. Es stellt sich die Frage, ob FVIIa der eigentliche Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen ist.

Diese Tendenz zeigt sich auch in den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Die Methode, die hier zur Bestimmung von FVIIc angewandt wurde, basierte auf humanem Thromboplastin, welches unverändert bezüglich Protein C und S war. Die Arbeit konnte keine signifikant erhöhten FVIIc–Werten bei Patienten nachweisen.

Die oben vorgestellten Beobachtungen führten in der Vergangenheit zur Entwicklung eines Verfahrens, bei dem ein rekombinantes TF verwendet wird, welches ausschließlich FVIIa bindet. Diese Methode zur FVIIa–Bestimmung ist auch in der vorliegenden Studie eingesetzt worden mit dem signifikanten Ergebnis höherer FVIIa–Werte bei Patienten.

In der NPH–Studie war die FVII–Aktivität stärker assoziiert mit tödlichen Ereignissen aufgrund von KHK, es gab keine Assoziation zu Ereignissen ohne tödlichen Ausgang (108). Anders als dies bei den FVIIa–Ergebnissen der vorliegenden Studie der Fall war. Dieser Unterschied zwischen beiden Studien

ist vermutlich auf die unterschiedlichen Sensitivitäten der jeweiligen Assays gegenüber FVIIa zurückzuführen. Während mit dem rTF nur FVIIa erfasst werden konnte, stellte die Meßmethode aus der NPH-Studie zwar eine FVIIa-sensitivere gegenüber den anderen Studien dar, aber doch nicht so sensitiv gegenüber FVIIa, wie die Methode der vorliegenden Arbeit. Somit wurden mit der rTF/FVIIa-Methode signifikante Ergebnisse bei allen Patienten mit Ereignissen aufgrund einer KHK nachgewiesen, wohingegen die NPH-Studie signifikante Werte nur bei tödlichen Ereignissen zeigte.

Zusammenfassend kann aber gesagt werden, dass FVIIa mit dem Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung assoziiert ist und man die Vorhersagewahrscheinlichkeit einer KHK mit der rTF/FVIIa-Methode steigern könnte.

Einschränkend muss erwähnt werden, dass es sich bei der Arbeit um eine Fall-Kontroll-Studie handelte, wonach erhöhte FVIIa-Werte einerseits kardiovaskuläre Erkrankungen verursacht haben könnten, andererseits könnte es sich hier um die Folge eines kardialen Ereignisses oder fortschreitender Arteriosklerose gehandelt haben. Prospektive Studien könnten in diesem Zusammenhang Klarheit schaffen.

FVIIc, FVIIa und Lipidstoffwechsel

Die MRA der vorliegenden Studie zeigte eine positive Assoziation der FVII-Aktivität mit Gesamt-Cholesterin und eine negative Assoziation der Ratio FVIIa/FVIIc mit Triglyceriden. Demnach ist ein FVII-Aktivitätsanstieg zu beobachten, wenn Triglyceride und/oder Cholesterin steigen.

Zahlreiche Studien zeigten Zusammenhänge zwischen FVIIc-Werten und Triglyceriden sowie Cholesterin auf (31, 78, 85, 135). Eine fettreiche Ernährung sowie die familiäre kombinierte Hyperlipidämie führten zu erhöhten FVIIc-Werten, wohingegen Einnahme von fettsenkenden Medikamenten diese reduzierte (83, 92).

Erhöhte FVIIc-Werte können einerseits Ausdruck einer erhöhten Proteinkonzentration sein und andererseits eines größeren Anteils von FVIIa. Der FVIIc-Assay misst beides, die Zymogenform und die aktivierte Form (114).

Eine Änderung der Proteinkonzentration kann begründet sein durch eine Änderung der Proteinsynthese oder durch eine Änderung des Proteinkatabolismus (siehe Abbildung 5).

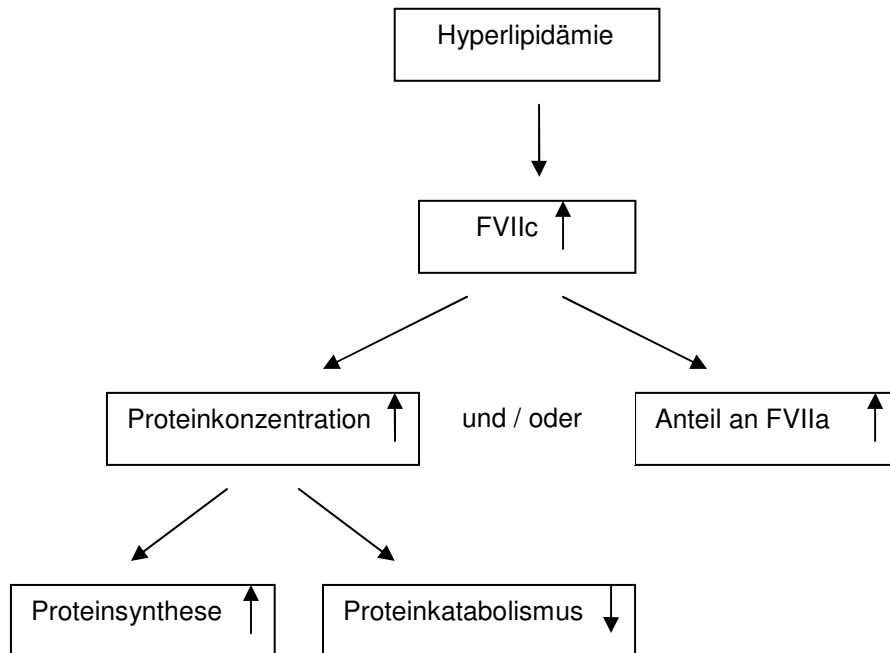


Abb. 5: Schematische Darstellung des Einflusses der Hyperlipidämie auf FVIIc.

Die Assoziation zwischen Cholesterin und den Gerinnungsfaktoren wurde unter anderem von Mitropoulos et al. untersucht (87). Sie zeigten auf, dass die Plasmakonzentration von FVII, FX und Prothrombin bei Kaninchen, die einer cholesterinreichen Ernährung ausgesetzt worden waren, signifikant anstieg. In der anschließenden Studie induzierten sie einen Anstieg der FX- und Prothrombinkonzentration bei Kaninchen durch Spritzen des aus Rindern gewonnenen Prothrombinfragments 1 (86). Diese Entdeckung ließ vermuten, dass eine Cholesterinaufnahme den Katabolismus des Prothrombins aktiviert und die entstehenden Prothrombinabbauprodukte (F1+2) die hepatische Synthese von Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren stimulieren. In der vorliegenden Studie hat sich ein signifikanter Unterschied in der Konzentration von F1+2 bei Patienten mit und ohne Hypercholesterinämie

gezeigt (siehe Tabelle 11). In der Kontrollpopulation konnte eine ähnliche Assoziation nicht festgestellt werden (siehe Tabelle 12).

Zu erwähnen ist in diesem Kontext, dass Temme et al. keinen postprandialen Anstieg der F1+2-Konzentration beobachtet haben (122).

Hier sind zukünftige Studien notwendig, die den Zusammenhang zwischen Cholesterinwerten, F1+2 und den Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren weiter untersuchen.

Wie bereits oben erwähnt, ist ein weiterer möglicher Mechanismus, der für eine Proteinkonzentrationsänderung verantwortlich sein kann, ein veränderter Proteinkatabolismus. Carvalho de Sousa et al. beobachteten in vitro hydrophobe Wechselwirkungen zwischen FVII und triglyceridreichen Lipoproteinen, wie Chylomikronen, very low density lipoproteins (VLDL) und LDL, die zu einer verlängerten Halbwertszeit führten (21). Der Beweis in vivo konnte jedoch nicht erbracht werden. Das Design der vorliegenden Studie sowie die durchgeführten Untersuchungen lassen keine Rückschlüsse auf diese Hypothese zu.

Ein anderer Aspekt der vorliegenden Studie ist der Zusammenhang von FVIIa und Lipiden. In der univariaten Analyse zeigte sich eine positive Assoziation zwischen FVIIa und Gesamt-Cholesterin sowie Triglyceriden. Dies wurde in der multivariaten Analyse jedoch nicht bestätigt. Es liegt somit die Vermutung nah, dass der Zusammenhang durch andere Größen beeinflusst wird. Der Mechanismus ist nicht ganz klar. Interaktionen zwischen Gerinnungsfaktoren und Lipoproteinen spielen vermutlich eine Rolle bei der Aktivierung von FVII. Eine wichtige Aufgabe übernimmt dabei die Lipoproteinlipase. Eine Studie von Mitropoulos et al. zeigte, dass bei Probanden mit einem familiären Lipoproteinlipase-Mangel, die sich einer triglyceridreichen Diät unterzogen haben, FVIIc-Werte nicht erhöht waren (88).

Silveira et al. zufolge sind postprandial triglyceridreiche Lipoproteine an der Aktivierung von FVII indirekt beteiligt und zwar indem sie bei der intrinsischen Gerinnungskaskade mitagieren (116). FIX scheint dabei obligat zu sein. Miller et al. untersuchten Patienten mit einem FIX-Mangel und stellten bei diesen postprandial niedrige FVIIa-Spiegel fest (82). Dieser Zusammenhang wurde

auch von Wildgoose et al. berichtet (131). Dies macht es eher unwahrscheinlich, dass eine direkte postprandiale Aktivierung des FVII durch FXII besteht, die von Mitropoulos et al. postuliert worden ist (89). In dieser zitierten Studie wird ausgeführt, dass Chylomikronen und VLDL mit ihren negativen Oberflächen entscheidend für die Aktivierung von FXII sind. Im weiteren Verlauf kann dann FVII aktiviert werden. In vivo Experimente konnten die zentrale Beteiligung von FXII an der Generierung von FVIIa nicht bestätigen (82). Patienten mit einem FXII-Mangel hatten normale FVIIa-Werte. Konform mit diesen Studienergebnissen sind auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie, die keine signifikante Assoziation zwischen FVIIa und FXIIa in der univariaten Korrelationsberechnung zeigen.

Der Zusammenhang von FVIIa und Lipidhaushalt präsentiert sich auch indirekt und zwar in der univariaten Analyse als positive Assoziation von FVIIa und dem BMI. Das Ergebnis wird in der MRA nicht bestätigt, sodass eine Beeinflussung der Assoziation durch Lipide anzunehmen ist (siehe Abbildung 6).

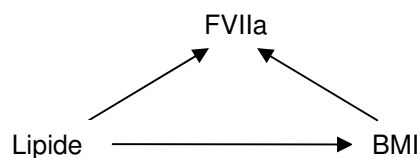


Abb. 6: Schematische Darstellung der möglichen Beziehung zwischen FVIIa und BMI beeinflusst durch Lipide. Die Pfeile stellen einen positiven Einfluss dar.

Die univariate Analyse der vorliegenden Studie ergab weiterhin einen positiven Zusammenhang von FVIIc mit LDL-Cholesterin, in der MRA zeigte sich hingegen ein negativer Zusammenhang. Es ist zu vermuten, dass es eine Assoziation zwischen dem Gerinnungsfaktor und dem Proteinanteil des Lipoproteins, Apo B gibt. Während in der univariaten Analyse der Zusammenhang zwischen FVIIc und LDL-Cholesterin beeinflusst sein könnte durch die Assoziation zwischen Rauchen und erhöhten Cholesterinwerten (siehe Abbildung 7), zeigt sich in der MRA vermutlich die unmittelbare

Assoziation zwischen FVIIc und Apo B.

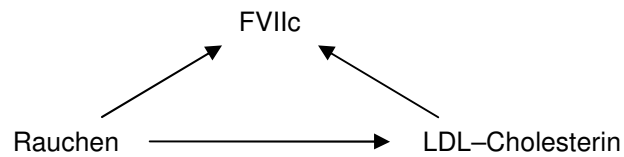


Abb. 7: Schematische Darstellung der möglichen Beziehung zwischen FVIIc und LDL-Cholesterin beeinflusst durch Rauchen. Die Pfeile stellen einen positiven Einfluss dar.

Die Arbeit von Ettelaie et al. zeigte, dass das Apolipoprotein B-100 direkt über eine Protein-Protein-Interaktion die Aktivität von TF hemmen kann (40).

LDL-Cholesterin einerseits ein Mediator des arteriosklerotischen Geschehens könnte andererseits ein physiologischer Regulator des hämostaseologischen Mechanismus sein beziehungsweise ein langsam wirkender zweiter Inhibitor des TF nach TFPI, der für die initiale Hemmung verantwortlich ist. Es wäre möglich, dass die negative Assoziation von FVIIc und LDL-Cholesterin in der MRA die Konsequenz des hyperkoagulablen Zustandes verdeutlicht, wonach hohe LDL-Spiegel über die Hemmung von TF erniedrigte FVIIa-Spiegel als Folge haben und somit auch erniedrigte FVIIc-Werte gemessen werden.

FVII und Alter

Die Spiegel einiger Gerinnungsfaktoren, unter anderem auch des FVII steigen mit fortschreitendem Alter (20). In der MRA der vorliegenden Studie zeigte sich eine positive Korrelation des FVIIa mit Alter. FVII-Aktivität, die mit der Gesamtkonzentration an FVII mit wenigen Einschränkungen gleichgesetzt werden kann, korreliert dagegen in der MRA negativ mit Alter. Hier könnte die oft mangelhafte oder einseitige Ernährung im Alter eine Rolle spielen und ein Mangel an Vitamin K sich nachteilig auf die Synthese von FVII auswirken. Vitamin K wird über die Nahrung zugeführt (zum Beispiel grünes Gemüse) und von der Darmflora synthetisiert. Es ist ein fettlösliches Vitamin, weswegen zur Resorption die Pankreaslipasen, Galle und eine intakte Dünndarmwand

erforderlich sind. Der Vitamin K–Mangel des Erwachsenen kommt meist durch Erkrankungen zustande, die mit Fettmalabsorption einhergehen. Dazu gehören Verschlusskrankheiten von Gallenwegen, chronische Pankreatitiden sowie Steatorrhö anderer Ursachen (58).

Andere denkbare Erklärung für diesen Zusammenhang könnte die allgemeine Akkumulation diverser schädlicher Änderungen in den Zellen sein, die auch einen ungünstigen Einfluß auf die Syntheseleistung der Leberzellen hat (98).

Steigende FVIIa–Werte könnten dagegen einerseits eine erhöhte Arteriosklerose–Prävalenz im Alter widerspiegeln oder andererseits ein Risikofaktor für Arteriosklerose im Alter sein.

FVIIc und FVIIa

In der MRA der vorliegenden Studie zeigte sich eine positive Assoziation zwischen FVIIc und FVIIa und umgekehrt.

Wie zuvor erwähnt, erfasst die FVIIc–Messung sowohl die Zymogenform als auch den aktivierten Anteil von FVII. Je höher die basale FVIIa–Konzentration, umso höher also auch FVIIc–Werte.

Andererseits je höher die Konzentration des Proenzym umso mehr FVIIa kann unter bestimmten Voraussetzungen (zum Beispiel Hyperlipoproteinämie) generiert werden. Bei der Aktivierung des Proenzym wird das Einkettenprotein oder Proenzym durch Spaltung einer Peptidbindung in ein Zweikettenprotein überführt und dadurch FVII zu FVIIa aktiviert. Dies kann zum einen über FIXa erfolgen oder als autolytische Aktivierung (130).

FVII und TFPI

Steigende TFPI–Aktivität ist ein Zeichen eines hyperkoagulablen Zustands. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stimmen damit überein. In der MRA zeigte sich eine negative Korrelation des FVIIc mit der Ratio TFPI–Aktivität/TFPI. Wie schon zuvor ausgeführt, ist die FVIIc–Messung Ausdruck einer Kombination aus der Proteinkonzentration des Faktors und der im Plasma vorhandenen

FVIIa-Konzentration. TFPI hemmt sowohl FXa als auch den TF/FVIIa-Komplex (133). Somit ergibt sich zum einen eine niedrigere Generierung von FVIIa, da die positive feed back-Wirkung von FXa entfällt und zum anderen bewirkt die Inhibition des Komplexes aus TF/FVIIa erniedrigte Konzentrationen bei der FVIIa-Messung.

Die MRA zeigte weiterhin, dass die Ratio FVIIa/FVIIc positiv korrelierte mit der Ratio TFPI-Aktivität/TFPI. Daran zeigt sich, dass bei steigenden TFPI-Aktivitäten die Abnahme der FVII-Aktivität stärker sein muss, als die Abnahme der FVIIa-Konzentration. Es wäre möglich, dass im Zustand der Hyperkoagulabilität und andererseits ihrer Hemmung zwar FVIIa durch TFPI inhibiert wird, die Aktivierung der Zymogenform aber weiterhin stattfindet, so dass es zu einer Art „Verbrauch“ der Proteinform kommt und dieser Teil größer ist als der Anteil, der aktivierten Form, der inhibiert wird. Daraus würde eine niedrigere Aktivitätsmessung des FVII resultieren.

TFPI greift in das arteriosklerotische Geschehen ein. Man kann aufgrund der oben genannten Ergebnisse annehmen, dass er bezüglich der Entstehung der Arteriosklerose eine protektive Funktion hat. Diese Vermutung ist konform mit der Arbeit von Hansen et al. (51). TFPI ist wichtig für die frühe Inhibition der TF-abhängigen prokoagulatorischen Aktivierung.

Interessant ist weiterhin der Zusammenhang von hoher TFPI-Aktivität bei Hypercholesterinämie (52, 112). Auch in der vorliegenden Arbeit haben Personen mit Hypercholesterinämie signifikant erhöhte TFPI-Konzentration gegenüber Personen mit normalen Cholesterinwerten (siehe Tabellen 11 und 12). Möglicherweise dient die Bindung des Inhibitors an Lipoproteine seiner Stabilisierung (133). Auch diese Assoziation lässt vermuten, dass TFPI eine protektive Aufgabe im Arterioskleroseverlauf ausübt. Steigende Cholesterin-Konzentrationen, die ein anerkannter Risikofaktor für Arteriosklerose sind, führen gleichzeitig dazu, dass der Inhibitor des arteriosklerotischen Geschehens an Stabilität gewinnt.

Die Zukunftsvision besteht darin, Inhibitoren des TF beziehungsweise TF/FVIIa zu finden, die den traditionellen Antikoagulanzen überlegen sind. Der Vorteil solcher Substanzen läge darin, dass sie als Ziel die initialen Komponenten der

Gerinnung hätten und am Ort des Geschehens eingreifen, ohne die übrige Gerinnungskaskade zu tangieren (110).

FVII und CRP

Ein interessanter Aspekt der vorliegenden Arbeit ist die positive Korrelation des FVIIa mit CRP in der univariaten Korrelationsanalyse.

Neuen Forschungsberichten zufolge könnte die Entstehung der Arteriosklerose als eine Entzündungsreaktion begriffen werden. Bakterien, hier vor allem Chlamydia pneumoniae oder Helicobacter pylori sowie chronische Bronchitis bei Rauchern werden in diesem Zusammenhang beobachtet (79, 80, 99, 118). CRP als Marker des chronischen Entzündungsprozesses hat einen prokoagulatorischen Effekt, indem es die Monozyten zur Bildung von TF induziert (68, 121). In diesem Zusammenhang ist neben der positiven Assoziation des CRP zu FVIIa auch die positive Korrelation der Rauchgewohnheiten zu FVIIa in der univariaten Korrelationsdarstellung der vorliegenden Studie zu erwähnen. Die Assoziation zwischen FVIIa und CRP wurde in der MRA nicht bestätigt, was vermuten lässt, dass es sich hier um eine Beeinflussung durch das Rauchen handeln könnte (siehe Abbildung 8) oder die Nachweisempfindlichkeit des CRP zu hoch war. Für die Diagnostik der Arteriosklerose wird die Messung des high sensitivity CRP (hsCRP) gefordert mit einer Nachweisempfindlichkeit von 0,2 mg/l.

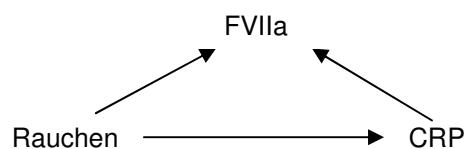


Abb. 8: Schematische Darstellung der möglichen Beziehung zwischen FVIIa und CRP beeinflusst durch Rauchen. Die Pfeile stellen einen positiven Einfluss dar.

Fazit

FVIIa ist der vorliegenden Studie zufolge signifikant mit dem Risiko eines Myokardinfarktes assoziiert. Für FVIIc konnte dieser Zusammenhang nicht bestätigt werden. Da es sich hier um eine Fall–Kontroll–Studie handelte, war die Frage, ob erhöhte FVIIa–Werte bei Patienten Ursache oder Folge von fortschreitenden Arterioskleroseprozessen sind, nicht exakt zu beantworten.

Die Arbeit konnte bestätigen, dass es einen Zusammenhang zwischen Hyperlipidämie und FVIIc gibt. In dem Zusammenhang ist der signifikante Unterschied in der Konzentration von F1+2 bei Patienten mit und ohne Hypercholesterinämie zu erwähnen. Weiterhin ergaben sich Hinweise dafür, dass bei der Aktivierung von FVII Interaktionen zwischen Gerinnungsfaktoren und Lipoproteinen eine Rolle spielen. Die in vorausgegangenen Studien erwähnte Bedeutung von FXII an der Aktivierung von FVII konnte nicht bestätigt werden. Es ist darüber hinaus zu vermuten, dass es eine Assoziation zwischen FVIIc und Apolipoprotein B gibt.

Die negative Korrelation des FVIIc mit Alter könnte ein Hinweis auf dessen gestörte Synthese, möglicherweise auf eine gestörte Synthese aller Vitamin K–abhängigen Faktoren im Alter sein, verursacht durch ernährungs– oder krankheitsbedingte Fettmalabsorption. Andererseits wurden steigende FVIIa–Werte im Alter beobachtet. Anhand der Studie war nicht möglich zu klären, ob dieser Zusammenhang mit einer erhöhten Arteriosklerose–Prävalenz im Alter steht oder die erhöhten Werte einen Risikofaktor für arteriosklerotische Geschehen darstellen.

Ein weiteres Ergebnis der vorliegenden Arbeit bestätigte einen inversen Zusammenhang von TFPI–Aktivität mit FVIIc und dadurch TFPI als Inhibitor der prokoagulatorischen Aktivierung.

6. Literaturverzeichnis

1. Abildgaard U, Lindahl AK, Sandset PM (1991) Heparin requires both antithrombin and extrinsic pathway inhibitor for its anticoagulant effect in human blood. *Haemostasis* 21: 254–257.
2. american diagnostica inc. (2000) Actichrome® TFPI Activity Assay. Beipackzettel zum Kit Actichrome® TFPI Activity Assay.
3. american diagnostica inc. (2000) IMUBIND® Total TF ELISA. Beipackzettel zum Kit IMUBIND® Total TF ELISA .
4. american diagnostica inc. (2000) IMUBIND® Total TFPI ELISA. Beipackzettel zum Kit IMUBIND® Total TFPI ELISA.
5. Anderson KM, Wilson PWF, Odell PM, Kannel WB (1991) An updated coronary risk profile. *Circulation* 83: 357–363.
6. Antman EM, Braunwald E (2003) Akuter Myokardinfarkt. In: Dietel M, Dudenhausen J, Suttrop N (Hrsg) *Harrisons Innere Medizin*, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 15.Aufl., Band 1, S. 1525–1539.
7. Anvari A, Schuster E, Gottsauner-Wolf M, Wojta J, Huber K (2001) PAI-1 4G/5G polymorphism and sudden cardiac death in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 103: 103–107.
8. Assmann G, Schulte H (1992) Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease—the PROCAM experience: Prospective Cardiovascular Munster Study. *Am J Cardiol* 70: 733–737.
9. Assmann G, Schulte H (1988) The prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *Am Heart J* 116: 1713–1724.
10. Balleisen L, Assmann G, Bailey J, Epping P-H, Schulte H, van de Loo J (1985) Epidemiological Study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: II. Baseline Data on the relation to blood pressure, blood glucose, uric acid, and lipid fractions. *Thromb Haemost* 54: 721–723.
11. Balleisen L, Bailey J, Epping P-H, Schulte H, van de Loo J (1985) Epidemiological Study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline Data on the relation to age, gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-using, and menopause. *Thromb Haemost* 54: 475–479.
12. Bara L, Nicaud V, Tiret L, Cambien F, Samama MM, EARS Group (1994) Expression of a paternal history of premature myocardial infarction on fibrinogen, factor VIIc and PAI-1 in European offspring—The EARS Study. *Thromb Haemost* 71: 434–440.
13. Baretton GB, Kirkpatrick CJ, Bültmann BD (2004) Atherosklerose. In: Böcker W, Denk H, Heitz PhU (Hrsg) *Pathologie*, Urban & Fischer Verlag, München, Jena, 3. Aufl., S. 484–492.
14. Barrett-Connor E, Grady D (1998) Hormone replacement therapy, heart disease, and other considerations. *Annu Rev Public Health* 19: 55–72.

15. Barter PJ, Rye K–A (1996) High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 121: 1–12.
16. Bauer C (1996) Blut: Ein flüssiges Organsystem. In: Klinke R, Silbernagl S (Hrsg) *Lehrbuch der Physiologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart · New York, 2. Aufl., S. 185–212.
17. Baysal K, Losordo DW (1996) Oestrogen receptors and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 23: 537–548.
18. Benowitz NL, Gourlay SG (1997) Cardiovascular toxicity of nicotine: implications for nicotine replacement therapy. *J Am Coll Cardiol* 29: 1422–1431.
19. Broze GJ Jr, Likert K, Higuchi D (1993) Inhibition of factor VIIa/tissue factor by antithrombin III and tissue factor pathway inhibitor. *Blood* 82: 1679–1681.
20. Brozović M (1977) Physiological mechanisms in coagulation and fibrinolysis. *Br med Bull* 33: 231–238.
21. Carvalho de Sousa J, Bruckert E, Giral P, Soria C, Chapman J, Truffert J, Dairou F, De Gennes JL, Caen JP (1989) Coagulation factor VII and plasma triglycerides. *Haemostasis* 19: 125–130.
22. Castelli WP, Anderson K (1986) A population at risk. Prevalence of high cholesterol levels in hypertensive patients in the Framingham Study. *Am J Med* 80 (Suppl 2A): 23–32.
23. Clauss A (1957) Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol* 17: 237–246.
24. Colditz GA, Rimm EB, Giovannucci E, et al. (1991) A prospective study of parental history of myocardial infarction and coronary artery disease in men. *Am J Cardiol* 67: 933–938.
25. Collen D (1999) The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost* 82: 259–270.
26. Cooper DN, Millar DS, Wacey A, Pemberton S, Tuddenham EGD (1997) Inherited factor X deficiency: Molecular genetics and pathophysiology. *Thromb Haemost* 78: 161–172.
27. Cooper JA, Miller GJ, Bauer KA, et al (2000) Comparison of novel hemostatic factors and conventional risk factors for prediction of coronary heart disease. *Circulation* 102: 2816–2822.
28. Cortellaro M, Boschetti C, Cofrancesco E, Zanussi C, Catalano M, de Gaetano G, Gabrielli L, Lombardi B, Specchia G, Tavazzi L, Tremoli E, della Volpe A, Polli E, PLAT Study Group (1992) The PLAT Study: Hemostatic function in relation to atherothrombotic ischemic events in vascular disease patients. Principal results. *Arterioscler Thromb* 12: 1063–1070.
29. Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE (1989) Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *BMJ* 298: 784–788.
30. Dade Behring (2000) Gerinnungsfaktor VII. Beipackzettel zum Gerinnungsfaktor VII–Mangelplasma–Reagenz.
31. Dalaker K, Hjermann I, Prydz H (1985) A novel form of factor VII in plasma from men at risk for cardiovascular disease. *Br J Haematol* 61: 315–322.

32. Dawber TR, Kannel WB, Revotskie N, et al. (1959) Some factors associated with the development of coronary heart disease. Six years' follow-up experience in the Framingham Study. *Am J Public Health* 49: 1349–1356.
33. Deb A, Caplice NM (2004) Lipoprotein(a): New insights into mechanisms of atherogenesis and thrombosis. *Clin Cardiol* 27: 258–264.
34. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Office of Smoking and Health (U.S.). The health consequences of smoking: cardiovascular disease: A report of the Surgeon General. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, 1983; DHHS publication no. (PHS) 84–50204.
35. Diagnostica Stago (1999) Staclot® VIIa-rTF. Beipackzettel zum Kit Staclot® VIIa-rTF.
36. Drew AF, Tipping PG (1995) T helper cell infiltration and foam cell proliferation are early events in the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15: 1563–1568.
37. Eliasson B, Taskinen MR, Smith U (1996) Long-term use of nicotine gum is associated with hyperinsulinemia and insulin resistance. *Circulation* 94: 878–881.
38. Erikson B, Vuorisaler D, Syloen C (1994) Diagnostic potential of chest pain, characteristics in coronary cave. *J Int Med* 235: 473–478.
39. Ernst E (1991) Fibrinogen: a “new” cardiovascular risk factor. *Wien Med Wochenschr* 141: 375–382.
40. Ettelaie C, James NJ, Adam JM, Nicola KP, Wilbourn BR, Bruckdorfer KR (1998) Identification of domain in apolipoprotein B-100 that inhibits the procoagulant activity of tissue factor. *Biochem J* 333: 433–438.
41. Fielding CJ, Fielding PE (1995) Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 36: 211–228.
42. Folsom AR, Wu KK, Rasmussen M, Chambless LE, Aleksic N, Nieto FJ (2000) Determinants of population changes in fibrinogen and factor VII over 6 years. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 601–606.
43. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE (1997) Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 96: 1102–1108.
44. Folsom AR, Wu KK, Shahar E, Davis CE (1993) Association of haemostatic variables with prevalent cardiovascular disease and asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 13: 1829–1836.
45. Friedewald WT, Levy R, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499–502.
46. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH (1992) The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 326: 242–250.
47. Futterman LG, Lemberg L (1998) Fifty percent of patients with coronary artery disease do not have any of the conventional risk factors. *Am J Crit Care* 7: 240–244.

48. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, Olivieri O, et al. (2000) Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 343: 774–780.
49. Girolami A, Pellati D, Lombardi AM (2005) FXII deficiency is neither a cause of thrombosis nor a protection from thrombosis. *Am J Ophthalmol* 139: 578–579.
50. Gjonnaess H (1972) Cold promoted activation of factor VII–IX. Relation of the coagulation system. *Thromb Diathes Haemorrh* 51: 165–173.
51. Hansen J–B, Grimsgaard S, Huseby N–E, Sandset PM, et al. (2001) Serum lipids and regulation of Tissue factor–induced coagulation in middle–aged men. *Thromb Res* 102: 3–13.
52. Hansen J–B, Huseby N–E, Sandset PM, Svensson B, Lyngmo V, Nordøy A (1994) Tissue Factor Pathway Inhibitor and lipoproteins: Evidence for association with and regulation by LDL in human plasma. *Arterioscler Thromb* 14: 223–229.
53. Hantgan RR, Simpson–Haidaris PJ, Francis CW, Marder VJ (2001) Fibrinogen structure and physiology. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (Hrsg) *Hemostasis and thrombosis*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, S. 203–232.
54. Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, van de Loo J (1994) Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler Thromb* 14: 54–59.
55. Heller RF, Chinn S, Tunstall Pedoe HD, Rose G (1984) How well can we predict coronary heart disease? Findings in the United Kingdom Heart Disease Prevention Projekt. *Br Med J* 288: 1409–1411.
56. Hemker HC (1984) In memory of Francois Josso. Why do hemophiliacs bleed? *Scand J Haematol Suppl* 40: 11–19.
57. Heywood DM, Ossei–Gerning N, Grant PJ (1996) Association of factor VIIc levels with environmental and genetic factors in patients with ischaemic heart disease and coronary atheroma characterised by angiography. *Thromb Haemost* 76: 161–165.
58. Hiller E, Riess H (1998) Erworbene plasmatische Gerinnungsstörungen. In: Hiller E, Riess H (Hrsg) *Hämorrhagische Diathese und Thrombose*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2. Aufl., S. 69–84.
59. Hoffman M (2003) Remodeling the blood coagulation cascade. *J Thromb Thrombolysis* 16: 17–20.
60. Howard GC, Pizzo SV (1993) Lipoprotein(a) and its role in atherothrombotic disease. *Lab Invest* 69: 373–386.
61. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, et al. (1983) Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26–year follow–up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 67: 968–977.
62. Ichinose A, Kiesel W, Fujikawa K (1984) Proteolytic activation of tissue plasminogen activator by plasma and tissue enzymes. *FEBS Lett.* 175: 412–418.

63. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology (2000) Myocardial infarction redefined—A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 21: 1502–1513.
64. Junker R (1997) No apparent restriction on measuring FVIIa in frozen plasma. *Thromb Haemost* 78: 1162–1163.
65. Junker R, Heinrich J, Schulte H, van de Loo J, Assmann G (1997) Coagulation factor VII and the risk of coronary heart disease in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 1539–1544.
66. Kannel WB, Abbott RD (1984) Incidence and prognosis of unrecognized infarction. *N Engl J Med* 311: 1144–1147.
67. Kannel WB, McGee DL (1979) Diabetes and cardiovascular disease: the Framingham Study. *JAMA* 241: 2035–2038.
68. Koenig W (1998) Haemostatic risk factors for cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 19 (Suppl C): C39–C43.
69. Kruihof EK (1988) Plasminogen activator inhibitors—a review. *Enzyme* 40: 113–121.
70. Lane S, Green FR, Scarabin PY, Nicaud V, Bara L, Humpries SE, Evans AE, Luc G, Cambou JP, Arveiler D, Cambien F (1996) Factor VII Arg/Gln353 polymorphism determines factor VII coagulant activity in patients with myocardial infarction (MI) and controls in Belfast and in France but is not a strong indicator of MI risk in the ECTIM Study. *Arteriosclerosis* 119: 119–127.
71. Laurer CM (1995) Faktor VIIa–RTF—Ein automatisierbarer Aktivierungsmarker mit rekombinantem Gewebsthromboplastin. *Labor Aktuell*, Boehringer Mannheim, S. 22–23.
72. Libby P (2003) Pathogenese der Atherosklerose. In: Dietel M, Dudenhausen J, Suttrop N (Hrsg) *Harrisons Innere Medizin*, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 15. Aufl., Band 1, S. 1516–1520.
73. Löwel H, Engel S, Hörmann A, Gostomyk J, Bolte HD, Keil U (1999) Akuter Herzinfarkt und plötzlicher Herztod aus epidemiologischer Sicht. *Intensivmed und Notfallmed* 36: 652–661.
74. Mac Mahon S (1994) Blood pressure and the risk of cardiovascular disease. In: Swales JD (Hrsg) *Textbook of hypertension*. Blackwell, Oxford, S. 46–60.
75. Marlar RA, Kleiss AJ, Griffin JH (1981) Human protein C: inactivation of factors V and VIII in plasma by the activated molecule. *Ann N Y Acad Sci* 370: 303–310.
76. Meade TW (1973) The epidemiology of thrombosis. *Thromb et Diath Haemorrh suppl* 54: 317–320.
77. Meade TW, Brozovic M, Chakrabarti RR, Haines AP, Imeson JD, Mellows S, Miller GJ, North WRS, Stirling Y, Thompson SG (1986) Haemostatic function and ischaemic heart disease: Principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 2: 533–537.
78. Meade TW, Chakrabarti R, Haines AP, North WRS, Stirling Y, Thompson SG (1980) Haemostatic function and cardiovascular death: Early results of a prospective study. *Lancet* 1: 1050–1053.

79. Mendall M, Carrington D, Strachan E, et al. (1995) Chlamydia pneumoniae: risk factors for seropositivity and association with coronary heart disease. *J Infect* 30: 121–128.
80. Mendall M, Goggin P, Levy J, Molineaux N, Strachan D (1994) Relation of Helicobacter pylori infection and coronary heart disease. *Br Heart J* 71: 437–439.
81. Mennen LI, Schouten EG, Grobbee DE, Kluft C (1996) Coagulation factor VII, dietary fat and blood lipids: a review. *Thromb Haemost* 76: 492–499.
82. Miller GJ, Martin JC, Mitropoulos KA, Esnouf MP, Cooper JA, Morrissey JH, Howarth DJ, Tuddenham EGD (1996) Activation of factor VII during alimentary lipemia occurs in healthy adults and patients with congenital factor XII or factor XI deficiency, but not in patients with factor IX deficiency. *Blood* 87: 4187–4196.
83. Miller GJ, Martin JC, Webster J (1986) Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity: a predictor of cardiovascular mortality. *Atherosclerosis* 60: 269–277.
84. Miller GJ, Stirling Y, Esnouf MP, Heinrich J, van de Loo J, Kienast J, Wu KK, Morrissey JH, Meade TW, Martin JC, Imeson JD, Cooper JA, Finch A (1994) Factor VII-deficient substrate plasmas depleted of Protein C raise the sensitivity of the Factor VII Bio-Assay to activated factor VII: an international study. *Thromb Haemost* 71: 38–48.
85. Miller GJ, Walter SJ, Stirling Y, Thompson SG, Esnouf MP, Meade TW (1985) Assay of factor VII activity by two techniques: evidence for increased conversion of VII to VIIa in hyperlipidemia, with possible implications for ischaemic heart disease. *Br J Haematol* 59: 249–258.
86. Mitropoulos KA, Esnouf MP (1990) The Prothrombin Activation Peptide regulates synthesis of the Vitamin-K dependent proteins in the rabbit. *Thromb Res* 57: 541–549.
87. Mitropoulos KA, Esnouf MP (1987) Turnover of factor X and of prothrombin in rabbits fed on a standard or cholesterol-supplemented diet. *Biochem J* 244: 263–269.
88. Mitropoulos KA, Miller GJ, Watts GF, Durrington PN (1992) Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins activates coagulant factor XII: a study in familial lipoprotein-lipase deficiency. *Atherosclerosis* 95: 119–125.
89. Mitropoulos KA, Reeves BEA, Miller GJ (1993) The activation of factor VII in citrated plasma by charged long-chain saturated fatty acids at the interface of large triglyceride-rich lipoproteins. *Blood Coagul Fibrinol* 4: 943–951.
90. Moor M, Silveira A, van't Hoogt F, Suontaka AM, Eriksson P, Blombäck M, Hamsten A (1995) Coagulation factor VII mass and activity in young men with myocardial infarction at a young age. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15: 655–664.
91. Morrissey JH (1999) Activated factor VII. In: Jespersen J, Bertina RM, Haverkate F (Hrsg) *Laboratory techniques in thrombosis. A Manual*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, S. 89–98.
92. Morrissey JH (2001) Tissue factor and factor VII initiation of coagulation. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (Hrsg) *Hemostasis and thrombosis*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, S. 89–101.
93. Nachmann RL (1992) Thrombosis and atherogenesis: Molecular connection. *Blood* 79: 1897–1906.

94. Newton KM, La Croix AZ, McKnight B, et al. (1997) Estrogen replacement therapy and prognosis after first myocardial infarction. *Am J Epidemiol* 145: 269–277.
95. Nickenig G, Sachinidis A, Michaelsen F, et al. (1997) Up-regulation of vascular angiotensin II receptor gene expression by low density lipoprotein in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 95: 473–478.
96. Nordestgaard BG (1996) The vascular endothelial barrier-selective retention of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 7: 269–273.
97. Novotny WF, Girard TJ, Miletich JP, Broze GJ Jr. (1988) Platelets secrete a coagulation inhibitor functionally and antigenically similar to the lipoprotein associated coagulation inhibitor. *Blood* 72: 2020–2025.
98. Oehmchen M, Ritz-Timme S, Meissner C (2002). In: Oehmchen M, Ritz-Timme S, Meissner C (Hrsg) *Aging. Morphological, biochemical, molecular and social aspects*, Schmidt-Römhild Verlag, Lübeck, 1. Aufl., S. 55.
99. Patel P, Mendall M, Carrington D, et al. (1995) Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *BMJ* 311: 711–714.
100. Patsch W, Gotto AM Jr. (1995) High-density lipoprotein cholesterol, plasma triglyceride, and coronary artery disease: pathophysiology and management. *Adv Pharmacol* 32: 375–427.
101. Pittilo RM, Clarke JM, Harris D, et al. (1984) Cigarette smoking and platelet adhesion. *Br J Haematol* 58: 627–632.
102. Polack B (1997) Impact of the blood collection tube on the activation of coagulation. *Thromb Haemost* 77: 217–218.
103. Pschyrembel, Klin. Wörterbuch (2004). de Gruyter-Verlag, Berlin, 260. Aufl.
104. Rakugi H, Yu H, Kamitani A, et al. (1996) Links between hypertension and myocardial infarction. *Am Heart J* 132: 213–221.
105. Reininger AJ (2006) Primary haemostasis and its assessment by laboratory tests. *Hamostaseologie* 26: 42–44, 46–47.
106. Ridker PM, Baker MT, Hennekens CH, et al. (1997) Alu-repeat polymorphism in the gene coding for tissue-type plasminogen activator (t-PA) and risks of myocardial infarction among middle-aged men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 1687–1690.
107. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990's. *Nature* 362: 801–809.
108. Ruddock V, Meade TW (1994) Factor VII activity and ischaemic heart disease: fatal and non-fatal events. *Q J Med* 87: 403–406.
109. Ruschitzka F, Noll G, Lüscher T (2000) Atherosklerose. In: Gerok W, Huber C, Meinertz T, Zeidler H (Hrsg) *Die Innere Medizin*, Schattauer Verlag Stuttgart, New York, 10. Aufl., S. 409–464.
110. Sajadi S, Ezekowitz MD, Dhond A, Natrebko P (2003) Tissue Factor Pathway Inhibitors as a novel approach to antithrombotic therapy. *Drug News Perspect* 16: 363–369.

111. Sandset PM (1996) Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)—an update. *Haemostasis* 26 (Suppl 4): 154–165.
112. Sandset PM, Lund H, Nordseth J, Abildgaard U, Ose L (1991) Treatment with hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors in hypercholesterolemia induces changes in the components of the extrinsic coagulation system. *Arterioscler Thromb* 11: 138–145.
113. Scarabin PY, Arveiler D, Amouyel P, Dos Santos C, Evans A, Luc G, Ferrieres J, Juhan-Vague I; Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (2003) Plasma fibrinogen explains much of the difference in risk of coronary heart disease between France and Northern Ireland. The PRIME study. *Atherosclerosis* 166: 103–109.
114. Scarabin PY, Vissac AM, Kirzin JM, Bourgeat P, Amiral J, Agher R, Guize L (1996) Population correlates of coagulation factor VII. Importance of age, sex, and menopausal status as determinants of activated factor VII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16: 1170–1176.
115. Sellmayer A, Spannagl M (1999) Pathogenese der arteriellen Thrombose. In: Müller-Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg) *Hämostaseologie*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1. Aufl., S. 528–587.
116. Silveira A, Karpe F, Johnsson H, Bauer KA, Hamsten A (1996) In vivo demonstration in humans that large postprandial triglyceride-rich lipoproteins activate coagulation factor VII through the intrinsic coagulation pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16: 1333–1339.
117. Statistisches Bundesamt, Todesursachenstatistik 2004, Pressemitteilung vom 2. November 2005.
118. Sturk A, Hack CE, Aarden LA, Brouwer M, Koster RRW, Sanders GTB (1992) Interleukin-6 release and the acute-phase reaction in patients with acute myocardial infarction: a pilot study. *J Lab Clin Med* 119: 574–579.
119. Suissa S, Blais L, Spitzer WO, et al. (1997) First-time use of newer oral contraceptives and the risk of venous thromboembolism. *Contraception* 56: 141–146.
120. Taskinen MR, Puolakka J, Pyorala T, et al. (1996) Hormone replacement therapy lowers plasma Lp(a) concentrations. Comparison of cyclic transdermal and continuous estrogen-progestin regimes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16: 1215–1221.
121. Tataru M-C, Heinrich J, Junker R, Schulte H, von Eckardstein A, Assmann G, Koehler E (2000) C-reactive protein and the severity of atherosclerosis in myocardial infarction patients with stable angina pectoris. *Eur Heart J* 21: 1000–1008.
122. Temme HM, Mensink RP, Hornstra G (1999) Effects of diets enriched in lauric, palmitic or oleic acids on blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 81: 259–263.
123. Topol EJ (2000) Acute myocardial infarction: thrombolysis. *Heart* 83: 122–126.
124. Tousoulis D, Davies G, Ambrose J, Tentolouris C, Stefanadis C, Toutouzas P (2002) Effects of lipids on thrombotic mechanisms in atherosclerosis. *Int J Cardiol* 86: 239–247.

125. Tracy RP, Bovill EG, Yanez D, Psaty BM, Fried LP, Heiss G, Lee M, Polak JF, Savage PJ (1995) Fibrinogen and factor VIII, but not factor VII, are associated with measures of subclinical cardiovascular disease in the elderly. Results from the cardiovascular health study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15: 1269–1279.
126. Van der Bom JG, de Knijff P, Haverkate F, et al. (1997) Tissue plasminogen activator and risk of myocardial infarction. The Rotterdam study. *Circulation* 95: 2623–2627.
127. West of Scotland Coronary Prevention Study Group (1997) Baseline risk factors and their association with outcome in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Am J Cardiol* 74: 756–762.
128. Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM, Gordon D (1989) Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2839–2843.
129. Wild RA (1996) Estrogen: effects on the cardiovascular tree. *Obstet Gynecol* 87 (Suppl 2): 27–35.
130. Wildgoose P, Forster DC, Hedner U (1999) Faktor VII: Biochemie, Molekularbiologie und Physiologie. In: Müller–Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg) *Hämostaseologie*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1. Aufl., S. 256–262.
131. Wildgoose P, Nemerson Y, Hansen LL, Nielsen FE, Glazer S, Hedner U (1992) Measurement of basal levels of factor VIIa in hemophilia A and B patients. *Blood* 80: 25–28.
132. Williams JK, Honore EK, Adams MR (1997) Contrasting effects of conjugated estrogens and Tamoxifen on dilator responses of atherosclerotic epicardial coronary arteries in nonhuman primates. *Circulation* 96: 1970–1975.
133. Witt I (1999) Tissue–Factor–Pathway–Inhibitor: Biochemie, Molekularbiologie, Physiologie und Pathophysiologie. In: Müller–Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg) *Hämostaseologie*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1. Aufl., S. 360–366.
134. Ye Z, Liu EHC, Higgins JPT, Keavney BD, Lowe GDO, Collins R, Danesh J (2006) Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66155 cases and 91307 controls. *Lancet* 367: 651–658.
135. Zitoun D, Bara L, Basdevant A, Samama MM (1996) Levels of factor VIIc associated with decreased Tissue Factor Pathway Inhibitor and increased Plasminogen Activator Inhibitor–1 in dyslipidemias. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1: 77–81.

7. Abkürzungsverzeichnis

ACC	American College of Cardiology
ADP	Adenosindiphosphat
Apo A	Apolipoprotein A
Apo B	Apolipoprotein B
AT	Antithrombin
ARIC	Atherosclerosis Risk in Communities Study
BCS	Behring Coagulation System
BEP 2000	Behring ELISA Prozessor 2000
BMI	Body Mass Index
CRP	C-reaktives Protein
CK-MB	Creatinkinase-MB
EARS	European Atherosclerosis Research Study
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, Enzymimmunoassay
ESC	European Society of Cardiology
F1+2	Prothrombin Fragmente 1+2
FVII	Faktor VII
FVIIa	aktivierter Faktor VII
FVIIc	Gerinnungsaktivität des Faktor VII
g	1.Gramm, 2. Formelzeichen für Erdbeschleunigung
HDL	high density lipoprotein
kg	Kilogramm
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	low density lipoprotein
Lp(a)	Lipoprotein (a)
M	molare Lösung, mol/l
mg	Milligramm
MI	Myokardinfarkt
ml	Milliliter

MONICA	Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease
MRA	multiple Regressionsanalyse
mRNA	messenger ribonuclein acid
mU	Milliunit
MW	Mittelwert
μl	Mikroliter
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NPH–Studie	Northwick Park Heart Studie
p	Signifikanz
PAF	plättchenaktivierender Faktor
PAI–1	Plasminogenaktivator–Inhibitor 1
pg	Picogramm
PLAT	Progetto Lombardo Atero–Trombosi Study
PRIME	Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction
PROCAM	Prospektive Cardiovasculäre Münster–Studie
RR	Symbol für den, mit dem Riva/Rocci–Apparat gemessenen, Blutdruck
TF	tissue factor
TFPI	tissue factor pathway inhibitor
TMB	Tetramethylbenzidin
TnI	Troponin I
TnT	Troponin T
t–PA	tissue plasminogen activator
TPZ	Thromboplastinzeit
TXA ₂	Thromboxan A ₂
U	Unit
vWF	von Willebrand–Faktor
WHO	World Health Organization

9. Danksagung

Herr Prof. Dr. med. Ralf Junker hat mir das Thema überlassen. Ich danke ihm für die kritische Diskussion der vorliegenden Arbeit und für seine unermessliche Geduld, die er mir entgegengebracht hat! Seine fachliche und menschliche Kompetenz haben mich stets ermuntert weiterzumachen. Freue mich, einen so großartigen Betreuer gefunden zu haben. Einen lieben Gruß!

Frau Margit Käse hat als MTA exzellent die technische Seite des Projektes betreut und mir bei der einen oder anderen wichtigen Frage auch noch im Nachhinein zur Seite gestanden. Danke!

Herr Dr. Schulte war führend bei der statistischen Auswertung der Daten. Mein Dank geht hiermit an ihn.

Meinen Eltern, die stets für mich da sind, einen liebevollen Dank!

Nicht zuletzt allen, die mich begleiten, danke ich für die guten Worte, danke für den entgegengebrachten Optimismus und für das Anfeuern, habe all das oft gebraucht! Bleibt mir erhalten!