

## 5 Diskussion

Die Koronare Herzerkrankung ist ein typisches Beispiel für eine genetisch komplexe, multifaktorielle Krankheit<sup>97</sup>. Genetisch komplexe Krankheiten zeigen zwar eine familiäre Häufung, lassen sich jedoch keinem klaren Erbgang zuordnen<sup>98</sup>. Das Methodenspektrum zur Identifizierung relevanter Gendefekte besteht in genetischen Kopplungsanalysen an betroffenen Familien sowie in positionellen Klonierungsstrategien und insbesondere in einer Assoziationsanalyse, bei der Genotypfrequenzen von Kandidatengenomen zwischen einer erkrankten Gruppe und einem Kontrollkollektiv verglichen werden<sup>99</sup>.

Typischerweise ist für Erkrankungen wie die KHK das relative Risiko eines krankheitsrelevanten Genotyps in der Regel niedrig und bei odds ratios zwischen 1,5 und 2 kann die Einzelmutation nur einen sehr begrenzten Anteil ätiologisch erklären<sup>100</sup>. Aufgrund des geringen Beitrags der Einzelmutation sowie der Genotyphäufigkeit ergibt sich die Notwendigkeit, bei der Untersuchung von Kandidatengenomen der KHK hinreichend große Kollektive von Patienten und Kontrollen zu rekrutieren<sup>101</sup>. Von manchen Autoren werden dabei Zahlen von jeweils > 1000 gefordert. Analysiert man die Literatur zu Kandidatengenomen der KHK so fällt auf, dass die Mehrzahl der Studien mit Stichprobenumfängen von einigen wenigen 100 Patienten durchgeführt wurden und dieses „underpowering“ einen ganz wesentlichen Grund für die vielfältig widersprüchlichen Ergebnisse zu den in der Arbeit dargestellten Kandidatengenomen abgibt<sup>102</sup>. Der Stichprobenumfang unserer Studie wurde für eine Power von 80 % bei einem alpha-Fehler von 5 % für 7 Merkmale mit jeweils 1000 Patienten und Kontrollen berechnet. Die 1995 rekrutierte Studienpopulation stellt bis heute eine der größeren Studienpopulationen zur Untersuchung genetischer Suszeptibilitätsfaktoren für die KHK dar.

Neben Zufallsfehlern wie der zu geringe Stichprobenumfang, Zufallsbefunden durch multiples Testen, Genotypisierungsfehler und falsche Auswahl des Kandidatengens sind „confounding“ und „bias“ wesentliche Determinanten der Ergebnisse bei genetischen Assoziationsstudien<sup>103</sup>. In diesem Kontext sind eine genaue Phänotypdefinition und eine möglichst exakte Phänotypcharakterisierung von großer Wichtigkeit. Zum einen erlaubt dies eine Vergleichbarkeit von Studien, zum anderen werden hinsichtlich Ätiologie einheitliche Erkrankungsgruppen dadurch möglichst genau erfasst. Bei unserer Studie wurde die Diagnose KHK mittels des Goldstandards der invasiven Diagnostik für die Patientengruppe gestellt. Des Weiteren wurden diese Patienten sehr genau hinsichtlich anthropometrischer Daten und einer Vielzahl von laborchemischen Parametern (siehe Tabellen 1 bis 4) charakterisiert.

Die Güte einer Fall-Kontroll-Studie wird ebenso durch ein möglichst exaktes „matching“ zwischen den Fallpatienten und den Kontrollpersonen determiniert<sup>101</sup>. In unserer Studie erfolgte das „matching“ hinsichtlich der Merkmale Alter und Geschlecht, Krankheitsfreiheit von kardiovaskulären Erkrankungen und Krankenhausaufnahme zur gleichen Zeit. Methodenkritisch muß angemerkt werden, dass die KHK-Krankheitsfreiheit in der Kontrollgruppe im Gegensatz zur Fallgruppe aus ethischen und logistischen Gründen nicht-invasiv erfolgen mußte. Diese nicht-invasive Diagnostik wurde jedoch soweit eskaliert, dass falschnegative Ergebnisse mit einer Wahrscheinlichkeit von < 10 % ausgeschlossen werden konnten. Ferner wurden Patienten mit schweren systemischen und inflammatorischen Erkrankungen wegen möglicher Interferenzen mit Parametern des Gerinnungssystems und des Metabolismus ausgeschlossen. Des weiteren wurden zur Einhaltung ethnischer Homogenität strikte Rekrutierungsstrategien auf eine deutsche Bevölkerung kaukasischer Abstammung aus oder um Berlin zur Vermeidung von Populationsstratifikationen angewendet.

Daneben sind eine physiologisch plausible Auswahl der Kandidatengene<sup>101</sup> sowie der einzelnen Polymorphismen ein weiteres Gütekriterium solcher Studien. Unserer Studie untersuchte im wesentlichen Kandidatengenen der Blutgerinnung, der vaskulären Homöostase sowie metabolische Parameter, die potentiell atherogen wirken.

## **Kandidatengene**

Im Folgenden werden die Ergebnisse der untersuchten Kandidatengene als potentielle hereditäre Suszeptibilitätsfaktoren für die Koronare Herzerkrankung sowie das prozedurale Risiko nach Katheterinterventionen dargestellt und im Kontext der Literatur zu dieser Thematik diskutiert.

### **5.1 Glykoprotein IIIa**

Weder für die Gesamtgruppe noch für die Interventionsarten im Einzelnen stellte der A1/A2 (Leu33Pro) Polymorphismus des Glykoprotein IIIa Gens ein hereditäres prozedurales Risiko dar. Hinsichtlich des KHK Risikos insgesamt fand sich ebenfalls keine signifikante Assoziation, dies galt auch für die Schwere der Krankheit, frühe Manifestation sowie für die Niedrig-Risiko-Gruppe. Bei klinischen Situationen mit erhöhter prokoagulatorischer Aktivierung wie dem akuten Koronaren Syndrom fand sich – unerwartet – sogar eine Unterrepräsentation von Trägern des Polymorphismus. Unsere Studie war die erste mit

großen Fallzahlen, die eine größere Bedeutung des A2 Allels für KHK und Katheterkomplikationen unwahrscheinlich machte. Sie stand im Widerspruch zu einer Reihe kleinerer Studien<sup>104</sup>, die positive Assoziationen beschrieben hatten. Zu dieser kontroversen Datenlage gibt es mittlerweile eine Vielzahl von Publikationen mit weiterhin widersprüchlichen Ergebnissen. Stellvertretend seien drei Metaanalysen zu dieser Thematik diskutiert: In der Analyse von Zhu<sup>105</sup> mit 23 Studien und 10.638 Individuen betrug das relative Risiko für einen Myokardinfarkt 1,06 (n.s.). 2003 fand sich in der Metaanalyse von Meisel<sup>25</sup> mit 10583 Patienten aus 19 Studien ein relatives Risiko von 1,1, das ebenfalls das Signifikanzniveau verfehlte. In der Arbeit von Di Castelnuovo<sup>106</sup> zum Koronaren Risiko wurden 9.095 KHK Patienten und 12.508 Kontrollen aus 34 Studien hinsichtlich des KHK Risikos zusammengefaßt. Hierbei betrug das relative Risiko 1,1, wobei das Signifikanzniveau aus der Arbeit nicht eindeutig zu entnehmen ist. Zusammenfassend ist von einem allenfalls schwachen Einfluß des Polymorphismus auf das KHK Risiko und das prozedurale Interventionsrisiko auszugehen.

## 5.2 Glykoprotein Ia

Obwohl das Vorhandensein des <sup>807</sup>T- Allel mit einer erhöhten Dichte des GP Ia/IIa Rezeptors und einer erhöhten Kollagen-induzierten Thrombozytenaggregation einher geht, fanden wir in unserer Studie weder für PTCA, noch für DCA, noch für Stent-Implantation eine Assoziation des C807-T-Genotyps mit dem kombinierten 30-Tage-Endpunkt. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Befunden einer weiteren großen Studie<sup>107</sup> mit 1.797 Patienten, die sich einer Stent-Implantation unterzogen. Auch in dieser Untersuchung fand sich bezüglich des Endpunktes „major adverse cardiac events“ mit 6,5 % bei 807T-Allel Trägern versus 5,3 % bei den Nicht-Trägern kein signifikanter Unterschied. In dieser Stent-Studie wird diskutiert, ob sich das negative Ergebnis hinsichtlich des prozeduralen Risikos – obwohl homozygote CC-Träger eine etwa doppelte GP-Ia/IIa-Zahl pro Thrombozyt aufweisen – sich durch die intensivierete antithrombozytäre Therapie mit Acetylsalicylsäure und Clopidogrel erklärt. Bei den Stent Patienten mag die Zweifachtherapie ein hereditäres Risiko überspielen. Jedoch spricht die in unserer Studie fehlende Assoziation auch für die Interventionsgruppen PTCA und DCA, die lediglich eine Monotherapie mit Aspirin erhielten, gegen eine signifikante Bedeutung des <sup>807</sup>T- Allels als prozeduraler Risikofaktor.

### 5.3 Glykoprotein Ib

In unserer Studie war das -5C-Allel weder mit einem koronaren Exzessrisiko noch mit der Schwere der Erkrankung assoziiert. Lediglich in Subgruppenanalysen zeigten sich signifikante Assoziationen: Vergleich man in der Gruppe der Patienten mit akutem Koronarsyndrom die heterozygoten plus homozygoten -5C-Allel-Träger mit den homozygoten -5TT Individuen, so fand sich ein 1,43fach erhöhtes Exzessrisiko. In der Subgruppe der intervenierten Patienten, die sich einer reinen PTCA unterzogen, war das prozentuale Risiko sogar um den Faktor 3,75 erhöht. Dieses prozedurale Exzessrisiko fanden wir jedoch weder bei DCA noch bei Stent-Implantation. Die negativen Ergebnisse hinsichtlich Assoziation mit Koronarer Herzerkrankung und Ausmaß der KHK, stehen im Einklang mit einer großen<sup>108</sup> und zwei kleinen Studien<sup>109, 110</sup>, die ebenfalls kein atherogenes Exzessrisiko sahen. Allerdings fanden wir, dass der -5C807T-Polymorphismus in prokoagulatorischen Situationen wie dem akuten Koronarsyndrom und bei PTCA ein Risikofaktor darstellt. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen zeigte die Opus-TIMI-16-Studie<sup>111</sup>, dass das Risiko, einen akuten Myokardinfarkt zu erleiden, in homozygoten -5CC-Trägern im Vergleich zu homozygoten -5TT-Trägern stark erhöht war (16,7 % versus 2,3 %). Im Gegensatz dazu fand aber eine große Studie mit knapp 2500 Patienten keine Assoziation zwischen dem -5C-Allel und einem akuten Myokardinfarkt<sup>108</sup>. Methodenkritisch ist bei dieser Studie jedoch anzumerken, dass sich die Infarkterhebung lediglich auf anamnestische Daten stützte.

### 5.4 Faktor VII

Träger des Gln<sup>353</sup>-Allels hatten gegenüber den homozygoten Trägern des Arg<sup>353</sup> eine um 21 % geringere Faktor VII Gesamtaktivität sowie um 33 % niedrigere Spiegel an zirkulierendem Faktor VII. Dabei fanden sich deutliche Hinweise auf einen Gen-Dosis-Effekt. Ähnliches fand sich für die mediane Faktor VIIa Konzentration. Die Mutation erwies sich hinsichtlich klinischer Endpunkte ebenfalls als funktionell: Träger des Gln<sup>353</sup>-Allels hatten mit einer 72 %igen Reduktion des kombinierten 30-Tage Endpunktes ein deutlich geringeres prozedurales Risiko. Dieses verminderte Risiko galt im Trend für alle Interventionsarten, wobei es nur für die Gesamtgruppe signifikant war. Unsere Befunde hinsichtlich Gen-Dosis-Effekt mit Abnahme sowohl der Konzentration wie auch der Aktivität von Faktor VII stehen im Einklang mit anderen publizierten Daten<sup>112-114</sup>. Ebenso wie in Untersuchungen mit noch größeren Fallzahlen wie der Framingham<sup>115</sup> und der

ECTIM Studie <sup>116</sup> zeigte sich in unserer Untersuchung keine signifikante Assoziation des Gln<sup>353</sup>-Allels mit akuten Koronaren Syndromen. Unsere Untersuchungen erweitern den Kenntnisstand jedoch insofern, dass sie eine deutlich protektive Wirkung des Gln<sup>353</sup>-Allels bei Katheterinterventionen zeigt.

### **5.5 Angiotensin II Typ 1 Rezeptor**

Obwohl sich bei dem A<sup>1166</sup>C Polymorphismus des Angiotensin II Typ 1 Rezeptor Gens sehr wohl eine Assoziation zur Verstärkung atherogener Risikofaktoren wie Hypertonie, koronare Vasokonstriktion und Natriumretention fand, schreiben sich diese Veränderungen in größeren Studien nicht in ein erhöhtes KHK Risiko um <sup>117</sup>. In unserer Studie zeigt sich erstaunlicherweise bei Trägern des C-Allels sogar eine Tendenz zur Unterrepräsentation in der KHK Gruppe und somit eine eher protektive Wirkung des C-Allels. Analog zur den geschlechtsspezifischen Unterschieden hinsichtlich der oben genannten Faktoren in anderen Studien <sup>118</sup> ist dieser Trend zur Protektion in unserer Studie bei Frauen stärker ausgeprägt. Darüberhinaus liefern unsere Ergebnisse weitere Informationen darüber, dass dieser Polymorphismus auch bei Koronarinterventionen – weder für die Gesamtgruppe noch für Einzelinterventionen – keinen hereditären Risikofaktor darstellt.

### **5.6 CA Repeat Polymorphismus in Intron 13 der endothelialen NO Synthase**

Der CA Repeat Polymorphismus in Intron 13 der eNOS ist bis heute nur wenig untersucht <sup>119</sup>. Lediglich von einer positiven Assoziation mit Hypertonus in einer japanischen Population wurde berichtet <sup>120</sup>. In unserem Kollektiv konnten wir 28 Allele mit 17 bis 44 CA Repeats identifizieren. Mit Zunahme der CA Repeats fanden wir gleichzeitig eine Zunahme des Risikos einer Koronaren Herzerkrankung (OR = 1,28 – 3,61). Dieses Exzessrisiko wurde ab einer CA Repeat Zahl  $\geq 34$  signifikant. Lagen keine klassischen Risikofaktoren wie Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus oder Nikotinabusus vor, so stieg das Risiko gar auf 3,39 an. Unsere Arbeit zeigt erstmals, dass der CA Repeat Polymorphismus in Intron 13 des endothelialen NO Synthase Gens einen Risikofaktor für die KHK darstellt. Dies gilt insbesondere für die „Niedrig-Risiko-Gruppe“, bei der konventionelle Risikofaktoren nicht vorhanden sind und bei der hereditäre Suszeptibilitätsfaktoren besonders zum Tragen kommen. Die funktionelle Relevanz von CA Repeats konnte nachfolgend aufgeklärt werden <sup>121</sup>: CA Repeats sind für konstitutives

eNOS Splicing im exonischen wie im intronischen Kontext essentiell. Ohne CA Repeats fand Splicing nicht statt; die Splice-Effizienz stieg mit der Anzahl der CA Repeats. Darüberhinaus geben CA Repeats Bindungsstellen für einen Splicing-enhancer, dem heterogenous nuclear ribonucleoprotein L (HnRNP L), ab. Nach diesen Daten müssten Individuen mit hohen CA Repeats vermehrt das vasoprotective Signalmolekül Stickstoffmonoxid bilden. Im Gegensatz dazu zeigen in unserer Untersuchung jedoch eben diese Individuen ein erhöhtes KHK Risiko. Eine Hypothese zur Erklärung dieses Widerspruchs ist, dass bei einer hohen Produktion von NO zugleich verstärkt Radikale gebildet werden<sup>122</sup> und diese dann als proatherogene Faktoren überwiegen.

### **5.7 Interaktion des CA Repeat Polymorphismus in Intron 13 der endothelialen NO Synthase und Hyperhomocysteinämie**

Der mediane Homocysteinspiegel betrug in unserer Population 9,4 µmol/l. Weder Werte oberhalb des Medians noch die CA Repeat Anzahl waren in der Gesamtgruppe der KHK Patienten mit einem erhöhten Risiko für ein akutes Koronarsyndrom assoziiert. Jedoch fand sich ein geschlechtsspezifischer Unterschied im Sinne einer Gen-Umwelt-Interaktion: Im Gegensatz zu Männern fand sich in der Gruppe der Frauen mit hohem Homocysteinspiegel mit steigender CA Repeat Anzahl eine erhebliche Zunahme des Risikos (bis 18,3fach), an einem akuten Koronaren Syndrom zu erkranken. Auch nach Adjustierung auf Marker der prokoagulatorischen Aktivierung und Inflammation blieben diese Risikoerhöhung stabil. Die Ergebnisse liefern erste Hinweise, dass Homocystein das hereditäre Risiko erhöhter CA Repeats im eNOS Gen hinsichtlich akutem Koronarem Syndrom geschlechtsspezifisch modifiziert. Mehrere epidemiologische Studien<sup>123</sup> zeigen, dass Homocystein bei Frauen eine größere Bedeutung als atherogener Risikofaktor besitzt. Die Tatsache, dass das prokoagulatorisch wirksame Homocystein in unserer Studie nur bei Frauen das Risiko für akute koronare Syndrome verstärkt, bedarf jedoch weiterer Klärung.

### **5.8 Methylentetrahydrofolsäure Reduktase und Homocysteinspiegel**

Das Gen wurde in unserer Studie mit seinen drei Varianten ausführlich untersucht. Für T<sup>1317</sup>C fand sich unter den 2000 eingeschlossenen Patienten lediglich ein Individuum. Für die 6 verbleibenden Genotypvarianten C<sup>677</sup>T und A<sup>1298</sup>C fand sich keine signifikante Assoziation zur KHK. Auch die Bildung von Haplotypen erhöhte das KHK Risiko nicht. Die zwei

Genotypen  $^{677}\text{T}$ ,  $^{1298}\text{A} / ^{677}\text{C}$ ,  $^{1298}\text{C}$  und  $^{677}\text{C}$ ,  $^{1298}\text{C} / ^{677}\text{C}$ ,  $^{1298}\text{C}$  waren in der Subgruppe der Patienten mit akutem Koronarem Syndrom unterrepräsentiert (OR = 0,4). Obwohl die MTHFR ein Schlüsselenzym im Homocysteinestoffwechsel darstellt, finden sich hinsichtlich der genetischen Varianten für die Gesamtgruppe der 2000 Individuen keine signifikante Unterschiede in den Homocysteinspiegeln. Von den 6 Genotypen wiesen nur in der KHK Gruppe homozygote  $^{677}\text{C}$  Träger signifikant niedrigere Homocysteinspiegel. Dies schlägt sich zwar nicht in einer Reduktion des KHK Risikos nieder, jedoch könnte es eine Erklärung dafür sein, dass bei diesen Individuen das Risiko für eine akutes Koronares Syndrom um 60 % reduziert war. Unsere Studie ging als größte Population in eine Metaanalyse <sup>124</sup> mit 40 Fall-Kontroll-Studien, 11.163 Patienten und 12.758 Kontrollen, ein. In dieser Metaanalyse ergab sich für homozygote  $^{677}\text{T}$  Individuen eine signifikante Erhöhung des KHK Risikos um 16 %.

### **Hyperhomocysteinämie**

Aus der Subgruppe der 648 intervenierten Patienten erfüllten 11,1 Prozent die Definition der Hyperhomocysteinämie. Weder für die Gesamtgruppe der Interventionen noch für die einzelnen Interventionsarten konnte ein Zusammenhang zum 30-Tage-Endpunkt gefunden werden. Im Gegensatz zu einer kleinen Studie <sup>125</sup>, die bei Interventionen an peripheren Gefäßen die Hyperhomocysteinämie als prozeduralen Risikofaktor sah, konnten wir diese Ergebnisse bei Koronarinterventionen nicht bestätigen. Der Unterschied kann möglicherweise dadurch erklärt werden, dass bei koronarer Intervention strengere antikoagulatorische und antithrombozytäre Regimen angewendet werden. Ein weiterer Grund ist darin zu sehen, dass unsere Patienten mit Hyperhomocysteinämie überwiegend in einem Bereich von 15 bis 25  $\mu\text{mol/l}$  lagen, der als milde Hyperhomocysteinämie einzustufen ist. Zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich der Akutkomplikationen kam eine Studie mit 549 Patienten <sup>126</sup>. Interessanterweise fand sich in dieser Untersuchung jedoch im Langzeitverlauf über 58 Monate ein vom Homocysteinspiegel abhängiges koronares Risiko.

### **5.9 G-Protein $\beta 3$**

In dieser Arbeit war der  $\text{C}^{825}\text{T}$  Polymorphismus in Exon 10 des heterotrimeren G-Protein kodierenden Gen (GNB3) mit keinem Exzessrisiko bei Koronaren Katheterinterventionen assoziiert. Obwohl eine verstärkte Vasokonstriktion sowie erhöhte Plättchenaggregation

nach Barotrauma der Katheterintervention wesentliche Faktoren für Akutkomplikationen darstellen, und obwohl für den C<sup>825</sup>T Polymorphismus eine verstärkte Vasokonstriktion auf Agonisten wie Katecholamine und Endothelin 1 gezeigt werden konnte<sup>77</sup>, fand sich in unserer Studie das prozedurale Risiko bei T-Allel Trägern nicht erhöht. Ähnliche Befunde wurden in einer großen Studie zur Stentimplantation erhoben, die ebenfalls keine Risikoerhöhung feststellte<sup>127</sup>. Möglicherweise überspielt dabei die ausgeprägte antithrombozytäre Begleitmedikation sowie die Verhinderung des recoils durch den Stent einen möglichen Geneffekt. Andererseits sahen wir unter Interventionsformen wie der PTCA oder der Atherektomie, die gegen beide Mechanismen nicht in dem Maße geschützt sind, ebenfalls keine erhöhte Komplikationsrate bei T-Allel Trägern.

### **5.10 Paraoxonase 1**

Nach Analyse der Mutationen in Codon 55 und Codon 192 bestimmten wir aus den Genotypfrequenzen die drei Haplotypen PON1-1 (55L/192Q), PON1-2 (55L/192R) und PON1-3 (55M/192Q). Keiner der drei Haplotypen stellte für die Gesamtgruppe oder Untergruppen wie frühe Krankheits-Manifestation und akutes Koronares Syndrom einen Risikofaktor dar. Auch auf Parameter des Fettstoffwechsels wie Triglyceride, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin sowie Apolipoprotein A und B fanden sich zwischen den einzelnen Haplotypen keine Unterschiede. Unsere Studienpatienten gingen als zweitgrößte Population in eine Metaanalyse<sup>128</sup> mit 43 Studien ein, die insgesamt 11.212 KHK Patienten einschloß. Analog zu unseren im wesentlichen negativen Ergebnissen fand die Metaanalyse für beide Mutationen keine signifikante Assoziation zwischen den Paraoxonasevarianten und dem Risiko einer Koronaren Herzerkrankung oder einem akuten Koronarsyndrom.

### **5.11 $\beta$ 3-Rezeptor und Leptin**

In unserem Patientengut fanden wir hinsichtlich unserer primären Fragestellung keine signifikante Assoziation der Trp64Arg Mutation des  $\beta$ 3 Adrenorezeptor Polymorphismus zur KHK. Homozygote Individuen (64ArgArg) hatten allerdings eine im Mittel 7,1 Jahre frühere KHK Manifestation. Hinsichtlich anthropometrischer Daten wie BMI und Parameter des Fettstoffwechsels wie LDL-Cholesterin, APOA1, APOB ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen. Unsere Ergebnisse machen eine größere



Rolle der Trp64Arg Mutation des  $\beta$ 3 Adrenorezeptor Gen unwahrscheinlich, allenfalls besteht ein leichter Einfluß auf Parameter des metabolischen Syndroms. Die Ergebnisse stehen im Gegensatz zu einigen Arbeiten mit kleineren Fallzahlen, die Assoziationen des Polymorphismus mit Hypertonie und KHK beschreiben. Die Mehrzahl der Studien jedoch konnten wie wir keine Assoziation zur KHK nachweisen<sup>92</sup>. Bei der Betrachtung der Studien, die eine Assoziation zwischen der Mutation und dem arteriellen Blutdruck fanden, muß bedacht werden, dass bei diesen auch gleichzeitig Assoziationen zu Risikofaktoren der Hypertonie wie hohe Lipidspiegel, Übergewicht, oder Leptin vorlagen. Er ist daher schwierig, zwischen einem direkten Allel-Effekt auf den Blutdruck und einem bloßen sekundären Phänomen, nämlich gleichzeitiges Vorhandensein mit Faktoren des metabolischen Syndroms, zu differenzieren.

In unserer Studie fanden sich in der KHK Gruppe 10,3 % höhere Leptinspiegel im Vergleich zu den Kontrollen. In verschiedenen Modellen der multiplen Regression erwies sich Leptin jeweils als unabhängiger Risikofaktor für die KHK. Interessanterweise fanden sich keine Unterschiede in den Leptinkonzentrationen zwischen Wildtyp und heterozygoten 64Arg Individuen. Im Gegensatz dazu war Leptin in homozygoten Trägern dreifach erhöht. Jedoch zeigte sich in einer multiplen Regressionsanalyse, dass diese hohen Leptinwerte ausschließlich vom BMI, weiblichen Geschlecht und Insulinspiegeln determiniert wurden, während der Trp64Arg Polymorphismus keinen Einfluß hatte. Unsere Resultate sprechen für einen Einfluß des Leptins auf die Entwicklung der KHK, möglicherweise durch Aktivierung des sympathischen Nervensystems mit entsprechenden Wirkungen auf metabolische Parameter, Blutdruck und Vasomotion. In dieser Studie konnten wir erstmals die Rolle von Leptin als atherogener Risikofaktor charakterisieren. In der Folge wurden diese Ergebnisse in der WOSCOPS Studie bestätigt<sup>129</sup>, die für den Anstieg des Leptins um eine Standardabweichung eine Risikozunahme um 25 % errechnete.

## **Ausblick**

Die Fokussierung auf Einzelnukleotidpolymorphismen war zum Zeitpunkt der Durchführung aus wissenschaftlicher und methodisch-technischer Sicht Standard und folgte finanziellen Vorgaben. Technische Fortschritte in der Genotypisierung mit high-throughput Methoden ermöglichen heute einen ungleich größeren Analyseumfang in Bezug auf Zahl der Kandidatengene, ihrer Polymorphismen und den Probenumfang der Populationen<sup>130</sup>.

Mit der erweiterten Kenntnis der genetischen Variabilität eines Gens wie sie durch Sequenzierungstechniken erreicht werden kann, werden heute komplexere Betrachtungsweisen wie die systematische Untersuchung der Kopplungsungleichgewichte polymorpher Marker sowie die Untersuchung von Haplotypen möglich<sup>131</sup>. Im Rahmen dieser erweiterten Analysemöglichkeiten könnten Haplotyp-basierte Assoziationsstudien auch verbesserte Aussagen hinsichtlich der funktionellen Bedeutung hereditärer Varianten von Kandidatengenen bringen. Die rasante technische Weiterentwicklung wird in naher Zukunft dazu führen, dass die genetische Variabilität in relevanten ethnischen Gruppen über das ganze Genom weitgehend aufgedeckt wird und ihre Beziehungen untereinander kartiert und in „haplotype maps“ zusammengefügt wird<sup>132</sup>. Am Horizont zeichnet sich die Möglichkeit eines „whole genome scanning“ mit reduziertem Aufwand auch bei polygenen Erkrankungen wie der KHK ab. So konnten kürzlich bei 420 Familien ein Genabschnitt auf dem Chromosom 3q13 identifiziert werden, der mit früher Manifestation der KHK gekoppelt ist<sup>133</sup>. In der Zukunft sind aus der Kombination von „whole genome scanning“ und verbesserten Kandidatengenansätzen grundlegende neue Einsicht in die (Patho-) Physiologie und in die genetischen Grundlagen kardiovaskulärer Massenerkrankungen wie der KHK zu erwarten<sup>134</sup>. Der Wunsch des Klinikers ist dabei, dass der Patient durch die verbesserte Abschätzung seines individuellen Erkrankungs- und Komplikationsrisikos besser diagnostiziert und passgenau therapiert werden kann.