

Aus dem Institut/der Klinik für Innere Medizin, Nephrologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Bedeutung des GP IIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus für
Transplantatüberleben nach Nierentransplantation und kardiovaskuläre
Todesursachen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Alexander Kühn

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Priv.-Doz. Dr. med. J. Beige
 2. Prof. Dr. med. W. Zidek
 3. Priv.-Doz. Dr. med. L. Rothermund

Datum der Promotion: 19. November 2010

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
1.1. Bedeutung kardiovaskulärer Risikofaktoren für Patienten- und Transplantatüberleben bei Nierentransplantationen	6
1.1.1. Nierentransplantationen	6
1.1.2. Risikofaktoren für Patienten- und Transplantatüberleben	9
1.2. Akute Abstoßungsreaktionen und chronische Transplantatnephropathie	11
1.3. Rolle der Thrombozyten	14
1.3.1. Der GP IIb/IIIa- Rezeptor, ein Integrin	15
1.3.2. Der GP IIb/IIIa P1 ^{A1/A2} - Polymorphismus	19
1.4. Kardiovaskuläres Risiko und GP IIb/IIIa	22
1.5. Hypothese und Fragestellung	25
2. Material und Methoden	26
2.1. Patienten und klinische Parameter	26
2.1.1. Patientenkollektiv	26
2.1.2. Gewinnung der klinischen Daten	26
2.2. Methoden	27
2.2.1. DNA-Extraktion	27
2.2.2. PCR	28
2.2.3. Restriktion	29

2.2.4. Gelelektrophorese	29
2.2.5. Statistik	30
3. Ergebnisse	32
3.1. Genotyp- und Allelverteilung	32
3.2. Verlauf nach Nierentransplantation	33
3.2.1. Abstoßungsreaktionen	33
3.2.2. Transplantatüberleben und Genotyp	34
3.2.3. Patientenüberleben und Genotyp	35
3.2.4. Kardiovaskuläre Todesfälle und Genotyp	35
4. Diskussion	36
5. Zusammenfassung	40
6. Danksagung	41
7. Literaturverzeichnis	42
8. Lebenslauf	56

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Arg	Arginin
bp	Basenpaare (basepaire)
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca ²⁺	Kalzium ²⁺
diast.	diastolisch
DNA	Desoxyribonukleinsäure (desoxyribonucleic acid)
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
et al.	et alteri (lat.: und andere)
ggf.	gegebenenfalls
GP	Glykoprotein
HDL	High-density-lipoprotein
kb	Kilobase
kDa	Kilodalton
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-density-lipoprotein
Leu	Leucin
min	Minute
mmHg	Millimeter Quecksilber
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase-chain-reaction)
Pro	Prolin
RGD	Arginin-Glycin-Asparaginsäure
RNA	ribonucleic acid
serol.	serologisch
SNP	Single nucleotide polymorphism
s.o.	siehe oben
syst.	systolisch
Tab.	Tabelle
Tris	Tris-Borat-EDTA-Puffer
Tx	Transplantation
U	Unit
vWF	von-Willebrand-Faktor
www	world wide web
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung

1.1. Bedeutung kardiovaskulärer Risikofaktoren für Patienten- und Transplantatüberleben bei Nierentransplantationen

1.1.1. Nierentransplantationen

Die Idee, Organe oder ganze Körperteile transplantieren zu können, faszinierte die Menschen bereits in der Antike. Die älteste Geschichte, eine hinduistische Mythologie, stammt aus dem 12. Jahrhundert vor Christus und beschreibt, wie der Kopf eines Kindes namens Ganesha von seinem eigenen Vater abgehackt wird und ihm dann ein Elefantenkopf transplantiert wird. Im China des 3. Jahrhunderts vor Christus soll der Arzt Pien Ch'iao die Herzen zweier Menschen ausgetauscht haben. Die ersten dokumentierten Transplantationen fanden im 19. Jahrhundert statt. Dabei handelte es sich in den meisten Fällen um Hauttransplantationen (161).

Im Jahre 1902 führte der österreichische Chirurg Emerich Ullmann die weltweit erste experimentelle Nierentransplantation an einem Hund durch (165). Er pflanzte die Niere im Nackenbereich des Hundes ein und führte den Ureter durch die Haut nach außen, um so die Harnproduktion dokumentieren zu können. Sie funktionierte 5 Tage lang.

Der Franzose Alexis Carrel entwickelte die grundlegenden Techniken der heutigen Gefäßchirurgie und bekam 1912 den Nobelpreis „in Anerkennung seiner Arbeit über die Gefäßnaht und die Transplantation von Blutgefäßen und Organen“. Seine Arbeit war ein wichtiger Schritt für die Ermöglichung erfolgreicher Transplantationen (165).

1933 misslang eine erste Nierentransplantation von einem verstorbenen Spender durch den Arzt Voronoy in Kiew. Die Spenderniere funktionierte zu keinem Zeitpunkt. Die Empfängerin überlebte 4 Tage. Auch die erste Lebendnierentransplantation (Mutter auf Kind) durch Professor Hamburger 1952 in Paris hatte nur vorübergehenden Erfolg.

Im Jahre 1954 kam es schließlich zur ersten erfolgreichen Nierentransplantation durch Dr. Joseph Murray in Boston, bei der Spender und Empfänger eineiige Zwillinge, also gewebeidentische Menschen, waren. Somit war klar, dass erfolgreiche Transplantationen nur durch eine Unterdrückung der Abstoßungsreaktionen möglich sein würden (101). Die Entdeckung des HLA-Systems (Human Leucocyte Antigen) durch Prof. Dausset in Paris, mit dem das Immunsystem zwischen fremdem und eigenem Gewebe unterscheiden kann,

untermauerte diese Erkenntnis noch. 1959 gelang dann – sowohl in Boston (Merril) als auch in Paris (Hamburger) – die erste Nierentransplantation bei Verwandten zwischen zweieiigen, also genetisch unterschiedlichen, Zwillingen. Mit Hilfe von Bestrahlung gelang es, die Abstoßung zu begrenzen. Beide lebten noch 20 bzw. 26 Jahre lang.

Die erste erfolgreiche Nierentransplantation in Deutschland wurde 1964 in Berlin-Steglitz durch Brosig und Nagel von Mutter auf Tochter durchgeführt (21).

2004 gelang einem Team des Universitätsklinikums Freiburg zum ersten Mal in Deutschland eine Lebend-Nieren-Transplantation, obwohl die Blutgruppen von Spender und Empfänger inkompatibel waren (163).

Seit der Entdeckung der Cyclosporine im Jahr 1970 und dem Einsatz von Cyclosporin A als Immunsuppressivum in Deutschland im Jahr 1983 stiegen die Überlebensraten in der Transplantationsmedizin enorm an (72). Seit 1963 wurden bis zum heutigen Zeitpunkt (2005) in Deutschland insgesamt 70.463 Organtransplantationen, davon 48.927 Nierentransplantationen (ca. 69 %) durchgeführt (162). Die Niere ist bis heute das am meisten transplantierte Organ, gefolgt von Leber und Herz.

Die Nierentransplantation ist die Therapie der Wahl für Patienten, die an einem nicht mehr zu heilenden Nierenversagen leiden. Die chronische, terminale Niereninsuffizienz wird als irreversible Abnahme des Glomerulumfiltrats bei progressivem Untergang von funktionierendem Nierengewebe definiert. Im Jahr 2006 betrug die Anzahl der Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz in Deutschland 36.794 (164). Gründe für die terminale Niereninsuffizienz bei neuangemeldeten Patienten in Deutschland waren 2006 in 28 % der Fälle Folgeschäden des Diabetes mellitus, in 19 % Glomerulonephritiden, in 17 % vaskuläre Nephropathien, in 12 % interstitielle Nephritiden, in 7 % Zystennieren, in 3 % Systemerkrankungen, in 1 % vererbte oder angeborene Krankheiten und in 14 % andere Ursachen (164).

Die Behandlung der chronischen Niereninsuffizienz hat sich über die Jahre dank kontinuierlicher Entwicklung und Einsatz von Dialyse und Transplantation wesentlich verbessert.

Dialysepflichtige Patienten haben im Vergleich zu den transplantierten über die Behandlungsjahre Einbußen in der Leistungsfähigkeit und somit in der beruflich-sozialen Integration. Dies ist durch die dauerhaft schlechtere Stoffwechsellage und die damit verbundenen Folgeschäden zu erklären (48). Eine erfolgreiche Nierentransplantation steigert nicht nur die Lebensqualität, indem sie den Patienten erlaubt, frei von Nierenersatzverfahren zu leben, sie reduziert auch die Sterblichkeit im Vergleich mit

Patienten, die einer Dialyse bedürfen. Bei letzteren ist die Mortalität zwar kurzfristig nur geringfügig höher als diejenige von transplantierten Patienten, auf lange Sicht jedoch deutlich höher, und erreicht nach 5 Jahren schon bis zu 50 % (40).

Auch im Hinblick auf die Kosten ist die Nierentransplantation einem Nierenersatzverfahren vorzuziehen. So betragen die unmittelbaren Kosten der Dialysebehandlung jährlich je nach Dialyseverfahren zwischen 25.000 und 45.000 Euro. Darüber hinaus ergeben sich für jeden Dialysepatienten weitere Behandlungskosten von etwa 7.000 Euro im Jahr. Im Vergleich dazu verursacht eine Nierentransplantation im ersten Jahr zwar Kosten zwischen 51.000 (postmortal) und 57.000 (Lebendspende) Euro, dafür entstehen in den Folgejahren im Mittel Kosten in Höhe von jeweils lediglich 10.000 Euro (2).

Etwa 10.000 der ca. 37.000 Dialysepatienten warten aktuell in Deutschland auf eine Nierentransplantation. Ca. 20 % dieser Patienten haben bereits eine Transplantation hinter sich und benötigen erneut eine Transplantation. Die Zahl der wartenden Patienten steigt vor allem aufgrund einer ständig wachsenden Population niereninsuffizienter Patienten kontinuierlich an. Auch wird die Indikation zur Transplantation in den letzten Jahren großzügiger gestellt (22).

Etwa 6 Jahre beträgt die aktuelle Wartezeit auf ein Spenderorgan (164). Limitierend sind hier die Zahl der verfügbaren Spenderorgane, abhängig von der öffentlichen Akzeptanz der Transplantation und der Organspende. Als absolute Kontraindikation für eine Transplantation gelten schwere chronische Infektionen, unkontrollierte Gefäßerkrankungen, eine HIV-Infektion sowie schwere psychiatrische Erkrankungen (22).

Im Jahre 2006 wurden in Deutschland an 40 Klinika 2.776 Nierentransplantationen und davon 522 (18,8 %) durch Lebendorganspenden durchgeführt (164). Intakt sind nach einem Jahr die Transplantate in 85 % der Fälle (10), bei den Lebendspenden sogar in 91 bzw. 98 % (35, 118). Nach 5 Jahren sind es noch 71 % bzw. 84 %. Die besten Ergebnisse werden bei den sogenannten präemptiven Nierentransplantationen erzielt, bei denen es direkt zu einer Transplantation kommt, ohne mit einer Dialyse begonnen zu haben (1, 92). Als Gründe für die besseren Raten bei den Lebendspenden gelten eine kürzere kalte Ischämiezeit sowie die Vermutung, dass bei Lebendspenden die *Compliance* bei der Einnahme der Immunsuppressiva besser ist. Die Erkenntnis, dass bei der Lebendspende eine höhere Erfolgsaussicht besteht und dass der Warteprozess mit ihr abgekürzt werden kann, hat zu einer deutlichen Steigerung der Lebendnierentransplantationen geführt. So erhöhte sich ihr Anteil in Deutschland von 4 % im Jahr 1994 auf 19,2 % im Jahr 2005.

1.1.2. Risikofaktoren für Patienten- und Transplantatüberleben

Neben den bereits erwähnten Fortschritten in der Immunsuppression sind bessere operative Techniken sowie eine Optimierung der Betreuung der Organempfänger ein Grund dafür, dass kontinuierlich mehr Patienten (über 80 %) das kritische erste Jahr nach einer Nierentransplantation mit einem intakten Spenderorgan überleben (34). Im Gegensatz dazu bleibt ein solcher Erfolg in Hinblick auf das Langzeitleben des Transplantats bei einer Halbwertszeit von etwa 12 (postmortale Spenden) bis 20 Jahren (Lebendspenden) bisher aus (160). Hauptursache hierfür ist mit einer Inzidenz von etwa 50 % die chronische Transplantatnephropathie. Wesentlich seltener mit 5 bis 10 % ist ein Rezidiv der zur Nierentransplantation führenden Erkrankung dafür verantwortlich. Schließlich geht das Transplantat in den übrigen Fällen (40 – 45 %) durch den vorzeitigen, meist kardiovaskulär bedingten Tod des Empfängers verloren. Neuerdings stellen Polyomainfektionen mit der Folge von Tubulusatrophien ein erhebliches Problem dar, die auch zu frühen Transplantatverlusten führen können. Nach Herz-Kreislaufkrankungen als Haupttodesursachen folgen Infektionen und Tumore. Diese Tatsache lässt darauf hindeuten, dass weitere unabhängige Risikofaktoren für das Langzeitleben des Transplantats mitverantwortlich sind. Berücksichtigt werden müssen dabei sowohl neue immunologische, alloantigenabhängige als auch nicht-immunologische, unter anderen kardiovaskuläre, Faktoren.

Auf der Seite der immunologischen Risikofaktoren sind in erster Linie Anzahl, Schwere und Zeitpunkt akuter Abstoßungsreaktionsepisoden zu erwähnen (97). Die wichtigsten Ursachen hierfür sind zum einen das Problem der HLA-Kompatibilität und zum anderen eine inadäquate bzw. suboptimale Immunsuppression. Der Grad der HLA-Übereinstimmung zwischen Empfänger und Spender, das heißt die Zahl der „HLA-mismatches“ bestimmt im Wesentlichen die Häufigkeit und den Schweregrad von akuten Abstoßungsreaktionen und zeigt eine deutliche Korrelation mit dem Transplantatüberleben. Eine optimale Dosierung der jeweiligen Immunsuppressiva, die für jeden Patienten einzeln abgestimmt werden muss, ist entscheidend für den weiteren Verlauf: ein Zuwenig bedeutet Abstoßung des Transplantats, ein Zuviel bedeutet ein erhöhtes Risiko für Infektionen, Stoffwechselprobleme, Tumore und kardiovaskuläre Erkrankungen.

Als mutmaßliche nicht-immunologische Risikofaktoren gelten: Kalte Ischämiezeit (56), Spenderalter (9), „Qualität“ des Spenderorgans, verzögerte Transplantatfunktion (62),

Größenübereinstimmung, Spender- und Empfängergeschlecht, Todesursache des Spenders, ethnische Abstammung, Hypertonie, Hyperlipidämie und Hypoalbuminämie.

Der Hypertonus ist wahrscheinlich der wichtigste nicht-immunologische Risikofaktor für die chronische Transplantatnephropathie als auch für das Auftreten von KHK, Myokardinfarkt und Hirninsult nach einer Nierentransplantation. In wichtigen Studien wurde gezeigt, dass die Höhe des Blutdrucks vor, aber auch bereits früh nach Nierentransplantation eng mit der Lebenserwartung des Transplantats korreliert (17, 115). Die Prävalenz einer arteriellen Hypertonie nach Nierentransplantation liegt zwischen 60 und 90 %. Neben den Immunsuppressiva, besonders Calcineurin-Inhibitoren und Steroiden, tragen die chronische Transplantatnephropathie mit vaskulären Mechanismen und Flüssigkeitsretention, Nierenarterienstenosen, Glomerulonephritiden sowie die nativen Schrumpfnieren dazu bei (46).

Bei Nierentransplantierten findet man häufig eine Hyperlipidämie. Es konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe des Cholesterinwertes und dem Verlauf einer chronischen Transplantatnephropathie nachgewiesen werden (129).

Sämtliche klassische, durch epidemiologische Studien in der Allgemeinbevölkerung identifizierte kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Alter, Hypertonie, Hyperlipidämie, Adipositas, Nikotinabusus und Diabetes mellitus werden besonders häufig bei Nierentransplantierten beobachtet (73, 41, 87, 125).

Die langfristige Funktionsdauer der transplantierten Niere wird aus der Kombination dieser verschiedenen Risikofaktoren bestimmt. Es kommt einerseits zur Ausbildung nicht-renaler vaskulärer Endorganschäden wie Koronare Herzkrankheit, cerebro-vaskuläre Insuffizienz und periphere Verschlusskrankheit. Andererseits resultiert auch ein direkter renaler Endorganschaden (chronische Transplantatnephropathie), beeinflusst von sowohl immunologischen als auch nicht-immunologischen Risikofaktoren.

Im Vergleich zur Normalbevölkerung sind Morbidität und Mortalität bei nierentransplantierten Patienten drei bis zehn Mal höher. Die kardiovaskuläre Mortalität beträgt hierbei zwischen 15 und 40 % (68, 73). Dementsprechend ist die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität von Nierentransplantierten gerade im Langzeitverlauf ein zentrales Thema geworden.

1.2. Akute Abstoßungsreaktionen und chronische Transplantatnephropathie

Trotz der Fortschritte sowohl in der Immunsuppression als auch in den operativen Techniken wie in der Optimierung der Betreuung der Organempfänger kann es nach wie vor zu einem Funktionsverlust des Nierentransplantats kommen. Dafür verantwortlich sind, neben dem meist kardiovaskulär bedingten vorzeitigen Tod des Patienten, die Abstoßungsreaktionen. Sie werden grob in hyperakute, akute und chronische Abstoßungsreaktionen unterteilt. Diese können sowohl reversibel als auch irreversibel sein.

Bei der hyperakuten Reaktion handelt sich um einen irreversiblen, durch Medikamente kaum beeinflussbaren Prozess, bei dem präformierte zytotoxische Antikörper gegen auf dem Transplantatendothel befindliche Antigene (HLA) agieren. Um hyperakute Rejektionen zu vermeiden, ist es erforderlich, unmittelbar präoperativ einen sogenannten HLA-Cross-match durchzuführen. In diesem Test werden Zellen des Organspenders zusammen mit Serum des Empfängers inkubiert. Besitzt der Patient HLA-Antikörper, so kommt es zur Lyse der Spenderlymphozyten, der Cross-match gilt als positiv und stellt somit eine Kontraindikation für die Nierentransplantation dar.

Bei der akuten Abstoßungsreaktion kommt es zu einer Gewebeerstörung durch zytotoxische T-Zellen, zur Freisetzung von Zytokinen und zur Rekrutierung von immunkompetenten Zellen. Es entsteht eine reversible Transplantatvaskulopathie. Klinisch sind die Patienten entweder asymptomatisch oder zeigen eine Allgemeinsymptomatik wie Abgeschlagenheit, Gliederschmerzen, druckschmerzhaftes Transplantat, Fieber und Innappetenz sowie darüber hinaus einen Rückgang der Diuresemenge und einen Anstieg des Serumkreatinins. Die akute Abstoßungsreaktion findet am häufigsten innerhalb der ersten ein bis drei Monate statt und führt heutzutage dank moderner Immunsuppressiva kaum noch zum unmittelbaren Transplantatverlust. Die Applikation von hochdosiertem Methylprednisolon ist in den meisten Fällen ausreichend, um die Abstoßung abzuwenden. Dennoch ist sie ein wichtiger Risikofaktor für das Auftreten einer chronischen Reaktion (4, 45, 97). So ist neben dem klinischen und histologischen Schweregrad und etwaigen Residuen nach einer akuten Reaktion besonders die Anzahl akuter Abstoßungsreaktionen relevant. Einige Studien konnten dies belegen, indem sie zeigten, dass das Auftreten von mehr als einer akuten Reaktion die Transplantathalbwegszeit deutlich reduzierte (63, 151). Sprach man noch bis vor kurzem von chronischer Abstoßung, so ist der aktuelle Begriff der chronischen Transplantatnephropathie bzw. der chronischen Transplantatdysfunktion heute zutreffender, da es zu keiner wirklichen Rejektion im Sinne von Antikörper-

Antigenkomplexen und schnellem Anstieg des Serumkreatinins wie bei der hyperakuten oder der akuten Abstoßung kommt. Vielmehr handelt es sich um eine langsam ablaufende Gewebeerstörung bis hin zum totalen Funktionsverlust, die in den meisten Fällen therapieresistent bleibt. Sie kann sich über Monate bis Jahre hinziehen. Eine moderate Proteinurie, eine leichte Hypertonie sowie ein langsam progredienter Anstieg des Serumkreatinins sind oft Hinweis auf eine chronische Transplantatnephropathie.

Eine Gruppe von Nierenpathologen, Nephrologen und Transplantationschirurgen traf sich im August 1991 in Banff, Kanada, um ein Schema für eine internationale Standardisierung der Nomenklatur bzw. der Kriterien für die histologische Diagnose von Nierentransplantationsabstoßungsreaktionen zu erarbeiten. Es entstanden die heute geltenden Banff-Kriterien, deren wichtigste diagnostische Kategorien die folgenden sind: (1) Normal, (2) hyperakute Rejektion, (3) „borderline“ Veränderungen, (4) akute Rejektion (Grad I bis III), (5) chronische Transplantationsnephropathie (Grad I bis III) und schließlich (6) andere.

Die hyperakute Abstoßung beginnt direkt nach der Revaskularisierung der transplantierten Niere. Histologisch charakterisierend sind vor allem die Thrombenbildung in den glomerulären Kapillarschlingen so wie Nekrosen einzelner Glomerula. Es kommt binnen kürzester Zeit zur Organnekrose.

Bei der akuten Abstoßungsreaktion führen massive zelluläre Infiltrate zu einer vaskulären Obstruktion, man spricht dann von der sog. vaskulären Rejektion oder Transplantatvaskulopathie. Die Sicherung der Diagnose erfolgt über eine Transplantatbiopsie mit schneller lichtmikroskopischer Diagnostik.

Bei der chronischen Transplantationsnephropathie sind morphologisch die meisten Unterschiede in den Blutgefäßen zu finden, gefolgt von Veränderungen in den Glomerula und Tubuli. Es lassen sich histologisch - den Banff-Kriterien entsprechend - strukturelle Veränderungen wie Glomerulo- und Arteriosklerose, tubuläre Atrophie und interstitielle Fibrose nachweisen. Diese histologischen Veränderungen gleichen denen einer Niere im Endstadium der terminalen Niereninsuffizienz.

Um die Rolle des GP IIb/IIIa Pl^{A1/A2}- Polymorphismus bezüglich akuter Abstoßungsreaktionen oder der chronischen Transplantatnephropathie und im Hinblick auf

das kardiovaskuläre Risiko besser verstehen zu können, ist es sinnvoll, sich mit den Grundlagen über die Funktion der Thrombozyten in Kenntnis zu setzen.

1.3. Rolle der Thrombozyten

Die Thrombozyten, auch Blutplättchen genannt, weisen eine polymorphe Oberfläche auf (7, 81, 82). Diese Erkenntnis gewann man vor fast 50 Jahren zum ersten Mal anhand serologischer Untersuchungen (150). Sowohl die Thrombozytenadhäsion als auch die Thrombozytenaggregation nehmen im thrombotischen Prozeß eine Schlüsselstellung ein und stehen in engem Zusammenhang mit der Entstehung kardiovaskulärer Komplikationen (53-55, 69, 49, 37, 47) wie mit der Entwicklung von Nierentransplantatabstoßungsreaktionen (89, 152).

Thrombozyten werden im Knochenmark aus ihren Vorläuferzellen, den Megakaryozyten, gebildet. Diese wandern mit zunehmender Reifung durch die Endothelschranke in die vaskulären Sinus. Dort fragmentieren sie zu Pro-Thrombozyten und setzen schließlich Thrombozyten frei. Die ausgereiften Thrombozyten sind anukleäre, diskoide Scheiben mit einem Durchmesser von 2 bis 4 µm und einer Dicke von 0.75 µm.

150.000 bis 300.000 Thrombozyten pro µl Blut zirkulieren für 7 bis 12 Tage im Kreislauf, bevor sie im retikulären System von Leber und Milz abgebaut werden.

Thrombozyten zirkulieren unter physiologischen Bedingungen im Blutkreislauf, ohne mit sich selbst oder mit der antithrombogenen Gefäßwand zu reagieren.

Bei der bereits erwähnten hyperakuten Abstoßungsreaktion werden präformierte zytotoxische Antikörper in die transplantierte Niere transportiert, die sich sodann mit der Folge einer Aktivierung der Komplement- und Gerinnungskaskade an auf dem Gefäßendothel befindliche Antigene binden. Produkte der Komplementkaskade locken neutrophile Granulozyten an, die lytische Enzyme sezernieren. Die lytischen Enzyme zerstören das Endothel. Kommt es zur Verletzung der Endothelschicht, werden subendothelial gelegene, prothrombotische Strukturen, wie Kollagen, Fibronectin, Laminin und der von-Willebrand-Faktor, freigelegt, an die sich die zirkulierenden Thrombozyten heften.

Dieser Adhäsionsvorgang findet unter dem Einfluß hoher Scherkräfte statt und wird primär durch die Interaktion eines thrombozytären Rezeptorkomplexes, bestehend aus drei Glykoproteinen (GPIb, GPV, GPIX), mit dem von-Willebrand-Faktor ausgelöst. Über weitere membranständige Adhäsionsrezeptoren (Kollagen-, Fibronectin- und Lamininrezeptoren) erfolgt die Stabilisierung der Plättchenadhäsion.

Insbesondere die Bindung des thrombozytären Kollagenrezeptors GP VI an Kollagen führt zur Thrombozytenaktivierung, unter welcher die Thrombozyten ihre Form verändern („shape change“), dabei Pseudopodien bilden und sich auf der Läsion ausspreizen (110).

Die adhärenenten und nun aktivierten Thrombozyten bilden aus freigesetzter Arachidonsäure Thromboxan A₂, welches einerseits den Aktivierungsvorgang verstärkt, andererseits vasokonstriktorisch wirkt und so durch Verlangsamung des Blutstromes die Thrombusbildung begünstigt. So kommt es, bei dem Beispiel der hyperakuten Abstoßungsreaktion, zu einer Thrombose in prä-glomerulären, glomerulären und post-glomerulären Gefäßen und anschließend zu einer Nekrose des Endothels. Das tubulo-interstitielle Kompartiment ist unterblutet, granulozytär infiltriert und fokal infarziert. Auch bei der späten akuten Abstoßungsreaktion kommt es nach Bindung von Immunglobulin und Komplement an Arteriolen und Kapillaren zur Thrombozytenaggregation.

Voraussetzung für eine normal verlaufende Thrombozytenaggregation sind zum einen niedrige Scherkräfte, welche die Kontaktwahrscheinlichkeit zweier Thrombozyten erhöhen, zum anderen Kalzium (Ca²⁺) und Fibrinogen. Die Interaktion noch zirkulierender mit schon adhärenenten Thrombozyten erfolgt über aktivierte GP IIb/IIIa- Rezeptoren, die auf der Oberfläche der Blutplättchen exprimiert werden. Hierbei werden die Thrombozyten über Fibrinogenbrücken miteinander verbunden. Der GP IIb/IIIa- Rezeptor ist somit für den finalen und allen Thrombozytenagonisten gemeinsamen Schritt der Aggregation entscheidend (66, 113).

1.3.1. Der GP IIb/IIIa- Rezeptor

Der thrombozytäre GP IIb/IIIa- Rezeptor wird zur Familie der Integrine gezählt, die ihrerseits neben Immunglobulinen, Selektinen und Cadherinen die größte Familie der Adhäsionsrezeptoren, auch Zytoadhäsine genannt, bilden.

Die Aufgabe dieser Glykoproteine besteht einerseits in dem Verknüpfen von Zellen miteinander, andererseits im Anhaften von Zellen an der Oberfläche. Neben der Thrombozytenadhäsion und –aggregation sind Integrine an der Gewebsentwicklung und –differenzierung, am Krebszellwachstum und der Metastasierung beteiligt. Als Membranrezeptoren verbinden sie die Liganden im Bereich der Zelloberfläche mit dem Zytoskelett im Inneren der Zelle (64). Alle Integrine sind transmembranäre heterodimere Glykoproteine mit je einer α - und einer β -Untereinheit. Die Untereinheiten sind nichtkovalent miteinander an der Zelloberfläche verbunden. Sie durchdringen beide die Zellmembran und

bestehen aus einem intrazellulären, einem transmembranären und einem extrazellulären Anteil (122).

Auf Thrombozyten konnten bisher 5 verschiedene Integrine nachgewiesen werden, drei der β_1 - Klasse und zwei der β_3 - Klasse (64):

Tab. 1 Die 5 nachgewiesenen Integrine auf Thrombozyten

Integrin	Synonym	Liganden
$\alpha_2\beta_1$	GP Ia/IIa	Kollagen, Laminin
$\alpha_5\beta_1$	GP Ic/IIa	Fibronektin
$\alpha_6\beta_1$	GP Ic'/IIa	Laminin
$\alpha_{IIb}\beta_3$	GP IIb/IIIa	Fibrinogen, vWF, Fibronektin, Vitronektin, Thrombospondin
$\alpha_V\beta_3$	VnR/IIIa	Vitronektin, Fibrinogen, vWF, Fibronektin, Thrombospondin, Kollagen, Osteopontin

Insgesamt werden alle Integrine in verschiedene Gruppen eingeteilt. Die Gruppe 3 der Integrinsuperfamilie beinhaltet die Glykoproteine $\alpha_V\beta_3$ und $\alpha_{IIb}\beta_3$. Der Vibronectinrezeptor $\alpha_V\beta_3$ ist ubiquitär verteilt und wird sowohl auf Thrombozyten, als auch auf Endothelzellen, Monozyten, Osteosarkomzellen und Melanomzellen exprimiert.

Das Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ - der Thrombozytenrezeptorkomplex GP IIb/IIIa - wird lediglich auf Thrombozyten sowie einigen Tumorzellen exprimiert (53, 107). Es handelt sich hierbei um einen Membranrezeptorkomplex. Mengenmäßig stellt es das am häufigsten vorkommende Membranglykoprotein der Blutplättchen mit ca. 3 % des Gesamtproteingehaltes und ca. 17 % des Zellmembranproteingehaltes (120) dar. Abhängig von dem jeweiligen Aktivierungszustand werden zwischen 40.000 und 80.000 Kopien auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert (153, 146).

50-60 % der Rezeptoren liegen zufällig auf der Oberfläche von ruhenden Thrombozyten exprimiert vor. Diese sind nur in der Lage, immobilisiertes Fibrinogen, nicht aber lösliche Liganden zu binden (120). Der Rest, welcher sich innerhalb der Thrombozyten befindet, kann jedoch nach Thrombozytenaktivierung an die Zelloberfläche exprimiert werden.

Das Integrin bzw. der GP IIb/IIIa- Rezeptor besteht aus einer α_{IIb} - Untereinheit und einer β_3 - Untereinheit, die zusammen einen funktionellen Komplex bilden. Die α_{IIb} - Untereinheit (GP IIb) hat ein Gesamtgewicht von 136 kDa. Sie besteht aus einer leichten (25 kDa), niedermolekularen, sich zytoplasmatisch und transmembranär befindenden Kette (light-

chain) und einer schweren (105 kDa), höhermolekularen, extrazellulär liegenden Kette (heavy-chain), die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (120, 24, 25). Die β_3 -Untereinheit (GP IIIa) hingegen ist einzelsträngig, besteht aus 762 Aminosäuren und weist ein Gewicht von 92 kDa auf. Sie besteht aus einer zytoplasmatischen, einer transmembranären und einer extrazellulären Domäne. Anhand von immunzytochemischen Untersuchungen wurde gezeigt, dass beide extrazellulär gelegenen Aminotermini der jeweiligen Integrinuntereinheiten gemeinsam die Ligandenbindungsstelle bilden, welche sich in der Mitte eines kugelförmigen Kopfes befindet (146). Doch auch die zytoplasmatischen Anteile der α_{IIb} - und β_3 - Untereinheiten beeinflussen die Regulation der Ligandenbindung. Während der intrazelluläre Anteil der α_{IIb} - Untereinheit die Affinitätsmodulation negativ verändert, verändert der zytoplasmatische Anteil der β_3 - Untereinheit sie positiv (64). Die Struktur des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ wurde anhand rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungen als kugelförmiger Kopf mit zwei Schwänzen identifiziert (64, 120).

Die zentrale Aufgabe des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ liegt darin, lösliches Fibrinogen an die aktivierte Thrombozytenoberfläche zu binden, Fibrinogenbrücken zwischen zwei GP IIb/IIIa-Molekülen zu ermöglichen und somit die Thrombozytenaggregation zu initiieren (primäre Aggregation). Unter physiologischen Bedingungen tragen zirkulierende Blutplättchen einen ruhenden, nicht aktivierten GP IIb/IIIa- Rezeptor an ihrer Zelloberfläche (120). In diesem niedrigaffinen Funktionszustand kann der Rezeptor lediglich immobilisiertes, nicht aber lösliches, plasmatisches Fibrinogen binden. Ein Ausbleiben dieser Bindung von löslichem Fibrinogen ist unter physiologischen Verhältnissen essentiell, um bei dem vorhandenen Überschuss von Fibrinogen im Plasma eine generelle Thrombozytenaggregation und damit einen thrombotischen Gefäßverschluss zu verhindern.

Erst bei einer Thrombozytenaktivierung, z.B. nach Gefäßwandverletzungen, kommt es innerhalb kurzer Zeit (Minuten) durch Konformationsänderung des Integrins zu einem aktivierten, hochaffinen Funktionszustand und somit zu einer Freilegung von Ligandenbindungsstellen. Diese ermöglichen schließlich eine Bindung von löslichem Fibrinogen an die Thrombozytenoberfläche (53). Zusätzlich werden noch andere Adhäsionsmoleküle, die sich im Plasma befinden oder im Subendothel vorkommen, wie Fibronectin, Vitronectin oder von-Willebrand-Faktor, gebunden.

Die Bindung der beiden Untereinheiten des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ mit entsprechenden Liganden wird über spezifische Aminosäuresequenzen ermöglicht. Die Bindung von löslichem

Fibrinogen an den GP IIb/IIIa- Komplex erfolgt über die RGD- (Einbuchstaben-Abkürzung für die Aminosäuresequenz Arginin-Glycin-Asparaginsäure) Sequenz auf der α - Kette des Fibrinogens, welche von der Integrinuntereinheit β_3 erkannt wird, sowie über die KQAGDV (Lysin-Glutaminsäure-Alanin-Asparaginsäure-Glycin-Valin) -Sequenz auf der γ - Kette des Fibrinogens, die von der Integrinuntereinheit α_{IIb} erkannt wird. Die RGD-Sequenz findet sich außer beim Fibrinogen noch bei einer ganzen Reihe von Liganden, so beim von-Willebrand-Faktor, beim Fibronectin, Thrombospondin, Vitronectin, Laminin und Kollagen Typ1.

Die Bindung von Fibrinogen an den aktivierten GP IIb/IIIa- Rezeptor induziert eine weitere Konformationsänderung des Rezeptors mit Freilegung von kryptischen Epitopen, den ligandeninduzierten Bindungsstellen (LIBS). Die ligandeninduzierte Konformationsänderung des Rezeptors reguliert Mechanismen, welche an der transmembranären Signaltransduktion und der irreversiblen Fibrinogenbindung am Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ beteiligt sind (120, 121).

Da thrombozytäre Glykoprotein-Rezeptoren einen so wichtigen Stellenwert in der Thrombozytenfunktion einnehmen, und zwar sowohl in der Adhäsionsphase (GP Ib-IX-V, Integrin-Kollagenrezeptor $\alpha_2\beta_1$ und GP VI) als auch in der späteren Phase der Thrombusentstehung (Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$), erscheint es als plausibel, bestehende Polymorphismen dieser Integrine als eventuelle Risikofaktoren für Komplikationen, die mit der Hämostase in Zusammenhang stehen, zu sehen.

1.3.2. Der GP IIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus

Plättchenmembranglykoproteine sind hochgradig polymorph (83). Insgesamt wurden bislang 5 häufige und 12 seltene plättchenspezifische Alloantigensysteme beschrieben, die auf den 5 Plättchenmembranglykoproteinen GP1a, GP1b_α, GP1b_β, GPIIb und GPIIIa lokalisiert werden konnten. Sie unterscheiden sich jeweils durch eine einzige Basenpaarsubstitution, die lediglich zum Austausch einer Aminosäure im entsprechenden Molekül führt.

Diese Alloantigensysteme sind für eine Reihe klinisch relevanter Erkrankungen verantwortlich: Die neonatale alloimmune Thrombozytopenie (NATP), die „post transfusion purpura“ (PTP) und die Zerstörung transfundierter Thrombozyten (7, 82).

Die meisten dieser Alloantigensysteme befinden sich auf dem Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$. Dementsprechend ist dieses Integrin das Hauptziel der antithrombozytären Antikörper und damit verantwortlich für die oben genannten Erkrankungen. So sind zur Zeit 3 natürlich vorkommende Allelisoformen der α_{IIb} -Integrinuntereinheit (GPIIb) und 9 Allelisoformen der β_3 -Integrinuntereinheit (GPIIIa) bekannt (109, 134-139, 156, 157, 79, 80, 91, 111, 119, 144, 141).

Im Chromosom 17 ist die β_3 - Integrinuntereinheit auf einer Länge von 46 kb codiert (168). Sie besteht aus 14 Exons mit einer Länge von 90 bp bis 3618 bp und beinhaltet insgesamt 762 Aminosäuren.

1959 wurde der $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus zum ersten Mal bei einer 51 Jahre alten Patientin beschrieben, die 5 Tage nach einer intraoperativ erhaltenen Bluttransfusion eine schwere Thrombozytopenie entwickelte (150). Dieses Epitop wurde dann von Kunicki und Aster auf dem GP IIIa lokalisiert (81).

Bei diesem steht im Exon 2 der β_3 - Integrinuntereinheit an der Position 1565 das Nukleotid Cytosin anstelle des Nukleotids Thymidin (109). Daraus resultiert, daß Personen mit der Aminosäure Leucin an der Stelle 33 in ihrem GP IIIa das PI^{A1} (Human Platelet Antigen HPA-1a)- Antigen auf den Thrombozyten exprimieren, während Personen mit der Aminosäure Prolin an Position 33 im GP IIIa das Antigen PI^{A2} (HPA-1b) exprimieren. Bei diesem Genpolymorphismus gibt es nur zwei Allel-Varianten und damit lediglich drei mögliche Genotypen: $GP PI^{A1/A1}$, $GP PI^{A1/A2}$ und $GP PI^{A2/A2}$. Man spricht auch von einem diallelischen System. Der Austausch eines einzigen Basenpaares (bp) in den kodierenden Genen (SNP) ist in vielen Fällen für die Strukturpolymorphismen der thrombozytären Membranglykoproteine verantwortlich (105, 149).

Das Ersetzen einer aliphatischen durch eine zyklische Aminosäure führt zu einer signifikanten Konformationsänderung innerhalb der Sekundärstruktur des Membranproteins (109), wodurch eine alloantigene Determinante entsteht, die von T- und B- Lymphozyten erkannt wird (95).

Eine serologische Untersuchung durch Shulman und seine Kollegen an 452 zufällig ausgewählten Blutspendern in den U.S.A. gilt als Basis für die Normalverteilung des GP IIb/IIIa-Polymorphismus mit seinen genotypischen Ausprägungen PI^{A1} und/oder PI^{A2} innerhalb der westlich-kaukasischen Bevölkerung (142). Hierbei zeigte sich folgendes Bild:

PI ^{A1/A1}	→	73 %
PI ^{A1/A2}	→	24 %
PI ^{A2/A2}	→	3 %

Es gibt zu der Allelisoform (Pro₃₃Leu₄₀) des PI^{A1/A2}- Polymorphismus eine seltene Variante, bei der in der Position 40 Arginin anstelle von Leucin steht (Pro₃₃Arg₄₀). Sie scheint aber serologisch nicht von dem häufiger vorkommenden Isoallel unterschieden zu werden (148). Die folgende Tabelle zeigt die zwei häufigsten (plus eine Variante) und somit die relevanten der 9 Allelisoformen des β₃- Gens, deren Genfrequenzen und HPA-Determinanten (109):

Tab. 2 Allelisoformen des β₃-Gens, deren Genfrequenzen und HPA-Determinanten

Serol. Bez.	Allelisoform	Genfrequenz	HPA-Determinanten
PI ^{A1}	Leu ₃₃ Leu ₄₀ Arg ₆₂ Arg ₁₄₃ Pro ₄₀₇ Arg ₄₈₉ Arg ₆₃₆	0.85	1a, 10a, 4a, 7a, 6a, 8a
PI ^{A2}	Pro ₃₃ Leu ₄₀ Arg ₆₂ Arg ₁₄₃ Pro ₄₀₇ Arg ₄₈₉ Arg ₆₃₆	0.15	1b, 10a, 4a, 7a, 6a, 8a
PI ^{A2} (Variante)	Pro ₃₃ Arg ₄₀ Arg ₆₂ Arg ₁₄₃ Pro ₄₀₇ Arg ₄₈₉ Arg ₆₃₆	0.005	1b, 10a, 4a, 7a, 6a, 8a

Bis Mitte der neunziger Jahre war das Hauptziel der Erforschung des PI^A-Polymorphismus eine Verbesserung in Diagnostik und Therapie der oben genannten Erkrankungen (Neonatale Alloimmune Thrombozytopenie, Post Transfusion Purpura). Erst 1996 erregte eine Studie von Weiss et al. aus einem anderen Grund großes Interesse am GP IIb/IIIa PI^{A1/A2}- Polymorphismus. Sie zeigte auf, dass in einer Gruppe von 71 Patienten mit Myokardinfarkt

und instabiler Angina pectoris die Prävalenz des HPA-1b-Allels (PI^{A2}) doppelt so hoch war, wie in der Vergleichsgruppe; und sogar 3,6 mal so hoch unter den Patienten, deren koronare Herzkrankheit vor dem 60. Lebensjahr entdeckt wurde (158).

1999 sahen Salido et al. einen Zusammenhang dieses Polymorphismus mit akuten Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantationen (132).

1.4. Kardiovaskuläres Risiko und GP IIb/IIIa

Ischämische kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die häufigste Todesursache in industrialisierten Ländern dar. Thrombozyten nehmen dabei, insbesondere im Rahmen akuter ischämischer Komplikationen, eine Schlüsselstellung ein (53-55, 69, 49, 37, 47). Die 1999 in vitro durchgeführte Framingham Offspring Studie, die den $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und die thrombozytäre Reaktivität bei 1422 Patienten untersuchte, zeigte einen Zusammenhang des PI^{A2} - Allels mit höheren Fibrinogenkonzentrationen und einer erhöhten Thrombozytenaggregation (43). Manche in vitro -Studien bestätigen diese Resultate, während andere dies nicht konnten bzw. eine Hypoaggregation im Zusammenhang mit dem Polymorphismus zeigten.

Nach den ersten Hinweisen, dass thrombozytäre Polymorphismen das Adhäsions- und Aggregationsverhalten der Thrombozyten, also die Thrombusentstehung beeinflussen, sahen als erste – wie oben bereits angeführt – Weiss et al. 1996 einen direkten Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und dem akuten Koronarsyndrom (158). In weiteren Studien wurden Hypothesen aufgestellt, die einen Zusammenhang mit der Restenoserate nach koronarer Stentimplantation und nach einer Angioplastie, mit Hirninsulten, Venenthrombosen und schließlich mit akuten Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantationen sahen. Diese Ergebnisse wurden durch einige Studien bestätigt, durch andere widerlegt. Die folgende Tabelle führt alle bisher veröffentlichten Studien auf:

Tab. 3 Sämtliche Studien zur Assoziation des GPIIb/IIIa P1^{A1/A2}- Polymorphismus mit kardiovaskulären Endpunkten

Autor/Jahr	Thema	Patientenzahl	Risikofaktor
Weiss EJ. Et al. / 1996	MI ¹ (Junge Individuen)	71	Ja
Carter AM. Et al. / 1996	MI (Junge Individuen)	405	Ja
Osborn SV. et al. / 1996	MI (Junge Individuen)	66	Nein
Herrmann SM. Et al. / 1997	MI (Junge Individuen)	620	Nein
Ridker PM. et al. / 1997	MI (Junge Individuen)	1408	Nein
Samani NJ. et al. / 1997	MI (Junge Individuen)	242	Nein
Hato T et al. / 1997	MI (Junge Individuen)	88	Nein
Zotz RB. et al. / 1998	MI (Junge Individuen)	298	Ja
Durante-Mangoni E. / 1998	MI (Junge Individuen)	114	Nein
Gardemann A. et al. / 1998	MI (Junge Individuen)	2252	Nein
Mamotte CD. et al. / 1998	MI (Junge Individuen)	589	Nein
Scaglione L. et al. / 1998	MI (Junge Individuen)	98	Nein
Joven J. et al. / 1998	MI (Junge Individuen)	250	Nein
Anderson JL. et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	791	Ja
Mikkelsson J. et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	300	Ja
Tereshchenko SN. et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	58	Ja
Ardissino D. et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	200	Ja
Melus V. et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	40	Ja
Marian AJ. Et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	180	Nein
Kekomaki S. et al. / 1999	MI (Junge Individuen)	133	Nein
Bottiger C. et al. / 2000	MI (Junge Individuen)	2131	Nein
Auguadro C. et al. / 2002	MI (Junge Individuen)	164	Ja
Benze G. et al. / 2002	MI (Junge Individuen)	287	Nein
Rosenberg N. et al. / 2002	MI (Junge Individuen)	807	Nein
Bojesen SE. et al. / 2003	MI (Junge Individuen)	9149	Ja
Lagercrantz J. et al. / 2003	MI (Junge Individuen)	369	Nein
Grove EL. Et al. / 2004	MI (Junge Individuen)	1019	Ja
Park S. et al. / 2004	MI (Junge Individuen)	1073	Nein
Corral J. et al. / 1997	KHK	103	Nein
Garcia-Ribes M. et al. / 1998	KHK	100	Ja
Gardemann A. et al. / 1998	KHK	2252	Ja

¹ Myokardinfarkt

Mamotte CD. et al. / 1998	KHK	589	Nein
Zotz RB. et al. / 1998	KHK	3261	Nein
Garg U.C. et al. / 1998	KHK	1292	Nein
Mikkelsson J. et al. / 1999	KHK	300	Ja
Goodall AH. et al. /1999	KHK	70	Ja
Anderson JL. et al. / 1999	KHK	791	Nein
Kekomaki S. et al. / 1999	KHK	133	Nein
Bottiger C. et al. / 2000	KHK	2131	Nein
Aleksic N. et al. / 2000	KHK	439	Nein
Grove EL. Et al. / 2004	KHK	1019	Nein
Walter DH. et al. / 1997	Restenose nach Stent	318	Ja
Kastrati A. et al. /1999	Restenose nach Stent	1150	Nein
Laule M. et al. / 1999	Restenose nach Stent	1000	Nein
Gorchakova O. et al. / 2004	Reperfusion nach MI	292	Nein
Mamotte CD. et al. / 1998	Restenose nach Angioplastie	589	Nein
Laule M. et al. / 1999	Restenose nach Angioplastie	1000	Nein
Corral J. et al. / 1997	Hirninsult	103	Nein
Ridker PM. et al. / 1997	Hirninsult	1408	Nein
Carlsson LE. et al. / 1997	Hirninsult	218	Nein
Wagner KR. et al./ 1998	Hirninsult	65	Nein
Kekomaki S. et al. / 1999	Hirninsult	133	Nein
Pongracz E. et al. / 2001	Hirninsult	100	Nein
Ridker PM. et al. / 1997	Venenthrombose	1408	Nein
Renner W. et al. / 2001	Venenthrombose	206	Nein
Salido E. et al. / 1999	Akute Transplantatabstoßung	119	Ja

Insgesamt fanden sich in 39 der 55 Studien keine positiven Ergebnisse. Keinen Zusammenhang fand man beim Myokardinfarkt in 18 von 28 Studien, bei der KHK 10 von 13, bei der Restenose 2 von 3, bei der Reperfusion nach Myokardinfarkt eine von einer, bei der Restenose nach Angioplastie zwei von zweien, beim Hirninsult 6 von 6, bei der Venenthrombose zwei von zweien.

Eine Meta-Analyse von Zhu MM. et al. aus dem Jahr 2000 berücksichtigt alle bis Ende 1999 veröffentlichten Studien zu diesem Thema und schlussfolgert, dass es keine signifikante Korrelation zwischen dem GPIIb/IIIa P1^{A1/A2}- Polymorphismus als Risikofaktor und Myokardinfarkten gibt (167).

Salido et al. stellten im Jahr 1999 eine Studie vor, in der sie einen Zusammenhang zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und akuten Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantationen sahen (132). Demnach hatten Patienten, die PI^{A2} - positiv (also entweder heterozygot $PI^{A1/A2}$ oder homozygot $PI^{A1/A2}$) waren, signifikant mehr akute Abstoßungsreaktionen als die PI^{A2} - negativen Patienten.

Ein möglicher Zusammenhang des GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus mit der chronischen Transplantatnephropathie wurde bisher nicht untersucht.

1.5. Hypothese und Fragestellung

Ist der GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus ein unabhängiger Risikofaktor im Zusammenhang bei der Entwicklung kardiovaskulärer Ereignisse bei Nierentransplantationen?

Gibt es einen direkten Zusammenhang des GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus mit akuten Transplantatabstoßungsreaktionen, mit der Entwicklung einer chronischen Transplantatnephropathie oder mit dem Transplantatüberleben?

2. Material und Methoden

2.1. Patienten und klinische Parameter

2.1.1. Patientenkollektiv

Insgesamt konnten 543 nierenkranke Patienten aufgrund vollständiger Daten in die Studie aufgenommen werden. Alle hatten über einen Zeitraum von 1984 bis 1999 im Transplantationszentrum des Universitäts-Campus Benjamin Franklin in Berlin eine Niere erhalten. Selektiert wurden die Patienten aus einer Gesamtkohorte von 891 Patienten nach der Verfügbarkeit peri-operativer Daten. Grundvoraussetzung war ein *follow-up* von mindestens einem Jahr bezüglich Transplantat- und Patientenüberleben. Alle Patienten waren kaukasischer Abstammung.

Das Studienprotokoll ist von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin (heute Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin) genehmigt worden, und alle in die Studie eingeschlossenen Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis.

2.1.2. Gewinnung der klinischen Daten

Das Extrahieren und Zusammenführen der Daten erfolgte entweder durch manuelle Auswertung der Patientenakten und Eintrag in eine Microsoft Access Datenbank oder durch *download* von der Datenbank des (European) Collaborative Transplant Study (CTS, 160), soweit dort vollständige Datensätze vorlagen. Patienten- und Transplantatüberleben wurden in regelmäßigen Abständen prospektiv alle 6 Monate bis August 2003 überprüft. Die beteiligten Patienten stellten sich mindestens ein mal pro Jahr zur Kontrolluntersuchung vor, wobei klinische und Labordaten erhoben wurden. Die laufenden Patientendaten wurden in einer Datenbank zur Qualitätskontrolle des Nierentransplantationsprogramms des Transplantationszentrums Berlin-Steglitz (Time Dependent Studies, TDS, Prof. Dr. G. Offermann) verwaltet und zur statistischen Auswertung vorbereitet.

Eine akute Abstoßungsreaktion wurde klinisch vermutet bei Patienten mit plötzlich ansteigendem Serum-Kreatininwert, und/oder Transplantatschmerzen ohne Infektnachweis und/oder einer plötzlich angestiegenen Proteinurie. Bei Abstoßungsverdacht wurde eine histologische Untersuchung eines Nierentransplantats durchgeführt. Eine akute Abstoßung

wurde gesichert durch histologische Merkmale wie eine (peri-) tubuläre und/oder endotheliale Leukozyteninfiltration und die nachfolgende Behandlung mit einem Steroidbolus sowie ggf. intensiverer Langzeit-Immunsuppression.

Sämtliche Patienten erhielten eine Dreifach-Standard-Immunsuppression, bestehend aus niedrig-dosierten Kortikoiden, Cyclosporin A (Ziel-Werte 110-150 ng/μl) oder Tacrolimus (5-10 ng/ml, ab 1997) und Azathioprin (50 mg/Tag) oder Mycophenolat Mofetil (1–2 g/Tag, ab 1996). Die Calcineurin-Inhibitoren (Cyclosporin A oder Tacrolimus) wurden im Fall einer klinisch oder histologisch vermuteten Toxizität abgesetzt und durch eine alternative Immunsuppression ersetzt. Für die Therapie des Bluthochdrucks wurden systematisch Calcium-Antagonisten, β - oder α -Blocker verabreicht. ACE-Hemmer und Angiotensinrezeptor-Antagonisten waren bei Nichtvorhandensein einer Stenose der Transplantatarterie sowie einer Steigerung des Serum-Creatinin-Wertes um weniger als 25 % nach Therapiebeginn erlaubt.

Anhand eines speziellen Punktesystems (mmp = mismatch points) wurden je nach Unverträglichkeit der HLA (Human Leucocyte Antigen)- Systeme Mismatch-Punkte verteilt. So entsprachen eine Nichtübereinstimmung im HLA-A System 1 mmp, im B-System 3 mmp und im DR-System 5 mmp.

Neben der Anzahl der Abstoßungsreaktionen und der HLA-Kompatibilität wurden die kalte Ischämie-Zeit, Spender- und Empfängeralter sowie die ursächliche Nierenerkrankung festgehalten und berücksichtigt.

Die Todesursachen wurden durch Durchsicht der klinischen Akten und Feststellung im Arztbrief registriert und in die Ursachengruppen kardiovaskulär, infektbedingt, malignitätsbedingt, sonstige oder unklar eingeteilt.

2.2. Methoden

2.2.1. DNA-Extraktion

Die DNA wurde aus peripheren weißen Blutkörperchen mit Hilfe einer Säulenextraktionstechnik (Firma Qiagen, Hilden, Deutschland) gewonnen. Dabei wird das Lysat von Lymphozyten auf eine Säule mit einer DNA-selektiven Membran gegeben und nach mehreren Waschschritten zur Aufreinigung letztlich in eine Flüssigphase eluiert. Ein Teil der DNA- Proben wurde aus der Collaborative Transplant Study (160), Prof. Dr. G. Opelz, Heidelberg, nach Alliquotierung übernommen.

2.2.2. PCR

Die PCR beruht auf der spezifischen Vervielfältigung (Amplifizierung) von DNA-Fragmenten bestimmter Länge. Zwischen Oligonukleotid-Paaren (Primer) kann das gewünschte DNA-Fragment mittels einer DNA-Polymerase und Desoxynukleotiden synthetisiert werden (107).

Zur Untersuchung des GP IIb/IIIa- Polymorphismus mit seinen genotypischen Ausprägungen PI^{A1} und/oder PI^{A2} (im folgenden als „Genotyp“ bezeichnet) wurde die PCR dieser Studie mit 0.5 mmol eines jeden Primers durchgeführt. Des Weiteren waren im Reaktionsansatz ein Reaktionspuffer, bestehend aus 50 mmol KCL, 10 mmol Tris-HCL (pH 8.8 bei 25°C), 1.5 mmol MgCl₂ und 0,1 % Triton-X-100, die Taq DNA - Polymerase (1U) und 0.1 mmol dNTP. Die beiden Oligonukleotid-Primersequenzen (sense und antisense) sind die folgenden:

GPIIIa-1 5' - CTT AGC TAT TGG GAA GTG GTA GG
 GPIIIa-2 5' - ACT GAC TTG AGT GAC CTG GGA G

Die extrahierte DNA wurde nach initialer Denaturierung in einem DNA-Thermocycler amplifiziert :

Negative Kontrollen (pro Ansatzplatte drei – eine Platte enthielt 96 Proben) wurden mit destilliertem Wasser durchgeführt. Die folgende Tabelle fasst die Schritte der PCR zusammen:

Tab. 4 Schritte der PCR zum Nachweis des Genotyps

Amplifikation	Temperatur	Zeit	Zyklen
Initiale Denaturierung	94°C	3 min	1
Denaturierung	94°C	1 min	35
Annealing (Anlagerung)	62°C	1 min	35
Polymerisation (Extension)	72°C	1 min	35
Abschlussphase	72°C	10 min	1

2.2.3. Restriktion

Spezifische Punktmutationen können nach Amplifikation der DNA an Hand von Restriktionsnukleasen (Restriktionsenzymen) nachgewiesen werden. Hierbei wird das PCR-Amplifikat an bestimmten Erkennungssequenzen durch die Enzyme geschnitten und so gespalten. Das amplifizierte, noch ungeschnittene DNA-Produkt zum Nachweis des GPIIb/IIIa PIA1/A2- Polymorphismus hat eine Länge von 256 bp. Dieses Amplifikat wurde in unserer Studie mit dem Restriktionsenzym Msp I (10 U) bei 37°C für 3 h verdaut. Die Restriktionsnuklease Msp I erkennt die DNA an folgender Erkennungssequenz und schneidet sie an der mit dem Pfeil markierten Stelle:

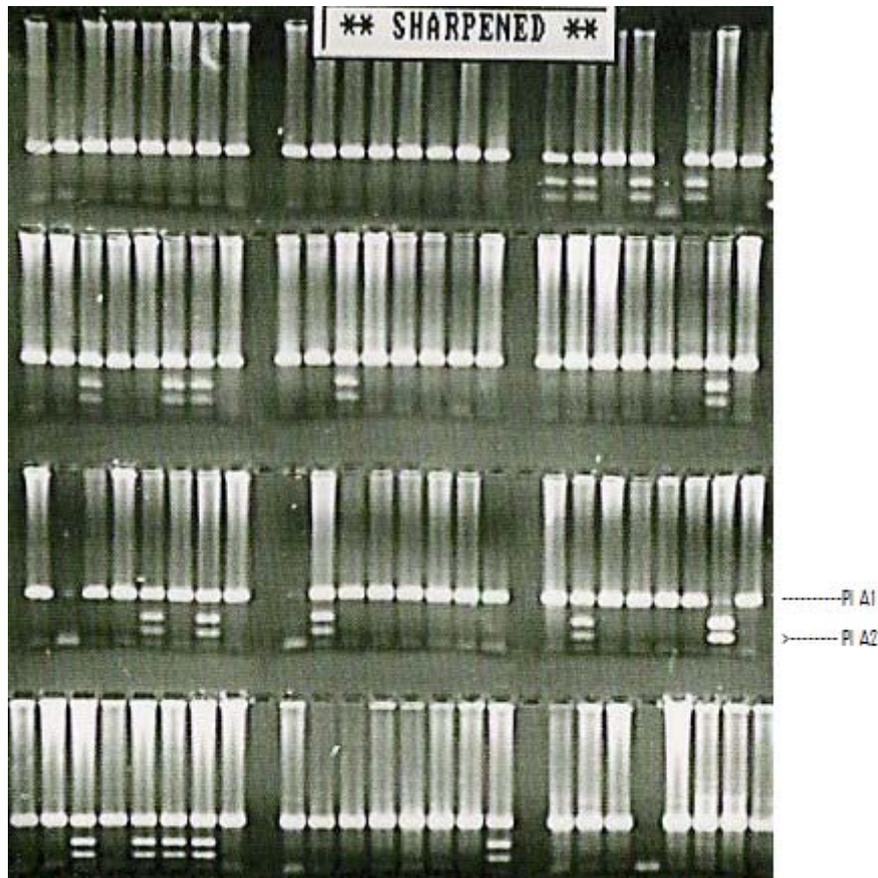


Es resultieren dann bei den geschnittenen Proben, also den PI^{A2}-positiven Patienten, zwei Fragmente von 154 bp und 102 bp, die mittels Gelelektrophorese zu sehen sind. Bei den PI^{A1}-positiven Patienten hingegen bleibt das ungeschnittene DNA-Amplifikat mit 256 bp bestehen.

2.2.4. Gelelektrophorese

Bei der Gelelektrophorese für den Nachweis der PCR-Amplifikate nach erfolgter Restriktion wandern die DNA-Fragmente im elektrischen Feld aufgrund ihrer negativ geladenen Phosphatgruppen zur Anode. Kleinere DNA-Fragmente wandern dabei schneller als größere. Die Gelelektrophorese wurde auf 3,5 % Aggarose-Gel durchgeführt und die DNA-Banden unter UV-Licht nach Färbung mit Ethidiumbromid visualisiert.

Abb. 1 Repräsentative Gelelektrophorese mit Genotyp PI^A1 , PI^A2 und heterozygotem Genotyp PI^{A1A2}



2.2.5. Statistik

Alle Daten werden als Mittelwerte \pm Standardabweichungen oder als Verhältnis (%) angegeben. Kontinuierliche Variablen wurden mit Hilfe des so genannten „*two-sided Student's t Tests*“ verglichen. Kategorische Variablen wurden an Hand des χ^2 - Testes ausgewertet. Für die Auswertung der Überlebensdaten wurde das SPSS[®]- Programm für Windows[™] verwendet. Zur Untersuchung des Einflusses der Genotypen wurden univariate und multivariate Überlebensanalysen nach *KAPLAN-MEIER* und *COX* durchgeführt. Um die Rolle von anderen nicht-genetischen Einflussgrößen in Bezug auf das Patienten- und Transplantatüberleben zu untersuchen, wurden klinische, anthropometrische und immunologische Parameter mit vermuteter Auswirkung auf das Transplantat- oder

Patientenüberleben einer zweistufigen „COX- Analyse“ unterzogen. Signifikanzen werden angegeben, wenn der p-Wert kleiner als 0,05 gefunden wurde.

3 Ergebnisse

3.1. Genotyp- und Allelverteilung

Bei den 543 Empfängern und den dazugehörenden Spendern wurde folgende Verteilung der genetischen Merkmale gefunden:

Tab. 5 Genotypverteilung bei Spendern und Empfängern

	Genotyp		
	PI ^{A1} /PI ^{A1} [n, (%)]	PI ^{A1} /PI ^{A2} [n, (%)]	PI ^{A2} /PI ^{A2} [n, (%)]
Empfänger	409 (75,4)	127 (23,3)	7 (1,3)
Spender	383 (70,6)	141 (25,9)	19 (3,5)

Damit ergibt sich bei den Empfängern und Spendern eine Frequenz des PIA1- Allels von 87% bzw. 84%. Das Hardy-Weinberg-Äquilibrium für die Genotypverteilung wird nicht verletzt und die Allel- und Genotypverteilung ist bei Spendern und Empfängern nicht signifikant unterschiedlich.

Außerdem sind die Daten mit den Ergebnissen der Studie von Shulman (142) vergleichbar, die als Basis für die Normalverteilung bei der westlich-kaukasischen Bevölkerung gilt.

Anthropometrische, perioperative und immunologische Daten sowie Spendercharakteristika in Abhängigkeit vom Genotyp werden in Tabelle 6 dargestellt. Es zeigte sich, dass die untersuchte Population keine signifikanten Unterschiede zwischen den genotypischen Gruppen beinhaltete und somit zufällig verteilt war.

Tab. 6 Charakteristika der Studienpopulation abhängig vom Genotyp

	Empfänger-Genotyp			Alle N = 543
	PI ^{A1} /PI ^{A1} N = 409	PI ^{A1} /PI ^{A2} N = 127	PI ^{A2} /PI ^{A2} N = 7	
Männer (%)	61,8	51,2	57,1	59,3
Empfängeralter (Jahre)	44,3 ± 12,8	42,9 ± 13,5	57,1 ± 7,76	44,2 ± 13,0
Spenderalter (Jahre)	42,9 ± 16,0	43,1 ± 17,6	50,7 ± 10,9	43,0 ± 16,4
Kalte Ischämiezeit (Stunden)	19,5 ± 8,0	22,0 ± 7,91	19,4 ± 5,06	20,1 ± 8,0
Dialysemonate vor Tx	27,4 ± 29,5	25,6 ± 26,2	19,4 ± 17,2	26,9 ± 28,6
HLA-mismatch (Punkte)	6,22 ± 4,83	6,2 ± 4,9	6,29 ± 4,79	6,22 ± 4,8
Lebendspenden (%)	5,6	1,6	0	4,6
Mehr als erste Transplant. (%)	17,3	21,3	14,3	18,2
Anteil diab. Nephropathie als Grunddiagnose (%)	8,1	12,6	0	9,0

3.2. Verlauf nach Nierentransplantation

3.2.1. Abstoßungsreaktionen

Zunächst wurden die Anzahl akuter Rejektionen und das globale Transplantatüberleben ausgewertet.

Es fand sich kein Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Anzahl akuter Abstoßungen (Tab.7).

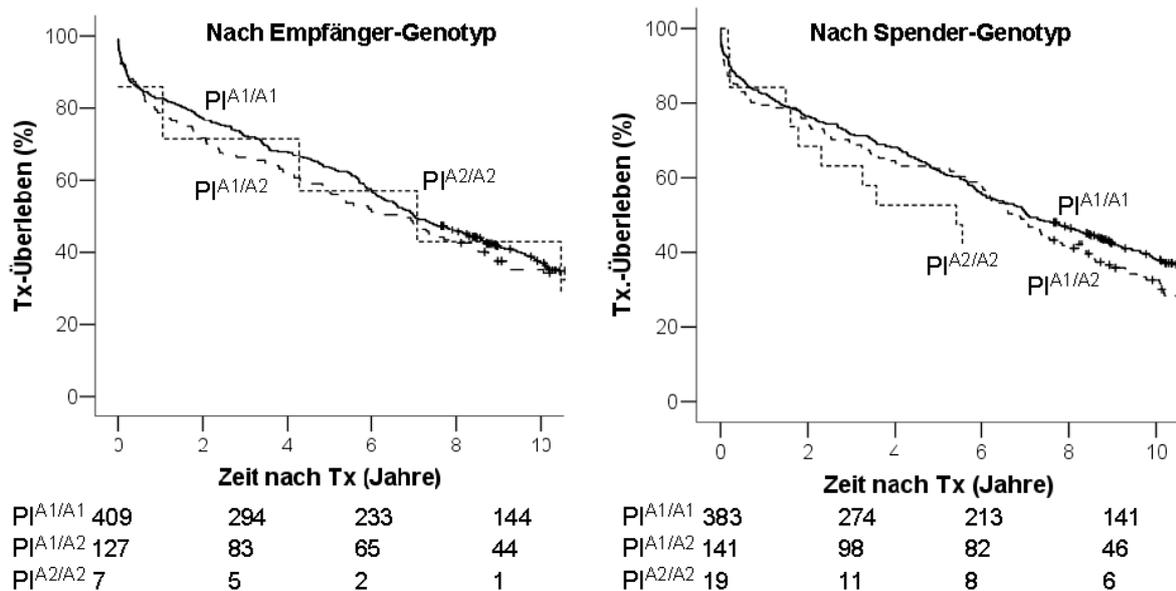
Tab. 7 Anzahl akuter Abstoßungen bei Empfängern und Spendern

Anzahl akuter Abstoßungen	Empfänger-Genotyp n (%)			Spender-Genotyp N (%)		
	PI ^{A1} /PI ^{A1}	PI ^{A1} /PI ^{A2}	PI ^{A2} /PI ^{A2}	PI ^{A1} /PI ^{A1}	PI ^{A1} /PI ^{A2}	PI ^{A2} /PI ^{A2}
0 oder nicht bekannt	301 (74)	94 (74)	5 (71)	277 (72)	104 (74)	19 (100)
1	81 (20)	20 (16)	2 (29)	76 (20)	27 (19)	-
2	19 (4)	10 (8)	-	20 (5)	9 (6)	-
>2	8 (2)	3 (2)	-	10 (3)	1 (1)	-

3.2.2. Transplantatüberleben und Genotyp

Zwischen Transplantatüberleben und Genotypverteilung zeigte sich in der univariaten *KAPLAN-MEIER*-Analyse kein signifikanter Zusammenhang (Abb. 2).

Abb. 2 Transplantatüberleben nach Spender- und Empfänger-Genotyp



Zur Korrektur für andere Einflussfaktoren wurde eine zweistufige multivariate Überlebens-Regressionsanalyse nach Cox für die bekannten Einflussgrößen auf das Transplantatüberleben durchgeführt (Tab. 8). Die Kovariablen wurden laut ihrer Reihenfolge in Tab. 8 in das Modell eingeschlossen.

Tab. 8 Kovariable

Variable	Koeffizient (B)	Signifikanz (p)
Empfängeralter	10,9	0,001
Nephrologische Grunddiagnose	6,8	0,662
Kalte Ischämiezeit	0,111	0,739
Spenderalter	12,0	0,001
Spendergeschlecht	1,37	0,243
Empfängergeschlecht	0,515	0,473
Zeit vor Tx unter Dialysebehandlung	0,021	0,885

Dabei zeigte sich, dass Spender- und Empfängeralter signifikant mit dem Überleben des Transplantats assoziiert waren. Anschließend wurden diese als signifikant gefundenen Variablen als einzige Kovariable in eine sekundäre Cox-Analyse unter Einschluss der Genotypen der Empfänger und Spender eingefügt. In diesem Model wurde in allen Analyseverfahren (vorwärts, rückwärts, schrittweise) kein Zusammenhang zwischen Genotyp und Überleben des Transplantats gefunden.

3.2.3. Patientenüberleben und Genotyp

Die gleiche Vorgehensweise wurde sinngemäß zur Untersuchung des Einflusses des Genotyps auf das Patientenüberleben angewendet.

Dabei fanden sich weder in der Analyse nach *KAPLAN-MEIER* noch in der nach Cox signifikante Assoziationen zwischen den Genotypen von Spendern oder Empfängern mit dem Patientenüberleben. Das Gesamt-Patientenüberleben nach 9 Jahren (vgl. mit Transplantatüberleben in Abb. 2) betrug 66%, entspr. 187 Todesfällen. Während der gesamten Beobachtungszeit (max. 20 Jahre) verstarben 252 der 543 Patienten, was einer Gesamt-Überlebensrate von 54% entspricht.

3.2.4. Kardiovaskuläre Todesfälle und Genotyp

Von allen 252 Todesfällen waren 94 (37 %) durch kardiovaskuläre Komplikationen bedingt. In einer Analyse der Todesursachen fand sich keine signifikante Assoziation zwischen den Genotypen von Spendern und Empfängern und kardiovaskulären Todesfällen.

Tab. 9 Todesursachen nach Genotyp

Todesursache	Empfänger-Genotyp n (%)			Spender-Genotyp n (%)		
	PI ^{A1} /PI ^{A1}	PI ^{A1} /PI ^{A2}	PI ^{A2} /PI ^{A2}	PI ^{A1} /PI ^{A1}	PI ^{A1} /PI ^{A2}	PI ^{A2} /PI ^{A2}
Kardiovaskulär	68 (36)	25 (41)	1 (25)	75 (42)	17 (25)	2 (29)
Infektiös	41 (22)	12 (20)	-	33 (20)	18 (27)	2 (29)
Maligne	16 (9)	4 (6)	-	12 (7)	7 (10)	1 (14)
Sonstige	10 (5)	5 (8)	-	9 (5)	5 (7)	1 (14)
Unbekannt	52 (28)	15 (25)	3 (75)	48 (29)	21 (31)	1 (14)
Gesamt	187 (100)	61 (100)	4 (100)	167 (100)	68 (100)	7 (100)

4. Diskussion

In den durchgeführten Untersuchungen konnte keinerlei Zusammenhang zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und dem Verlauf nach Nierentransplantation gefunden werden. Dieses galt sowohl für die kardiovaskulären Ereignisse als auch für die akuten Abstoßungsreaktionen wie der chronischen Transplantatnephropathie.

Damit steht unsere Studie im Widerspruch zu der von Salido et al. aus dem Jahre 1999 (siehe Tab. 3 in der Einleitung). Diese Untersuchung beschäftigte sich als einzige ebenfalls mit der Patientenpopulation Nierentransplantierte und konnte einen Zusammenhang zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und akuten Abstoßungsreaktionen nach Nierentransplantationen sehen (132). Demnach hatten Patienten, die PI^{A2} - positiv (also entweder heterozygot $PI^{A1/A2}$ oder homozygot $PI^{A1/A2}$) waren, signifikant mehr akute Abstoßungsreaktionen als die PI^{A2} - negativen Patienten. So gab es bei 58.1 % der PI^{A2} - positiven akute Abstoßungsreaktionen gegenüber 35.5 % der PI^{A2} - negativen Patienten. Darüber hinaus hatten die PI^{A2} - positiven Patienten nicht nur mehr Abstoßungsreaktionen im Vergleich, sondern auch eine deutlich höhere Anzahl von Episoden akuter Abstoßungsreaktionen. Auch war das 2-Jahres-Transplantatüberleben signifikant geringer in der Gruppe der PI^{A2} - positiven Patienten. Auffallend in der Salido-Studie ist neben der geringen Anzahl der Patienten, nämlich 119, und einer dementsprechend geringen Aussagekraft die prozentuale Verteilung der PI^{A2} - positiven Patienten. So sind von ihnen 36 % PI^{A2} - positiv, im Gegensatz zu 15 bis 25 % der in der Literatur angegebenen Werte (siehe unten).

In der 1999 in vitro durchgeführten Framingham Offspring Studie, die den PI^A (HPA-1)- Genotyp und die thrombozytäre Reaktivität bei 1422 Patienten untersuchte, fand sich ein Zusammenhang des PI^{A2} -Allels mit höheren Fibrinogenkonzentrationen und einer erhöhten Thrombozytenaggregation (43). Manche in vitro Studien bestätigen diese Resultate, andere nicht bzw. zeigen das Gegenteil, nämlich eine Hypoaggregation im Zusammenhang mit dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus.

Seit der von Weiss EJ et al. 1996 veröffentlichten Studie über einen Zusammenhang zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und dem akuten Koronarsyndrom (158) wurden zahlreiche Arbeiten mit unterschiedlichen Ergebnissen publiziert. Die meisten Studien untersuchten den Zusammenhang mit kardiovaskulären Ereignissen, wie dem Myokardinfarkt, der KHK, der Restenoserate nach Implantation eines Stents, der

Reperfusion nach MI, der Restenose nach Angioplastie, dem Hirninsult und der Venenthrombose.

In 71 % der Studien (in 39 von 55) konnte sich kein Zusammenhang zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und kardiovaskulären Ereignissen finden. Auch Zhu MM et al. sahen in ihrer Meta-Analyse aus dem Jahr 2000 keine Korrelation zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und kardiovaskulären Ereignissen (167).

Immerhin sahen 29 % (16 der 55 Studien) den Polymorphismus als Risikofaktor.

Wie sind diese widersprüchlichen Ergebnisse zu interpretieren?

Die Heterogenität der verschiedenen Populationen und der unterschiedliche Aufbau der Studien erlauben nur begrenzte Aussagen über die verschiedenen Gen-Variationen.

So divergiert die Prävalenz des GPIIIa PI^{A2} - Allels in verschiedenen Bevölkerungen und Kontinenten sehr stark. Sie schwankt zwischen 0,5 % bei Koreanern, 3,7 % bei Japanern, 15 % bei Europäern und Amerikanern, und 26,5 % bei Nordeuropäern (78, 142, 143). Unsere Werte betragen um die 24 % und entsprachen denen der Shulman Studie (siehe Einleitung 1.3.2., Seite 18).

Auch die Patientenzahl der verschiedenen Arbeiten ist sehr unterschiedlich mit kleinen Populationen von lediglich 40 Patienten und großen mit 9149 Patienten. 55 % aller Studien (30 der 55) umfassten weniger als 320 Patienten und besitzen daher eine begrenzte Aussagekraft. Sieht man sich die großen Studien an (mehr als 500 Patienten), so zeigen 80 %, nämlich 16 Arbeiten von 20 keine Korrelation zwischen dem GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus und kardiovaskulären Ereignissen.

Daneben ist die Heterogenität der Studienpopulationen in Bezug auf Patientengeschlecht und Patientenalter zu erwähnen.

Auch ist der Aufbau einer Studie von großer Bedeutung. So gibt es sowohl retrospektive als auch prospektive Studien. Die retrospektiven Studien haben einen geringeren, eingeschränkten Aussagewert und können bestenfalls eine Tendenz anzeigen. Die Meta-Analyse von Zhu et al. aus dem Jahr 2000 hat zwar eine größere *Power*, ist aber ebenfalls auf Grund der unterschiedlich aufgebauten Studien mit ihren jeweiligen heterogenen Patientenpopulationen, kritisch zu betrachten. Bei unserer Studie handelt es sich um eine prospektiv angelegte Studie, bei der Transplantat- und Patientenüberleben in regelmäßigen Abständen alle 6 Monate bis August 2003 überprüft wurden. Die Idee, den GPIIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus an unserem Patientenkollektiv zu untersuchen, entstand allerdings später, so dass unsere Arbeit gewissermaßen retrospektiv analysiert wurde.

Ein wesentlicher Gesichtspunkt ist die unterschiedliche Definition kardiovaskulärer Ereignisse in den verschiedenen Studien. So definieren z.B. einige Arbeiten eine KHK als leise Ischämie, andere als instabile Angina Pectoris und wieder andere als akuten Myokardinfarkt (20, 31, 158). In unserer Studie wurden kardiovaskuläre Todesursachen nach klinischer Einschätzung und Auftreten schriftlich festgehalten.

Limitierend bei unserer Arbeit sind das Fehlen von Morbiditätsdaten wie das Auftreten von Myokardinfarkten, Hirninsulten, Venenthrombosen etc. sowie das Nichtvorhandensein von wichtigen Funktionswerten nach den Nierentransplantationen. So haben wir in dieser Studie weder Kreatininwerte im Verlauf oder eine Proteinurie noch andere klinische Parameter wie Blutdruck-, Cholesterin- oder Diabeteswerte untersucht. Positiv zu bewerten sind neben der Tatsache, dass es sich um eine prospektive Studie handelt, unsere Fallzahl von 543 Empfängern nebst den entsprechenden Spendern und die lange Studienzeit (16 Jahre), die es über die kritische akute Phase hinweg ermöglichte, auch die chronische Transplantatnephropathie zu beurteilen.

Ein weiterer zu diskutierender Aspekt ist die statistische Aussagekraft der verschiedenen Untersuchungen. Wenn man einen zehn prozentigen Unterschied in der Mortalität einer Allel-Gruppe annimmt, so hatte unsere Studie auf der Basis der gegebenen Fallzahl eine approximierete *power* zur Entdeckung dieses Unterschiedes von 100 %. Für einen Unterschied von 5 % betrug die *power* immer noch 65 %. Somit war unsere Studie groß genug, um relevante Auswirkungen des Genotyps auf das Überleben zu entdecken.

Ein anderer Faktor könnte die Tatsache sein, dass unsere Patientenkohorte eine bestimmte Gruppe, nämlich ausschließlich Nierenkranke betrifft. Man könnte spekulieren, dass Nierenkranke aus einem bisher noch unbekanntem Grund den genetischen Risikofaktor unterdrücken bzw. maskieren.

Auf der anderen Seite sind gerade Nierentransplantierte für diese Studie überaus interessant, da sie, wie bereits weiter oben erwähnt (siehe Kapitel 1.1.2., Seite 9), eine 3 bis 10 mal höhere Morbidität und Mortalität aufweisen, von der wiederum die kardiovaskuläre Mortalität zwischen 15 und 40 % beträgt (68, 73). Im Konzept der reversen Epidemiologie bei Niereninsuffizienz zeigt sich, dass sogenannte klassische Risikofaktoren wie Hyperlipidämie ihre Bedeutung verlieren, weil sie angesichts des massiv erhöhten Grundrisikos offensichtlich nicht durchdringen. In unserer Studie betrug die kardiovaskuläre Mortalität 39 % und war somit massiv erhöht gegenüber der Allgemeinbevölkerung.

Möglicherweise sind weitere bisher nicht untersuchte oder noch unbekannte Genvarianten am GP IIIa maßgeblich beteiligt. Vielleicht gibt es eine Interaktion des GPIIb/IIIa PI^{A1/A2}-Polymorphismus mit einem anderen Polymorphismus am GP IIIa- Gen. Dies könnte auch erklären, warum manche in vitro- Studien die Resultate bestätigten, andere hingegen nicht bzw. das genaue Gegenteil zeigten, nämlich eine Hypoaggregation im Zusammenhang mit dem GPIIb/IIIa PI^{A1/A2}- Polymorphismus (siehe Kapitel 1.4., Seite 19). Weitere genetische Untersuchungen werden in der Zukunft möglicherweise zeigen, dass einer dieser anderen Polymorphismen direkt mit den kardiovaskulären Ereignissen korreliert.

Der GP IIIa PI^{A1/A2}- Polymorphismus hat nach diesen Daten keine klinische Relevanz für die Nierentransplantation an sich und für den Verlauf nach Nierentransplantation.

5. Zusammenfassung

Wir untersuchten 543 Nierenempfänger und deren Spender über einen Zeitraum von 16 Jahren. Es konnte keinerlei Zusammenhang zwischen dem GP IIIa $PI^{A1/A2}$ -Polymorphismus und dem Transplantat- und Patientenüberleben nach Nierentransplantation gefunden werden.

Weder gab es signifikante Unterschiede im Hinblick auf die Anzahl akuter Abstoßungsreaktionen noch auf die chronische Transplantatnephropathie oder das Transplantatüberleben an sich zwischen den verschiedenen Genotyp-Gruppen.

Nach Berücksichtigung anderer Einflussgrößen wie der HLA-Kompatibilität, der kalten Ischämiezeit, des Spenderalters oder der ursprünglichen Nierenerkrankung konnte ebenfalls kein Zusammenhang mit dem GP IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus als Risikofaktor gesehen werden.

Auch bezüglich der kardiovaskulären Mortalität konnte kein Zusammenhang mit dem GP IIb/IIIa $PI^{A1/A2}$ - Polymorphismus als Risikofaktor aufgezeigt werden.

6. Danksagung

Danken möchte ich insbesondere meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. med. Joachim Beige, für seine Geduld, Unterstützung und Koordination, Herrn Prof. Dr. Offermann für die Etablierung des Steglitzer Transplantationsprogramms, welches die Arbeit erst möglich machte, Herrn Prof. Dr. Opelz und Frau Dr. Sabine Scherer (CTS) für die Übernahme der DNA-Proben aus Heidelberg. Dem verstorbenen Herrn Klaus Schlotter und Frau Brigitte Egbers für deren Hilfe im Labor. Auch Christiane Rinder und Ines Moosmeyer möchte ich meinen Dank aussprechen. Ebenso möchte ich mich bei meiner Lebensgefährtin Céline Viennet und bei meiner Familie bedanken, die mich alle unterstützt haben, diese Arbeit voranzubringen. Schließlich danke ich meinem Vater, Herrn Andreas Kühn, für sein kritisches Auge beim Korrekturlesen.

7. Literaturverzeichnis

1. Abou Ayache R, Bridoux F, Pessione F, Thierry A, Belmouaz M, Leroy F, Desport E, Bauwens M, Touchard G. Preemptive renal transplantation in adults. *Transplant Proc.* 2005 Jul-Aug;37(6):2817-8.
2. Achilles M. Lebendspende-Nierentransplantation, S. 108. *Studien der Moralthologie.* Band 30. 2004.
3. Aleksic N, Juneja H, Folsom AR, Ahn C, Boerwinkle E, Chambless LE, Wu KK. Platelet PI(A2) allele and incidence of coronary heart disease: results from the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) Study. *Circulation* 102: 1901-5, 2000.
4. Almond PS, Matas A, Gillingham K, Dunn DL, Payne WD, Gores P, Gruessner R, Najarian JS. Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation.* 1993 Apr;55(4):752-6;discussion756-7.
5. Anderson JL, King GJ, Bair TL, Elmer SP, Muhlestein JB, Habashi J, Carlquist JF. Associations between a polymorphism in the gene encoding glycoprotein IIIa and myocardial infarction or coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 33: 727-33, 1999.
6. Ardissino D, Mannucci PM, Merlini PA, Duca F, Fetiveau R, Tagliabue L, Tubaro M, Galvani M, Ottani F, Ferrario M, Corral J, Margaglione M. Prothrombotic genetic risk factors in young survivors of myocardial infarction. *Blood* 94: 46-51, 1999.
7. Aster RH. Clinical significance of platelet-specific antigens and antibodies. *Prog Clin Biol Res* 149: 103-18, 1984.
8. Auguadro C, Mortara A, Priori SG, Specchia G. GPIIb/IIIa polymorphism in patients with myocardial infarction. *Acta Cardiol* 57: 32-3, 2002.
9. Basar H, Soran A, Shapiro R, Vivas C, Scantlebury VP, Jordan ML, Gritsch HA, McCauley J, Rhandawa P, Irish W, Hakala TR, Fung JJ. Renal transplantation in recipients over the age of 60: the impact of donor age. *Transplantation.* 1999 Apr 27;67(8):1191-3.
10. Beige J, Kreuz R, Tscherkaschina I, Scherer S, Sharma AM, Zidek W, Offermann G. Matrix analysis for the dissection of interactions of G-protein beta3 subunit C825T genotype, allograft function, and posttransplant hypertension in kidney transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2002 Dec;40(6):1319-24.
11. Bennett JS. The molecular biology of platelet membrane proteins. *Semin Hematol* 27: 186-204, 1990.
12. Bennett JS. Integrin structure and function in hemostasis and thrombosis. *Ann N Y Acad Sci* 614: 214-28, 1991.

13. Bennett JS. Mechanisms of platelet adhesion and aggregation: an update. *Hosp Pract (Off Ed)* 27: 124-30, 133, 1992.
14. Bennett JS, Catella-Lawson F, Rut AR, Vilaire G, Qi W, Kapoor SC, Murphy S, FitzGerald GA. Effect of the PI(A2) alloantigen on the function of beta(3)-integrins in platelets. *Blood* 97: 3093-9, 2001.
15. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J Clin Invest* 115: 3363-9, 2005.
16. Benze G, Heinrich J, Schulte H, Rust S, Nowak-Gottl U, Tataru MC, Kohler E, Assmann G, Junker R. Association of the GPIa C807T and GPIIIa PIA1/A2 polymorphisms with premature myocardial infarction in men. *Eur Heart J* 23: 325-30, 2002.
17. Bleier AJ, Donaldson LA, McIntosh M, Adams PL. Relationship between underlying renal disease and renal transplantation outcome. *Am J Kidney Dis.* 2001 Jun;37(6):1152-61.
18. Bojesen SE, Juul K, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Platelet glycoprotein IIb/IIIa PI(A2)/PI(A2) homozygosity associated with risk of ischemic cardiovascular disease and myocardial infarction in young men: the Copenhagen City Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 42: 661-7, 2003.
19. Bottiger C, Kastrati A, Koch W, Mehilli J, Seidl H, Schomig K, von BN, Schomig A. HPA-1 and HPA-3 polymorphisms of the platelet fibrinogen receptor and coronary artery disease and myocardial infarction. *Thromb Haemost* 83: 559-62, 2000.
20. Bray PF, Cannon CP, Goldschmidt-Clermont P, Moye LA, Pfeffer MA, Sacks FM, Braunwald E. The platelet PI(A2) and angiotensin-converting enzyme (ACE) D allele polymorphisms and the risk of recurrent events after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 88: 347-52, 2001.
21. Brosig W, Nagel R. Clinical problems of kidney transplantations in humans. *Urologe.* 1965 Jan;23:1-8.
22. Brunkhorst R, Schlitt HJ. Kidney transplantation. Indications, results, pre- and postoperative care. *Internist (Berl).* 1996 Mar;37(3):264-71.
23. Bussel JB, Kunicki TJ, Michelson AD. Platelets: New Understanding of Platelet Glycoproteins and Their Role in Disease. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 222-40, 2000.
24. Calvete JJ, Henschen A, Gonzalez-Rodriguez J. Complete localization of the intrachain disulphide bonds and the N-glycosylation points in the alpha-subunit of human platelet glycoprotein IIb. *Biochem J* 261: 561-8, 1989.
25. Calvete JJ, Henschen A, Gonzalez-Rodriguez J. Assignment of disulphide bonds in human platelet GPIIIa. A disulphide pattern for the beta-subunits of the integrin family. *Biochem J* 274 (Pt 1): 63-71, 1991.

26. Calvete JJ, Schafer W, Mann K, Henschen A, Gonzalez-Rodriguez J. Localization of the cross-linking sites of RGD and KQAGDV peptides to the isolated fibrinogen receptor, the human platelet integrin glycoprotein IIb/IIIa. Influence of peptide length. *Eur J Biochem* 206: 759-65, 1992.
27. Calvete JJ. Clues for understanding the structure and function of a prototypic human integrin: the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex. *Thromb Haemost* 72: 1-15, 1994.
28. Calvete JJ. On the structure and function of platelet integrin alpha IIb beta 3, the fibrinogen receptor. *Proc Soc Exp Biol Med* 208: 346-60, 1995.
29. Calvete JJ. Structures of integrin domains and concerted conformational changes in the bidirectional signaling mechanism of alphaIIb beta3. *Exp Biol Med (Maywood)* 229: 732-44, 2004.
30. Carlsson LE, Greinacher A, Spitzer C, Walther R, Kessler C. Polymorphisms of the human platelet antigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-5 on the platelet receptors for fibrinogen (GPIIb/IIIa), von Willebrand factor (GPIb/IX), and collagen (GPIa/IIa) are not correlated with an increased risk for stroke. *Stroke* 28: 1392-5, 1997.
31. Carter AM, Ossei-Gerning N, Grant PJ. Platelet glycoprotein IIIa PIA polymorphism and myocardial infarction. *N Engl J Med* 335: 1072-3, 1996.
32. Carter AM, Ossei-Gerning N, Grant PJ. Platelet glycoprotein IIIa PIA polymorphism in young men with myocardial infarction. *Lancet* 348: 485-6, 1996.
33. Carter AM, Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ. Association of the platelet PI(A) polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and the fibrinogen Bbeta 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Circulation* 96: 1424-31, 1997.
34. Cecka JM. The UNOS Scientific Renal Transplant Registry—2000. *Clin Transpl.* 2000:1-18.
35. Chkhotua AB, Klein T, Shabtai E, Yussim A, Bar-Nathan N, Shaharabani E, Lustig S, Mor E. Kidney transplantation from living-unrelated donors: comparison of outcome with living-related and cadaveric transplants under current immunosuppressive protocols. *Urology.* 2003 Dec;62(6):1002-6.
36. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Iniesta JA, Lozano ML, Vicente V. HPA-1 genotype in arterial thrombosis—role of HPA-1b polymorphism in platelet function. *Blood Coagul Fibrinolysis* 8: 284-90, 1997.
37. Davies MJ. A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. *Circulation* 82: II38-II46, 1990.

38. Di CA, de GG, Donati MB, Iacoviello L. Platelet glycoprotein receptor IIIa polymorphism PLA1/PLA2 and coronary risk: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 85: 626-33, 2001.
39. Di CA, de GG, Benedetta DM, Iacoviello L. Platelet glycoprotein IIb/IIIa polymorphism and coronary artery disease: implications for clinical practice. *Am J Pharmacogenomics* 5: 93-9, 2005.
40. Dreikorn K. Kidney transplantation. *Urologe A*. 1994 Sep;33(5) :359.
41. Drücke TB, Abdulmassih Z, Lacour B, Bader C, Chevalier A, Kreis H. Atherosclerosis and lipid disorders after renal transplantation. *Kidney Int Suppl*. 1991 Apr;31:S24-8.
42. Durante-Mangoni E, Davies GJ, Ahmed N, Ruggiero G, Tuddenham EG. Coronary thrombosis and the platelet glycoprotein IIIA gene PLA2 polymorphism. *Thromb Haemost* 80: 218-9, 1998.
43. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, Schmitz C, Sutherland PA, Silbershatz H, D'Agostino RB, Muller JE, Myers RH, Levy D, Tofler GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PIA2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 1142-7, 1999.
44. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, O'Donnell CJ, Lipinska I, Sutherland PA, Mittleman M, Muller JE, D'Agostino RB, Levy D, Tofler GH. Platelet glycoprotein IIIa PI(a) polymorphism, fibrinogen, and platelet aggregability: The Framingham Heart Study. *Circulation* 104: 140-4, 2001.
45. Ferguson R. Acute rejection episodes – best predictor of long term primary cadaveric renal transplant survival. *Clin Transplant*. 1994 Jun;8(3 Pt 2):328-31.
46. First MR, Neylan JF, Rocher LL, Tejani A. Hypertension after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 1994 Feb;4(8 Suppl):S30-6.
47. Fitzgerald DJ, Roy L, Catella F, FitzGerald GA. Platelet activation in unstable coronary disease. *N Engl J Med* 315: 983-9, 1986.
48. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, O'Dea R, Murray DC, Barre PE. Mode of dialysis therapy and mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 1998 Feb;9(2):267-76.
49. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N Engl J Med* 326: 310-8, 1992.
50. Garcia-Ribes M, Gonzalez-Lamuno D, Hernandez-Estefania R, Colman T, Pocovi M, gado-Rodriguez M, Garcia-Fuentes M, Revuelta JM. Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis. *Thromb Haemost* 79: 1126-9, 1998.

51. Gardemann A, Humme J, Stricker J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W. Association of the platelet glycoprotein IIIa PIA1/A2 gene polymorphism to coronary artery disease but not to nonfatal myocardial infarction in low risk patients. *Thromb Haemost* 80: 214-7, 1998.
52. Garg UC, Arnett DK, Folsom AR, Province MA, Williams RR, Eckfeldt JH. Lack of association between platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor PIA polymorphism and coronary artery disease or carotid intima-media thickness. *Thromb Res* 89: 85-9, 1998.
53. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, Schiessler A, Schomig A. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation* 93: 229-37, 1996.
54. Gawaz M, Neumann FJ, Schomig A. Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease : consequences for diagnosis and therapy. *Circulation* 99: E1-E11, 1999.
55. Gawaz M. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. *Cardiovasc Res* 61: 498-511, 2004.
56. Giblin L, O'Kelly P, Little D, Hickey D, Donohue J, Walshe JJ, Spencer S, Conlon PJ. A comparison of long term graft survival rates between the first second donor kidney transplanted – the effect of a longer cold ischemic time for the second kidney. *Am J Transplant*. 2005 May;5(5):1071-5.
57. Goodall AH, Curzen N, Panesar M, Hurd C, Knight CJ, Ouwehand WH, Fox KM. Increased binding of fibrinogen to glycoprotein IIIa-proline33 (HPA-1b, PIA2, Zwb) positive platelets in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J* 20: 742-7, 1999.
58. Gorchakova O, Koch W, Mehilli J, von BN, Schwaiger M, Schomig A, Kastrati A. PIA polymorphism of the glycoprotein IIIa and efficacy of reperfusion therapy in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 91: 141-5, 2004.
59. Grove EL, Orntoft TF, Lassen JF, Jensen HK, Kristensen SD. The platelet polymorphism PIA2 is a genetic risk factor for myocardial infarction. *J Intern Med* 255: 637-44, 2004.
60. Hato T, Minamoto Y, Fukuyama T, Fujita S. Polymorphisms of HPA-1 through 6 on platelet membrane glycoprotein receptors are not a genetic risk factor for myocardial infarction in the Japanese population. *Am J Cardiol* 80: 1222-4, 1997.
61. Herrmann SM, Poirier O, Marques-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, Emmerich J, Cambien F. The Leu33/Pro polymorphism (PIA1/PIA2) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM Study. *Etude Cas-Temoins de l'Infarctus du Myocarde*. *Thromb Haemost* 77: 1179-81, 1997.

62. Hetzel GR, Grünberg W, Boltres A, Plum A, Grabensee B, Plum J. Influence of delayed graft function on glomerular hemodynamics and permselectivity in well-functioning renal allografts. *Transplant Proc.* 2002 Sep;34(6):2203-4.
63. Humar A, Payne WD, Sutherland DE, Matas AJ. Clinical determinants of multiple acute rejection episodes in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2000 Jun 15;69(11):2357-60.
64. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69: 11-25, 1992.
65. Incalcaterra E, Hoffmann E, Avena MR, Caimi G. Genetic risk factors in myocardial infarction at young age. *Minerva Cardioangiol* 52: 287-312, 2004.
66. Italiano JE, Jr., Lecine P, Shivdasani RA, Hartwig JH. Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. *J Cell Biol* 147: 1299-312, 1999.
67. Italiano JE, Jr., Bergmeier W, Tiwari S, Falet H, Hartwig JH, Hoffmeister KM, Andre P, Wagner DD, Shivdasani RA. Mechanisms and implications of platelet discoid shape. *Blood* 101: 4789-96, 2003.
68. Ivens K, Aker S, Grabensee B, Heering P. Incidence of cardiovascular risk factors and complications after kidney transplantation. *Med Klin (Munich)*. 1999 Sep 15;94(9):478-84.
69. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 24: 1591-601, 1994.
70. Joseph JT, Kingsmore DB, Junor BJ, Briggs JD, Mun WY, Jaques BC, Hamilton DN, Jardine AG, Jindal RM. The impact of late acute rejection after cadaveric kidney transplantation. *Clin Transplant* 15: 221-7, 2001.
71. Joven J, Simo JM, Vilella E, Camps J, Masana L, de FG, Camprubi M, Richart C, Bardaji A, Casao E, Pocovi M, Civeira F. Lipoprotein(a) and the significance of the association between platelet glycoprotein IIIa polymorphisms and the risk of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis* 140: 155-9, 1998.
72. Kahan BD. Cyclosporine: a revolution in transplantation. *Transplant Proc.* 1999 Feb-Mar;31(1-2A):14S-15S.
73. Kasiske BL, Guijaro C, Massy ZA, Wiederkehr MR, Ma JZ. Cardiovascular disease after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 1996 Jan;7(1):158-65.
74. Kastrati A, Schomig A, Seyfarth M, Koch W, Elezi S, Bottiger C, Mehilli J, Schomig K, von BN. PIA polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 99: 1005-10, 1999.

75. Kastrati A, Koch W, Gawaz M, Mehilli J, Bottiger C, Schomig K, von BN, Schomig A. PIA polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of adverse events after coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 36: 84-9, 2000.
76. Kekomaki R. Platelet function and immune response. *J Pediatr Hematol Oncol* 25 Suppl 1: S19-S23, 2003.
77. Kekomaki S, Hamalainen L, Kauppinen-Makelin R, Palomaki H, Kaste M, Kontula K. Genetic polymorphism of platelet glycoprotein IIIa in patients with acute myocardial infarction and acute ischaemic stroke. *J Cardiovasc Risk* 6: 13-7, 1999.
78. Kim HO, Jin Y, Kickler TS, Blakemore K, Kwon OH, Bray PF. Gene frequencies of the five major human platelet antigens in African American, white and Korean populations. *Transfusion* 35 : 963-7, 1995
79. Kuijpers RW, Faber NM, Cuypers HT, Ouwehand WH, von dem Borne AE. NH2-terminal globular domain of human platelet glycoprotein Ib alpha has a methionine 145/threonine145 amino acid polymorphism, which is associated with the HPA-2 (Ko) alloantigens. *J Clin Invest* 89: 381-4, 1992.
80. Kuijpers RW, Simsek S, Faber NM, Goldschmeding R, van Wermerkerken RK, von dem Borne AE. Single point mutation in human glycoprotein IIIa is associated with a new platelet-specific alloantigen (Mo) involved in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 81: 70-6, 1993.
81. Kunicki TJ, Aster RH. Isolation and immunologic characterization of the human platelet alloantigen, P1A1. *Mol Immunol* 16: 353-60, 1979.
82. Kunicki TJ, Newman PJ. The biochemistry of platelet-specific alloantigens. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 18-32, 1986.
83. Kunicki TJ, Newman PJ. The molecular immunology of human platelet proteins. *Blood* 80: 1386-404, 1992.
84. Kunicki TJ, Nugent DJ. The influence of platelet glycoprotein polymorphisms on receptor function and risk for thrombosis. *Vox Sang* 83 Suppl 1: 85-90, 2002.
85. Lagercrantz J, Bergman M, Lundman P, Tornvall P, Hjendahl P, Hamsten A, Eriksson P. No evidence that the PLA1/PLA2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa is implicated in angiographically characterized coronary atherosclerosis and premature myocardial infarction. *Blood Coagul Fibrinolysis* 14: 749-53, 2003.
86. Langer H, Gawaz M. [The role of platelets for the pathophysiology of acute coronary syndromes]. *Hamostaseologie* 26: 114-8, 2006.
87. Laskow DA, Curtis JJ. Post-transplant hypertension. *Am J Hypertens*. 1990 Sep;3(9):721-5.

88. Laule M, Cascorbi I, Stangl V, Bielecke C, Wernecke KD, Mrozikiewicz PM, Felix SB, Roots I, Baumann G, Stangl K. A1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa and association with excess procedural risk for coronary catheter interventions: a case-controlled study. *Lancet* 353: 708-12, 1999.
89. Leithner C, Sinzinger H, Angelberger P, Syre G. Indium-111 labelled platelets in chronic kidney transplant rejection. *Lancet* 2: 213-4, 1980.
90. Lopes NH, Pereira AC, Hueb W, Soares PR, Lanz JR, Gersh BJ, de OS, Cesar LA, Ramires JF, Krieger JE. Effect of glycoprotein IIIa PIA2 polymorphism on outcome of patients with stable coronary artery disease and effect of smoking. *Am J Cardiol* 93: 1469-72, 2004.
91. Lyman S, Aster RH, Visentin GP, Newman PJ. Polymorphism of human platelet membrane glycoprotein IIb associated with the Baka/Bakb alloantigen system. *Blood* 75: 2343-8, 1990.
92. Mahmoud A, Said MH, Dawahra M, Hadj-Aissa A, Schell M, Faraj G, Long D, Parchoux B, Martin X, Cochat P. Outcome of preemitive renal transplantation and pretransplantation dialysis in children. *Pediatr Nephrol*. 1997 Oct;11(5):537-41.
93. Mamotte CD, van Bockxmeer FM, Taylor RR. Pla1/a2 polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of coronary artery disease and restenosis following coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 82: 13-6, 1998.
94. Marian AJ, Brugada R, Kleiman NS. Platelet glycoprotein IIIa PIA polymorphism and myocardial infarction. *N Engl J Med* 335: 1071-2, 1996.
95. Maslanka K, Yassai M, Gorski J. Molecular identification of T cells that respond in a primary bulk culture to a peptide derived from a platelet glycoprotein implicated in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *J Clin Invest* 98: 1802-8, 1996.
96. Massy ZA, Guijarro C, Wiederkehr MR, Ma JZ, Kasiske BL. Chronic renal allograft rejection: immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int* 49: 518-24, 1996.
97. Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, Najarian JS. The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (t1/2). *Transplantation*. 1994 Mar 27;57(6):857-9.
98. Meiklejohn DJ, Vickers MA, Morrison ER, Dijkhuisen R, Moore I, Urbaniak SJ, Greaves M. In vivo platelet activation in atherothrombotic stroke is not determined by polymorphisms of human platelet glycoprotein IIIa or Ib. *Br J Haematol* 112: 621-31, 2001.
99. Meisel C, Lopez JA, Stangl K. Role of platelet glycoprotein polymorphisms in cardiovascular diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 369: 38-54, 2004.

100. Melus V, Pullmann R, Hybenova J, Skerenova M, Pullmann R, Jr. [Is PLA1/A2 gene polymorphism of platelet membrane glycoprotein IIIa a risk factor for myocardial infarct?]. *Bratisl Lek Listy* 100: 593-7, 1999.
101. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Giuld WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *J Am Med Assoc.* 1956 Jan 28; 160(4):277-82.
102. Mikkelsen J, Perola M, Laippala P, Savolainen V, Pajarinen J, Lalu K, Penttila A, Karhunen PJ. Glycoprotein IIIa PI(A) polymorphism associates with progression of coronary artery disease and with myocardial infarction in an autopsy series of middle-aged men who died suddenly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 2573-8, 1999.
103. Mikkelsen J, Perola M, Laippala P, Penttila A, Karhunen PJ. Glycoprotein IIIa PI(A1/A2) polymorphism and sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol* 36: 1317-23, 2000.
104. Monaco AP, Burke JF, Jr., Ferguson RM, Halloran PF, Kahan BD, Light JA, Matas AJ, Solez K. Current thinking on chronic renal allograft rejection: issues, concerns, and recommendations from a 1997 roundtable discussion. *Am J Kidney Dis* 33: 150-60, 1999.
105. Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Santoso S. Review and update of platelet alloantigen systems. *Transfus Med Rev* 4: 98-109, 1990.
106. Mueller-Eckhardt C, Santoso S, Kiefel V. Platelet alloantigens--molecular, genetic, and clinical aspects. *Vox Sang* 67 Suppl 3: 89-93, 1994.
107. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Ehrlich H. The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp quant Biol.* 51 Pt 1:263-73, 1986.
108. Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Puchner G, Schomig A. Neutrophil and platelet activation at balloon-injured coronary artery plaque in patients undergoing angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 27: 819-24, 1996.
109. Newman PJ, Derbes RS, Aster RH. The human platelet alloantigens, PIA1 and PIA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *J Clin Invest* 83: 1778-81, 1989.
110. Nieswandt B, Brakebusch C, Bergmeier W, Schulte V, Bouvard D, Mokhtari-Nejad R, Lindhout T, Heemskerk JW, Zirngibl H, Fassler R. Glycoprotein VI but not alpha2beta1 integrin is essential for platelet interaction with collagen. *EMBO J* 20: 2120-30, 2001.
111. Noris P, Simsek S, de Bruijne-Admiraal LG, Porcelijn L, Huiskes E, van d, V, van Leeuwen EF, van der Schoot CE, von dem Borne AE. Max(a), a new low-frequency platelet-specific antigen localized on glycoprotein IIb, is

- associated with neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 86: 1019-26, 1995.
112. Nurden AT, Nurden P. A review of the role of platelet membrane glycoproteins in the platelet-vessel wall interaction. *Baillieres Clin Haematol* 6: 653-90, 1993.
 113. Nurden AT. Polymorphisms of human platelet membrane glycoproteins: structure and clinical significance. *Thromb Haemost* 74: 345-51, 1995.
 114. Nurden AT. Platelet glycoprotein IIIa polymorphism and coronary thrombosis. *Lancet* 350: 1189-91, 1997.
 115. Opelz G, Döhler B; Collaborative Transplant Study. Improved long term outcomes after renal transplantation associated with blood pressure control. *Am J Transplant*. 2005 Nov;5(11):2725-31.
 116. Osborn SV, Hampton KK, Smillie D, Channer KS, Daly ME. Platelet glycoprotein IIIa gene polymorphism and myocardial infarction. *Lancet* 348: 1309-10, 1996.
 117. Park S, Park HY, Park C, Ko YG, Im EK, Jo I, Shin C, Lee JB, Shim WH, Cho SY, Jang Y. Association of the gene polymorphisms of platelet glycoprotein Ia and IIb/IIIa with myocardial infarction and extent of coronary artery disease in the Korean population. *Yonsei Med J* 45: 428-34, 2004.
 118. Park YH, Min SK, Lee JN, Jung WK, Lee JS, Lee JH, Lee YD. Comparison of survival probabilities for living-unrelated versus cadaveric renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2004 Sep;36(7):2020-2.
 119. Peyruchaud O, Bourre F, Morel-Kopp MC, Reviron D, Mercier P, Nurden A, Kaplan C. HPA-10w(b) (La(a)): genetic determination of a new platelet-specific alloantigen on glycoprotein IIIa and its expression in COS-7 cells. *Blood* 89: 2422-8, 1997.
 120. Phillips DR, Charo IF, Scarborough RM. GPIIb-IIIa: the responsive integrin. *Cell* 65: 359-62, 1991.
 121. Plow EF, Ginsberg MH. Cellular adhesion: GPIIb-IIIa as a prototypic adhesion receptor. *Prog Hemost Thromb* 9: 117-56, 1989.
 122. Plow EF, Haas TA, Zhang L, Loftus J, Smith JW. Ligand binding to integrins. *J Biol Chem* 275: 21785-8, 2000.
 123. Pongracz E, Tordai A, Csornai M, Nagy Z. [Platelet glycoprotein IIb/IIIa (LeuPro 33) polymorphism in stroke patients]. *Orv Hetil* 142: 781-5, 2001.
 124. Prommool S, Jhangri GS, Cockfield SM, Halloran PF. Time dependency of factors affecting renal allograft survival. *J Am Soc Nephrol* 11: 565-73, 2000.

125. Rao KV. Renal transplantation: complications and results in the second decade. *Transplant Proc.* 1987 Oct;19(5):3758-9.
126. Reiner AP, Siscovick DS, Rosendaal FR. Platelet glycoprotein gene polymorphisms and risk of thrombosis: facts and fancies. *Rev Clin Exp Hematol* 5: 262-87, 2001.
127. Renner W, Winkler M, Hoffmann C, Koppel H, Seinost G, Brodmann M, Pilger E. The PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa is not associated with deep venous thrombosis. *Int Angiol* 20: 148-51, 2001.
128. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampfer MJ, Lindpaintner K. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. *Lancet* 349: 385-8, 1997.
129. Roodnat JL, Mulder PG, Zietse R, Rischen-Vos J, van Riemsdijk IC, IJzermans JN, Weimar W. Cholesterol as an independent predictor of outcome after renal transplantation. *Transplantation.* 2000 Apr 27;69(8):1704-10.
130. Rosenberg N, Zivelin A, Chetrit A, Dardik R, Kornbrot N, Freimark D, Inbal A. Effects of platelet membrane glycoprotein polymorphisms on the risk of myocardial infarction in young males. *Isr Med Assoc J* 4: 411-4, 2002.
131. Rozman P. Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. *Transpl Immunol* 10: 165-81, 2002.
132. Salido E, Martin B, Barrios Y, Linares JD, Hernandez D, Cobos M, Checa MD, Hortal L, Fernandez A, Garcia JJ, Torres A. The PIA2 polymorphism of the platelet glycoprotein IIIA gene as a risk factor for acute renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 10: 2599-605, 1999.
133. Samani NJ, Lodwick D. Glycoprotein IIIa polymorphism and risk of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 33: 693-7, 1997.
134. Santoso S, Kalb R, Walka M, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C, Newman PJ. The human platelet alloantigens Br(a) and Brb are associated with a single amino acid polymorphism on glycoprotein Ia (integrin subunit alpha 2). *J Clin Invest* 92: 2427-32, 1993.
135. Santoso S, Kalb R, Kroll H, Walka M, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C, Newman PJ. A point mutation leads to an unpaired cysteine residue and a molecular weight polymorphism of a functional platelet beta 3 integrin subunit. The Sra alloantigen system of GPIIIa. *J Biol Chem* 269: 8439-44, 1994.
136. Santoso S, Kiefel V. Human platelet alloantigens. *Wien Klin Wochenschr* 113: 806-13, 2001.
137. Santoso S, Kiefel V, Richter IG, Sachs UJ, Rahman A, Carl B, Kroll H. A functional platelet fibrinogen receptor with a deletion in the cysteine-rich

- repeat region of the beta(3) integrin: the Oe(a) alloantigen in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 99: 1205-14, 2002.
138. Santoso S. Human platelet alloantigens. *Transfus Apher Sci* 28: 227-36, 2003.
139. Santoso S, Kroll H, ndrei-Selmer CL, Socher I, Rankin A, Kretzschmar E, Watkins NA, Ouwehand WH. A naturally occurring LeuVal mutation in beta3-integrin impairs the HPA-1a epitope: the third allele of HPA-1. *Transfusion* 46: 790-9, 2006.
140. Scaglione L, Bergerone S, Gaschino G, Imazio M, Maccagnani A, Gambino R, Cassader M, Di LM, Macchia G, Brusca A, Pagano G, Cavallo-Perin P. Lack of relationship between the P1A1/P1A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and premature myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 28: 385-8, 1998.
141. Schuh AC, Watkins NA, Nguyen Q, Harmer NJ, Lin M, Prosper JY, Campbell K, Sutherland DR, Metcalfe P, Horsfall W, Ouwehand WH. A tyrosine703serine polymorphism of CD109 defines the Gov platelet alloantigens. *Blood* 99: 1692-8, 2002.
142. SHULMAN NR, MARDER VJ, HILLER MC, COLLIER EM. PLATELET AND LEUKOCYTE ISOANTIGENS AND THEIR ANTIBODIES: SEROLOGIC PHYSIOLOGIC AND CLINICAL STUDIES. *Prog Hematol* 27: 222-304, 1964.
143. Simsek S, Faber NM, Bleeker PM. Determination of human platelet antigen frequencies in the Dutch population by immunophenotyping and DNA (allele-specific restriction enzyme) analysis. *Blood* 81 : 835-40, 1993.
144. Simsek S, Folman C, van der Schoot CE, von dem Borne AE. The Arg633His substitution responsible for the private platelet antigen Gro(a) unravelled by SSCP analysis and direct sequencing. *Br J Haematol* 97: 330-5, 1997.
145. Smith N, Pathansali R, Bath P. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of cardiovascular disease. *Lancet* 349: 1099, 1997.
146. Smyth SS, Joneckis CC, Parise LV. Regulation of vascular integrins. *Blood* 81: 2827-43, 1993.
147. Tereshchenko SN, Levchuk NN, Drozdov VN, Shaikhaev GO, Leont'ev SG, Kirienko AI, Moiseev VS. [Polymorphism of GPIIIA platelet glycoprotein gene PIA1/A2 compared to plasma hemostasis in myocardial infarction patients]. *Ter Arkh* 71: 66-70, 1999.
148. Unkelbach K, Kalb R, Breitfeld C, Santoso S, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C. New polymorphism on platelet glycoprotein IIIa gene recognized by endonuclease Msp I: implications for PIA typing by allele-specific restriction analysis. *Transfusion* 34: 592-5, 1994.

149. Unkelbach K, Kalb R, Santoso S, Kroll H, Mueller-Eckhardt C, Kiefel V. Genomic RFLP typing of human platelet alloantigens Zw(PIA), Ko, Bak and Br (HPA-1, 2, 3, 5). *Br J Haematol* 89: 169-76, 1995.
150. VAN LOGHEM JJJ, DORFMEIJER H, VAN HM, SCHREUDER F. Serological and genetical studies on a platelet antigen (Zw). *Vox Sang* 4: 161-9, 1959.
151. Vanrenterghem Y. Role of acute rejection in chronic rejection. *Transplant Proc.* 1998 Jun;30(4):1210-1.
152. von WE, Zola H, Hayry P. Thrombocyte aggregates in renal allografts. Analysis with fine-needle aspiration biopsy and monoclonal antithrombocyte antibodies. *Transplantation* 39: 258-62, 1985.
153. Wagner CL, Mascelli MA, Neblock DS, Weisman HF, Collier BS, Jordan RE. Analysis of GPIIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. *Blood* 88: 907-14, 1996.
154. Wagner KR, Giles WH, Johnson CJ, Ou CY, Bray PF, Goldschmidt-Clermont PJ, Croft JB, Brown VK, Stern BJ, Feeser BR, Buchholz DW, Earley CJ, Macko RF, McCarter RJ, Sloan MA, Stolley PD, Wityk RJ, Wozniak MA, Price TR, Kittner SJ. Platelet glycoprotein receptor IIIa polymorphism P1A2 and ischemic stroke risk: the Stroke Prevention in Young Women Study. *Stroke* 29: 581-5, 1998.
155. Walter DH, Schachinger V, Elsner M, Dimmeler S, Zeiher AM. Platelet glycoprotein IIIa polymorphisms and risk of coronary stent thrombosis. *Lancet* 350: 1217-9, 1997.
156. Wang R, Furihata K, McFarland JG, Friedman K, Aster RH, Newman PJ. An amino acid polymorphism within the RGD binding domain of platelet membrane glycoprotein IIIa is responsible for the formation of the Pena/Perb alloantigen system. *J Clin Invest* 90: 2038-43, 1992.
157. Wang R, McFarland JG, Kekomaki R, Newman PJ. Amino acid 489 is encoded by a mutational "hot spot" on the beta 3 integrin chain: the CA/TU human platelet alloantigen system. *Blood* 82: 3386-91, 1993.
158. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 334: 1090-4, 1996.
159. Wiwanitkit V. PIA1/A2 polymorphism of the platelet glycoprotein receptor IIb/IIIa and its correlation with myocardial infarction: an appraisal. *Clin Appl Thromb Hemost* 12: 93-5, 2006.
160. www.ctstransplant.org
161. www.info-dialyse.de, Geschichte der Transplantation

162. www.nierenratgeber.de
163. www.pr.uni-freiburg.de/pm.2004
164. www.QuaSi-Niere.de (2006/2007)
165. www.wikipedia.org, Emerich Ullmann
166. Yee DL, Bray PF. Clinical and functional consequences of platelet membrane glycoprotein polymorphisms. *Semin Thromb Hemost* 30: 591-600, 2004.
167. Zhu MM, Weedon J, Clark LT. Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein IIIa PIA1/A2 polymorphism with myocardial infarction. *Am J Cardiol* 86: 1000-5, A8, 2000.
168. Zimrin AB, Gidwitz S, Lord S, Schwartz E, Bennett JS, White GC, Poncz M. The genomic organization of platelet glycoprotein IIIa. *J Biol Chem* 265: 8590-5, 1990.
169. Zotz RB, Winkelmann BR, Nauck M, Giers G, Maruhn-Debowski B, Marz W, Scharf RE. Polymorphism of platelet membrane glycoprotein IIIa: human platelet antigen 1b (HPA-1b/PIA2) is an inherited risk factor for premature myocardial infarction in coronary artery disease. *Thromb Haemost* 79: 731-5, 1998.
170. Zotz RB, Winkelmann BR, Muller C, Boehm BO, Marz W, Scharf RE. Association of polymorphisms of platelet membrane integrins alpha IIb(beta)3 (HPA-1b/PI) and alpha2(beta)1 (alpha807TT) with premature myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 3: 1522-9, 2005.

8. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Erklärung

„Ich, Alexander Kühn, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Die Bedeutung des GP IIb/IIIa P^{A1/A2}- Polymorphismus für Transplantatüberleben nach Nierentransplantation und kardiovaskuläre Todesursachen* selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

10.03.2010

Alexander Kühn