Aus der Klinik für Innere Medizin (I. Medizinische Klinik) des
Universitätsklinikums Charité der Humboldt-Universität zu Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Gert Baumann

Digitale Dissertation

DISSERTATION

Thema: **"DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 bei Patienten (unter 50 Jahren) mit interventionsbedürftigen Koronararterienstenosen"**

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae
(Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der
Humboldt-Universität zu Berlin

von
Herrn Thomas Mencke
geb. am 01.12.1968 in Dresden

Dekan: Prof. Dr. med. W. Sterry

Gutachter: 1. Prof. S. Felix
2. Prof. G. Bauriedel
3. Prof. H.-J. Just

eingereicht: März 1997

Datum der Promotion: .03.12.1997

Gliederung

1.	**Einleitung**	Seite
1.1.	Arteriosklerose	1
1.1.1	Die koronare Herzkrankheit	2
1.1.2.	Epidemiologie	2
1.1.3.	Ätiologie der Arteriosklerose	3
1.1.4.	Pathogenese der Arteriosklerose	7
1.1.4.1.	Hypothesen	7
1.1.4.2.	Histologische Klassifikation	9
1.1.4.3.	Die "response-to-injury"-Hypothese und zelluläre Interaktionen	11
1.1.5.	Funktion und Rolle der Arterienwand bei der Arteriosklerose	17
1.2.	Zelluläre Adhäsionsmoleküle	20
1.2.1.	Selektine	23
1.2.2.	Struktur vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1	25
1.3.	Ziele der vorliegenden Arbeit	27
2.	**Material und Methoden**	
2.1.	Charakterisierung des Patientenkollektivs	29
2.1.1.	Einschlußkriterien	29
2.1.2.	Anzahl, Alter und Geschlecht der Patienten	29
2.1.3.	Die Diagnosesicherung mit der Koronarangiografie	29
2.1.4.	Interventionen	31
2.2.	Studienaufbau	32
2.2.1.	Patientenrekrutierung	32
2.2.2.	Aufklärungsgespräch	32
2.2.3.	Bestimmung der Risikofaktoren	32
2.2.3.1.	Männliches Geschlecht	33
2.2.3.2.	Eigenanamnese einer peripheren arteriellen Verschlußkrankheit oder einer koronaren Herzkrankheit	33
2.2.3.3.	Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit (bei Eltern oder Geschwistern)	33
2.2.3.4.	Zigarettenrauchen	34
2.2.3.5.	Hyperlipidämie	34
2.2.3.5.1.	Hypercholesterinämie	35
2.2.3.5.2.	Hypertriglyzeridämie	36
2.2.3.5.3.	Kombinierte Hyperlipidämie	36

2.2.3.6.	Niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl)	36
2.2.3.7.	Diabetes mellitus	37
2.2.3.8.	Adipositas	37
2.2.3.9.	Hypertonie	37
2.2.4.	Blutentnahme zur Bestimmung von Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeriden und Blutzucker und zur DNA-Polymorphismusanalyse	39
2.3.	DNA-Polymorphismusanalyse	40
2.3.1.	DNA-Präparation	40
2.3.2.	Polymerasekettenreaktion (PCR)	40
2.3.3.	Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse	40
2.3.4.	Direkte DNA-Sequenzierung	41
2.4.	Statistische Auswertung	42
2.4.1.	Kontingenztafelanalyse für die Häufigkeiten der Mutation in Abhängigkeit vom Alter	42
2.4.2.	Kontingenztafelanalyse für die Häufigkeiten der Mutation in Abhängigkeit von den Risikofaktoren	42
3.	**Ergebnisse**	
3.1.	DNA-Polymorphismusanalyse vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin)	43
3.1.1.	Darstellung der Polymorphismen	43
3.1.2.	Anzahl der Patienten mit Mutationen und Allelfrequenzen	44
3.1.3.	Genotypen	45
3.2.	Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit vom Alter	48
3.3.	Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit von den Risikofaktoren	50
3.3.1.	Männliches Geschlecht	50
3.3.2.	Myokardinfarkt in der Eigenanamnese	51
3.3.3.	Positive Familienanamnese	51
3.3.4.	Zigarettenrauchen	53
3.3.5.	Hypercholesterinämie	55
3.3.6.	Hypertriglyzeridämie	56
3.3.7.	Kombinierte Hyperlipidämie	58
3.3.8.	Niedriges HDL-Cholesterin	60
3.3.9.	Diabetes mellitus	61

3.3.10. Adipositas 62
3.3.11. Hypertonie 63

3.4. Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit vom Ausmaß der Koronararterienstenosen 65

4. Diskussion

4.1. Rolle des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 bei der Adhäsion von Leukozyten an die Gefäß-wand 66

4.2. Rolle vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmole-kül-1 bei der Arteriosklerose 67

4.3. Diskussion der Ergebnisse der vorliegenden Studie 69
4.3.1. DNA-Polymorphismusanalyse vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 69
4.3.2. Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter 71
4.3.3. Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von den Risikofaktoren 72
4.3.3.1. Männliches Geschlecht 72
4.3.3.2. Myokardinfarkt in der Eigenanamnese 72
4.3.3.3. Positive Familienanamnese 72
4.3.3.4. Zigarettenrauchen 73
4.3.3.5. Hyperlipidämie 73
4.3.3.6. Niedriges HDL-Cholesterin 75
4.3.3.7. Diabetes mellitus 75
4.3.3.8. Adipositas 76
4.3.3.9. Hypertonie 76

4.3.4. Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von der Art der Gefäßerkrankung 78

4.4. Stellenwert des DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 als unabhängiger Risikofaktor 79

5. Zusammenfassung 82

6. Literaturverzeichnis 85

7. Anhang

1. Einleitung

1.1. Arteriosklerose

Der Begriff Arteriosklerose wurde 1833 von Lobstein geprägt und folgendermaßen erklärt: "Nom compose d´artère et de sclerosis, épaissement avec induration" (zusammengesetzter Name aus Arterie und Sklerose, Kondensation und Induration; Girndt 1994, Just et al. 1994). Die Arteriosklerose ist nicht nur eine selbständige Erkrankung, sondern ein Prozeß, der den Hauptanteil zur Pathogenese des Myokardinfarktes, des ischämischen Hirninfarktes, und der Gangrän der Extremitäten beiträgt (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die Arteriosklerose ist keine einheitliche Erkrankung. So gibt es keine generell akzeptierte Definition. Heute wird der von Marchand geprägte Begriff Atherosklerose im allgemeinen bevorzugt. Ein Nachteil dieses Begriffes liegt darin, daß das Atherom und die Induration bei frühen Formen fehlen. Deshalb erscheint der Begriff Arteriosklerose besser zu sein (Just et al. 1994).

Unter Arteriosklerose versteht man einen morphologischen Symptomenkomplex von Veränderungen der Gefäßintima, bestehend aus örtlichen Ansammlungen von Fetten, komplexen Kohlenhydraten, Blutbestandteilen sowie fibrösem Gewebe und Calcium, verbunden mit Veränderungen der Gefäßmedia. Dies führt zur Verdickung und Verhärtung der Arterienwand (Hornbostel et al. 1992, Stobbe et al. 1996). Die funktionelle Abgrenzung der natürlichen Alterung der Arterien mit fortschreitendem Elastizitätsverlust der Gefäßwand von der krankheitserzeugenden Arteriosklerose ist schwierig (Hornbostel et al. 1992). Mit dem normalen Altern kommt es zu einer langsamen, anscheinend kontinuierlichen symmetrischen Zunahme der Intimadicke. Die Intimaverdickung entsteht durch eine diffuse Akkumulation von glatten Muskelzellen und Bindegewebe, verbunden mit einer zunehmenden Ansammlung von Lipiden (besonders Cholesterinester und Phospholipide). Diese diffuse, altersbezogene Intimaverdickung muß von fokal diskret aufgeworfenen fibrösen Plaques, einem charakteristischen Merkmal der Arteriosklerose, unterschieden werden (Isselbacher et al. 1995).

Die pathophysiologischen Mechanismen, die zur Arteriosklerose führen, sind komplex und werden in der Regel durch zahlreiche genetische Faktoren (polygenetisch) sowie Umweltfaktoren beeinflußt (multifaktorielles Geschehen; Chamberlain et al. 1990, Gross et al. 1996, Miserez et al. 1995). Einige nur auf einem einzelnen Gendefekt beruhende (monogenetische) Störungen können allerdings durch Beeinflussung eines entsprechenden Risikofaktors zu einer Beschleunigung der Arterioskleroseentwicklung führen, so daß andere Gene oder Umweltfaktoren in den Hintergrund treten (Miserez et al. 1995). Der Systemcharakter der Arteriosklerose bedingt eine hohe Koinzidenz des Befalls mehrerer Stromgebiete, wie der koronaren, zerebralen, viszeralen und peripheren Arterien (Hornbostel et al. 1992). Andererseits werden verschiedene Gefäße in verschiedenen Lebensaltern und in unterschiedlichem Ausmaß einbezogen (Isselbacher et al. 1995). Dabei kommt der koronaren Herzkrankheit, synonym mit der ischämischen Herzkrankheit, eine besondere

Bedeutung zu, ist sie doch die häufigste Todesursache auf der Welt (Gross et al. 1996).

1.1.1. Die koronare Herzkrankheit

Die koronare Herzkrankheit ist die Manifestation der Arteriosklerose an den Koronararterien (Gross et al. 1996). Die koronare Herzkrankheit bezeichnet eine akute oder chronische Störung der Herzfunktion, die aus einem Mißverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf des gesamten Myokards oder bestimmter Myokardbezirke resultiert. In etwa 90% der Fälle liegt der Sauerstoffmangelversorgung eine stenosierende und/oder okkludierende Arteriosklerose der extramuralen Herzkranzgefäße zugrunde, in etwa 10% besteht eine hämodynamisch wirksame Einengung des intramuralen Strombettes (Stobbe et al. 1996).

Die koronare Herzkrankheit ist heute der zuverlässigste verfügbare Indikator für eine Arteriosklerose (Isselbacher et al. 1995). In annähernd 95% der Fälle wird die koronare Herzerkrankung durch arteriosklerotische Gefäßveränderung bedingt (Dieterich et al. 1993). Je nach Ausprägungsgrad der Stenosen und entsprechender Einschränkung der Koronarreserve (Fähigkeit einer Steigerung der Durchblutung der Koronargefäße zur Deckung eines erhöhten Sauerstoffbedarfs unter Belastung; normalerweise um den Faktor 5; Stobbe et al. 1996, Zink et al. 1990) kommt es zu den klinischen Bildern der Angina pectoris und des Myokardinfarktes mit seinen möglichen Komplikationen wie Herzinsuffizienz, maligne Herzrhythmusstörungen bis hin zum plötzlichen Herztod (Stobbe et al. 1996).

1.1.2. Epidemiologie

Nach Angaben der WHO ist die koronare Herzkrankheit derzeit die häufigste Todesursache auf der Welt (Gross et al. 1996). Die Prävalenz wird für Männer mittleren Alters von der WHO mit 20%, die Inzidenz mit 1% pro Jahr angegeben (Stobbe et al. 1996). Die Inzidenz der koronaren Herzerkrankung hat starke regionale Schwankungen (Gross et al. 1996). In den Vereinigten Staaten ist die Mortalität bei weißen Männern im Alter von 35-55 Jahren 5mal höher als bei weißen Frauen dieser Altersgruppe (Isselbacher et al. 1995). Jenseits des 65. Lebensjahres gleichen sich die Mortalitätsziffern annähernd an (Fuster et al. 1996). Nach Daten aus der Framingham-Studie ist die Erstmanifestation der koronaren Herzkrankheit bei fast 50% der Männer ein Myokardinfarkt, dagegen bei fast 48% der Frauen die Angina pectoris (Fuster et al. 1996). Die Mortalität an der koronaren Herzkrankheit hat seit Mitte der 60er Jahre in den Vereinigten Staaten abgenommen, zur Zeit sinkt sie 3-4% pro Jahr (Fuster et al. 1996, Gross et al. 1996). Auch in der Bundesrepublik Deutschland sinken die Zahlen seit 1981 zwar langsam, aber stetig (Gross et al. 1996).

1.1.3. Ätiologie der Arteriosklerose

Die Ursachen der Arteriosklerose sind häufig komplexer Natur; sie können durch zahlreiche genetische Faktoren und Umweltfaktoren modifiziert werden (Chamberlain et al. 1990, Hegele 1992, Lusis et al. 1992, Miserez et al. 1995). Einige Stoffwechselkrankheiten führen zwar bereits im Kindesalter zur Arteriosklerose, in der Regel beansprucht ihre Entwicklung jedoch mehrere Jahrzehnte. Trotz der Komplexität atherogenetischer Mechanismen ließen sich anhand epidemiologischer Untersuchungen einzelne Parameter identifizieren, deren verstärkte oder verminderte Ausprägung das Arterioskleroserisiko erhöhen (Chamberlain et al. 1990, Lusis et al. 1992, Miserez et al. 1995). Diese Risikofaktoren sind in der Tabelle 1 zusammengestellt (Isselbacher et al. 1995).

Risikofaktoren für die Arteriosklerose
Männliches Geschlecht
Eigenanamnese einer zerebrovaskulären Erkrankung oder einer peripheren arteriellen Verschlußkrankheit
Familienanmnese einer vorzeitigen koronaren Herzkrankheit (<55 Jahren bei Eltern oder Geschwistern)
Zigarettenrauchen (gegenwärtig mehr als 10 Zigaretten täglich)
Hyperlipidämie (Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie)
Niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl)
Hypertonie
Diabetes mellitus
Hyperinsulinismus
(Abdominale) Adipositas
Hohes Lipoprotein (a)

Tabelle 1: Risikofaktoren für die Arteriosklerose

Die frühzeitige Arteriosklerose scheint oft familiär aufzutreten (Chamberlain et al. 1990, Goldbourt et al. 1994). Unter vielen Umständen kann sie der Vererbung von Risikofaktoren wie der Hypertonie, dem Diabetes mellitus und der Hyperlipidämie zugeschrieben werden (Isselbacher et al. 1995). Das frühzeitige Auftreten eines Myokardinfarktes bei eineiigen Zwillingen im Vergleich zu zweieiigen Zwillingen belegt eine genetische Prädisposition

(Chamberlain et al. 1990). Versteht man arteriosklerotische Erkrankungen als komplex regulierte pathophysiologische Prozesse, die selbst bei ein und demselben Individuum in verschiedenen Gefäßgebieten noch variieren können, so ist anzunehmen, daß sehr wahrscheinlich eine Vielzahl von Genen an diesen Vorgängen beteiligt sind und die individuelle genetische Disposition bestimmen. Es gibt kein "Arteriosklerose-Gen" (Goldbourt et al. 1986, Schunkert et al. 1995). Eines der am aktivsten untersuchten Gebiete der Arterioskleroseforschung ist der Lipoproteinstoffwechsel mit seinen beteiligten Genen. Neben den am Lipoproteinstoffwechsel beteiligten Genen wurde für einige andere Genorte eine Assoziation zum Arterioskleroserisiko gefunden (Goldbourt et al. 1986, Schunkert et al. 1995). In der Tabelle 2 sind die Genorte, die mit dem Arterioskleroserisiko korrelieren oder die eine Krankheit (mit)verursachen, die typischerweise zum frühzeitigen Auftreten einer symptomatischen Arteriosklerose führt, aufgeführt (Schunkert et al. 1995).

Gen	**Genetische Defekte/ Erkrankungen**
Lipoproteinstoffwechsel	
LDL-Rezeptor	familiäre Hypercholesterinämie
ApoA-I	HDL-Defizienz
ApoB	familiär defektes ApoB
ApoE	Typ-III-Hyperlipoproteinämie
Apo(a)	erhöhtes Lipoprotein (a)
Lipoproteinlipase	Chylomikronämie
saure Cholesterinesterhydrolase	Cholesterinesterspeicherkrankheit
andere	
Fibrinogen	Myokardinfarkt
Cystathion-ß-Synthase	Homocysteinurie
Angiotensin-Konversionsenzym	Myokardinfarkt

Tabelle 2: Genorte, die mit dem Arterioskleroserisiko korrelieren oder die eine Krankheit (mit)verursachen, die typischerweise zum frühzeitigen Auftreten einer symptomatischen Arteriosklerose führt (LDL=Low-Density Lipoprotein, HDL= High-Density Lipoprotein, Apo=Apolipoproteine)

Bisher sind ungefähr 500 Gene (fast 10% vom bisher katalogisierten menschlichen Genom) mit kardiovaskulären Phänotypen assoziiert worden. So ist es wahrscheinlich, daß bei der Entstehung aller kardiovaskulären Erkrankungen mindestens ein genetischen Faktor beteiligt ist (Dietz et al.

1994). Es ist anzunehmen, daß mindestens 100 Gene bei der Arterioskleroseentstehung beteiligt sind (Lusis et al. 1992).

Kandidatengene (ein Gen, dessen Assoziation mit einer dementsprechenden Störung nicht bewiesen ist bzw. welches wegen seiner Funktion eine Störung verursachen kann; Gallo et al. 1995, Miserez et al. 1995) sind Gene, deren Proteinprodukte in folgenden Bereichen involviert sind: in der Lipoproteinstruktur und im Lipoprotein- und Lipidmetabolismus, Kontrolle des Wachstums von arteriosklerotischen Läsionen, Thrombogenese, Thrombolyse oder Fibrinolyse, Regulation des Blutdruckes und der Koronardurchblutung und Proteinprodukte, die in arteriosklerotischen Läsionen nachweisbar sind (Goldbourt et al. 1994). Weiterhin sind genetische Polymorphismen innerhalb der zellulären und molekularen Prozesse in arteriosklerotischen Läsionen (Wachstumsfaktoren, Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Enzyme) zu erwarten (Fuster et al. 1996). Abhängig von den hervorgerufenen Veränderungen könnte es zu einer Schutzwirkung oder zu einer Prädisposition für die Entwicklung einer Arteriosklerose kommen. Polymorphismen der Adhäsionsmoleküle könnten die Bindung der Leukozyten oder Thrombozyten an das Endothelium verstärken und die Progression der Läsionen bewirken (Lusis et al. 1992). In der vorliegenden Studie wird ein möglicher DNA-Polymorphismus im endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (E-Selektin, ELAM-1) untersucht.

Die familiäre Hypercholesterinämie wird durch Defekte im Low-Density-Lipoprotein(LDL)-Rezeptor-Gen verursacht und führt heterozygot und homozygot zur Cholesterinerhöhung (heterozygot zwei- bis dreifach, homozygot sechs- bis zehnfach). Eine der häufigsten familiären Hyperlipoproteinämien ist die familiäre gemischte Hyperlipidämie, die wahrscheinlich durch eine Überproduktion Apolipoprotein(Apo)-B-haltiger Partikel verursacht wird. Die Patienten der betroffenen Familien haben einen wechselnden Lipoprotein-Phänotyp mit Hypercholesterinämie und/oder Hypertriglyzeridämie. Eine Kopplung mit dem ApoA-I/C-III/A-IV-Locus auf Chromosom 11 ist nachgewiesen worden (Schunkert et al. 1995). HDL-Mangelsyndrome, die durch niedriges High-Density Lipoprotein (HDL) charakterisiert sind, betreffen alle den ApoA-I/C-III/A-IV-Locus. Es findet keine Synthese von ApoA-I und normalen HDL-Partikeln statt, welches mit einer schweren koronaren Herzkrankheit assoziiert ist (Karathanasis et al. 1983, Eckardstein et al. 1990). Der Lipoprotein(a)-Spiegel wird von verschiedenen Allelen bestimmt. Lipoprotein(a) (Lp(a)) ist ein LDL-Partikel, an welches das Glykoprotein Apo(a) gebunden ist, und das hohe Homologie zu Plasminogen zeigt. Bisher wurden 11 verschiedene Isoformen bzw. Allele entdeckt, die wahrscheinlich eine unterschiedliche Anzahl von "kringle IV"-Regionen widerspiegeln (Lusis et al. 1992). Lp(a) ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer Arteriosklerose und in arteriosklerotischen Läsionen nachweisbar (Berg 1992). Der ApoE-Genlocus ist durch drei Allele charakterisiert: E2, E3 und E4, wobei das E2-Allel mit den niedrigsten und das E4-Allel mit den höchsten LDL-Cholesterin-Spiegeln einhergeht (Boerwinkle et al. 1987, Breslow 1992, Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995). Das E4-Allel ist mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko verbunden (Eto et al. 1989, Isselbacher et

al. 1995, Porkka et al. 1994, Schunkert et al. 1995). Die familiär defekte ApoB-100-Erkrankung (FDB) bedingt eine Mutation in der LDL-Rezeptor-Bindungsregion von ApoB und führt damit zu einer Hypercholesterinämie (Breslow 1992, Tybjaerg-Hausen 1995).

Neben den am Lipoproteinstoffwechsel beteiligten Genen wurde für einige andere Genorte eine Assoziation zum Arterioskleroserisiko gefunden (Schunkert et al. 1995). Der Plasma-Fibrinogen-Spiegel ist ein unabhängiger Risikofaktor der koronaren Herzkrankheit (Fuster et al. 1996, Humphries et al. 1995, Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995). Außerdem ist der ß-Fibrinogen-Locus unabhängig vom Fibrinogenspiegel mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko assoziiert (Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995). Heterozygote und homozygote Defekte der Cystathion-ß-Synthase führen zur Hyperhomocyst(e)inämie, die unabhängig von anderen Risikofaktoren mit der koronaren Herzkrankheit assoziiert ist (Fuster et al. 1996, Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995). Das a-Allel des Angiotensinogen-Gens ist ebenfalls mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko verbunden (Ishigami et al. 1995, Miserez et al. 1995). Der Angiotensin-Konversionsenzym(angiotensin-converting-enzyme; ACE)-Deletionspolymorphismus ist mit einem erhöhten Risiko für Myokardinfarkte und Koronararteriosklerose assoziiert, unabhängig von anderen Risikofaktoren (Arbustini et al. 1995, Cambien et al. 1992). Von den drei möglichen ACE-Genotypen (II, ID, DD) ist der ACE-Spiegel bei der homozygoten Deletionsform (DD) am höchsten (Arbustini et al. 1995). Der 6A6A-Polymorphismus des Stromelysin-Promoters ist mit einer Progression der koronaren Herzkrankheit (<20% Stenose) assoziiert (Ye et al. 1995). Stromelysin gehört zur Familie der Metalloproteinasen, welche extrazelluläre Matrix abbauen, insbesondere Proteoglykane (Ye et al. 1995). Das H2-Allel der Lipoproteinlipase ist mit der Entwicklung einer Arteriosklerose assoziiert (Mattu et al. 1994, Schunkert et al. 1995, Thorn et al. 1990). Die saure Cholesterinesterhydrolase, welche die Cholesterinesterspeicherkrankheit verursacht, ist ebenfalls mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko assoziiert (Schunkert et al. 1995).

Weitere Gene, die mit der Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit assoziiert scheinen, sind folgende: die thermolabile Methylentetrahydrofolatreduktase (Kang et al. 1991), der LAL Insertions/Deletions Polymorphismus von ApoB (Peacock et al. 1992), der XbaI Polymorphismus von ApoB (Tybjaerg-Hansen et al. 1991), ein Glutamin/Histidin Polymorphismus von Apo-IV (Eckardstein et al. 1993), Polymorphismus des Insulin-Gens (Mandrup-Poulsen et al. 1984, Mandrup-Poulsen et al. 1986) und viele andere.

Bei einzelnen dieser Risikofaktoren sind die Daten aber noch widersprüchlich.

1.1.4. Pathogenese der Arteriosklerose

Die Entwicklung der arteriosklerotischen Läsionen ist durch alle zellulären Kom-
ponenten einer inflammatorisch-fibroproliferativen Antwort auf eine Schädigung charakterisiert (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die Bildung der verschiedenen Läsionen wird durch charakteristische Besonderheiten der Arterienwand modifiziert. Diese beinhalten die Funktion des Endotheliums und die Fähigkeit der glatten Muskelzellen in der Media und Intima, auf bestimmte Faktoren zu reagieren und somit eine arteriosklerotische Läsion zu bilden. Dementsprechend ist der Prozeß der Arteriosklerose kein degenerativer, sondern vielmehr ein aktiver Prozeß, der die Elemente der chronischen Entzündungsvorgänge und der Reparaturvorgänge in der Arterienwand beinhaltet (Fuster et al. 1996).

Trotz zahlreicher morphologischer, biochemischer und epidemiologischer Untersuchungen ist die Pathogenese der Arteriosklerose bis heute nicht eindeutig geklärt (Gross et al. 1996). Eine einheitliche pathogenetische Kaskade gibt es nach überwiegender Auffassung nicht. Vielmehr wird sie durch eine Vielzahl auslösender Mechanismen in Gang gesetzt. Die pathogenetischen Prozesse selbst sind komplex und greifen vielfach ineinander (Hornbostel et al. 1992).

In der formalen Pathogenese der Arteriosklerose spielen 5 Komponenten eine entscheidende Rolle: das Endothel, die glatten Muskelzellen (SMC) der Arterienwand, die Monozyten/Makrophagen, die Thrombozyten und die Lipoproteine des Plasmas (Hornbostel et al. 1992).

Im 19. Jahrhundert wurden zwei Hypothesen zur Erklärung der Pathogenese der Arteriosklerose favorisiert: die Inkrustationshypothese von Rokitansky (die Intimaverdickung resultiert von Fibrinablagerungen mit nachfolgender Organisation durch Fibroblasten und gefolgt durch Lipidakkumulation) und die Lipidhypothese von Virchow (Lipidakkumulation in der Arterienwand durch verstärkte Lipidablagerungen aus dem Blut; Fuster et al. 1992a). Diese zwei Hypothesen sind durch Ross in der sogenannten "response-to-injury"-Hypothese (Ver-letzungstheorie) zusammengefaßt worden (Fuster et al. 1992a, Fuster et al. 1996, Ross 1986, Ross 1993).

1.1.4.1. Hypothesen

Die Monozytenhypothese legt auf der Grundlage eines einzelnen, in den Läsionen gefundenen Isoenzyms nahe, daß die Intimaproliferation wie bei einem benignen Tumor aus der Vermehrung einer einzelnen, individuellen glatten Muskelzelle resultiert (Fuster et al. 1996, Isselbacher et al. 1995). Benditt und Benditt konnten die Monoklonalität von glatten Muskelzellen in arteriosklerotischen Läsionen nachweisen (Benditt et al. 1973). Die Auslösung des Prozesses könnte u. a. durch eine Virusinfektion erfolgen (Girndt 1994).

Die fokale klonale Sequenz beinhaltet, daß die glatten Muskelzellen der Intima normalerweise unter der Feedbackkontrolle durch die angrenzende Media unterliegen, indem die glatten Muskelzellen Mitoseinhibitoren bilden. Mit zunehmenden Alter treten vermehrt Störungen dieses Feedbackkontrollsystems auf, wenn diese Kontrollzellen zugrunde gehen (Isselbacher et al. 1995).

Die lysosomale Hypothese legt dar, daß eine alterierte Lysosomenfunktion zur Entstehung der Arteriosklerose beitragen kann. Die erhöhte Speicherung von Cholesterinestern in der glatten Muskelzelle der Arterien könnte mit dem relativen Mangel an Aktivität der lysosomalen Cholesterinesterhydrolase zusammenhängen (Isselbacher et al. 1995).

Die Lipidhypothese der Arteriosklerose geht von der Vorstellung aus, daß mit der Höhe der Cholesterinkonzentration im Blut unmittelbar und kausal das Risiko der Entwicklung einer Arteriosklerose verbunden ist (Girndt 1994). Die Lipide des Blutes können nach dieser Theorie auch ohne Vorliegen weiterer Faktoren eine Arteriosklerose auslösen und unterhalten. Diese Vorstellung wird durch zahlreiche tierexperimentelle Untersuchungen gestützt. Eine Vielzahl epidemiologischer Untersuchungen hat auch beim Menschen eine Assoziation zwischen den Blutspiegeln von Cholesterin oder anderen Lipiden und der Manifestation arteriosklerotischer Gefäßerkrankungen nachgewiesen (Girndt 1994). Durch eine medikamentöse Senkung des Cholesterinspiegels kann die Progression der koronaren Herzkrankheit reduziert und die Anzahl koronarer Ereignisse wie Myokardinfarkt oder plötzlicher Herztod vermindert werden (Stierle et al. 1995). Die Hyperlipoproteinämie ist stärkster Risikofaktor für die koronare Herzkrankheit (Stobbe et al. 1996). So kommt es zuerst zu funktionellen Beeinträchtigungen und nachfolgend zu morphologisch faßbaren Endothelzellschädigungen (Girndt 1994).

Die response-to-injury-Hypothese (Verletzungstheorie) wird am breitesten für die Arterioskleroseentstehung akzeptiert, die mit einer Vielzahl experimenteller Beweise übereinstimmt (Hornbostel et al. 1992, Isselbacher et al. 1995). Nach dieser Vorstellung sind die die Intima auskleidenden Endothelzellen und möglicherweise auch die darunter liegenden glatten Muskelzellen wiederholten oder kontinuierlichen Schädigungen durch chemische, mechanische, immunologische oder toxische Einflüsse ausgesetzt (Fuster et al. 1996, Hornbostel et al. 1992, Ross 1993). Die geschädigten Zellen induzieren eine spezifische, chronische Entzündungsreaktion mit nachfolgender fibroproliferativer Antwort. Die Dysfunktion des Endothels wird durch die verschiedenen Risikofaktoren hervorgerufen und bedingt die Bildung von Adhäsionsmolekülen (endotheliale leukozytäre Adhäsionsmolekül-1; ELAM-1, P-Selektin, VCAM-1 und ICAM-1) auf der Oberfläche des Endothels. Diese Adhäsionsmoleküle sind in der Lage, zirkulierende Monozyten und T-Lymphozyten zu binden (Fuster et al. 1996, Ross 1993).

1.1.4.2. Histologische Klassifikation

Arteriosklerotische Veränderungen können nach Stary in 8 verschiedene Typen von Läsionen eingeteilt werden (Fuster et al. 1996, Just et al. 1994). Jeder Typ ist charakterisiert durch einen bestimmten Aufbau, durch Zellen und eine charakteristische extrazelluläre Matrix und anderes. Die Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die Einteilung der arteriosklerotischen Läsionen nach Stary.

Typ	Nomenklatur	KL	Beschreibung
I	Initialläsion	-	Lipoproteinakkumulation in der Intima; Lipid in den Makrophagen; keine Intimadesorganisation; Veränderungen nur mikroskopisch oder chemisch nachweisbar
	▼		
II **IIa** **IIb**	Fettstreifen progredient nicht progredient	-	Lipoproteinakkumulation in der Intima; Lipid in den Makrophagen und glatten Muskelzellen; keine Intimadesorganisation; mit bloßen Auge sichtbar
	▼		
III	Präatherom	-	Veränderungen vom Typ IIa plus multiple extrazelluläre Lipidablagerungen; Mikroskopisch Gewebeschäden und Desorganisation sichtbar
	▼		
IV	Atherom	x/-	Veränderungen vom Typ IIa plus konfluierende extrazelluläre Lipidmassen (Lipidkern) und ausgeprägte Zerstörung der Intima
	▼		
V	Fibroatherom	x/-	Veränderungen vom Typ IV plus Entwicklung einer Kollagenschicht und Vermehrung der glatten Muskelzellen oberhalb des Lipidkerns
	▼		
VI **VIa** **VIb** **VIc**	komplizierte Läsion Fissur Hämatom Thrombus	x/-	Veränderungen vom Typ IV oder V plus Fissur oder Erosion und/oder Hämatom und/oder Thrombus
	▼		
VII	kalzifizierte Läsion	x/-	Jede fortgeschrittene Läsion, die vorrangig aus Calcium besteht; wesentliche strukturelle Deformität
	▼		
VIII	fibrotische Läsion	x/-	Jede fortgeschrittene Läsion, die vorrangig aus Kollagen besteht; Lipid kann fehlen

Tabelle 3: Übersicht über die Einteilung, Nomenklatur und Beschreibung von arteriosklerotischen Läsionen nach Stary (KL=Klinik, x=vorhanden, -=fehlend)
Die Nummern I-VI repräsentieren die übliche Reihenfolge, wie sich die arteriosklerotischen Läsionen von der primären Akkumulation von Lipoproteinen und Makrophagen bis hin zum Atherom und Fibroatherom entwickeln (Just et al. 1994). Das morphologische Korrelat der Arteriosklerose ist das Atherom (Stobbe et al. 1996). Das Atherom ist gekennzeichnet durch Schaumzellen (Makrophagen nehmen oxidierte LDL über den Scavenger-Rezeptor auf und speichern diese im Zytoplasma, hauptsächlich in den Lysosomen; Fuster et al. 1996, Hecht et al. 1988), Bindegewebsfasern, glatte Muskelzellen und nekrotische Areale. Umgeben wird es von einer bindegewebigen Deckplatte (Stobbe et al. 1996). Die Nummern VII und VIII repräsentieren morphologische Varianten, welche Typ VI vorangehen oder folgen. Die Typen I und II werden als frühe Läsionen bezeichnet, die Typen IV bis VIII als fortgeschrittene Läsionen (Fuster et al. 1996, Just et al. 1994). In den zwei ersten Jahrzehnten treten die Typen I und II auf. Ab dem 3. Lebensjahrzehnt werden die Typen III und IV beobachtet. Ab der 4. Dekade treten normalerweise die fortgeschrittenen Läsionen auf (Just et al. 1994).

Die Gefäßschädigung spielt eine zentrale Rolle bei der Initiierung und Entwicklung der Arteriosklerose (Fuster et al. 1992a). Fuster legt eine pathophysiologische Klassifikation der Gefäßschädigung dar, die 3 Typen der Schädigung (gleichbedeutend mit Zunahme der Schädigung) unterscheidet (Fuster et al. 1992a, Kumar et al. 1994).

Die Typ I-Schädigung wird durch eine Hypercholesterinämie, vasoaktive Amine, Immunkomplexe, Infektionen, Zigarettenrauchen und anderes hervorgerufen. Dies führt zu einer Akkumulation von Monozyten/Makrophagen und Lipiden an diesen Stellen.

Die Freisetzung von toxischen Substanzen durch Monozyten/Makrophagen führt zu einer Typ II-Schädigung mit Anlagerung von Thrombozyten und Makrophagen an das Endothelium mit nachfolgender Freisetzung von verschiedenen Wachstumsfaktoren, die zu einer Migration und Proliferation von glatten Muskelzellen führen und die Bildung eines Atheroms bedingen.

Bei Aufbrechen der Atheromkapsel entsteht eine Typ III-Schädigung mit Thrombusbildung (Fuster et al. 1992a, Kumar et al. 1994). Die Entwicklung der arteriosklerotischen Läsionen ist variabel und stark von den Risikofaktoren abhängig (Kumar et al. 1994).

Die Klassifikation der Gefäßschädigung und Gefäßreaktion nach Fuster ist in der Tabelle 4 dargestellt.

Typ	Beschreibung	Lipidakkumulation/Monozytenadhäsion	Thrombozytenanlagerung/ Thrombose	Proliferation von glatten Muskelzellen
I	Funktionelle Alteration der Endothelzellen ohne wesentliche morphologische Veränderungen	mäßig	nein	schwach
II	Abtragung der Endothelschicht und Schädigung der Intima, aber mit intakter Lamina elastica interna	?	geringfügig	mäßig
III	Schädigung der Intima und Media	?	mäßig	ausgeprägt

Tabelle 4: Klassifikation der Gefäßschädigung und Gefäßreaktion

1.1.4.3. Die "response-to-injury"-Hypothese und zelluläre Interaktionen

Zelluläre Komponenten der Pathogenese der Arteriosklerose umfassen die Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Thrombozyten, T-Lymphozyten und Monozyten/Makrophagen.

Die Monozyten/Makrophagen nehmen eine zentrale Rolle bei der Atherogenese ein, da sie zu jeder Zeit nachweisbar sind (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die eigentlichen Aufgaben umfassen die Antigenpräsentation, die Synthese von bioaktiven Substanzen und die Phagozytose (Scavenger-Funktion; Fuster et al. 1996). Das gemeinsame Vorkommen von Makrophagen und T-Lymphozyten und die Expression von MHC-Klasse-II-Antigenen (HLA-DR) durch Makrophagen macht eine Immunantwort wahrscheinlich (Fuster et al. 1996, Just et al. 1994). In Frage kommende Antigene sind: oxidierte Low-Density Lipoproteine (oxidierte LDL), advanced glycosylation end products (AGEs), Chlamydia pneumoniae Antigene und möglicherweise virale Antigene (Fuster et al. 1996, Jaross et al. 1995). Immunkomplexe von Autoantikörpern und oxidierte LDL wurden im Plasma und in Läsionen nachgewiesen (Jaross et al. 1995).

Monozyten/Makrophagen synthetisieren innerhalb der Leukozyten die größte Vielfalt an bioaktiven Substanzen (Fuster et al 1996, Ross 1993), welche in der Tabelle 5 auf der linken Seite aufgeführt sind. Substanzen, die innerhalb von arteriosklerotischen Läsionen und experimentell nachgewiesen wurden, sind auf der rechten Seite der Tabelle dargestellt.

Substanzen, die von Monozyten/Makrophagen synthetisiert werden	Substanzen, die in arteriosklerotischen Läsionen und experimentell nachgewiesen wurden
Zytokine und Immunmodulierende Faktoren	Interleukine (IL-1, IL-6, IL-8)
	Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)
	Monocyte colony-stimulating factor (M-CSF)
	Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-alpha)
Enzyme und Enzyminhibitoren (Gerinnung, Lipoproteinstoffwechsel)	15-Lipoxygenase
Enzyme und Enzyminhibitoren (Hydrolyse von extrazellulärer Matrix)	Kollagenase
Substanzen, die die Migration und Wachstum anderer Zellen steuern	Platelet-derived growth factor (PDGF)
	Heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF)
Faktoren, die den Gefäßtonus beeinflussen	Endothelin-1
Adhäsionsmoleküle	Adhäsionsmoleküle (VCAM-1, ICAM-1)
Regulatoren des Lipoproteinstoffwechsels	Rezeptor für LDL-receptor-related protein
Proteine der extrazellulären Martix	Rezeptor für modifiziertes LDL (Scavenger-Rezeptor)
Zytotoxische Substanzen, Sauerstoffradikale	Rezeptor für advanced glycosylation end products (AGEs)
Leukotriene, Prostaglandine	andere

Tabelle 5: Substanzen, die von Monozyten/Makrophagen synthetisiert werden (links) und diejenigen, die in arteriosklerotischen Läsionen nachgewiesen worden sind (rechts, Auswahl)

Interleukin-1 (IL-1) und Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) induzieren die Expression von zellulären Adhäsionsmolekülen, wie des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (E-Selektin, ELAM-1), welches weitere Monozyten zur Läsion rekrutiert. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) und monocyte colony-stimulating factor (M-CSF) wirken chemotaktisch auf weitere Monozyten und M-CSF unterdrückt die Apoptose von Makrophagen. Die 15-Lipoxygenase katalysiert die Oxidation von LDL zu oxidierten LDL, welches zu einer verstärkten Rekrutierung und Migration von Monozyten führt, d.h. es wirkt selbst chemotaktisch, indem es die Synthese von MCP-1 durch Endothelzellen und die Expression von Adhäsionsmolekülen durch Endothelzellen verstärkt (E-Selektin, ICAM-1, VCAM-1; Fuster et al. 1996, Just 1994). Platelet-derived growth factor (PDGF) und heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF) üben ihre Wirkung u.a. auf glatte Muskelzellen aus (Chemotaxis, Proliferation).

Endothelin-1, welches zu den wirksamsten Vasokonstriktoren des Organismus zählt, ist gleichzeitig ein Mitogen für den glatten Muskel (Girndt 1994, Lusis et al. 1992).

Der Grad der Oxidation von LDL korreliert mit der Abnahme der Erkennung durch den LDL-Rezeptor und gleichzeitig erhöht sich die Affinität für andere Rezeptoren, wie die Scavenger-Rezeptoren Klasse A und B (Fuster et al. 1996). Die verstärkte Phagozytose der Makrophagen bedingt weitere oxidative Modifikationen von LDL durch entstehende reaktive Sauerstoffradikale (Fuster et al. 1996). Während der LDL-Rezeptor bei einer Hypercholesterinämie down-reguliert wird, tritt dies beim Scavenger-Rezeptor nicht auf (Lusis et al. 1992). Die Expression von Adhäsionsmolekülen wie VCAM-1 und ICAM-1 verstärkt die Rekrutierung und Migration von Monozyten/Makrophagen in die arteriosklerotische Läsion (Davies et al. 1993, Fuster et al. 1996, Ross 1993, Wal et al. 1992).

Die Migration der glatten Muskelzellen der Media in die Intima, wo sie beginnen zu proliferieren und extrazelluläre Matrix zu bilden, ist der pathophysiologische Hauptmechanismus bei der Entwicklung eines Fettstreifens (frühe Läsion) in ein Atherom (fortgeschrittene Läsion; Fuster et al. 1996, Goldbourt et al. 1994, Just et al. 1994, Ross 1993). In der reifen Arterie haben sich die glatten Muskelzellen in den kontraktilen Phänotyp differenziert. In Reaktion auf eine akute Schädigung (beispielsweise perkutane transluminale koronare Angioplastie; PTCA) oder subakute Schädigung (wie Lipidakkumulation und Oxidation) wandeln sich die glatten Muskelzellen in einen synthetischen nicht-kontraktilen Phänotyp zurück. Diese phänotypische Umwandlung wird durch Veränderungen der äußeren Bedingungen und Faktoren wie Veränderungen in der Zusammensetzung der extrazellulären Matrix und durch verstärkte Migrationsfähigkeit und erhöhte Empfindlichkeit gegenüber chemotaktischen Faktoren ausgelöst.

Glatte Muskelzellen der Intima, die den synthetischen Phänotyp exprimieren, sind empfindlich gegenüber Wachstumsfaktoren, die von Thrombozyten, Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Monozyten/Makrophagen gebildet werden (Fuster et al. 1996, Goldbourt et al. 1994, Ross 1993). In den Tabellen 6 und 7 sind zum einen die äußeren Faktoren aufgeführt, die die phänotypischen Veränderungen bewirken und zum anderen die Wachstumsfaktoren aufgeführt, welche die Proliferation von glatten Muskelzellen bewirken (Fuster et al. 1996, Girndt 1994, Goldbourt et al. 1994, Ross 1993).

Äußere Faktoren, welche den Phänotyp der Muskelzelle bestimmen	
Schädigung/atherogenetische Faktoren	Lipide/Lipidprodukte, mechanische Schädigung, Toxine/chemische Substanzen, Entzündungsmediatoren/-zellen, Viren
Endothelzelleinflüsse	Kontakt zwischen Endothelzelle und SMC, Kontrolle der Gefäßpermeabilität
Äußere Faktoren, welche den Phänotyp der Muskelzelle bestimmen	
Extrazelluläre Matrix	Adhäsionsmoleküle, Komponenten der extrazellulären Matrix
Mechanische Faktoren	aktive Dehnung/Spannung, passive Dehnung, hämodynamische Kräfte
Humorale Substanzen	Wachstumsfaktoren/-inhibitoren
Neuronale Faktoren	Neurotransmitter, Kontrolle des Gefäßtonus
SMC-SMC Interaktionen	Zell-Zellkontakt, autokrine Faktoren
Sauerstoffspannung	

Tabelle 6: Übersicht über die äußeren Faktoren, die bei der phänotypischen Differenzierung der glatten Muskelzelle eine Rolle spielen (SMC=smooth muscle cell, glatte Muskelzelle)

Die Entwicklung einer arteriosklerotischen Läsion beinhaltet drei hauptsächliche Prozesse: a) Die Migration, Proliferation und Akkumulation von Makrophagen,
T-Lymphozyten und glatten Muskelzellen in der Intima,

b) die Bildung von extrazellulärer Matrix (elastische Fasern, Kollagen, Proteoglykane) durch die glatten Muskelzellen und
c) die Akkumulation von Lipid in Makrophagen und Muskelzellen und in der extrazellulären Matrix (Ross 1993).

Die "response-to-injury"-Hypothese (Verletzungshypothese) beschreibt, wie durch ein atherogenes Agens eine Dysfunktion des Endothels ausgelöst wird. Das eigentliche auslösende Agens wurde bisher nicht identifiziert, mögliche Kandidaten sind oxidierte Lipide (oxidierte LDL), Zytokine oder Proteasen, Änderungen der Scherkräfte, freie Radikale, Homocysteine oder eine virale Infektion (Fuster et al. 1996). Möglicherweise wirken diese schädigenden Agenzien durch den Transkriptionsfaktor nuclear factor-kappa B (NF-kB), welcher für die unangemessene Genexpression in Endothelzellen verantwortlich ist (Fuster et al. 1996).

Viele Reaktionen der Endothelzellen sind mit der Arteriosklerosegenese assoziiert, wie die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Endothelzelloberfläche (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1), die veränderte Synthese von Wachstumsfaktoren, chemotaktischen und vasoaktiven Substanzen, die Fähigkeit LDL zu oxidieren und auf oxidierte Lipoproteine zu reagieren, prokoagulatorische Fähigkeiten zu entwickeln und die Fähigkeit, die Permeabilität der Gefäßwand zu verändern. Zuerst entsteht eine lokale, spezialisierte Entzündungsreaktion in der Arterienwand. Bleibt die Wirkung des schädigenden Agens nicht aus, resul-

tiert daraus eine toxische Schädigung der Zellen der Arterienwand mit darauffolgender fibroproliferativer Reaktion (Fuster et al. 1996, Ross 1993).

Wachstums-faktoren	Ursprung	Wirkungen
Platelet derived growth factor (PDGF)	Thrombozyten, Makrophagen, SMC, Endothelzellen	Wichtigster Wachstumsfaktor für SMC, verstärkt Expression vom LDL-Rezeptor, aktiviert Kollagensynthese, chemotaktisch für SMC und Monozyten, induziert Bildung von Insulin-like growth factor (IGF I) in SMC
Fibroblast growth factor (FGF)	Alle Zellen	Stimuliert Wachstum von SMC und Endothelzellen, chemotaktisch für Fibroblasten und Endothelzellen, stimuliert Angiogenese
Heparin-binding EGF-like factor (HB-EGF)	Makrophagen, SMC	Stimuliert Proliferation und Migration von SMC
Tumornekrose-faktor-alpha (TNF-alpha)	Makrophagen, Lymphozyten (T-, B-), SMC	Verstärkung der Expression von Adhäsionsmolekülen/Induktion der Expression von ELAM-1 auf Endothelzellen, aktiviert Makrophagen, induziert IL-1 Sekretion
Transforming growth factor-beta (TGF-beta)	Lymphozyten (T-, B-)	Stimuliert Wachstum von SMC in niedriger Konzentration, hemmt Wachstum bei hoher Konzentration, stimuliert Kollagensynthese, stimuliert Sekretion von Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)
Interleukin-1 (IL-1)	Makrophagen, Endothelzellen, SMC	Verstärkung der Expression von Adhäsionsmolekülen, Induktion der Expression von E-Selektin (ELAM-1) auf Endothelzellen, stimuliert Wachstum von SMC, induziert Zytokin- und Prostaglandinsynthese in Makrophagen
Interferon-gamma (IFN-gamma)	T-Lymphozyten	Induktion der Expression von MHC-Klasse-II-Antigenen, aktiviert Funktionen der Makrophagen, inhibiert Wachstum von SMC

Tabelle 7: Darstellung der Wachstumsfaktoren, welche die Proliferation von glatten Muskelzellen bewirken bzw. inhibieren (SMC=smooth muscle cell, glatte Muskelzelle)

Insgesamt ist der arteriosklerotische Prozeß weniger ein degenerativer als vielmehr ein proliferativer Prozeß, der von zellulären Schäden und Nekrosen begleitet wird (Girndt 1994). So kann eine wiederholte oder chronische Schädigung zu einer langsam fortschreitenden Läsion führen, die eine allmähliche Zunahme der glatten Muskelzellen der Intima, der Makrophagen, von Bindegewebe und Lipiden beinhaltet (Isselbacher et al. 1995).

Einzelne oder wenige Episoden einer Schädigung können jedoch zu einer proliferativen Antwort führen, die sich im Unterschied zur ständigen oder chronischen Schädigung zurückbilden kann (Isselbacher et al. 1995).

In der Abbildung 1 ist die Pathogenese der Arteriosklerose nach Ross zusammengefaßt (Hornbostel et al. 1992).

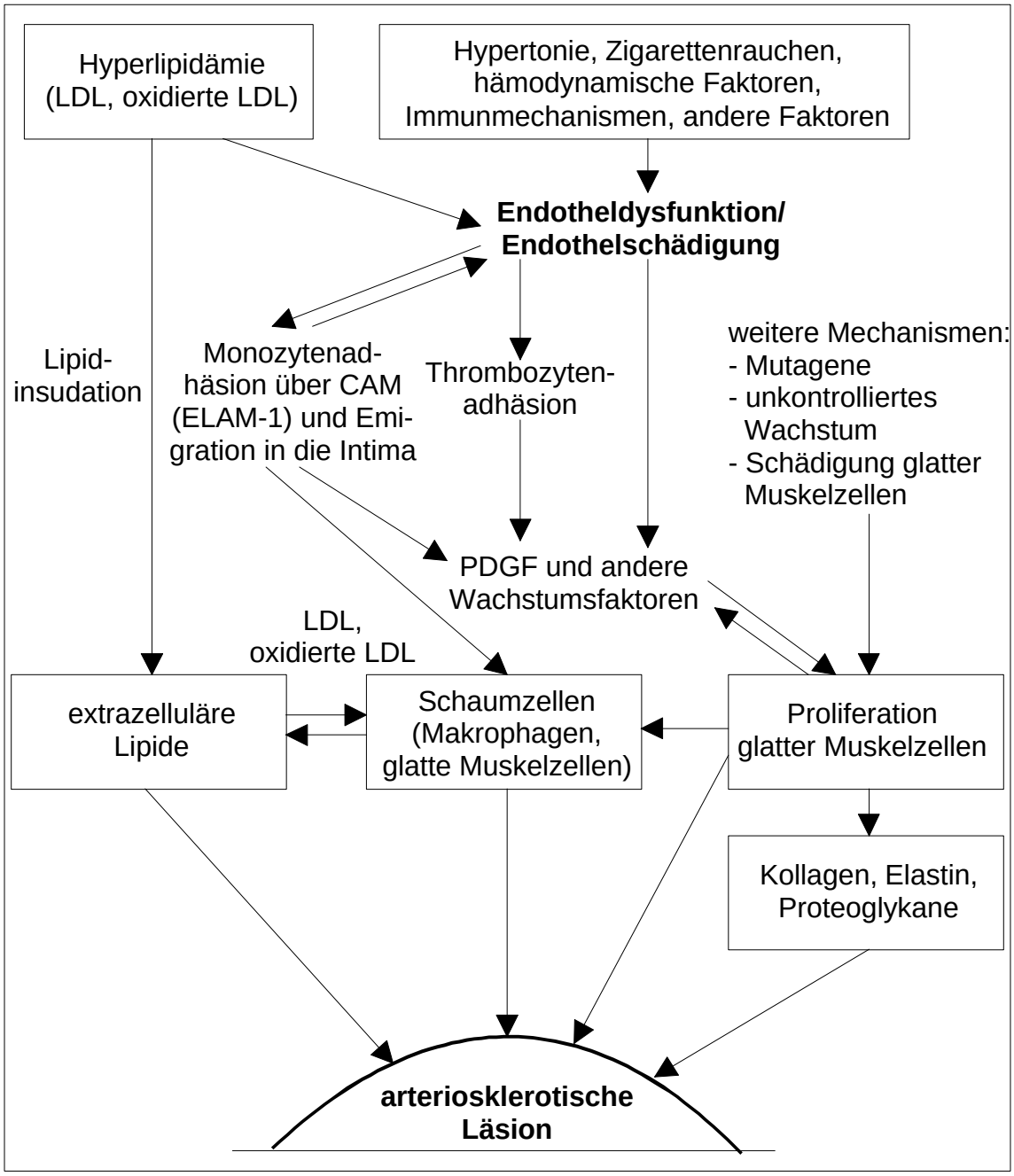


Abbildung 1: Pathogenese der Arteriosklerose (response-to-injury-Hypothese) nach Ross: Eine Hyperlipidämie oder andere Risikofaktoren führen zur funktionellen oder morphologischen Endotheldysfunktion bzw. -schädigung mit Monozyten- und Thrombozytenadhäsion vermittelt durch zelluläre Adhäsions-

moleküle (CAM) wie des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin), ICAM-1 oder VCAM-1, wobei PDGF (platelet derived growth factor) und andere Wachstumsfaktoren freigesetzt werden. Wichtigste Wirkung ist die Proliferation und Imigration glatter Muskelzellen der Media in die Intima. Die Muskelzellen bilden dabei große Mengen von Kollagen, Elastin und Proteoglykanen, die wesentliche Bestandteile des atheromatösen Plaques darstellen. Aus den eingewanderten Monozyten/Makrophagen und glatten Muskelzellen bilden sich Schaumzellen. Wahrscheinlich gibt es noch endothelunabhängige Mechanismen, die die Proliferation glatter Muskelzellen steigern.

1.1.5. Funktion und Rolle der Arterienwand bei der Arteriosklerose

Die normale Arterienwand besteht aus 3 Schichten: der Intima, der Media und der Adventitia (Leonhardt 1990). Die einschichtige, durchgängige Schicht aus Endothelzellen ist metabolisch sehr aktiv und produziert zahlreiche, Gefäßvolumen und Thrombozyten beeinflussende, Substanzen (Isselbacher et al. 1995).

Durch pathophysiologische Einflüsse bzw. schädigende Faktoren kann es zu einer endothelialen Dysfunktion kommen, charakterisiert durch erhöhte Permeabilität für Plasmalipoproteine, verstärkte Adhäsion für Leukozyten (Monozyten, T-Lymphozyten) und durch eine funktionelle Imbalance der pro- und antithrombotischen Faktoren, der Wachstumsstimulatoren und -inhibitoren und der vasoaktiven (vasodilatatorisch, vasokonstriktorisch) Substanzen (Fuster et al. 1996).

In der Tabelle 8 sind die pro- und die antithrombotischen Faktoren dargestellt.

Das Endothelium synthetisiert auch eine Vielzahl von Zytokinen, Wachstumsfaktoren und -inhibitoren, die parakrin (Wirkung auf Monozyten/Makrophagen und Muskelzellen) und autokrin (Wirkung auf Endothelzellen) wirken (Fuster et al. 1996). Diese Faktoren sind in der Tabelle 9 zusammengefaßt.

Das Endothelium der Koronararterien reguliert den Gefäßtonus durch die Synthese und Abgabe von vasoaktiven Substanzen. Beim intakten Endothelium resultiert eine Vasodilatation oder eine abgeschwächte Vasokonstriktion (Ryan et al. 1992). Die vasodilatatorischen und vasokonstriktorischen Substanzen sind in der Tabelle 10 zusammengestellt.

PROTHROMBOTISCH	ANTITHROMBOTISCH
platelet-activating factor (PAF)	Prostazyklin (PGI2)
Gewebefaktor	Thrombomodulin
von Willebrand Faktor	ecto-ADPase

PROTHROMBOTISCH	ANTITHROMBOTISCH
plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)	tissue plasminogen activator (tPA)
andere Gerinnungsfaktoren	Urokinase
	heparin-like molecules

Tabelle 8: Die pro- und antithrombotischen Faktoren, die von der Endothelzelle gebildet werden

Zytokine	Wachstumsfaktoren
Interleukin-1(IL-1)-alpha	platelet-derived growth factor (PDGF-A, -B)
Interleukin-1(IL-1)-beta	insulin-like growth factor (IGF-1)
Interleukin-6	basic fibroblast growth factor (bFGF)
Interleukin-8	heparin-binding EGF-like growth factor
monocyte chemotactic protein (MCP-1)	transforming growth factor-beta
colony stimulating factors (GM-/M-CSF)	

Tabelle 9: Zytokine und Wachstumsfaktoren, die von der Endothelzelle gebildet werden

Vasodilatatorisch	Vasokonstriktorisch
Prostazyklin (PGI2)	Endothelin-1
endothelium-derived relaxing factor/ Stickstoffmonoxid (EDRF)/NO	Angiotensin-II
andere "EDRF-ähnliche" Substanzen	Prostaglandine

Tabelle 10: Vasodilatatorische und vasokonstriktorische Substanzen, die von der Endothelzelle gebildet werden

Tierexperimentelle Untersuchungen haben eine erhöhte Permeabilität für Plasmalipoproteine, wie Low-Density Lipoprotein (LDL) und ß-Very-Low-Density Lipoprotein (ß-VLDL), durch Transzytose in den subendothelialen Raum demonstriert (Fuster et al. 1996, Just et al. 1994, Lusis et al. 1992). Normales Low-Density Lipoprotein (LDL) kann auch durch rezeptorvermittelte Endozytose über den LDL-Rezeptor in die Endothelzelle aufgenommen werden (Silbernagl et al. 1988). Bei Vorliegen einer Hypercholesterinämie ist allerdings dieser Rezeptor meistens down reguliert (Fuster et al. 1996, Lusis et al. 1992). Endothelzellen sind nicht nur in der Lage, LDL zu modifizieren d.h. oxidierte

LDL zu bilden, sondern können oxidierte LDL auch endozytotisch über den sogenannten Scavenger-Rezeptor aufnehmen (Fuster et al. 1996, Just et al. 1992).
Eine Endothelschädigung bzw. eine Dysfunktion des Endothels wird durch die chronische Einwirkung von Risikofaktoren wie Hyperlipidämie (LDL, oxidierte LDL), Hypertonus, Diabetes mellitus, Zigarettenrauchen und anderen Faktoren ausgelöst und so könnten Störungen in der Homöostase der einzelnen Systeme in der Endothelzelle bedeutenden Anteil bei der Entwicklung von arteriosklerotischen Läsionen haben (Fuster et al. 1996).

Während der Transzytose können LDL oxidiert werden und nach Ablagerung dieser oxidierten LDL im subendothelialen Raum, haben sie verschiedene Effekte auf die extrazelluläre Matrix und Zellen (Monozyten/Makrophagen, T-Lymphozyten, glatte Muskelzellen, Endothelzellen; Fuster et al. 1996, Just et al. 1994, Lusis et al. 1992, Ross 1993). Oxidierte LDL und eine wichtige Komponente davon, Lysophosphatidylcholin (Lysolezithin, LPC), bewirken antivasodilatatorische (provasokonstriktorische), proinflammatorische und prothrombotische (antifibrinolytische) Effekte der Endothelzellen (Fuster et al. 1992b, Just et al. 1994). Die Effekte auf die anderen Zellen beinhalten die Beeinflussung von Zellaktivierungen, Zytokinfreisetzungen und Signalwegen (Just et al. 1994).

Oxidierte LDL induzieren die Bildung von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1), welche Monozyten und T-Lymphozyten binden (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Lysophosphatidylcholin wirkt selbst chemotaktisch auf Monozyten (Lusis et al. 1992). Weiterhin induzieren oxidierte LDL in Monozyten die Bildung von bisher nicht bekannten Zytokinen, welche zu einer verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1) führen (Fuster et al. 1996).

Frühe arteriosklerotische Läsionen sind durch eine verstärkte Adhäsion von Monozyten an das Endothel charakterisiert (Fuster et al. 1992a, Fuster et al. 1996, Lusis et al. 1992, Ross 1993). Nach Migration in den subendothelialen Raum wandeln sie sich in ortsständige Makrophagen um (Isselbacher et al. 1995), die eine ganze Anzahl von Substanzen sezernieren können, die eine Progression der Läsion bewirken (Fuster et al. 1996).

1.2. Zelluläre Adhäsionsmoleküle

Interaktionen zwischen Zellen der Gefäßwand und Leukozyten und Thrombozyten spielen eine wichtige Rolle im Prozeß der Entwicklung der Arteriosklerose (Lusis et al. 1992, Ross 1993). Eine besondere Eigenschaft einer inflammatorischen Reaktion ist die lokale Akkumulation von Leukozyten (Sluiter et al. 1993). Nach der Adhäsion der Leukozyten an das Endothelium kommt es zur Migration dieser Leukozyten in den subendothelialen Raum als Antwort auf verschiedene Entzündungsmediatoren (Lusis et al. 1992).

Die Adhäsion von Monozyten an das Endothelium ist eines der ersten Veränderungen, die in arteriosklerotischen Läsionen auftreten (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Spezifische Adhäsionsmoleküle auf der Endotheloberfläche, welche die Adhäsion und Migration der Leukozyten vermitteln, werden durch Entzündungsmediatoren induziert oder verstärkt exprimiert (Lusis et al. 1992).

Die Extravasation von Leukozyten verläuft dabei nicht in einem Schritt, sondern als Prozeß aus wenigstens 3 Schritten, der als Adhäsionskaskade bezeichnet wird (Carlos et al. 1994, Froese et al. 1994, Sluiter et al. 1993, Wegner 1994). An dieser Adhäsionskaskade, welche aus "tether“ bzw. "rolling" ("Halten" bzw. "Rollen"), "trigger" und "glue" ("Triggerung" und "Anheftung") und "migration" ("Migration") besteht, nehmen verschiedene Adhäsionsmoleküle (Selektine, Integrine, Immunglobuline) und Chemokine teil (Carlos et al. 1994, Froese et al. 1994, Fuster et al. 1996, Ross 1993, Wegner 1994). In vivo-Daten, die dieses Konzept unterstützen, sind bisher nur von der Mikrozirkulation erhalten worden, so daß nicht mit letzter Bestimmtheit das Modell der Adhäsionskaskade auf die großen Arterien übernommen werden kann (Fuster et al. 1996). Die Möglichkeit der Induktion von Adhäsionsmolekülen durch Lipide bzw. oxidierte Lipide (oxidierte LDL) und das ausschließliche Vorkommen von Monozyten/Makropha-gen bei fast völligem Fehlen von Neutrophilen sind Besonderheiten in arterio-sklerotischen Läsionen (Bevilacqua et al. 1994, Fuster et al. 1996).

Zelluläre Adhäsionsmoleküle (cell adhesion molecules; CAM) vermitteln Zellinteraktionen zwischen Immunzellen einerseits und zwischen Leukozyten und Endothelzellen andererseits (Laffon et al. 1995). Der Begriff "Adhäsionsmoleküle" ist insofern eine inkomplette Beschreibung, da er nur die Adhäsion zwischen Zellen beschreibt. Zelluläre Adhäsionsmoleküle bewirken nicht nur die Adhäsion, sondern übertragen auch Signale in das Zellinnere und regulieren damit die Immunantwort der Zelle im Rahmen des Entzündungsgeschehens (Wegner 1994). So wird als Synonym gelegentlich der Begriff "akzessorische Rezeptoren" ("accessory receptors") gebraucht (Wegner 1994).

Bisher sind wenigstens 5 Familien innerhalb der zellulären Adhäsionsmoleküle bekannt: die Selektine, die Integrine, die Immunglobulin-Superfamilie, die Cadherine und die Addressine, außerdem noch Proteoglykane und Sialomucine

(Bevilacqua et al. 1994, Carlos et al. 1994, Hogg et al. 1995, Jang et al. 1994, Laffon et al. 1995, Wegner 1994). Im Rahmen der Atherogenese sind hauptsächlich die Selektine, die Integrine und die Immunglobulin-Superfamilie an den Interaktionen von Leukozyten und Endothelzellen beteiligt (Carlos et al. 1994, Laffon et al. 1995, Sluiter et al. 1993).

Die zellulären Adhäsionsmoleküle sind in vielen physiologischen und pathologischen Zuständen beteiligt, wie lymphocyte homing, bei der Immunantwort, bei Entzündungsvorgängen, bei der zellvermittelten Zytotoxizität, bei der Metastasierung und Thrombose (Laffon et al. 1995). Andere Funktionen sind Bindung von Parasiten (z.B. Malaria), Viren (z.B. Rhinoviren) und Tumorzellen und ihre Teilnahme bei der Signaltransduktion (Carlos et al. 1994). Die Adhäsionsmoleküle, welche bisher auf (nichtlymphatischen) Endothelzellen gefunden wurden und welche bei der Leukozytenadhäsion beteiligt sind, sind in der Tabelle 11 dargestellt (Bevilacqua et al. 1993, Carlos et al. 1994, Hogg et al. 1993, Hogg et al. 1995, McEver et al. 1995, Sluiter et al. 1993, Tedder et al.1995). Es sind jeweils die Liganden auf den Leukozyten, die basale Expression und die Stimulatoren der Expression der zellulären Adhäsionsmoleküle (CAM) angegeben.

Die Integrine auf den Leukozyten vermitteln die Adhäsion der Leukozyten an die Endothelzellen durch die Bindung an die zellulären Adhäsionsmoleküle der Immunglobulin-Superfamilie (McEver 1992). Neben der Vermittlung der "glue" ("Anheften")-Phase der Adhäsionskaskade sind sie auch für die Migrationsphase verantwortlich (Hogg et al. 1993, Wegner 1994). Normalerweise sind die Integrine auf den Leukozyten inaktiv bzw. binden die Adhäsionsmoleküle aus der Immunglobulin-Superfamilie mit sehr niedriger Affinität (Hogg et al. 1993). Die Leukozytenaktivierung resultiert in einer schnellen, aber vorübergehenden Affinitätssteigerung der Rezeptoren (McEver 1992). Die Mechanismen dieser Affinitätssteigerung sind noch unklar (McEver 1992). Die Integrine sind heterodimere Transmembran-Glykoproteine, welche aus zwei nichtkovalent assoziierten alpha- und beta-Untereinheiten bestehen (Carlos et al. 1994, Froese et al. 1994). Die Rezeptorfamilie setzt sich aus verschiedenen Kombinationen von einer der 12 bis 15 alpha-Untereinheiten (α1-α15) mit einer der 8 beta-Untereinheiten (ß1-ß8) zusammen (Carlos et al. 1994, Froese et al. 1994). Die Bindungsstelle der Integrine wird durch Anteile von beiden Untereinheiten geformt und wird nach der beta-Untereinheit benannt (Froese et al. 1994). Die Aktivierung der Integrine während der Wechselwirkung mit dem Endothelium erfolgt durch Mediatoren, wie platelet activating factor (PAF), Interleukin-8 (IL-8), macrophage inhibitory protein(MIP)-1ß und einigen chemotaktischen Molekülen, die an ihre Rezeptoren auf den Leukozyten binden (Hogg et al. 1993).

Innerhalb der Integrin-Familie sind nur 5 Mitglieder an der Adhäsion von Leukozyten an das Endothelium beteiligt: die beta2-Integrine (LFA-1; CD11a/CD18, MAC-1; CD11b/CD18, p150/95; CD11c/CD18), das beta1-Integrin VLA-4 (α4ß1, CD49d/CD29) und α4ß7 (Carlos et al. 1994).

CAM	Familie	Basale Expres-sion	Stimula-toren der Expression	Liganden auf den Leukozyten	Familie
E-Selektin (ELAM-1)	Selektin	fehlt	IL-1, TNF-alpha, ODFR, IFN-gamma, LPS	SLea, SLex, L-Selektin (LAM-1), ESL-1, PSGL-1	Zucker Zucker Selektin Glykoprot. Mucin
P-Selektin (GMP-140)	Selektin	fehlt (in WPG)	Histamin, Thrombin, ODFR	SLea, SLex, PSGL-1	Zucker Zucker Mucin
ICAM-1	Ig	niedrig	IL-1, TNF-alpha, IFN-gamma	LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18)	Integrin Integrin
ICAM-2	Ig	mäßig	keine	LFA-1 (CD11a/CD18)	Integrin
VCAM-1	Ig	sehr niedrig	IL-1, TNF-alpha	VLA-4 (CD49d/CD29, alpha4beta1), alpha4beta7 (CD49d/beta7)	Integrin Integrin
? ?	? ?	? ?	? ?	p150,95(CD11cCD18) L-Selektin (LAM-1)	Integrin Selektin
PECAM-1 (CD31)	Ig	?	?	PECAM-1 (CD31)	Ig
Fibronektin (CS-1)	Glyko-protein	?	?	VLA-4 (CD49d/CD29, alpha4beta1)	Integrin

Tabelle 11: Übersicht über die zellulären Adhäsionsmoleküle (CAM) auf den Endothelzellen, welche bei der leukozytären Adhäsion beteiligt sind (ELAM-1=endotheliales leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, GMP-140=granuläres Membranprotein-140, LAM-1=leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, ICAM-1=interzelluläres Adhäsionsmolekül-1, VCAM-1=vaskuläres zelluläres Adhäsionsmolekül-1, PECAM=platelet-endothelial cell adhesion molecule, IL-1=Interleukin-1, TNF-alpha=Tumornekrosefaktor-α, IFN-gamma=Interferon-γ, ODFR= oxygen-derived free radicals (freie Sauerstoffradikale), LPS=Lipopolysaccharide, SLe a=sialyl Lewis a, SLe x=sialyl Lewis x, LFA-1=lymphozytäres funktionsassoziiertes Molekül-1, Glykoprot.=Glykoprotein, Ig=Immunglobulin-Superfamilie, WPG= Weibel-Palade Granula)

Die Immunglobulin-Superfamilie besteht aus zellulären Oberfächenmolekülen, die entweder in der Antigenerkennung (C1-Typ) oder in der Komplementbindung oder zellulären Adhäsion (C2-Typ) involviert sind (Carlos et al. 1994). Die C2-Typen sind durch eine oder mehrere extrazelluläre Immunglobulin-ähnliche Domänen, eine Membranregion und einen zytoplasmatischen Anteil (wenn der Rezeptor membrangebunden ist) charakterisiert (Carlos et al. 1994, Froese et al. 1994).

Innerhalb der Immunglobulin-Superfamilie werden 5 Mitglieder durch Endothelzellen exprimiert, die an der Leukozytenadhäsion beteiligt sind: das interzelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1), das interzelluläre Adhäsionsmolekül-2 (ICAM-2), das platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) und das mucosal addressin (MAdCAM-1; Carlos et al. 1994).

1.2.1. Selektine

Die Selektine sind eine Familie von drei Proteinen, die Adhäsionen zwischen Leukozyten und den Endothelzellen einerseits und zwischen Leukozyten und Thrombozyten andererseits vermitteln (Rosen et al. 1994). Die Selektin-Familie besteht aus drei zellulären Oberflächenmolekülen: E-Selektin (endotheliales leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, ELAM-1, CD62E), P-Selektin (platelet activation dependent granule-external membrane protein, PADGEM, granule membrane protein-140, GMP-140, CD62P) und L-Selektin (leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, LAM-1, MEL-14, CD62L; Bevilacqua et al. 1989, Bevilacqua et al. 1993, Carlos et al. 1994, Collins et al. 1991, Johnston et al. 1990, Tedder et al. 1989). Die Präfixe charakterisieren den Ort der Expression: E (endothelial), P (platelet) und L (leukocyte; Carlos et al. 1994). E-Selektin und P-Selektin werden von Endothelzellen exprimiert, P-Selektin außerdem von Thrombozyten und L-Selektin wird nur auf Leukozyten exprimiert (Carlos et al. 1994).

Der Begriff "Selektin" verbindet im Namen das Vorhandensein einer Lektindomäne und die selektive Expression und Funktion dieser Moleküle (Bevilacqua 1993). Strukturelle Gemeinsamkeiten der drei Selektine betreffen das Vorhandensein einer C-Typ Lektindomäne (Calcium abhängig) mit einer endständigen Aminogruppe (Charakteristikum der carbohydrate recognition domain; CRD, Kohlenhydrat-Erkennungsdomäne-Superfamilie), gefolgt durch eine epidermal growth factor(EGF)-Domäne, short consensus repeats (SCRs), ähnlich denen im Komplementsystem, eine Membran(transmembrane)-Domäne (TM) und einen zytoplasmatischen Anteil (Bevilacqua 1993, Day 1994, Rosen et al. 1994, Tedder et al. 1995). Die Aminosäuresequenz der Lektindomäne ist bei allen Selektinen zu ungefähr 60% gleich, auch bei der EGF-Domäne besteht eine vergleichbare Ähnlichkeit (Bevilacqua et al. 1993). In der Tabelle 12 sind die drei Selektine, deren Expression und Regulation zusammengefaßt.

Die Selektin-Familie vermittelt die Phase des "tether" bzw. "rolling" ("Halten" bzw. "Rollen") der Adhäsionskaskade, bevor die eigentliche Adhäsion und Migration der Leukozyten in den subendothelialen Raum stattfindet (Abbassi et al. 1993, Tedder et al. 1995, Wegner 1994). In Kontrast zu anderen zellulären Adhäsionsmolekülen ist die Funktion der Selektine auf die Interaktion von Leukozyten und Thrombozyten und Endothelium beschränkt (Tedder et al. 1995). P-Selektin wird innerhalb von Minuten von den α-Granula der Thrombozyten und Weibel-Palade Granula der Endothelzellen zur Zelloberfläche verlagert. Auf Monozyten, Neutrophilen und einigen Lymphozyten wird L-Selektin kontinuierlich exprimiert und nach Aktivierung der Zellen abgestoßen (Bevilacqua 1993, Lefer et al. 1994, Wegner 1994).

Selektin	Synonyme	Expression durch	Regulation	Bindung an
E-Selektin	ELAM-1, CD62E	Endothelium	durch IL-1, TNF, LPS; Induktion der Expression (in Stunden); RNA, Proteinsynthese	Monozyten, Neutrophile, einige T-Zellen
P-Selektin	PADGEM, GMP-140, CD62P	Thrombozyten, Endothelium	durch Thrombin, Histamin und andere; aus gespeicherten Granula (in Minuten); Induktion durch Zytokine (in Stunden)	Monozyten, Neutrophile, einige T-Zellen
L-Selektin	LAM-1, LECAM-1, CD62L, MEL-14	Monozyten, Neutrophile, Lymphozyten	kontinuierliche Expression auf der Oberfläche; Modulation der Aktivität; Abstoßung nach der zellulären Aktivierung	aktiviertes Endothelium, high endothelial venules (HEV) von Lymphknoten

Tabelle 12: Die Selektin-Familie der zellulären Adhäsionsmoleküle (ELAM-1=endotheliales leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, PADGEM=platelet activation dependent granule-external membrane protein, GMP-140=granule membrane protein-140, LAM-1=leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, IL-1=Interleukin-1, TNF=Tumornekrosefaktor, LPS=Lipopolysaccharid)

Alle Selektine vermitteln das Rollen der Leukozyten in den postkapillären Venolen der Mikrozirkulation, um im Rahmen des inflammatorischen Prozesses das Blutgefäßsystem zu verlassen und in das Gewebe einzudringen (Abbassi et al. 1993, Dore´et al. 1993, Lefer et al. 1994, Ley et al. 1993). Ob das Phänomen des Rollens auch in Venen oder Arterien stattfindet, ist noch nicht geklärt worden (Fuster et al. 1996).

E-Selektin wird nur nach Aktivierung durch Zytokine (IL-1, TNF-α, LPS=bakterielles Endotoxin) in den Endothelzellen innerhalb von 4 bis 6 Stunden de novo synthetisiert. An Orten der Entzündung findet sich die Expression des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 auf dem Endothelium des Gefäßsystems. Es kommt außerdem auf den Endothelzellen über arteriosklerotischen Läsionen, besonders bei denen mit einer starken Akkumulation von Monozyten/Makrophagen und Lymphozyten vor (Bevilacqua et al. 1994, Davies et al. 1993, Gallo 1995, Poston et al. 1992, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993). Weitere nachgewiesene oder wahrscheinliche Vorkommen sind: Vaskulitiden, Sepsis, adult respiratory distress syndrome (ARDS), Asthma bronchiale, entzündliche Darmerkrankungen, Hepatitis, Arthritis, in Rejektion befindliche transplantierte Nieren und Herzen, Metastasierung und Dermatosen (z.B. Psoriasis). Bei Patienten im septischen Schock lassen sich lösliche Formen von E-Selektin im Plasma nachweisen (Bevilacqua et al. 1994, Tedder et al. 1995).

1.2.2. Struktur vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin)

Die Selektine sind einzigartig, was das Vorkommen der drei extrazellulären Domänen (Lektin-, EGF-, SCR-Domäne) in enger Beziehung zueinander betrifft. Wahrscheinlich ist diese enge Verwandtschaft wichtig für die Rezeptorfunktion (Tedder et al. 1995).

Die Lektin- und die EGF-Domäne sind in die Zelladhäsion involviert (Graves et al. 1994, Kansas et al. 1994, McEver et al. 1995, Tedder et al. 1995). Die SCR-Domänen tragen indirekt zur Adhäsion bei, indem sie für die richtige Präsentation und Stabilisierung der Lektin-EGF-Domänen sorgen (Tedder et al. 1995). Die Anzahl der SCR-Domänen schwankt bei den drei Selektinen: L-Selektin hat zwei SCR-Domänen, P-Selektin hat neun und E-Selektin besitzt sechs SCR-Domänen (Bevilacqua 1993, Graves et al. 1994). Möglicherweise wird die funktionelle Affinität durch die Proteininteraktionen zwischen der EGF-Domäne und den SCR-Domänen und Proteinstrukturen der Liganden beeinflußt (Cummings et al. 1992, Rosen et al. 1994). Die Lektin-Domäne bedingt ein kohlenhydratspezifisches Bindungsverhalten (Graves et al. 1994).

Während die Erkennung der beiden anderen vaskulären Adhäsionsmoleküle, der Integrine und der Immunglobulin-Superfamilie auf der Interaktion von Proteinstrukturen basiert, erfolgt die Erkennung bei den Selektinen vorwiegend durch Kohlenhydratstrukturen, wie sialyl Lewis x (sLe x; Brandley et al. 1990, Cummings et al. 1992, Graves et al. 1994, Munro et al. 1992, Phillips et al. 1990, Springer et al. 1991, Tyrell et al. 1991, Zhou et al. 1991). Diese Oligosaccharidstruktur befindet sich reichlich auf zirkulierenden Monozyten und Neutrophilen. Auch L-Selektin präsentiert bestimmte Kohlenhydratstrukturen auf Leukozyten für die Interaktion mit E-Selektin (ELAM-1) auf Endothelzellen (Bevilacqua 1993, Cummings et al. 1992).

Das endotheliale leukozytäre Adhäsionsmolekül (ELAM-1, E-Selektin) ist ein 115-kDa Glykoprotein (Collins et al. 1991, Cummings et al. 1992). Die Struktur der Domänen vom ELAM-1 ist in der Abbildung 2 zu sehen (Bevilacqua et al. 1993, Wegner 1994).

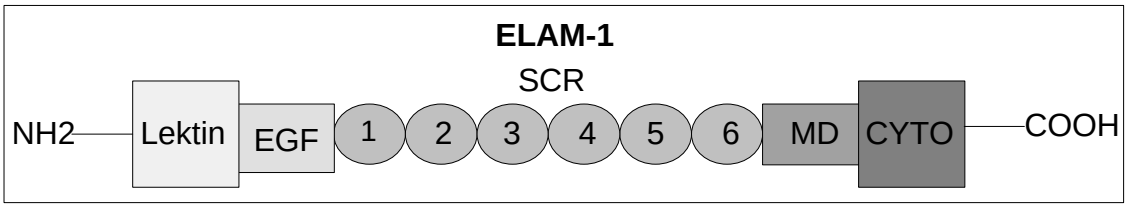


Abbildung 2: Struktur der Domänen vom ELAM-1 (Lektin=Lektindomäne, EGF =epidermal growth factor-Domäne, SCR=short consensus repeat-Domänen, TM=transmembrane(Membran)-Domäne, CYTO=cytoplasmatische Sequenz)

Die DNA-Struktur des ELAM-1-Gens wurde 1989 von Bevilacqua beschrieben (Bevilacqua et al. 1989). Das menschliche Gen besteht aus 14 Exonen und ist auf dem langen Arm des Chromosoms 1 lokalisiert. Auch die Gene für die beiden anderen Selektine (P-, L-Selektin) sind auf dem langen Arm des Chromosoms 1 lokalisiert (Collins et al. 1991). Die Proteinstruktur bzw. die Domänenstruktur von E-Selektin korreliert mit der Genstruktur (Collins et al. 1991). Die EGF-Domäne wird durch ein separates Exon (Exon 4) kodiert. Die SCR-Domänen sind jeweils in einzelnen Exons enthalten (Exon 5-Exon 10). Auch die Membran(TM)-Domäne wird von einem separaten Exon (Exon 11) kodiert. Exon 1 enthält die 5´untranslatierte(5´UT)-Region. Exon 2 kodiert den Rest der 5´UT-Region und den größten Teil des Signalpeptides (Collins et al. 1991). Die Tabelle 13 stellt die Positionen und die Länge der Exons vom menschlichen E-Selektin (ELAM-1) und die sie kodierenden Domänen dar (Bevilacqua et al. 1989, Collins et al. 1991).

Eiweißstruktur von E-Selektin (ELAM-1)	**Position der Exons im humanen ELAM-1 Gen**			
Domänen	**Exon**	**Domäne**	**Länge bp**	**As**
	1 2	5´UT Signalpeptid	x 85	x 12
Lektindomäne	3	Lektin	384	128
EGF-Domäne	4	EGF	108	36
short consensus repeat(SCR)-Domäne	5 6 7 8 9 10	SCR1 SCR2 SCR3 SCR4 SCR5 SCR6	186 186 189 189 189 177	62 62 63 63 63 59
(TM)-Domäne	11	TM	108	36
zytoplasmatische (CYTO)- Domäne	12 13	CYTO CYTO+3´UT	22 73	7 19
	14	3´UT	x	x

Tabelle 13: Darstellung der Positionen und der Längen der Exons vom menschlichen endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin; UT=untranslatiert, bp=Basenpaare, As=Aminosäuren)

1.3. Ziele der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollte das Gen des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin) auf DNA-Polymorphismen untersucht werden, um einen möglichen genetischen Hintergrund von zellulären Interaktionen, die in den arteriosklerotischen Prozeß involviert sind, zu untersuchen.

Die Adhäsion von Monozyten an das Endothelium ist eine der ersten Veränderungen, die in arteriosklerotischen Läsionen auftreten (Fuster et al. 1996, Lusis et al. 1992, Ross 1993). Die Endothelzellen nehmen am arteriosklerotischen Prozeß mit der Exprimierung von zellulären Adhäsionsmolekülen (CAM) wie dem endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) auf ihrer Zelloberfläche teil (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die Adhäsionskaskade ermöglicht den Monozyten, in die Gefäßwand zu migrieren.

Angesichts der entscheidenden Bedeutung des E-Selektins für die Interaktion der Leukozyten mit den Endothelzellen, sollte geklärt werden, ob ein DNA-Polymorphismus dieses Moleküls eine Rolle bei der frühzeitigen Arteriosklerose der Koronararterien spielt. Aus diesem Grund sollten folgende Fragen geklärt werden:

a. Gibt es einen DNA-Polymorphismus des ELAM-1-Gens?

b. Prädisponiert ein möglicher DNA-Polymorphismus des ELAM-1-Gens zu einer frühzeitigen Koronararteriensklerose?

c. Ist der analysierte Polymorphismus unabhängig von anderen Risikofaktoren einer Koronararteriosklerose?

d. Prädisponiert ein möglicher Polymorphismus zu einer Mehrgefäßerkrankung der Koronararterien?

Patienten mit 50 Jahren oder jünger (≤50 Jahre) mit interventionspflichtigen Koronararterienstenosen wurden durch die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse und durch direkte Sequenzierung auf Polymorphismen im ELAM-1-Gen untersucht. Folgende Aufgaben wurden im einzelnen erfüllt:

a. Untersuchung des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin)-Gens auf einen DNA-Polymorphismus

b. Assoziationsanalyse zum Vergleich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter (Patienten ≤40 Jahre, Patienten ≤50/>40 Jahre)

c. Assoziationsanalyse zum Vergleich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von den Risikofaktoren (männliches Geschlecht, Eigenanamnese einer koronaren Herzkrankheit, Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit (bei Eltern oder Geschwistern), Zigarettenrauchen, Hyperlipidämie (Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie), niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl), Diabetes mellitus, Adipositas und arterielle Hypertonie

d. Assoziationsanalyse zum Vergleich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Ausmaß der Gefäßerkrankung (Ein-/ Mehr(Zwei- und Drei)gefäßerkrankungen)

2. Material und Methoden

2.1. Charakterisierung des Patientenkollektivs

2.1.1. Einschlußkriterien

a. Männliche oder weibliche Patienten der europiden Rasse, die mindestens eine angiografisch nachgewiesene, interventionsbedürftige Koronararterienstenose hatten und zum Zeitpunkt des Studienbeginns 50 Jahre oder jünger (≤50 Jahre) waren. Interventionsbedürftige Koronararterienstenosen wurden definiert als ≥50% Stenosen der Koronararterien, die einer therapeutischen Intervention (PTCA, DCA, ACVB, IMA-Bypass) bedurften.

b. Zustimmung des Patienten nach lege artis durchgeführter Aufklärung

2.1.2. Anzahl, Alter und Geschlecht der Patienten

Es wurden 92 Patienten untersucht, die alle dem europiden Rassenkreis angehören und die sich nach Alter und Geschlecht folgendermaßen ordnen lassen:

Patienten in Jahren	Anzahl der Patienten n	Männlich/ weiblich n	Median in Jahren	Min./Max. in Jahren
< 50	92	82/10	44	27/50
< 50/ > 40	51	45/6	47	43/50
< 40	41	37/4	40	27/40

Tabelle 14: Anzahl, Alter und Geschlecht der Patienten (<50 Jahre=Patienten mit 50 Jahren oder jünger, <50/>40 Jahre=Patienten mit 50 Jahren oder jünger und älter als 40 Jahre, <40 Jahre=Patienten mit 40 Jahren oder jünger)

2.1.3. Die Diagnosesicherung mit der Koronarangiografie

Die Herzkatheteruntersuchung ist die derzeit genaueste Untersuchungsmethode und Goldstandart bei der Diagnostik der koronaren Herzkrankheit (Fuster et al. 1992a, Fuster et al. 1996, Gross et al. 1996). Die angiografische Darstellung eines veränderten Gefäßlumens ist der beste Beweis einer Arteriosklerose (Isselbacher et al. 1995). Ausdehnung und Schweregrad einer koronaren Herzkrankheit lassen sich objektivieren (Classen et al. 1994). Außerdem kann nur die genaue Kenntnis der Koronaranatomie (Lokalisation und Ausmaß der Stenosen) über die Notwendigkeit und Art von

Revaskularisationsmaßnahmen (katheterinterventionell oder chirurgisch) entscheiden (Classen et al 1994).
Alle Patienten sind während des augenblicklichen (n=86) oder während früherer Krankenhausaufenthalte (n=2) in der Charite´ (n=88) oder in anderen Krankenhäusern (n=4) koronarangiografisch untersucht worden. Das Zeitintervall der Koronarangiografien von augenblicklichen zu früheren Krankenhausaufenthalten variierte von Monaten zu Jahren. Diese Patienten wurden eingeschlossen, wenn sie seitdem katheterinterventionell (PTCA, DCA) und/oder chirurgisch (ACVB, IMA-Bypass) revaskularisiert worden waren.

Angiografisches Kriterium einer Arteriosklerose war das Vorkommen von mindestens einer Stenose von 50% oder mehr bzw. eine hochgradige Stenose von mindestens einer Koronararterie, die interventionspflichtig war. Gould et al. untersuchten 1974, ob eine Korrelation zwischen dem Grad der Stenose und der Reduzierung des Blutflußes existiert. Ab einer Stenose ≥50% zeigte sich eine Verringerung der Koronarreserve (Steigerung der Ruhedurchblutung in den Koronararterien um den Faktor 5; Fuster et al. 1996, Stobbe et al. 1996, Zink et al. 1990).

Die Einteilung der koronaren Herzkrankheit erfolgte in Abhängigkeit vom Ausmaß und der Lokalisation der Stenosen (≥50% Stenose) in der linken Herzkranzarterie (LCA) mit ihren Hauptästen Ramus interventricularis anterior (RIVA) und Ramus circumflexus (RCX) sowie der rechten Herzkranzarterie (RCA) in 1-, 2- oder 3-Gefäß-Erkrankung (Classen et al. 1994, Fuster et al. 1996).

Die statistische Auswertung erfolgte anhand der Unterteilung in Eingefäßerkrankung und Mehrgefäßerkrankung (2- und 3-Gefäßerkrankung). Alle koronarangiografischen Befunde sind durch Herrn Prof. S. Felix (Leitender Oberarzt der I. Medizinischen Klinik) und Herrn Prof. F. Kleber begutachtet worden. Die Tabellen 15 und 16 geben einen Überblick über die Art der Gefäßerkrankung.

	Anzahl der Patienten n		
Patienten in Jahren	1-Gefäß-erkrankung	2-Gefäß-erkrankung	3-Gefäß-erkrankung
< 50	44	32	14
< 50/ > 40	20	23	8
< 40	24	9	6

Tabelle 15: Die Anzahl der Patienten n mit einer 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung

	Anteil der Patienten in %		
Patienten in Jahren	1-Gefäß-erkrankung	2-Gefäß-erkrankung	3-Gefäß-erkrankung
< 50	48,9	35,6	15,5
< 50/ > 40	39,2	45,1	15,7
< 40	61,5	23,1	15,4

Tabelle 16: Der prozentuale Anteil der Patienten mit einer 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung

2.1.4. Interventionen

Ein Einschlußkriterium des Patientenkollektivs betraf die Interventionspflichtigkeit der Koronararterienstenosen, also der koronaren Herzkrankheit. Interventionspflichtige Maßnahmen umfaßten katheterinterventionelle Behandlungen, wie die perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA) und die direktionale koronare Atherektomie (DCA), sowie kardiochirurgische Maßnahmen, wie die aortokoronare Venenbypass(ACVB)-Operation und die Arteria-mammaria-interna-Bypass(IMA-Bypass)-Operation. 7 Patienten (7,9%) sind sowohl katheterinterventionell als auch chirurgisch behandelt worden. Kriterien der interventionspflichtigen Koronararterienstenosen der Patienten umfaßten das Stellen der Indikation für eine Revaskularisationsmaßnahme infolge der durchgeführten Koronarangiografie sowie bereits erfolgte Revaskularisationsmaßnahmen an der Charite´ oder an anderen Krankenhäusern. Diese bereits erfolgten Interventionen lagen Monate bis Jahre zurück. 53 Patienten (57,6%) waren zum Zeitpunkt der Studie bereits interventionell therapiert worden. Die Tabelle 17 zeigt, welche Interventionen bei den Patienten durchgeführt wurden bzw. welche Indikation zur Therapie gestellt wurde.

	Katheterinter-ventionen (PTCA, DCA)	Bypass-Op	Katheterinter-ventionen +Bypass-Op	PTCA- oder Bypass-Op-Indikation
Interventionen n=88	51	27	7	3
Anteil der Interventionen in %	57,9	30,8	7,9	3,4

Tabelle 17: Übersicht über die Interventionen (Anmerkung: Bei 4 Patienten besteht z.Z. keine interventionelle Möglichkeit)

2.2. Studienaufbau

Die Studie begann im September 1992 und war im Dezember 1995 abgeschlossen. Nach erfolgter Aufklärung der Patienten und Zustimmung zur Aufnahme in die Studie wurde die Befragung der Patienten anhand standardisierter Erhebungsbögen durchgeführt.

Die Erhebungsbögen beinhalteten Fragen zur Eigenanamnese und Familienanamnese kardiovaskulärer Erkrankungen sowie erfolgten Interventionen und Fragen zu möglichen Risikofaktoren, wie Zigarettenrauchen, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und Hypertonie. Außerdem wurde die Medikamentenanamnese im Hinblick auf Antidiabetika, Antihypertensiva und lipidsenkende Pharmaka erhoben.

Weiterhin erfolgte die Blutdruckmessung, die Bestimmung von anthropometrischen Daten (Größe, Gewicht) und eine einmalige venöse Blutentnahme zur Bestimmung von Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeriden und Blutzucker sowie zur DNA-Polymorphismusanalyse. Das Blut für die DNA-Polymorphismusanalyse wurde sofort im Kühlschrank bei -70°C tiefgefroren.

Alle ermittelten Daten wurden in den Erhebungsbögen vermerkt und am Ende der Studie analysiert.

2.2.1. Patientenrekrutierung

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte über die kardiologischen Stationen 15 und 16 und die kardiologische Intensivstation IIa der I. Medizinischen Klinik der Charite´, wo sich die Patienten stationär wegen der Diagnostik bzw. der Therapie einer koronaren Herzkrankheit aufhielten. Außerdem konnten ungefähr ein Drittel der Patienten durch Einbestellung in die kardiologische Ambulanz der I. Medizinischen Klinik der Charite´ in die Studie aufgenommen werden. Anhand der Analyse von Koronarangiografiebefunden von Patienten, die im Herzkatheterbereich der I. Medizinischen Klinik der Charite´ untersucht worden waren, ist diese letzte Gruppe entstanden.

2.2.2. Aufklärungsgespräch

Der Patient wurde über den Ablauf und das Ziel der Studie aufgeklärt. Nur bei Zustimmung zur DNA-Polymorphismusanalyse der Blutprobe, erfolgte die Aufnahme in die Studie (siehe Einschlußkriterien).

2.2.3. Bestimmung der Risikofaktoren

Als Risikofaktoren definiert man Variablen, die in einer prospektiven Untersuchung in statistischer Beziehung zu einer später auftretenden Krankheit stehen, ohne aber deren Ursache sein zu müssen (Hecht et al. 1988). Diese bestimmte Anzahl von Bedingungen sind bei Personen, die eine

Arteriosklerose entwikkeln, häufiger als in der Gesamtpopulation (Isselbacher et al. 1995). Folgende Risikofaktoren wurden untersucht: männliches Geschlecht, Eigenanamnese einer peripheren arteriellen Verschlußkrankheit oder einer koronaren Herzkrankheit, Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit (bei Eltern oder Geschwistern), Zigarettenrauchen, Hyperlipidämie, niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl), Diabetes mellitus, Adipositas und arterielle Hypertonie (Assmann 1990, Classen et al. 1994, Gross et al. 1996, Stobbe et al. 1996, Study group 1987, Study group 1988). Hypercholesterinämie, Hypertonie und Zigarettenrauchen sind die drei Hauptrisikofaktoren für die Entstehung einer koronaren Herzkrankheit (Assmann 1990, Isselbacher et al. 1995).

2.2.3.1. Männliches Geschlecht

Die Patientengruppe (n=92) setzte sich aus 82 männlichen und 10 weiblichen Patienten zusammen (siehe unter Charakterisierung des Patientenkollektivs).

5 bis 10 % der männlichen Bevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland leiden an einer koronaren Herzerkrankung, wobei das Geschlechterverhältnis Männer : Frauen bei 4:1 liegt (Classen et al. 1994). Im höheren Lebensalter wird das Verhältnis annähernd gleich (Fuster et al. 1996). Eine Behandlung von Männern nach Myokardinfarkt mit Östrogen verstärkte die koronare Herzkrankheit (KHK), bei postmenopausalen Frauen scheint sich die Inzidenz der KHK zu vermindern (Fuster et al. 1996). Das männliche Geschlecht ist als irreversibler Risikofaktor der Atherosklerose zu betrachten (Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995).

2.2.3.2. Eigenanamnese einer peripheren arteriellen Verschlußkrankheit oder einer koronaren Herzkrankheit

Innerhalb der Patientengruppe gab es 4 Patienten (4,5%), die neben der koronaren Herzkrankheit eine periphere arterielle Verschlußkrankheit hatten.

Ein vorausgegangener Herzinfarkt wurde anhand dokumentierter medizinischer Anlagen oder durch die anamnestischen Angaben des Patienten bestimmt.

2.2.3.3. Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit (bei Eltern oder Geschwistern)

Die Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit, besonders die einer frühzeitig auftretenden Erkrankung, ist ein starker unabhängiger Risikofaktor (Fuster et al. 1996). Nach Harrison ist die Familienanamnese einer vorzeitigen koronaren Herzkrankheit (<55 Jahren bei Eltern oder Geschwistern) einer der bedeutendsten Faktoren bei der Einschätzung des Risikos, indem sie die Ergreifung präventiver Maßnahmen ermöglicht (Isselbacher et al. 1995).

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: die Gruppe mit der positiven Familienanamnese war charakterisiert durch das Vorhandensein eines Herzinfarktes bei Eltern oder Geschwistern und die Gruppe mit der negativen Familien-anamnese, charakterisiert durch das Fehlen eines Myokardinfarktes in der Familienanamnese. Die Angaben hierzu wurden mit Hilfe des Erhebungsbogens erfragt und da die Angaben hinsichtlich des Alters in der Mehrzahl der Fälle nicht präzise angegeben werden konnten, wurden alle Familienereignisse unabhängig vom Zeitpunkt des Auftretens in die erste Gruppe aufgenommen.

2.2.3.4. Zigarettenrauchen

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Raucher, die gegenwärtig rauchen oder in den letzten 10 Jahren geraucht haben und Nichtraucher, die nie geraucht haben oder vor 10 Jahren letztmalig geraucht haben. Die Raucher wurden weiter differenziert: Raucher, die weniger als 20 Zigaretten/d rauchen und Raucher, die 20 oder mehr Zigaretten/d rauchen. Dies erfolgte wegen der engen Beziehung von gerauchter Zigarettenmenge zum kardiovaskulären Risiko und Sterberate (Isselbacher et al. 1995, Stobbe et al. 1996), es besteht eine Dosis-Wirkungs-Beziehung (Isselbacher et al. 1995).

Rauchen ist eine der Hauptursachen für die Entstehung der koronaren Herzkrankheit (Isselbacher et al. 1995, Study group 1987). Da die Angaben in der Literatur hinsichtlich des Absinkens des Risikos für eine koronare Herzerkrankung uneinheitlich sind (nach 1 Jahr; Isselbacher et al. 1995, nach 2-3 Jahren; Gross et al. 1996, nach 5 Jahren; Stobbe et al. 1996, einige Jahre; Hornbostel et al. 1992, nie; Classen et al. 1994, Risikoniveau von Nichtrauchern nach Abstinenz), wählten wir den Zeitraum von 10 Jahren als Abstinenzzeit, um einen Patienten in der Gruppe der Nichtraucher zu führen.

2.2.3.5. Hyperlipidämie

Im Rahmen der Studie wurden folgende Parameter bei allen Patienten im Serum bestimmt: Cholesterin, Triglyzeride und HDL-Cholesterin. Die Hyperlipid-ämie beinhaltet die Hypercholesterinämie und die Hypertriglyzeridämie (Zink et al. 1990).

Die Hypercholesterinämie ist ein unabhängiger Risikofaktor (Study group 1987) und geht eindeutig mit einer erhöhten Inzidenz an frühzeitiger koronarer Herzkrankheit einher (Isselbacher et al. 1995, Kannel et al. 1971). Obwohl es laut Framingham-Studie keine kritischen Werte gibt, oberhalb derer eine steile Zunahme der Morbidität einsetzt (Hornbostel et al. 1992), entstanden Empfehlungen zur Bewertung und Therapie von erhöhten Cholesterinwerten (Assmann 1990, Isselbacher et al. 1995, Study group 1987, Study group 1988).

Die Hypertriglyzeridämie kann bei einigen spezifischen Erkrankungen mit einer frühzeitigen Atherosklerose verbunden sein (Isselbacher et al. 1995). In eini-

gen, aber nicht in allen Bevölkerungsstudien, korrelieren erhöhte Triglyzeridwerte allein mit einer koronaren Herzkrankheit (Isselbacher et al. 1995). Triglyzeride scheinen ein unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor bei den Frauen und Männern zu sein, die niedrige HDL-Cholesterin Werte (<1,04 mmol/l bzw. <40 mg/dl bzw. <0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl) haben (Assmann et al. 1992, Castelli 1986, Study group 1987).
Der High-density Lipoprotein(HDL)-Spiegel korreliert invers mit der Entwicklung einer frühzeitigen koronaren Herzkrankheit (Assmann et al. 1992, Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995). In der Framingham-Studie war ein niedriges HDL-Cholesterin ein wichtigerer Lipidrisikofaktor als erhöhte Werte für Gesamtcholesterin oder LDL (Isselbacher et al. 1995, Kannel et al. 1979, Kronmal et al. 1993). Nach den Empfehlungen der Europäischen Atherosklerose-Gesellschaft (EAS) basiert die Diagnose und Behandlung einer Fettstoffwechselstörung auf der Messung von Cholesterin, Triglyzeriden und HDL-Cholesterin im Serum und der Erfassung möglicher weiterer Risikofaktoren (Assmann 1990, Study group 1987, Study group 1988).

Die empfohlenen Referenzwerte waren die Grundlage für die Bildung der folgenden Gruppen.

2.2.3.5.1. Hypercholesterinämie

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten mit einer gesicherten dokumentierten Hypercholesterinämie, die mit lipidsenkenden Pharmaka therapiert wurden bzw. mit erhöhten Cholesterinwerten, festgestellt durch die erfolgte Blutentnahme und Patienten ohne eine Hypercholesterinämie bzw. mit normalen Cholesterinwerten. Der Normalwert im Serum bzw. Plasma war definiert <5,2 mmol/l bzw. <200 mg/dl (Assmann 1990, Study group 1987, Study group 1988, Thomas 1995). Die erste Gruppe teilte sich weiter auf in eine Gruppe von Patienten mit Cholesterinwerten von 5,2 mmol/ bis 7,8 mmol/l bzw. 200 mg/dl bis 300 mg/dl und in eine Gruppe von Patienten mit Cholesterinwerten von ≥7,8 mmol/l bzw. ≥300 mg/dl.

Der Zusammenhang zwischen Hypercholesterinämie, Herzinfarkt und Arteriosklerose ist eindeutig belegt (Seiffert 1995). Es besteht ein proportionaler Zusammenhang zwischen der Höhe des Cholesterinwertes im Serum und dem Risiko der koronaren Herzkrankheit (Kannel et al. 1971). In der Framingham-Studie konnte im Bereich von 4,8 mmol/l bis 8,7 mmol/l bzw. 185 mg/dl bis 335 mg/dl ein stetiger Anstieg des Risikos beobachtet werden (Kannel et al. 1971). In der Multiple Risk Factor Intervention Trial Screening Programme(MRFIT)-Studie ergab sich ein Anstieg in der Mortalität an der koronaren Herzkrankheit von der niedrigsten zur höchsten Perzentile. Die Mortalität war bei Serumcholesterinwerten von <4,7 mmol/l bzw. <182 mg/dl am niedrigsten. Ähnliche Ergebnisse zeigten andere Studien (Study group 1987). Die NIH Consensus Development Conference "Lowering Blood Cholesterol to Prevent Heart Disease" empfahl die Senkung der Serumcholesterins auf 4,7 mmol/l bzw. 180 mg/dl für Erwachsene, die jünger als 30 Jahre sind und auf 5,2 mmol/l bzw. 200

mg/dl für Erwachsene, die 30 Jahre oder älter sind (Study group 1987). Die Einteilung der Patientengruppen in der Studie orientierte sich an den Empfehlungen der Europäischen Atherosklerose-Gesellschaft (EAS) von 1987 (Study group 1987) und 1988 (Study group 1988).

2.2.3.5.2. Hypertriglyzeridämie

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie und Patienten mit einer Normotriglyzeridämie. Der Normalwert im Serum war definiert <2,3 mmol/l bzw. <200 mg/dl (Assmann 1990, Study group 1987, Study group 1988, Thomas 1995).

Viele Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit haben erhöhte Triglyzeridwerte. Die Ergebnisse bezüglich der Triglyzeride als ein Risikofaktor sind widersprüchlich in Studien bzw. in der Literatur (Boettiger et al. 1982, Carlson et al. 1981, Isselbacher et al. 1995, Lusis et al. 1992). Einige Studien, wie die Stockholm Prospective Study (SPS) zeigten einen Zusammenhang zwischen dem Triglyzeridspiegel und dem Risiko, eine koronare Herzkrankheit zu entwickeln (Boettiger et al. 1982, Carlson et al. 1981, Study group 1987). Die Framingham Studie legte dar, daß Triglyzeride ein unabhängiger Risikofaktor bei denjenigen Männern und Frauen sind, die niedrige HDL-Cholesterin-Spiegel (<1,04 mmol/l bzw. <40mg/dl) haben (Castelli 1986). Zu ähnlichen Ergebnissen kam die Prospective Cardiovascular Münster(PROCAM)-Studie, welche nur bei niedrigen HDL-Cholesterin Spiegeln (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl) eine Assoziation zwischen einer Hypertriglyzeridämie und dem Risiko für einen Myokardinfarkt oder Tod durch die koronare Herzkrankheit verdeutlichen konnten (Assmann et al. 1992).

2.2.3.5.3. Kombinierte Hyperlipidämien

Kombinierte Hyperlipidämien sind definiert durch das gleichzeitige Vorhandensein von Hypercholesterinämie und Hypertriglyzeridämie (Zink 1990).

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten, die sowohl die Kriterien der Hypercholesterinämiegruppe als auch der Hypertriglyzeridämiegruppe erfüllen und Patienten, die sowohl die Kriterien der Normocholesterinämiegruppe als auch der Normotriglyzeridämiegruppe erfüllen. Außerdem wurde eine Gruppe von Patienten gebildet, die die Kriterien der Hypercholesterinämie und der Hypertriglyzeridämie erfüllen und die ein niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl) haben.

Beide Fette, Cholesterin und Triglyzerid, sind im Stoffwechsel untrennbar miteinander verbunden. So kann eine chronisch gewordene Überlastung des Triglyzeridstoffwechsels eine entscheidende Rolle bei der Entstehung einer Hypercholesterinämie spielen (Seiffert 1995).

2.2.3.6. Niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl)

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten mit einem HDL-Cholesterin <0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl und Patienten mit einem HDL-Cholesterin ≥0,9 mmol/l bzw. ≥35 mg/dl. Es betraf nur Patienten der Hypercholesterinämiegruppe.
In der Framingham-Studie erwies sich das HDL-Cholesterin als der stärkste Lipidrisikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit (Kannel et al. 1979). Andere Studien konnten diese inverse Beziehung bestätigen (Isselbacher et al. 1995, Study group 1987). Die Europäische Atherosklerose Gesellschaft legte dar, daß ein HDL-Cholesterinwert von <0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl ein wichtiger Faktor bei der Bewertung einer möglichen Fettstoffwechselstörung ist (Study group 1987, Study group 1988).

2.2.3.7. Diabetes mellitus

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten mit einem gesicherten dokumentierten Diabetes mellitus, die mit oralen Antidiabetika und/oder Insulin therapiert wurden bzw. mit erhöhten Blutglukosewerten, festgestellt durch die erfolgte Blutentnahme und Patienten ohne Diabetes mellitus bzw. mit normalen Blutglukosewerten.

Die Normalwerte im Serum bzw. Plasma sind 4,22-6,11 mmol/l bzw. 76-110 mg/dl (Boehringer Mannheim 1991). Ein klinisch manifester Diabetes mellitus ist ein gesicherter unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung einer Koronarsklerose (Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995, Study group 1987). Ob eine pathologische Glukosetoleranz bereits als Risiko zu betrachten ist, ist augenblicklich noch unklar (Classen et al. 1994). Außerdem scheint das Risiko für eine arteriosklerotische Erkrankung mit dem Ausmaß der Hyperglykämie unter Diabetikern in keinem besonderen Zusammenhang zu stehen (Isselbacher et al. 1995, Study group 1987).

2.2.3.8. Adipositas

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten mit einem Körpermassenindex oberhalb der 85. Perzentile (bei Männern >27,8 kg/m², bei Frauen >27,3 kg/m²) und Patienten mit einem Körpermassenindex unterhalb der 85. Perzentile (bei Männern ≤27,8 kg/m², bei Frauen ≤27,3 kg/m²).

Der Körpermassenindex bzw. der Body-Mass-Index (BMI) ist folgendermaßen definiert: Körpergewicht (in kg) : Körpergröße (in m) im Quadrat. Die Framingham-Studie zeigte, daß ein 20%iges Übergewicht (dies entspricht dem BMI oberhalb der 85. Perzentile) mit deutlichen Gesundheitsrisiken und mit einem deutlichen Anstieg der Mortalität einhergeht (Hornbostel et al. 1992, Isselbacher et al. 1995).

2.2.3.9. Hypertonie

Zwei Gruppen von Patienten wurden gebildet: Patienten mit einem gesicherten dokumentierten Hypertonus, die mit Antihypertensiva therapiert wurden bzw. mit hypertonen Blutdruckwerten (nach der Definition der WHO), festgestellt durch die erfolgte Messung und Patienten ohne einen Hypertonus bzw. mit normotonen sowie grenzwertig erhöhten Blutdruckwerten.
Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert als Hypertonie willkürlich einen systolischen Blutdruck von 160 mmHg oder darüber und/oder einen diastolischen Blutdruck von 95 mmHg oder darüber. Eine Normotonie ist durch systolische Blutdruckwerte von weniger als 140 mmHg und diastolische Blutdruckwerte von weniger als 90 mmHg charakterisiert. Ein systolischer Blutdruck zwischen 140 und 159 mmHg sowie ein diastolischer Blutdruck zwischen 90 und 94 mmHg kennzeichnen den Grenzbereich (Gross et al. 1996, Isselbacher et al. 1995, Stobbe et al. 1996).

Ein hoher Blutdruck ist ein wichtiger Risikofaktor für die Atherosklerose (Isselbacher et al. 1995). Da keine klare Differenzierung zwischen normalem und hohem Blutdruck existiert, haben sich willkürliche Werte durchgesetzt, um die Patienten zu definieren, bei denen ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer kardiovaskulären Komplikation besteht und/oder die deutlich von einer medikamentösen Therapie profitieren würden. Das kardiovaskuläre Risiko nimmt progressiv mit steigendem Blutdruck zu (Isselbacher et al. 1995). In der Framingham-Studie war die Inzidenz einer koronaren Herzkrankheit bei Männern im mittleren Alter mit hypertonen Blutdruckwerten (>160/95 mmHg) 5 mal höher als bei normotensiven Männern (≤140/90 mmHg; Isselbacher et al. 1995).

Die Messung des Blutdruckes erfolgte unter standardisierten Bedingungen mit der indirekten Methode nach Riva Rocci (RR) auskultatorisch. Die Messung erfolgte am sitzenden Patienten am linken Arm, der in Herzhöhe gelagert wurde. Eine Blutdruckmessung erfolgte am Anfang des Gesprächs und eine weitere am Ende, wenn bei der ersten Messung erhöhte Blutdruckwerte festgestellt wurden. Der zweite Blutdruckwert wurde dann registriert (Assmann et al.1992, Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995).

2.2.4. Blutentnahme zur Bestimmung von Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeriden und Blutzucker und zur DNA-Polymorphismusanalyse

Die Blutentnahme umfaßte ein Serumröhrchen (10 ml) zur Bestimmung von Blutzucker, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyzeriden und ein EDTA-Blutröhrchen (10 ml) zur DNA-Polymorphismusanalyse. Der Blutzucker und die Lipide wurden im Chemielabor der Charite´ bestimmt. Die venöse Blutentnahme erfolgte morgens, um die geforderte Fastenzeit von 12-14 Stunden für die Triglyzeridbestimmung einzuhalten.

Die Methodik: Cholesterin (Cholesterinoxidase-PAP-Methode), HDL-Cholesterin (Phosphorwolframsäure-Fällung und Colesterinoxidase-PAP-Methode), Triglyzeride (Glyzerinphosphat-oxidase-PAP-Methode) und Glukose (Hexokinasemethode) wurden mit einem BM/Hitachi 747/737 Analyseautomaten (Boehringer Mannheim, Bundesrepublik Deutschland) bestimmt (Boehringer Mannheim 1991, Thomas 1995). Die Referenzwerte der Bestimmungsmethoden des Labors der Charite´ sind im Einklang mit den in den o.g. Studien empfohlenen Werten (Thomas 1995).

Die empfohlene Aufschiebung der Triglyzeridbestimmung um 3 Monate nach schweren Erkrankungen wie Myokardinfarkt ließ sich organisatorisch im Rahmen dieser Studie nicht verwirklichen. Da Cholesterol in den ersten 24 Stunden eines Myokardinfarktes noch unbeeinflußt ist, konnte die Blutentnahme in den meisten Fällen rechtzeitig erfolgen (Study group 1988).

Die intraindividuelle biologische Variabilität der Lipide ist ausgeprägt und durch mehrere Studien beschrieben worden (Marcovina et al. 1994, Study group 1988). In einer Untersuchung von Marcovina et al. ergab sich eine intraindividuelle Variabilität von 6-7% für Cholesterin und HDL-Cholesterin und 28% für Triglyzeride (Marcovina et al. 1994).

2.3. DNA-Polymorphismusanalyse

Die DNA-Polymorphismusanalyse erfolgte im molekularbiologischen Labor der I. Medizinischen Klinik der Charite´. Sie kann in 4 Abschnitte unterteilt werden: Die DNA-Präparation, nachfolgend die Polymerasekettenreaktion, danach die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus-Analyse und schließlich die direkte DNA-Sequenzierung. Die EDTA(Ethylendiamintetraessigsäure)-Blutröhrchen (10 ml) wurden entweder gleich weiter bearbeitet oder bei -70°C tiefgefroren.

2.3.1. DNA-Präparation

Zwei Methoden wurden bei der DNA-Präparation angewendet. Zum einen erfolgte sie von Lymphozytenpellets durch SDS(Natrium-Dodecylsulfat)-Lyse, Chloroform/Octanol-Extraktion und Äthanolfällung (Davies et al. 1985). Zum anderen diente dazu ein Extraktionskit von QIAGEN (QIAGEN GmbH, Hilden, Bundesrepublik Deutschland). Nach Abschluß der DNA-Präparation wurde spektrophotometrisch die Konzentration der DNA bestimmt. Eine nachfolgend durchgeführte Agarosegel-Elektrophorese mit nachfolgender Färbung durch Ethidiumbromid demonstrierte die Reinheit der untersuchten Proben (Qiagen 1995).

2.3.2. Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction) ist ein teilweise automatisiertes enzymatisches In-vitro-Verfahren zur Vermehrung (Amplifizierung) von Nukleotidsequenzen (Friedman et al. 1996). Die interessierenden Genbereiche, die Mutationen enthalten könnten, wurden amplifiziert (Watson et al. 1993). Für die nachfolgende Einzelstrang-Konformationspolymorphismus-Analyse bildete die PCR die Voraussetzung.

250 ng Matrizen DNA wurden zusammengebracht mit einer 50 µl Reaktionslösung, bestehend aus 50 nM KCL, 10 mM TRIS HCL (pH 9,0 bei 25°C), 1,5 mM $MgCl^2$, 0,2 mM Desoxynukleotide, 15 pmol jeweils von beiden Primern, 0,1% Triton X-100 und 2,5 IU Taq-DNA-Polymerase (PROMEGA). In einem Techne PHC-3 Thermal Cycler wurde die Denaturierung der doppelsträngigen DNA bei 95°C für 5 min erreicht, gefolgt von insgesamt 30 Zyklen, charakterisiert durch die Denaturationsphase bei 95°C für 30 sek, die Annealingphase (Abkühlungsphase) bei 58°C für 60 sek und die Extensionsphase (Polymerisationsphase) bei 72°C für 60 sek und abschließend eine letzte Extension bei 72°C für 5 min (Bauernfeind et al. 1995, Friedman et al. 1996, Jorde et al. 1995, Watson et al. 1993, Wenzel et al. 1994a, Wenzel et al. 1994b).

2.3.3. Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse

Die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(single-stranded conformation polymorphism)-Analyse ist charakterisiert durch den Unterschied in der

elektrophoretischen Mobilität zwischen einem mutierten und einem normalen Fragment in neutralen Polyacrylamidgelen. Diese veränderte elektrophoretische Mobilität entsteht durch eine Konformationsänderung eines einzelsträngigen DNA-Fragmentes bedingt durch einzelne Basenaustausche (Gassen et al. 1996).

Es wurden 5% und 10% nichtdenaturierende Polyacrylamidgele, bestehend aus 10% Glyzerol, verwendet. Die doppelsträngigen Fragmente wurden denaturiert, um die Stränge voneinander zu trennen. Danach wurden sie auf dem Polyacrylamidgel einer Elektrophorese ausgesetzt. Die Elektrophorese fand bei 20 W für 3-4 h bei verschiedenen Geltemperaturen (12°C und 20°C) statt. Anschließend erfolgte die Silberfärbung der Gele, um die DNA sichtbar zu machen (Lenk et al. 1993, Strachan et al. 1996, Watson et al. 1993, Wenzel et al. 1996).

Zur Bestätigung der SSCP-Ergebnisse wurden die PCR-Fragmente vom Gel gereinigt und mit radioaktiv markierten Primern (32 P) sequenziert. Die Aufreinigung der PCR-Produkte erfolgte nach zwei Verfahren, die mit speziellen Kits der QIAGEN GmbH durchgeführt wurden. Die Verfahren werden vom Hersteller der dazugehörigen Kits als QIAEX II Gel Extraction und QIAquick PCR Purification bezeichnet. Bei QIAEX II Gel Extraction handelt es sich um eine Agarosegel-Extraktion und bei QIAquick PCR Purification um eine direkte Extraktion (ohne Gelelektrophorese; Qiagen 1995).

2.3.4. Direkte DNA-Sequenzierung

Die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus-Analyse erlaubte keine Aussage zu Art und Position der Mutation. Somit mußte eine DNA-Sequenzierung angeschlossen werden (Friedman et al. 1996, Jorde et al. 1995, Strachan et al. 1996).

Die DNA-Sequenzierung erfolgte mit dem fmol DNA Sequencing System (PROMEGA; Wenzel et al. 1996). Zur Sequenzierung wurde die SANGER-Methode verwendet, die auch als Kettenabbruch- oder Didesoxynukleotid-Verfahren bezeichnet wird. Die einzelsträngige DNA dient dabei als Matrix für die enzymatische Synthese komplementärer Stränge, die schließlich gelelektrophoretisch analysiert werden.

2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Datenanalyse erfolgte mit dem Statistikprogrammpaket SPSS für PC, Version 4.1. Die absoluten und relativen Häufigkeiten der kategorialen Merkmale wurden bestimmt. Die Vergleiche bezüglich der Häufigkeit des Auftretens eines Merkmals wurden mit der x^2-Kontingenztafelanalyse nach Pearson durchgeführt. Hierbei erfolgte die Testung auf Unabhängigkeit bzw. Homogenität. Bei niedrigen Beobachtungswerten und bei p-Werten im Grenzbereich (p=0,05-0,1) wurde zusätzlich zur Kontrolle der Fisher´s Exact Test (einseitig getestet) durchgeführt. Einheitlich wurde als Signifikanzniveau für die Irrtumswahrscheinlichkeit p=0,05 (entspricht der Irrtumswahrscheinlichkeit α=5%) festgelegt (Sachs 1992).

Die Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung und Median erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm von Microsoft Excel Version 5,0. Dies betraf folgende Größen: Alter, Geschlecht, Zigarettenmenge, Cholesterin-, HDL-Cholesterin-, Triglyzerid- und Blutzuckerwerte und Body-Mass-Index (Sachs 1992).

2.4.1. Kontingenztafelanalyse für die Häufigkeiten der Mutationen in Abhängigkeit vom Alter

Die Kontingenztafelanalyse für die Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter beinhaltete die Häufigkeiten der Merkmale in der Altersgruppe 50 Jahre oder jünger und älter als 40 Jahre (≤50/>40 Jahre) sowie in der Altersgruppe 40 Jahre oder jünger (≤40 Jahre). Jeder der drei Polymorphismen ist einzeln untersucht worden.

2.4.2. Kontingenztafelanalyse für die Häufigkeiten der Mutationen in Abhängigkeit von den Risikofaktoren

Die Kontingenztafelanalyse für die Häufigkeiten der Patienten mit den Polymorphismen in Abhängigkeit von den Risikofaktoren erfolgte jeweils für alle Patienten (≤50 Jahre), für die Altersgruppe 50 Jahre oder jünger und älter als 40 Jahre (≤50/>40 Jahre) sowie für die Altersgruppe 40 Jahre oder jünger (≤40 Jahre). Dies betraf folgende Risikofaktoren: männliches Geschlecht, Eigenanamnese einer koronaren Herzkrankheit (Myokardinfarkt), Familienanamnese, Zigarettenrauchen, Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie, kombinierte Hyperlipidämie, niedriges HDL-Cholesterin, Diabetes mellitus, Adipositas und Hypertonie. Außerdem wurde eine mögliche Abhängigkeit mit dem Ausmaß der Koronararteriensklerose durch Vergleich von Ein- und Mehr(2- und 3-)-Gefäßerkrankungen ermittelt. Jeder der drei Polymorphismen ist einzeln untersucht worden.

3. Ergebnisse

3.1. DNA-Polymorphismusanalyse vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin)

Die DNA-Polymorphismusanalyse vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) erfolgte durch die Polymerasekettenreaktion (PCR), die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse und durch direkte DNA-Sequenzierung der PCR-Fragmente. Es wurden Gensequenzen untersucht, die folgende Regionen bzw. Domänen kodieren: 5´ untranslatierte(5´UT)-Region, Epidermaler Wachstumsfaktor(EGF)-Domäne und Membran(TM)-Domäne.

3.1.1. Darstellung der Polymorphismen

In der 5´untranslatierten (5´UT)-Region wurde ein Guanin zu Thymin Polymorphismus (G98T) entdeckt. Nur zwei Polymorphismen aus den anderen Domänen bzw. Bereichen führten zu einem entsprechenden Aminosäureaustausch: Ein Adenin zu Cytosin und ein Cytosin zu Thymin Polymorphismus in der Epidermalen Wachstumsfaktor(EGF)-Domäne bzw. in der Membran(TM)-Domäne.

Die DNA-Mutation von Adenin zu Cytosin an Position 561 (A561C) in der EGF-Domäne resultierte in einem Aminosäureaustausch von Serin zu Arginin an Position 128 (Ser128Arg). In der TM-Domäne führte die DNA-Mutation von Cytosin zu Thymin an Position 1839 (C1839T) zu einem Aminosäureaustausch von Leucin zu Phenylalanin an Position 554 (Leu554Phe). In der Tabelle 18 sind die Polymorphismen zusammengefaßt.

Nukleotidposition	Aminosäurestelle	Region/Domäne
G98T	-	5´UT-Region
A561C	Ser128Arg	EGF-Domäne
C1839T	Leu554Phe	TM-Domäne

Tabelle 18: DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin) (A=Adenin, C=Cytosin, G=Guanin, T=Thymin, Arg=Arginin, Leu=Leucin, Phe=Phenylalanin, Ser=Serin)

Die Abbildung 3 zeigt den Polymorphismus in der 5´UT-Region, diagnostiziert durch die SSCP-Analyse. In der Abbildung 4 ist der Polymorphismus in der 5´UT-Region zu sehen, dargestellt durch direkte Sequenzierung der PCR-Fragmente.

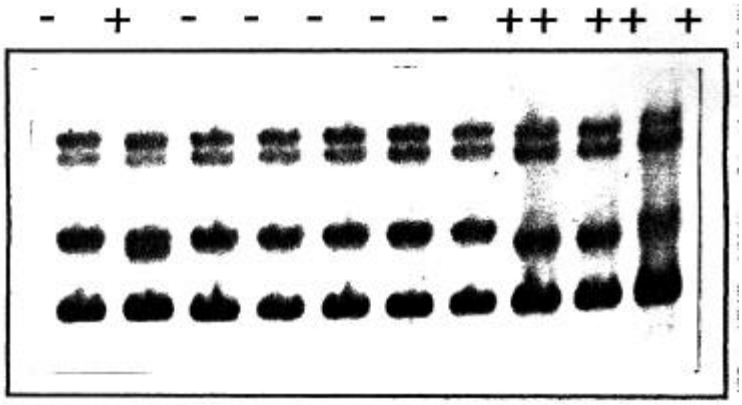


Abbildung 3: Polymorphismus in der 5´UT-Region, diagnostiziert durch die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse (+ Mutation in einem Allel, - keine Mutation, ++ Mutation in beiden Allelen)

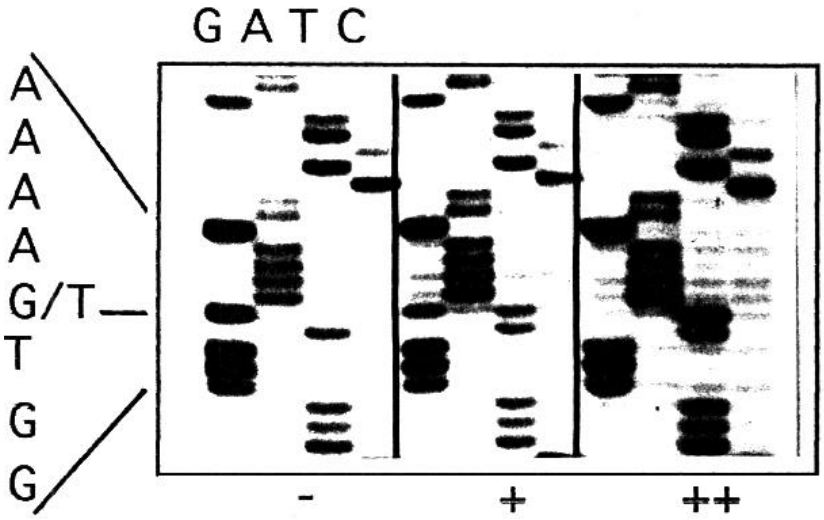


Abbildung 4: Polymorphismus in der 5´UT-Region, analysiert durch direkte Sequenzierung der PCR-Produkte (+ Mutation in einem Allel, - keine Mutation, ++ Mutation in beiden Allelen, A=Adenin, C=Cytosin, G=Guanin, T=Thymin)

3.1.2. Anzahl der Patienten mit Mutationen und Allelfrequenzen

Von allen untersuchten Patienten im Alter von 50 Jahren und jünger (n=92) hatten jeweils 28 Patienten (30,4%) den A561C-Polymorphismus in der EGF-Domäne und den G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region. Bei 12 Patienten (13,0%) wurde der C1839T-Polymorphismus in der TM-Domäne gefunden.

Tabelle 19 zeigt die Anzahl der Patienten mit Mutationen und die Allelfrequenzen für alle Patienten (≤50 Jahre) (Die Allelfrequenz ist folgendermaßen definiert: Anzahl der mutierten Allele : Gesamtzahl der Allele). In der Abbildung 5 ist die Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus graphisch dargestellt.

Patienten < 50 Jahre n=92	Patienten mit Mutationen		
Region/Domäne	Anzahl n	Anteil in %	Allelfrequenzen
EGF-Domäne	28	30,4	0,152
5´UT-Region	28	30,4	0,152
TM-Domäne	12	13	0,065

Tabelle 19: Übersicht über die Anzahl der Mutationen bei allen Patienten (<50 Jahre) und entsprechende Allelfrequenzen

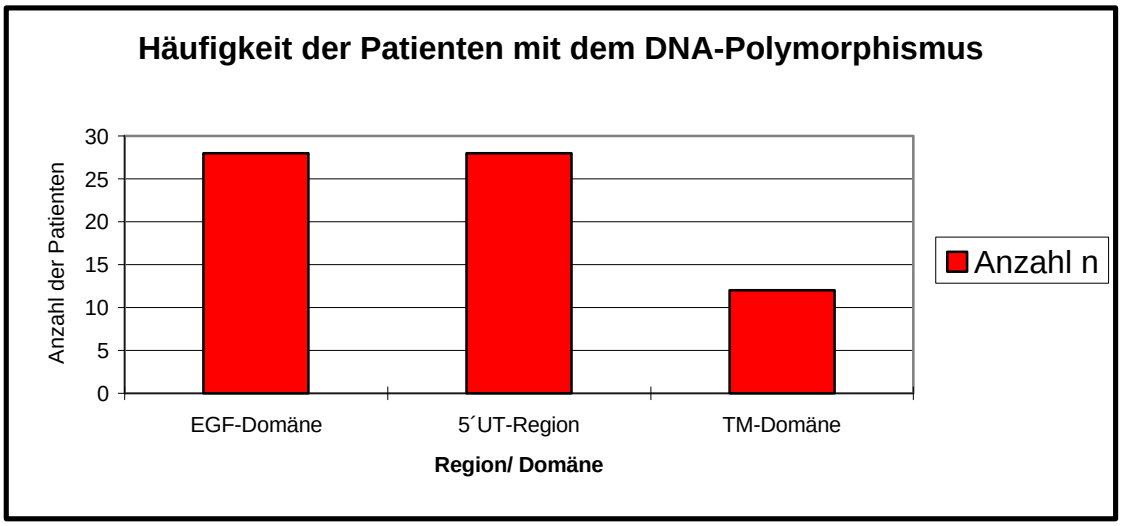


Abbildung 5: Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus

3.1.3. Genotypen

Der DNA-Polymorphismus wurde bei den Patienten ≤50 Jahren mit interventionspflichtigen Koronararterienstenosen nur im heterozygoten Zustand gefunden. In der Patientengruppe ≤50 Jahre, d.h. bei allen Patienten, traten die beschriebenen Polymorphismen in der EGF-Domäne, in der 5´UT-Region und in der TM-Domäne gemeinsam bei 4 Patienten auf (xxx), davon entfallen 3 Patienten in die Altersgruppe ≤40 Jahre. 56 Patienten hatten keine der Mutationen (ooo). Die A561C-Mutation in der EGF-Domäne wurde nur bei einem Patienten nicht in Zusammenhang mit der G98T-Mutation in der 5´UT-Region gefunden. Innerhalb der Patientengruppe ≤40 Jahre fanden sich die beiden Mutationen immer gemeinsam.

Die beobachteten Genotypen sind in den Tabellen 20 und 21 zusammengestellt. In den Abbildungen 6 und 7 sind die Genotypen jeweils graphisch dargestellt.

Patienten < 50 Jahre n=92	Patienten mit Mutationen	
Mutationen EGF/5´UT/TM	Anzahl n	Anteil in %
xxx	4	4,3
xxo	23	25
xox	1	1,1
xoo	0	0
oxo	1	1,1
ooo	56	60,9
oox	7	7,6
oxx	0	0

Tabelle 20: Genotypen des DNA-Polymorphismus von allen Patienten (<50 Jahre) (x=Mutation, o=keine Mutation, EGF=A561C-Mutation in der EGF-Domäne, 5´UT=G98T-Mutation in der 5´UT-Region, TM=C1839T-Mutation in der TM-Domäne)

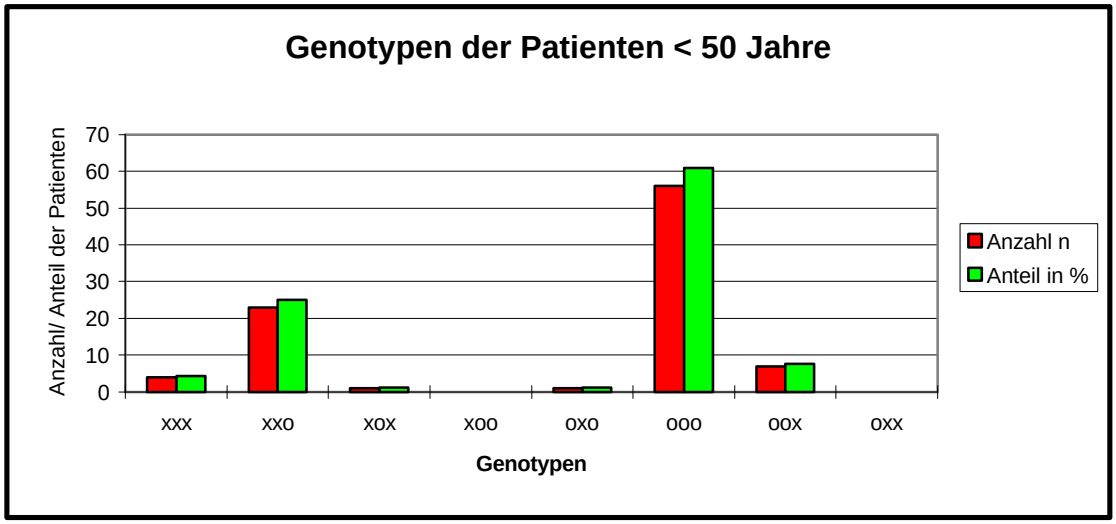


Abbildung 6: Genotypen (EGF/5´UT/TM) des DNA-Polymorphismus von allen Patienten (<50 Jahre) (x=Mutation, o=keine Mutation, EGF=A561C-Mutation in der EGF-Domäne, 5´UT=G98T-Mutation in der 5´UT-Region, TM=C1839T-Mutation in der TM-Domäne)

Patienten mit Mutationen				
	Patienten <50/ >40 Jahre n=51		Patienten < 40 Jahre n=41	
Mutationen EGF/5´UT/TM	Anzahl n	Anteil in %	Anzahl n	Anteil in %
xxx	1	2	3	7,3
xxo	9	17,6	14	34,2
xox	1	2	0	0
xoo	0	0	0	0
oxo	1	2	0	0
ooo	33	64,7	23	56,1
oox	6	11,7	1	2,4
oxx	0	0	0	0

Tabelle 21: Genotypen des DNA-Polymorphismus der Patienten ≤50/>40 Jahre (<50/>40) und der Patienten ≤40 Jahre (<40) (x=Mutation, o=keine Mutation, EGF=A561C-Mutation in der EGF-Domäne, 5´UT=G98T-Mutation in der 5´UT-Region, TM=C1839T-Mutation in der TM-Domäne)

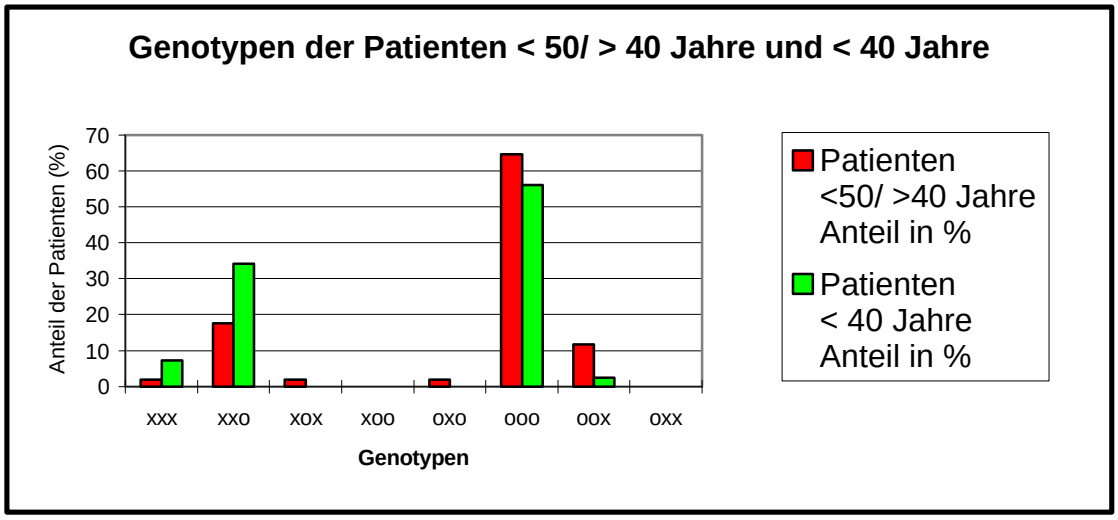


Abbildung 7: Genotypen (EGF/5´UT/TM) des DNA-Polymorphismus der Patienten ≤50/>40 Jahre (<50/>40) und der Patienten ≤40 Jahre (<40)

(x=Mutation, o=keine Mutation, EGF=A561C-Mutation in der EGF-Domäne, 5´UT=G98T-Mutation in der 5´UT-Region, TM=C1839T-Mutation in der TM-Domäne)

3.2. Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit vom Alter

Beim Vergleich bezüglich der Häufigkeit des Auftretens der gefundenen Polymorphismen in Abhängigkeit vom Alter (Vergleich der beiden Altersgruppen ≤50/>40 Jahre und ≤40 Jahre) ließ sich ein statistisch signifikanter (p=0,0393) Anstieg der Häufigkeit der Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region bei den Patienten ≤40 Jahre nachweisen.

Bei allen Patienten (n=92) wurden die G98T- und die A561C-Polymorphismen jeweils bei 28 Patienten beobachtet. Davon entfielen jeweils 11 Mutationen (39,3%) auf die Patienten zwischen 40 und 50 Jahren (≤50/>40 Jahre) und 17 Mutationen (60,7%) auf die Patienten mit 40 Jahren und jünger (≤40 Jahre).

In der TM-Domäne konnte eine Signifikanz nicht gezeigt werden (p=0,4808). Allerdings war die Anzahl der Mutationen in der TM-Domäne insgesamt sehr gering.

Die Tabelle 22 stellt die Anzahl der Mutationen für die zwei Patientengruppen ≤50/>40 Jahre und ≤40 Jahre dar.

	Patienten mit Mutationen		
	Patienten < 50/ > 40 Jahre n=51	Patienten < 40 Jahre n=41	
Region/Domäne	Anzahl n	Anzahl n	p-Wert
EGF-Domäne	11	17	**0,0393**
5´UT-Region	11	17	**0,0393**
TM-Domäne	8	4	0,4012

Tabelle 22: Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter (fettgedruckte p-Werte kennzeichnen p ≤0,05)

Die prozentualen Häufigkeiten der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus und die Allelfrequenzen sind in der Tabelle 23 dargestellt.

Patienten mit Mutationen				
	Patienten <50/ >40 Jahre n=51		Patienten < 40 Jahre n=41	
Region/ Domäne	Anteil in %	Allelfre-quenzen	Anteil in %	Allelfre-quenzen
EGF-Domäne	21,6	0,107	41,5	0,207
5´UT-Region	21,6	0,107	41,5	0,207
TM-Domäne	15,7	0,078	9,7	0,048

Tabelle 23: Prozentuale Häufigkeiten der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus und Allelfrequenzen in Abhängigkeit vom Alter

In der Abbildung 8 ist die prozentuale Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter graphisch dargestellt.

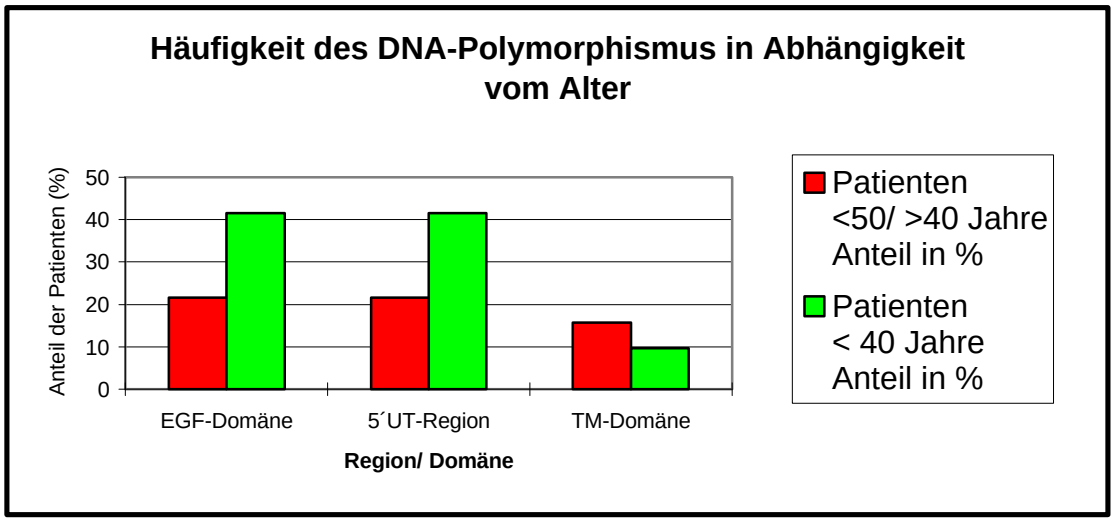


Abbildung 8: Prozentuale Häufigkeiten der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter

3.3. Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit von den Risikofaktoren

Für jeden Risikofaktor (männliches Geschlecht, Myokardinfarkt in der Eigenanamnese, positive Familienanamnese, Zigarettenrauchen, Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie, kombinierte Hyperlipidämie, niedriges HDL-Cholesterin, Diabetes mellitus, Adipositas, Hypertonie) wurde eine mögliche Assoziation mit der G98T-Mutation in der 5´UT-Region, mit der A561C-Muta-

tion in der EGF-Domäne und mit der C1839T-Mutation in der TM-Domäne untersucht.

Sowohl für die Hypertriglyzeridämie als auch für die positive Familienanamnese wurde eine statistisch signifikante Assoziation mit der A561C-Mutation in der EGF-Domäne und mit der G98T-Mutation in der 5´UT-Region gefunden.

3.3.1. Männliches Geschlecht

Tabelle 24 zeigt die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Geschlecht. Es wurden 82 Männer (89,1%) und 10 Frauen (10,9%) insgesamt untersucht. Davon entfielen 37 Männer (45,1%) und 4 Frauen (40,0%) auf die Altersgruppe ≤40 Jahre. Die Beobachtungswerte bei den Frauen waren gering.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	MNL		WBL		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	25	30,5	3	30	0,9747
	< 50/ > 40	9	20	2	33,3	0,4557
	< 40	16	43,2	1	25	0,4817
5´UT-Region	< 50	25	30,5	3	30	0,9747
	< 50/ > 40	9	20	2	33,3	0,4557
	< 40	16	43,2	1	25	0,4817
TM-Domäne	< 50	12	14,6	0	0	0,1945
	< 50/ > 40	8	17,8	0	0	0,2607
	< 40	4	10,8	0	0	0,4888

Tabelle 24: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Geschlecht (MNL=männlich, WBL=weiblich)

3.3.2. Myokardinfarkt in der Eigenanamnese

Von 89 Patienten hatten 77 Patienten (86,5%) einen Myokardinfarkt, davon 7 (9,1%) auch einen Reinfarkt. Die Beobachtungswerte bei den Patienten ohne Myokardinfarkt waren sehr gering.

Tabelle 25 zeigt die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit eines abgelaufenen Myokardinfarktes.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	MI+		MI-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	22	28,6	3	25	0,7979
	< 50/ > 40	8	19	3	33,3	0,3443
	< 40	14	40	0	0	0,1681
5´UT-Region	< 50	23	29,8	2	16,7	0,3438
	< 50/ > 40	9	21,4	2	22,2	0,9581
	< 40	14	40	0	0	0,1681
TM-Domäne	< 50	9	11,7	3	25	0,2092
	< 50/ > 40	5	11,9	3	33,3	0,1087
	< 40	4	11,4	0	0	0.5359

Tabelle 25: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit eines abgelaufenen Myokardinfarktes (MI+=abgelaufener Myokardinfarkt, MI-=kein Myokardinfarkt)

3.3.3. Positive Familienanamnese

Bei 35 Patienten (39,3%) von 89 Patienten konnte eine positive Familienanamnese (Myokardinfarkt bei Geschwistern oder Eltern) festgestellt werden, bei 54 Patienten (60,7%) war keine positive Familienanamnese vorhanden.

Die Patienten mit einer positiven Familienanamnese sind durch eine statistisch signifikant (p=0,0441) höhere Mutationshäufigkeit hinsichtlich dem G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region und dem A561C-Polymorphismus in der EGF-Domäne charakterisiert. 14 Patienten (40%) der Patientengruppe mit einer po sitiven Familienanamnese hatten die Mutation, im Vergleich zu 11 Patienten (20,4%) der Patientengruppe mit einer negativen Familienanamnese.

Auch bei den Patienten mit 40 Jahren und jünger lies sich eine statistisch signifikante (p=0,0344) Häufung der G98T- und A561C-Polymorphismen nachweisen. Dies betraf 9 Patienten (56,2%).

Die Tabelle 26 gibt eine Übersicht über die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit einer positiven Familienanamnese.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	FA+		FA-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	14	40	11	20,4	**0,0441**
	< 50/ > 40	5	26,3	6	18,7	0,5253
	< 40	9	56,2	5	22,7	**0,0344**
5´UT-Region	< 50	14	40	11	20,4	**0,0441**
	< 50/ > 40	5	26,3	6	18,7	0,5253
	< 40	9	56,2	5	22,7	**0,0344**
TM-Domäne	< 50	3	8,6	9	16,7	0,2747
	< 50/ > 40	1	5,3	7	21,8	0,1147
	< 40	2	12,5	2	9,1	0,7353

Tabelle 26: Übersicht über die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit einer positiven Familienanamnese (FA+=positive Familienanamnese, FA-=negative Familienanamnese; fettgedruckte p-Werte kennzeichnen $p \leq 0,05$)

In den Abbildungen 9 und 10 sind die prozentualen Häufigkeiten für die A561C-Mutation und die G98T-Mutation graphisch dargestellt.

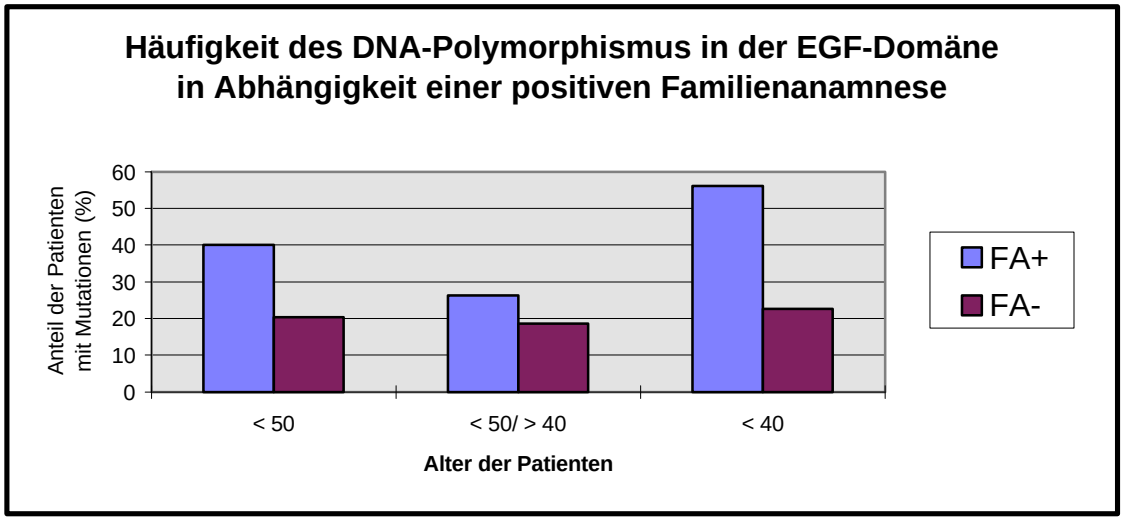


Abbildung 9: Prozentualer Anteil der A561C-Mutation in der EGF-Domäne bei Patienten mit einer positiven Familienanamnese (FA+) sowie bei Patienten mit einer negativen Familienanamnese (FA-)

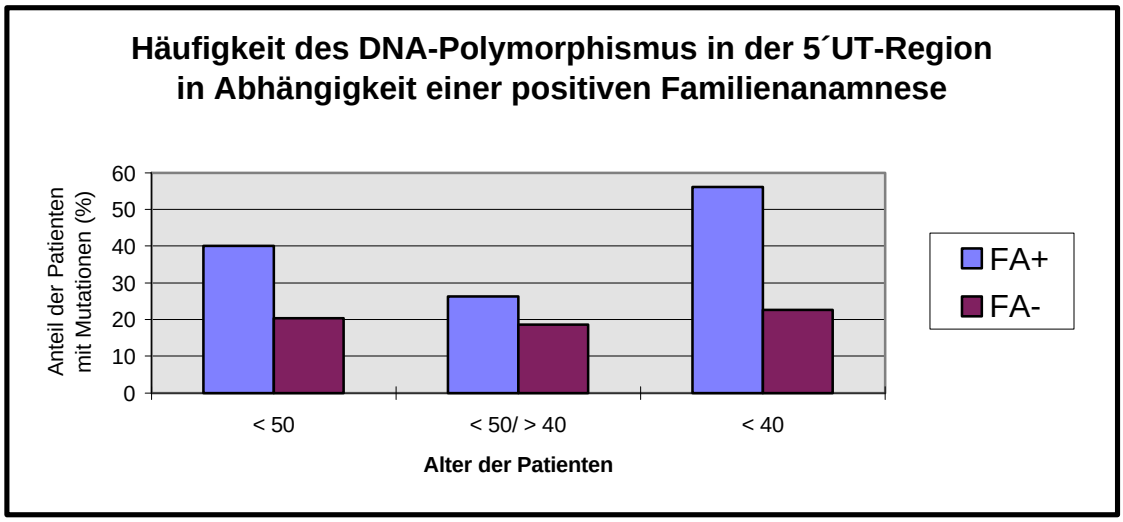


Abbildung 10: Prozentualer Anteil der G98T-Mutation in der 5´UT-Region bei Patienten mit einer positiven Familienanamnese (FA+) sowie bei Patienten mit einer negativen Familienanamnese (FA-)

3.3.4. Zigarettenrauchen

79 Patienten (88,8%) von 89 Patienten waren Zigarettenraucher, die im Mittel 22±14 Zigaretten/d (Median 20) geraucht haben. Die Beobachtungswerte bei den Nichtrauchern waren sehr gering. 33 Patienten (41,8%) rauchten 20 Zigaretten/d oder mehr und 46 Patienten (58,2%) weniger als 20 Zigaretten/d.

Die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus im Vergleich zum Zigarettenrauchen ist in den Tabellen 27 und 28 dargestellt.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	ZIG+		ZIG-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	24	30,4	1	10	0,1767
	< 50/ > 40	10	23,2	1	12,5	0,497
	< 40	14	38,9	0	0	0,2671
5´UT-Region	< 50	24	30,4	1	10	0,1767
	< 50/ > 40	10	23,2	1	12,5	0,497
	< 40	14	38,9	0	0	0,2671
TM-Domäne	< 50	11	13,9	1	10	0,7321
	< 50/ > 40	7	16,3	1	12,5	0,7872
	< 40	4	11,1	0	0	0,6182

Tabelle 27: Vergleich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus bei Rauchern und Nichtrauchern (ZIG+=Zigarettenraucher, ZIG-=Nichtraucher)

	Patienten	< 20 ZIG		> 20 ZIG		
Region/ Domäne	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	16	34,8	8	24,2	0,3151
	< 50/ > 40	6	26,1	4	20	0,6375
	< 40	10	43,5	4	30,8	0,4525
5´UT-Region	< 50	17	36,9	7	21,2	0,1334
	< 50/ > 40	7	30,4	3	15	0,2321
	< 40	10	43,5	4	30,8	0,4525
TM-Domäne	< 50	6	13	5	15,1	0,7895
	< 50/ > 40	3	13	4	20	0,5377
	< 40	3	13	1	7,7	0,6236

Tabelle 28: Anzahl der Mutationen bei Rauchern mit ≥20 Zigaretten/d (>20 ZIG) und bei Rauchern mit <20 Zigaretten/d (<20 ZIG)

3.3.5. Hypercholesterinämie

Von 89 Patienten hatten 72 Patienten (80,9%) einen Cholesterinwert von ≥5,2 mmol/l bzw. ≥200 mg/dl und 17 Patienten (19,1%) einen Cholesterinwert von <5,2 mmol/l bzw. <200 mg/dl. Der Mittelwert des Cholesterins betrug 6,44±1,53 mmol/l bzw. 247,7±58,8 mg/dl (Median 6,44 bzw. 247,7).

Innerhalb der Patientengruppe mit der Hypercholesterinämie betrugen die Cholesterinwerte bei 61 Patienten (84,7%) zwischen 5,2-7,8 mmol/l bzw. 200-300 mg/dl und bei 11 Patienten (15,3%) ≥7,8 mmol/l bzw. ≥300 mg/dl.

3 Patienten (8,3%) zwischen 40 und 50 Jahren hatten die C1839T-Mutation (TM-Domäne) in der Patientengruppe mit Cholesterinwerten von 5,2-7,8 mmol/l, im Vergleich dazu hatten 2 Patienten (33,3%) diese Mutation in der Gruppe mit Cholesterinwerten ≥7,8 mmol/l. Mit einem p-Wert von 0,08 nach Pearson ist tendenziell ein Anstieg des TM-Polymorphismus bei Cholesterinwerten ≥7,8 mmol/l zu verzeichnen. Allerdings sind die Beobachtungswerte gering. Der Fisher´s Exact Test berechnete einen höheren p-Wert (p=0,1413). Die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von der Hypercholesterinämie ist aus den Tabellen 29 und 30 zu ersehen.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	CHO+		CHO-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	19	26,4	6	35,3	0,4625
	< 50/ > 40	9	21,4	2	22,2	0,9581
	< 40	10	33,3	4	50	0,3852
5´UT-Region	< 50	20	27,8	5	29,4	0,8927
	< 50/ > 40	10	23,8	1	11,1	0,4006
	< 40	10	33,3	4	50	0,3852
TM-Domäne	< 50	9	12,5	3	17,6	0,5762
	< 50/ > 40	5	11,9	3	33,3	0,1087
	< 40	4	13,3	0	0	0,2748

Tabelle 29: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit einer Hypercholesterinämie (CHO+=Hypercholesterinämie, CHO-=Normocholesterinämie)

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	CHO 5,2-7,8		CHO > 7,8		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	17	27,9	2	18,2	0,5022
	< 50/ > 40	8	22,2	1	16,7	0,7588
	< 40	9	36	1	20	0,4884
5´UT-Region	< 50	18	29,5	2	18,2	0,4401
	< 50/ > 40	9	25	1	16,7	0,6572
	< 40	9	36	1	20	0,4884
TM-Domäne	< 50	7	11,5	2	18,2	0,5358
	< 50/ > 40	3	8,3	2	33,3	0,08*
	< 40	4	16	0	0	0,3366

Tabelle 30: Anzahl der Mutationen bei Patienten mit Cholesterinwerten zwischen 5,2-7,8 mmol/l (5,2-7,8) und bei Patienten mit Cholesterinwerten ≥7,8 mmol/l (>7,8) (* Fisher´s Exact Test: p=0,1413)

3.3.6. Hypertriglyzeridämie

Im Mittel betrugen die Triglyzeridwerte 2,56±1,63 mmol/l bzw. 222,6±141,7 mg/dl (Median 2,20 bzw. 191,3). Bei 43 Patienten (48,3%) trat eine Hypertriglyzeridämie (≥2,3 mmol/l) auf, bei 46 Patienten (51,7%) eine Normotriglyzeridämie (<2,3mmol/l).

Die Tabelle 31 stellt die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit des Triglyzeridwertes dar.

Die Hypertriglyzeridämie ist neben der positiven Familienanamnese der einzige Risikofaktor, bei dem eine statistisch signifikanter Anstieg des DNA-Polymorphismus beobachtet wurde. Sowohl die A561C-Mutation in der EGF-Domäne als auch die G98T-Mutation in der 5´UT-Region treten bei der Patientengruppe ≤40 Jahre bei den Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie signifikant (p=0,0436) häufiger auf als bei den Patienten mit einer Normotriglyzeridämie. 10 Patienten (52,6%) der Patientengruppe mit einer Hypertriglyzeridämie hatten die G98T- und A561C-Polymorphismen, 4 Patienten (21,0%) aus der Gruppe mit einer Normotriglyzeridämie.

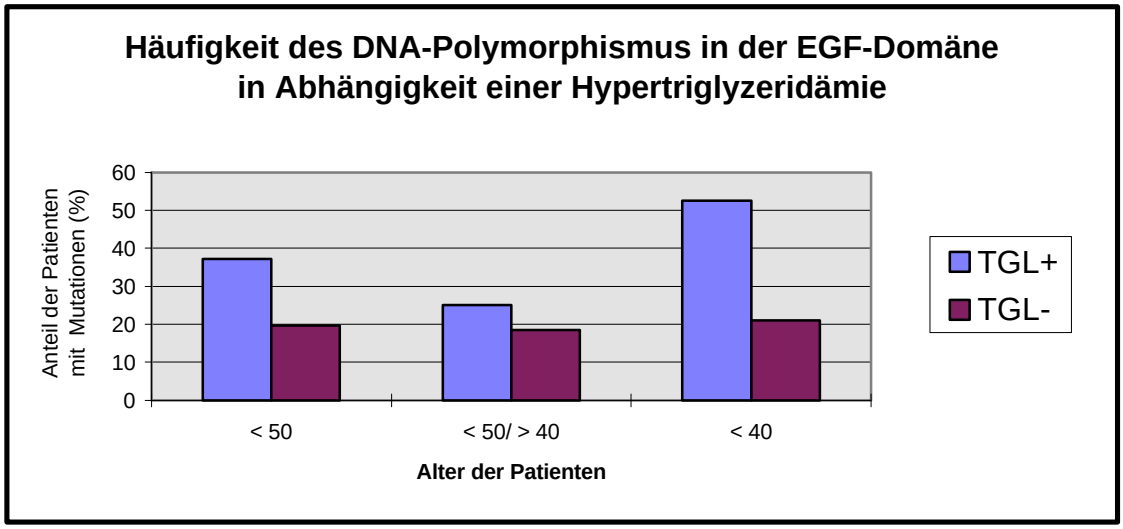
Außerdem stellt sich die G98T-Mutation in der 5´UT-Region bei den 89 untersuchten Patienten ≤50 Jahre als signifikant (p=0,0202) erhöht bei den Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie dar. Dies betraf 17 Patienten (39,5%) der Patientengruppe mit einer Hypertriglyzeridämie, im Vergleich zu 8 Patienten (17,4%) aus der Gruppe mit einer Normotriglyzeridämie.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	TGL+		TGL-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	16	37,2	9	19,6	0,0642
	< 50/ > 40	6	25	5	18,5	0,5743
	< 40	10	52,6	4	21	**0,0436**
5´UT-Region	< 50	17	39,5	8	17,4	**0,0202**
	< 50/ > 40	7	29,2	4	14,8	0,2136
	< 40	10	52,6	4	21	**0,0436**
TM-Domäne	< 50	6	13,9	6	13	0,9
	< 50/ > 40	3	12,5	5	18,5	0,5552
	< 40	3	15,8	1	5,3	0,2904

Tabelle 31: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit des Triglyzeridwertes (TGL+=Hypertriglyzeridämie, TGL-=Normotriglyzeridämie; fettgedruckte p-Werte kennzeichnen p ≤0,05)

In den Abbildungen 11 und 12 sind die prozentualen Häufigkeiten für die A561C-Mutation und die G98T-Mutation graphisch dargestellt.

Abbildung 11 (folgende Seite): Prozentualer Anteil der A561-Mutation in der EGF-Domäne bei Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie sowie bei Patienten mit einer Normotriglyzeridämie (TGL+=Hypertriglyzeridämie, TGL-=Normotriglyzeridämie)



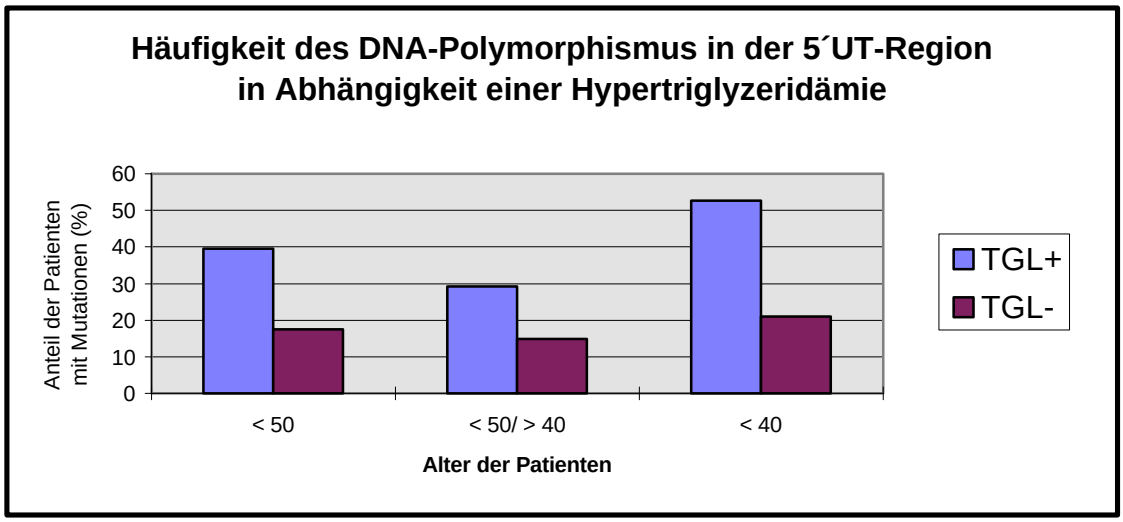


Abbildung 12: Prozentualer Anteil der G98T-Mutation in der 5´UT-Region bei Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie sowie bei Patienten mit einer Normotriglyzeridämie (TGL+=Hypertriglyzeridämie, TGL-=Normotriglyzeridämie)

3.3.7. Kombinierte Hyperlipidämie

37 Patienten (41,6%) von 89 Patienten hatten eine kombinierte Hyperlipidämie, d.h. sie hatten eine Hypercholesterin- und eine Hypertriglyzeridämie, 11 Patienten (12,4%) hatten weder eine Hypercholesterin- noch eine Hypertriglyzerid-ämie. Den Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus mit der kombinierten Hyperlipidämie zeigt Tabelle 32.
Außerdem erfolgte die Analyse für die 13 Patienten (14,6%), die neben einer Hypercholesterin- und Hypertriglyzeridämie ein niedriges HDL-Cholesterin

(<0,9 mmol bzw. <35 mg/dl) besitzen. Dies ist aus Tabelle 33 zu ersehen.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	CHO+ TGL+		CHO- TGL-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	15	40,5	5	45,4	0,7716
	< 50/ > 40	6	28,6	2	33,3	0,8217
	< 40	9	56,2	3	60	0,8824
5´UT-Region	< 50	16	43,2	4	36,4	0,6845
	< 50/ > 40	7	33,3	1	16,7	0,4304
	< 40	9	56,2	3	60	0,8824
TM-Domäne	< 50	5	13,5	2	18,2	0,7001
	< 50/ > 40	2	9,5	2	33,3	0,1476
	< 40	3	18,7	0	0	0,2956

Tabelle 32: Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus und der kombinierten Hyperlipidämie (CHO+/TGL+=Hypercholesterinämie + Hypertriglyzeridämie, CHO-/TGL-=Normocholesterinämie + Normotriglyzeridämie)

In der Patientengruppe mit der kombinierten Hyperlipidämie sowie niedrigen HDL-Cholesterinwerten fand sich bei den Patienten zwischen 40 und 50 Jahren kein TM-Polymorphismus (0%) , in der Gruppe mit normalen Lipidwerten zeigten 2 Patienten (33,3%) den Polymorphismus. Die Assoziation erreichte aber keine Signifikanz (p=0,077). Der Fisher´s Exact Test ergab einen p-Wert von 0,1648. Die Beobachtungswerte waren sehr gering.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	CHO+ TGL+ HDL-		CHO- TGL- HDL+		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	7	53,8	5	45,4	0,682
	< 50/ > 40	3	37,5	2	33,3	0,8721
	< 40	4	80	3	60	0,4901

Region/ Domäne	Patienten	CHO+ TGL+ HDL-		CHO- TGL- HDL+		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
5´UT-Region	< 50	7	53,8	4	36,4	0,3917
	< 50/ > 40	3	37,5	1	16,7	0,3931
	< 40	4	80	3	60	0,4901
TM-Domäne	< 50	2	15,4	2	18,2	0,8546
	< 50/ > 40	0	0	2	33,3	0,077*
	< 40	2	40	0	0	0,1138

Tabelle 33: Anzahl der Patienten mit Mutationen bei einer kombinierten Hyperlipidämie und niedrigen HDL-Cholesterin und normalen Lipidwerten (CHO+/TGL+/HDL-=Hypercholesterinämie + Hypertriglyzeridämie + niedriges HDL-Cholesterin, CHO-/TGL-/HDL+=Normocholesterinämie + Normotriglyzerid-ämie + HDL-Cholesterin ≥0,9 mmol/l) (* Fisher´s Exact Test: p=0,1648)

3.3.8. Niedriges HDL-Cholesterin

Die HDL-Cholesterinwerte lagen im Mittel bei den 89 untersuchten Patienten bei 1,06±0,30 mmol/l bzw. 40,8±11,5 mg/dl (Median 0,98 bzw. 37,7). Innerhalb der Patientengruppe mit Hypercholesterinwerten von 5,2 mmol/l bis 7,8 mmol/l bzw. von 200 mg/dl bis 300 mg/dl zeigte sich bei 20 Patienten (32,8%) ein niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl), bei 41 Patienten (67,2%) HDL-Cholesterinwerte von ≥0,9 mmol/l bzw. ≥35 mg/dl.

Die Patienten mit 40 Jahren und jünger und niedrigen HDL-Cholesterinwerten zeigten mit 33,3% einen deutlich höheren Anteil an Mutationen in der TM-Domäne als diejenigen mit normalen HDL-Cholesterinwerten (6,2%). Die Assoziation erreichte aber keine statistische Signifikanz (p=0,0762). Die Beobachtungswerte waren gering (3 bzw. 1 Patient). Der Fisher´s Exact Test bestätigte die Nichtsignifikanz (0,1162).

Die Tabelle 34 stellt die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit des HDL-Cholesterins dar.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	HDL-		HDL+		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	8	40	9	21,9	0,139
	< 50/ > 40	4	36,4	4	16	0,1758
	< 40	4	44,4	5	31,2	0,5094
5´UT-Region	< 50	8	40	10	24,4	0,2095
	< 50/ > 40	4	36,4	5	20	0,2963
	< 40	4	44,4	5	31,2	0,5094
TM-Domäne	< 50	4	20	3	7,3	0,1446
	< 50/ > 40	1	9,1	2	8	0,9131
	< 40	3	33,3	1	6,2	0,0762*

Tabelle 34: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit des HDL-Cholesterins (HDL-=HDL-Cholesterin <0,9 mmol/l, HDL+=HDL-Cholesterin ≥0,9 mmol/l) (* Fisher´s Exact Test: p-Wert=0,1162)

3.3.9. Diabetes mellitus

Von 89 Patienten hatten 8 Patienten (9,0%) ein Diabetes mellitus, bei 81 Patienten (91,0%) lag kein Diabetes mellitus vor. Der Mittelwert des gemessenen Blutzuckers betrug 5,2±1,6 mmol/l bzw. 92,9±28,6 mg/dl (Median 4,9 bzw. 87,5).

Die Patienten mit 40 Jahren und jünger und mit einem Diabetes mellitus waren durch eine höhere Häufigkeit des DNA-Polymorphismus (EGF-Domäne bzw. 5´UT-Region: 100%, TM-Domäne: 50%) im Vergleich zu Nichtdiabetikern (EGF-Domäne bzw. 5´UT-Region: 33,3%, TM-Domäne: 8,3%) charakterisiert. Eine statistische Signifikanz trat jedoch nicht auf (EGF bzw. 5´UT: p=0,0571, TM: p=0,0616). Die Beobachtungswerte waren sehr gering. Der Fisher´s Exact Test bestätigte die Nichtsignifikanz (EGF bzw. 5´UT: p=0,1294, TM: p=0,2019).

Eine Übersicht über die Anzahl der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus bei Vorliegen eines Diabetes mellitus gibt Tabelle 35.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	DM+		DM-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	3	37,5	22	27,2	0,5347
	< 50/ > 40	1	16,7	10	22,2	0,7559
	< 40	2	100	12	33,3	0,0571*
5´UT-Region	< 50	3	37,5	22	27,2	0,5347
	< 50/ > 40	1	16,7	10	22,2	0,7559
	< 40	2	100	12	33,3	0,0571*
TM-Domäne	< 50	2	25	10	12,3	0,3174
	< 50/ > 40	1	16,7	7	15,5	0,9439
	< 40	1	50	3	8,3	0,0616*

Tabelle 35: Übersicht über die Anzahl der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus bei Vorliegen eines Diabetes mellitus (DM+=Vorliegen eines Diabetes mellitus, DM-=kein Diabetes mellitus) (* Fisher´s Exact Test: EGF: p=0,1294, 5´UT: p=0,1294, TM: p=0,2019)

3.3.10. Adipositas

27 Patienten (30,3%) lagen mit ihrem Body-Mass-Index (BMI) über der 85. Perzentile (bei Männern >27,8 kg/m², bei Frauen >27,3 kg/m²), 62 Patienten (69,7%) unter der 85. Perzentile. Im Mittel betrug der BMI 26,3±3,8 kg/m² (Median 26,1). Tabelle 36 gibt eine Übersicht über die Anzahl der Mutationen bei Patienten mit Adipositas und ohne Adipositas.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Domäne	Patienten	BMI+		BMI-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	9	33,3	16	25,8	0,4676
	< 50/ > 40	5	33,3	6	16,7	0,1873
	< 40	4	33,3	10	38,5	0,7606

Region/ Domäne	Patienten	BMI+		BMI-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
5´UT-Region	< 50	9	33,3	16	25,8	0,4676
	< 50/ > 40	5	33,3	6	16,7	0,1873
	< 40	4	33,3	10	38,5	0,7606
TM-Domäne	< 50	3	11,1	9	14,5	0,6654
	< 50/ > 40	2	13,3	6	16,7	0,7655
	< 40	1	8,3	3	11,5	0,7647

Tabelle 36: Übersicht über die Anzahl der Mutationen bei Patienten mit Adipositas (BMI+) und ohne Adipositas (BMI-)

3.3.11. Hypertonie

Bei 37 Patienten (41,6%) von 89 Patienten fand sich eine arterielle Hypertonie, bei 52 Patienten (58,4%) nicht.
2 Hypertoniker (5,4%) mit 50 Jahren und jünger wiesen die Mutation in der TM-Domäne auf, im Vergleich dazu 10 Patienten (19,2%) ohne Hypertonie. Zwischen 40 und 50 Jahren hatte 1 Hypertoniker (5,0%) diese Mutation, im Gegensatz zu 7 Patienten (22,6%) ohne Hypertonus. Der höhere Anteil des C1839T-Polymorphismus bei Patienten ohne Hypertonus erreichte aber keine statistische Signifikanz (≤50 Jahre: p=0,0598, ≤50/>40 Jahre: p=0,0918). Auch hier waren die Beobachtungswerte gering. Der Fisher´s Exact Test bestätigte die Tendenz bei den Patienten mit 50 Jahren und jünger (p=0,0546). Für die Patienten zwischen 40 und 50 Jahren errechnete sich ein p-Wert von 0,0949.

Die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus im Vergleich zur Hypertonie ist in Tabelle 37 dargestellt.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Domäne	Patienten	HYPT+		HYPT-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	11	29,7	14	26,9	0,7715
	< 50/ > 40	5	25	6	19,3	0,6322
	< 40	6	35,3	8	38,1	0,8587

Region/ Domäne	Patienten	HYPT+		HYPT-		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
5´UT-Region	< 50	11	29,7	14	26,9	0,7715
	< 50/ > 40	5	25	6	19,3	0,6322
	< 40	6	35,3	8	38,1	0,8587
TM-Domäne	< 50	2	5,4	10	19,2	0,0598*
	< 50/ > 40	1	5	7	22,6	0,0918*
	< 40	1	5,9	3	14,3	0,4013

Tabelle 37: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus im Vergleich zur Hypertonie (HYPT+=Vorliegen einer Hypertonie, HYPT-=keine Hypertonie) (* Fisher´s Exact Test: <50/>40 Jahre: p=0,0949, <50 Jahre: p=0,0546)

3.4. Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit vom Ausmaß der Koronararterienstenosen

Die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Ausmaß der Koronararterienstenosen durch Vergleich von Ein- und Mehr(2- und 3-)-Gefäßerkrankungen ist aus Tabelle 38 zu ersehen.

Bei den Patienten (≤50/>40 Jahre) mit einer Mehrgefäßerkrankung war der C1839T-Polymorphismus in der TM-Domäne mit 25,8% höher als bei den Patienten mit einer Eingefäßerkrankung (5,0%). Eine statistisch signifikante Assoziation fand sich nicht (p=0,057). Die Beobachtungswerte waren gering. Der Fisher´s Exact Test bestätigte jedoch eine gewisse Tendenz (p=0,0585).

Auch für die anderen DNA-Polymorphismen zeigte sich keine statistisch signifikante Assoziation.

	Patienten mit DNA-Polymorphismus					
Region/ Domäne	Patienten	EGE		MGE		
	Alter in Jahren	Anzahl n	Anteil %	Anzahl n	Anteil %	p-Wert
EGF-Domäne	< 50	11	25	17	36,9	0,2206
	< 50/ > 40	2	10	9	29	0,1066
	< 40	9	37,5	8	53,3	0,3319
5´UT-Region	< 50	12	27,3	16	34,8	0,4417
	< 50/ > 40	3	15	8	25,8	0,3596
	< 40	9	37,5	8	53,3	0,3319
TM-Domäne	< 50	4	9,1	8	17,4	0,2468
	< 50/ > 40	1	5	8	25,8	0,057*
	< 40	3	12,5	0	0	0,1541

Tabelle 38: Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von einer Ein-gefäßerkrankung (EGE) und Mehrgefäßerkrankung (MGE) (* Fisher´s Exact Test: p=0,0585)

4. Diskussion

4.1. Rolle des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin) bei der Adhäsion von Leukozyten an die Gefäßwand

Das Modell der Adhäsionskaskade beschreibt eine Folge von Adhäsionszuständen, welche durch die initiale Bildung von Mediatoren und Aktivierung des Endotheliums in der Nähe des Entzündungsherdes in Gang gesetzt wird (Carlos et al. 1994). Die Selektine vermitteln die Adhäsion von Leukozyten an die Endothelzellen im traumatisierten und entzündeten Gewebe (Tedder et al. 1995). Alle Selektine ermöglichen das Rollen von zirkulierenden Monozyten, Neutrophilen und Lymphozyten entlang von stimuliertem Endothelium (Abbassi et al. 1993, Dore´et al. 1993, Hogg et al. 1995, Ley et al. 1993). Intravitale Mikroskopie konnte klar das Rollen von Neutrophilen entlang der Gefäßwand in postkapillären Venolen nachweisen und dieses Phänomen ist während akuter Entzündungsvorgänge deutlich verstärkt (Dore´ et al. 1993, Lasky 1992, Wegner 1994). Lymphozyten können wahrscheinlich auch ohne die Vermittlung der Selektine über ihre alpha4 Integrine (α4ß7) rollen (Hogg et al. 1995).

Die Adhäsionskaskade mit den drei Phasen "tether/rolling" ("Halten/Rollen"), "trigger/glue" ("Triggerung/Anheften") und "migration" ("Migration") ist in der Abbildung 13 dargestellt.

Das Selektin-vermittelte Rollen erfolgt im Gegensatz zur "glue"-Phase (Interaktion Integrin-Immunglobulin-Superfamilie) ohne Leukozytenaktivierung (Hogg et al. 1995). Rollen findet nur unter den Bedingungen des Blutflusses statt und resultiert aus Scherkräften, die auf den einzelnen Monozyten wirken und Selektin-vermittelten Bindungszuständen (Carlos et al. 1994). Die Monozyten und Neutrophilen rollen mit Geschwindigkeiten, die unter denen von frei fließenden Leukozyten liegen, so daß die juxtakrine Triggerung der Integrinrezeptoren auf den Leukozyten erfolgen kann (McEver et al. 1995).

Nach der Phase des "tether" erfolgt eine weitere Aktivierung des Endotheliums und nun auch der Leukozyten durch Zytokine (Interleukine), Chemokine (Tumornekrosefaktor-α; TNF-α, platelet-activating factor; PAF) und chemotaktische Substanzen (C5a; Bevilacqua et al. 1993, Rinder et al. 1996, Wegner 1994). Die Interaktion zwischen den Integrinen auf der Oberfläche der Monozyten und Neutrophilen und ICAM-1, ICAM-2 und VCAM-1 (Immunglobulin-Superfamilie) auf den Endothelzellen bedingt eine stärkere Adhäsion ("glue") und letztendlich die transendotheliale Migration in den subendothelialen Raum (Bevilacqua 1993, Bevilacqua et al. 1994, Carlos et al. 1994).

Das Phänomen des Rollens konnte bisher in den Arterien noch nicht nachgewiesen werden, möglicherweise ist der Anteil der rollenden Leukozyten kleiner als in der Mikrozirkulation (Carlos et al. 1994).

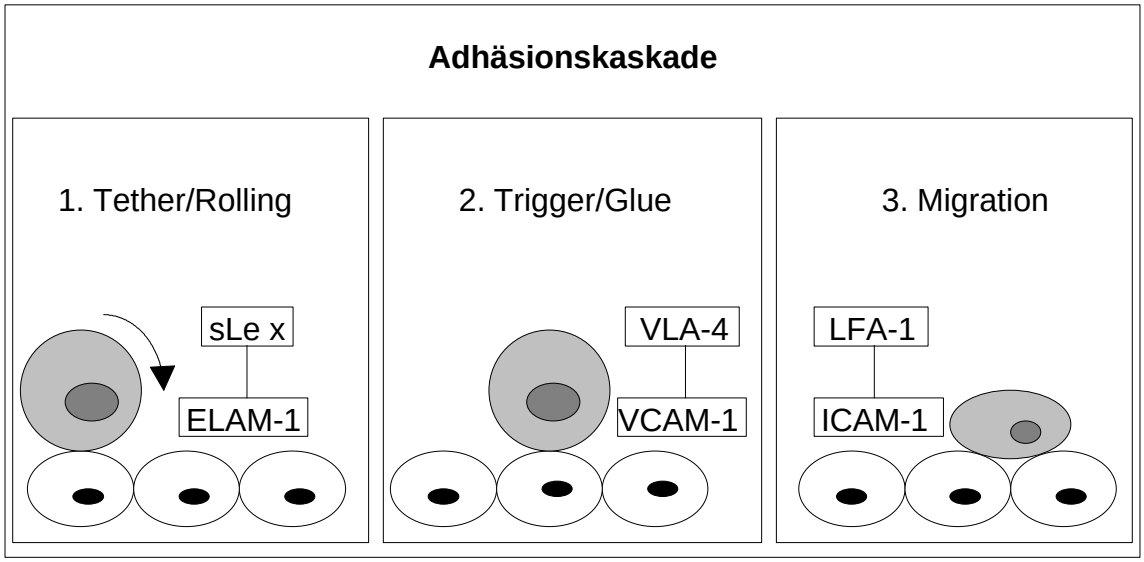


Abbildung 13: Die Adhäsionskaskade mit den drei Phasen "tether/rolling" ("Halten/Rollen"), "trigger/glue" ("Triggerung/Anheften") und "migration" ("Migration"). Die erste Phase ist charakterisiert durch das Rollen der Monozyten bzw. der Neutrophilen auf dem Endothelium, welches die Selektine, wie das ELAM-1 vermitteln. Die 2. Stufe ist die Aktivierung der Monozyten bzw. Neutrophilen durch Chemokine wie C5a, infolgedessen eine stärkere Adhäsion durch die Interaktion von Integrinen (z.B. VLA-4) mit Mitgliedern aus der Immunglobulin-Superfamilie (z.B. VCAM-1) resultiert. Auch in der 3. Phase, der Migration, erfolgt ein Zusammenspiel von Integrinen wie LFA-1 und Vertretern aus der Immunglobulin-Superfamilie wie ICAM-1 (Lasky 1992, Wegner 1994). (ELAM-1=endotheliales leukozytäres Adhäsionsmolekül-1, sLe x=sialyl Lewis x, VLA-4=α4ß1-Integrin, LFA-1=lymphozytäres funktionsassoziiertes Molekül-1, ICAM-1=interzelluläres Adhäsionsmolekül-1, VCAM-1=vaskuläres zelluläres Adhäsionsmolekül-1)

4.2. Rolle vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) bei der Arteriosklerose

Die Adhäsion von Monozyten und Lymphozyten an das Endothelium der großen Arterien ist eines der ersten Ereignisse in der Pathogenese der Arteriosklerose. Die transendotheliale Migration der Monozyten in den subendothelialen Raum, die Akkumulation in der Intima und Entwicklung zu Schaumzellen ("foam cells") und die Synthese von Zytokinen und Wachstumsfaktoren sind entscheidende pathogenetische Faktoren.

Die Endothelzellen nehmen am arteriosklerotischen Prozeß mit der Exprimierung von zellulären Adhäsionsmolekülen (CAM) auf ihrer Zelloberfläche teil (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die Adhäsionskaskade ermöglicht den Monozyten, in die Gefäßwand zu migrieren. Die "klassischen" Familien der Adhäsionskaskade (Selektine, Integrine, Immunglobulin-Superfamilie) wurden bisher teilweise in experimentell induzierten arteriosklerotischen Läsionen von Tieren

und in explantierten Herzen, in resezierten Gewebestücken (nach chirurgischer Rekonstruktion bzw. Resektion) und postmortal nachgewiesen (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Johnson-Tidey et al. 1994, Poston et al. 1992, Printseva et al. 1992, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993).

In hypercholesterinämischen Tiermodellen wurde die VCAM-1-Expression auf arteriellen Endothelzellen über frühen arteriosklerotischen Läsionen (Cybulsky et al. 1991) und auf glatten Muskelzellen (Jang et al. 1994) nachgewiesen. Beim Menschen sind folgende Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie bisher nachgewiesen worden: ICAM-1 (Davies et al. 1993, Johnson-Tidey et al. 1994, Poston et al. 1992, Printseva et al. 1992, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993) und VCAM-1 (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wood et al. 1993).

Die Endothelzellen über arteriosklerotischen Läsionen zeigen eine verstärkte Expression von P-Selektin (Johnson-Tidey et al. 1994). Der Nachweis vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) auf dem Endothelium über arteriosklerotischen Läsionen in menschlichen Koronararterien konnte mehrmals erbracht werden (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993). Dabei fand sich ELAM-1 während aller Stadien einer arteriosklerotischen Läsion und nicht in arteriellen Gefäßgebieten ohne eine zelluläre Infiltration (Gallo 1995, Wal et al. 1992).

Wood konnte ELAM-1 in der Intima aller Koronararteriensegmente nachweisen, möglicherweise ein Ausdruck genereller Aktivierung des Endotheliums (Wood et al. 1992). Neue Gefäße in der Media und Intima von fortgeschrittenen Läsionen zeigten nur in einigen Herden eine ELAM-1-Expression, welche dann mit Makrophagen und T-Lymphozyten vergesellschaftet war. Diese induzieren wahrscheinlich die ELAM-1-Expression durch Bildung von Zytokinen (IL-1, TNF-α, IFN-γ), wobei mRNA für IFN-γ und IL-1 in arteriosklerotischen Läsionen bereits nachgewiesen worden ist (Wood et al. 1993).

4.3. Diskussion der Ergebnisse der vorliegenden Studie

In der vorliegenden Studie wurde nach einem DNA-Polymorphismus im endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1(ELAM-1, E-Selektin)-Gen gesucht, wobei in der epidermal growth factor(EGF)-Domäne (A561C), in der 5´untranslatierten(5´UT)-Region (G98T) und in der Membran(TM)-Domäne (C1839T) Polymorphismen mit Hilfe der Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse gefunden wurden.

Es wurden Patienten mit einer frühzeitigen interventionspflichtigen Koronararteriensklerose untersucht, wobei der A561C-Polymorphismus in der EGF-Domäne und der G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region bei Patienten mit 40 Jahren und jünger (≤40 Jahren) signifikant häufiger auftreten als bei Patienten mit 50 Jahren oder jünger, aber älter als 40 Jahren (≤50/>40 Jahren).

Da die Polymorphismen in der EGF- und TM-Domäne jeweils zu einem Aminosäureaustausch (Ser128Arg bzw. Leu554Phe) führen, könnte das Bindungsverhalten bzw. die Verankerung des Moleküls in der endothelialen Zellmembran alteriert sein. Der 5´UT-Polymorphismus verändert möglicherweise die Regulation der Expression.

Die Assoziationsanalyse zeigte für die Hypertriglyzeridämie und eine positive Familienanamnese eine positive Korrelation mit den EGF- und 5´UT-Polymorphismen. Die Hypertriglyzeridämie als Risikofaktor ist nicht generell akzeptiert (Isselbacher et al. 1995). Die positive Assoziation mit einem Myokardinfarkt bei Geschwistern oder Eltern könnte auf einen pathogenetischen Mechanismus bei familiär gehäufter koronarer Herzkrankheit hinweisen.

4.3.1. DNA-Polymorphismusanalyse vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin)

In den letzten Jahren ist es im Zusammenhang mit den Fortschritten der Molekularbiologie zunehmend möglich geworden, die anerkannten Risikofaktoren auf einen genetischen Hintergrund hin zu untersuchen und die ihnen zugrunde liegenden Genstörungen zu charakterisieren.

Dieser Ansatz hat darüber hinaus zur Identifizierung weiterer Gene geführt, von denen angenommen wird, daß sie zum Teil unabhängig von diesen klassischen Faktoren zu einem erhöhten Arterioskleroserisiko führen (Miserez et al. 1995). Dazu zählen: das angiotensin-converting-enzyme(ACE)-Gen (Arbustini et al. 1995, Cambien et al. 1992, Schunkert et al. 1995), das Angiotensinogen-Gen (Ishigami et al. 1995, Miserez et al. 1995), der ß-Fibrinogen-Locus (Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995), Heterozygotie und Homozygotie für Cystathion-ß-Synthase-Defekte (Fuster et al. 1996, Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995), 6A6A-Polymorphismus des Stromelysin-Promoters (Ye et al. 1995). Prospektive Studien bestätigten diese Ergebnisse teilweise aus epidemiologischer Sicht; bei einzelnen dieser

Risikofaktoren sind diese Daten aber noch widersprüchlich (Miserez et al. 1995).
Eine vollständige inflammatorische Antwort erfordert die Expression und Funktion von zellulären Adhäsionsmolekülen (CAM). Es sind bisher zwei kongenitale Defekte (LAD-1, LAD-2) bei den CAMs bekannt, welche durch wiederkehrende Infektionen charakterisiert sind (Bevilacqua et al. 1994). Leukocyte adhesion deficiency(LAD)-1 bedingt eine verminderte Expression von CD 18, so daß Integrine unvollständig gebildet werden. Leukocyte adhesion defciency (LAD)-2 ist durch verminderte Expression von Sialyl Lewis x (sLe x) auf den Leukozyten charakterisiert, welches die erste Phase der Adhäsionskaskade ("rolling") einschränkt bzw. unmöglich macht (Andrian et al. 1993, Bevilacqua et al. 1994).

Es gibt eine ganze Anzahl von Kandidatengenen auf der Ebene der zellulären Interaktionen, die in den arteriosklerotischen Prozeß involviert sind. Je nach der spezifischen Alteration könnten Veränderungen auf der Ebene der zellulären Interaktionen einen protektiven Effekt haben oder eine Prädisposition zur Entwicklung einer Arteriosklerose induzieren. Veränderungen der zellulären Adhäsionsmoleküle könnten zu einer verstärkten Bindung von Leukozyten oder Thrombozyten an das Endothelium führen und somit die Progression der arteriosklerotischen Läsion bedingen (Lusis et al. 1992).

Das endotheliale leukozytäre Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) wird auf dem Endothelium über arteriosklerotischen Läsionen in Koronararterien exprimiert (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993). Die Expression von ELAM-1 (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993), ICAM-1 (Davies et al. 1993, Johnson-Tidey et al. 1994, Poston et al. 1992, Printseva et al. 1992, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993) und VCAM-1 (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wood et al. 1993) in arteriosklerotischen Läsionen und die lokale Bildung von chemotaktischen Substanzen und Zytokinen (Wood et al. 1993) lassen vermuten, daß zelluläre Adhäsionsmoleküle bei der Rekrutierung der Monozyten zu einer arteriosklerotischen Läsion eine wichtige Rolle spielen (Fuster et al. 1996). Noch konnte allerdings nicht endgültig gezeigt werden, daß das "rolling"-Phänomen, welches in den postkapillären Venolen bewiesen ist (Lasky 1992, Wegner 1994), sich in Arterien ereignet (Fuster et al. 1996). ELAM-1 erkennt u.a. sialyl Lewis x (sLe x, ein Oligosaccharid; Brandley et al. 1990, Cummings et al. 1992, Graves et al. 1994, Springer et al. 1991, Zhou et al. 1991) auf Leukozyten.

Die Lektin- und die EGF-Domäne von ELAM-1 (E-Selektin) sind in die Zelladhäsion involviert (Graves et al. 1994, Kansas et al. 1994, McEver et al. 1995, Tedder et al. 1995). Die in dieser Studie gefundene Mutation in der EGF-Domäne von Adenin zu Cytosin an Position 561 (A561C) resultiert in einem Aminosäureaustausch von Serin zu Arginin an Position 128 (Ser128Arg). Die EGF-Domäne von ELAM-1 ist hinsichtlich der Faltung und der Position der Disulfidbrücken ähnlich anderer EGF-Domänen. Charakteristischerweise sind die Lek-

tin- und die EGF-Domäne nur an den Positionen 135-139 der EGF-Domäne miteinander verbunden. Allerdings scheint sich die relative Anordnung der beiden Domänen kaum zu verändern (Graves et al. 1994, Mills 1993). In experimentellen Untersuchungen konnten bereits an Mutationen in der Lektindomäne Bindungsstudien mit Neutrophilen bzw. mit Sialyl Lewis x (sLe x) durchgeführt werden (Erbe et al. 1992, Graves et al. 1994). Dabei kam es auch zur Erhöhung der Affinität bei einigen Mutationen (Graves et al. 1994). Von der Lektindomäne existiert bereits ein dreidimensionales Modell (Bajorath et al. 1995, Chou 1995). Bisher fehlen noch in vitro-Bindungsstudien der EGF-Domäne, so daß über die Bedeutung des Aminosäureaustausches von Serin zu Arginin an Position 128 (Ser128Arg) in der EGF-Domäne nur spekuliert werden kann.

In der 5´UT-Region wurde ein Guanin zu Thymin Polymorphismus an Position 98 (G98T) gefunden. Da es sich um einen nichttranslatierten Bereich des ELAM-1 Gens handelt, spielen möglicherweise veränderte Regulationsvorgänge eine Rolle. Interessanterweise wurde die A561C-Mutation in der EGF-Domäne nur bei einem Patienten nicht in Zusammenhang mit der G98T-Mutation in der 5´UT-Region gefunden. Innerhalb der Patientengruppe ≤40 Jahre fanden sich die beiden Mutationen immer gemeinsam.

Die in dieser Studie gefundene Mutation von Cytosin zu Thymin an Position 1839 (C1839T) resultiert in einem Aminosäureaustausch von Leucin zu Phenylalanin an Position 554 (Leu554Phe). Die sich anschließenden SCR-Domänen tragen indirekt zur Adhäsion bei, indem sie für die richtige Präsentation und Stabilisierung der Lektin-EGF-Domänen sorgen (Tedder et al. 1995). Ob der TM-Domäne eine ähnliche Stabilisierungsfunktion zukommt, ist unklar. Bei Patienten im septischen Schock lassen sich u.a. lösliche Formen von E-Selektin im Plasma nachweisen (Bevilacqua et al. 1994, Martin et al. 1995, Tedder et al. 1995). Eventuell ist die Position der mutierten TM-Domäne in der Zellmembran verändert. Dies könnte die Verankerung alterieren und eine veränderte Bildung von löslichen E-Selektin bedingen. Möglicherweise kommt dem gestörten Verhältnis von löslichen-/gebundenen E-Selektin eine Rolle bei der Arterioskleroseentstehung zu.

4.3.2. Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter

Der A561C-Polymorphismus in der EGF-Domäne und der G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region traten bei den Patienten ≤40 Jahre signifikant häufiger auf, als bei den Patienten ≤50/>40 Jahre (p-Wert jeweils 0,0393).

Für die C1839T-Mutation in der TM-Domäne trat diese Assoziation nicht auf.

Mit 41,5% treten die beiden ersten Polymorphismen fast doppelt so häufig bei den Patienten ≤40 Jahren auf, im Vergleich zu den Patienten ≤50/>40 Jahre (21,6%).

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region mit einer frühzeitigen interventionspflichtigen Koronararteriosklerose assoziiert sind. Zukünftig sollte die DNA-Polymorphismusanalyse des ELAM-1(E-Selektin)-Gens bei weiteren Patientenaltersgruppen (<30 Jahre, >50 Jahre, >60 Jahre) erfolgen, um die Altersabhängigkeit weiter zu untersuchen.

4.3.3. Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von den Risikofaktoren

Die Untersuchung einer möglichen Assoziation der DNA-Polymorphismen mit den Risikofaktoren für eine koronare Herzkrankheit ergab signifikante Assoziationen sowohl für eine Hypertriglyzeridämie als auch für eine positive Familienanamnese mit der A561C-Mutation in der EGF-Domäne und mit dem G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region.

4.3.3.1. Männliches Geschlecht

Das männliche Geschlecht ist als irreversibler Risikofaktor der Atherosklerose zu betrachten (Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995) und ist einer der stärksten und am besten dokumentierten Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit (Fuster et al. 1996). Allerdings sind die zugrundeliegenden pathogenetischen Mechanismen unklar.

In der vorliegenden Studie war der Anteil der Männer und der Frauen mit den Polymorphismen in der EGF-Domäne und 5´UT-Region annähernd gleich (Männer jeweils: 30,5%, Frauen jeweils 30,0%). Bei den Frauen trat die TM-Mutation überhaupt nicht auf. Der Frauenanteil betrug 10,9% von allen Patienten, welches das Geschlechterverhältnis in der Literatur recht gut widerspiegelt (Männer : Frauen (<60 Jahre) 4:1; Classen et al. 1994, 5:1 Stobbe et al. 1996, 10:1; Framingham-Studie, Fuster et al. 1996).

4.3.3.2. Myokardinfarkt in der Eigenanamnese

Die koronare Herzkrankheit ist heute der zuverlässigste verfügbare Indikator für eine Arteriosklerose (Isselbacher et al. 1995). Praktisch alle Patienten mit einem Myokardinfarkt, definiert durch Änderungen des Elektrokardiogramms und der Enzyme, haben eine koronare Arteriosklerose (Isselbacher et al.1995). In annähernd 95% wird die koronare Herzerkrankung durch arteriosklerotische Gefäßveränderung bedingt (Dieterich et al. 1993).

Insofern ist es nicht weiter erstaunlich, daß 77 Patienten (86,5%) einen Myokardinfarkt hatten. Von den Patienten ≤40 Jahren ohne Myokardinfarkt wurde bei keinem der Patienten ein DNA-Polymorphismus gefunden, wobei sich nur 3 Patienten (8,6%) in dieser Gruppe befanden.

4.3.3.3. Positive Familienanamnese

Die frühzeitige Arteriosklerose scheint oft familiär aufzutreten (Chamberlain et al. 1990, Goldbourt et al. 1994, Isselbacher et al. 1995). Die Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit, besonders die einer frühzeitig auftretenden Erkrankung, ist ein starker unabhängiger Risikofaktor (Fuster et al. 1996). Mit der Untersuchung weiterer Kandidatengene wird sich dieses unerklärbare Risiko dementsprechend vermindern (Fuster et al. 1996).

Genetische Polymorphismen sind innerhalb der zellulären und molekularen Prozesse in arteriosklerotischen Läsionen (Wachstumsfaktoren, Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Enzyme) zu erwarten (Fuster et al. 1996). In dieser Studie konnte ein DNA-Polymorphismus im Bereich der zellulären Adhäsionsmoleküle (CAM) aufgezeigt werden.

Es zeigte sich eine statistisch signifikanter höherer Polymorphismusanteil (A561C-Mutation in der EGF-Domäne und G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region) bei den Patienten ≤50 Jahren (p=0,0441) und ≤40 Jahren (p=0,0344) mit einer positiven Familienanamnese gegenüber denen, ohne einer positiven Familienanamnese.

Zur weiteren Abklärung dieser Assoziation sollten in der Zukunft Familienmitglieder einer Polymorphismusanalyse unterzogen werden.

4.3.3.4. Zigarettenrauchen

Rauchen ist eine der Hauptursachen für die Entstehung der koronaren Herzkrankheit (Study group 1987). Bei 5 Assoziationsanalysen von Risikofaktoren, die in longitudinalen Studien während des Lebens bestimmt wurden, mit arteriosklerotischen Läsionen (nach dem Tod durch Autopsie klassifiziert) konnte in einer Untersuchung die Assoziation mit der Koronararteriensklerose und in allen Untersuchungen die Assoziation mit der Aortensklerose gezeigt werden (Fuster et al. 1996).

Die Wirkung des chronischen Zigarettenrauchens könnte zu einer wiederholten toxischen Schädigung der Endothelzellen führen und dadurch die Arteriosklerose beschleunigen (Isselbacher et al. 1995). Hypoxie stimuliert in humanen Zellkulturen die Proliferation arterieller glatter Muskelzellen. Da Zigarettenrauchen mit hohen Spiegeln von Carboxyhämoglobin und geringerer Sauerstoffabgabe an das Gewebe verbunden ist, könnte auch dieser Mechanismus pathogenetische Bedeutung haben. Außerdem vermindert sich möglicherweise die Abbaufähigkeit der Lysosomen in den glatten Muskelzellen (Isselbacher et al. 1995).

79 Patienten (88,8%) waren Zigarettenraucher in der vorliegenden Studie. Der Anteil der Zigarettenraucher mit den Polymorphismen war höher als der Anteil

der Nichtraucher. Allerdings ergab sich keine statistische Signifikanz und die Gruppe der Nichtraucher war klein (10 Patienten; 11,2%).

4.3.3.5. Hyperlipidämie

Die Hypercholesterinämie ist ein unabhängiger Risikofaktor (Study group 1987) und geht eindeutig mit einer erhöhten Inzidenz an frühzeitiger koronarer Herzkrankheit einher (Isselbacher et al. 1995, Kannel et al. 1971). Die Entwicklung der Arteriosklerose wird ungefähr im quantitativen Verhältnis zum Ausmaß der Hypercholesterinämie beschleunigt (Isselbacher et al. 1995). In der Framingham-Studie zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem Cholesterinspiegel und der Progression der Koronararteriensklerose (post-mortem durch Autopsie bestimmt; Fuster et al. 1996). Chemisch modifizierte (oxidierte) Low-Density Lipoproteine (Oxidierte LDL) und eine wichtige Komponente davon, Lysophosphatidylcholin (Lysolezithin, LPC), bewirken antivasodilatatorische (provasokonstriktorische), proinflammatorische und prothrombotische (antifibrinolytische) Effekte auf Endothelzellen (Just et al. 1994). Oxdierte LDL induzieren die Bildung von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen (ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1), welche Monozyten und T-Lymphozyten binden (Fuster et al. 1996, Ross 1993).

Mit Ausnahme der Patienten ≤50/>40 Jahre mit dem Polymorphismus in der 5´UT-Region und der Patienten ≤40 Jahre mit dem Polymorphismus in der TM-Domäne, hatten die normocholesterinämischen Patienten einen höheren Anteil der DNA-Polymorphismen als diejenigen mit einer Hypercholesterinämie. Es trat aber keine statistische Signifikanz auf.

Obwohl die Hypertriglyzeridämie statistisch mit einer koronaren Herzkrankheit assoziiert worden ist, ist unklar, ob erhöhte Triglyzeridwerte kausal mit der Entwicklung einer Arteriosklerose verbunden sind (Lusis et al. 1992). Eine ganze Anzahl von epidemiologischen Studien konnte in univariaten Analysen eine Assoziation zeigen, die aber bei multivariaten Analysen (multivariate Analysen beziehen andere Risikofaktoren, wie HDL-Cholesterin mit ein) verloren ging (Carlson et al. 1981, Lusis et al.1992). Triglyzeride scheinen ein unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor bei den Frauen und Männern zu sein, die niedrige HDL-Cholesterin Werte (<1,04 mmol/l bzw. <40 mg/dl bzw. <0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl) haben (Assmann et al. 1992, Castelli 1986, Study group 1987).

Bei der Assoziationsanalyse korrelierten die Polymorphismen der EGF-Domäne und der 5´UT-Region mit erhöhten Triglyzeridwerten (Patienten ≤40 Jahre: beide Polymorphismen; p=0,0436, Patienten ≤50 Jahre: Polymorphismus in der 5´UT-Region; p=0,0202).

Ein pathogenetischer Mechanismus bzw. eine Wechselwirkung zwischen dem endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 und einem erhöhten Triglyzeridspiegel sind möglich (Lusis et al. 1992). Wenn die Triglyzeridwerte nur leicht

erhöht sind, sind es oft die kleinen, relativ triglyzeridarmen Lipoproteine (Intermediary Density Lipoproteine; IDL, kleine Very Low Density Lipoproteine; VLDL wie ß-VLDL), die erhöht sind. Diese Partikel können ähnlich wie das Low-Density Lipoprotein (LDL) in die arterielle Intima eindringen (Lusis et al. 1992) und oxidiert werden (Fuster et al. 1996). Ob sie (wie oxidierte LDL) die Expression von Adhäsionsmolekülen induzieren können, ist nicht bekannt. Dies betrifft auch nur leichte Hypertriglyzeridämien, da bei schweren Formen das triglyzeridreiche Chylomikron das Hauptlipoprotein ist. Chylomikronen haben kaum einen arteriellen Influx (Lusis et al. 1992).

4.3.3.6. Niedriges HDL-Cholesterin

Der High-density Lipoprotein(HDL)-Spiegel korreliert invers mit der Entwicklung einer frühzeitigen koronaren Herzkrankheit (Assmann et al. 1992, Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995). In der Framingham-Studie war ein niedriges HDL-Cholesterin ein wichtigerer Lipidrisikofaktor als erhöhte Werte für Gesamtcholesterin oder LDL (Isselbacher et al. 1995, Kannel et al. 1979, Kronmal et al. 1993).

Mechanismen von HDL, den arteriosklerotischen Prozeß zu hemmen sind: Förderung des Cholesterineffluxes aus der arteriosklerotischen Läsion, kompetitive Hemmung der LDL-Cholesterinaufnahme in die Zellen, Hemmung der Aggregation von LDL-Partikeln, Verringerung der Bildung von oxidierten LDL und Verlängerung der Halbwertszeit von Prostazyclin (Kannel et al. 1979, Lusis et al. 1992).

In der Studie zeigte sich für alle drei Polymorphismen ein erhöhter Anteil bei den Patienten mit niedrigen HDL-Spiegeln im Vergleich zu normalen HDL-Cholesterinwerten. Eine statistische Signifikanz ergab sich aber nicht.

4.3.3.7. Diabetes mellitus

Die Prävalenz der koronaren Herzkrankheit ist bei Patienten mit Diabetes mellitus erhöht (Lusis et al. 1992). Ein klinisch manifester Diabetes mellitus ist ein gesicherter unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung einer Koronarsklerose (Classen et al. 1994, Isselbacher et al. 1995, Study group 1987). Möglicherweise beschleunigt die diabetische Stoffwechsellage den arteriosklerotischen Prozeß, als das sie ihn initiiert (Lusis et al. 1992).

Es ist unklar, ob eine Beziehung zwischen dem Grad der Hyperglykämie und dem Risiko einer koronaren Herzkrankheit besteht (Lusis et al. 1992). Eine Hyperglykämie induziert die Akkumulation von Sorbitol in der Arterienwand, welches osmotisch wirkt und zu einer verminderten Oxygenation der Zellen führt. Außerdem stimuliert eine hohe Glukosekonzentration die Proliferation glatter Muskelzellen (Isselbacher et al. 1995). Die Menge an hochglykosylierten Endprodukten (advanced glycosylation end products; AGEs) ist in den Arterien von Diabetikern im Vergleich zu Nichtdiabetikern erhöht (Fuster et al. 1996,

Isselbacher et al. 1995). Diese AGEs haben vielfältige Wirkungen auf den arterio-sklerotischen Prozeß (Festhalten von Lipoproteinen in der Gefäßwand, Modifizierung von Lipoproteinen, Inaktivierung von Stickstoffmonoxid; NO; Fuster et al. 1996).

8 Patienten (9,0%) hatten einen Diabetes mellitus, von denen 3 Patienten die Polymorphismen in der EGF-Domäne und 5´UT-Region hatten und 2 Patienten die Mutation in der TM-Domäne. Eine genauere Untersuchung der Wechselwirkung der DNA-Polymorphismen im ELAM-1-Gen mit dem Risikofaktor Diabetes mellitus würde eine größere Patientenanzahl erfordern. Assoziationen konnten mit den vorliegenden Daten nicht gefunden werden.

4.3.3.8. Adipositas

Die Adipositas führt zu einer Insulinresistenz in peripheren Geweben (vor allem im Muskel- und Fettgewebe), die zu einem kompensatorischen Hyperinsulinismus führt. Infolge des Hyperinsulinismus werden verstärkt triglyzeridreiche Lipoproteine produziert, die zu erhöhten Triglyzerid- und Cholesterinspiegeln im Plasma führen. Möglicherweise besteht eine direkte Wirkung von Insulin auf den Stoffwechsel der Arterienwand, die zu einer verstärkten endogenen Lipidsynthese führt und damit zu einer Arteriosklerose prädisponiert (Isselbacher et al. 1995). Insulin kann die Proliferation glatter Muskelzellen von Arterien stimulieren (Isselbacher et al. 1995).

Die Adipositas besitzt wohl keine unmittelbare atherogene Wirkung (Gross et al. 1996, Stobbe et al. 1996). Sie prädisponiert aber zu einem Diabetes mellitus, einer Hyperlipoproteinämie und einer Hypertonie (Gross et al. 1996). Allerdings hat die Framingham-Studie gezeigt, daß ein 20%iges Übergewicht (dies entspricht dem BMI oberhalb der 85. Perzentile) mit deutlichen Gesundheitsrisiken und mit einem deutlichen Anstieg der Mortalität einhergeht (Hornbostel et al. 1992, Isselbacher et al. 1995).

Die Verteilung der DNA-Polymorphismen bei den Patienten mit einem erhöhten Body-Mass-Index (BMI) und mit einem normalen BMI war annähernd gleichverteilt, so daß keine Assoziation vorliegt.

4.3.3.9. Hypertonie

Ein hoher Blutdruck ist ein wichtiger Risikofaktor für die Atherosklerose (Isselbacher et al. 1995), insbesondere dann, wenn sie schon zu einer linksventrikulären Hypertrophie geführt hat. Bei Hypertonie und Hypertrophie ist nach der Framingham-Studie das Risiko, am Koronartod zu sterben, um den Faktor vier bis acht erhöht (Stobbe et al. 1996).

In mehreren Studien konnte auch eine positive Korrelation zwischen erhöhten Blutdruckwerten und arteriosklerotischen Läsionen (bestimmt postmortem durch Autopsie) gezeigt werden (Fuster et al. 1996). Durch die Erzeugung

einer Verletzung an den Endothelzellen an speziellen Hochdruckgebieten im Arterienbaum kann die Hypertonie die Arteriosklerose direkt verstärken. Zusätzlich verändert sich die Endothelpermeabilität und erhöht sich die Aktivität der lysosomalen Enzyme (Isselbacher et al. 1995). Möglicherweise erhöht sich auch die Proliferationsfähigkeit der glatten Muskelzellen (Isselbacher et al. 1995).

37 Patienten (41,6%) von 89 Patienten hatten eine arterielle Hypertonie. Die Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region waren bei den Patienten mit Hypertonus und ohne Hypertonus annähernd gleichverteilt.

Hinsichtlich der Mutation in der TM-Domäne war der Anteil der Patienten ohne Hypertonus (19,2%) um den Faktor 3,5 höher als derjenige mit Hypertonus (5,4%). Diese positive Tendenz erreichte aber keine statistische Signifikanz und die Zahl der Patienten mit diesem Polymorphismus ist relativ gering (n=12).

4.3.4. Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von der Art der Gefäßerkrankung

Die angiografische Darstellung eines veränderten Gefäßlumens ist der beste Beweis einer Arteriosklerose (Isselbacher et al. 1995). Wenn der arteriosklerotische Prozeß vom Fettstreifen (Typ IIa nach Stary, Fuster et al. 1996, Just et al. 1994) zum exzentrischen lipidgefüllten Plaque (Atherom, Typ IV nach Stary, Fuster et al. 1996, Just et al. 1994) fortschreitet, wird die Einengung des Gefäßlumens durch die Koronarangiographie sichtbar. Mit Ausnahme von Personen mit hohen Cholesterinspiegeln, kann das Atherom bei nur geringer Gefäßeinengung in der Angiographie unsichtbar bleiben (Fuster et al. 1996). Autopsieuntersuchungen und Einsatz vom intravaskulären Ultraschall haben eine mögliche Unterschätzung der Plaquegröße gezeigt (Fuster et al. 1996). Die Koronarangiografie ist aber noch immer der Goldstandart in der Diagnostik der koronaren Herzkrankheit und auch nur die genaue Kenntnis der Koronaranatomie (Lokalisation und Ausmaß der Stenosen) kann über die Notwendigkeit und Art von Revaskularisationsmaßnahmen entscheiden (Classen et al. 1994, Fuster et al. 1992a, Fuster et al. 1996, Gross et al. 1996).

Mit Ausnahme der Patienten ≤40 Jahre mit dem Polymorphismus in der TM-Domäne waren die drei Polymorphismen bei den Patienten mit einer Mehrgefäßerkrankung öfter vorhanden. Es lag aber keine statistische Signifikanz vor. Nur bei den Patienten ≤50/>40 Jahre fand sich eine positive Tendenz ($p=0,057$; Eingefäßerkrankung: 5,0% der Patienten mit dem Polymorphismus in der TM-Domäne, Mehrgefäßerkrankung: 25,8%). Allerdings trat diese Tendenz nur in dieser Altersgruppe auf und es gibt nur insgesamt 9 Mutationen.

4.4. Stellenwert des DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 als unabhängiger Risikofaktor

Der arteriosklerotische Prozeß, der unter normalen Umständen eine protektive Antwort auf Verletzungen des Endotheliums und der glatten Muskelzellen der arteriellen Gefäßwand darstellt, ist durch die Bildung von Atheromen und von komplizierten Läsionen in Begleitung einer Entzündung charakterisiert (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die fortgeschrittenen Läsionen (Typ IV bis Typ VIII nach Stary; Fuster et al. 1996, Just et al. 1994), die von einer exzessiven inflammatorisch-fibroproliferativen Antwort auf verschiedene Arten der Verletzung resultieren, führen zur Lumeneinengung der Arterien und zum klinischen Bild der koronaren Herzkrankheit (Ross 1993).

Verschiedene atherogene Faktoren erhöhen das kardiovaskuläre Risiko, von denen die Fettstoffwechselstörungen, das Zigarettenrauchen und die arterielle Hypertonie die Hauptrisikofaktoren darstellen (Assmann 1990). Alter, Geschlecht und genetische Faktoren sind als irreversible Risikofaktoren zu betrachten (Isselbacher et al. 1995).

Aus den bisherigen Daten zur Genetik wird klar, daß es kein "Arteriosklerose-Gen" gibt. Wahrscheinlich sind eine Vielzahl von Genen an dem Prozeß der Arteriosklerose beteiligt und bestimmen die individuelle genetische Disposition (Schunkert et al. 1995). Die zur Verfügung stehenden molekularbiologischen Methoden erlauben heutzutage den genetischen Hintergrund zahlreicher Störungen, die zu einer beschleunigten Arterioskleroseentstehung führen, zu erfassen (Miserez et al. 1995). Neben den am Lipoproteinstoffwechsel beteiligten Genen wurde für einige andere Genorte eine Assoziation zum Arterioskleroserisiko gefunden (Schunkert et al. 1995). Von besonderem Interesse sind Fibrinogen (Fuster et al. 1996, Humphries et al. 1995, Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995) die Enzyme des Homocysteinstoffwechsels (Fuster et al. 1996, Miserez et al. 1995, Schunkert et al. 1995) und das Angiotensin-Konversionsenzym (ACE; Arbustini et al. 1995, Cambien et al. 1992, Schunkert et al. 1995).

In der Pathogenese der Arteriosklerose spielen Interaktionen zwischen Zellen der Gefäßwand und Leukozyten und Thrombozyten eine wichtige Rolle im arteriosklerotischen Prozeß (Ross 1993). Die Adhäsion an das Endothel der Koronararterien und die nachfolgende Migration der Monozyten steht am Anfang der arteriosklerotischen Läsion (Fuster et al. 1996, Lusis et al. 1992, Ross 1993). Dabei nimmt das vaskuläre Endothel eine zentrale Position ein (Stobbe et al. 1996). Zelluläre Adhäsionsmoleküle (CAM) aus der Familie der Selektine (E-Selektin, P-Selektin) und der Immunglobulin-Superfamilie (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1) werden auf dem Endothelium exprimiert und vermitteln mit Hilfe der Integrine (LFA-1, Mac-1, p150,95) und L-Selektin die Adhäsion der Monozyten und T-Lymphozyten (Lusis et al. 1992, Wegner 1994). Genetische Alterationen der zellulären Adhäsionsmoleküle könnten theoretisch zu einer verminderten

oder verstärkten Adhäsion der Leukozyten führen (Lusis et al. 1992). Die Selektin-Familie vermittelt die Phase des "tether" bzw. "rolling" ("Halten" bzw. "Rollen") der Adhäsionskaskade, bevor die eigentliche Adhäsion und Migration der Leukozyten in den subendothelialen Raum stattfindet (Tedder et al. 1995).

Das endotheliale leukozytäre Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin; Bevilacqua et al. 1989, Collins et al. 1991) wird zeitlich begrenzt synthetisiert und auf zytokinaktivierten (Interleukin-1; IL-1 und Tumornekrosefaktor-α; TNF-α) Endothelzellen exprimiert (Bevilacqua 1993, Bevilacqua et al. 1993, McEver et al. 1995). E-Selektin-defiziente Mäuse zeigen Abnormitäten beim Rollen der Leukozyten entlang der Gefäßwand (McEver et al. 1995). Alle Selektine vermitteln das Rollen der Leukozyten in den postkapillären Venolen der Mikrozirkulation, um im Rahmen des inflammatorischen Prozesses das Blutgefäßsystem zu verlassen und in das Gewebe einzudringen (Abbassi et al. 1993, Dore´ et al. 1993, Lefer et al. 1994, Ley et al. 1993, Wegner 1994). Obwohl das Phänomen des Rollens in Venen oder Arterien noch nicht nachgewiesen werden konnte (Fuster et al. 1996), ist jedoch der Nachweis vom endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) auf dem Endothelium über arteriosklerotischen Läsionen in menschlichen Koronararterien mehrmals erbracht worden (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993).

Die Analyse der menschlichen DNA der Patienten (≤50 Jahren) mit interventionspflichtigen Koronararterienstenosen hinsichtlich etwaigen Polymorphismen im ELAM-1(E-Selektin)-Gen erfolgte durch die Polymerasekettenreaktion (PCR), die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse und durch direkte Sequenzierung der PCR-Produkte.

Zwei der gefundenen Polymorphismen (A561C bzw. C1839T) resultieren in einem Aminosäureaustausch (Ser128Arg bzw. Leu554Phe) und der dritte Polymorphismus (G98T) liegt in der 5´untranslatierten(5´UT)-Region.

Der A561C-Polymorphismus in der epidermal growth factor(EGF)-Domäne könnte aufgrund der Funktion der EGF-Domäne bei der Bindung der Leukozyten eine veränderte Affinität bedingen. ELAM-1 (E-Selektin) erkennt u.a. sialyl Lewis x (sLe x; Cummings et al. 1992, Graves et al. 1994, Munro et al. 1992, Phillips et al. 1990, Springer et al. 1991, Zhou et al. 1991) auf Leukozyten. Die Lektin- und die EGF-Domäne von ELAM-1 (E-Selektin) sind in die Zelladhäsion involviert (Graves et al. 1994, Kansas et al. 1994, McEver et al. 1995,Tedder et al. 1995). Verlust der EGF-Domäne bedingt eine deutliche Verschlechterung des Bindungsvermögens (Lasky 1992, McEver et al. 1995).

Der G98T-Polymorphismus in der 5´UT-Region könnte regulatorische Funktionen alterieren.

Der C1839T-Polymorphismus in der transmembrane(Membran)-Domäne könnte Einfluß auf die Verankerung der extrazellulären Domänen des Moleküls

(Lektin-, EGF-, SCR-Domänen) in der Zellmembran der Endothelzelle haben. Möglicherweise verändert die Mutation in der TM-Domäne die Bildung von löslichen E-Selektin. Die Synthese erfolgt durch proteolytische Spaltung oder durch lösliche Proteine, die durch alternatives Splicing der mRNA kodiert werden (McEver et al. 1995).

Durch die Assoziationsanalyse der DNA-Polymorphismen mit zwei verschiedenen Altersgruppen von Patienten konnte gezeigt werden, daß die Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region bei den Patienten ≤40 Jahren statistisch signifikant häufiger auftreten als bei den Patienten ≤50/>40 Jahre. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region mit einer frühzeitigen interventionspflichtigen Koronararteriosklerose assoziiert sind. Zukünftig sollte die DNA-Polymorphis-musanalyse des ELAM-1(E-Selektin)-Gens bei weiteren Patientenaltersgruppen (<30 Jahre, >50 Jahre, >60 Jahre) erfolgen, um die Altersabhängigkeit weiter zu untersuchen.

Assoziationsanalysen mit den Risikofaktoren männliches Geschlecht, Eigenanamnese einer koronaren Herzkrankheit, Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit (bei Eltern oder Geschwistern), Zigarettenrauchen, Hyperlipidämie, niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl), Diabetes mellitus, Adipositas und arterielle Hypertonie wurden durchgeführt, um den DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 (ELAM-1, E-Selektin) als einen von anderen Risikofaktoren unabhängigen genetischen Faktor der Koronararteriensklerose zu etablieren. Die Assoziationsanalysen zeigten positive Korrelationen für die Hypertriglyzeridämie und eine positive Familienanamnese.

In Zukunft sollten DNA-Polymorphismusanalysen des ELAM-1-Gens von Familienangehörigen der Patienten erfolgen, die eine positive Familienanamnese haben. Auch sollte insbesondere die positive Assoziation mit einer Hypertriglyzeridämie nochmals untersucht werden, da sich die empfohlene Aufschiebung der Triglyzeridbestimmung um 3 Monate nach schweren Erkrankungen wie Myokardinfarkt organisatorisch im Rahmen dieser Studie nicht verwirklichen ließ (Study group 1988). Auch die beträchtliche intraindividuelle Variabilität von ungefähr 28% für Triglyzeride (Marcovina et al. 1994) ist ein wichtiger zu berücksichtigender Faktor.

Von allen anderen untersuchten Risikofaktoren ist der DNA-Polymorphismus unabhängig.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Studie wurde zwischen September 1992 und Dezember 1995 an der medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin, Charite´ durchgeführt. Diese Studie war Teil eines BMFT(Bundesministerium für Forschung und Technologie)-Projektes, welches Zusammenhänge zwischen gestörter Herz- und Gefäßfunktion untersuchte und an der I. Medizinischen Klinik stattfand. Insgesamt wurden 92 Patienten mit 50 Jahren oder jünger mit einer interventionspflichtigen Koronararteriensklerose auf einen möglichen DNA-Polymorphismus im endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) untersucht.

Die koronare Herzkrankheit ist die Manifestation der Arteriosklerose an den Koronararterien (Gross et al. 1996). Die Entwicklung der arteriosklerotischen Läsionen ist durch alle zellulären Komponenten einer inflammatorisch-fibroproliferativen Antwort auf eine Schädigung charakterisiert (Fuster et al. 1996, Ross 1993). Die Adhäsion von Monozyten an das Endothelium ist eines der ersten Veränderungen, die in arteriosklerotischen Läsionen auftreten (Fuster et al. 1996, Lusis et al. 1992, Ross 1993). Das endotheliale leukozytäre Adhäsionsmolekül-1 (ELAM-1, E-Selektin) und die anderen beiden Selektine (P-Selektin, L-Selektin) vermitteln die Phase des "tether" bzw. "rolling" ("Halten" bzw. "Rollen") der Adhäsionskaskade, bevor die eigentliche Adhäsion und Migration der Leukozyten in den subendothelialen Raum stattfindet (Tedder et al. 1995). Der Nachweis vom ELAM-1 auf dem Endothelium über arteriosklerotischen Läsionen in menschlichen Koronararterien konnte mehrmals erbracht werden (Davies et al. 1993, Gallo 1995, Wal et al. 1992, Wood et al. 1993).

Die Analyse der menschlichen DNA der Patienten erfolgte durch die Polymerasekettenreaktion (PCR), die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus (SSCP)-Analyse und durch direkte Sequenzierung der PCR-Produkte. Assoziationsanalysen erfolgten mit folgenden Risikofaktoren: männliches Geschlecht, Myokardinfarkt in der Eigenanamnese, Familienanamnese einer koronaren Herzkrankheit (bei Eltern oder Geschwistern), Zigarettenrauchen, Hyperlipidämie (Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie), niedriges HDL-Cholesterin (<0,9 mmol/l bzw. <35 mg/dl), Diabetes mellitus, Adipositas und arterielle Hypertonie. Folgende Feststellungen können getroffen werden:

1. Im ELAM-1-Gen sind drei DNA-Polymorphismen gefunden worden. In der 5´untranslatierten Region (5´UT) wurde ein Guanin zu Thymin Polymorphismus (G98T) entdeckt. Zwei Polymorphismen aus den anderen Domänen bzw. Bereichen führten zu einem entsprechenden Aminosäureaustausch: Ein Adenin zu Cytosin und ein Cytosin zu Thymin Polymorphismus in der Epidermalen Wachstumsfaktor(EGF)-Domäne bzw. in der Membran(TM)-Domäne. Die DNA-Mutation von Adenin zu Cytosin an Position 561 (A561C) in der EGF-Domäne resultierte in einem Aminosäureaustausch von Serin zu

Arginin an Position 128 (Ser128Arg). In der TM-Domäne führte die DNA-Mutation von Cytosin zu Thymin an Position 1839 (C1839T) zu einem Aminosäureaustausch von Leucin zu Phenylalanin an Position 554 (Leu554Phe).

Über die möglichen strukturellen und/oder funktionellen Folgen der DNA-Polymorphismen kann nur spekuliert werden. Der Polymorphismus in der 5´UT-Region könnte regulatorische Funktionen alterieren. Eine veränderte Affinität bei der Bindung von Leukozyten bedingt möglicherweise der A561C-Polymorphismus in der EGF-Domäne. Der C1839T-Polymorphismus in der transmembrane(Membran)-Domäne könnte Einfluß auf die Verankerung der extrazellulären Domänen des Moleküls (Lektin-, EGF-, SCR-Domänen) in der Zellmembran der Endothelzelle haben.

2. Beim Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der gefundenen Polymorphismen in Abhängigkeit vom Alter (Vergleich der beiden Altersgruppen ≤50/>40 Jahre und ≤40 Jahre) ließ sich ein statistisch signifikanter (p=0,0393) Anstieg der Häufigkeit der Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region bei den Patienten ≤40 Jahre nachweisen. Bei allen Patienten (n=92) wurden die G98T- und die A561C-Polymorphismen jeweils bei 28 Patienten beobachtet. In der TM-Domäne konnte eine Signifikanz nicht gezeigt werden (p=0,4808). 12 Patienten wiesen diesen Polymorphismus auf.

   Die Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region sind mit einer frühzeitigen interventionspflichtigen Koronararteriosklerose assoziiert. Zukünftig sollte die DNA-Polymorphismusanalyse des ELAM-1(E-Selektin)-Gens bei weiteren Patientenaltersgruppen (<30 Jahre, >50 Jahre, >60 Jahre) erfolgen, um die Altersabhängigkeit weiter zu untersuchen.

3. Der Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des Auftretens der Polymorphismen in Abhängigkeit von den Risikofaktoren ergab für die Hypertriglyzeridämie und für die positive Familienanamnese eine statistisch signifikante Assoziation mit der A561C-Mutation in der EGF-Domäne und mit der G98T-Mutation in der 5´UT-Region.

   Die Polymorphismen des ELAM-1-Gens sind von den "klassischen" Risikofaktoren (Zigarettenrauchen, Hypercholesterinämie, Hypertonie, Diabetes mellitus, männliches Geschlecht) unabhängig. In Zukunft sollten DNA-Polymorphismusanalysen des ELAM-1-Gens von Familienangehörigen der Patienten erfolgen, die eine positive Familienanamnese haben. Auch sollte insbesondere die positive Assoziation mit einer Hypertriglyzeridämie nochmals untersucht werden.

4. Die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Ausmaß der Koronararterienstenosen erfolgte durch Vergleich von Ein- und Mehr(2- und

3-)-Gefäßerkrankungen. Es zeigte sich keine statistisch signifikante Assoziation mit den DNA-Polymorphismen.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Polymorphismen in der EGF-Domäne und in der 5´UT-Region mit einer frühzeitigen interventionspflichtigen Koronararteriensklerose unabhängig von den "klassischen" Risikofaktoren (Zigarettenrauchen, Hypercholesterinämie, Hypertonie, Diabetes mellitus, männliches Geschlecht) assoziiert sind. Eine positive Assoziation besteht zu einer positiven Familienanamnese und einer Hypertriglyzeridämie.

6. Literaturverzeichnis

1. Abbassi O., Kishimoto T. K., McIntire L. V., Anderson D. C., Smith C. W.: E-Selectin supports neutrophil rolling in vitro under conditions of flow. Journal of Clinical Investigation, 92 (1993): 2719-2730

2. Andrian U. H. von, Berger E. M., Ramezani L., Chambers J. D., Ochs H. D., Harlan J. M., Paulson J. C., Etzioni A., Arfors K. E.: In vivo behavior of neutrophils from two patients with distinct inherited leukocyte adhesion deficiency syndromes. Journal of Clinical Investigation, 91 (1993): 2893-2897

3. Arbustini E., Grasso M., Fasani R., Klersy C., Diegoli M., Porcu E., Banchieri N., Fortina P., Danesino C., Specchia G.: Angiotensin converting enzyme gene deletion allele is independently and strongly associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction. British Heart Journal, 74 (1995): 584-591

4. Assmann G.: Nationale Cholesterin-Initiative. Deutsches Ärzteblatt, 87 (1990): B-991-1010

5. Assmann G., Schulte H.: Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the Procam experience). The American Journal of Cardiology, 70 (1992): 733-737

6. Bajorath J., Aruffo A.: A template for generation and comparison of three-dimensional selectin models. Biochemical and Biophysical Research Communications, 216, 3 (1995): 1018-1023

7. Bauernfeind A., Shah P. M.: Lexikon der Mikrobiologie und der Infektiologie. Hrsg. von A. Bauernfeind und P. M. Shah. 2., vollkommen neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart, New York: Schattauer, 1995: 262-263

8. Benditt E. P., Benditt J. M.: Evidence for the monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., 70 (1973): 1753-1756

9. Berg K.: Molecular genetics and genetic epidemiology of cardiovascular diseases and diabetes. Introductory remarks: risk factor levels and variability. Annals of Medicine, 24, 5 (1992): 343-347

10. Bevilacqua M. P.: Endothelial-leukocyte adhesion molecules. Annual Review of Immunology, 11 (1993): 767-804

11. Bevilacqua M. P., Stengelin S., Gimbrone M. A., Jr., Seed B.: Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and selectins. Science, 243 (1989): 1160-1165

12. Bevilacqua M. P., Nelson R. M.: Selectins. Journal of Clinical Investigation, 91, 2 (1993): 379-387

13. Bevilacqua M. P., Nelson R. M., Mannori G., Cecconi O.: Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. Annual Review of Medicine, 45 (1994): 361-378

14. Boehringer Mannheim: Chol, Tg, Glu. Boehring Mannheim, 8 (1991)

15. Boerwinkle E., Visvikis S., Welsh D., Steinmetz J., Hanash S. M., Sing C. F.: The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. II. The role of the apolipoprotein E polymorphism in determining levels, varability, and covariability of cholesterol, betalipoprotein, and triglycerides in a sample of unrelated individuals. American Journal of Medical Genetics, 27 (1987): 567-582

16. Boettiger L. E., Carlson L. A.: Risk factors for death for males and females. A study of the death pattern in the Stockholm prospective study. Acta Medica Scandinavica, 211 (1982): 437-442

17. Brandley B., Swiedler S., Robbins P.: Carbohydrate ligands for the cell adhesion molecules. Cell, 63 (1990): 861-863

18. Breslow J. L.: Apolipoprotein genes and atherosclerosis. Clinical Investigator, 70, 5 (1992): 377-384

19. Cambien F., Poirier O., Lecerf L., Evans A., Cambou J.-P., Arveiler D., Luc G., Bard J.-M., Bara L., Richard S., Tiret L., Amouyel P., Alhenc-Gelas F., Soubrier F.: Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. Nature, 359 (1992): 641-644

20. Carlos T. M., Harlan J. M.: Leukocyte-endothelial adhesion molecules. Blood, 84, 7 (1994): 2068-2101

21. Carlson L. A., Boettiger L. E.: Serum triglycerides, to be or not be a risk factor for ischaemic heart disease? Atherosclerosis, 39 (1981): 287-291

22. Castelli W. P.: The triglyceride issue: A view from Framingham. American Heart Journal, 112 (1986): 432-437
23. Chamberlain J. C., Galton D. J.: Genetic susceptibility to atherosclerosis. British Medical Bulletin, 46, 4 (1990): 917-940

24. Chou K. C.: The convergence-divergence duality in lectin domains of selectin family and its implications. Febs Letters, 363 (1995): 123-126

25. Classen M., Diehl V., Kochsieck K.: Innere Medizin. Hrsg. von M. Classen, V. Diehl, K. Kochsiek. 3., neubearbeitete Auflage. München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg, 1994: 1021-1025, 1084-1095, 1186-1187

26. Collins T., Williams A., Johnston G. I., Kim J., Eddy R., Shows T., Gimbrone M. A., Jr., Bevilacqua M. P.: Structure and chromosomal location of the gene for endothelial-leukocyte adhesion molecule 1. Journal of Biological Chemistry, 266, 4 (1991): 2466-2473

27. Cummings R. D., Smith D. F.: The selectin family of carbohydrate-binding proteins: structure and importance of carbohydrate ligands for cell adhesion. BioEssays, 14 (1992): 849-856

28. Cybulsky M. I., Gimbrone M. A., Jr.: Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. Science, 251 (1991): 788-791

29. Davies K. E., Ball S. P., Dorkins H. R., Forrest S. M., Kenwrick S. J., King A. W., Lavenir I. J. D., McGlade S. A., Patterson M. N., Smith T. J., Wilson L., Paulsen K., Speer A., Coutelle C.: Human X chromosome markers and Dychenne muscular dystrophy. Nucleic Acid Research, 13 (1985): 3419-3426

30. Davies M. J., Gordon J. L., Gearing A. J., Pigott R., Woolf N., Katz D., Kyriakopoulos A.: The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. Journal of Pathology, 171 (1993): 223-229

31. Day A. J.: The C-type carbohydrate recognition domain (CRD) superfamily. Biochemical Society Transactions, 22 (1994): 83-88

32. Dieterich H. A., Mörl H.: Koronare Herzkrankheit. Grundlagen, Diagnostik, Therapie und Rehabilitation für Ärzte in Praxis und Klinik. Hrsg. von H. A. Dieterich, H. Mörl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1993: 30-35

33. Dietz H. C., Pyeritz R. E.: Molecular genetic approaches to the study of human cardiovascular disease. Annual Review of Physiology, 56 (1994): 763-796
34. Dore´ M., Korthuis R. J., Granger D. N., Entman M. L., Smith C. W.: P-Selectin mediates spontaneous leukocyte rolling in vivo. Blood, 82 (1993): 1308-1316

35. Eckardstein A. von, Funke H., Walter M., Altland K., Benninghoven A., Assmann G.: Structural analysis of human apolipoprotein A-I variants. The Journal of Biological Chemistry, 265 (1990): 8610-8617

36. Eckardstein A. von, Heinrich J., Funke H., Schulte H., Schoenfeld R., Koehler E., Steinmetz A., Assmann G.: Glutamine/ histidine polymorphism in apo A-IV affects plasma concentrations of lipoprotein(a) and fibrin split products in coronary heart disease patients. Arteriosclerosis and Thrombosis, 13 (1993): 240-246

37. Erbe D. V., Wolitzky B. A., Presta L. G., Norton C. R., Ramos R. J., Burns D. K., Rumberger J. M., Narasinga R B. N., Foxall C., Brandley B. K., Lasky L. A.: Identification of an E-selectin region critical for carbohydrate recognition and cell adhesion. The Journal of Cell Biology, 119 (1992): 215-227

38. Eto M., Watanabe K., Makino I.: Increased frequencies of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischaemic heart disease. Clinical Genetics, 36 (1989): 183-188

39. Friedman J. M., Dill F. J., Hayden M. R. et al.: Genetics. 2. Auflage. Baltimore , Philadelphia, London u. a.: Williams & Wilkins, 1996: 91-96

40. Froese S., Shephard E., Adams S., Robson S., Kirsch R.: Integrins, selectins and CAMs-the ´glue of life`. South African Medical Journal, 84, 11 (1994): 759-764

41. Fuster V., Badimon L., Badimon J. J., Chesebro J. H.: The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (first of two parts). The New England Journal of Medicine, 326 (1992a): 242-250

42. Fuster V., Badimon L., Badimon J. J., Chesebro J. H.: The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (second of two parts). The New England Journal of Medicine, 326 (1992b): 310-318

43. Fuster V., Ross R., Topol E. J.: Atherosclerosis and coronary artery disease. Hrsg. von V. Fuster, R. Ross, E. J. Topol. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publishers, 1996: 1-21, 25-41, 129-149, 387-399, 401-420, 421-460, 463-474, 511-537, 539-555, 585-594, 701-714, 1433-1450

44. Gallo L. L.: Cardiovascular disease 2. Cellular and molecular mechanisms, prevention, and treatment. Hrsg. von L. L. Gallo. New York, London: Plenum Press, 1995: 31-43, 105-107, 121-127, 154-157, 159-172, 299-306, 313-315
45. Gassen H. G., Minol K.: Gentechnik. Einführung in Prinzipien und Methoden. Hrsg. von H. G. Gassen und K. Minol. 4., neubearbeitete Auflage. Stuttgart, Jena: Gustav Fischer Verlag, 1996: 330-340

46. Girndt J.: Herz- und Kreislaufkrankheiten durch Arteriosklerose. Ursachen, Erscheinungsformen und Behandlungsmöglichkeiten. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1994: 13-19, 20, 104-109

47. Goldbourt U., Neufeld H. N.: Genetic aspects of arteriosclerosis. Arteriosclerosis, 6, 4 (1986): 357-377

48. Goldbourt U., Faire U. de, Berg K.: Genetic factors in coronary heart disease. Hrsg. von U. Goldbourt, U. de Faire, K. Berg. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 1994: 3-20, 179-187, 301-308, 331-349, 385-396

49. Graves B. J., Crowther R. L., Chandran C., Rumberger J. M., Li S., Huang K.-S., Presky D. H., Familleti P. C., Wolitzky B. A., Burns D. K.: Insight into E-selectin/ ligand interaction from the crystal structure and mutagenesis of the lec/ EGF domains. Nature, 367 (1994): 532-538

50. Gross R., Schölmerich P., Gerok W.: Die Innere Medizin. Hrsg. von R. Gross, P. Schölmerich, W. Gerok. 9., neubearbeitete Auflage. Stuttgart, New York: Schattauer, 1996: 13-19, 28, 205-229, 323-324, 367-368

51. Hecht A., Lunzenauer K.: Allgemeine Pathologie. Eine Einführung für Studenten. Hrsg. von A. Hecht, K. Lunzenauer. 5. Auflage. Berlin: Verlag Volk und Gesundheit, 1988: 143-145

52. Hegele R. A.: Gene-environment interactions in atherosclerosis. Molecular and Cellular Biochemistry, 113 (1992): 177-186

53. Hogg N., Landis R. C.: Adhesion molecules in cell interactions. Current Opinion in Immunology, 5 (1993): 383-390

54. Hogg N., Berlin C.: Structure and function of adhesion receptors in leukocyte trafficking. Immunology Today, 16, 7 (1995): 327-330

55. Hornbostel H., Kaufmann W., Siegenthaler W. et al.: Innere Medizin in Praxis und Klinik. Hrsg. von H. Hornbostel, W. Kaufmann, W. Siegenthaler. 4. Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 1992: 1.394, 1.50, 2.2, 2.7-2.9, 16.4

56. Humphries S. E., Ye S., Talmud P., Bara L., Wilhelmsen L., Tiret L.: European atherosclerosis research study - genotype at the fibrinogen locus (G(-455)-A beta-gene) is associated with differences in plasma-fibrinogen levels in young men and women from different regions in Europe - evidence for gender genotype environment interaction. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 15 (1995): 96-104

57. Ishigami T., Umemura S., Iwamoto T., Tamura K., Hibi K., Yamaguchi S., Nyuui N., Kimura K., Miyazaki N., Ishii M.: Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis. Circulation, 91 (1995): 951-954

58. Isselbacher K. J., Schmailzl K. J. G.: Harrisons Innere Medizin. Hrsg. von Kurt J. G. Schmailzl. Deutsche Ausgabe der 13. Auflage. Berlin, Wien u.a.: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1995: Band 1, 528-536, 1124-1129, 1269, 1297-1326, 2851

59. Jang Y., Lincoff A. M., Plow E. F., Topol E. J.: Cell adhesion molecules in coronary artery disease. Journal of the American College of Cardiology, 24, 7 (1994): 1591-1601

60. Jaross W., Bergmann S., Hanefeld M. et al.: Advances in lipoprotein and atherosclerosis research, diagnostics and treatment. Proceedings of the 8th International Dresden Lipid Symposium held at Dresden, June 10-12, 1994. Hrsg. von W. Jaross, S. Bergmann, M. Hanefeld et al.. Jena, Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag, 1995: 11-17, 52-56, 125-130, 197-202, 209-213

61. Johnson-Tidey R. R., McGregor J. L., Taylor P. R., Poston R. N.: Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. Coexpression with intercellular adhesion molecule-1. American Journal of Pathology, 144, 5 (1994): 952-961

62. Johnston G. I., Bliss G. A., Newman P. J., McEver R. P.: Structure of human gene encoding granule membrane protein-140, a member of the selectin family of adhesion receptors for leukocytes. The journal of Biological Chemistry, 265 (1990): 21381-21385

63. Jorde L. B., Carey J. C., White R. L.: Medical genetics. St. Louis, Baltimore, Berlin u.a.: Mosby, 1995: 50-52

64. Just H., Hort W., Zeiher A. M.: Arteriosclerosis. New insights into pathogenetic mechanisms and prevention. Hrsg. von H. Just, W. Hort, M. Zeiher. Darmstadt: Steinkopff Verlag, New York: Springer-Verlag, 1994: 1-32, 41-128 (Supplement to Basic research in cardiology; Vol. 89, Suppl. 1)

65. Kang S. S., Wong P. W., Susmano A., Sora J., Norusis M., Ruggie N.: Thermolabile methylentetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. American Journal of Human Genetics, 48 (1991): 536-545

66. Kannel W. B., Castelli W. P., Gordon T., McNamara P. M.: Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. Annals of Internal Medicine, 74 (1971): 1-12

67. Kannel W. B., Castelli W. P., Gordon T.: Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. Annals of Internal Medicine, 90 (1979): 85-91

68. Kansas G. S., Saunders K. B., Ley K., Zakrzewicz A., Gibson R. M., Furie B. C., Furie B., Tedder T. F.: A role for the epidermal growth factor-like domain of P-selectin in ligand recognition and cell adhesion. The Journal of Cell Biology, 124 (1994): 609-618

69. Karathanasis S. K., Norum R. A., Zannis V. I., Breslow J. L.: An inherited polymorphism in the human apolipoprotein A-I gene locus related to the development of atherosclerosis. Nature, 301 (1983): 718-720

70. Kronmal R. A., Cain K. C., Ye Z., Omenn G. S.: Total serum cholesterol levels and mortality risk as a function of age. A report based on the Framingham data. Archives of Internal Medicine, 153 (1993): 1065-1073

71. Kumar P., Clark M.: Clinical Medicine. 3. Auflage. London: Bailliere Tindall, 1994: 577-599

72. Laffon A., Gonzalez-Amaro R.: Cell adhesion molecules: An overview. British Journal of Rheumatology, 34 (1995): 1101-1102

73. Lasky L. A.: Selectins: Interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. Science, 258 (1992): 964-969

74. Lefer A. M., Weyrich A. S., Buerke M.: Role of selectins, a new family of adhesion molecules, in ischaemia-reperfusion injury. Cardiovascular Research, 28 (1994): 289-294

75. Lenk U., Hanke R., Grade K., Grunewald I., Speer A.: Non isotopic analysis of single strand conformation polymorphism (SSCP) in the exon 13 region of the human dystrophin gene. Journal of Medical Genetics, 30 (1993): 951-954

76. Leonhardt H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. 8., überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 1990: 220-226

77. Ley K., Tedder T. F., Kansas G. S.: LeSelectin can mediate leukocyte rolling in untreated mesenteric venules in vivo independent of E- or P-Selectin. Blood, 82 (1993): 1632-1638

78. Lusis A. J., Rotter J. I., Sparkes R. S.: Molecular genetics of coronary artery disease. Candidate genes and processes in atherosclerosis. Hrsg. von A. J. Lusis, J. I. Rotter, R. S. Sparkes. (Monographs in human genetics; Vol. 14) Basel, Freiburg, Paris u.a.: Karger, 1992: 1-61, 160-171, 183-184, 197-204, 274-287, 363-376, 385-390

79. Mandrup-Poulsen T., Owerbach D., Mortensen S. A., Johansen K., Meinertz H., Sorensen H., Nerup J.: DNA sequences flanking the insulin gene on chromosome 11 confer risk of atherosclerosis. The Lancet, 1 (1984): 250-252

80. Mandrup-Poulsen T., Owerbach D., Nerup J., Johansen K., Tybjaerg H. A.: Diabetes mellitus, atherosclerosis, and the 5´ flanking polymorphism of the human insulin gene. Journal of Inherited Metabolic Disease, 9, Suppl. 1 (1986): 98-110

81. Marcovina S. M., Gaur V. P., Albers J.J.: Biological variability of cholesterol, triglyceride, low- and high-density lipoprotein cholesterol, lipoprotein(a), and apolipoproteins A-I and B. Clinical Chemistry, 40, 4 (1994): 574-578

82. Martin S., Kolb H.: Adhäsionsmoleküle. Neue Perspektiven für Therapie und Diagnostik. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 19 (1995): 705

83. Mattu R. K., Needham E. W. A., Morgan R., Rees A., Hackshaw A. K., Stocks J., Elwood P. C., Galton D J.: DNA variants at the LPL gene locus associate with angiographically defined severity of atherosclerosis and serum-lipoprotein levels in a welsh population. Arteriosclerosis and Thrombosis, 14 (1994): 1090-1097

84. McEver R. P.: Leukocyte-endothelial cell interactions. Current Opinion in Cell Biology, 4 (1992): 840-849

85. McEver R. P., Moore K. L., Cummings R. D.: Leukocyte trafficking mediated by selectin-carbohydrate interactions. Journal of Biological Chemistry, 270 (1995): 11025-11028

86. Mills A.: Modelling the carbohydrate recognition domain of human E-selectin. Febs Letters, 319 (1993): 5-11

87. Miserez A. R., Braun J. R.: Anwendung genetischer Prinzipien zur Ursachenabklärung der Atherosklerose. Therapeutische Umschau, 52, 12 (1995): 835-843

88. Munro J. M., Lo S. K., Corless C., Robertson M. J., Lee N. C., Barnhill R. L., Weinberg D. S., Bevilacqua M. P.: Expression of sialyl-Lewis X, an E-selectin ligand, in inflammation, immune processes, and lymphoid tissues. American Journal of Pathology, 141, 6 (1992): 1397-1408.

89. Peacock R., Dunning A., Hamsten A., Tornvall P., Humphries S., Talmud P.: Apolipoprotein-B gene polymorphismus, lipoproteins and coronary atherosclerosis - a study of young myocardial-infarction survivors and healthy population-based individuals. Atherosclerosis, 92 (1992): 151-164

90. Phillips M. L., Nudelman E., Gaeta F. C. A., Perez M., Singhal A. K., Hakomori S.-I., Paulson J. C.: ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, sialyl-Lex. Science, 250 (1990): 1130-1132

91. Porkka K. V., Taimela S., Kontula K., Lehtimaeki T., Aalto-Setaelae K., Akerblom H. K., Viikari J. S.: Variability gene effects of DNA polymorphismus at the apo B, apo A I/C III and apo E loci on serum lipids: the cardiovascular risk in young Finns study. Clinical Genetics, 45 (1994): 113-121

92. Poston R. N., Haskard D. O., Coucher J. R., Gall N. G., Johnson-Tidey R. R.: Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. American Journal of Pathology, 140 (1992): 665-673

93. Printseva O. Y., Peclo M. M., Gown A. M.: Various cell types in human atherosclerotic lesions express ICAM-1. American Journal of Pathology, 140 (1992): 889-896

94. Qiagen: Qiagen genomic DNA handbook. Hilden, Chatsworth: Qiagen GmbH und Qiagen Inc., 1995: 8-38

95. Rinder C., Fitch J.: Amplification of the inflammatory response: Adhesion molecules associated with platelet/ white cell responses. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 27, Suppl. 1 (1996): 6-12

96. Rosen S. D., Bertozzi C. R.: The selectins and their ligands. Current Opinion in Cell Biology, 6 (1994): 663-673

97. Ross R.: The pathogenesis of atherosclerosis - an update. New England Journal of Medecine, 314 (1986): 488-500

98. Ross R.: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature, 362 (1993): 801-809

99. Ryan U. S., Rubanyi G. M.: Endothelial regulation of vascular tone. Hrsg. von U. S. Ryan, G. M. Rubanyi. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, Inc., 1992: 21-56, 197-264
100. Sachs L.: Angewandte Statistik. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1992

101. Schunkert H., Hense H.-W.: Molekulare Genetik kardiovaskulärer Erkrankungen. Deutsche medizinische Wochenschrift, 120 (1995): 533-539

102. Seiffert U.: Zur Cholesterin-Diskussion: Bewertung von Überernährung und Bewegungsarmut als Gesundheitsrisikofaktoren? Deutsche medizinische Wochenschrift, 120 (1995): 190-193

103. Silbernagl S., Despopoulos A.: Taschenatlas der Physiologie. 3., überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, München: Deutscher Taschenbuch Verlag, 1988: 3-14

104. Sluiter W., Pietersma A., Lamers J. M., Koster J. F.: Leukocyte adhesion molecules on the vascular endothelium: their role in the pathogenesis of cardiovascular disease and the mechanisms underlying their expression. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 22, Suppl. 4 (1993): 37-44

105. Springer T. Lasky L. A.: Sticky sugars for selectins. Nature, 349 (1991): 196-197

106. Stierle. U., Schwabe K., Sheikhzadeh A.: Einfluß der Cholesterinsenkung auf den Verlauf der koronaren Herzkrankheit. Eine Analyse der Ergebnisse kontrollierter, angiographisch dokumentierter Interventionsstudien. Deutsche medizinische Wochenschrift, 120 (1995): 1652-1659

107. Stobbe H., Baumann G.: Innere Medizin, Grundlagen und Klinik innerer Krankheiten. Hrsg. von H. Stobbe, G. Baumann. 7., überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin, Wiesbaden: Ullstein Mosby, 1996: 265-269, 298-301, 557

108. Strachan T., Read A. P.: Human molecular genetics. Oxford: Bios Scientific Publishers, 1996: 367-369, 393-395, 430

109. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal, 8 (1987): 77-88

110. Study Group, European Atherosclerosis Society. The recognition and management of hyperlipidaemia in adults: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal, 9 (1988): 571-600

111. Tedder T. F., Isaacs C. M., Ernst T. J., Demetri G. D., Adler D. A., Disteche C. M.: Isolation and chromosomal localization of cDNAs encoding a novel human lymphocyte cell surface molecule, LAM-1. Journal of Experimental Medicine, 170 (1989): 123-133
112. Tedder T. F., Steeber D. A., Chen A., Engel P.: The selectins: vascular adhesion molecules. Faseb Journal, 9 (1995): 866-873

113. Thomas L.: Labor und Diagnose. 4. Auflage. Marburg: Deutsche medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, 1995: 200-209

114. Thorn J. A., Chamberlain J C., Alcolado J. C., Oka K., Chan L., Stocks J., Galton D. J.: Lipoprotein and hepatic lipase gene variants in coronary atherosclerosis. Atherosclerosis, 85 (1990): 55-60

115. Tybjaerg-Hansen A.: Rare and common mutations in hyperlipidemia and atherosclerosis - with special reference to familial defective apolipoprotein B-100. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 55 (1995): 57-76

116. Tybjaerg-Hansen A., Nordestgaard B. G., Gerdes L. U., Humphries S. E.: Variation of apolipoprotein B gene is associated with myocardial infarction and lipoprotein levels in Danes. Atherosclerosis, 89 (1991): 69-81

117. Tyrell D., James P., Rao N., Foxall C., Abbas S., Dasgupta F., Nashed M., Hasegawa A., Kiso M., Asa D., Kidd J., Brandley B. K.: Structural requirements for the carbohydrate ligand of E-selectin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A., 88 (1991): 10372-10376

118. Wal A. C. van der, Das P. K., Tigges A. J., Becker A. E.: Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atheroschlerotic lesions. American Journal of Pathology, 141 (1992): 1427-1433

119. Watson J. D., Gilman M., Witkowski J. et al.: Rekombinierte DNA. 2. Auflage. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag, 1993: 525-526

120. Wegner C. D.: Adhesion molecules. The handbook of immuno-pharmacology. London, San Diego, New York u.a.: Academic Press, 1994: 1-57, 72-75, 90-102, 111-133, 164-177

121. Wenzel K., Hanke R., Speer A.: Polymorphism in the human E-selectin gene detected by PCR-SSCP. Human Genetics, 94 (1994a): 452-453

122. Wenzel K., Felix S., Kleber F. X., Brachold R., Mencke T., Schattke S., Schulte K. L., Glaeser C., Rohde K., Baumann G., Speer A.: E-selectin

polymorphism and atherosclerosis: an association study. Human Molecular Genetics, 3 (1994b): 1935-1937

123. Wenzel K., Ernst M., Rohde K., Baumann G., Speer A.: DNA polymorphisms in adhesion molecule genes - a new risk factor for early atherosclerosis. Human Genetics, 97 (1996): 15-20
124. Wood K. M., Cadogan M. D., Ramshaw A. L., Parums D. V.: The distribution of adhesion molecules in human atherosclerosis. Histopathology, 22 (1993): 437-444

125. Ye S., Watts G. F., Mandalia S., Humphries S. E., Henney A. M.: Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. British Heart Journal, 73 (1995): 209-215

126. Zhou Q., Moore K. L., Smith D. F., Varki A., McEver R. P., Cummings R. D.: The selectin GMP-140 binds to sialylated, fucosylated lactosaminoglycans on both myeloid and nonmyeloid cells. Journal of Cell Biology, 115 (1991): 557-564

127. Zink C.: Pschyrembels Klinisches Wörterbuch mit klinischen Syndromen und Nomina Anatomica. Bearb. von der Wörterbuchredaktion des Verlages unter der Leitung von C. Zink. 256., neu bearbeitete Auflage. Berlin, New York: de Gruyter, 1990: 127

7.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Pathogenese der Arteriosklerose (response-to-injury-Hypothese)	Seite 16
Abbildung 2	Struktur der Domänen vom ELAM-1	Seite 25
Abbildung 3	Polymorphismus in der 5´UT-Region, diagnostiziert durch die Einzelstrang-Konformationspolymorphismus(SSCP)-Analyse	Seite 44
Abbildung 4	Polymorphismus in der 5´UT-Region, analysiert durch direkte Sequenzierung der PCR-Produkte	Seite 44
Abbildung 5	Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus	Seite 45
Abbildung 6	Genotypen des DNA-Polymorphismus von allen Patienten (≤50 Jahre)	Seite 46
Abbildung 7	Genotypen des DNA-Polymorphismus der Patienten ≤50/>40 Jahre und der Patienten ≤40 Jahre	Seite 47
Abbildung 8	Prozentuale Häufigkeiten der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter	Seite 49
Abbildung 9	Prozentualer Anteil der A561C-Mutation in der EGF-Domäne bei Patienten mit einer positiven Familienanamnese sowie bei Patienten mit einer negativen Familienanamnese	Seite 53
Abbildung 10	Prozentualer Anteil der G98T-Mutation in der 5´UT-Region bei Patienten mit einer positiven Familienanamnese sowie bei Patienten mit einer negativen Familienanamnese	Seite 53
Abbildung 11	Prozentualer Anteil der A561-Mutation in der EGF-Domäne bei Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie sowie bei Patienten mit einer Normotriglyzeridämie	Seite 58
Abbildung 12	Prozentualer Anteil der G98T-Mutation in der 5´UT-Region bei Patienten mit einer Hypertriglyzeridämie sowie bei Patienten mit einer Normotriglyzeridämie	Seite 58

Abbildung 13 Die Adhäsionskaskade mit den drei Phasen „tether/rolling“ („Halten/Rollen“), „trigger/glue“ („Triggerung/Anheften“) und „migration“ („Migration“) Seite 67

7.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Risikofaktoren für die Arteriosklerose Seite 3

Tabelle 2 Genorte, die mit dem Arterioskleroserisiko korrelieren oder die eine Krankheit (mit)verursachen, die typischerweise zum frühzeitigen Auftreten einer symptomatischen Arteriosklerose führt Seite 4

Tabelle 3 Übersicht über die Einteilung, Nomenklatur und Beschreibung von arteriosklerotischen Läsionen nach Stary Seite 9

Tabelle 4 Klassifikation der Gefäßschädigung und Gefäßreaktion Seite 11

Tabelle 5 Substanzen, die von Monozyten/Makrophagen synthetisiert werden und diejenigen, die in arteriosklerotischen Läsionen nachgewiesen worden sind Seite 12

Tabelle 6 Übersicht über die äußeren Faktoren, die bei der phänotypischen Differenzierung der glatten Muskelzelle eine Rolle spielen Seiten 13/14

Tabelle 7 Darstellung der Wachstumsfaktoren, welche die Proliferation von glatten Muskelzellen bewirken bzw. inhibieren Seite 15

Tabelle 8 Die pro- und antithrombotischen Faktoren, die von der Endothelzelle gebildet werden Seiten 17/18

Tabelle 9 Zytokine und Wachstumsfaktoren, die von der Endothelzelle gebildet werden Seite 18

Tabelle 10 Vasodilatatorische und vasokonstriktorische Substanzen, die von der Endothelzelle gebildet werden Seite 18

Tabelle 11 Übersicht über die zellulären Adhäsionsmoleküle (CAM) auf den Endothelzellen, welche bei der leukozytären Adhäsion beteiligt sind Seite 22

Tabelle 12 Die Selektin-Familie der zellulären Adhäsionsmoleküle Seite 24

Tabelle 13	Darstellung der Positionen und der Längen der Exons vom menschlichen endothelialen leukozytären Adhäsionsmolekül-1	Seite 26
Tabelle 14	Anzahl, Alter und Geschlecht der Patienten	Seite 29
Tabelle 15	Die Anzahl der Patienten n mit einer 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung	Seite 30
Tabelle 16	Der prozentuale Anteil der Patienten mit einer 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung	Seite 31
Tabelle 17	Übersicht über die Interventionen	Seite 31
Tabelle 18	DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1	Seite 43
Tabelle 19	Übersicht über die Anzahl der Mutationen bei allen Patienten (≤50 Jahre) und entsprechende Allelfrequenzen	Seite 45
Tabelle 20	Genotypen des DNA-Polymorphismus von allen Patienten (≤50 Jahre)	Seite 46
Tabelle 21	Genotypen des DNA-Polymorphismus der Patienten ≤50/>40 Jahre und der Patienten ≤40 Jahre	Seite 47
Tabelle 22	Häufigkeit der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Alter	Seite 48
Tabelle 23	Prozentuale Häufigkeiten der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus und Allelfrequenzen in Abhängigkeit vom Alter	Seite 49
Tabelle 24	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit vom Geschlecht	Seite 50
Tabelle 25	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit eines abgelaufenen Myokardinfarktes.	Seite 51
Tabelle 26	Übersicht über die Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit einer positiven Familienanamnese	Seite 52
Tabelle 27	Vergleich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus bei Rauchern und Nichtrauchern	Seite 54

Tabelle 28	Anzahl der Mutationen bei Rauchern mit ≥20 Zigaretten/d und bei Rauchern mit <20 Zigaretten/d	Seite 54
Tabelle 29	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit einer Hypercholesterinämie	Seite 55
Tabelle 30	Anzahl der Mutationen bei Patienten mit Cholesterinwerten zwischen 5,2-7,8 mmol/l und bei Patienten mit Cholesterinwerten ≥7,8 mmol/l	Seite 56
Tabelle 31	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit des Triglyzeridwertes	Seite 57
Tabelle 32	Vergleich bezüglich der Häufigkeiten des DNA-Polymorphismus und der kombinierten Hyperlipidämie	Seite 59
Tabelle 33	Anzahl der Patienten mit Mutationen bei einer kombinierten Hyperlipidämie und niedrigen HDL-Cholesterin und normalen Lipidwerten	Seiten 59/60
Tabelle 34	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit des HDL-Cholesterins	Seite 61
Tabelle 35	Übersicht über die Anzahl der Patienten mit dem DNA-Polymorphismus bei Vorliegen eines Diabetes mellitus	Seite 62
Tabelle 36	Übersicht über die Anzahl der Mutationen bei Patienten mit Adipositas und ohne Adipositas	Seiten 62/63
Tabelle 37	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus im Vergleich zur Hypertonie	Seiten 63/64
Tabelle 38	Häufigkeit des DNA-Polymorphismus in Abhängigkeit von einer Eingefäßerkrankung und Mehrgefäßerkran-kung	Seite 65

7.3. Abkürzungsverzeichnis

≤50-, <50 Jahre	Patienten mit 50 Jahren oder jünger
≤40-, <40 Jahre	Patienten mit 40 Jahren oder jünger
≤50/>40-, <50/>40 Jahre	Patienten mit 50 Jahren oder jünger und älter als 40 Jahre
A	Adenin
ACE	angiotensin-converting-enzyme
ACVB	aortokoronarer Venenbypass
AGEs	advanced glycosylation end products, hochglykosylierte Endprodukte
Arg	Arginin
BMI	Body-Mass-Index, Körpermassenindex
CHO+	Hypercholesterinämie
CHO-	Normocholesterinämie
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDRF	endothelium-derived relaxing factor
EGE	Eingefäßerkrankung
EGF	epidermal growth factor
C	Cytosin
CAM	cellular adhesion molecule, zelluläres Adhäsionsmolekül
Cyto	cytoplasmatische Sequenz
d	Tag
DCA	direktionale koronare Atherektomie

DM+	Vorliegen eines Diabetes mellitus
DM-	kein Diabetes mellitus
ELAM-1	endotheliales leukozytäres Adhäsionsmolekül-1
et al.	et alii, und andere
FA+	positive Familienanamnese
FA-	negative Familienanamnese
FGF	fibroblast growth factor
G	Guanin
h	Stunden
HB-EGF	heparin-binding epidermal growth factor
HDL	High-Density Lipoprotein
ICAM-1/2	interzelluläres Adhäsionsmolekül-1/2
IDL	Intermediary Density Lipoprotein
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IMA-Bypass	Arteria-mammaria-interna-Bypass
kg	Kilogramm
KHK	koronare Herzkrankheit
l	Liter
LAD-1/2	leukocyte adhesion deficiency-1/2
LDL	Low-Density Lipoprotein
Leu	Leucin
LFA-1	lymphozytäres funktionsassoziiertes Molekül-1

LPS	Lipopolysaccharid
m	Meter
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
M-CSF	monocyte colony-stimulating factor
mg	Milligramm
MGE	Mehrgefäßerkrankung
MI+	abgelaufener Myokardinfarkt
MI-	kein Myokardinfarkt
mmol	Millimol
MNL	männlich
mRNA	messenger RNA (Ribonukleinsäure)
n	Anzahl
NO	Stickstoffmonoxid
ODFR	oxygen-derived free radicals, freie Sauerstoff-radikale
o.g.	oben genannte
PCR	polymerase chain reaction, Polymeraseketten-reaktion
PDGF	platelet-derived growth factor
PECAM	platelet-endothelial cell adhesion molecule
Phe	Phenylalanin
%	Prozent
PTCA	perkutane transluminale koronare Angioplastie
SCR	short consensus repeat
Ser	Serin

SLe a	sialyl Lewis a
SLe x	sialyl Lewis x
SMC	smooth muscle cell, glatte Muskelzelle
SSCP	single-stranded conformation polymorphism, Einzelstrang-Konformationspolymorphismus
T	Thymin
TGL+	Hypertriglyzeridämie
TGL-	Normotriglyzeridämie
TM	transmembrane, Membran-
TNF	Tumornekrosefaktor
UT	untranslatiert
VCAM-1	vaskuläres zelluläres Adhäsionsmolekül-1
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
W	Watt
WBL	weiblich
ZIG	Zigaretten
ZIG+	Zigarettenraucher
ZIG-	Nichtraucher

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Stefan Felix als meinem Doktorvater für die Überlassung des Themas zur Bearbeitung und für die Betreuung der Arbeit. Insbesondere danke ich ihm auch für die Unterstützung, die er mir während unserer Zusammenarbeit gewährt hat und für die Ansprechbarkeit und Hilfsbereitschaft zu jeder Zeit.

Ich danke Herrn Professor Dr. med. Gerd Baumann als Direktor der I. Medizinischen Klinik und Leiter des BMFT-Projektes für die Durchführung der Studie.

Ich danke Frau Professor Dr. med. Astrid Speer und Frau Dr. Katrin Wenzel für die Anleitung und Unterstützung bei der Arbeit im molekularbiologischen Labor und für die Korrektur meiner Promotion.

Herrn Professor Dr. med. Franz Kleber möchte ich für die Anregungen bei der Umsetzung des Konzeptes der Studie und für die Unterstützung bei der Patientenrekrutierung danken.

Den Studenten und Freunden Ralf Brachold und Sebastian Schattke danke ich für die gemeinsame Arbeit zur Verwirklichung der Studie.

Tabellarischer Lebenslauf

Name:	Mencke
Vorname:	Thomas
Adresse:	Landsberger Allee 142/10.02
geb.:	01.12.1968 in Dresden
Fam.-Stand:	ledig, keine Kinder
Staatsan-gehörigkeit:	Bundesrepublik Deutschland

Vorpraktikum und Studium

1987-1990	Vorpraktikum in der Charité, Klinik für Onkologie (Unterbrechung durch 15monatigen Grundwehrdienst)
1990-1996	Studium der Humanmedizin an der Humboldt-Universität zu Berlin, Fakultät Medizin (Charité)
1992	Physikum
1993	1. Ärztliche Prüfung
1995	2. Ärztliche Prüfung
1995-1996	Praktisches Jahr
01.11.1996	3. Ärztliche Prüfung
18.11.1996	Erlaubnis für die Tätigkeit als Arzt im Praktikum

Wissenschaftliche Arbeit

1992-1997	Promotionsarbeit mit dem Thema "DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 bei Patienten (<50 Jahren) mit interventionsbedürftigen Koronararterienstenosen"
11/1994	Mitautor der Veröffentlichung "E-selectin polymorphism and atherosclerosis: an association study" in Human Molecular Genetics 11/1994
seit 10/1994	Mitarbeit am Forschungsprojekt "Kontrolle der endothelab-hängigen Vasodilatation nach Koronarintervention (PTCA, DCA)"

Besondere Kenntnisse

Englisch (Hochschuloberstufe, fließend in Wort und Schrift)
Russisch (Hochschulunterstufe, fließend in Wort und Schrift)
Französisch (Abitur, Grundkenntnisse)
EDV-Kenntnisse (Textverarbeitung, Tabellenkalkulation)

Berlin, 05.03.1997

Eidesstattliche Erklärung zur selbständigen Anfertigung der Dissertation

Ich erkläre hiermit, daß ich, Thomas Mencke, geb. am 01.12.1968 in Dresden, die vorliegende Dissertationsarbeit mit dem Thema:

"DNA-Polymorphismus des endothelialen leukozytären Adhäsionsmoleküls-1 bei Patienten (unter 50 Jahren) mit interventionsbedürftigen Koronararterienstenosen"

selbständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe.

Ich bestätige, daß ich benutzte Quellen als solche kenntlich gemacht habe und weder diese, noch eine andere Arbeit, zuvor an einer Hochschule als Medizin-dissertation eingereicht habe.

Berlin, 05.03.1997

Thomas Mencke