

2. Hauptteil

2.1 Material und Methoden

Agarose, DNA molecular weight marker VIII, X	Boehringer Mannheim
Ampli Taq DNA polymerase	Perkin Elmer, Weiterstadt
EDTA	SIGMA, Deisenhofen
Elektrophorese	Multiphor, Pharmacia Biotech, PP 3000 Biometra
Ethanol	J.T. Barker, Deventer
Ethidiumbromid 1%	Merck, Darmstadt
Mikrowelle	Bosch
Mineralöl	SIGMA, Deisenhofen
Nonidet P40	Fluka, Neu-Ulm
Oligonukleotide	TIB MOLBIOL, Berlin
PCR Nucleotide Mix	Boehringer Mannheim

Photometer	Beckmann Du 640
Pipetten	Eppendorf
Material und Methoden (Fortsetzung)	
QCA	Mark optional CL, MSM Angiogramm protection system CAP 35B
Restriktionsendonukleasen Nci I, MspI	New England Biolabs
Schütteler	Hoefer Automated Gel Stainer, Pharmacia Biotech
Thermocycler	TRIO-Thremoblock, Biometra, Gene-Amp 9700, PE Applied, Biosystems
Vortexer	Vortex-Genie 2™
Waage	LS 200 OHAUS, Sartorius
Wasserbad	Firma GFL
Zentrifuge	Tischzentrifuge 5415 C, Eppendorf

2.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Für den Nachweis des PI^{A1/A2} Polymorphismus mit Hilfe molekulargenetischer Methoden erfolgte die Isolierung genomischer DNA nach der Beschreibung von Ridker (3), unter Verwendung der QIAGEN-Methode (Firma QIAGEN Hilden, Deutschland), welche im Anschluss an die Kollektivierung von Patientenblut durchgeführt wurde.

Das Patientenblut wurde in EDTA-Blutröhrchen gesammelt und am Abnahmetag bei 3000 rpm für 12 Minuten zentrifugiert. Dadurch erfolgte eine Phasentrennung in die entsprechenden Blutbestandteile. Hiervon wurde das leukozytenbeinhaltende Pallet (ca. 200 µl) in 1,5 ml Epicaps abpipettiert und zur weiteren Verarbeitung bei - 80°C aufbewahrt.

Die Isolierung der DNA aus dem leukozytenbeinhaltenden Pallet erfolgte in den weiteren Schritten. Zu Beginn wurden die jeweiligen Proben aufgetaut und im folgenden mit 20 µl AL-PBS versetzt. Anschließend wurden 25 µl Quiagen und 200 µl QIAamp hinzugegeben und das Gemisch für 3 Minuten gevortext, danach erfolgt die Inkubation des Ansatzes bei 70°C für weitere 10 Minuten. Im Anschluß wurden diesem Ansatz 210 µl Ethanol (96%-100%) hinzugefügt und erneut für 3 Minuten gevortext. Der Ansatz wurde zur weiteren Verarbeitung in frische *collection tubes* überführt und anschließend unter zweimaliger Zugabe von jeweils 500 µl AW-Puffer versetzt. Nach der Zentrifugation mit 8000 rpm für 1 Minute und 14000 rpm für 3 Minuten wurde der verbleibende Ansatz der *spin columns* bei 70°C mit 200 µl erwärmtem AE-Puffer vermischt und im Anschluß bei 8000 rpm eine weitere Minute zentrifugiert, wobei das Zentrifugat die isolierte DNA darstellt, welche in 1,5 ml Epicaps bei +4°C oder bei - 20°C zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt wurde.

Zur Verifizierung des Reinheitsgrades erfolgte im Anschluß an die DNA-Isolierung eine DNA-Messung bei einer Wellenlänge von 260nm und 280nm. Hierbei konnte der

Quotient (OD-Quotienten) aus den beiden gemessenen Werten bestimmt werden, welcher wiederum eine Aussage über die Reinheit der DNA erlaubt. Die OD-Konzentrationsangabe der jeweiligen DNA-Probe erfolgte in $\mu\text{g/ml}$. DNA mit einem Reinheitsfaktor zwischen 1,8 - 2,0 wurde für die anschließenden molekulargenetischen Analysen verwendet. Im Anschluss erfolgte die Konzentration mit entsprechender Archivierung der Daten anhand einer Datenbank. Der eigentliche Nachweis des $\text{PI}^{\text{A1/A2}}$ Polymorphismus konnte mit Hilfe der PCR-Technik und dem anschließenden Restriktionslängenverdau geführt werden (3, 5).

2.2.1 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Im molekularbiologischen Bereich ist die PCR-Technik eine der wichtigsten Nachweismethoden. Sie wird unter anderem für den Nachweis viraler oder bakterieller Infektionen oder zum Erkennen von Nukleotidsequenzvarianten verwendet. Als eine etablierte und einfache Methode eignet sich die PCR insbesondere zur exponentiellen Vervielfältigung von spezifischen DNA-Abschnitten. Hierbei stellt die intakte Target-Nukleinsäure die wichtigste Voraussetzung für eine erfolgreiche PCR dar (206, 207).

In Abhängigkeit von der $[\text{Mg}^{2+}]$ -Konzentration wird die zu amplifizierende DNA unter Zugabe eines spezifischen Primerpaars gemeinsam mit einer hitzestabilen DNA-Polymerase (Taq-Polymerase, des Bakterium *Thermus aquaticus*) vermischt. Im Anschluß läuft die eigentliche PCR mit einem entsprechenden Thermocycler vollautomatisch ab.

Der prinzipielle PCR-Ablauf besteht in den Schritten der Hitzedenaturierung (i.d.R. zw. $90-95^\circ\text{C}$), dem Primerannealing (i.d.R. zw. $55-72^\circ\text{C}$), sowie dem Extensionsschritt (i.d.R. zw. $70-75^\circ\text{C}$). Innerhalb einer Minute werden so bis zu 1000 Nukleotide miteinander verknüpft. Diese Abfolge wird normalerweise 25-40 mal wiederholt. Die besonderen Vorteile der PCR gegenüber anderen direkten Nachweisverfahren sind eine hohe Sensitivität und Spezifität, die einfache Durchführung und die universelle

Einsetzbarkeit. Unter optimalen Bedingungen können so auch kleinste DNA-Mengen nachgewiesen werden.

Der Nachteil bei der Durchführung einer PCR liegen in der hohen Gefahr, negative Proben mit Amplifikaten zu kontaminieren. Diese Kontamination tritt bevorzugt durch Aerosole beim Transfer von Amplifikaten, beim Öffnen von Reaktionsgefäßen und beim Pipettieren auf. Zusätzlich zeigte Saiki 1988 bei einem DNA-Fragment von 239 Nukleotiden, welches über 30 Zyklen amplifiziert wurde, eine Mutationsrate von $1,7 \cdot 10^{-4}$ pro Nukleotide und Zyklus (207).

Nachdem Shulman im Jahre 1964 als Erstautor den $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus beschrieb und anhand einer Studie die Basis der Normalbevölkerung bezüglich des Polymorphismuses publizierte, wird die Genfrequenz für das PI^{A2} Allel heute mit 15% angegeben. Für den Nachweis des $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus erfolgte nach der zuvor durchgeführten Isolierung genomischer DNA die Amplifikation mit Hilfe der PCR-Technik. Die Länge beträgt hierbei 266 bp. Nach einer Veröffentlichung von Weiss und Mitarbeitern von 1996 wurde hierzu der $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus durch das unten aufgeführte Primerpaar verwendet (5). Die Herstellung des Primerpaares erfolgte bei dieser Untersuchung durch die Firma TIB MOLBIOL (Syntheselabor, Berlin) mit der folgenden Sequenz:

Sens: 5' - TTC TGA TTG CTG GAC TTC TCT T 3'

Antisens: 5' - TCT CTC CCC ATG GCA AAG AGT 3'

Auf der folgenden Seite (Bild 1) wurde im Anschluß an eine Polymerasekettenreaktion eine Gelelektrophorese zur Verifizierung der PCR durchgeführt. Kontaminationen z. B. durch Aerosole, welche sich während des Vorgangs einstellten, konnten so identifiziert

und vom sich anschließenden Restriktionslängenpolymorphismusnachweis ausgeschlossen werden.

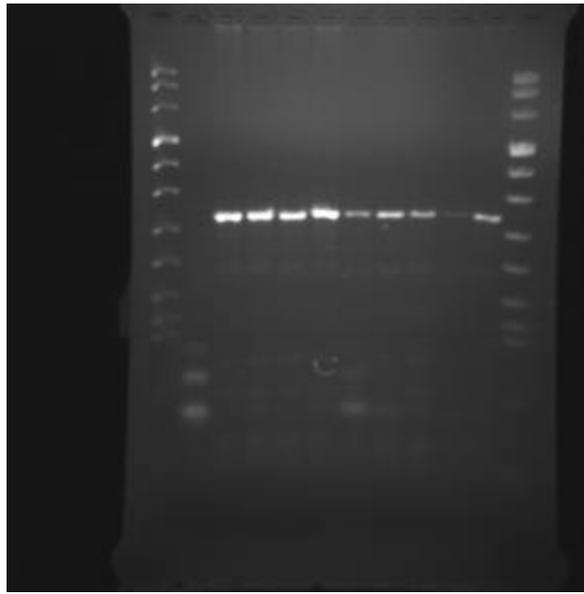
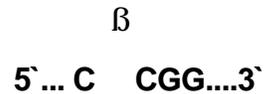


Bild 1: PCR von 10 Patienten (Spur 3-11) bei 266 Basenpaaren. Die Spur 1 und 12 wurden jeweils mit dem Größenmarker VIII beladen. Die Spur 2 enthält eine negativ Probe zum Ausschluss von Verunreinigungen der übrigen Amplifikate.

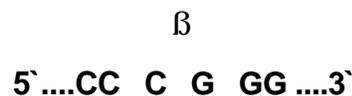
2.2.2 Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP)

Mit Hilfe des Restriktionslängenverdau lassen sich Punktmutationen in DNA-Abschnitten nachweisen. Hierzu werden die mit Hilfe der PCR-Technik amplifizierte Teil der DNA weiter verarbeitet. Entsprechende Restriktionsnukleasen schneiden die DNA an genau determinierten Stellen und ermöglichen so einen einfachen und schnellen Nachweis von Punktmutationen innerhalb der DNA (3, 5, 96). Der $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus wird über den Restriktionslängenverdau mit den beiden Enzymen Nci I und Msp I, Firma New England Biolabs, nachgewiesen (5).

Das Msp I Gen aus *Moraxella species*, welches aus klonierten *Escherichia coli* gewonnen wird, erkennt die folgende Sequenz und schneidet an der mit einem Pfeil markierten Stelle:



Aus *Neisseria cinerea* wird das Nci I Gen gewonnen, welches wiederum die folgende Sequenz erkennt und an der mit einem Pfeil markierten Stelle schneidet:



Nach Durchführung der sich anschließenden Elektrophoresen lassen sich homozygote von heterozygoten Personen bezüglich des $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus unterscheiden. Eine Zuordnung entsprechender Basenlängen ist durch den spezifischen Größenmarkers VIII gegeben (2, 5).

Nachdem Simsek und Mitarbeiter 1993 beim alleinigen Gebrauch des Restriktionsenzym Nci I falsch positive Ergebnisse beschrieben hatten, welche die Autoren auf einen inkompletten oder fehlerhaften Verdau zurückführten, erfolgte der Entschluß, den Nachweis des $PI^{A1/A2}$ Polymorphismuses für diese Untersuchung sowohl mit Restriktionsenzym Nci I, als auch mit dem Restriktionsenzym Msp I durchzuführen. Die Gentypisierung wurde durch weitere Patientendaten (z.B. kardiale Risikofaktoren,

Laborwerte, Stenosemorphologie und weitere medizinische Daten) ergänzt und anhand einer Datenbank archiviert. Die entsprechende Gruppeneinteilung erfolgte unter Berücksichtigung der angiographischen Daten.

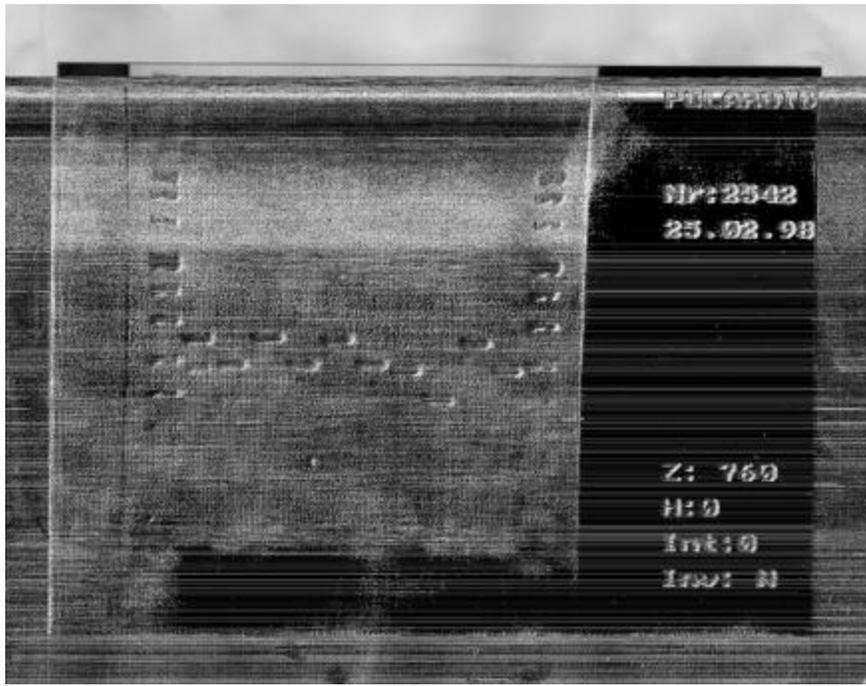


Bild 2: RFLP von 3 Patienten (Spur 2-11) mit dem Größenmarker VIII (Spur 1 und 12), wobei jeweils 2 benachbarte Banden den Genotyp eines Patienten repräsentieren. Hierbei zeigen die Spur 4 und 5, 6 und 7, sowie 10 und 11 den homozygoten $PI^{A1/A1}$ Genotyp und die Spur 2 und 3 den heterozygoten $PI^{A1/A2}$ Genotyp. Die beiden Spuren 8 und 9 geben den seltenen $PI^{A2/A2}$ Genotyp wieder.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

Allein im Jahre 1995 wurden in Europa insgesamt 278'982 interventionelle Herzkatheteruntersuchungen durchgeführt (217). Für das Jahr 1997 lag hierbei der Anteil an Stentimplantationen durchschnittlich in Westeuropa bei > 60% und in

Osteuropa bei 25%. Für den gesamteuropäischen Raum gaben die Autoren einen Anteil an Stentimplantationen von 51% an (213).

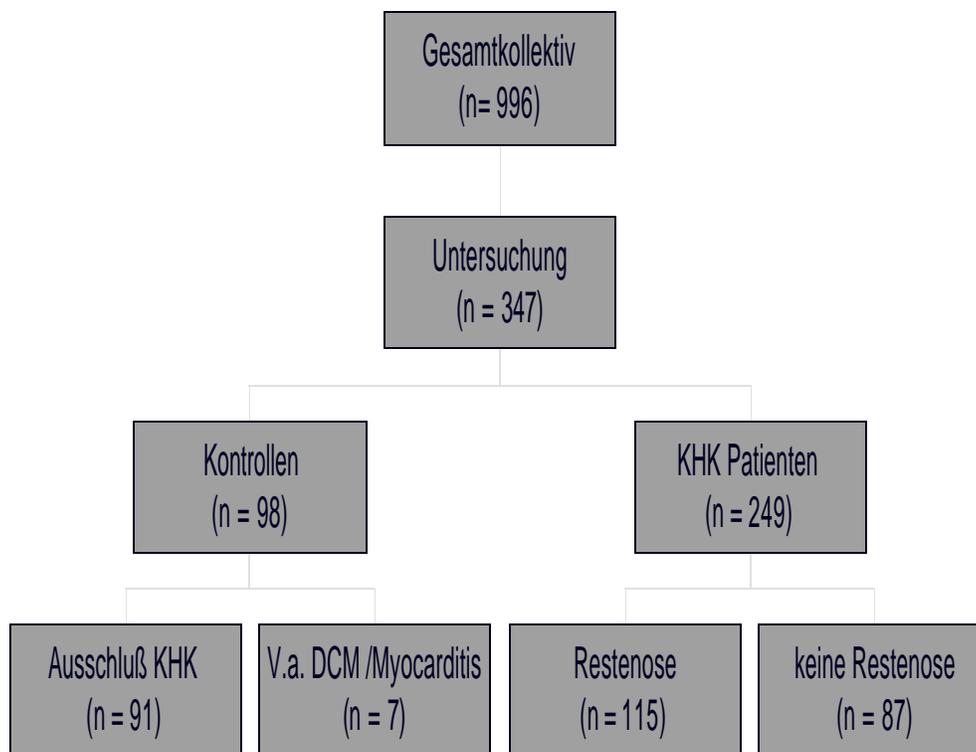
Innerhalb des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der FU Berlin (UKBF), als Zentrum der Maximalversorgung, erfolgten 1999 insgesamt 1248 diagnostische und 1168 interventionelle Herzkatheteruntersuchungen. Hierbei erhielten 492 Patienten eine alleinige PTCA und 676 Patienten eine PTCA mit Stentimplantation (57,8%). Die absolute Patientenzahlen sind in Tabelle 3 für das Jahr 1998 und 1999 für das UKBF nach diagnostischer und therapeutischer Intervention aufgelistet.

Durchgeführte Untersuchung(*):	1998	1999
Koronarangiographie:	2296	2416
PTCA:	974	1168
PTCA mit Stentimplantation:	429	676
IVUS:	160	225

Tabelle 3: Auflistung der interventionellen Herzkatheteruntersuchungen des UKBF für die Jahre 1998 und 1999. (*) Die entsprechenden Patientenzahlen wurden freundlicherweise von Herrn Smith, Abteilung Innere Medizin II mit Schwerpunkt Kardiologie und Pneumologie des UKBF, FU Berlin, zur Verfügung gestellt.

Im Zeitraums Februar 1996 bis August 1998 wurde aus einem unselektierten Patientenkollektiv Blut für die sich anschließende molekularbiologische Untersuchung rekrutiert. Hierbei erfolgte bei allen Patienten eine invasive kardiologische Diagnostik im UKBF. Die Indikation für die jeweilige Herzkatheterdiagnostik wurde von klinischer

Seite bei Verdacht auf eine KHK bzw. zum Ausschluß einer KHK durchgeführt. Während dieser Zeit konnten so 996 Patienten in die Studie aufgenommen werden, wobei insgesamt 347 Patienten eine Angioplastie (PTCA mit/ohne Stentimplantation) erhielten. Hierbei wurde insgesamt 249 Mal die PTCA angewandt und 149 Mal ein Stent implantiert. Als anschließendes Prozedere wurde, neben einer individuellen Medikation, bei klinischer Symptomatik eine Kontrollkoronarangiographie vorgenommen. Als Kontrollkollektiv wurden Patienten herangezogen, welche sich ebenfalls einer Koronarangiographie unterzogen, jedoch angiographisch eine KHK ausgeschlossen werden konnte. Die schematische Darstellung des Gesamtkollektivs, mit der Aufteilung in entsprechende Subkollektive, ist in der Grafik 5 dargestellt.



Grafik 4: Grafische Darstellung des Gesamtkollektivs und der entsprechenden Subkollektive (n = Anzahl der Patienten). In der Grafik nicht dargestellt sind die Patienten, welche aus unterschiedlichsten Gründen einer weiteren Untersuchung nicht mehr zugänglich waren und als drop out (n =47) bezeichnet wurden.

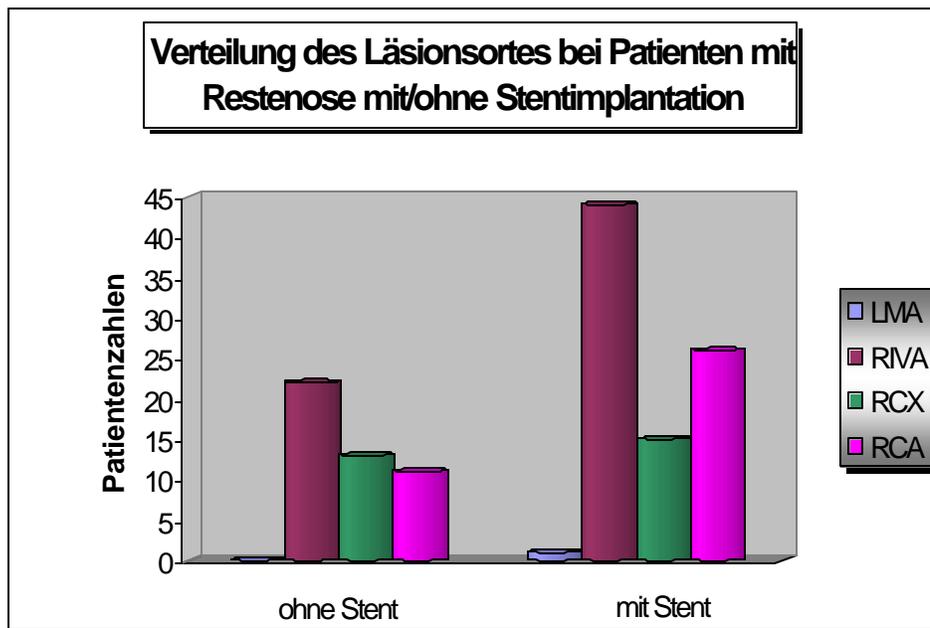
In Abhängigkeit von der jeweiligen Anzahl beteiligter Gefäße (1-Gefäß-KHK, 2-Gefäß-KHK, 3-Gefäß-KHK) sind diese Daten in Tabelle 4 aufgeschlüsselt.

Patienten(*)	1 G-KHK	2 G-KHK	3 G-KHK	Σ
KHK-Kollektiv:	71	94	84	249
Restenose:	28	51	36	115
keine Restenose:	32	34	21	87
Drop out	11	9	27	47

Tabelle 4: Verteilung des Gesamtkollektivs innerhalb der retrospektiven Untersuchung für den Zeitraum Februar 1996 bis August 1998 bei Patienten mit 1-G-KHK, 2-G-KHK und 3-G-KHK. (1-G-KHK = 1-Gefäß-KHK, 2-G-KHK = 2-Gefäß-KHK, 3-G-KHK = 3-Gefäß-KHK; (*) Absolute Patientenzahlen). Die drop out Patienten wurden der Vollständigkeit halber aufgeführt.

Die sich anschließende Genotypisierung sowie Datenerhebung und Pflege, erfolgte retrospektiv mit Hilfe einer Datenbank, (FilemakerPro, Version 4.0). Die weitere Auswertung umfaßte folgende Schwerpunkte: allgemeinmedizinische Daten, wichtige Laborparameter und die jeweiligen Herzkatheterbefunde. Zur Verlaufsbeobachtung und der Ergänzung fehlender bzw. unvollständiger Laborwerte wurden die entsprechenden Patienten wiedereinbestellt. Patienten mit KHK, bei denen eine Restenose angiographisch diagnostiziert wurde bzw. ausgeschlossen werden konnte, wurden in die einzelnen Subgruppen eingeteilt und entsprechend analysiert. Ein besonderes Augenmerk wurde hierbei auf das Restenosekollektiv geworfen, wobei in dieser Subgruppe nochmals zwischen alleiniger PTCA und PTCA mit Stentimplantation

unterschieden wurde. Diese Unterscheidung ist in Abhängigkeit der Stenoselokalisierung in der Grafik 5 dargestellt.



Grafik 5: Auflistung der Restenosepatienten in Abhängigkeit der alleinigen PTCA bzw. PTCA mit Stentimplantation und der Häufigkeit ihres Läsionsortes (LMA = left main coronary artery; RIVA = Ramus interventricularis anterior; RCX = Ramus circumflexus; RCA = right coronary artery).

2.3.2 Analyse der QCA im Subkollektiv

Patienten, die sich innerhalb eines Zeitraums von 2 bis 18 Monaten nach durchgeführter Angioplastie erneut einer Angiographie unterzogen haben und hierbei eine Restenose aufwiesen, wurden in die Subgruppe "QCA" aufgenommen. Neben der

molekulargenetischen Untersuchung erfolgte bei diesem Kollektiv zusätzlich eine Auswertung bezüglich der visuellen Restenoseeinschätzung durch die quantitative Koronaranalyse (QCA). Hierbei sollten insbesondere die angiographische Einschätzung der jeweiligen Untersucher im Vergleich zur objektiven Restenoseauswertung mittels computerunterstützter QCA-Auswertung aufgezeigt werden. Die Auswertung wurde ebenfalls im UKBF in Zusammenarbeit mit Herrn Wunderlich, Abteilung Innere Medizin II mit Schwerpunkt Kardiologie und Pulmologie, UKBF, FU Berlin, vorgenommen.

Insgesamt konnten 134 Patienten der Subgruppe QCA zugeordnet werden. Nachdem die Diagnostik in verschiedenen Räumlichkeiten durchgeführt wurden, konnten die Daten von insgesamt 66 Patienten nicht ausgewertet werden (*drop out*). Schließlich erfüllten 68 Patienten die Einschlusskriterien und konnten so mit Hilfe der QCA analysiert werden. Hierbei wurde eine alleinige PTCA bei 23 Patienten durchgeführt und eine PTCA mit Stentimplantation bei insgesamt 45 Patienten. Die angiographische Einschätzung der Restenose durch die jeweiligen Untersucher bestätigte sich anhand der QCA bei allen Patienten.

Subkollektiv der QCA-Patienten:	Σ
<hr/>	
PTCA-Patienten:	23 Patienten
Patienten mit Stentimplantation:	45 Patienten
Drop outs:	66 Patienten
<hr/>	
Gesamt:	134 Patienten

Tabelle 5: Einteilung des Subkollektivs "QCA" bei 134 Patienten mit/ohne Stentimplantation und Restenose.

Die Auswertung mittels QCA wurde folgendermaßen durchgeführt: Innerhalb der frontalen und lateralen Einstellung der postinterventionellen Sequenzen kam es zur Auswahl von jeweils einem enddiastolischem Bild. Im Anschluß erfolgte die Bestimmung einer Vorzugsebene, welche in der *follow-up* Untersuchung beibehalten wurde (27, 70). Die angiographischen Bilder konnten so computerunterstützt ausgewertet werden, wobei bei allen Patienten im Rahmen der QCA die Beurteilung des Stenosegrades, Stenosedurchmessers (MLD), Referenzdiameter, der Exzentrizität der Stenose und der Restenosegrad nach PTCA und *follow-up* Untersuchung erfolgte. Im weiteren Verlauf wurden die Daten in eine für die Untersuchung kreierte Datenbank integriert.

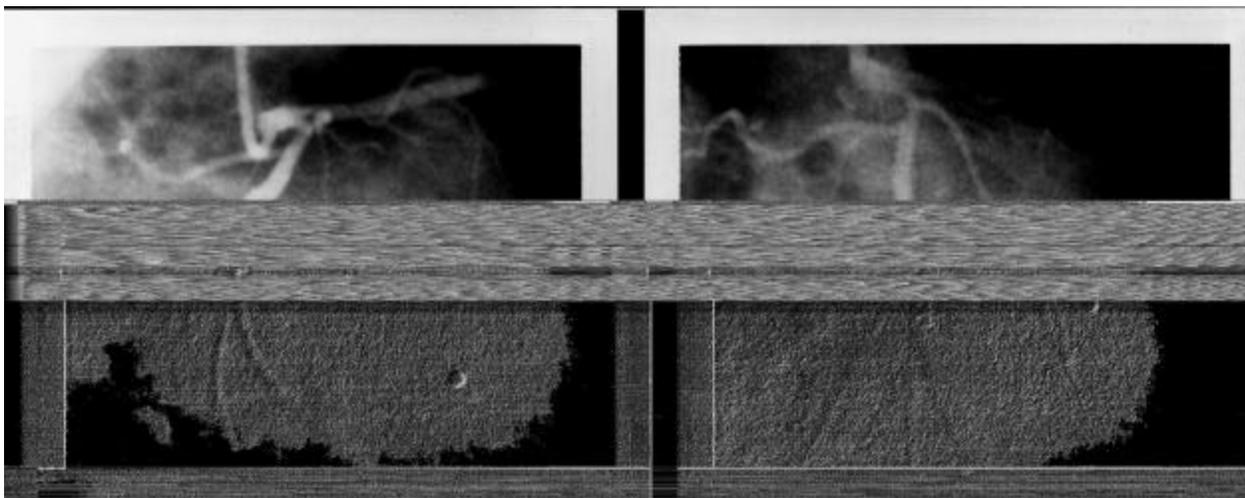


Bild 1

Bild 2

Beispieldarstellung einer Angioplastie bei einem 54 jährigen Patienten mit 3-KHK und einer Stenose im Bereich des Ramus circumflexus (RCX) mit anschließender Stentimplantation. Hier wurde die laterale Projektionsebene als Vorzugsebene für beide Bilder ausgewählt. Bild 1 zeigt das direkte postinterventionelle Ergebnis und Bild 2 die *follow-up* Untersuchung 6 Monate nach Intervention.

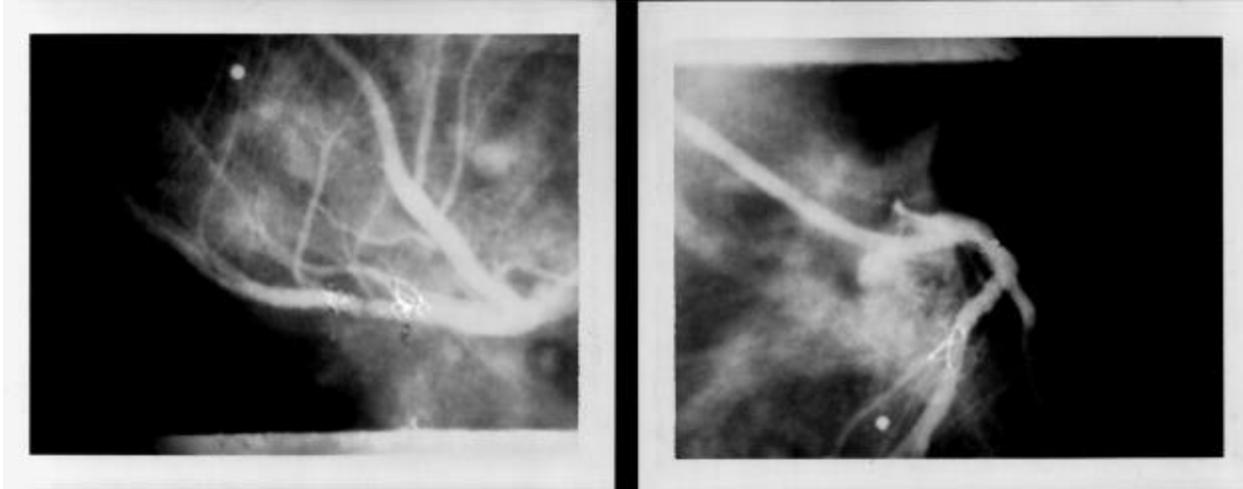
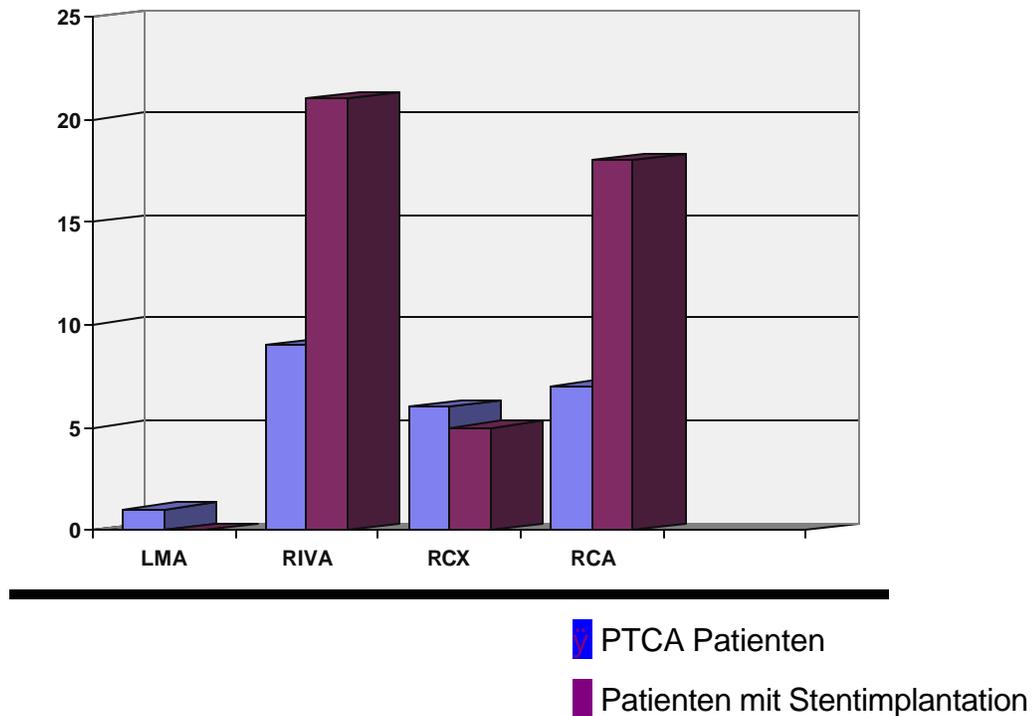


Bild 3

Bild 4

Beispieldarstellung einer Angioplastie bei einem 62 jährigen Patienten mit 3-G-KHK und einer Stenose im Bereich des Ramus interventricularis anterior (RIVA) mit anschließender Stentimplantation. Hier wurde die frontale Projektionsebene als Vorzugsebene für beide Bilder ausgewählt. Bild 3 zeigt das direkte postinterventionelle Ergebnis und Bild 4 die *follow-up* Untersuchung 6 Monate nach Intervention.

Die Verteilung und Beziehung der QCA-Patienten mit PTCA mit/ohne Stentimplantation, sowie entsprechender Lokalisation innerhalb des Kollektivs ist in Grafik 6 wiedergegeben.



Grafik 6: Darstellung der QCA Patienten im Subkollektiv nach dem Läsionsort (LMA = left main coronary artery; RIVA = Ramus interventricularis anterior; RCX = Ramus circumflexus; RCA = right coronary artery) bei 68 Patienten mit Restenose mit PTCA mit/ohne Stentimplantation.

2.3.3 Einzelfalldarstellung

Im Rahmen der retrospektiven Untersuchung im UKBF der FU Berlin wurden die einzelnen Patientendaten mit Hilfe einer Datenbank archiviert. Hierbei wurde ein besonderes Augenmerk auf Restenosepatienten gerichtet. Dieses hoch Restenosekollektiv soll nun anhand von 2 ausgewählter Einzelfalldarstellungen, welche das Patientenkollektiv widerspiegeln, soll nun näher beschrieben werden.

Als gemeinsames Hauptmerkmal weist dieses Kollektiv in der Regel eine Mehrgefäß-erkrankung und mehrere kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, Dyslipidämie, Nikotin- und Alkoholabusus, positive Familienanamnese und arteriellen

Hypertonus auf. Zusätzlich besteht bei allen Patienten eine relativ hohe Anzahl von vier oder mehr kardiologischen Interventionen. Darüber hinaus erhielten die Patienten zum größten Teil eine Stentimplantation. Die Mehrzahl der Patienten mussten sich einer Bypassoperation unterziehen. Die Medikation umfaßte die üblichen pharmakologischen Gruppen der Behandlung einer KHK (β -Blocker, Nitrate, ACE-Hemmer, Diuretika, Acetylsalicylsäure, Digitalis und bei bestehenden kardiovaskulären Risikofaktoren Lipidsenker, Antihypertensiva und Antidiabetika). Zusätzlich erhielt die Mehrzahl der Patienten postinterventionell Cumarinderivate oder Aspirin[®] bzw. Tyklyd als Begleitmedikation. Im folgenden sollen hierbei exemplarisch 2 Patienten näher beschrieben werden:

Frau G.F., 75 Jahre, mit einer 2-Gefäßerkrankung und bekanntem arteriellem Hypertonus positiver Familienanamnese und Dyslipidämie, wurde im Status eines akuten Myokardinfarktes einer interventionellen Therapie im Juli 1996 zugeführt. Der Untersucher diagnostizierte eine höhergradige Abgangsstenose des RIVP, eine im proximalen Drittel des RIVA vorhandene Stenose (< 50%), sowie ein Abbruch des RCX nach dem Abgang des RM I. Therapeutisch erfolgt die PTCA des RCX. Zwei Tage später kam es zur erneuten Angina pectoris Symptomatik. Die durchgeführte Koronarangiographie zeigte eine erneute hochgradige Stenosierung des RCX nach Abgang des RM I. Daraufhin wurde eine PTCA mit anschließender Implantation zweier Wiktor-Stents (3,0 mm) durchgeführt. Im November 1996 erfolgte die Durchführung einer Kontrollangiographie. Als Untersuchungsbefund zeigte sich eine In-Stent-Restenose der zuvor im Juli implantierten Stents. Daraufhin kam es zur wiederholten Dilatation des stenosierten Gefäßsegmentes. Ein halbes Jahr später (5/1997) wurde die Patientin bei erneuter Angina pectoris Symptomatik einer erneuten Koronarangiographie zugeführt. Das Ergebnis zeigte eine 50% - 60%ige Stenose im Bereich des Stents. Zusätzlich konnte eine subtotale Abgangsstenose des RD I diagnostiziert werden. Hierauf erfolgte die PTCA des RD I ohne nennenswerte Restenose. Im März 1998 wiederholte Vorstellung der Patientin zur Koronarangiographie mit der Diagnose einer Stenose im Bereich des RCA unter 50% und einer höhergradigen Abgangsstenose im Bereich des RD I.

Als weiterer Einzelfall soll Frau L.L., 71 Jahre, näher betrachtet werden. Bei dieser Patientin ist ein 3-Gefäßerkrankung bekannt, die mit β -Blockern, Acetylsalicylsäure und Nitraten therapiert wird. Als einzigen kardiovaskulärer Risikofaktor weist die Patientin eine Dyslipidämie auf, die den Einsatz eines Lipidsenkers erforderlich macht. Die Messung des Fibrinogenspiegel ergab laborchemisch einen Wert von 3,39 g/l. Die Patientin wurde zum ersten Mal im April 1997 einer Koronarangiographie zugeführt. Nachdem sich im Bereich des RCX eine multiple Stenosierungen und eine längerstreckige höhergradige Stenose nach Abgang des RM II, sowie im Bereich der RCA nach Abgang eines größeren ventrikulären Astes sich ein Gefäßabbruch darstellte, wurde bei der Patientin einige Tage später eine Rekanalisation mit Hilfe einer Angioplastie der RCA mit gutem Primärresultat vorgenommen. Die höhergradige Stenose im Bereich der RCX konnte im weiteren Verlauf ebenfalls angegangen werden. Hierbei kam es bei noch verbleibender Restenose zur Implantation von zwei Stents. Im Juni 1997 wurde eine erneute Koronarangiographie durchgeführt. Wiederum stellte sich distal des Abgangs des RM II eine längerstreckige höhergradige Stenose dar, welche nochmals therapeutisch mit PTCA und Implantation eines 20mm Wiktor-i-Stent angegangen wurde.

2.4 Statistik

Die retrospektiven Daten, welche von klinischer Seite erhoben und in einer Datenbank archiviert wurden, sind unter Berücksichtigung der Fragestellung ausgewertet worden. In Zusammenarbeit mit dem Institut für Statistik und Informatik der FU Berlin erfolgte computerunterstützt die statistische Analyse unter Verwendung der Programme StatXact-3 und Statview (Version 4.5). Hierzu diente der X^2 -Test. Dieser Test wird zur statistischen Analyse und Berechnung des Signifikanzniveau (p) bei einer ausreichenden Zahl an Patienten. Lagen die Patientenzahlen im einstelligen Bereich, so wurden die Werte mit Hilfe des Fischer's exakt Test berechnet. Ein p -Wert von $p <$

0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen. Alle Daten sind in Mittelwerten \pm SD angegeben.

1. Vergleich zw. den Patienten mit Restenose und Patienten ohne Restenose m. H. des Fisher's exact Test. Die Angaben erfolgen jeweils in absoluten Zahlen \pm Standardabweichung und Prozentwerte:

Allgemeine Patientendaten:

	Kontrollgruppe	keine Restenose	Restenose
n	98	87	115
Geschlecht (m/w)	53/45	64/24	90/25
Alter	55 \pm 14	64 \pm 10	62 \pm 11
Größe [cm]	169 \pm 22	173 \pm 9	172 \pm 9
Gewicht [kg]	80 \pm 17	79 \pm 11	78 \pm 13
BMI [kg/m ²]	28 \pm 5	27 \pm 4	27 \pm 4
Myokardinfarkt	6(6%)	54(62%)	83(72%)
Stentinplantation	-----	54(62%)	101(87%)

Kardiovaskuläre Risikofaktoren:

	Kontrollgruppe	keine Restenose	Restenose
Hypertonie	27(27%)	54(62%)	70(60%)
Dyslipidämie	26(26%)	64(73%)	88(77%)
pos. Familienanamnese	30(31%)	39(45%)	44(38%)
Ex-Raucher	6(6%)	39(45%)	26(23%)

Raucher	38(39%)	26(30%)	54(47%)
Diabetes mellitus	7(7%)	13(15%)	24(21%)

1.1 Vergleich zwischen den beiden Gruppen Restenose vs keine Restenose in Abhängigkeit der Genotypen (G1/G1, G1/G2 und G2/G2):

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	84 (56%)	67 (44%)	
G1/G2	28 (59%)	19 (41%)	
G2/G2	3 (75%)	1 (25%)	p= 0,72

1.2 Vergleich zwischen den jeweiligen homozygoten Genotypen (G1/G1 und G2/G2):

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	84	67	
G2/G2	3	1	p=0,48

1.3 Vergleich zw. Genotyp G1/G1 und den beiden zusammengefaßten Gruppen G1/G2 und G2/G2:

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	84	67	
G1/G2 u.G2/G2	31	10	p=0,57

2. Patienten mit Stentimplantation und Restenose bzw. keiner Restenose im Vergleich:

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	72	47	
G1/G2	26	11	
G2/G2	2	1	p= 0,62

2.1 KHK-Patienten mit bzw. ohne Restenose mit durchgeführter Stentimplantation, wobei die Gruppen G1/G2 mit G2/G2 wiederum zusammengefaßt sind:

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	72	47	
G1/G2 u.G2/G2	28	12	p=0,30

3. KHK-Patienten mit bzw. ohne Restenose im direkten Vergleich:

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	174	65	
G1/G2	60	17	
G2/G2	5	4	p= 0,30

4.1 Darstellung der Patienten mit KHK versus Patienten ohne KHK für die beiden homozygoten Genotypen G1/G1 und G2/G2:

Genotyp	Restenose	keine Restenose	
G1/G1	174	65	
G2/G2	5	4	p= 0,22

4.2 KHK-Patienten mit Myokardinfarkt (MI) und Restenose (Re/MI) versus KHK-Patienten mit MI und angiographischem Ausschluß einer Restenose (kRe/MI):

Läsionsart	G1/G1	G1/G2	G2/G2	
Re/MI:	61	20	1	
kRe/MI:	40	15	1	p= 0,88

4.3 1-Gefäß-KHK-Patienten mit MI und Restenose (1-G/Re/MI) versus 1-Gefäß-KHK-Patienten mit MI ohne Restenose (1-G/kRe/MI):

Läsionsart	G1/G1	G1/G2	G2/G2
1-G/Re/MI:	14	4	1

1-G/kRe/MI: 15 9 0 p= 0,25

4.3.2 MI mit Restenose (1-G/Re/MI) versus MI ohne Restenose (1-G/kRe/MI) für Patienten mit einer 1-Gefäß-KHK, wobei der Genotyp G1/G2 und G2/G2 zusammen gefaßt sind:

Läsionsart	G1/G1	G1/G2 und G2/G2	
1-G/Re/MI:	14	5	
1-G/kRe/MI:	15	9	p= 0,42

4.4 MI mit Restenose (2-G/Re/MI) versus MI ohne Restenose (2-G/kRe/MI) für Patienten mit einer 2-Gefäß-KHK, Fisher's exakter Test:

Läsionsart	G1/G1	G1/G2	G2/G2	
2-G/Re/MI:	27	11	0	
2-G/kRe/MI:	14	4	1	p= 0,37

4.4.1 Myokardinfarkt mit Restenose (2-G/Re/MI) versus MI ohne Restenose (2-G/kRe/MI) für Patienten mit einer 2-Gefäß-KHK, wobei der Genotyp G1/G2 und G2/G2 zusammen gefaßt sind:

Läsionsart	G1/G1	G1/G2 und G2/G2	
------------	-------	-----------------	--

2-G/Re/MI:	27	11	
2-G/kRe/MI:	14	5	p= 0,88

4.5 3-Gefäß-KHK-Patienten mit MI und Restenose (3-G/Re/MI) versus 3-Gefäß-KHK-Patienten mit MI ohne Restenose (3-G/kRe/MI):

Läsionsart	G1/G1	G1/G2	G2/G2	
3-G/Re/MI:	20	5	0	
3-G/kRe/MI:	11	2	0	p= 0,84

4.5.1 MI mit Restenose (3-G/Re/MI) versus MI ohne Restenose (3-G/kRe/MI) für Patienten mit einer 3-Gefäß-KHK, wobei der Genotyp G1/G2 und G2/G2 zusammen gefaßt sind:

Läsionsart	G1/G1	G1/G2 und G2/G2	
3-G/Re/MI:	27	11	
3-G/kRe/MI:	14	5	p= 0,88

5.1 Verteilung der KHK-Patienten in Abhängigkeit von der Gefäßerkrankung und der Restenoseart (in Klammern steht jeweils die zu erwartende Häufigkeit):

Läsionsart	1-Gefäß-KHK	2-Gefäß-KHK	3-Gefäß-KHK
------------	-------------	-------------	-------------

Re:	28 (34)	51 (48)	36 (33)	
kRe:	14 (26)	37 (37)	21 (25)	p= 0,14

5.1.1 Verteilung der KHK-Patienten in Abhängigkeit von der Gefäßerkankung und der Restenoseart (in Klammern steht jeweils die zu erwartende Häufigkeit):

Läsionsart	1-Gefäß-KHK	2-Gefäß-KHK und 3-Gefäß-KHK	
Re:	28 (34)	87 (81)	
kRe:	14 (26)	55 (61)	p= 0,03

Aus den dargestellten Werten läßt sich folgern, daß ein statistischer Zusammenhang zwischen KHK-Patienten und dem $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus nicht nachgewiesen werden konnte. Sowohl ein direkter Vergleich zwischen den beiden Gruppen, als auch eine Aufspaltung in einzelne Untergruppen ergab keine statistische Signifikanz ($p > 0,05$). Der $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus stellt somit kein unabhängiger determinierter Risikofaktor für die Entwicklung einer Restenose dar. Bei Patienten mit einem positiven PI^{A2} Allel konnten keine erhöhte Prävalenz bezüglich einer Restenose festgestellt werden ($p=0,48$).

Anhand des untersuchten Patientenkollektivs konnte unabhängig vom $PI^{A1/A2}$ Polymorphismus gezeigt werden, daß KHK-Patienten mit einer Restenose statistisch signifikant häufiger Mehrgefäßerkrankungen aufweisen, als KHK-Patienten mit einer 1-Gefäßerkrankung ($p=0,03$).