

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
Allgemeine Innere Medizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Leiter: Professor Dr. med. F. U. Beil



**Genetische Aspekte der koronaren Herzerkrankung
bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie**

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades in der Medizin

dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Sönke Meyer

aus Hamburg

Hamburg, 2005

Inhaltsverzeichnis

0	Arbeitshypothese und Fragestellung	4
1	Einleitung	5
1.1	Koronare Herzerkrankung	5
1.2	Pathogenese der Atherosklerose	6
1.3	Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung	9
1.3.1	Alter und Geschlecht	10
1.3.2	Familiäre Belastung	10
1.3.3	Arterielle Hypertonie	10
1.3.4	Diabetes mellitus	11
1.3.5	Rauchen	11
1.3.6	Dyslipidämie	12
1.3.7	Adipositas	14
1.3.8	Marker für Hämostase und Entzündung	14
1.3.9	Homocystein	15
1.3.10	Infektion	15
1.4	Lipoproteinstoffwechsel	15
1.5	Genetische Komponenten der KHK	18
2	Material und Methoden	25
2.1	Patientenkollektiv und Behandlungsablauf	25
2.2	ATP III Guidelines	26
2.3	Framingham-Score	28
2.4	Ausschlusskriterien	30
2.5	Strategie für die statistische Auswertung	30
2.6	Statistische Methoden	33
2.6.1	Zusammenhangsanalyse	33
2.6.2	Logistische Regressionsanalyse	35
2.6.3	Univariate Analyse	39
3	Ergebnisse	40
3.1	Charakterisierung des Patientenkollektivs	40
3.2	Untersuchung klassischer Risikofaktoren	43
3.3	Ergebnisse der univariaten Analyse	44
3.3.1	PPAR α	44
3.3.2	PPAR γ	45
3.3.3	LPL D9N und LPL -93tg	46
3.3.4	LPL N291S	47
3.3.5	ApoA5	48
3.4	Ergebnisse der logistischen Regression	49
3.4.1	ApoE	50
3.4.2	LPL S447X	52
3.4.3	ABCA1	54
3.4.4	Hepatische Lipase	55
3.4.5	CETP	57

4	Diskussion	59
4.1	Besonderheiten des Kollektivs	59
4.1.1	Raucherstatus und KHK	60
4.1.2	Gesamtcholesterin und KHK.....	61
4.1.3	LDL-c und KHK.....	61
4.2	Lp(a).....	62
4.3	Bewertung der Gene mit Schwerpunkt ApoE.....	63
4.4	Statistische Schwierigkeiten.....	65
4.4.1	Problematik des multiplen Testens	65
4.4.2	Problematik der niedrigen Fallzahlen.....	66
4.5	Sinn genetischer Untersuchungen	67
5	Zusammenfassung.....	69
6	Anhang.....	70
6.1	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	70
6.2	Tabelle 26: Ergebnis der Zusammenhangsanalyse	72
7	Literaturverzeichnis	73
8	Danksagung.....	80
9	Lebenslauf	81
10	Erklärung	82

0 Arbeitshypothese und Fragestellung

Für die Entstehung atherosklerotischer Erkrankungen wie der **KHK** sind zahlreiche **Risikofaktoren** bereits seit langem bekannt und entsprechend gut untersucht. Dies sind vor allem zunehmendes Alter, männliches Geschlecht, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, Rauchen sowie **Hyperlipoproteinämien**. Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv handelt es sich um eine Hochrisikogruppe in Bezug auf die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen, da sie allesamt eine Hyperlipoproteinämie als etablierten Risikofaktor der KHK aufweisen. Die Patienten zeigen dabei unterschiedliche Störungen des Fettstoffwechsels. Zum einen kommen reine Hypercholesterinämien oder reine Hypertriglyceridämien vor zum anderen gemischte Hyperlipidämien mit Erhöhungen sowohl des Cholesterins als auch der Triglyceride. Einige Patienten weisen zusätzlich oder isoliert eine Erhöhung des Lipoprotein (a) auf.

Eine KHK entwickelt sich jedoch nur bei einem Teil der Patienten. Auch unter Berücksichtigung der übrigen etablierten Risikofaktoren lässt sich dies nicht hinreichend erklären und es stellt sich die Frage nach weiteren Ursachen der KHK.

In diesem Kontext werden insbesondere **genetische Prädispositionen** diskutiert. In der Literatur finden sich verschiedene **Kandidatengene**, für die ein Zusammenhang mit einer Veränderung des Lipidprofils und der Entstehung einer KHK beschrieben wird. Solche Kandidatengene sind Bestandteil dieser Arbeit. Konkret sind dies Polymorphismen in den Genen von Apolipoprotein E, Apolipoprotein A5, Lipoproteinlipase, Hepatische Lipase, PPAR α , PPAR γ , ABCA1 und CETP. Ob die genannten Gene einen Einfluss auf die Atherosklerose lediglich über die veränderten Lipidwerte ausüben oder sie darüber hinaus **eigenständige Risiko- oder Schutzfaktoren** darstellen, ist bislang unklar.

Es geht in dieser Arbeit darum, die Frage zu klären, ob und inwieweit die untersuchten Genvarianten einen Beitrag zur klinischen Abschätzung des KHK-Risikos leisten können. Müssen sie künftig in Scoring-Systemen zur koronaren Risikobewertung berücksichtigt werden oder sind hierbei die Lipidwerte ausreichend?

1 Einleitung

1.1 Koronare Herzerkrankung

Unter dem Begriff der koronaren Herzerkrankung (**KHK**) werden alle morphologisch oder funktionell stenosierenden Erkrankungen der Koronargefäße subsumiert. Unterschiedlich in ihrer Ätiologie weisen sie jedoch pathophysiologisch die Koronarinsuffizienz als gemeinsame Endstrecke auf. Die Koronarinsuffizienz beschreibt das Missverhältnis zwischen myokardialem Sauerstoffangebot einerseits und Sauerstoffbedarf andererseits. In über 90 Prozent der Fälle liegt der KHK eine Atherosklerose der großen extramuralen Koronararterien zugrunde.

Die KHK ist eine der häufigsten Erkrankungen in den hoch entwickelten Industrienationen und häufigste Ursache des Myokardinfarktes. In etwa einem Drittel aller Fälle ist der Myokardinfarkt klinische Erstmanifestation einer KHK. Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes litten im Jahr 1992 (alte Bundesländer) 135.000 Patienten an einer KHK, etwa 70.000 Patienten erlitten einen Myokardinfarkt [1]. Das Risiko, im Laufe seines Lebens eine KHK zu entwickeln, beträgt für einen vierzigjährigen Mann knapp 50 Prozent, für eine vierzigjährige Frau gut 30 Prozent [2]. In den USA gehen etwa ein Drittel aller Todesfälle der Menschen über 35 Jahre auf diese Erkrankung zurück [3], mit 22 Prozent repräsentiert die koronare Herzerkrankung die weltweit häufigste Todesursache [1].

Aus diesen Angaben wird ersichtlich, dass die atherosklerotischen Erkrankungen eine zentrale Stellung wissenschaftlichen Interesses einnehmen. Unter den atherosklerotischen kardiovaskulären Erkrankungen nimmt die KHK eine dominierende Position ein und weist bei männlichen Patienten unter 65 Jahren eine höhere Inzidenz (12 auf 1000) auf als alle anderen atherosklerotischen Erkrankungen für diese Patientengruppe zusammen (7 auf 1000) [2].

Aufgrund der enormen Bedeutung der KHK im klinischen Alltag ist die Kenntnis der Symptomatik unabdingbar:

Das Leitsymptom der KHK ist die Angina pectoris mit plötzlich einsetzenden, Sekunden bis Minuten andauernden Schmerzen im Brustkorb, die meist retrosternal gelegen sind. Der Schmerz wird von den Patienten meist als dumpf und

einschnürend beschrieben. Charakteristische Lokalisationen der Ausstrahlung des Angina-Schmerzes sind die Arme, links häufiger als rechts und meist ulnarseitig, Hals und Unterkiefer, sowie Rücken und Epigastrium. Differentialdiagnostisch kommt bei retrosternalen Schmerzen, sowie Schmerzen im Oberbauch vor allem der gastroösophageale Reflux in Betracht. Die englische Bezeichnung **heart burn** für das Sodbrennen bringt dies gut zum Ausdruck.

Klinisch gilt zu unterscheiden zwischen den Verlaufsformen der Angina als stabile Angina pectoris oder als instabile Angina pectoris. Während bei der stabilen Angina die Beschwerden nur bei Belastung auftreten und in ihrem Ausmaß und ihrer Qualität relativ konstant bleiben, bezeichnet man neu auftretende, sich ändernde, zunehmende sowie bereits in Ruhe auftretende Schmerzen als instabile Angina. Die instabile Angina und der Non-Q-Wave-Myokardinfarkt werden zusammen als akutes Koronarsyndrom bezeichnet. Aufgrund der Gefahr eines transmuralen Myokardinfarktes ist hier unverzügliche Behandlung in der Klinik angezeigt. Wenngleich der Brustschmerz das Kardinalsymptom der Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom darstellt, so finden sich in bis zu 33 Prozent der Fälle atypische Symptome wie alleinige Dyspnoe, Übelkeit mit und ohne Erbrechen, Palpitationen oder Synkopen. Für diese Patienten, die einen ersten Myokardinfarkt ohne Brustschmerz erleiden, ergibt sich eine ungünstige Prognose:

Die Mortalität in den ersten 30 Tagen nach dem Infarkt ereignis liegt hier bei 49 Prozent gegenüber 18 Prozent bei Patienten mit klassischem Brustschmerz, nach einem Jahr bei 61 Prozent gegenüber 26 Prozent [4].

1.2 Pathogenese der Atherosklerose

Die Bezeichnung Atherosklerose kommt aus dem Griechischen und bezieht sich einerseits auf die Verdickung der arteriellen Intima (Sklerosis) und andererseits auf die Akkumulation von Fetten (Athere).

Die Entwicklung der Atherosklerose vollzieht sich beim Menschen über einen Zeitraum von Jahren bis Jahrzehnten. Klinisch manifestiert sie sich bei Befall der Koronarien als Angina pectoris bis hin zum Myokardinfarkt, bei Befall der hirnversorgenden Gefäße als transitorisch ischämische Attacke bis hin zum Apoplex, bei Befall der peripheren Gefäße als Claudicatio intermittens bis hin zur Gangrän und

bei Befall des Splanchnikusgebietes als Angina abdominalis bis hin zum Mesenterialinfarkt. Diese klinischen Zusammenhänge sind bekannt. In Studien wird die Atherosklerose als Hauptursache von Myokardinfarkt, Schlaganfall und Gangrän an den Extremitäten angeführt [5].

An der Pathogenese der Atherosklerose sind viele Faktoren beteiligt. Zu diesen gehören Störungen des Fettstoffwechsels, das Rauchen, Dysfunktionen des Endothels, inflammatorische und immunologische Ereignisse sowie Rupturen von Plaques. Stufen der Entwicklung sind die **initiale Läsion**, die **streifige Intimaverfettung (fatty streak)**, das **Atherom**, das **Fibroatherom** und schließlich die **komplizierte oder komplexe Läsion**.

Die initiale Läsion kann bereits bei Kleinkindern und Kindern gefunden werden. Sie ist chemisch und mikroskopisch nachweisbar und umfasst Lipidablagerungen und damit assoziierte Zellreaktionen in der Intima. Histologisch zeigt die Intima nur geringe Veränderungen mit Ansammlung weniger Makrophagen. Aus der initialen Läsion entwickelt sich die streifige Intimaverfettung (fatty streak), die ebenfalls häufig schon in der Kindheit auftritt und bereits makroskopisch erkennbar ist. In einer Autopsie-Studie wurden 2876 Männer und Frauen im Alter von 15 bis 34 Jahren untersucht und sie alle wiesen bereits fatty streaks der Aorta auf [6].

Fortgeschrittene Läsionen hingegen treten mit erhöhter Häufigkeit erst mit zunehmendem Alter auf [7,8]. In einer weiteren Studie zeigten sich fortgeschrittene Atherome (Grad 4 oder 5 gemäß der American Heart Association) bei 2 bzw. 0 Prozent der Männer und Frauen im Alter von 15 bis 19 Jahren und bei 20 bzw. 8 Prozent der Männer und Frauen im Alter von 30 bis 34 Jahren [9].

Zur Pathogenese der Atherosklerose gibt es unterschiedliche Theorien, die die Bedeutung der einzelnen beteiligten Faktoren verschieden bewerten. Eine Zusammenfassung dieser Theorien liefert die **reaction to injury hypothesis**: [10]

Hierbei steht die endotheliale Dysfunktion am Beginn des Prozesses. Diese kann verursacht sein durch schädigende Einflüsse wie den arteriellen Hypertonus, Nikotin, hämodynamische Faktoren oder Hyperlipoproteinämien. Die Störung der Endothelfunktion ermöglicht einen Einstrom von Lipoproteinen in die Intima der Arterie. Vor allem die cholesterinreichen Low-density-Lipoproteine (LDL) treten hier in Erscheinung und werden beim Durchtritt durch das Endothel oxidiert. Die LDL sind

in der Lage, an Bestandteile der extrazellulären Matrix zu binden und dadurch ihre Aufenthaltszeit in der Arterienwand zu verlängern. So kommt es zur fokalen Akkumulation der Lipoproteine.

Der nächste Schritt ist die Ansammlung von Makrophagen, die via rezeptorvermittelter Endozytose Lipoproteinpartikel aufnehmen und über mehrere Schritte Cholesterin in Vakuolen des Zytoplasmas ablagern. Es entstehen die sogenannten lipidbeladenen Schaumzellen. Zunächst sammeln sich die Schaumzellen in kleinen Gruppen in der Intima an und stellen so die frühen Fettstreifen – fatty streaks – dar. Durch die Vermehrung von Schaumzellen wächst die atherosklerotische Plaque, wodurch Endothel und Intima zusätzlich mechanisch geschädigt werden können. Diese Schäden begünstigen die Adhäsion von Thrombozyten. Sowohl die Thrombozyten als auch die Makrophagen und Endothelzellen bilden nun Wachstumsfaktoren, die ortsständige glatte Muskelzellen aktivieren, so dass diese in den Mitosezyklus eintreten und proliferieren. Die Proliferation glatter Muskelzellen kennzeichnet das Atherom. Die Muskelzellen sezernieren Kollagen, Proteoglykane und elastische Fasern und bewirken so eine Fibrosierung der atherosklerotischen Plaque. Die Akkumulation fibrösen Gewebes ist nun typisch für die fortgeschrittene atherosklerotische Veränderung im Vergleich zur Akkumulation lipidhaltiger Makrophagen, die typisch für die fatty streaks ist. Im Rahmen der Apoptose kommt es zum Absterben mancher Schaumzellen. Ihr Zelltod führt zur Formierung eines lipidreichen nekrotischen Kerns in der Läsion.

Diese atheromatöse Nekrose sowie eine lumenseitige, kollagenreiche, fibröse Kappe sind charakteristisch für eine komplizierte oder komplexe Läsion. Zusätzlich können diese Läsionen im Laufe der Zeit kalzifizieren, d.h. dass hier Lipide durch Kalziumapatitkristalle ersetzt werden.

Eine umschriebene Entzündung der Atheromkappe in der komplexen Läsion führt letztendlich zur Plaqueruptur und zur Ausbildung eines Abscheidungsthrombus. Ein solcher Thrombus kann hierbei weiter verschleppt werden und so thrombembolisch zu Organinfarkten, allen voran dem Myokardinfarkt führen.

Die Atherosklerose verläuft solange asymptomatisch bis der Plaque eine Stenosierung des Gefäßes von 70 bis 80 Prozent überschreitet und so eine kritische Reduktion des Blutflusses verursacht. Derartig ausgedehnte Läsionen können typische Symptome wie z.B. Angina pectoris-Beschwerden auslösen.

Das akute Koronarsyndrom und cerebrovaskuläre Syndrome hingegen sind typischerweise zurückzuführen auf Rupturen von Plaques, die mit einer Stenosierung von weniger als 50 Prozent einhergehen [11,12,13].

Plaquerupturen können auch klinisch stumm verlaufen, allerdings führen wiederholte Plaquerupturen mit anschließender Wundheilung zu einer Progression der Atherosklerose mit einer Größenzunahme der Läsion und einer Zunahme der Gefäßobstruktion [14].

1.3 Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung

Die Atherosklerose ist für nahezu alle Fälle von koronarer Herzerkrankung verantwortlich, seltene Ursachen der KHK sind dagegen Koronarspasmen (Prinzmetal-Angina), primäre oder systemische Vaskulitiden, verschleppte Embolien oder Dissektionen der Arterienwandung. Es ist wichtig, die Atheroskleroseentstehung als komplexen multifaktoriellen Prozess zu begreifen. Eine Vielzahl an Faktoren weist eine Erhöhung des Risikos für die Entwicklung atherosklerotischer Plaques auf. Die Kenntnis dieser Risikofaktoren und deren Beeinflussbarkeit sind für die Prävention der KHK von entscheidender Bedeutung.

Bei der Beschreibung der Risikofaktoren ist eine Unterteilung in **klassische und neuere Risikofaktoren** möglich. Hier werden zunächst die klassischen genannt und beschrieben, deren Zusammenhang mit der KHK gut untersucht ist sowohl hinsichtlich der Verifizierung als atherogener Risikofaktor als auch in Bezug auf das Ausmaß ihrer atherogenen Wirkung. Klassische, etablierte Risikofaktoren sind der arterielle Hypertonus, Diabetes mellitus, Dyslipidämien, Rauchen, Adipositas, eine positive Familienanamnese sowie Alter und männliches Geschlecht. Neuere Risikofaktoren sind Marker für Hämostase und Entzündung, Homocystein-Erhöhungen sowie Infektionen mit bestimmten Mikroorganismen.

Die Voranstellung der klassischen Faktoren und die Reihenfolge ihrer Erwähnung können jedoch nicht ihre Gewichtung für den individuellen Fall widerspiegeln. Dennoch erscheint es sinnvoll, „Volkskrankheiten“ wie das Rauchen oder den Faktor Alter, der zwangsläufig jeden betrifft, vor den neueren Faktoren zu besprechen, wenngleich auch unter diesen Einflüsse mit sehr hoher Prävalenz, wie die Adipositas, vorkommen.

1.3.1 Alter und Geschlecht

Für die KHK gilt eine lineare Altersabhängigkeit, bei Männern ab dem 30. Lebensjahr, bei Frauen ab der Menopause. Bei Männern ist das KHK-Risiko vor dem 60. Lebensjahr doppelt so hoch wie für Frauen, danach gleichen sich Morbidität und Mortalität in etwa an. Außerdem treten die anderen Risikofaktoren in Abhängigkeit von Geschlecht und Alter des Betroffenen mit unterschiedlicher Gewichtung auf. So haben z.B. Diabetes mellitus und erniedrigtes HDL-Cholesterin einen stärkeren negativen Effekt bei Frauen als bei Männern [15,16]. Ein isolierter systolischer Hypertonus hingegen stellt einen bedeutsamen Risikofaktor in jeder Altersgruppe und unabhängig vom Geschlecht dar [17]. Hinsichtlich des Rauchens ist die Studienlage widersprüchlich in Bezug auf die geschlechtsspezifische Wirkung.

1.3.2 Familiäre Belastung

Eine positive Familienanamnese für KHK ist ein unabhängiger Risikofaktor, insbesondere für jüngere Personen mit familiärer Vorbelastung hinsichtlich frühzeitiger Koronarerkrankung, d.h. KHK vor dem 55. Lebensjahr bei Männern bzw. vor dem 65. Lebensjahr bei Frauen [18].

1.3.3 Arterielle Hypertonie

Ein Bluthochdruck besteht bei einem systolischen Wert von über 140mmHg bzw. einem diastolischen Wert von über 90mmHg. Bei Werten von über 180mmHg systolisch bzw. 110mmHg diastolisch spricht man von einer schweren Hypertonie (Stadium 3 der WHO-Klassifikation).

Der Hypertonus ist ein gut untersuchter Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse inklusive der KHK und dem Apoplex [19,20]. Neuere Untersuchungen beschäftigen sich damit, das Gewicht der jeweils den Bluthochdruck charakterisierenden Komponenten zu beschreiben. Diese Komponenten sind der isolierte systolische Bluthochdruck, der isolierte diastolische Bluthochdruck, kombinierter diastolischer und systolischer Bluthochdruck sowie die Amplitude d.h. die Differenz zwischen systolischem und diastolischem Blutdruck.

Der systolische Bluthochdruck ist mindestens ein genauso starker koronarer Risikofaktor wie der diastolische Bluthochdruck [21]. Der isolierte systolische Hypertonus ist mittlerweile anerkannt als bedeutende Gefahr für die KHK [22].

Ebenfalls gibt es Hinweise dafür, dass der Pulsdruck, bestimmt vor allem durch eine sehr steife Arterienwand, das Risiko beeinflusst.

1.3.4 Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist ein wichtiger Risikofaktor der KHK. In einer Studie [23] wurden Patienten mit akutem Myokardinfarkt und zuvor nicht diagnostiziertem Diabetes mellitus untersucht. Es wurden orale Glukosetoleranztests bei Entlassung und drei Monate nach Entlassung durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei 35 bzw. 40 Prozent eine pathologische Glukosetoleranz, bei 25 bzw. 31 Prozent ein zuvor nicht bekannter Diabetes mellitus.

Etwa zwei Drittel aller Diabetiker versterben durch kardiale Ereignisse [24]. Diabetes mellitus ist einerseits ein unabhängiger Risikofaktor insbesondere bei Frauen [15,16,25], zum anderen weisen Diabetiker im Vergleich zu Nicht-Diabetikern eine höhere Last an weiteren atherosklerotischen Risikofaktoren auf wie Hypertonie, Adipositas, eine erhöhte Gesamtcholesterin/HDL-Cholesterin-Ratio und erhöhtes Plasmafibrinogen. Durch das Vorhandensein und die unterschiedliche Ausprägung dieser zusätzlichen Faktoren schwankt das KHK-Risiko bei Diabetikern erheblich.

1.3.5 Rauchen

Ein sehr weit verbreiteter karzinogener und kardiovaskulärer Risikofaktor mit einer Prävalenz von etwa 30 Prozent in Industrieländern bezogen auf die Gesamtpopulation ist das Rauchen.

Bezogen auf das Risiko eines Myokardinfarktes zeigten Studien eine stärkere Zunahme des relativen Risikos bei rauchenden Frauen im Vergleich zu rauchenden Männern [26,27]. Verglichen mit einem Nichtraucher zeigte in einer Studie die Inzidenz des Myokardinfarktes bei Frauen, die 20 Zigaretten und mehr pro Tag rauchen, eine sechsfache, bei Männern mit entsprechendem Zigarettenkonsum eine dreifache Erhöhung [26]. Das KHK-Risiko nimmt mit steigendem Zigarettenkonsum sowohl bei Männern als auch bei Frauen zu. Allerdings handelt es sich beim Rauchen um einen potentiell reversiblen Faktor, was zu einer hohen Motivation führen sollte, das Rauchen aufzugeben.

So konnte gezeigt werden, dass das Risiko eines Myokardinfarktes für Frauen, die mit dem Rauchen aufgehört hatten, binnen 3 bis 4 Jahren wieder auf das Niveau einer Nichtraucherin sank. Dies war zudem unabhängig sowohl von der Menge des

vorangegangenen Zigarettenkonsums als auch von der Dauer des Nikotinabusus [28]. Ebenfalls konnte in Studien ein derartiger Effekt für Männer nachgewiesen werden. Auch hier konnten Ex-Raucher nach einem Zeitraum von mindestens 2 Jahren bereits ein nur noch geringfügig wenn überhaupt erhöhtes Infarktisiko erreichen, verglichen mit Männern, die nie geraucht hatten [29].

Zurückhaltender muss hingegen die Gesamtmortalität von Ex-Rauchern beurteilt werden. Das Sterblichkeitsrisiko ist für ehemalige Raucherinnen erst nach über 16 Jahren wieder auf dem Nichtraucherinnen-Niveau [30] und blieb bei Männern selbst 15 Jahre nach Aufgabe des Rauchens erhöht [31].

1.3.6 Dyslipidämie

Im Bereich der Fettstoffwechselstörungen ist nicht nur eine Erhöhung des Gesamtcholesterins mit erhöhtem KHK-Risiko assoziiert, sondern insbesondere folgende Parameter:

- ◆ erhöhtes LDL-Cholesterin
- ◆ erniedrigtes HDL-Cholesterin
- ◆ erhöhte Gesamtcholesterin/HDL-Cholesterin-Ratio
- ◆ erhöhtes Non-HDL-Cholesterin
- ◆ erhöhtes Apolipoprotein B und erniedrigtes Apolipoprotein A-I [32]
- ◆ erhöhte Triglyceride [33]
- ◆ erhöhtes Lipoprotein(a)

Als Beleg für die pathogenetische Bedeutsamkeit des Serumcholesterins im Zusammenhang mit der KHK sind Studien anzuführen, die zeigen konnten, dass eine Senkung des Gesamt- und des LDL-Cholesterins zur Primärprävention eine Reduktion koronarer Ereignisse sowie der Mortalität bewirkte [34,35,36].

Lipoprotein(a)

Das Lipoprotein (a) ist eine modifizierte Form des LDL, die erstmals 1963 von **K.Berg** beschrieben wurde. Im Lp(a) ist als Apolipoprotein das Apo(a) enthalten, das hier über eine Disulfidbrücke kovalent mit einem Apo B-100 verknüpft ist [37]. Synthetisiert wird das Lp(a) fast ausschließlich in der Leber.

Das Apo(a) ist kein Apolipoprotein im eigentlichen Sinne, sondern eine Protease des fibrinolytischen Blutgerinnungssystems. Da das Apo(a) strukturelle Ähnlichkeit mit dem Plasminogen aufweist, kann es dieses kompetitiv vom Plasminogen-Rezeptor verdrängen und dadurch die fibrinolytische Aktivität senken [37,38]. Das Lp(a) ist außerdem in der Lage, im Endothel der Gefäßwand an Fibrin und Proteoglykane zu binden. Daraufhin kommt es ebenfalls rezeptorvermittelt zur Aufnahme des Lp(a) in Makrophagen und anschließend zu deren Transformation zu Schaumzellen [39].

Das Lp(a) wandert in der Elektrophorese den β -Globulinen voraus und wird deshalb als prä- β -1-Lipoprotein klassifiziert. Die Höhe des Serum-Lp(a) ist weitgehend genetisch determiniert und insofern sehr konstant. Die interindividuelle Variabilität des Lp(a)-Spiegels erklärt sich vor allem durch Unterschiede im Apo(a)-Gen. Das Apo(a)-Gen weist eine hohe Anzahl genetischer Polymorphismen auf, wobei eine umgekehrte Beziehung zwischen der Größe der jeweiligen Apo(a)-Isoform und der Konzentration des Lp(a) besteht [40,41].

Das Lp(a) ist im Zusammenhang mit der KHK interessant, da es einerseits direkt atherogen wirkt über die Förderung der Schaumzellbildung und andererseits die bereits erwähnte thrombogene Wirkung entfalten kann über die Hemmung fibrinolytischer Vorgänge, so dass es die Bildung von Thromben in atherosklerotischen Läsionen fördert.

Zahlreiche Studien lieferten zunächst widersprüchliche Daten, ob das Lp(a) einen unabhängigen Risikofaktor für die KHK darstellt oder nicht. Jedoch hat es sich mittlerweile durchgesetzt, das Lp(a) als einen solchen Risikofaktor anzuerkennen [42,43,44]. Insbesondere gilt dies für Patienten mit normalen bis leicht erhöhten Gesamtcholesterin-Werten und bestehender Hypoalphalipoproteinämie, d.h. erniedrigtem HDL-Cholesterin [45]. Als wichtige Studie ist außerdem die PROCAM-Studie anzuführen, in der 788 Männer im Alter zwischen 35 und 65 Jahren über einen Zeitraum von 10 Jahren beobachtet wurden. Hierbei fand sich bei einer Erhöhung des Lp(a) über 20 mg/dl eine Vergrößerung des kardialen Risikos, eines tödlichen oder nicht tödlichen Myokardinfarktes, um mehr als das Doppelte. Am stärksten ausgeprägt war der Risikozuwachs bei Patienten mit drastischen Lp(a)-Erhöhungen über 150 mg/dl, bei Patienten mit einem HDL-Cholesterin von unter 35 mg/dl, sowie bei Patienten mit gleichzeitig bestehendem Hypertonus [46].

Das Lp (a) selbst ist therapeutisch nur schwierig zu beeinflussen. Daher findet es klinisch vor allem Anwendung als Kriterium für die Therapiebedürftigkeit erhöhter LDL-Spiegel und bei der Festlegung des LDL-Zielwertes. So ist z.B. im Falle eines erhöhten Lp(a) und Vorhandensein von mindestens einem weiteren KHK-Risikofaktor (mittlere Risikokategorie gemäß den ATP III-Guidelines) unbedingt der LDL-Zielwert von < 130 mg/dl anzustreben. Falls eine solche Senkung nicht erreichbar ist, kann eine spezifische Therapie zur Senkung des Lp(a) in Erwägung gezogen werden. Hierzu eignen sich allerdings weder diätetische Maßnahmen noch herkömmliche Lipidsenker wie Statine oder gallensäurebindende Anionenaustauscher. In Frage kommt hier die LDL-Apherese, bei der LDL und Lp(a) gleichermaßen aus dem Blut gefiltert werden. Behandlungskonzepte mit Östrogenen [47] sowie der Einsatz von Nikotinsäure und Neomycin [48] finden in der Praxis kaum Einsatz.

1.3.7 Adipositas

Adipositas tritt zumeist in Verbindung mit anderen Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, arteriellem Hypertonus und Hypercholesterinämie z.B. als metabolisches Syndrom auf. Aber auch die Adipositas allein stellt bereits einen Risikofaktor dar. Große epidemiologische Studien haben einen Zusammenhang zwischen steigendem body mass index (BMI) und dem KHK-Risiko aufgedeckt [49].

Eine Vielzahl weiterer neuer Risikofaktoren für die Atherosklerose ist Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen. Zu den wichtigsten gehören Marker für Hämostase und Entzündung, Homocystein-Erhöhungen und Infektionen mit Chlamydien.

1.3.8 Marker für Hämostase und Entzündung

Hier sind als Risiken vor allem Abweichungen hämostatischer Faktoren im Sinne einer Erhöhung des Fibrinogens [50] zu nennen, sowie als wichtigen Entzündungsparameter das C-reaktive-Protein (CRP). Die Plasmakonzentration des CRP spiegelt ein Grundlevel an Entzündung im Organismus wider und hat Aussagekraft für das Langzeitrisiko eines Myokardinfarktes, ischämischen Infarkts und peripherer arterieller Verschlusskrankheit [51].

1.3.9 Homocystein

Homocystein entsteht beim Abbau der schwefelhaltigen Aminosäure Methionin. Ausgehend von bereits im Kindesalter auftretenden atherothrombotischen Läsionen bei homozygoten Enzymdefekten (Homocystinurie) mit Homocystein-Konzentrationen über 400 µmol/l konnte in mehreren Studien ebenfalls ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko für Erwachsene mit weniger ausgeprägten Homocystein-Erhöhungen gezeigt werden [52].

1.3.10 Infektion

Die Infektion mit bestimmten Mikroorganismen scheint eine Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose zu spielen. Vermutlich kommt es hierbei im Rahmen einer akuten oder chronischen Entzündung zu einer Endothelschädigung, über die es dann zu kardialen Ereignissen kommt. Als Erreger sind Chlamydia pneumoniae, das Cytomegalievirus (CMV) und Helicobacter pylori im Gespräch.

1.4 Lipoproteinstoffwechsel

Sowohl Cholesterin als auch Triglyceride können im Blut wegen ihrer Wasserunlöslichkeit nur in makromolekularen Verbindungen mit lösungsmittelverbindenden Phospholipiden und Eiweißkörpern transportiert werden. Diese Transportverbindungen werden als Lipoproteine bezeichnet, der Proteinanteil als Apolipoprotein. Die verschiedenen Apolipoproteine sind dabei nicht nur Struktur- und Stabilisationselemente, sondern fungieren im Lipoproteinstoffwechsel zudem als Cofaktoren von Enzymen und Liganden von Rezeptoren.

Die wichtigsten Lipoproteine, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Dichte durch Zentrifugation in verschiedene Fraktionen eingeteilt werden können, sind:

◆ Chylomikronen

◆ **VLDL** = very low density lipoproteins

◆ **IDL** (VLDL-remnants) = intermediate density lipoproteins

◆ **LDL** = low density lipoproteins

◆ **HDL** = high density lipoproteins

Die wichtigsten Apolipoproteine und ihre Funktionen sind:

- ◆ **A-I** Strukturprotein für HDL, klassischer Aktivator der Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT)
- ◆ **A-II** Strukturprotein für HDL, Aktivator der hepatischen Lipase
- ◆ **A-IV** Aktivator von Lipoproteinlipase (LPL) und LCAT
- ◆ **B-100** Strukturprotein für LDL, VLDL, IDL und Lp(a), Ligand für den LDL-Rezeptor, Aktivierung der Lysolecithin-Acyltransferase (reversible Reaktion zur LCAT)
- ◆ **B-48** nur im Dünndarm synthetisiert, Strukturprotein für Chylomikronen und VLDL, verantwortlich für Resorption von Lipiden und lipidlöslichen Vitaminen aus der Nahrung
- ◆ **C-I** Aktivator der LCAT
- ◆ **C-II** essentieller Cofaktor der Lipoproteinlipase (LPL)
- ◆ **C-III** Inhibitor der Triglyceridhydrolyse durch Hemmung der LPL und der hepatischen Lipase (HL), Interferenz mit der Apo E-vermittelten Bindung triglyceridreicher Lipoproteine an Rezeptoren der Leber
- ◆ **D** vermutlich Cofaktor des Cholesterylester-Transfer-Proteins (CETP)
- ◆ **E** Ligand am LDL-Rezeptor (hierbei zehnfach höhere Affinität als Apo B), Ligand an hepatischen Rezeptoren für Chylomikronen und VLDL-remnants, führt zur Beseitigung dieser Lipoproteine aus der Zirkulation
- ◆ **Apo(a)** Strukturprotein für das Lp(a), hier über Disulfidbrücken mit Apo B-100 verbunden (siehe Kapitel 1.3.6.)

Der Stoffwechsel der Lipoproteine ist in den exogenen Weg, den endogenen Weg und in das reverse Transportsystem zu untergliedern.

Das **exogene Transportsystem** transportiert die resorbierten Nahrungslipide. Mit der Nahrung aufgenommene Lipide sind vor allem Triglyceride, freies und verestertes Cholesterin, freie Fettsäuren und fettlösliche Vitamine. In der intestinalen Mucosa werden die Lipide an die Apolipoproteine B-48, A-I und A-IV gebunden und gelangen nun als triglyceridreiche Chylomikronen mit der Lymphe über den Ductus thoracicus in die Blutbahn [53]. Hier findet ein Kontakt zwischen Chylomikronen und HDL statt, bei dem ein Austausch von Apolipoproteinen erfolgt. Besonders wichtig ist die Abgabe des Apolipoprotein C-II vom HDL an die Chylomikronen, da dieses als

essentieller Cofaktor der endothelständigen Lipoproteinlipase für die Hydrolyse der Chylomikronen unerlässlich ist. Die Lipolyse der Chylomikronen führt zum Verlust der Apolipoproteine A-I und A-IV und von Triglyceriden. Dafür erhalten die übrig bleibenden sogenannten Chylomikronen-Remnants von den HDL das Apolipoprotein E. Über spezifische Apo-E-Rezeptoren werden diese Restpartikel schließlich von der Leber aufgenommen und abgebaut.

Das **endogene Transportsystem** ist gekennzeichnet durch die Sekretion von in der Leber synthetisierten VLDL. Diese sind wie auch die Chylomikronen reich an Triglyceriden und enthalten als Apolipoproteinkomponenten Apo B-100, Apo C-I,II,III und Apo E. Im Blut findet ebenfalls durch Kontakt mit HDL eine Anreicherung mit Apo E und Apo C-II statt. Die Lipoproteinlipase führt zum Abbau der VLDL und zum Entstehen von Partikeln intermediärer Dichte, den IDL. Auf noch nicht vollständig geklärte Weise werden nun in der Leber unter Verlust von Apo E und Apo C-II aus den IDL die LDL-Partikel gebildet, die als einziges Strukturprotein noch das Apo B-100 enthalten. Die LDL enthalten am meisten Cholesterin und Cholesterinester und versorgen damit die extrahepatischen Gewebe, wo sie über spezifische LDL-Rezeptoren aufgenommen werden. Die LDL-Partikel, die aufgrund ausreichender Versorgung vom extrahepatischen Gewebe nicht aufgenommen werden, gelangen zurück zur Leber, wo sie über den LDL-Rezeptor endozytotisch aufgenommen werden.

Das **reverse Transportsystem** transportiert Lipide, vor allem Cholesterin, aus den extrahepatischen Geweben zurück zur Leber. Die Leber ist das einzige Organ, das Cholesterin selbst - in Form von Gallensäuren - ausscheiden kann. Eine Schlüsselrolle im Cholesterin-Rücktransport nimmt das HDL ein. Das HDL wird sowohl von der Leber als auch vom Darm synthetisiert, wobei sie je nach Syntheseort unterschiedliche Apolipoproteine enthalten. In der Leber synthetisiertes HDL ist reich an Apo A-I, Apo A-II und Apo E, intestinal gebildetes HDL hingegen reich an Apo A-I und Apo A-IV.

Über das Apo A-I sind die HDL imstande, das in der Leber gebildete Enzym Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) zu binden, welches dann eine Veresterung des Cholesterins in den HDL bewirkt. Das veresterte Cholesterin wandert in den apolaren Kern der HDL-Partikel, so dass auf der Oberfläche der HDL Platz entsteht für die Cholesterinaufnahme aus den Membranen extrahepatischer Gewebe [54].

Den Rücktransport zur Leber kann das HDL über zwei verschiedene Mechanismen bewerkstelligen. Es fungiert entweder selbst als Transportmittel und nimmt die beim Abbau von VLDL und Chylomikronen entstehenden Lipide auf oder es transferiert das Cholesterin an andere Lipoproteine, vorwiegend an IDL, über die der Rücktransport zur Leber erfolgt. Das HDL steht in diesem Fall der weiteren Cholesterinaufnahme zur Verfügung.

Im Gegensatz zu LDL und VLDL hat das HDL antiatherogene Wirkung. Dabei beinhaltet die antiatherogene Wirkung den reversen Cholesterintransport aus der arteriellen Intima, die Stabilisierung der Endothelfunktion, Schutz vor Thrombose und den Erhalt einer niedrigen Blutviskosität [55,56]. Insofern besteht eine umgekehrte Beziehung zwischen HDL-Plasmakonzentration und kardiovaskulärem Risiko [57].

1.5 Genetische Komponenten der KHK

Es ist wichtig, die Atheroskleroseentstehung und damit die Entwicklung einer KHK als komplexen multifaktoriellen Prozess zu begreifen. Dieser Prozess wird beeinflusst durch Umweltfaktoren und Faktoren mit einer ausgeprägten genetischen Komponente. Von den zuvor bereits erwähnten Risikofaktoren zeigen zum Beispiel der arterielle Hypertonus, erhöhtes Homocystein, die Lipidwerte LDL- und HDL-Cholesterin sowie Triglyceride, der Diabetes mellitus und die Adipositas einen ausgeprägten genetischen Hintergrund. Eine positive Familienanamnese insbesondere hinsichtlich frühzeitiger Koronarsklerose (vor dem 55. Lebensjahr) ist ein starker Risikofaktor. Ziel genetischer Studien ist es, genetische Unterschiede zwischen Individuen zu finden, die für die Atherosklerose prädisponieren und diese von Umwelteinflüssen zu differenzieren. Die wichtige Rolle von Umweltfaktoren wie sozialer Klasse, Lifestyle sowie Rauch- und Ernährungsgewohnheiten zeigt sich zum Beispiel durch den Anstieg der KHK-Rate bei Migranten aus Ländern mit niedriger KHK-Prävalenz in Länder mit hoher Prävalenz [58]. Jedoch lässt sich die KHK-Verteilung in der Bevölkerung und in den verschiedenen Familien nicht hinreichend durch Umweltfaktoren erklären. Von entscheidender Bedeutung ist der genetische Hintergrund eines Individuums, der den Grad seiner Anfälligkeit für eine Krankheit bestimmt. Hier wird der Zusammenhang zwischen Genetik und Umwelt deutlich. Die individuelle genetische Konstitution ist dafür verantwortlich, in welchem Ausmaß

Umweltfaktoren wie Rauchen und Ernährung zur Entwicklung der Atherosklerose beitragen.

Bezogen auf die Genetik ist es wichtig, klar zwischen monogenetischen Erkrankungen einerseits und genetischen Polymorphismen, die mit bestimmten Krankheiten assoziiert sind, andererseits zu unterscheiden. Monogenetische Geschehen wie der LDL-Rezeptor-Defekt, der der familiären Hypercholesterinämie (FH) zugrunde liegt, sind seltene Ereignisse. So liegt die Frequenz der heterozygoten Patienten mit FH bei etwa 1/500, die der homozygoten Patienten mit massiv erhöhten LDL-Werten sogar nur bei etwa 1/1.000.000. Solche Mutationen wie die der FH sind Raritäten mit jedoch gravierenden Folgen, wie in diesem Fall KHK bereits im jungen Erwachsenenalter oder noch früher.

Wesentlicher Bestandteil dieser Arbeit sind jedoch die genetischen Polymorphismen. Der Begriff „genetischer Polymorphismus“ bezeichnet die Variabilität aller Sequenzen. Das Allel beschreibt die Zustandsform eines Gens, das in homologen Chromosomen an der gleichen Stelle liegt und für unterschiedliche Ausprägungen eines Merkmals kodiert. Liegen für ein genetisches Merkmal mindestens zwei Genvarianten vor, so spricht man von einem Polymorphismus. Die Bezeichnung Polymorphismus beinhaltet darüber hinaus, dass die unterschiedlichen Allele mit einer Häufigkeit von mindestens 0,01 auftreten, ansonsten handelt es sich um seltene genetische Varianten, die man nicht unter dem Polymorphismusbegriff subsumiert [59]. Die meisten Unterschiede zwischen allelen Sequenzen, die man bei einem bestimmten Organismus findet, gehen auf Vererbung zurück und sind nur selten das Ergebnis einer *de novo*-Mutation [59].

Die in dieser Arbeit betrachteten Polymorphismen stammen insbesondere aus Genen, die von Bedeutung für den Fettstoffwechsel sind. Die Gene kodieren für transportierende Apolipoproteine, für Enzyme und andere Proteine des Fettstoffwechsels. Die Polymorphismen beeinflussen das KHK-Risiko durch eine Veränderung der klassischen Risikofaktoren wie vor allem Veränderungen des Lipidprofils.

Folgende Polymorphismen werden betrachtet:

1. Apolipoprotein E	epsilon
2. PPAR- α	L162V
3. PPAR- γ	P12A
4. Apolipoprotein A5	-1131 T>C
5. Hepatische Lipase (HL)	-480 c>t
6. Lipoproteinlipase (LPL)	D9N, -93tg, N291S, S447X
7. Cholesterin-Ester-Transferprotein (CETP)	TaqIB
8. ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA-1)	R219K

Apolipoprotein E

Das Apo E hat im Lipoproteinstoffwechsel mehrere Funktionen. Es beeinflusst sowohl den endogenen als auch den exogenen Cholesterintransport, indem es sowohl als Ligand für die Aufnahme von VLDL-remnants fungiert und ihre Umwandlung zu LDL bewirkt als auch die Aufnahme von Chylomikronen-remnants in die Leber vermittelt. Der genetische Polymorphismus (epsilon) des Apo E zeigt drei häufige Allele: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ und $\epsilon 4$. Damit lassen sich drei homozygote – Apo E 2/2, 3/3, 4/4 – und drei heterozygote – Apo E 2/3, 2/4, 3/4 – Genotypen unterscheiden. Die häufigste Variante ist mit einer Prävalenz von etwa 70 Prozent Apo E 3/3 [60].

Es gibt eine Vielzahl an Studien, die sich mit dem Apo E-Polymorphismus und damit verbundenen Veränderungen des Lipidprofils und des KHK-Risikos beschäftigen. Für das Allel $\epsilon 2$ konnte dabei ein protektiver Effekt hinsichtlich der KHK gezeigt werden. So zeigen $\epsilon 2/3$ -Trägerinnen verglichen mit $\epsilon 3/3$ -Individuen seltener eine ischämische Herzerkrankung oder anders betrachtet ist die Frequenz des $\epsilon 2$ -Allels bei gesunden Personen mehr als doppelt so hoch als bei Patienten mit einer KHK [61,62]. Das $\epsilon 4$ -Allel hingegen ist ein Risikofaktor für koronare Atherosklerose sowohl für Männer als auch für Frauen und mit erhöhtem LDL-Cholesterin verbunden [63].

PPAR- α und PPAR- γ

Die peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) sind liganden-induzierbare Transkriptionsfaktoren, die zu den intrazellulären Hormonrezeptoren gehören. Sie kommen in den drei Isoformen α , β und γ vor. Für die PPARs dienen sowohl endogene als auch exogene Substanzen als Liganden. Zu den endogenen Substanzen gehören Fettsäuren und Eikosanoide, zu den exogenen zum Beispiel Medikamente wie Lipidsenker und Insulinsensitizer. PPAR α hat die höchste Affinität für Fettsäuren

und für Lipidsenker wie z.B. Clofibrat, wohingegen PPAR γ Rezeptor für Liganden wie Prostaglandin G2 aus der Gruppe der Eikosanoide und Thiazolidindione aus der Gruppe der Insulinsensitizer ist [64]. Die PPARs haben viele Zielgene, insbesondere jedoch Gene, die im Zusammenhang mit dem Fettstoffwechsel stehen. So kann PPAR α zum Beispiel das LPL-Gen stimulieren und so die Triglyceridhydrolyse beschleunigen sowie die Bildung von Apolipoproteinen reduzieren (Apo C-III) oder erhöhen (Apo A-I und Apo A-II) [64]. Letzteres ist mit einem Anstieg des HDL verbunden. Auch PPAR γ moduliert die Expression des LPL-Gens und weiterer Gene von Enzymen des Fettstoffwechsels. In atherosklerotischen Läsionen finden sich PPARs, vor allem PPAR α , aber auch PPAR γ , und beeinflussen die Progression der Atherosklerose [65]. PPAR γ stimuliert zum Beispiel die LDL-Aufnahme in Makrophagen und damit die Schaumzellbildung, kann aber auch antiatherogen wirken durch antiproliferative Effekte auf glatte Muskelzellen.

Bekannte Polymorphismen der PPARs sind der L162V-Polymorphismus im PPAR α -Gen und der P12A-Polymorphismus im PPAR γ -Gen. Studien über den PPAR α konnten eine protektive Wirkung des V-Allels im Zusammenhang mit der Atherosklerose zeigen. Nicht nur die Progression der diffusen Atherosklerose ist bei L/V-Trägern gegenüber L/L-Trägern signifikant reduziert, sondern auch der fokale Prozess in den Koronararterien [66]. Ebenfalls konnte ein schützender Effekt für das A-Allel des PPAR γ -Gens nachgewiesen werden. Träger des A-Allels zeigen eine signifikante Reduktion des Risikos für einen Myokardinfarkt [67].

Apolipoprotein A5

Das ApoA5-Gen ist erst im Jahr 2001 sequenziert und in Zusammenhang mit erhöhten Triglyceriden gebracht worden. Erhöhte Triglyceride sind als unabhängiger Risikofaktor für die KHK nachgewiesen worden [33]. Aktuelle Untersuchungen beschäftigen sich mit dem T1131C-Polymorphismus im Apo A5-Gen. Hierbei scheint das C-Allel mit stark erhöhten Plasmatriglyceriden assoziiert zu sein, da die Genotypen C/T und C/C signifikant häufiger auftreten bei Patienten mit extrem erhöhten Triglyceridwerten [68].

Hepatische Lipase

Das Enzym HL dient der Hydrolyse von Phospholipiden und Triglyceriden in HDL-Partikeln. Ein bekannter Polymorphismus, der in der Promoterregion des HL-Gens liegt, ist die Variante -480ct. Andersen et al. untersuchten Träger dieses

Polymorphismus in Verbindung mit zwei weiteren SNP's, -216 und -729, im Hinblick auf Veränderungen im Lipoproteinprofil und auf das KHK-Risiko [69]. Dabei fanden sie einen schrittweisen Anstieg des HDL-Cholesterins von Nichtträgern über heterozygote Träger hin zu homozygoten Trägern der Polymorphismen. Paradoxerweise zeigten die homozygoten Träger jedoch trotz des erhöhten HDL einen Anstieg des KHK-Risikos um 40 bis 50 Prozent im Vergleich zu Wildtyp-Patienten. Insbesondere galt dies für Individuen, die gleichzeitig die Apo E-Allelkonstellation 3/4 hatten. Dies bedeutet, dass Erhöhungen des allgemein als antiatherogen eingestuften HDL in bestimmten Situationen doch mit einer Risikozunahme für die KHK verbunden sein können.

Lipoproteinlipase

Das Enzym LPL ist verantwortlich für die Hydrolyse des Triglyceridkerns von zirkulierenden Chylomikronen und VLDL. Zahlreiche Mutationen und Polymorphismen des LPL-Gens sind bekannt. Im Zusammenhang mit der KHK sind insbesondere die Varianten -93tg, D9N, N291S und S447X Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. Die Polymorphismen D9N und N291S führen dabei zu einer verminderten lipolytischen Aktivität des Enzyms, wohingegen der S447X Polymorphismus den gegenteiligen Effekt auf die LPL hat [70]. Die Assoziationen der Polymorphismen mit den Lipidwerten sind jedoch noch nicht abschließend geklärt. N291S scheint mit einer Erniedrigung des HDL verbunden zu sein, S447X mit erniedrigten Triglyceriden. Bezogen auf die KHK konnte vor allem für den D9N Polymorphismus eine signifikante Relation mit dem Auftreten der Erkrankung gezeigt werden [70], wohingegen für die Variante S447X ein Schutz vor der KHK nachgewiesen wurde [71].

Cholesterolester-Transfer-Protein

Das CETP bewirkt die Übertragung von Cholesterolestern vom antiatherogenen HDL auf ApoB-haltige Lipoproteine wie VLDL, IDL und LDL. Somit ist eine Erniedrigung des CETP mit erhöhten HDL- und erniedrigten LDL-Werten assoziiert, also einem typischen antiatherogenen Profil [72]. Der bestuntersuchte Polymorphismus im CETP-Gen ist der TaqIB-Polymorphismus. Hierbei gibt es die Allelkombinationen B1B1, B1B2 und B2B2. In Bezug auf die KHK scheint das B1-Allel einen fördernden Effekt zu haben, da es mit erhöhten CETP-Werten und damit erniedrigtem HDL assoziiert ist. In der Framingham Offspring Study hatten homozygote B1B1-Träger im

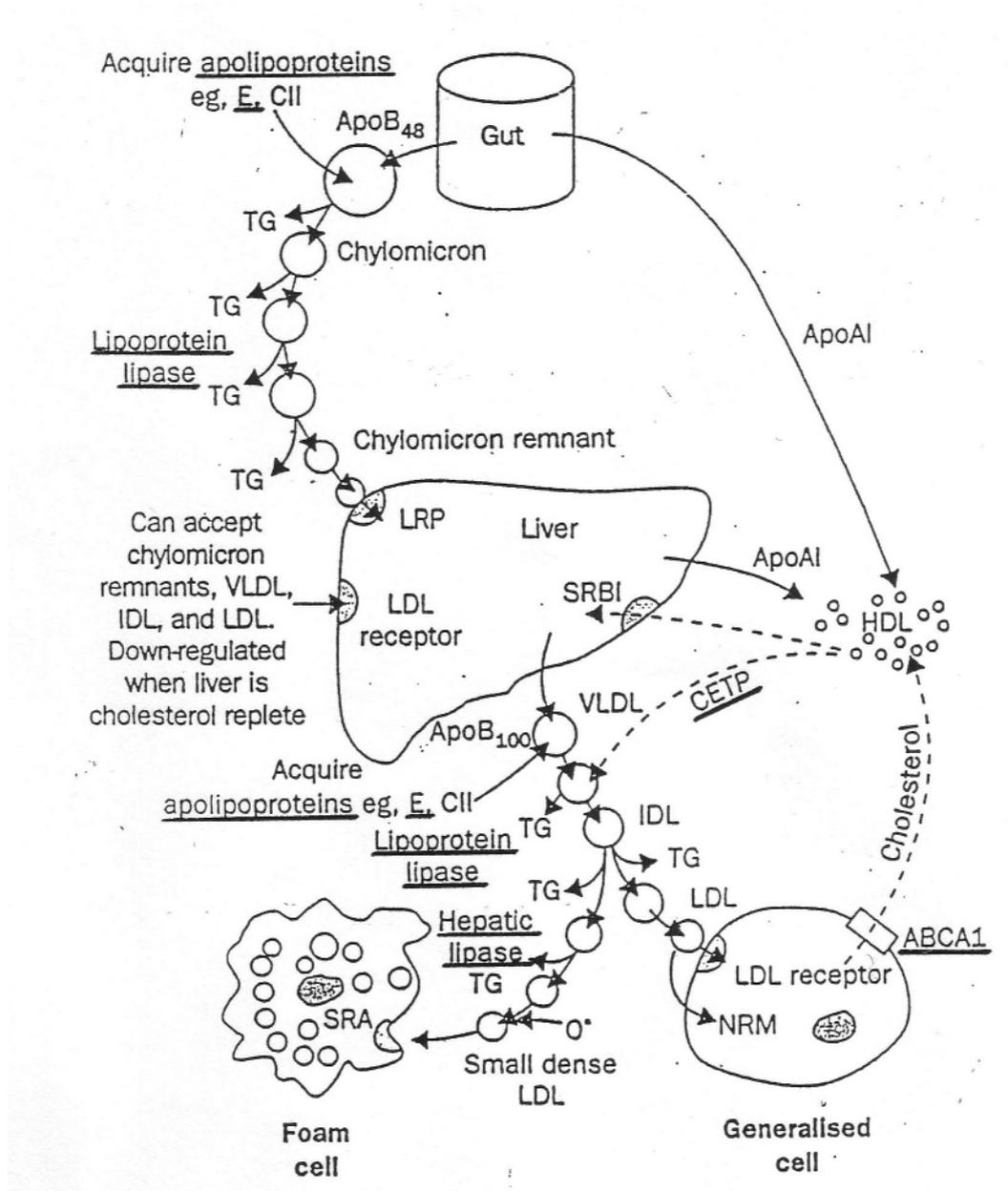
Vergleich zu B1B2 und B2B2-Trägern die niedrigsten HDL-Werte. Männer mit dem B2-Allel schienen ein reduziertes KHK-Risiko zu haben, wohingegen keine signifikante Assoziation für Frauen gezeigt werden konnte [73].

ATP-binding cassette transporter1

Das ABCA-1-Gen ist verantwortlich für die Produktion des Cholesterol efflux regulatory protein und somit für den Transfer von Zellcholesterin auf HDL-Partikel. Mutationen dieses Gens gehen mit einer Veränderung der HDL-Konzentration einher. Eine seltene Mutation führt wie bereits erwähnt zur Tangier-Krankheit mit stark erniedrigtem HDL, eine andere Variante ist der R219K-Polymorphismus. Diese Variante tritt mit einer Trägerfrequenz von etwa 46 Prozent bei Europäern auf [74]. Für das K-Allel wird hierbei ein protektiver Effekt im Hinblick auf die Entwicklung einer KHK beschrieben. Dies konnte für Patienten mit Lp(a)-Erhöhung gezeigt werden [75]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass das Fortschreiten der Atherosklerose mit Zunahme der Gefäßobstruktion bei Trägern des K-Allels (RK und KK) langsamer vonstatten geht. Die Lipidwerte der R219K-Träger unterscheiden sich von Nichtträgern durch niedrigere Triglyceride, sowie bei jüngeren Individuen (unter 55 Jahre) durch erhöhtes HDL [74].

Eine Graphik des Lipoproteinstoffwechsels mit Darstellung von ABCA1, CETP, Apolipoprotein E, Lipoproteinlipase und hepatischer Lipase folgt auf Seite 24.

Abbildung A: Grundriss des Lipoproteinstoffwechsels



CETP = cholesteryl ester transfer protein. IDL= intermediate-density lipoprotein. TG = triglyceride. LRP = LDL-receptor like protein. SRA = scavenger receptor A. SRB1 = scavenger receptor B1. NRM = non-receptor-mediated uptake. ABCA1 = ATP-binding cassette transporter 1. O° = oxygen free radical

2 Material und Methoden

2.1 Patientenklientel und Behandlungsablauf

Datengrundlage dieser Arbeit ist eine in den Jahren 2002/2003 erstellte Microsoft Access-Datenbank. In dieser Datenbank befinden sich Angaben über 1670 Patienten, die in der Zeit von Juni 1991 bis Februar 2003 in der Lipidambulanz des Universitätsklinikum Eppendorf vorstellig wurden.

Bei den Patienten handelt es sich in der Regel um von niedergelassenen Ärzten überwiesene Patienten mit schwer einstellbaren Hyperlipoproteinämien. Die Fettstoffwechselstörungen kommen hierbei als reine Hypercholesterinämie, reine Hypertriglyceridämie oder gemischte Hyperlipoproteinämie vor. Erhöhte Lipidwerte werden in dieser Arbeit definiert als Cholesterinwerte ab einem Serumspiegel > 200 mg/dl und Triglyceridwerte ab einem Serumspiegel > 180 mg/dl.

Ziel der Behandlung in der Lipidambulanz ist es, nach Festlegung eines LDL-Zielwertes gemäß den Adult Treatment Panel (ATP) III-Guidelines (*siehe unten*) diesen zu erreichen.

Bei der Erstvorstellung des Patienten finden zunächst eine Blutentnahme zur Bestimmung des Lipoproteinprofils sowie ein ausführliches Anamnesegespräch statt. Ein Lipoproteinprofil besteht aus der Messung von Gesamtcholesterin, LDL, HDL, VLDL und Triglyceriden. Darüber hinaus werden das Lp(a), Leberwerte, TSH basal und laborchemische atherogene Risikofaktoren wie Fibrinogen und Homocystein gemessen. Zudem wird eine Analyse der genetischen Polymorphismen durchgeführt, die Einfluss auf die Lipidwerte der Patienten nehmen können. Beim Anamnesegespräch werden allgemeine Patientendaten wie Alter, Geschlecht, Körpergröße und Körpergewicht zur Berechnung des Body Mass Index (BMI), Alkohol- und Nikotinkonsum sowie eine Familienanamnese erhoben. Bei der Familienanamnese ist vor allem die Belastung hinsichtlich Fettstoffwechselstörungen sowie atherosklerotischer Erkrankungen bedeutsam. Insbesondere die vorzeitige KHK, d.h. klinisch manifeste Koronarsklerose bei weiblichen Verwandten vor dem 65. Lebensjahr bzw. männlichen Verwandten vor dem 60. Lebensjahr ist von Interesse.

Im Anschluss an die Anamneseerhebung findet eine körperliche Untersuchung statt. Hier wird besonders auf Manifestationen der Fettstoffwechselstörungen, wie Xanthome, Xanthelasmen oder einen Arcus lipoides corneae, geachtet. Neben laborchemischen Untersuchungen können danach gegebenenfalls weitere diagnostische Schritte, wie ein Belastungs-EKG, ein oraler Glukosetoleranztest oder eine Dopplersonographie der Carotiden, eingeleitet werden.

Als nächstes erhalten die Patienten eine Diätberatung, bei der die aktuellen Ernährungsgewohnheiten genau besprochen werden und anschließend geeignete Diät- und physikalische Maßnahmen empfohlen werden.

Sechs Wochen später erscheinen die Patienten zum zweiten Besuch, bei dem mögliche Erfolge der Diätberatung kontrolliert werden und eine erneute Blutentnahme mit Bestimmung der Lipidwerte erfolgt. Insbesondere wird der aktuelle LDL-Wert in Bezug auf den Zielwert beurteilt. Danach wird entschieden, ob der Patient wieder in die hausärztliche Versorgung entlassen werden kann oder Bewegungs- und Diätmaßnahmen intensiviert werden sollten oder gegebenenfalls bereits eine medikamentöse Therapie begonnen werden sollte. Typischerweise erfolgt diese jedoch ab dem dritten Besuch. Dabei ist für die Patienten wichtig zu beachten, dass die medikamentöse Therapie nicht die anderen Maßnahmen ersetzt, sondern dass ein gesunder Ernährungs- und Lebensstil mit einer eventuell nötigen Pharmakotherapie immer einhergehen sollte.

2.2 ATP III Guidelines

Die Adult Treatment Panel (ATP) III-Guidelines des National Cholesterol Education Program (NCEP) stellen den aktuellen klinischen Leitfaden für die Erkennung und Behandlung von Hyperlipoproteinämien dar. Die wesentlichen Aspekte der beiden früheren Fassungen bestehen in den ATP III-Guidelines fort, hinzukommt eine Erweiterung der Indikationen für eine intensive lipidsenkende Therapie in der klinischen Praxis. Während bei Patienten mit einer bestehenden KHK bereits früher auf eine intensive Behandlung der Lipide geachtet wurde, ist bei der neuen Fassung zusätzlich die Patientengruppe mit multiplen Risikofaktoren im Fokus primärer Präventionsmaßnahmen [76].

Gemäß der ATP III-Klassifikation werden Lipidwerte wie folgt beurteilt:

Tabelle 1: Einstufung der Cholesterinwerte

Gesamtcholesterin	< 200	Normal
	200 – 239	grenzwertig erhöht
	≥ 240	Hoch
LDL-Cholesterin	< 100	Optimal
	100 – 129	Normal
	130 – 159	grenzwertig erhöht
	160 – 189	Hoch
	≥ 190	sehr hoch
HDL-Cholesterin	< 40	Niedrig
	≥ 60	Hoch

Die LDL-Zielwerte sind individuell festzulegen und orientieren sich am weiteren Risikoprofil des Patienten. Wesentliche Risikofaktoren, die den LDL-Zielwert beeinflussen sind Zigarettenrauchen, Bluthochdruck, ein niedriges HDL, eine positive Familienanamnese für vorzeitige KHK und ein Alter von ≥ 45 bei Männern und ≥ 55 bei Frauen. Die Patienten werden danach in drei Risikogruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 = Patienten mit 0 bis einem weiteren Risikofaktor
- Gruppe 2 = Patienten mit 2 oder mehr zusätzlichen Risikofaktoren
- Gruppe 3 = Patienten mit bestehender KHK oder KHK-Risikoäquivalent

Nahezu alle Patienten der Gruppe 1 haben ein 10-Jahres-Risiko für die KHK von unter 10% (*siehe hierzu Framingham score*). Gruppe 2-Patienten entspricht ein 10-Jahres-Risiko $\leq 20\%$. Patienten der Gruppe 3 haben demzufolge ein 10-Jahres-Risiko von $> 20\%$. Zu den KHK-Risikoäquivalenten der Gruppe 3 gehören zum einen andere atherosklerotische Manifestationen wie pAVK, symptomatische Karotisstenosen und Bauchortenaneurysmata, zum anderen Diabetes mellitus sowie die Koinzidenz multipler Risikofaktoren, die zu einem KHK-10-Jahres-Risiko $> 20\%$ in den Framingham Point Scores führt.

Es ergeben sich für die drei verschiedenen Gruppen folgende LDL-Zielwerte und LDL-Level, ab denen eine medikamentöse Therapie in Betracht zu ziehen ist:

Tabelle 2: Die drei Risikogruppen und ihre LDL-Zielwerte, Beginn einer Pharmakotherapie

	LDL-Zielwert	Pharmakotherapie
Gruppe 1 (0-1 weiterer RF)	< 160 mg/dl	≥ 190 mg/dl (160 – 189 mg/dl optional)
Gruppe 2 (≥ 2 weitere RF)	< 130 mg/dl	≥ 160 mg/dl bei Risiko < 10%, sonst ab 130 mg/dl
Gruppe 3 (bestehende KHK oder KHK-Risikoäquivalent)	< 100 mg/dl	≥ 130 mg/dl (100 – 129 mg/dl optional)

2.3 Framingham-Score

Die bereits 1949 ins Leben gerufene Framingham-Studie beschäftigt sich mit der Aufdeckung atherogener Faktoren. Zielsetzung war zunächst die epidemiologische Erforschung von KHK und Bluthochdruck. Heute sind die Erkenntnisse der Langzeitstudie als klassische Risikofaktoren der Atherosklerose etabliert: Bluthochdruck, Rauchen, Hyperlipoproteinämie und Diabetes mellitus.

Zahlreiche weitere sogenannte „emerging risk factors“ wurden untersucht und eine Risikoerhöhung für sie gefunden. Hierzu zählen z.B. das Homocystein, prothrombotische und proinflammatorische Faktoren sowie erhöhte Nüchtern-glukosewerte. Diese „emerging risk factors“ führen jedoch nicht kategorisch zu einer therapeutischen Konsequenz wie einer Veränderung des LDL-Zielwertes [76].

Aus den Erkenntnissen der Framingham-Studie leiten sich die in den ATP-Guidelines enthaltenen tabellarischen Point Scores ab. Hierbei erhält der Patient Punkte je nach Vorhandensein und Ausmaß seiner persönlichen Risikofaktoren. Jedem Punktwert kann dann in einer Tabelle das dazugehörige 10-Jahres-Risiko für die Entwicklung einer KHK zugeordnet werden. Die Bepunktungen sind für Männer und Frauen etwas unterschiedlich, so dass für beide Geschlechter getrennte Punktbögen existieren, das Schema und die bewerteten Risikofaktoren sind jedoch identisch. Exemplarisch findet sich auf der folgenden Seite das Bepunktungssystem für Männer gemäß den Erkenntnissen der Framingham Studie.

Tabelle 3: Risikoscore für Männer gemäß der Framingham Studie

<u>Alter</u>	<u>Punkte</u>	<u>HDL</u>	<u>Punkte</u>
20-34	-9	>60	-1
35-39	-4	50-59	0
40-44	0	40-49	1
45-49	3	<40	2
50-54	6		
55-59	8		
60-64	10		
65-69	11		
70-74	12		
75-79	13		

Gesamtcholesterin

	<u>Alter 20-39</u>	<u>40-49</u>	<u>50-59</u>	<u>60-69</u>	<u>70-79</u>
< 160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	0
200-239	7	5	3	1	0
240-279	9	6	4	2	1
≥ 280	11	8	5	3	1

Rauchen

	<u>Alter 20-39</u>	<u>40-49</u>	<u>50-59</u>	<u>60-69</u>	<u>70-79</u>
Nichtraucher	0	0	0	0	0
Raucher	8	5	3	1	1

Systolischer Blutdruck

	<u>Unbehandelt</u>	<u>Behandelt</u>
< 120	0	0
120-129	0	1
130-139	1	2
140-159	1	2
≥ 160	2	3

Nach Addition der Punkte können folgende 10-Jahres-Risiken den erreichten Punktzahlen zugeordnet werden:

Punktzahl	10-Jahres-Risiko(%)	Punktzahl	10-Jahres-Risiko(%)
< 0	< 1	9	5
0	1	10	6
1	1	11	8
2	1	12	10
3	1	13	12
4	1	14	16
5	2	15	20
6	2	16	25
7	3	≥ 17	≥ 30

2.4 Ausschlusskriterien

Gründe für den Ausschluss waren zum einen eine offene KHK-Diagnose zum anderen der fehlende Nachweis einer Hyperlipoproteinämie. Bei den 1371 in die Analyse einbezogenen Patienten konnte nach eingehender Untersuchung die Diagnose KHK gestellt oder ausgeschlossen werden. Dagegen blieb bei 255 Patienten die Diagnose bis zum Zeitpunkt ihrer Eingabe in die Datenbank unklar. Spezielle weiterführende Untersuchungen wären notwendig. Diese Patienten können nicht analysiert werden, da es für die statistische Auswertung notwendig ist, dass die Zielvariable KHK als binär (0=keine KHK, 1=KHK) kodiertes Merkmal vorliegt. Bei weiteren 44 Patienten, die in der Lipidambulanz vorstellig wurden, konnte keine Hyperlipoproteinämie verifiziert werden. Somit unterscheiden sich diese Patienten grundlegend vom übrigen Kollektiv und werden in die statistische Auswertung nicht mit einbezogen.

2.5 Strategie für die statistische Auswertung

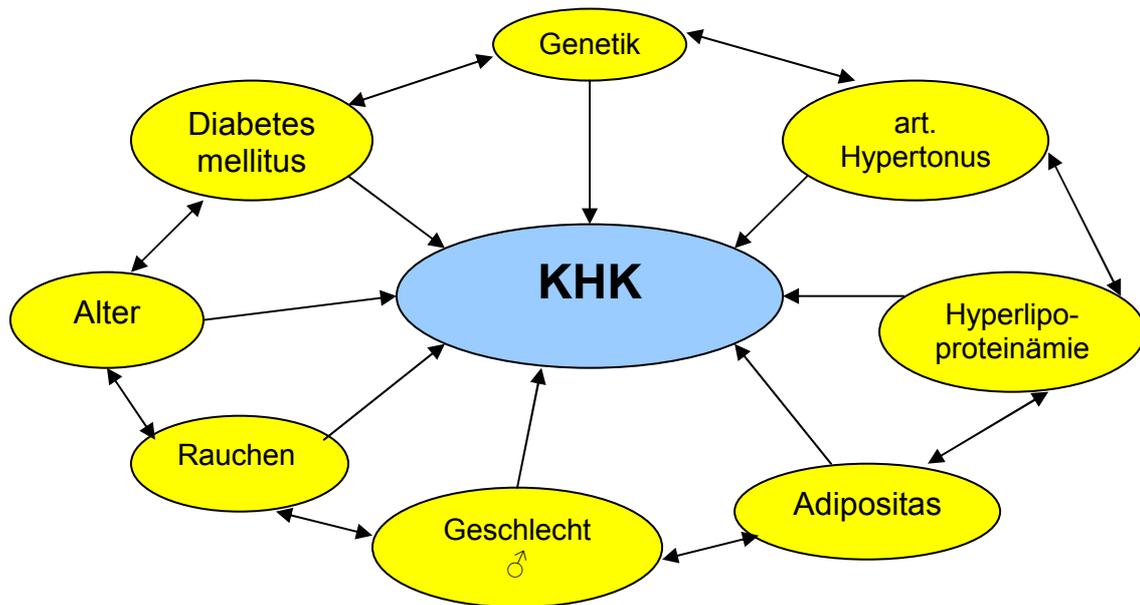
Aufgabe dieser Arbeit ist es, Unterschiede zwischen den KHK-Patienten und den nicht an einer KHK erkrankten Patienten der Lipidambulanz aufzuspüren. Alle Patienten gehören aufgrund ihrer Hyperlipoproteinämie (HLP) bereits einer Hochrisikogruppe an. Es handelt sich damit bei den untersuchten Personen nicht um einen Ausschnitt der Normalbevölkerung, sondern um eine speziell selektierte

Bevölkerungsgruppe. Trotz ihres hohen Risikos entwickeln jedoch nicht alle HLP-Patienten eine KHK und es stellt sich die Frage, welches die dafür verantwortlichen Faktoren sind. Zunächst müssen die klassischen Risikofaktoren Alter, männliches Geschlecht, Rauchen, arterieller Hypertonus und Diabetes mellitus untersucht werden. Darüber hinaus wird die Rolle der Genetik beleuchtet. Diese Untersuchungen genetischer Einflüsse sind das zentrale Thema der Arbeit.

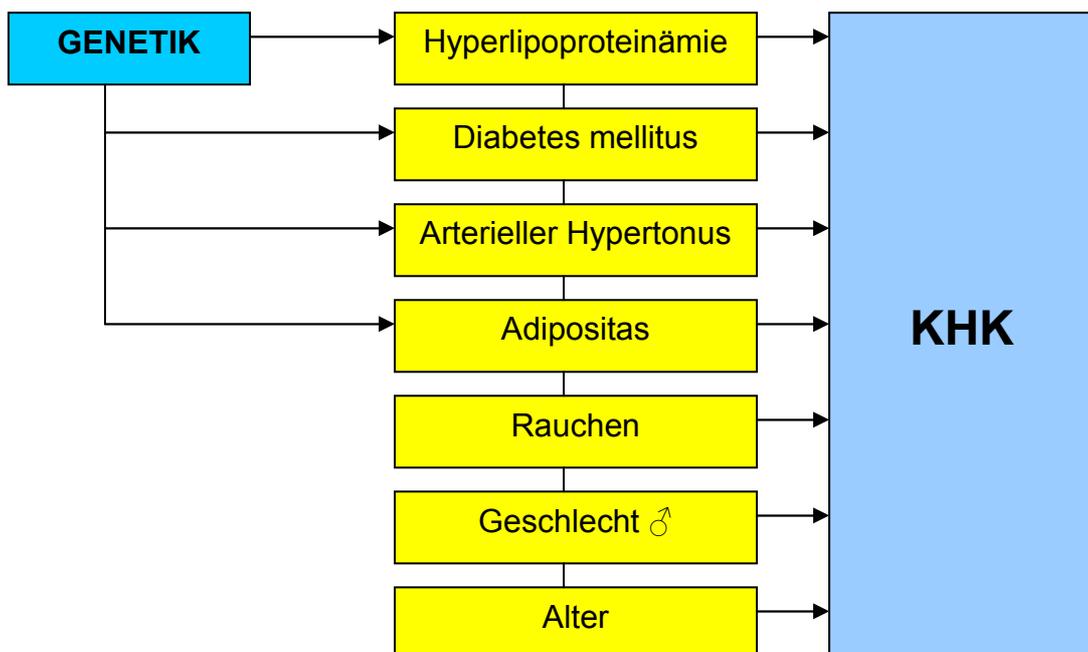
Zunächst wird in einer Zusammenhangsanalyse überprüft, ob es zwischen den verschiedenen Parametern der Datenbank Interaktionen gibt, die berücksichtigt werden müssen. Insbesondere liegt hier das Augenmerk auf den genetischen Polymorphismen und möglichen Zusammenhängen mit den Lipidwerten und anderen klassischen Risikofaktoren. Unter Berücksichtigung derartiger Abhängigkeiten wird die weitere statistische Analyse erfolgen. Letztendliches Ziel der Arbeit ist die Beurteilung genetischer Komponenten der KHK-Entstehung. Stellen sie einen eigenen zusätzlichen Risikofaktor zu den bekannten klassischen Risikofaktoren dar oder können sie lediglich indirekt über die etablierten Risikofaktoren einen Einfluss auf die Erkrankung ausüben? Welche Genvarianten stellen eher einen Schutzfaktor dar, welche fördern die KHK-Entstehung?

Eine graphische Darstellung der zu untersuchenden Zusammenhänge liefern die auf der folgenden Seite dargestellten Modelle 1 und 2.

Modell 1: Direkter Einfluss der Genetik und anderer interagierender Risikofaktoren auf die KHK



Modell 2: Indirekter Einfluss der Genetik auf die KHK durch Wirkung über andere klassische Risikofaktoren



2.6 Statistische Methoden

Als Software für die Datenauswertung wird SPSS (**S**tatistical **P**ackage for **S**ocial **S**ciences) Version 11.0 verwendet.

2.6.1 Zusammenhangsanalyse

Wie bereits erläutert, ist das Ziel der Arbeit, den Einfluss genetischer Polymorphismen auf die KHK-Entstehung zu identifizieren. Es ist statistisch jedoch nicht zulässig, dies in einem einzelnen Schritt, z.B. in Form eines Chi-Quadrat-Tests, durchzuführen und dabei alle anderen Einflussfaktoren wie die klassischen RF außer Acht zu lassen. Man bedenke, dass z.B. eine Genvariante gehäuft mit einem Hypertonus kombiniert sein kann und dass diese Patientengruppe dann ein erhöhtes KHK-Risiko zeigen würde. Hieraus einzig und allein einen starken genetischen RF abzuleiten ohne den Bluthochdruck zu berücksichtigen, wäre insbesondere im Falle eines fehlenden kausalen Zusammenhanges zwischen Gen und Hypertonus falsch.

Um derartige Abhängigkeiten und Zusammenhänge der verschiedenen Datenbankparameter aufzudecken, wird zunächst eine Zusammenhangsanalyse durchgeführt. Resultat wird eine Tabelle sein (siehe Anhang), in der im Stile einer Entfernungstabelle p-Werte eingetragen werden, die die Wahrscheinlichkeit einer Abhängigkeit der jeweiligen beiden Parameter angeben. Von einer Abhängigkeit gehen wir – wie in der medizinischen Forschung allgemein üblich – aus, wenn ein p-Wert von < 0.05 vorliegt. Die KHK wird in dieser Tabelle noch nicht zu finden sein. Vielmehr dient dieser Analyseteil dazu, eine Auswahl der für das KHK-Risiko zu untersuchenden Faktoren zu treffen. Stark miteinander zusammenhängende Faktoren, wie man es z.B. beim Gesamtcholesterin und beim LDL-c erwarten würde, werden dann eliminiert, d.h. es wird später ausreichen nur einen der beiden Parameter zu untersuchen. Ziel ist es, unabhängige Faktoren aufzuspüren und diese in das Modell der logistischen Regression (*siehe unten*) einzuführen und zu verarbeiten.

Da die Parameter der Datenbank unterschiedlich skaliert sind, z.B. Geschlecht (m/w) nominal und die Laborparameter metrisch, sind verschiedene statistische Tests nötig, die die Zusammenhänge aufdecken sollen:

Chi-Quadrat-Test (χ^2)

Der χ^2 -Test ist ein Signifikanztest, der geeignet ist, um die Unabhängigkeit zweier nominal skaliertes Merkmale zu untersuchen. In der Datenbank kann hiermit z.B. eine Abhängigkeit des Raucherstatus vom Geschlecht überprüft werden.

Kendalls-Tau-b (τ_b)

Der Zusammenhang zweier ordinal oder metrisch skaliertes Parameter, wie z.B. Alter und BMI, wird mittels Kendalls-Tau-b untersucht. Dies ist ein Kontingenzmaß, bei dem die Werte des τ_b -Koeffizienten im Intervall $-1 \leq \tau_b \leq +1$ liegen. Hierdurch lässt sich also nicht nur der bloße Zusammenhang, sondern auch dessen Richtung überprüfen. Nimmt z.B. mit dem Alter auch der BMI zu, so liegt eine positive Korrelation mit einem positiven τ_b -Koeffizienten vor, nimmt der BMI mit zunehmendem Alter hingegen ab (dies ist eher nicht der Fall), so liegt eine negative Korrelation mit einem negativen τ_b -Koeffizienten vor.

Mann-Whitney-Test

Der Mann-Whitney-Test ist ein Verfahren der Mittelwertanalyse. Er ist geeignet, sowohl die Mittelwerte als auch die Mediane eines metrisch skaliertes Merkmals in zwei unabhängigen Stichproben miteinander zu vergleichen. Geprüft wird die Homogenitätshypothese $H_0: \mu_1 = \mu_2$, d.h. die Aussage, dass die Mittelwerte in den beiden Stichproben sich nicht signifikant unterscheiden. Diese wird bei $\alpha < 0.05$ verworfen. In der Datenbank kann mit diesem Test z.B. die Abhängigkeit des BMI oder der Triglyceride vom Geschlecht überprüft werden.

Kruskal-Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test ist analog dem Mann-Whitney-Test ein Verfahren der Mittelwertanalyse. Er stellt im Prinzip eine Verallgemeinerung des Mann-Whitney-Tests dar, da er geeignet ist, ein metrisch skaliertes Merkmal in k unabhängigen Stichproben zu analysieren. Ist $k=2$ sind die Ergebnisse vom Kruskal-Wallis und vom Mann-Whitney-Test identisch. In der Datenbank kann mit diesem Test z.B. die Abhängigkeit der Lipidwerte vom ApoE oder vom Raucherstatus (Nichtraucher, Ex-Raucher, Raucher) überprüft werden.

Die Ergebnisse sprich p-Werte der verschiedenen Tests werden gesammelt und in der bereits erwähnten „Entfernungstabelle“ eingetragen. Bei den Tests zur Mittelwertanalyse ist zusätzlich eine graphische Darstellung sinnvoll, um zu erkennen in welcher Gruppe die niedrigeren und in welcher die höheren Mittelwerte zu finden sind. Dies geschieht am sinnvollsten in Form der **Box-and-Whisker Plots**, die die Häufigkeitsverteilung eines metrisch skalierten Merkmals durch fünf statistische Werte kennzeichnen: kleinster Wert, unteres Quartil, mittleres Quartil, oberes Quartil und größter Wert.

Schließlich wird dann zu diskutieren sein, welche Parameter als statistisch unabhängig und medizinisch relevant für die KHK zu bezeichnen sind und somit zusammen mit dem zu untersuchenden Gen in die logistische Regression eingeführt werden. Allerdings sind Interaktionen zwischen den Variablen nicht mit Sicherheit zu verhindern, wenn diese z.B. Faktoren betreffen, die aus medizinischer Sicht unbedingt beide im Modell vorkommen müssen. Dies wäre etwa bei einer Altersabhängigkeit des Hypertonus der Fall. Hypertonus und Alter als klassische Risikofaktoren sollten sicher ins Modell eingeführt werden. Dennoch ist die Zusammenhangsanalyse als erster Schritt der statistischen Auswertung sinnvoll, da man auf diese Weise einen Überblick über die Abhängigkeitsverhältnisse in der Datenbank erhält und Interaktionen in der logistischen Regression so gering wie möglich halten kann.

2.6.2 Logistische Regressionsanalyse

Wird ein Patient eine KHK entwickeln oder wird er es nicht? Um eine derartige Frage zu beantworten, ob ein Ereignis auftreten wird oder nicht, müssen Variablen bzw. Faktoren identifiziert werden, die geeignet sind, eine solche Vorhersage zu treffen.

Statistisch gesehen handelt es sich bei der KHK um eine binär kodierte (0=keine KHK, 1=KHK) abhängige Variable. Es gibt nun eine Vielzahl an multivariaten statistischen Techniken, die benutzt werden können, um eine solche binäre Variable auf dem Boden eines Sets an unabhängigen Variablen vorherzusagen. Die Regressions- oder Abhängigkeitsanalyse ist ein Teilgebiet der multivariaten Statistik. Als ein Modell, das insbesondere geeignet ist, die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses einzuschätzen, in dem also die abhängige Variable lediglich zwei Werte

annehmen kann (tritt auf/tritt nicht auf), wird in der statistischen Literatur die logistische Regression beschrieben [77]. Das zu erklärende Merkmal wird hierbei als dichotome, 0-1-kodierte Zufallsvariable aufgefasst und die logistische Regression als ein spezielles Wahrscheinlichkeitsmodell interpretiert [78].

In der logistischen Regression wird die Auftretenswahrscheinlichkeit eines Ereignisses ($\text{Prob}(\text{event})$) geschätzt. Bei mehr als einer unabhängigen Variablen – was bei der KHK, die ja eine Vielzahl an RF aufweist, der Fall ist – ergibt sich für das logistische Regressionsmodell folgende Formel:

$$\text{Prob}(\text{event}) = 1 / 1 + e^{-Z}$$

Erläuterung der Formel:

e ist die Basis des Logarithmus naturalis und beträgt näherungsweise 2.718. Hinter Z steht eine weitere Formel, denn $Z = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + \dots + B_nX_n$. B_0 ist ein konstanter Koeffizient, B_1 bis B_n sind Koeffizienten, die in der logistischen Regression durch die maximum-likelihood Methode anhand der Daten geschätzt werden. Das Ergebnis der Wahrscheinlichkeitsschätzung liegt immer – unabhängig vom Z-Wert – zwischen 0 und 1. Werte nahe der 1 zeigen eine hohe Wahrscheinlichkeit für die KHK an, Werte nahe der 0 eine geringe Wahrscheinlichkeit.

Interpretation der Formel für Z:

Hinter den mit X_1 bis X_n bezeichneten Faktoren verbergen sich die Parameter aus der Datenbank, die nach der Zusammenhangsanalyse nun in Bezug auf ihre KHK-Vorhersagekraft untersucht werden sollen. Dies sind einerseits die klassischen RF, andererseits die Lipidwerte und schließlich das jeweilige Gen. Die dazugehörigen mit B_1 bis B_n bezeichneten Regressionskoeffizienten sind von entscheidender Bedeutung. Sie geben einem an, in welchem Ausmaß sich die abhängige Variable (KHK) verändert für den Fall, dass sich die unabhängige Variable um eine Einheit ändert. Sie zeigen also z.B. an, wie sich die KHK-Häufigkeit verändert, wenn der Faktor Alter um 1 Jahr zunimmt. Graphisch ausgedrückt geben sie die Steigung einer Geraden eines Koordinatensystems an, in dem die Odds für eine KHK auf der y-Achse und der RF in mg/dl im Falle eines Lipidwertes oder in Jahren beim RF Alter etc. auf der x-Achse aufgetragen wird. B_0 ist eine errechnete Konstante, die quasi ein

gewisses Grundrisiko widerspiegelt bzw. graphisch gesehen den Schnittpunkt der Geraden mit der y-Achse repräsentiert.

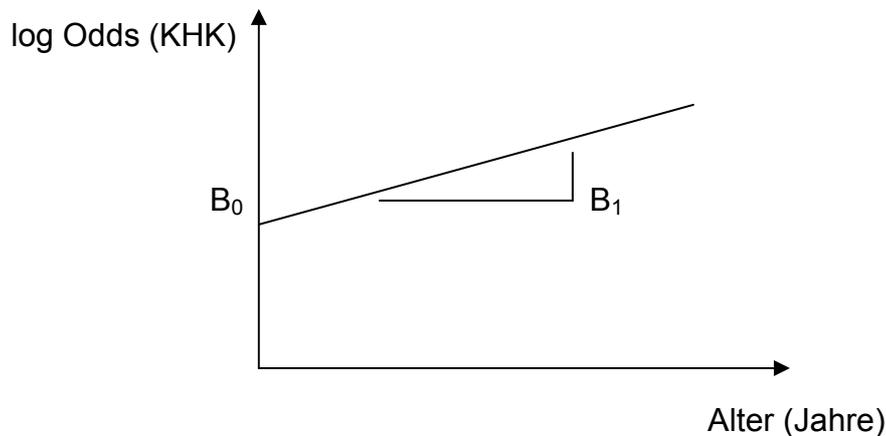


Tabelle 4: Beispiel eines SPSS-Ergebnisses nach logistischer Regression für LPL S447X

		Regressions- koeffizient B	Standard- fehler (S.E.)	Wald	df	Signifikanz p-Wert	Exp(B)= Odds
Schritt 1	Alter	,069(=B1)	,011	40,238	1	,000	1,071
	Geschlecht (1)	,760(=B2)	,285	7,112	1	,008	2,137
	Diabetes	-1,017(=B3)	,369	7,583	1	,006	,362
	Hypertonus	-,849(=B4)	,254	11,176	1	,001	,428
	Lp(a)	,018(=B5)	,003	36,707	1	,000	1,018
	HDL-c	-,027(=B6)	,010	7,243	1	,007	,974
	ln(TRIGLY)	-,131(=B7)	,184	,503	1	,478	,877
	LPL S447X (1)	-,284(=B8)	,352	,650	1	,420	,753
	Konstante	-2,485(=B0)	1,524	2,661	1	,103	,083

In diesem Beispielmodell erscheinen als Variablen, deren Einfluss auf die KHK geprüft wird, das Alter, das Geschlecht, Diabetes, Hypertonus, Lp(a), HDL-c, die logarithmisch transformierten Triglyceride und das LPL-Gen mit dem Polymorphismus S447X. Der Regressionskoeffizient B und sein Standardfehler sind in den ersten beiden Spalten zu finden. Um den Regressionskoeffizienten besser zu verstehen, hilft es, sich eine Umstellung der Formel des logistischen Regressionsmodells vorzustellen, bei der das logistische Modell in einen Ausdruck der Chancen (Odds) eines Ereignisses umgeformt wird:

$$\log [\text{Prob}(\text{event}) / \text{Prob}(\text{no event})] = B_0 + B_1X_1 + \dots + B_nX_n$$

Aus der Gleichung wird ersichtlich, dass der logistische Koeffizient als die Veränderung der log Odds interpretiert werden kann für den Fall einer Änderung der unabhängigen Variablen um eine Einheit. In der Beispiel-Tabelle würde dies für das Alter etwa bedeuten, dass eine Zunahme um ein Jahr bei gleich bleibenden anderen Variablen zu einer Zunahme der log Odds für die KHK um 0.69 führt. Da es jedoch einfacher ist, über direkte Chancen (Odds) zu sprechen als über die log Odds, ist eine erneute Umformung der Gleichung nötig:

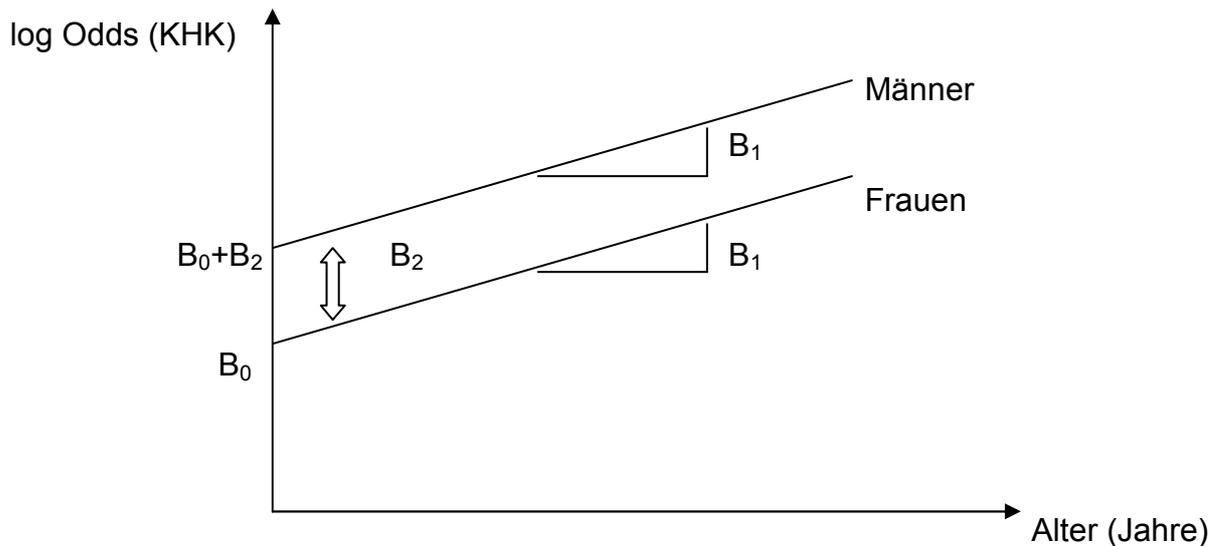
$$\text{Prob(event) / Prob(no event)} = e^{B_0+B_1X_1+\dots+B_nX_n} = e^{B_0} e^{B_1X_1} \dots e^{B_nX_n}$$

Ist der Regressionskoeffizient B positiv, so steigt die Chance der KHK (Prob(event)), ist B negativ, sinkt die Chance demzufolge. Ist B gleich null, so bleibt eine Veränderung dieser unabhängigen Variablen ohne Einfluss auf die KHK-Chance. In der Tabelle ist die Veränderung der Odds im Ausdruck $\text{Exp}(B)$ wiederzufinden. Errechnet man hier z.B. die KHK-Wahrscheinlichkeit eines 45jährigen und teilt dann diese durch die errechnete KHK-Wahrscheinlichkeit eines 44jährigen, so erhält man einen Faktor von 1.071 ($=\text{Exp}(B)$).

Die eigentliche Signifikanzprüfung bezieht sich auf den logistischen Regressionskoeffizienten B also das Ausmaß der Steigung. Das Alter zeigt im Beispielmodell einen p-Wert von 0.000 und wäre hiermit als ein hochsignifikanter Risikofaktor der KHK zu interpretieren.

Die nominal skalierten Parameter wie Geschlecht (m/w), Diabetes mellitus (ja/nein), Hypertonus (ja/nein) etc. sind wie folgt zu beurteilen: Im Falle dieser drei Beispiele handelt es sich jeweils um 2-Kategorien Variablen, die mit 0 und 1 kodiert werden. 1 bedeutet Vorhandensein des Risikofaktors, 0 Fehlen des Risikofaktors. Im Falle des Geschlechts bedeutet 1 männliches Geschlecht und 0 weibliches bzw. nicht männliches Geschlecht. Der Regressionskoeffizient beschreibt in diesen Fällen die Differenz der log Odds für die KHK zwischen den beiden Kategorien.

Graphisch würde die Altersentwicklung sich nun geschlechtsabhängig wie folgt darstellen:



Hat eine Variable mehr als 2 Ausprägungen wie z.B. das Rauchen (Nichtraucher/Ex-Raucher/Raucher), so muss zunächst eine Kodierung dieser kategorialen Variablen vorgenommen werden, in der eine Kategorie (z.B. Nichtraucher) als Referenzgruppe festgelegt wird. Der Regressionskoeffizient für die anderen Kategorien beschreibt dann die Veränderung der log Odds für die KHK im Vergleich zur Referenzgruppe, hier also zu den Nichtrauchern.

Letztendlich stellt die logistische Regression ein statistisches Verfahren dar, das es ermöglicht, einen so komplexen Datensatz im Hinblick auf ein Ereignis wie die KHK unter Berücksichtigung zahlreicher und durch mögliche Interaktionen geprägter Variablen zu analysieren.

2.6.3 Univariate Analyse

Eine multivariate Analyse der Gene in Form der logistischen Regression ist zwar die angestrebte Analysemethode, doch sind hierfür ausreichende Fallzahlen notwendig. Bei den betreffenden Genen, die keine ausreichende Fallzahl aufweisen, muss eine univariate Analyse in Form des bereits erwähnten Chi-Quadrat-Tests durchgeführt werden. Besondere Berücksichtigung sehr niedriger Fallzahlen in einigen Feldern bietet in SPSS der exakte Fisher-Test, der eine Sonderform des Chi-Quadrat-Tests darstellt und für entsprechende Gene angewandt wird. Die Beachtung der klassischen RF bleibt hier auf die anfängliche Zusammenhangsanalyse beschränkt.

3 Ergebnisse

3.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

In den folgenden Tabellen werden die Häufigkeiten von klinischen Parametern wie Rauchen, Diabetes mellitus Typ 2 oder KHK angegeben sowie die Mittelwerte des Patientenalters, des BMI und der Laborwerte aufgeführt. Für die Triglyceride und das Lipoprotein (a) wird wegen fehlender Normalverteilung nicht das arithmetische Mittel sondern der Median angegeben.

Tabelle 5: Häufigkeitsanalyse klinischer Parameter des Kollektivs

n = 1371 Patienten

	<i>n</i>
Geschlecht: M/F	798/573
Raucher	465
Ex-Raucher	289
Nichtraucher	601
KHK	227
pAVK	60
Diabetes mellitus Typ 2	129
arterieller Hypertonus	304
Hypercholesterinämie	639
Hypertriglyceridämie	37
gem. Hyperlipoproteinämie	695

- 1) *Hypercholesterinämie (HChol)*=
Cholesterin > 200 mg/dl, Triglyceride < 180 mg/dl
- 2) *Hypertriglyceridämie (HTG)*=
Triglyceride > 180 mg/dl, Cholesterin < 200 mg/dl
- 3) *gem. Hyperlipoproteinämie*=
Cholesterin > 200 mg/dl + Triglyceride > 180 mg/dl

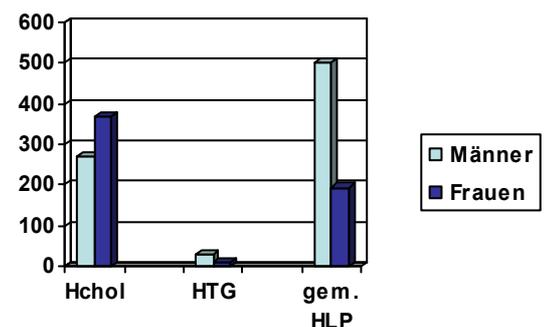


Tabelle 6: Mittelwertanalyse und Standardabweichungen von Alter, Body mass index (BMI) und Laborwerten, Mediane von Triglyceriden und Lp(a)

n=1371 Patienten

	insgesamt	Männer	Frauen
Alter (Jahre)	45,45 ± 13,5	45,3 ± 11,8	45,7 ± 15,5
BMI (kg/m ²)	26,43 ± 4,0	27,13 ± 3,5	25,46 ± 4,5
Gesamt-c (mg/dl)	281 ± 110	273 ± 106	291 ± 116
Triglyceride(mg/dl)	183	255	132
LDL-c (mg/dl)	184 ± 69	176 ± 66	193 ± 72
HDL-c (mg/dl)	48 ± 18	41 ± 13	57 ± 20
Lp(a) (mg/dl)	8	6	12

Die wichtigsten Erkenntnisse der Tabellen 5 und 6 sowie der Graphik 1 sind folgende: Es befinden sich in der Datenbank 225 mehr Männer als Frauen, d.h. 58,2% der Patienten sind männlich, 41,8% weiblich. Bei den Männern liegen deutlich häufiger gemischte Hyperlipoproteinämien oder Hypertriglyceridämien vor, wohingegen Frauen typischerweise reine Hypercholesterinämien aufweisen. Dementsprechende geschlechtsabhängige Mittelwertunterschiede in den jeweiligen Lipidwerten zeigt Tabelle 5. Außerdem findet sich hier ein deutlich höherer Lp(a)-Median bei den Frauen. Bei 227 Patienten (16,6%) konnte eine KHK nachgewiesen werden bzw. war bereits zum Zeitpunkt des ersten Besuchs bekannt. 304 Patienten (22,2%) leiden an einem arteriellen Hypertonus, 129 Patienten (9,4%) sind an einem Diabetes mellitus Typ 2 erkrankt.

Tabelle 7: Häufigkeitsanalyse der untersuchten Genvarianten

Apo E	3/3	3/4	4/4
n=1361	720 (52,9%)	400 (29,4%)	54 (4%)
	2/3	2/4	
	143 (10,5%)	44 (3,2%)	
LPL -93tg	tt	tg	gg
n=1019	970 (95,2%)	48 (4,7%)	1 (0,1%)
LPL S447X	SS	SX	XX
n=979	857 (87,5%)	115 (11,7%)	7 (0,7%)
LPL D9N	DD	DN	NN
n=1117	1072 (96%)	44 (3,9%)	1 (0,1%)
LPL N291S	NN	NS	SS
n=1173	1098 (93,6%)	67 (5,7%)	8 (0,7%)
ABCA 1	RR	RK	KK
n=452	250 (55,3%)	170 (37,6%)	32 (7,1%)
CETP	B1B2	B1B1	B2B2
n=429	216 (50,3%)	146 (34%)	67 (15,6%)
PPAR α	LL	LV	VV
n=383	335 (87,5%)	46 (12%)	2 (0,5%)
PPAR γ	PP	PA	AA
n=251	184 (73,3%)	65 (25,9%)	2 (0,8%)
Apo A5	TT	TC	CC
n=378	303 (80,2%)	66 (17,5%)	9 (2,4%)
HL	cc	ct	tt
n=509	278 (54,6%)	208 (40,9%)	23 (4,5%)

Wie aus Tabelle 7 zu entnehmen ist, lag zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht für jeden Patienten ein kompletter Status der interessierenden Kandidatengene vor. Lediglich das ApoE sowie die verschiedenen LPL-Polymorphismen sind nahezu bei jedem Patienten untersucht worden. Bei der Bildung der Modelle für die logistische Regression werden diese Fallzahlunterschiede deutlich und bei einigen Genen bleibt die Analyse dadurch auf die univariate Statistik in Form des Chi-Quadrat-Tests bzw. des exakten Fisher-Tests beschränkt. Durch die vorangehende Zusammenhangsanalyse finden die etablierten Risikofaktoren jedoch auch bei der Untersuchung dieser Gene Berücksichtigung. Da außerdem die Fallzahlen in einigen Untergruppen für eine sinnvolle statistische Auswertung zu gering sind, werden Genvarianten zu größeren Gruppen zusammengefasst. Üblicherweise werden hierbei homozygote und heterozygote Träger des selteneren Allels zusammengefasst. Dies betrifft konkret folgende Genvarianten:

- | | |
|---|---|
| 1) ApoE: 3/4 + 4/4 \Rightarrow *4 | 2) LPL -93tg: tg + gg \Rightarrow *g |
| 3) LPL S447X: SX + XX \Rightarrow *X | 4) LPL D9N: DN + NN \Rightarrow *N |
| 5) LPL N291S: NS + SS \Rightarrow *S | 6) ABCA1: RK + KK \Rightarrow *K |
| 7) PPAR α : LV + VV \Rightarrow *V | 8) PPAR γ : PA + AA \Rightarrow *A |
| 9) ApoA5: TC + CC \Rightarrow *C | 10) HL: ct + tt \Rightarrow *t |

3.2 Untersuchung klassischer Risikofaktoren

Tabelle 8: Univariate Analyse klassischer RF mittels Chi-Quadrat- bzw. Mann-Whitney-Test

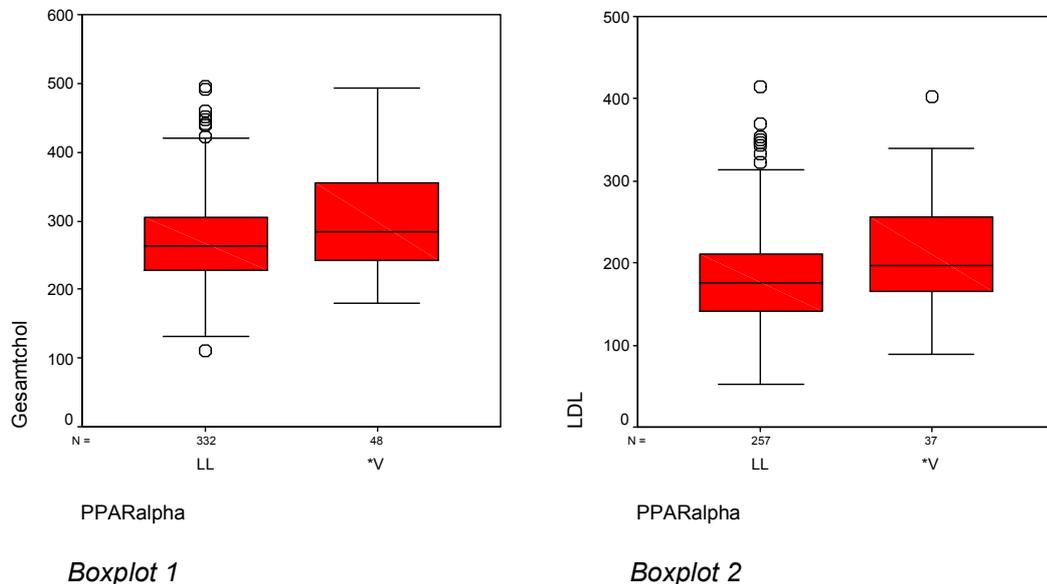
	KHK n=227	Ø KHK n=1144	p
Alter (Jahre)	54,5	43,7	$< 10^{-3}$
Geschlecht m/w	157/70	641/503	$< 10^{-3}$
Raucher (%)	25,2	36,1	0,266
Ex-Raucher (%)	38,3	17,7	$< 10^{-3}$
art. Hypertonus (%)	48,9	20,9	$< 10^{-3}$
DM Typ 2 (%)	24	7,9	$< 10^{-3}$
Gesamtchol. (mg/dl)	284 \pm 166	280 \pm 96	0,648
Triglyceride (mg/dl)	210	176	0,041
LDL-c (mg/dl)	175 \pm 80	186 \pm 66	0,046
HDL-c (mg/dl)	43,3 \pm 17	49 \pm 18	$< 10^{-3}$
Lp(a) (mg/dl)	17	7	$< 10^{-3}$

Die Tabelle 8 zeigt einen hochsignifikanten Einfluss der klassischen Risikofaktoren Alter, männliches Geschlecht, Hypertonus, Diabetes mellitus Typ 2, HDL-Cholesterin sowie des Lp(a) und einen knapp signifikanten Einfluss der Triglyceride auf die KHK. Für das Rauchen kann bei dem untersuchten Patientengut dieser Einfluss nicht gezeigt werden. Die KHK-Prävalenz ist dagegen unter den Ex-Rauchern am höchsten. (siehe hierzu *Diskussion*). Auch das Gesamtcholesterin erscheint nicht als signifikanter Einflussfaktor der KHK in diesem Kollektiv. Das LDL-c ist sogar in der Patientengruppe ohne KHK signifikant höher als in der KHK-Gruppe (siehe hierzu *Diskussion*).

3.3 Ergebnisse der univariaten Analyse

3.3.1 PPAR α

In der Zusammenhangsanalyse konnte für PPAR α ein Zusammenhang mit den Lipidwerten Gesamtcholesterin und LDL-c nachgewiesen werden:



Boxplot 1 zeigt eine signifikante Erhöhung des Gesamtcholesterin bei *V-Allelträgern im Vergleich zu den LL-Trägern, der p-Wert beträgt **0.012**. Boxplot 2 zeigt eine signifikante Erhöhung des LDL-c bei *V-Allelträgern, der p-Wert beträgt hier **0.023**.

Ein möglicher Einfluss auf die KHK wird aufgrund der niedrigen Fallzahlen mittels univariater Analyse in Form des exakten Fisher-Tests untersucht. Die klassischen RF wurden in der vorangegangenen Zusammenhangsanalyse berücksichtigt. Hierbei fanden sich außer bei den Lipidwerten keinerlei Abhängigkeiten von der Genvariante.

Tabelle 9: KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für PPAR α

PPAR α (n=383)	KHK	Ø KHK
LL (n=335)	46 (13.7%)	289 (86.3%)
*V (n=48)	6 (12.5%)	42 (87.5%)

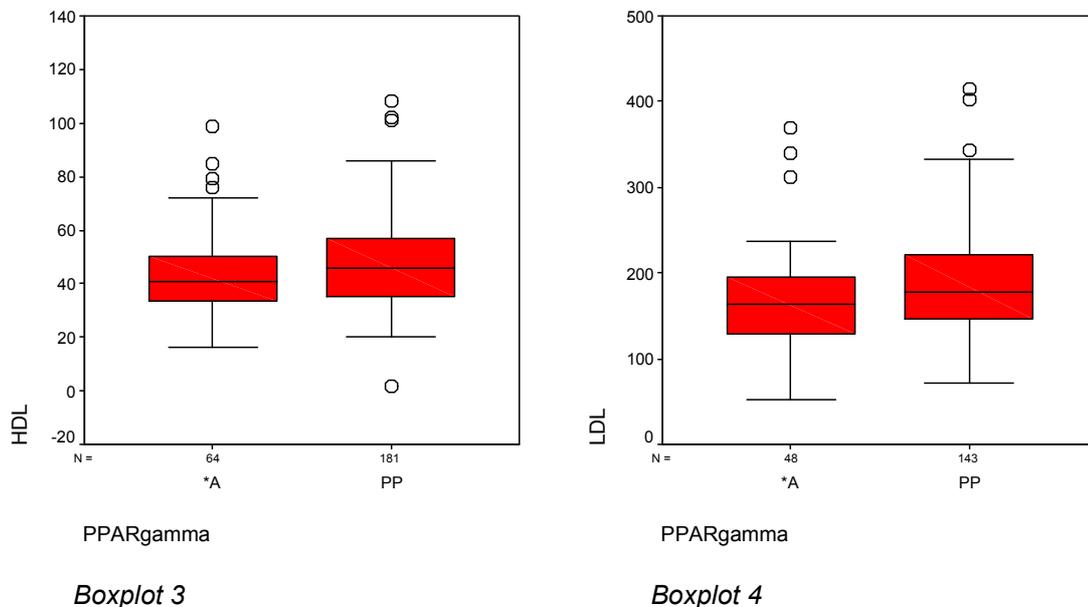
p=1.000

Es kann für das vorliegende Patientenkollektiv keinerlei Einfluss des L162V-Polymorphismus auf die KHK gezeigt werden. Mit 13.7% bei den LL-Trägern und

12.5% bei den *V-Trägern ist die KHK in beiden Gruppen kaum unterschiedlich häufig, der p-Wert beträgt 1.000.

3.3.2 PPAR γ

In der Zusammenhangsanalyse konnte eine Abhängigkeit der Lipidwerte HDL-c und LDL-c vom P12A-Polymorphismus des PPAR γ -Gens gezeigt werden:



Boxplot 3 zeigt eine signifikante Erhöhung des HDL-c bei den PP-Trägern im Vergleich zu den *A-Trägern, der p-Wert beträgt **0.042**. Boxplot 4 zeigt ebenfalls eine signifikante Erhöhung diesmal des LDL-c bei den PP-Trägern, der p-Wert beträgt **0.033**.

Der P12A-Polymorphismus des PPAR γ -Gens wird in seinem möglichen Einfluss auf die KHK ebenfalls durch den exakten Fisher-Test untersucht:

Tabelle 10: KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für PPAR γ

PPAR γ (n=251)	KHK	Ø KHK
PP (n=184)	21 (11.4%)	163 (88.6%)
*A (n=67)	7 (10.4%)	60 (89.6%)

p=1.000

Auch hier kann für das vorliegende Patientenkollektiv keinerlei Einfluss des P12A-Polymorphismus auf die KHK gezeigt werden. Mit 11.4% bei den PP-Trägern und 10.4% bei den *A-Trägern ist die KHK in beiden Gruppen etwa gleich häufig, der p-Wert beträgt **1.000**.

3.3.3 LPL D9N und LPL -93tg

In der Zusammenhangsanalyse fanden sich keinerlei signifikante Abhängigkeiten der Lipidwerte vom D9N- oder vom -93tg-Polymorphismus des Lipoproteinlipase-Gens. Bei der Untersuchung eines möglichen Einflusses auf die KHK liefert der exakte Fisher-Test einen p-Wert von **0.413** für LPL D9N und einen p-Wert von **0.844** für LPL -93tg.

Tabelle 11: KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für LPL D9N

LPL D9N (n=1117)	KHK	Ø KHK
DD (n=1072)	170 (15.9%)	902 (84.1%)
*N (n=45)	9 (20.0%)	36 (80.0%)

p=0.413

Zwar zeigen die *N-Träger mit einem Anteil von 20% eine höhere KHK-Häufigkeit als die DD-Träger mit einem Anteil von 15.9% (es ergibt sich eine Odds Ratio von 1.26), jedoch erreicht dieser Unterschied nicht das vorgegebene Signifikanzniveau von 0.05. Der p-Wert beträgt **0.413**.

Tabelle 12: KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für LPL -93tg

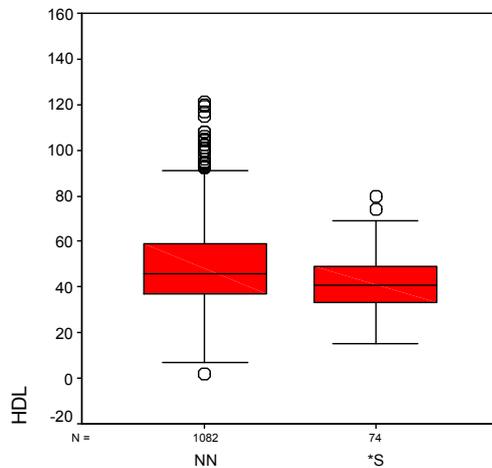
LPL -93tg (n=1019)	KHK	Ø KHK
tt (n=970)	154 (15.9%)	816 (84.1%)
*g (n=49)	8 (16.3%)	41 (83.7%)

p=0.844

Auch beim LPL -93tg-Polymorphismen zeigen sich kaum Unterschiede der KHK-Häufigkeit in den beiden Gruppen tt-Träger und *g-Träger. Es ergibt sich lediglich ein p-Wert von **0.844**.

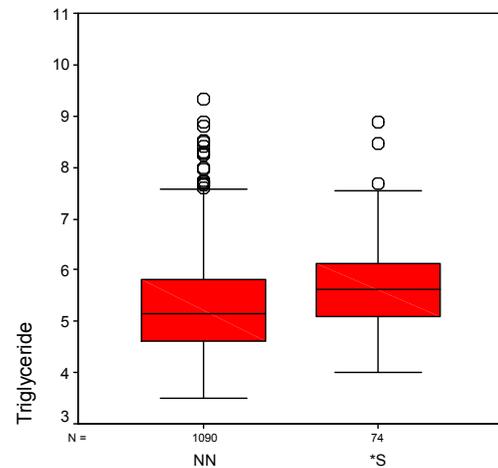
3.3.4 LPL N291S

In der Zusammenhangsanalyse zeigte sich ein Einfluss des N291S-Polymorphismus auf die Lipidwerte HDL-c, Triglyceride und Lp(a):



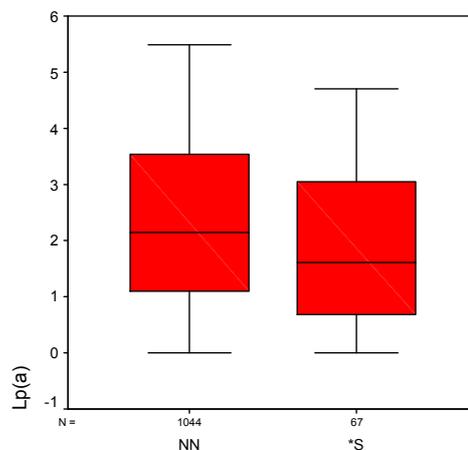
LPL_N291S

Boxplot 5



LPL_N291S

Boxplot 6



LPL_N291S

Boxplot 7

Boxplot 5 zeigt signifikant höhere HDL-c-Werte bei den NN-Trägern im Vergleich zu den *S-Trägern, es ergibt sich ein p-Wert von **0.001**. Boxplot 6 zeigt die zu Darstellungszwecken logarithmisch transformierten Triglyceride. Diese sind bei den *S-Trägern mit einem p-Wert von $< 10^{-3}$ signifikant höher als bei den NN-Trägern. Das ebenfalls logarithmisch transformierte Lp(a) ist im vorliegenden Kollektiv bei den NN-Trägern höher als bei den *S-Trägern, der p-Wert hierfür beträgt **0.033**.

Der KHK-Einfluss, der erneut mittels exaktem Fisher-Test untersucht wird, liefert folgendes Ergebnis:

Tabelle 13: KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für LPL N291S

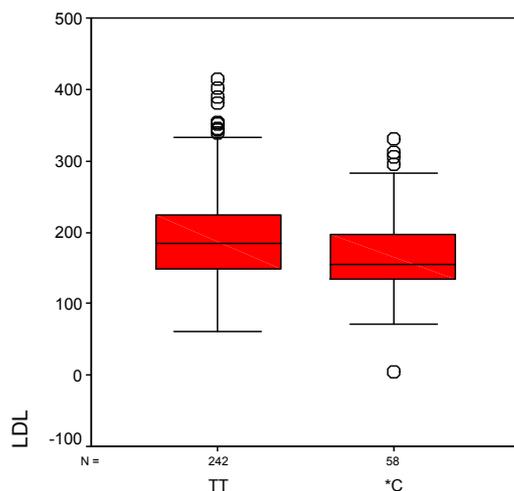
LPL N291S (n=1173)	KHK	Ø KHK
NN (n=1098)	178 (16.2%)	920 (83.8%)
*S (n=75)	9 (12.0%)	66 (88.0%)

p=0.416

Es zeigt sich eine höhere Prävalenz der KHK bei Patienten mit NN-Trägerstatus im Vergleich zu den *S-Trägern mit einer Odds Ratio von 1.35. Mit einem p-Wert von **0.416** ist dieser Häufigkeitsunterschied jedoch nicht signifikant, so dass erneut keinerlei Einfluss des untersuchten Gens auf die KHK nachgewiesen werden kann.

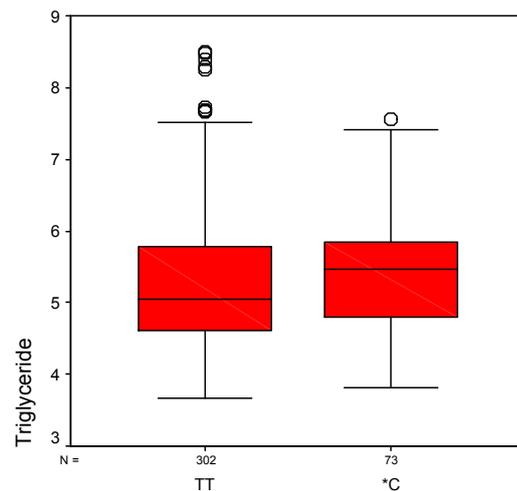
3.3.5 ApoA5

In der Zusammenhangsanalyse konnte ein Einfluss des -1131 T>C-Polymorphismus im ApoA5-Gen auf das LDL-c und auf die Triglyceride nachgewiesen werden:



ApoA5

Boxplot 8



ApoA5

Boxplot 9

Boxplot 8 zeigt signifikant höhere LDL-c-Werte bei den TT-Trägern im Vergleich zu den *C-Trägern, der p-Wert beträgt **0.015**. Ein umgekehrtes Bild zeigt sich bei den

logarithmisch transformierten Triglyceriden. Hier finden sich höhere Werte bei den *C-Trägern gegenüber den TT-Trägern. Es ergibt sich ein p-Wert von **0.031**.

Im Hinblick auf das KHK-Risiko ergibt sich für Apo A5 folgende Tabelle mit einem im exakten Fisher-Test ermittelten p-Wert von **1.000**:

Tabelle 14: KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für Apo A5

Apo A5 (n=378)	KHK	Ø KHK
TT (n=303)	43 (14.2%)	260 (85.8%)
*C (n=75)	10 (13.3%)	65 (86.7%)

p=1.000

Wie bereits bei den zuvor untersuchten Genen kann auch für den -1131 T>C-Polymorphismus im Apo A5-Gen kein signifikanter Einfluss auf die Entwicklung einer KHK gezeigt werden. Mit 14.2% und 13.3% sind die Häufigkeitsunterschiede der KHK zwischen den TT-Trägern und den *C-Trägern zu gering.

3.4 Ergebnisse der logistischen Regression

Die nun folgenden Polymorphismen epsilon (ApoE), S447X (LPL), R219K (ABCA1), TaqIB (CETP) und -480 c>t (HL) wurden aufgrund der ausreichenden Fallzahlen mittels logistischer Regressionsanalyse untersucht.

Zunächst war es hierfür notwendig, für die Gene passende Basismodelle zu entwickeln. In der statistischen Literatur finden sich viele verschiedene Strategien zum Thema Modellbildung und Variablenauswahl bei der logistischen Regression. Anzustreben ist hierbei eine Synthese aus medizinischer Kenntnis einerseits und statistischen Bedingungen andererseits. Im Basismodell tauchen daher alle Variablen auf, die als medizinisch sinnvoll und statistisch geeignet erscheinen, um die koronare Herzerkrankung vorherzusagen bzw. das Risiko einzuschätzen. Im Chi-Quadrat- und im Mann-Whitney-Test als univariate statistische Analyseverfahren konnten die Parameter Alter, männliches Geschlecht, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, Lp(a), HDL-c und Triglyceride als Faktoren mit signifikantem Einfluss auf die KHK bestätigt werden. Die Faktoren Rauchen, Gesamt- und LDL-

Cholesterin hingegen erscheinen für das vorliegende Patientenkollektiv nicht geeignet, um das KHK-Risiko zu stratifizieren. Im ersten Schritt wurden deshalb gemäß den Ergebnissen der univariaten Analyse alle für das Kollektiv relevanten Risikofaktoren ins Modell eingeführt:

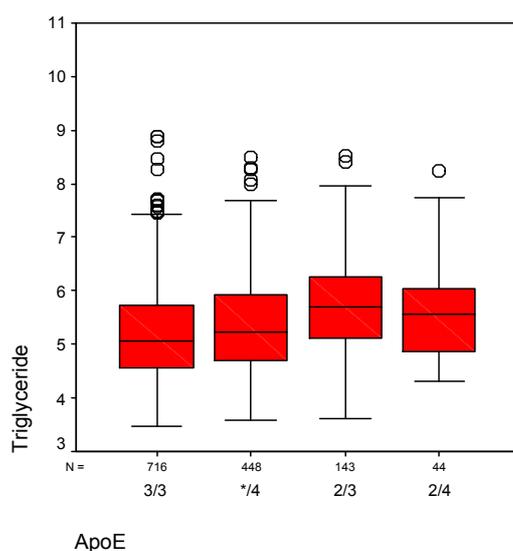
Tabelle 15: Basismodellentwicklung für die logistische Regressionsanalyse

Merkmal	Referenzgruppe	Signifikanz p-Wert	Exp (B)=Odds	95% KI für Exp (B)
Alter		$< 10^{-3}$	1.08	1.06 – 1.10
Geschlecht	weiblich	0.002	2.11	1.31 – 3.39
Hypertonus	kein Hypert.	$< 10^{-3}$	2.08	1.39 – 3.13
Diabetes	kein DM	0.075	1.66	0.95 – 2.88
Lp(a)		$< 10^{-3}$	1.02	1.01 – 1.02
HDL-c		$< 10^{-3}$	0.97	0.96 – 0.99
Triglyceride		0.633	1.00	1.00 – 1.00
Konstante		$< 10^{-3}$	0.00	

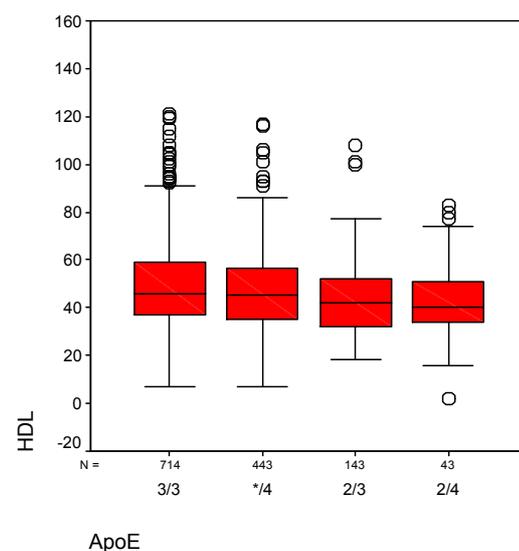
Im ersten Schritt der logistischen Regressionsanalyse zeigt Tabelle 15, dass die – in der univariaten Analyse signifikanten - Faktoren Diabetes mellitus und Triglyceride keinen p-Wert unter 0.05 mehr erreichen. Das nun entstandene Basismodell wird für die Analyse von ApoE und LPL S447X benutzt.

3.4.1 ApoE

In der Zusammenhangsanalyse zeigte sich eine Abhängigkeit der Triglyceride und des HDL-c vom ApoE-Trägerstatus:



Boxplot 10



Boxplot 11

Gegenüber den ApoE 3/3-Trägern finden sich signifikante Erhöhungen der Triglyceride (logarithmisch transformiert) bei den Patienten, die das ε2-Allel tragen, der p-Wert beträgt $< 10^{-3}$. Das HDL-c hingegen erscheint bei den Patienten mit */2 oder 2/4-Genstatus gegenüber den ApoE 3/3-Trägern erniedrigt, der p-Wert hierfür beträgt **0.005**.

Der mögliche Einfluss des epsilon-Polymorphismus auf die Entwicklung einer KHK liefert in der logistischen Regression folgendes Ergebnis:

Tabelle 16: Logistische Regression für den Zusammenhang von ApoE epsilon und KHK

Merkmal	Referenzgruppe	Signifikanz p	Exp (B)= Odds Ratio	95% KI für Exp (B)
Alter		$< 10^{-3}$	1.081	1.062 - 1.099
Geschlecht	weiblich	0.002	2.033	1.310 - 3.157
Hypertonus	Hypertoniker	$< 10^{-3}$	0.439	0.300 - 0.641
Lp(a)		$< 10^{-3}$	1.017	1.013 - 1.022
HDL-c		$< 10^{-3}$	0.969	0.957 - 0.982
ApoE				
ApoE */4	ApoE 3/3	0.499	0.871	0.584 - 1.299
ApoE 2/3	ApoE 3/3	0.182	0.648	0.342 - 1.225
ApoE 2/4	ApoE 3/3	0.073	0.247	0.054 - 1.140
Konstante		$< 10^{-3}$	0.012	

Alter, männliches Geschlecht, arterieller Hypertonus, Lp(a)-Erhöhungen und niedrige HDL-Werte erscheinen in der logistischen Regression als signifikante Einflussfaktoren der KHK. Tabelle 16 zeigt, dass keine der ApoE-Varianten im Vergleich zu den als Referenzgruppe benutzten ApoE 3/3-Trägern ein signifikant verändertes KHK-Risiko aufweist. Außer an den p-Werten von **0.499** für */4-Träger, **0.182** für 2/3-Träger und **0.073** für 2/4-Träger ist dies am angegebenen Konfidenzintervall für den Exponenten(B) zu erkennen. Bei allen 3 Genvarianten ist die 1.000 im Intervall mit eingeschlossen, was bedeutet, dass die Odds Ratio im Vergleich zur Gruppe der 3/3-Träger unverändert bleiben kann.

Zur Plausibilitätskontrolle sollte man sich die Ergebnisse der Häufigkeitsanalyse für die KHK in Abhängigkeit vom ApoE-Status vor Augen führen:

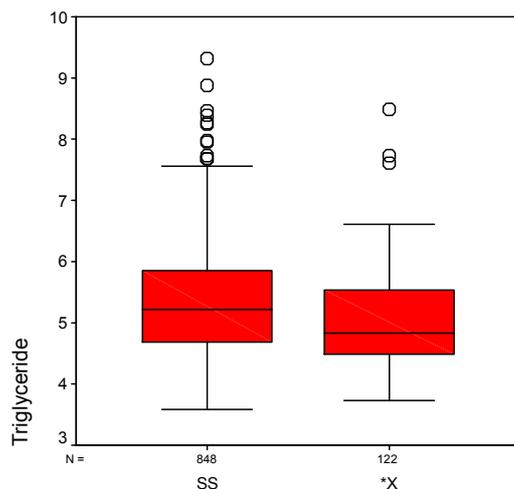
Tabelle 17: KHK-Häufigkeitsanalyse für ApoE

ApoE (n=1361)	KHK	Ø KHK
3/3 (n=720)	122 (16.9%)	598 (83.1%)
*/4 (n=454)	79 (17.4%)	375 (82.6%)
2/3 (n=143)	22 (15.4%)	121 (84.6%)
2/4 (n=44)	3 (6.8%)	41 (93.2%)

Die Ergebnisse der logistischen Regression erscheinen vor dem Hintergrund der Häufigkeitsverteilung plausibel. Die meisten KHK-Patienten finden sich mit einem Anteil von 17.4% zwar in der Gruppe der */4-Allelträger, jedoch besteht kaum ein Unterschied zur 3/3-Trägergruppe, bei denen der Anteil der KHK-Patienten 16.9% beträgt. Die Gruppe der 2/4 weist einen niedrigeren Anteil an KHK-Patienten auf. Von den allerdings nur vorhandenen 44 Patienten sind 3 Patienten von einer KHK betroffen. Dennoch bleibt auch hier die Aussage bestehen, dass der ApoE-Trägerstatus im vorliegenden hyperlipämischen Kollektiv keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer KHK zeigt.

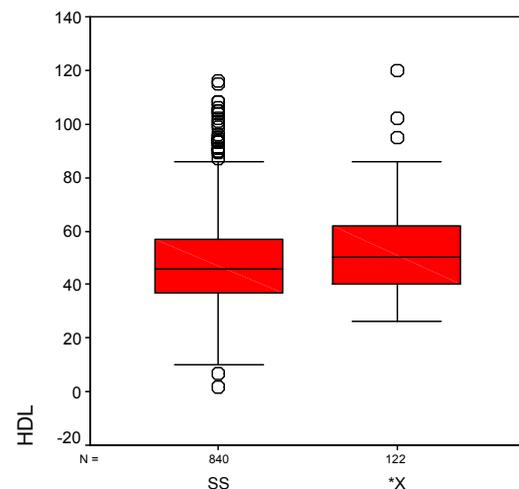
3.4.2 LPL S447X

Für den Polymorphismus S447X des LPL-Gens kann in der Zusammenhangsanalyse ein Einfluss auf die Höhe der Triglyceride und des HDL-c gezeigt werden:



LPL_S447X

Boxplot 12



LPL_S447X

Boxplot 13

Patienten mit dem *X-Trägerstatus unterscheiden sich von den SS-Trägern durch signifikant niedrigere Triglyceride sowie signifikant höhere Werte des HDL-c. Die p-Werte betragen $< 10^{-3}$ für den Einfluss auf die Triglyceridwerte und **0.014** für den Einfluss auf die Höhe des HDL-c.

Die Überprüfung eines möglichen Zusammenhangs der KHK mit dem Trägerstatus des LPL S447X-Polymorphismus liefert in der logistischen Regressionsanalyse folgendes Ergebnis:

Tabelle 18: Logistische Regression für den Zusammenhang von LPL S447X und KHK

Merkmal	Referenzgruppe	Signifikanz p	Exp (B)= Odds Ratio	95% KI für Exp (B)
Alter		$< 10^{-3}$	1.081	1.062 - 1.099
Geschlecht	weiblich	0.002	2.033	1.310 - 3.157
Hypertonus	Hypertoniker	$< 10^{-3}$	0.439	0.300 - 0.641
Lp(a)		$< 10^{-3}$	1.017	1.013 - 1.022
HDL-c		$< 10^{-3}$	0.969	0.957 - 0.982
LPL S447X	SS	0.356	1.353	0.712 – 2.572
Konstante		$< 10^{-3}$	0.012	

Auch hier erscheinen die Parameter Alter, männliches Geschlecht, arterieller Hypertonus, Lp(a)-Erhöhungen und niedrige HDL-Werte in der logistischen Regression als signifikante Einflussfaktoren der KHK. Tabelle 10 zeigt für LPL S447X einen p-Wert von **0.356**. Ein Einfluss dieses Polymorphismus auf die Entstehung einer KHK kann demnach für das vorliegende Kollektiv nicht nachgewiesen werden.

Als Plausibilitätskontrolle dient wiederum die Betrachtung des Ergebnisses der Häufigkeitsanalyse:

Tabelle 19: KHK-Häufigkeitsanalyse für LPL S447X

LPL S447X (n=979)	KHK	Ø KHK
SS (n=857)	132 (15.4%)	725 (84.6%)
*X (n=122)	21 (17.2%)	101 (82.8%)

Die Häufigkeitsanalyse zeigt mit 17.2% einen höheren Anteil an KHK-Patienten unter den Trägern des X-Allels im Vergleich zu den Patienten mit SS-Genstatus, bei denen ihr Anteil 15.4% beträgt. Der p-Wert von 0.356, den die logistische Regression ergibt, lässt sich mit dieser Häufigkeitsverteilung vereinbaren. Somit bleibt für das LPL-Gen

und den S447X-Polymorphismus festzuhalten, dass für das vorliegende Patientenkollektiv kein Zusammenhang mit der KHK nachgewiesen werden kann.

Für die im Folgenden untersuchten Gene ABCA1, CETP und HL wird ebenfalls eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Da hierbei die Fallzahlen jedoch niedriger sind als bei den zuvor analysierten Genen ApoE und LPL S447X, ist die Entwicklung eines neuen Basismodells notwendig.

Je mehr unabhängige Variablen in ein logistisches Modell aufgenommen werden, desto instabiler wird das Modell. Die Größe der geschätzten Standardfehler und die Abhängigkeit von der Güte des erhobenen Datensatzes nehmen zu [79]. Mit sinkenden Fallzahlen wird es demnach für die Statistik immer schwieriger, möglichst alle klinisch relevanten Variablen im Modell beizubehalten. Das für die Gene ABCA1, CETP und HL resultierende Basismodell beinhaltet nur noch die Variablen Alter, HDL-c und Lp(a). Alle anderen klinisch relevanten Parameter wie der Hypertonus und das Geschlecht besitzen für die Untersuchung dieser drei Gene keine statistische Bedeutung, sondern führen zu einer zunehmenden Instabilität des Modells.

3.4.3 ABCA1

In der Zusammenhangsanalyse finden sich keinerlei Abhängigkeiten des ABCA1 R219K-Polymorphismus mit anderen Parametern der Datenbank inklusive der gemessenen Lipidwerte. Die Untersuchung des Einflusses auf die KHK zeigt in der logistischen Regression folgendes Ergebnis:

Tabelle 20: Logistische Regression für den Zusammenhang von ABCA1 R219K und KHK

Merkmal	Referenzgruppe	Signifikanz p	Exp (B)= Odds Ratio	95% KI für Exp (B)
Alter		< 10 ⁻³	1.090	1.060 – 1.121
Lp(a)		0.007	1.011	1.003 – 1.019
HDL-c		0.001	0.964	0.943 – 0.985
ABCA1 R219K	*K	0.175	1.542	0.825 – 2.883
Konstante		< 10 ⁻³	0.006	

Die Parameter Alter, Lp(a) und HDL-c erscheinen in der logistischen Regression als signifikante RF der KHK. Mit einem p-Wert von **0.175** erreicht auch der R219K-Polymorphismus keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer KHK für das

vorliegende Patientenkollektiv. Erneut wird zur Plausibilitätskontrolle das Ergebnis der Häufigkeitsanalyse herangezogen:

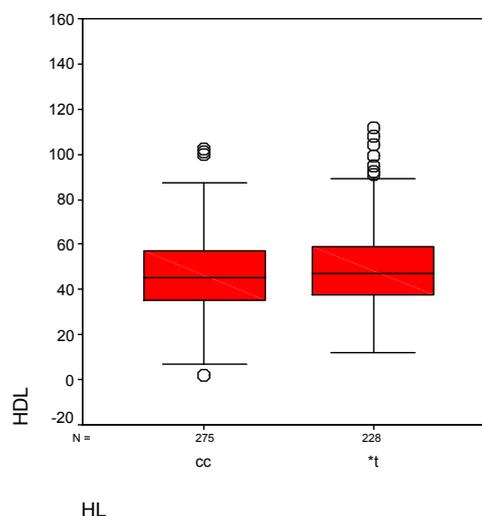
Tabelle 21: KHK-Häufigkeitsanalyse für ABCA1 R219K

ABCA1 R219K (n=452)	KHK	Ø KHK
RR (n=250)	39 (15.6%)	211 (84.4%)
*K (n=202)	21 (10.4%)	181 (89.6%)

In der Häufigkeitsanalyse ist ein Unterschied der KHK-Frequenz in den beiden Gruppen durchaus nachweisbar. Mit 15.6% sind die KHK-Patienten in der Gruppe der RR-Träger zu finden, hingegen mit einem Anteil von lediglich 10.4% in der Gruppe der Träger des K-Allels. In der logistischen Regressionsanalyse ist dieses Ungleichgewicht durchaus nachzuvollziehen. Die Odds Ratio beträgt für RR-Träger 1.542 im Vergleich zu den *K-Trägern. Der p-Wert von 0.175 ist niedrig, erreicht jedoch nicht das vorgegebene Signifikanzniveau von 0.05. Es bleibt also festzuhalten, dass für das vorliegende Kollektiv kein signifikanter Einfluss des R219K-Polymorphismus im ABCA1-Gen auf die KHK-Genese gezeigt werden kann, obgleich ein selteneres Auftreten der KHK bei den *K-Trägern zu finden ist.

3.4.4 Hepatische Lipase

In der Zusammenhangsanalyse zeigt sich ein Einfluss des -480 c>t-Polymorphismus im HL-Gen auf die Höhe des HDL-c:



Boxplot 14

Im Vergleich der cc-Träger mit den *t-Trägern findet sich ein signifikanter Mittelwertunterschied des HDL-c. *t-Träger weisen durchschnittlich höhere HDL-Werte auf. Der p-Wert hierfür beträgt **0.045**.

Die logistische Regression zur Überprüfung eines möglichen Zusammenhangs des -480 c>t-Polymorphismus mit der KHK liefert folgendes Ergebnis:

Tabelle 22: Logistische Regression für den Zusammenhang von HL -480c>t und KHK

Merkmal	Referenzgruppe	Signifikanz p	Exp (B)= Odds Ratio	95% KI für Exp (B)
Alter		< 10 ⁻³	1.081	1.055 – 1.108
Lp(a)		0.002	1.012	1.005 – 1.019
HDL-c		< 10 ⁻³	0.961	0.942 – 0.980
HL -480c>t	cc	0.377	0.772	0.434 – 1.372
Konstante		< 10 ⁻³	0.016	

Die logistische Regression zeigt signifikante p-Werte für die im Modell enthaltenen etablierten Parameter Alter, Lp(a) und HDL-c. Der -480 c>t-Polymorphismus des HL-Gens erreicht mit einem p-Wert von **0.377** keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung einer KHK. Als Plausibilitätskontrolle dient erneut die Betrachtung der Häufigkeitsanalyse:

Tabelle 23: KHK-Häufigkeitsanalyse für HL -480c>t

HL -480 c>t (n=509)	KHK	∅ KHK
cc (n=278)	42 (15.1%)	236 (84.9%)
*t (n=231)	27 (11.7%)	204 (88.3%)

Die KHK ist mit einem Anteil von 15.1% häufiger in der Gruppe der cc-Träger zu finden. Hingegen beträgt ihr Anteil in der Gruppe der *t-Träger lediglich 11.7%. Daraus ergibt sich in der logistischen Regression eine Odds Ratio von 0.772. Die vorliegenden Häufigkeitsunterschiede sind jedoch statistisch nicht signifikant. Ein Einfluss auf die KHK-Entstehung ist demnach für den -480 c>t-Polymorphismus beim vorliegenden Patientenkollektiv nicht nachweisbar.

3.4.5 CETP

Die Zusammenhangsanalyse zeigt keinerlei Abhängigkeiten der verschiedenen Datenbankparameter inklusive der Lipidwerte mit dem TaqIB-Polymorphismus. Die logistische Regression liefert für die Überprüfung eines möglichen Zusammenhangs mit der KHK-Entstehung folgendes Ergebnis:

Tabelle 24: Logistische Regression für den Zusammenhang von CETP TaqIB und KHK

Merkmal	Referenzgruppe	Signifikanz p	Exp (B)= Odds Ratio	95% KI für Exp (B)
Alter		< 10 ⁻³	1.090	1.059 – 1.123
Lp(a)		< 10 ⁻³	1.015	1.007 – 1.023
HDL-c		< 10 ⁻³	0.936	0.912 – 0.961
CETP TaqIB				
B1B2	B2B2	0.852	1.092	0.433 – 2.753
B1B1	B2B2	0.104	0.546	0.264 – 1.132
Konstante		< 10 ⁻³	0.032	

Tabelle 24 zeigt die etablierten Faktoren Alter, Lp(a) und HDL-c als signifikante Einflussgrößen der KHK-Entwicklung. Bei der Beurteilung des CETP TaqIB-Polymorphismus dienen die B2B2-Träger als Referenzgruppe. Ein signifikanter Zusammenhang mit der KHK kann für den untersuchten Polymorphismus nicht gezeigt werden. Die B1B2-Träger weisen eine Odds Ratio von 1.092 und einen p-Wert von **0.852** auf, die B1B1-Träger eine Odds Ratio von 0.546 und einen p-Wert von **0.104**. Die Häufigkeitsanalyse zeigt folgende Verteilung:

Tabelle 25: KHK-Häufigkeitsanalyse für CETP TaqIB

CETP TaqIB (n=429)	KHK	∅ KHK
B2B2 (n=67)	9 (13.4%)	58 (86.6%)
B1B2 (n=216)	34 (15.7%)	182 (84.3%)
B1B1 (n=146)	16 (11.0%)	130 (89.0%)

Die Ergebnisse der logistischen Regression erscheinen vor dem Hintergrund der Häufigkeitsanalyse plausibel. Die KHK ist am häufigsten anzutreffen bei B1B2-Trägern, danach folgen die als Referenzgruppe dienenden B2B2-Träger. Mit 11.0% ist die KHK am seltensten bei den B1B1-Trägern zu finden. Diese Häufigkeitsunterschiede sind jedoch statistisch nicht signifikant, so dass ein

Zusammenhang des CETP TaqIB-Polymorphismus mit der Entstehung einer KHK für das vorliegende Patientenkollektiv nicht nachgewiesen werden kann.

4 Diskussion

Die KHK zeigt einen starken Zusammenhang mit Erkrankungen wie dem arteriellen Hypertonus, dem Diabetes mellitus und den verschiedenen Fettstoffwechselstörungen. Darüber hinaus beeinflussen Lebensgewohnheiten wie ein Nikotinabusus sowie biologische Parameter wie das Geschlecht und das Alter den Prozess der Atherosklerose, die die wesentliche Ursache der KHK darstellt. Diese genannten Parameter sind in ihrem Einfluss auf die KHK lange bekannt und werden als klassische Risikofaktoren bezeichnet.

In dieser Arbeit wurden genetische Komponenten hinsichtlich eines möglichen Zusammenhangs mit der KHK untersucht. 11 Polymorphismen aus 8 Kandidatengenomen wurden hierzu analysiert. Es galt dabei herauszufinden, ob sie einen unmittelbaren Einfluss auf die KHK besitzen oder ob sie diesen über die klassischen Risikofaktoren ausüben können. Bei den untersuchten Polymorphismen handelt es sich vor allem um solche, für die Zusammenhänge mit den Lipidwerten beschrieben werden und die daher in Verdacht stehen, über eine Veränderung des Lipidprofils auf die KHK-Genese einzuwirken.

Die klinische Relevanz dieser Arbeit liegt in der Beurteilung des KHK-Risikos von Patienten. Um das 10-Jahres-Risiko eines Patienten einzuschätzen, werden Punktebögen benutzt, die auf den Erkenntnissen der Framingham-Studie basierend die klassischen Risikofaktoren berücksichtigen und bewerten. Jedem erreichten Punktwert kann dann das KHK-Risiko in Prozent für die nächsten 10 Jahre zugeordnet werden. Ein solcher Punktebogen findet sich im Teil 'Material und Methoden'. Genetische Komponenten finden bei der Beurteilung bislang keine Berücksichtigung. Ob dies für die hier untersuchten Gene bzw. Polymorphismen gerechtfertigt oder notwendig sein kann, sollte in dieser Arbeit untersucht werden.

4.1 Besonderheiten des Kollektivs

Das Kollektiv, das zur Beantwortung der geschilderten Fragestellung herangezogen wurde, besteht aus 1371 Patienten, die allesamt aufgrund einer bestehenden Hyperlipoproteinämie die Lipidambulanz des UKE besuchen. Dieser Sachverhalt zeigt bereits, dass es sich demnach nicht um einen Ausschnitt der

Normalbevölkerung handeln kann, sondern dass die Patienten aufgrund ihrer Hyperlipoproteinämie bereits einer Hochrisikogruppe im Hinblick auf die KHK angehören. Demzufolge sind z.B. die gefundenen Mittelwerte der verschiedenen Lipidwerte nicht vergleichbar mit denen der Normalbevölkerung. Auch die Häufigkeitsverteilung der Genvarianten sieht in diesem Kollektiv anders aus. Wenn nämlich eine Genvariante mit erhöhten Lipidwerten in Zusammenhang steht, so ist zu erwarten, dass diese in dem vorliegenden Kollektiv häufiger anzutreffen ist als in der Normalbevölkerung, solche Genvarianten, die mit niedrigeren Lipidwerten verbunden sind, hingegen seltener.

4.1.1 Raucherstatus und KHK

Die höchste KHK-Prävalenz zeigt sich im vorliegenden Kollektiv bei den Ex-Rauchern, wohingegen sie sich bei den Nichtraucher und den Rauchern kaum unterscheidet. Dies scheint im Widerspruch zur etablierten Einschätzung des Rauchens als wichtigen Risikofaktor zu stehen. Dass das Rauchen einen Einfluss auf die KHK hat, soll mit dieser Arbeit jedoch keineswegs bestritten werden. Rauchen ist ein anerkannter Risikofaktor der KHK, was in zahlreichen Studien hinreichend gezeigt werden konnte [26, 27, 28, 29].

Für diesen scheinbaren Widerspruch gibt es zweierlei Ursachen. Zum einen besteht – wie aus der Zusammenhangsanalyse hervorgeht – eine Interaktion zwischen dem Raucherstatus und dem Alter. Die typische Raucherkarriere beginnt mit dem 18. – 20. Lebensjahr und endet zwischen 40 und 45 Jahren. Tatsächlich sind die Ex-Raucher des Kollektivs mit einem Durchschnittsalter von 48.5 Jahren signifikant älter als die Raucher, deren Durchschnittsalter 41.8 Jahre beträgt. Das Durchschnittsalter der Nichtraucher liegt bei 46.9 Jahren. Da das Alter ein starker Risikofaktor der KHK ist, erklärt dies ihre hohe Prävalenz in der Gruppe der Ex-Raucher. Anhand der Daten nicht verifizierbar und doch sehr wahrscheinlich zweite Ursache für die KHK-Verteilung in Abhängigkeit vom Raucherstatus ist die Motivation für die Aufgabe des Rauchens. Die Diagnose einer KHK wirkt hier sicher als Antrieb, das Rauchen aufzugeben. Der Schmerz sowie die Angst, die viele Patienten bei einem Angina pectoris-Anfall verspüren, führen oftmals zu einem Überdenken und einer Veränderung bisheriger Lebensgewohnheiten. Insofern ist der Ex-Raucherstatus die Konsequenz einer KHK und nicht die KHK Konsequenz der Aufgabe des Rauchens.

4.1.2 Gesamtcholesterin und KHK

Bei der Mittelwertanalyse der Lipidwerte fällt auf, dass sich das Gesamtcholesterin in den Gruppen KHK-Patienten und Patienten ohne KHK im arithmetischen Mittel kaum unterscheidet. Dies zeigt sich dann auch bei der univariaten Analyse der klassischen KHK-Risikofaktoren, bei der der Mann-Whitney-Test das Gesamtcholesterin nicht als Einflussgröße der KHK bestätigen kann. Der p-Wert beträgt 0.648. Von erhöhten Cholesterinwerten ist jedoch – mit Ausnahme der Hypertriglyceridämie-Patienten, deren Anteil 2.7 % beträgt – das gesamte Kollektiv betroffen. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Gesamtcholesterin und KHK beim vorliegenden Kollektiv würde demnach eine andere Bedeutung haben als die Bestätigung einer Hyperlipoproteinämie als KHK-Risikofaktor. Die Aussage würde lauten, dass selbst in einem hyperlipämischen Kollektiv die KHK-Prävalenz mit der Höhe des Gesamtcholesterins korreliert. Es stellt sich die Frage, welche Patienten des Kollektivs besonders von hohen Gesamtcholesterinwerten betroffen sind. In der Zusammenhangsanalyse zeigte sich dabei eine Interaktion zwischen dem Gesamtcholesterin und dem Geschlecht. Die Mittelwertanalyse zeigt, dass Frauen des Kollektivs signifikant höhere Werte des Gesamtcholesterins als Männer erreichen (291 mg/dl gegenüber 273 mg/dl). Dies steht im Einklang damit, dass Frauen in unserem Kollektiv typischerweise reine Hypercholesterinämien aufweisen, während Männer eher gemischte Hyperlipoproteinämien zeigen. Dementsprechend zeigt die Mittelwertanalyse signifikant höhere Triglyceridwerte der Männer im Vergleich zu den Frauen. Das Geschlecht wiederum zeigt einen starken Einfluss auf die KHK. Männer sind signifikant häufiger von einer KHK betroffen als Frauen. Dies führt dazu, dass beim Vergleich der KHK-Gruppe mit der Gruppe ohne KHK aufgrund der Männerdominanz in der KHK-Gruppe das Gesamtcholesterin nur noch geringfügig höher ist (284 mg/dl gegenüber 280 mg/dl). Das Fehlen eines Zusammenhangs zwischen KHK und Gesamtcholesterin ist damit ein spezifisches Phänomen des Kollektivs.

4.1.3 LDL-c und KHK

Wie schon für das Gesamtcholesterin konnte auch für das LDL-c in der univariaten Analyse kein Einfluss auf die KHK gezeigt werden. Das LDL-c war in der Mittelwertanalyse sogar niedriger in der KHK-Gruppe als bei den Patienten ohne

KHK (175 mg/dl gegenüber 186 mg/dl). Das LDL-c zeigt in der Zusammenhangsanalyse eine starke Interaktion sowohl mit dem Gesamtcholesterin als auch mit dem Geschlecht. Der Zusammenhang von Gesamt- und LDL-c ist lange bekannt. Das LDL-c kann nach der Friedewald-Formel sogar aus dem Gesamtcholesterin und bekannten Werten von HDL-c und Triglyceriden approximativ berechnet werden: **LDL-c = Gesamtcholesterin – Triglyceride / 5 – HDL-c**. Der Einfluss der Interaktion mit dem Geschlecht hat daher die gleichen Auswirkungen wie schon für das Gesamtcholesterin beschrieben. Männer des Kollektivs haben signifikant niedrigere LDL-c-Werte, aber häufiger eine KHK. Daher ist das LDL-c in der KHK-Gruppe niedriger als in der Gruppe ohne KHK. Der fehlende Zusammenhang von LDL-c und KHK ist damit ein kollektivspezifisches Phänomen.

4.2 Lp(a)

Das Lp(a) wird in seiner Bedeutung als eigenständiger KHK-Risikofaktor immer noch kontrovers diskutiert. Der Trend geht jedoch in die Richtung, das Lp(a) als einen solchen anzuerkennen [42,43,44]. Insbesondere gilt dies für das Auftreten erhöhter Lp(a)-Serumspiegel in Kombination mit weiteren Lipiderhöhungen wie vor allem erhöhten Werten des LDL-c [80]. Besonders starke Assoziationen von Lp(a) und KHK lieferten außerdem Studien, bei denen die Patienten von einer familiären Hypercholesterinämie betroffen waren [81,82]. Eine weitere Studie zeigte eine starke Zunahme des KHK-Risikos bei Patienten mit Lp(a)-Werten > 40 mg/dl und gleichzeitiger Gesamtcholesterin/HDL-c – Ratio > 5.8 im Vergleich zu den Patienten mit alleiniger Lp(a)-Erhöhung [83].

Beim vorliegenden Kollektiv finden sich deutliche Unterschiede des Lp(a)-Medians in den Gruppen der KHK-Patienten und der Patienten ohne KHK (17mg/dl gegenüber 7mg/dl). Die univariate Analyse bestätigt mittels Mann-Whitney-Test diesen Unterschied mit einem p-Wert von $< 10^{-3}$, so dass das Lp(a) hier als KHK-Risikofaktor zu bewerten ist. Das Lp(a) fällt jedoch nicht nur in der univariaten Analyse, bei der z.B. auch die Triglyceride einen p-Wert < 0.05 erreichen, als signifikante Einflussgröße der KHK auf. Auch bei der weiteren statistischen Analyse und der Bildung der Basismodelle für die multiple logistische Regression bleibt das Lp(a) im Modell enthalten. Die Triglyceride hingegen erreichen schon im ersten Schritt der multivariaten Analyse keine Signifikanz mehr. Je mehr unabhängige

Variablen in ein logistisches Modell aufgenommen werden, desto instabiler wird das Modell. Die Größe der geschätzten Standardfehler und die Abhängigkeit von der Güte des erhobenen Datensatzes nehmen zu [79]. Doch selbst bei der Untersuchung der Gene ABCA1, HL und CETP, bei der aufgrund der geringeren Fallzahlen, zahlreiche klinische Parameter wie z.B. das Geschlecht oder ein arterieller Hypertonus aus dem Basismodell der logistischen Regression genommen werden mussten, blieb das Lp(a) konstant signifikant. Es wurden weiterhin p-Werte von 0.007, 0.002 und $< 10^{-3}$ erreicht.

Diese Ergebnisse zeigen, dass das Lp(a) für das hier vorliegende hyperlipämische Patientenkollektiv ein bedeutender KHK-Risikofaktor ist, der unabhängig vom statistischen Auswertungsverfahren sowohl univariat als auch multivariat analysiert durchgehend einen signifikanten Zusammenhang mit der KHK zeigt. Dies steht im Einklang mit aktuellen wissenschaftlichen Studien, die das Lp(a) insbesondere bei Patienten mit weiteren Störungen im Bereich des Fettstoffwechsels als Risikofaktor der KHK beschreiben.

4.3 Bewertung der Gene mit Schwerpunkt ApoE

Für keinen der 11 untersuchten Polymorphismen konnte ein signifikanter Zusammenhang mit der KHK im Sinne eines p-Wertes < 0.05 gezeigt werden. Die Zusammenhangsanalyse lieferte allerdings zahlreiche Interaktionen der Genvarianten mit den Lipidwerten. Eine direkte Abhängigkeit der KHK von den hier analysierten genetischen Komponenten kann insofern nicht gezeigt werden; die Einflussnahme erfolgt über ein verändertes Lipidprofil. Klinisch bedeutet dies, dass es bei der KHK-Risikobewertung eines Patienten weiterhin ausreicht, die Lipidwerte zu bepunkten. Dies sollte dabei unabhängig von einer möglichen genetischen Ursache der Lipiderhöhung, die im Bereich der in dieser Arbeit untersuchten Gene liegen könnte, erfolgen.

Der Zusammenhang der KHK mit den verschiedenen Genotypen des ApoE wird bereits seit Jahren bzw. Jahrzehnten untersucht. Erst kürzlich erschien hierzu eine Meta-Analyse, die 48 relevante Studien, die im Zeitraum von 1966 bis Januar 2004 zu diesem Thema veröffentlicht worden sind, zusammenfassend bewertet [84]. Insgesamt beinhaltet diese Analyse über 15.000 Patienten und über 30.000 Kontrollpersonen. Die 48 Studien liefern unterschiedliche Ergebnisse. Zumeist wird

jedoch für das ϵ 4-Allel ein erhöhtes KHK-Risiko im Vergleich zu den ϵ 3/3-Trägern angegeben. Die Meta-Analyse, die durch aufwendige statistische Verfahren die Qualität und Vergleichbarkeit der Studien beurteilt, kommt letztendlich zu demselben Ergebnis. Das ϵ 4-Allel ist mit einer signifikanten Erhöhung des KHK-Risikos verbunden. In Abhängigkeit vom statistischen Modell beträgt die Odds Ratio für ϵ 4-Träger verglichen mit den ϵ 3/3-Trägern 1.30 (classical random-effects model) mit einem Konfidenzintervall von 1.18 – 1.43 bzw. 1.42 (Bayesian hierarchical random-effects model) mit einem Konfidenzintervall von 1.26 – 1.61. Für das ϵ 2-Allel kann dagegen kein Zusammenhang mit der KHK gezeigt werden.

Ein derartiger Einfluss des ApoE-Genotyps auf die KHK kann für das vorliegende Kollektiv nicht gezeigt werden. Das ungünstigste Lipidprofil zeigen hier die ϵ 2-Träger, die die höchsten Triglyceridwerte und die niedrigsten HDL-c-Werte aufweisen. Dies ist bei der Häufigkeitsanalyse der KHK in Abhängigkeit vom ApoE-Genotyp jedoch nicht nachweisbar. Die KHK-Prävalenz ist homogen verteilt, sie beträgt 15.4% für ϵ 2/3-Träger, 16.9% für ϵ 3/3-Träger und 17.4% für $\epsilon^*/4$ -Träger. Die p-Werte betragen 0.648 für die ϵ 2/3-Träger und 0.871 für die $\epsilon^*/4$ -Träger.

In der Zusammenhangsanalyse findet sich eine Interaktion zwischen ApoE und dem Geschlecht. Die ϵ 2/3-Träger des Kollektivs sind signifikant häufiger männlich (12.8% gegenüber 7.2% weiblichen Trägern), ϵ 3/3-Träger hingegen häufiger weiblich (56.9% gegenüber 50.1% männlichen Trägern). $\epsilon^*/4$ -Träger zeigen hingegen keine signifikante Geschlechtsabhängigkeit (33.7% Männer gegenüber 32.9% Frauen). Diese Interaktion des ApoE mit dem Geschlecht erklärt jedoch keineswegs das Ausbleiben des ϵ 4-Einflusses auf die KHK. Aufgrund der Frauendominanz in der ϵ 3/3-Gruppe müsste der Unterschied in der KHK-Prävalenz im Vergleich zu den „geschlechtsneutralen“ $\epsilon^*/4$ -Trägern sogar noch größer sein.

Es lassen sich jedoch andere Gründe anführen, warum in diesem speziellen Kollektiv keine Abhängigkeit der KHK vom ApoE-epsilon-Polymorphismus besteht. Hierbei fällt auf, dass die Allelfrequenzen des Kollektivs nicht mit denen der Normalbevölkerung übereinstimmen. Von den 2722 Allelen (1361 ApoE-Patienten mit je 2 Allelen) entfallen 72.8% auf ϵ 3, 20.3% auf ϵ 4 und 6.9% auf ϵ 2. Daten hingegen von Fabrikarbeitern aus Münster oder der Bevölkerung des nordamerikanischen

Framinghams ergeben eine Häufigkeitsverteilung der Allele von etwa 78-79% für $\epsilon 3$, 8% für $\epsilon 2$ und 13-14% für $\epsilon 4$ [85]. Damit sind im vorliegenden Kollektiv die Häufigkeiten der Allele $\epsilon 3$ und $\epsilon 2$ relativ gering, $\epsilon 4$ hingegen erscheint überrepräsentiert. Die hohe Allelfrequenz des $\epsilon 4$ ist jedoch nicht überraschend, da eine Assoziation des $\epsilon 4$ mit erhöhten LDL-c-Werten und erniedrigten HDL-c-Werten beschrieben wird [86] und man derartige Träger in einem Kollektiv von Hyperlipoproteinämie-Patienten demzufolge verstärkt erwarten würde. Der hohe Anteil an $\epsilon 4$ -Trägern im Kollektiv stützt also die These einer Verbindung dieses Allels mit den angegebenen Auswirkungen auf die Lipidwerte. Schwierig gestaltet sich nun der Vergleich mit den Allelen $\epsilon 3$ und $\epsilon 2$. Für diese Allele bestehen keine Assoziationen mit erhöhten Lipidwerten, so dass es sich demnach um besondere Patienten des Kollektivs handelt, die auch bei einem so günstigen ApoE-Status wie z.B. $\epsilon 2/3$ den Weg in die Lipidambulanz gefunden haben. Hier sind alle Patienten von erhöhten Lipidwerten betroffen, so dass man lediglich durch die relativ geringe Allelfrequenz von $\epsilon 3$ und $\epsilon 2$ auf eine fehlende Assoziation schließen kann. Der Einfluss des $\epsilon 4$ auf die Höhe des LDL-c und des HDL-c ist für das Kollektiv nicht nachweisbar, ebenso wenig der Einfluss auf die KHK.

Dies bedeutet, dass eine Eigenständigkeit des ApoE-Genotyps als KHK-Einflussgröße nicht gezeigt werden kann. Patienten, die aufgrund des $\epsilon 4$ -Allels erhöhte Lipidwerte haben, weisen kein zusätzlich erhöhtes KHK-Risiko auf im Vergleich zu Patienten, die **trotz** Vorhandensein von $\epsilon 2$ oder $\epsilon 3$ erhöhte Lipidwerte haben.

Abschließend bleibt also festzuhalten, dass ein Einfluss der Gene auf die Lipidwerte gezeigt werden konnte, jedoch keine darüber hinausgehende Bedeutung als eigenständige KHK-Risikofaktoren. Entscheidend für die KHK-Risikobeurteilung bleiben neben den anderen etablierten Risikofaktoren allein die Lipidwerte.

4.4 Statistische Schwierigkeiten

4.4.1 Problematik des multiplen Testens

Um die Arbeit zielgerichtet und ohne eine Vielzahl unnötiger statistischer Tests durchführen zu können, wurde vor Beginn der Auswertung eine klare Fragestellung

formuliert. Es sollte die Hypothese überprüft werden, dass bestimmte Gene einen direkten Einfluss auf die KHK ausüben können. Dies ist zwar eine klare Zielsetzung und dennoch sind zur Beantwortung einer derartigen Frage viele verschiedene statistische Tests unumgänglich. Dies liegt zum einen daran, dass nicht ein einzelnes Gen, sondern 11 Polymorphismen aus 8 Genen untersucht werden. Zum anderen liegt es daran, dass die KHK eine komplexe multifaktorielle Erkrankung darstellt, bei der es nicht möglich ist, einen potentiellen ursächlichen Faktor ohne Berücksichtigung anderer Einflussparameter zu untersuchen.

Um einen Überblick über die Zusammenhänge und Interaktionen der verschiedenen Parameter in dem umfangreichen Datenmaterial zu bekommen, wurde eine ausführliche Zusammenhangsanalyse (*Tabelle 26*) durchgeführt. Diese Analyse beinhaltete allerdings viele Tests, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass einige signifikante Ergebnisse – mit einem p -Wert < 0.05 – per Zufall entstanden sind. Die Zahl solcher Zufallstreffer wurde jedoch dadurch möglichst gering gehalten, indem alle signifikanten Interaktionen besprochen und auf ihren medizinisch-genetischen Sinn hin überprüft wurden. In der Regel fanden sich hierbei plausible medizinische Erklärungen oder in den Besonderheiten des Kollektivs liegende Ursachen. Trotz der bestehenden Problematik des multiplen Testens war die Zusammenhangsanalyse notwendiger erster Schritt der Datenauswertung. Es fanden sich zahlreiche Interaktionen der etablierten KHK-Risikofaktoren, sowie Zusammenhänge der Gene mit den Lipidwerten. Wichtig war jedoch vor allem die Erkenntnis, dass die Gene keine Interaktionen mit den übrigen klassischen Risikofaktoren zeigten. Daher war eine Vergleichbarkeit des KHK-Risikos der verschiedenen Genvarianten-Träger gegeben. Sie unterschieden sich nicht signifikant in Geschlechtsverteilung, Alter, Hypertonus- oder Diabetes mellitus-Prävalenz.

4.4.2 Problematik der niedrigen Fallzahlen

Mit einer Patientenzahl von 1371 liegt ein umfangreiches Datenmaterial vor. Dies ist zur Beantwortung der Fragestellung, die univariate und multivariate statistische Verfahren erforderlich macht, auch notwendig. Für einen Teil der untersuchten Gene war die Fallzahl, um eine multiple logistische Regression durchführen zu können, jedoch immer noch zu gering. Zurückzuführen ist dies nicht zwangsläufig auf die

Gesamtzahl der Patienten, für die ein Polymorphismus untersucht wurde, sondern vor allem auch auf die Allelfrequenzen. Bei sehr niedrigen Allelfrequenzen entstehen sehr kleine Untergruppen, die eine logistische Regressionsanalyse nicht mehr als sinnvoll erscheinen lassen. So ist der D9N-Polymorphismus zwar bei 1117 Patienten untersucht worden, mit einer Allelfrequenz von 2.1% besaßen jedoch nur 45 Patienten das N-Allel. Das ABCA1-Gen hingegen wurde lediglich bei 452 Patienten untersucht, doch zeigte das seltenere K-Allel hierbei eine Frequenz von 25.9%, was bedeutete, dass 202 Patienten hetero- oder homozygote Träger dieses Allels waren. Hier konnte dann auch eine logistische Regression durchgeführt werden. Entscheidend ist also die Größe der Untergruppen, die darüber bestimmt, welche statistischen Auswertungsverfahren möglich sind.

Da bei der Analyse sehr schnell kleine Untergruppen entstehen, sind hohe Fallzahlen erforderlich. Bei erneuter Betrachtung des D9N-Polymorphismus fällt z.B. auf, dass von den 1117 untersuchten Patienten nur 45 Patienten N-Allelträger sind und darüber hinaus von diesen nur 9 Patienten von einer KHK betroffen sind. Für die logistische Regression müssen außerdem alle im Modell enthaltenen Parameter bei jedem Patienten bekannt sein. Ist also z.B. bei einem der 9 KHK-Patienten unklar geblieben, ob er an einem Hypertonus erkrankt ist oder fehlt bei dem Patienten der Wert des Lp(a), so fällt dieser Patient aus der Auswertung. Dieses Phänomen immer kleiner werdender Untergruppen und Fallzahlen wird in der Statistik als Problem der leeren Zellen bezeichnet. Insgesamt größere Fallzahlen wären daher erstrebenswert, um so für alle Gene eine multiple logistische Regression mit einem stabilen Basismodell zu ermöglichen und die gewonnenen Erkenntnisse weiter zu untermauern oder gegebenenfalls zu widerlegen.

4.5 Sinn genetischer Untersuchungen

Wie die Ergebnisse der Arbeit zeigen, bringt die Genotypisierung der Patienten **in diesem Kollektiv** keinen zusätzlichen Informationsgewinn mit sich im Hinblick auf die KHK. Wenn also bereits eine so preisgünstige Messung wie die der Lipidwerte hinreichende klinische Informationen liefert, scheint eine darüber hinausgehende genetische Untersuchung überflüssig. Die Darstellung von genetischen Analysen als klinisch nutzlos und allenfalls für die Forschung interessant, soll jedoch keineswegs die Aussage dieser Arbeit sein.

Es gibt viele Argumente, die für genetische Untersuchungen sprechen. So kann die Genetik wichtig sein für die **Diagnosesicherung** seltener genetischer Erkrankungen. Ein Beispiel hierfür ist die familiäre Hypercholesterinämie, der ein Defekt des LDL-Rezeptors zugrunde liegt. Werden solche Patienten aufgespürt, so können durch weitere Genuntersuchungen ebenfalls betroffene **Familienangehörige** gefunden werden. Für diese können dann frühzeitig Maßnahmen der **Primärprävention** erfolgen.

Ein weiterer positiver Aspekt der Genetik ist, dass es sich hierbei um eine feste Größe handelt, deren **Bestimmung nur einmal** durchgeführt werden muss und dann ein Leben lang Bestand hat. Viele andere Laborwerte hingegen, wie z.B. die Lipidwerte, unterliegen starken Schwankungen. Sie sind abhängig von der Tageszeit, von der letzten Nahrungsaufnahme, von vorangegangenem Alkoholkonsum etc.

Als klinisch tätiger Arzt sollte man vor allem bestrebt sein, Krankheiten zu verhindern und nicht erst die bereits ausgebrochene Krankheit eines Patienten – dann zum Teil frustriert – zu behandeln. Da die Patienten jedoch in der Regel erst mit Symptomen den Arzt aufsuchen, ist eine **Primärprävention** oftmals schwierig. Die Rolle der Genetik liegt genau in diesem Bereich. Ist das Enzym Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) erst bei bereits eingetretener Leberzellschädigung erhöht, so sind Gene, die für bestimmte Erkrankungen prädisponieren, schon viel früher bestimmbar.

Genetische Untersuchungen sind meines Erachtens mit großen **Zukunftsperspektiven** versehen. Nicht nur im Bereich der Primärprävention, sondern auch im therapeutischen Bereich liegen Chancen. Welche Patienten sprechen gut auf eine bestimmte Therapieform an, bei welchen ist z.B. der Einsatz von lipidsenkenden Medikamenten wie Statinen Erfolg versprechend, bei welchen hingegen nicht. Dieses Wissen könnte zu einer **Reduktion der NNT** (number needed to treat) führen, d.h. der Anzahl an Patienten, die z.B. mit einem Medikament behandelt werden müssen, um **einen** Patienten erfolgreich zu therapieren.

Es bleibt also für diese Arbeit festzuhalten, dass die analysierten genetischen Parameter dieses Kollektivs hier keinen zusätzlichen klinischen Informationsgewinn liefern, dies jedoch nicht als allgemeine Ablehnung genetischer Untersuchungen für die Klinik zu bewerten ist.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, **genetische Komponenten der KHK** unter Berücksichtigung der klassischen atherosklerotischen Risikofaktoren zu beurteilen. Das hierfür untersuchte Kollektiv bestand aus **1371 Patienten**, die aufgrund einer **Hyperlipoproteinämie** die Lipidambulanz des UKE besuchten. Um das sehr umfangreiche Datenmaterial und die komplexe Fragestellung adäquat beantworten zu können, wurden verschiedene statistische Tests angewandt.

In einer zunächst durchgeführten **Zusammenhangsanalyse** zeigten sich zahlreiche Interaktionen zum einen der klassischen Risikofaktoren untereinander, zum anderen zwischen den untersuchten Polymorphismen und den Lipidwerten. Die **univariate Analyse** für die Beurteilung **der klassischen Risikofaktoren** und ihren KHK-Einfluss zeigte, dass die Parameter Rauchen, Gesamtcholesterin und LDL-c in diesem speziellen Kollektiv keinen Zusammenhang mit der KHK aufwiesen. Die Polymorphismen **LPL D9N**, **LPL -93tg**, **LPL N291S**, **-1131 T>C (ApoA5)**, **L162V (PPAR α)** und **P12A (PPAR γ)** wurden aufgrund der relativ niedrigen Fallzahlen in Bezug auf ihren Zusammenhang mit der KHK univariat mittels **exaktem Fisher-Test** untersucht. Hierbei konnte kein signifikanter Einfluss der Gene auf die Erkrankung gezeigt werden. Die Polymorphismen **ApoE epsilon**, **LPL S447X**, **R219K (ABCA1)**, **-480 c>t (HL)** und **TaqIB (CETP)** wurden multivariat mittels binär **logistischer Regression** analysiert. Dabei zeigten sich in den verschiedenen Basismodellen der logistischen Regression die Faktoren **Alter**, **Lp(a)** und **HDL-c** als besonders stabile Risikofaktoren der KHK. Dies ist insbesondere für das Lp(a) eine wichtige Erkenntnis, da immer wieder beschrieben wurde, dass das Lp(a) vor allem in Verbindung mit weiteren Fettstoffwechselstörungen – was für das vorliegende Kollektiv zutrifft - ein wichtiger KHK-Risikofaktor zu sein scheint. Für die Gene hingegen konnte auch hier kein signifikanter Einfluss auf die KHK gezeigt werden.

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen, dass die untersuchten genetischen Polymorphismen zwar einen Einfluss auf die Lipidwerte besitzen, sie jedoch nicht darüber hinaus als eigenständige KHK-Risikofaktoren **dieses Kollektivs** zu betrachten sind. Entscheidend hierfür bleiben die etablierten atherosklerotischen Risikofaktoren.

6 Anhang

6.1 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1	Einstufung der Cholesterinwerte	S.27
Tabelle 2	Die drei Risikogruppen und ihre LDL-Zielwerte, Beginn einer Pharmakotherapie	S.28
Tabelle 3	Risikoscore für Männer gemäß der Framingham-Studie	S.29
Tabelle 4	Beispiel eines SPSS-Ergebnisses nach logistischer Regression für LPL S447X	S.37
Tabelle 5	Häufigkeitsanalyse klinischer Parameter des Kollektivs	S.40
Tabelle 6	Mittelwertanalyse und Standardabweichungen von Alter, BMI und Laborwerten, Mediane von Triglyceriden und Lp(a)	S.41
Tabelle 7	Häufigkeitsanalyse der untersuchten Genvarianten	S.42
Tabelle 8	Univariate Analyse klassischer RF mittels Chi-Quadrat- bzw. Mann-Whitney-Test	S.43
Tabelle 9	KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für PPAR α	S.44
Tabelle 10	KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für PPAR γ	S.45
Tabelle 11	KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für LPL D9N	S.46
Tabelle 12	KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für LPL -93tg	S.46
Tabelle 13	KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für LPL N291S	S.48
Tabelle 14	KHK-Häufigkeitsanalyse und p-Wert aus exaktem Fisher-Test für Apo A5	S.49
Tabelle 15	Basismodellentwicklung für die logistische Regressionsanalyse	S.50
Tabelle 16	Logistische Regression für den Zusammenhang von ApoE epsilon und KHK	S.51
Tabelle 17	KHK-Häufigkeitsanalyse für ApoE	S.52
Tabelle 18	Logistische Regression für den Zusammenhang von LPL S447X und KHK	S.53
Tabelle 19	KHK-Häufigkeitsanalyse für LPL S447X	S.53

Tabelle 20	Logistische Regression für den Zusammenhang von ABCA1 R219K und KHK	S.54
Tabelle 21	KHK-Häufigkeitsanalyse für ABCA1 R219K	S.55
Tabelle 22	Logistische Regression für den Zusammenhang von -480c>t und KHK	S.56
Tabelle 23	KHK-Häufigkeitsanalyse für HL -480c>t	S.56
Tabelle 24	Logistische Regression für den Zusammenhang von CETP TaqIB und KHK	S.57
Tabelle 25	KHK-Häufigkeitsanalyse für CETP TaqIB	S.57
Tabelle 26	Ergebnis der Zusammenhanganalyse	S.72
Abbildung A	Grundriss des Lipoproteinstoffwechsels	S.24
Modell 1	Direkter Einfluss der Genetik und anderer interagierender Risikofaktoren auf die KHK	S.32
Modell 2	Indirekter Einfluss der Genetik auf die KHK durch Wirkung über andere klassische Risikofaktoren	S.32

6.2 Tabelle 26: Ergebnis der Zusammenhangsanalyse

	Chol	Trigl.	LDL	HDL	Lp(a)	Alter	BMI	Smok.	RR1	DM	δ^2/σ	ApoE	-93tg	D9N	N291S	S447X	PPAR α	PPAR γ	ABCA1	CETP	HL	ApoA5
Chol	1	0,004	0,000	0,000	0,017	0,669	0,855	0,027	0,080	0,806	0,000	0,412	0,277	0,468	0,906	0,849	0,012	0,141	0,822	0,927	0,592	0,518
Trigl.	1	0,000	0,000	0,000	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,286	0,102	0,000	0,000	0,687	0,114	0,178	0,487	0,116	0,031
LDL	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,006	0,000	0,003	0,000	0,288	0,172	0,369	0,743	0,281	0,023	0,033	0,679	0,215	0,295	0,015
HDL	1	0,000	0,000	1	0,000	0,081	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,804	0,163	0,001	0,014	0,911	0,042	0,912	0,053	0,045	0,127
Lp(a)	1	0,000	0,000	0,000	1	0,062	0,000	0,743	0,452	0,001	0,000	0,420	0,771	0,242	0,033	0,051	0,624	0,461	0,662	0,915	0,587	0,998
Alter	0,669	0,011	0,413	0,081	0,062	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,306	0,343	0,399	0,723	0,845	0,618	0,685	0,551	0,482	0,746	0,498	0,561
BMI	0,855	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,208	0,373	0,366	0,220	0,398	0,495	0,367	0,227	0,111	0,601	0,667
Smok.	0,027	0,000	0,006	0,000	0,743	0,000	0,000	1	0,030	0,527	0,000	0,279	0,741	0,620	0,915	0,260	0,897	0,687	0,173	0,140	0,922	0,364
RR1	0,080	0,000	0,000	0,000	0,452	0,000	0,000	0,030	1	0,000	0,333	0,899	0,674	0,892	0,428	0,776	0,170	0,559	0,121	0,293	0,850	0,136
DM	0,806	0,000	0,003	0,000	0,001	0,000	0,000	0,527	0,000	1	0,001	0,295	0,210	0,548	0,903	0,493	0,191	0,209	0,775	0,811	0,743	0,993
δ^2/σ	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,306	0,000	0,000	0,333	0,001	1	0,003	0,722	0,663	0,603	0,506	0,625	0,664	0,499	0,058	0,435	0,824
ApoE	0,412	0,000	0,288	0,005	0,420	0,343	0,208	0,279	0,899	0,295	0,003	1	0,576	0,249	0,398	0,569	0,623	0,459	0,118	0,016	0,151	0,015
-93tg	0,277	0,286	0,172	0,804	0,771	0,399	0,373	0,741	0,674	0,210	0,722	0,576	1	0,000	0,055	0,075	0,206	0,323	0,792	0,776	0,455	0,875
D9N	0,468	0,102	0,369	0,163	0,242	0,723	0,366	0,620	0,892	0,548	0,663	0,249	0,000	1	0,068	0,059	0,834	0,220	0,315	0,909	0,513	0,299
N291S	0,906	0,000	0,743	0,001	0,033	0,845	0,220	0,915	0,428	0,903	0,603	0,398	0,068	0,068	1	0,149	0,724	0,778	0,775	0,390	0,697	0,385
S447X	0,849	0,000	0,281	0,014	0,051	0,618	0,398	0,260	0,776	0,493	0,506	0,569	0,075	0,059	0,149	1	0,999	0,442	0,885	0,844	0,585	0,828
PPAR α	0,012	0,687	0,023	0,911	0,624	0,685	0,495	0,897	0,170	0,191	0,625	0,623	0,206	0,834	0,724	0,999	1	0,754	0,960	0,861	0,944	0,834
PPAR γ	0,141	0,114	0,033	0,042	0,461	0,551	0,367	0,687	0,559	0,209	0,664	0,459	0,323	0,220	0,778	0,442	0,754	1	0,912	0,645	0,610	0,645
ABCA1	0,822	0,178	0,679	0,912	0,662	0,482	0,227	0,173	0,121	0,775	0,499	0,118	0,792	0,315	0,775	0,895	0,960	0,912	1	0,438	0,588	0,966
CETP	0,927	0,487	0,215	0,053	0,915	0,746	0,111	0,140	0,293	0,811	0,058	0,016	0,776	0,909	0,390	0,844	0,661	0,645	0,438	1	0,504	0,311
HL	0,592	0,116	0,295	0,045	0,587	0,498	0,601	0,922	0,850	0,743	0,435	0,151	0,455	0,513	0,697	0,585	0,944	0,610	0,588	0,804	1	0,084
ApoA5	0,518	0,031	0,015	0,127	0,898	0,561	0,667	0,364	0,136	0,993	0,824	0,015	0,875	0,299	0,365	0,828	0,834	0,645	0,966	0,311	0,084	1

= positive Korrelation basierend auf KENDALLS-Tau-b und p-Wert < 0,05

= negative Korrelation basierend auf KENDALLS-Tau-b und p-Wert < 0,05

= Abhängigkeit im Mittelwertvergleich basierend auf Wilcoxon- bzw. Kruskal-Wallis-Test und p-Wert < 0,05

= Zusammenhang basierend auf Chi-Quadrat-Test und p-Wert < 0,05

7 Literaturverzeichnis

- [1] Böcker W, Denk H, Heitz PU (2001) Pathologie, 2.Aufl., Urban&Fischer, München Jena, S 449
- [2] Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levy D (1999) Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet* 353:89-92
- [3] Thom TJ, Kannel WB, Silbershatz H, D'Agostino RB (1998) Incidence, prevalence and mortality of cardiovascular disease in the United States. In: Alexander RW, Schlant RC, Fuster V (Eds) Hurst's the heart, 9th ed, McGraw Hill, New York, p 3-17
- [4] Dorsch MF, Lawrence RA, Sapsford RJ, Durham N, Oldham J, Greenwood DC, Jackson BM, Morrell C, Robinson MB, Hall AS; EMMACE Study Group (2001) Poor prognosis of patients presenting with symptomatic myocardial infarction but without chest pain. *Heart* 86:494-8
- [5] Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature* 362:801
- [6] Strong JP, Malcolm GT, McMahan CA, Tracy RE, Newman WP 3rd, Herderick EE, Cornhill JF (1999) Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults. Implications for prevention from the pathobiological determinants of atherosclerosis in youth study. *JAMA* 281:727-35
- [7] Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW (1995) A definition of advanced types of atherosclerotic lesions in a histological classification of atherosclerosis: A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Atherosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 92:1355-74
- [8] Tuzcu EM, Kapadia SR, Tutar E, Ziada KM, Hobbs RE, McCarthy PM, Young JB, Nissen SE (2001) High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation* 103:2705-10
- [9] McGill HC Jr, McMahan A, Zieske AW, Tracy RE, Malcom GT, Herderick EE, Strong JP (2000) Association of coronary heart disease risk factors with microscopic qualities of atherosclerosis in youth. *Circulation* 102:374-9
- [10] Böcker W, Denk H, Heitz PU (2001) Pathologie, 2.Aufl., Urban&Fischer, München Jena, S 466
- [11] Falk E, Sha PK, Fuster V (1995) Coronary plaque disruption. *Circulation* 92:657
- [12] Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, Kutcher MA, Burrows MT, Kahl FR, Santamore WP (1988) Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild to moderate coronary artery disease? *Circulation* 78:1157-66

- [13] Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, Borrico S, Gorlin R, Fuster V (1988) Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 12:56-62
- [14] Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, Virmani R (2001) Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 103:934-40
- [15] Kannel WB, McGee DL (1979) Diabetes and cardiovascular risk factors: The Framingham Study. *Circulation* 59:8-13
- [16] Kannel WB, McGee DL (1979) Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: The Framingham Study. *Diabetes Care* 2:120-6
- [17] Stamler J, Stamler R, Neaton JD (1993) Blood pressure, systolic and diastolic, and cardiovascular risks: U.S. population data. *Arch Intern Med* 153:598-615
- [18] Eaton CB, Bostom AG, Yanek L, Laurino JP, McQuade W, Hume A, Selhub J (1996) Family history and premature coronary heart disease. *J Am Board Fam Pract* 9:312-8
- [19] The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure (1997) *Arch Intern Med* 157:2413-46
- [20] Miura K, Daviglius ML, Dyer AR, Liu K, Garside DB, Stamler J, Greenland P (2001) Relationship of blood pressure to 25-year-mortality due to coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in young adult men: The Chicago Heart Association detection project in industry. *Arch Intern Med* 161:1501-8
- [21] Kannel WB, Gordon T, Schwartz MJ (1971) Systolic versus diastolic blood pressure and risk of coronary heart disease: The Framingham Study. *Am J Cardiol* 27:335
- [22] Wilking SVB, Belanger AJ, Kannel WB, D'Agostino RB, Steel K (1988) Determinants of isolated systolic hypertension. *JAMA* 260:3451-5
- [23] Norhammar A, Tenerz A, Nilsson G, Hamsten A, Efendic S, Ryden L, Malmberg K (2002) Glucose metabolism in patients with acute myocardial infarction and no previous diagnosis of diabetes mellitus: A prospective study. *Lancet* 359:2140-4
- [24] Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M (1998) Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 339:229-34
- [25] Singer DE, Nathan DM, Anderson KM, Wilson PW, Evans JC (1992) Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study. *Diabetes* 41:202-8
- [26] Njolstad I, Arnesen E, Lund-Larsen PG (1996) Smoking, serum lipids, blood pressure, and sex differences in myocardial infarction. A 12-year-follow-up of the Finnmark Study. *Circulation* 93:450-6

- [27] Prescott E, Hippe M, Schnohr P, Hein HO, Vestbo J (1998) Smoking and the risk of myocardial infarction in women and men: Longitudinal population study. *BMJ* 316:1043-7
- [28] Rosenberg L, Palmer JR, Shapiro S (1990) Decline in the risk of myocardial infarction among women who stop smoking. *N Engl J Med* 322:213-7
- [29] Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Shapiro S (1985) The risk of myocardial infarction after quitting smoking in men under 55 years of age. *N Engl J Med* 313:1511-4
- [30] U.S. Department of Health and Human Services (1990) The health benefits of smoking cessation. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. DHHS publication no. (CDC) 90-8416
- [31] Rogot E, Murray JL (1980) Smoking and causes of death among US veterans: 16 years of observation. *Public Health Rep* 95:213-22
- [32] Waldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E (2001) High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* 358:2026-33
- [33] Hokanson JE, Austin MA (1996) Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 3:213-9
- [34] Shephard J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ (1995) Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 333:1301-7
- [35] Scandinavian Simvastatin Survival Study Group (1994) Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 344:1383-1389
- [36] Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, Langendorfer A, Stein EA, Kruyer W, Gotto AM Jr (1998) Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 279:1615
- [37] Loscalzo J, Weinfeld M, Fless GM, Scanu AM (1990) Lipoprotein(a), fibrin binding and plasminogen activation. *Arteriosclerosis* 10:240-5
- [38] Harpel PC, Gordon BR, Parker TS (1989) Plasmin catalyzes binding of lipoprotein(a) to immobilized fibrinogen and fibrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:3847

- [39] Zioncheck TF, Powell LM, Rice GC, Eaton DL, Lawn RM (1991) Interaction of recombinant apolipoprotein(a) and lipoprotein(a) with macrophages. *J Clin Invest* 81:767
- [40] Bowden JF, Pritchard PH, Hill JS, Frohlich JJ (1994) Lp(a) concentration and apo(a) isoform size. Relation to the presence of coronary artery disease in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb* 14:1561-8
- [41] Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH (1992) Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentration. *J Clin Invest* 90:52-60
- [42] Bostom AG, Gagnon DR, Cupples LA, Wilson PW, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer EJ, Castelli WP (1994) A prospective investigation of elevated lipoprotein(a) detected by electrophoresis and cardiovascular disease in women: The Framingham Study. *Circulation* 90:1688-95
- [43] Bostom AG, Cupples LA, Jenner JL, Ordovas JM, Seman LJ, Wilson PW, Schaefer EJ, Castelli WP (1996) Elevated plasma lipoprotein(a) and coronary heart disease in men aged 55 years and younger. A prospective study. *JAMA* 276:544-8
- [44] Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Jenner JL, McNamara JR, Ordovas JM, Davis CE, Abolafia JM, Lippel K, Levy RI (1994) Lipoprotein(a) levels and risk of coronary heart disease in men: The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial. *JAMA* 271:999-1003
- [45] Danesh J, Collins R, Peto R (2000) Lipoprotein(a) and Coronary Heart Disease – Meta-Analysis of Prospective Studies. *Circulation* 102:1082-1085
- [46] von Eckardstein A, Schulte H, Cullen P, Assmann G (2001) Lipoprotein(a) further increases the risk of coronary events in men with high global cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 37:434-9
- [47] Sacks FM, McPherson R, Walsh BW (1994) Effect of postmenopausal estrogen replacement on plasma Lp(a) lipoprotein concentrations. *Arch Intern Med* 154:1106-10
- [48] Guraker A, Hoeg JM, Kostner G, Papadopoulos NM, Brewer HB Jr (1985) Levels of lipoprotein Lp(a) decline with neomycin and niacin treatment. *Atherosclerosis* 57:293-301
- [49] Krauss RM, Winston M (1998) Obesity: Impact on cardiovascular disease. *Circulation* 98:1472
- [50] Koenig W (1998) Haemostatic risk factors for cardiovascular diseases. *Eur Heart J Suppl C:C* 39-43
- [51] Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH (1998) Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 98:731

- [52] Welch GN, Loscalzo J (1998) Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 338:1042-50
- [53] Kostner GM, März W (1995) Zusammensetzung und Stoffwechsel der Lipoproteine. In: Schwandt P, Richter WO (Hrsg) Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. Schattauer, Stuttgart New York, S. 3-44
- [54] Löffler G, Petrides PE (1998) Biochemie und Pathobiochemie, 6.Aufl., Springer; Berlin Heidelberg New York, S 476
- [55] Tall AR (1990) Plasma high density lipoproteins: Metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86:379
- [56] Rosenson RS, Stamos TS (1995) Low HDL is associated with increases in blood viscosity in subjects with normal triglycerides. *Biorheology* 32:316
- [57] Barter PJ, Rye KA (1996) High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 121:1-12
- [58] Kagan A, Rhoads GC, Zeegan PD, Nichaman MZ (1971) Coronary heart disease among men of Japanese ancestry in Hawaii: the Honolulu heart study. *Isr J Med Sci* 7:1573
- [59] Strachan T, Read AP (1996) Molekulare Humangenetik, 1.Aufl., Spektrum akademischer Verlag, Heidelberg, S 285-286
- [60] Wu JH, Lo SK, Wen MS, Kao JT (2002) Characterization of Apolipoprotein E genetic variations in Taiwanese: association with coronary heart disease and plasma lipid levels. *Hum Biol* 74:25-31
- [61] Frikke-Schmidt R, Tybjærg-Hansen A, Steffensen R, Jensen G, Nordestgaard BG (2000) Apolipoprotein E genotype: epsilon 32 women are protected while epsilon 43 and epsilon 44 men are susceptible to ischemic heart disease: the Copenhagen City Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 35:1192-9
- [62] Kolovou GD, Daskalova DCh, Hatzivassiliou M, Yiannakouris N, Pilatis ND, Elisaf M, Mikhailidis DP, Cariolou MA, Cokkinos DV (2003) The epsilon 2 and 4 alleles of Apolipoprotein E and ischemic vascular events in the Greek population – implications for the interpretation of similar studies. *Angiology* 54:51-8
- [63] Wilson PW, Myers RH, Larson MG, Ordovas JM, Wolf PA, Schaefer EJ (1994) The apolipoprotein E alleles, dyslipidemia, and coronary heart disease. The Framingham Offspring Study. *JAMA* 272:1666-71
- [64] Michalik L, Wahli W (1999) Peroxisome proliferator-activated receptors: three isotypes for a multitude of functions. *Curr Opin Biotechnol* 10:564-570
- [65] Ricote M, Huang J, Fajas L, Li A, Welch J, Najib J, Witztum JL, Auwerx J, Palinski W, Glass CK (1998) Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) in human atherosclerosis and regulation in macrophages by colony stimulating factors and oxidized LDL. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7614-9

- [66] Flavell DM, Jamshidi Y, Hawe E, Torra IP, Taskinen MR, Frick MH, Nieminen MS, Kesäniemi YA, Pasternack A, Staels B, Miller G, Humphries SE, Talmud PJ, Syväne M (2002) Peroxisome proliferator-activated receptor α gene variants influence progression of coronary atherosclerosis and risk of coronary artery disease. *Circulation* 105:1440
- [67] Ridker PM, Cook NR, Cheng S, Erlich HA, Lindpaintner K, Plutzky J, Zee RY (2003) Alanine for proline substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 (PPARG2) gene and the risk of incident myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:859-63.
- [68] Hořinek A, Vráblík M, Češka R, Adámková V, Poledne R, Hubacek JA (2003) T-1131→C polymorphism within the Apolipoprotein AV gene in hypertriglyceridemic individuals. *Atherosclerosis* 167:369-370
- [69] Andersen RV, Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Schnohr P, Nordestgaard BG (2003) Hepatic lipase mutations, elevated high-density lipoprotein cholesterol, and increased risk of ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol* 41:1972-82
- [70] van Bockxmeer FM, Liu Q, Mamotte C, Burke V, Taylor R (2001) Lipoprotein lipase D9N, N291S and S447X polymorphisms: their influence on premature coronary heart disease and plasma lipids. *Atherosclerosis* 157:123-9
- [71] Clee SM, Loubser O, Collins J, Kastelein JJ, Hayden MR (2001) The LPL S447X cSNP is associated with decreased blood pressure and plasma triglycerides, and reduced risk of coronary artery disease. *Clin Genet* 60:293-300
- [72] Barter PJ, Brewer Jr B, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR (2003) Cholesteryl Ester Transfer Protein – A novel Target for Raising HDL and Inhibiting Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:160-7
- [73] Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, Otvos JD, Osgood D, Martinez A, Lahoz C, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ (2000) Association of cholesteryl ester transfer protein-TaqlB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:1323-9
- [74] Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, Zwarts KY, Molhuizen HO, Roomp K, Jukema JW, van Wijland M, van Dam M, Hudson TJ, Brooks-Wilson A, Genest J Jr, Kastelein JJ, Hayden MR (2001) Common Genetic Variation in ABCA1 is associated with Altered Lipoprotein Levels and a Modified Risk for Coronary Artery Disease. *Circulation* 103:1198-205
- [75] Evans D, Beil FU (2003) The association of the R219K polymorphism in the ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1) gene with coronary heart disease and hyperlipidaemia. *J Mol Med* 81:264-70
- [76] Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (2001) Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) *JAMA* 285:2486-97

- [77] Norušis MJ (1990) SPSS/PC + Advanced Statistic 4.0, Chapter 2: Logistic Regression Analysis, SPSS Inc., Chicago
- [78] Eckstein PP (2000) Angewandte Statistik mit SPSS, 3.Aufl., Gabler, Wiesbaden, S 245
- [79] Hosmer DW, Lemeshow S (2000) Applied Logistic Regression, 2.Aufl., John Wiley & Sons Inc., New York, S 92
- [80] Maher VMG, Brown BG, Marcovina SM, Hillger LA, Zhao X-Q, Albers JJ (1995) Effects of lowering elevated LDL cholesterol on the cardiovascular risk of lipoprotein(a). *JAMA* 274:1771-1774
- [81] Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, Mc Carthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, Utermann G (1990) Relation of serum lipoprotein (a) concentration and apolipoprotein (a) phenotype to coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 322:1494-1499
- [82] Maher VMG, Kitano Y, Neuwirth C, Kehely A, Thompson GR (1991) Lp(a) and coronary atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb* 11:1520
- [83] Hopkins PN, Wu LL, Hunt SC, James BC, Vincent GM, Williams RR (1997) Lipoprotein (a) interactions with lipid and nonlipid risk factors in early familial coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 17:2783-2792
- [84] Song Y, Stampfer MJ, Liu S (2004) Meta-Analysis: Apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 141:137-47
- [85] Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC (2002) Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: A huge review. *Am J Epidemiol* 155:487-95
- [86] Djoussé L, Myers RH, Province MA, Hunt SC, Eckfeldt JH, Evans G, Peacock JM, Ellison RC (2002) Influence of Apolipoprotein E, smoking and alcohol intake on carotid atherosclerosis. *Stroke* 33:1357

8 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Frank Ulrich Beil danke ich herzlich für die Überlassung des interessanten Promotionsthemas und für die Anregungen, die ich durch die Besprechungen der Lipidambulanz gewinnen konnte.

Besonderer Dank gilt **Herrn Dr. David Evans** für die kompetente und motivierende Betreuung. Herr Evans ermöglichte mir fortwährend auch kurzfristige Termine. Dabei waren die Gespräche stets inspirierend; sowohl inhaltlich als auch in Bezug auf die Struktur der Dissertation erhielt ich sehr gute Ratschläge. Darüber hinaus konnte Herr Evans mir immer wieder adäquate Literatur und aktuelle Paper sowohl zu genetischen wie auch klinischen Themen anbieten, die bedeutsam für den Fortgang der Arbeit waren.

Ferner danke ich **Herrn Dr. Jens Aberle** für die sehr gute klinische Betreuung der Arbeit. Herr Aberle half mir, stets den Blick für die klinisch relevanten Aspekte der Arbeit zu wahren. Außerdem konnte er mich motivieren, bei der statistischen Auswertung nicht den Faden zu verlieren und Durchhaltevermögen zu zeigen.

Herrn Dr. Michael Bubenheim danke ich für die Betreuung bei der statistischen Auswertung der Arbeit. Herr Bubenheim nahm sich immer viel Zeit für die Beratungstermine und stand auch per E-Mail stets für kompetente Hilfestellungen bereit. Dank seiner Hilfe habe ich sehr viel über Statistik und Epidemiologie in der Medizin lernen können.

Weiterhin gilt mein Dank meiner Familie und meinen Freunden, die mich in allen Bereichen unterstützt haben und mir Hilfestellung in verschiedenen Fragen der elektronischen Datenverarbeitung gegeben haben.

9 Lebenslauf

Personendaten

Name: Sönke Meyer
Geburtsdatum: 02.11.1977
Geburtsort: Hamburg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Schulische Ausbildung

1984-1989 katholische Grundschule Hamburg-Neugraben
1988-1997 Gymnasium Süderelbe, Hamburg

Zivildienst

1997-1998 Krankenhaus Mariahilf, Innere Medizin

Studium

1998-2001 Studium der Humanmedizin an der Med. Universität zu Lübeck (vorklinischer Studienabschnitt)
März 2001 Physikum
2001-2005 Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg (klinischer Studienabschnitt)
März 2002 I. Staatsexamen
März 2004 II. Staatsexamen

Nebentätigkeiten

1998-2004 Studentische Hilfskraft im Krankenhaus Mariahilf
2004-2005 Studentische Hilfskraft im Krankenhaus Bethanien

Wissenschaftliche Tätigkeiten

Vorliegende Promotion über die genetischen Aspekte der koronaren Herzerkrankung bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie

10 Erklärung

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

(Sönke Meyer)