

Die Rolle des FcγRezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus bei Patienten mit
koronarer Herzkrankheit und Myokardinfarkt

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Horstmann, Anna Yuriko
aus Mainz

Gießen 2005

Aus dem medizinischen Zentrum für
Klinische Chemie, Klinische Immunologie und Humangenetik
Direktor: Professor Dr. Dr. N. Katz
des Universitätsklinikums Gießen und Marburg

Gutachter: Prof. Dr. Dr. Gardemann

Gutachter: Prof. Dr. Preissner

Tag der Disputation: 06.12.2005

Teile dieser Arbeit wurden in der Zeitschrift Thrombosis and Haemostasis veröffentlicht:

Gardemann, A.; Horstmann, A; Santoso S.

FcγRIIa-R131H polymorphism: Its impact on coronary heart disease in a German cohort

Thromb Haemost 2003; 90:1218-20

Gießen, den 12.07.2005

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Anna Horstmann

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
1.1	Atherosklerose	9
1.1.1	Risikofaktoren der Atherosklerose	12
1.1.1.1	Gerinnungsstörungen als Risikofaktor	13
1.1.1.2	Genpolymorphismen als Risikofaktoren	14
1.1.1.3	Immunologie bei Atherosklerose	14
1.2	Fcγ - Rezeptoren	15
1.2.1	FcγRezeptor IIa	16
1.2.1.1	Rolle des FcγRezeptors IIa in der Atherosklerose	18
1.2.1.2	HR ¹³¹ - Polymorphismus am FcγRezeptor IIa	18
1.2.1.3	Relevanz des FcγRezeptors IIa HR ¹³¹ - Polymorphismus	19
1.2.1.4	Bedeutung des FcγRezeptors IIa HR ¹³¹ - Polymorphismus bei der Heparin induzierten Thrombozytopenie	20
1.3	Fragestellung	20
2	Material und Methoden	22
2.1	Technische Hilfsmittel	22
2.1.1	Geräte	22
2.1.2	Kleinmaterial	22
2.1.3	Reagenzien	23
2.2	Methode	25
2.2.1	Studienpopulation	25
2.2.1.1	Kontrollkollektiv	25
2.2.1.2	Fallkollektiv	25
2.2.1.3	Definition von Niedrig- und Hochrisikountergruppen	27
2.2.2	Untersuchungen	27
2.2.2.1	Gesamtcholesterin	28

2.2.2.2	Triglyceride	28
2.2.2.3	Apolipoprotein AI und Apolipoprotein B	29
2.2.2.4	C-reaktives Protein	29
2.2.2.5	Glucose.....	30
2.2.2.6	Lipoprotein(a).....	30
2.2.2.7	Kreatinin.....	30
2.2.2.8	Fibrinogen	31
2.2.2.9	Isolierung der Desoxyribonukleinsäure aus Vollblut.....	31
2.2.2.10	Polymerasekettenreaktion	32
2.2.2.11	Spezifische Methode zum Nachweis des	
	FcγRezeptor IIa HR ¹³¹ -Polymorphismus	33
2.2.2.11.1	Prinzip der Methode	33
2.2.2.11.2	Durchführung der Methode	34
2.2.2.12	Agarosegelelektrophorese	35
2.2.2.12.1	Prinzip der Methode	35
2.2.2.12.2	Durchführung der Methode	36
2.2.2.13	Sequenzierung	36
2.2.2.13.1	Prinzip der Methode	36
2.2.2.13.2	Durchführung der Methode	37
2.2.3	Statistische Fragestellungen	38
2.2.4	Statistische Analysen	39
3	Ergebnisse	40
3.1	Fall- und Kontrollkollektiv	40
3.2	Charakterisierung der Studienpopulation	40
3.2.1	Risikoprofil der einzelnen Gruppen	41
3.2.1.1	Altersstruktur.....	41
3.2.1.1.1	Altersstruktur der Probanden	41
3.2.1.1.2	Altersstruktur innerhalb der Kontrollgruppe	42
3.2.1.1.3	Anteil der Patienten mit koronarer Herzerkrankung in	
	den verschiedenen Altersgruppen	42
3.2.1.1.4	Altersstruktur in Abhängigkeit vom Schweregrad der	
	koronaren Herzerkrankung.....	43

3.2.1.1.5	Anteil der Myokardpatienten in den verschiedenen Altersgruppen	45
3.2.1.2	Beziehung zwischen koronarer Herzkrankheit und Myokardinfarkt.....	46
3.2.1.3	Gensini Score	48
3.2.1.3.1	Höhe des Gensini Scores in Abhängigkeit von der KHK	48
3.2.1.3.2	Höhe des Gensini Scores in Abhängigkeit vom Myokardinfarkt.....	50
3.2.1.4	Identifikation etablierter Risikofaktoren	51
3.2.1.4.1	Etablierte Risikofaktoren der Patienten mit koronarer Herzkrankheit	52
3.2.1.4.2	Etablierte Risikofaktoren der Herzinfarktpatienten	52
3.3	Ergebnisse der Polymerasekettenreaktion	55
3.4	Ergebnis der Sequenzierung	57
3.5	Genotypverteilung in der Studienpopulation	57
3.5.1	Koronare Risikofaktoren in Abhängigkeit vom FcγRezeptor IIa HR ¹³¹ - Genpolymorphismus	59
3.5.2	Beziehung zwischen dem FcγRezeptor IIa HR ¹³¹ - Genpolymorphismus und dem Risiko der koronaren Herzerkrankung.....	60
3.5.2.1	Beziehung zwischen dem FcγRezeptor IIa HR ¹³¹ - Polymorphismus und dem Schweregrad der koronaren Herzkrankheit (klinische Einteilung)	62
3.5.2.2	Beziehung zwischen dem FcγRezeptor IIa HR ¹³¹ - Polymorphismus und dem Schweregrad der koronaren Herzkrankheit (Gensini Score).....	64
3.5.3	Beziehung zwischen dem FcγRezeptor IIa HR ¹³¹ - Polymorphismus und dem Myokardinfarktrisiko.....	65
4	Diskussion	70
4.1	Bedeutung des FcγRezeptors IIa HR¹³¹ – Genpolymorphismus für die Atherosklerose	73

4.1.1	Bedeutung des FcγRezeptors IIa HR ¹³¹ - Genpolymorphismus .. für die koronare Herzkrankheit und den Myokardinfarkt.....	74
4.2	Klinische Bedeutung der Fcγ - Rezeptoren	75
4.3	Klinische Bedeutung des FcγRezeptors IIa	76
4.3.1	Allgemeine klinische Bedeutung des FcγRezeptors IIa	76
4.3.2	Klinische Bedeutung des FcγRezeptors IIa im Rahmen	77
	der Atherosklerose	
4.4	Klinische Bedeutung des Fcγ - Rezeptors IIa	78
	HR¹³¹ - Polymorphismus.....	78
4.4.1	Funktionelle Bedeutung des FcγRezeptors IIa	78
	HR ¹³¹ - Polymorphismus	
4.4.2	Klinische Bedeutung des FcγRezeptors IIa	79
	HR ¹³¹ - Polymorphismus	
5	Literatur.....	82
6	Anhang	105
6.1	Abbildungen.....	105
6.2	Tabellen	106
6.3	Zusatzmaterial	107
6.3.1	Fragebogen nach Rose [99]:.....	107
6.4	Zusammenfassung	111
6.5	Summary	112
6.6	Lebenslauf.....	114
6.7	Danksagungen	115

1 Einleitung

In der hier vorgestellten Studie sollte der mögliche Zusammenhang zwischen Atherosklerose und dem Polymorphismus H/R¹³¹ am FcγRezeptor IIa (FcγRIIa) überprüft werden. Mehrere Ursachen der Atheroskleroseentstehung sind bereits bekannt, jedoch sind viele der Atherosklerose zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen noch nicht bzw. noch nicht vollständig erforscht.

Der Polymorphismus am FcγRezeptor IIa ist klinisch relevant [93; 134; 135]. Abhängig vom Genotyp gibt es veränderte Bindungsfähigkeiten für Immunglobuline [125]. Verschiedene Erkrankungen wurden mit dem Polymorphismus in Zusammenhang gebracht [3; 24; 33; 92; 140]. Besonders Erkrankungen mit verstärkter Gerinnung und verminderter Immunabwehr sind von klinischer Bedeutung [3; 24; 92]. Bei der Atheroskleroseentstehung spielen Gerinnungsveränderungen und autoimmunologische Prozesse ebenfalls eine wichtige Rolle [4; 21; 58].

1.1 Atherosklerose

In der industrialisierten Welt sind die atherosklerosebedingten Erkrankungen die häufigste Todesursache [79; 80; 132]. Durch Veränderungen der Gefäße kommt es zu Strömungsveränderungen und zu einer Minderversorgung des Gewebes mit Blut. Die klinische Manifestation richtet sich nach der Lokalisation der Atherosklerose und kann unterschiedliche Formen annehmen. Beispiele hierfür sind die koronare Herzerkrankung (KHK), die zerebrovaskuläre Insuffizienz, sowie die periphere arterielle Verschlusskrankheit der unteren Extremität [132]. Nach Einschätzung von Lopez [78] wird in näherer Zukunft, das heißt im Jahre 2020, der ischämischen Herzkrankheit die größte Bedeutung zukommen. Im Jahre 1990 war die Haupttodesursache weltweit die Infektion der unteren Atemwege, die 2020 von der ischämischen Herzerkrankung als Haupttodesursache abgelöst werden soll. Sie wird somit die gesundheitspolitisch wichtigste Erkrankung in der Bevölkerung darstellen [78].

Atherosklerose beinhaltet die Ischämie eines Gewebeabschnittes bedingt durch ein Mißverhältnis von Sauerstoffbedarf und -angebot. Durch die Einengung des Gefäßlumens entsteht eine Verschlechterung der myokardialen Perfusion. Die Einengung ist das Ergebnis einer Dysfunktion des Endothels durch abnorme Interaktionen mit Blutbestandteilen, Gefäßwand und Flußbedingungen innerhalb des Gefäßes [15]. Die Veränderung der Gefäße beginnt schleichend und durchläuft mehrere Phasen. Die histologische Stadieneinteilung der Atherosklerose umfasst 8 Läsionstypen [118]. Die initiale Läsion (Stadium I) kumuliert zu Fettsträngen (Stadium II), die sich in der Intima ansammeln. Diese Veränderungen sind klinisch jedoch noch nicht relevant [9]. Durch Leukozyten, deren oxidativen Kapazität, Freisetzung von Sauerstoffradikalen und durch die Ansammlung von Lipiden im Extrazellulärraum schreitet die Erkrankung fort (Präatherom = Stadium III). Im fortgeschrittenen Stadium entsteht durch konfluierende Lipidanteile ein Atherom (Stadium IV), das im weiteren Verlauf, von einer fibrösen Kappe (Stadium V) bedeckt, in das Gefäßlumen reicht. Durch Vergrößerung der Plaques und Veränderung der vulnerablen Oberfläche [39; 142] werden diese instabil und es kommt zum Einreißen der fibrösen Kappe. Der freigesetzte Inhalt der Plaques kann bereits zu einem Verschuß in den distalen Gefäßanteilen führen. Darüber hinaus wird die Gerinnungskaskade aktiviert. Gerinnungsfaktoren und aktivierte Thrombozyten bilden einen Thrombus, der im Zusammenspiel mit dem freigesetzten Plaquematerial zu einer hochgradigen oder sogar vollständigen Stenose des Gefäßes (Stadium VI) führt. Im weiteren kann es zu Kalzifikationen im Bereich der Läsionen kommen (Stadium VII). Als narbiger Endzustand (Stadium VIII) wird die fibrotische Läsion gesehen [15].

Die genauen molekularbiologischen Prozesse der Atheroskleroseentstehung sind komplex, weswegen sie auch noch nicht vollständig geklärt werden konnten. Am häufigsten wird die „Response to injury“-Hypothese propagiert [71], bei der die Endothelverletzung das zentrale Ereignis in der Atheroskleroseentstehung darstellt [102; 120]. Die meisten bekannten Risikofaktoren verursachen eine Veränderung der Endothelzellbarriere und eine endotheliale Dysfunktion [102]. Die Endothelschicht kann durch mechanische Einwirkungen (z.B. Hypertonie), toxische Produkte (z.B. Nikotin), infektiöse

Mikroorganismen (z.B. Chlamydien, Cytomegalievirus) und zirkulierende Substanzen (z.B. Low-density-Lipoprotein (LDL), Homocystein) geschädigt werden [71]. Normalerweise stellt das Endothel eine selektive Barriere zwischen Blut und Gewebe dar [79]. Bei Störung dieser Barriere kommt es zur vermehrten Einlagerung von LDL und verminderten Hemmung der Thrombozyten- [71] und Leukozytenadhäsion am Endothel. Im Rahmen des weiteren Verlaufs nehmen Entzündungszellen ebenfalls eine bedeutende Rolle ein [79]. In der Primärläsion gebildeter MCSF (Makrophagen Kolonie stimulierender Faktor) stimuliert Makrophagen und T-Lymphozyten zur Einwanderung in die atherosklerotischen Plaques und zur Vermehrung der immunologischen Zellen [66]. Die Aktivierung dieser Zellen führt zu einer weiteren Verstärkung der Entzündungsreaktion durch die Bildung proinflammatorischer Zytokine und Radikale [115]. Diese schädigen die Endothelien sowohl direkt, als auch durch Interaktionen mit vasoaktiven Mediatoren und durch die Bildung von Fettsträngen [124]. Weitere Mediatoren werden durch Endothelzellen gebildet [79]. Darüber hinaus werden die Endothelzellen durch veränderten Blutfluß und entstehende Scherkräfte besonders angegriffen [52] und permeabel für Fette, die je nach Konzentration eingelagert werden. Die Fette interagieren mit dem Apolipoprotein B (Apo B), so daß weitere Fettanteile in die Gefäßwand gelangen. Zusätzlich werden Matrixproteoglykane freigesetzt [13]. LDL wird durch oxidative Produkte umgewandelt [9], was die wichtigste Veränderung darstellt [79]. Zusätzlich kommt es zu Lipolyse, Proteolyse und Aggregation des LDL [79]. Oxidiertes LDL verursacht eine Erniedrigung des NO (Stickstoffmonoxid) durch Produktinhibition [79]. Endothelial produziertes NO stellt einen protektiven Faktor [19] mit multiplen antithrombogenen Eigenschaften dar [124]. Experimentell konnte eine Endothelschädigung durch Erniedrigung der endothelialen NO-Produktion gezeigt werden [124]. Durch Hemmung der Thrombozytenaktivierung [141], der Leukozytenadhäsion [74; 75] und der Proliferation der glatten Muskulatur [48] wirkt NO direkt der Atherosklerose entgegen. Ein weiterer protektiver Faktor ist High-density-Lipoprotein (HDL), das sowohl überschüssige Lipide entfernt [5], als auch durch dessen Enzym Paraoxonase die Oxidation der Lipoproteine hemmt [136].

Bei Überwiegen der Atherosklerose fördernden Faktoren durchläuft die Krankheit die beschriebenen Stadien und wird entweder durch die vermehrte Stenose des Gefäßes oder durch den plötzlichen Verschuß des Gefäßes symptomatisch. Der plötzliche Verschuß entsteht meist durch die Plaque Ruptur. Metalloproteinasen und deren Inhibitoren sind für Ab- und Aufbau extrazellulärer Matrix verantwortlich und können so einen Einfluß auf die Stabilität der atherosklerotisch veränderten Gefäße nehmen [50]. Während des Entzündungsprozesses stimulieren sich T-Lymphozyten, Makrophagen, Monozyten und Matrix-Metalloproteinasen gegenseitig [71]. Es werden vermehrt proteolytische Enzyme [71] freigesetzt und unter anderem gewebsschädigende Sauerstoffradikale produziert, die auf die Läsionen einwirken [55; 132]. Weiterhin kommt es durch verletzte Arterienwände zur weiteren Stimulation der Freisetzung der Proteinasen [8]. Bei besonders hoher Expression der Metalloproteinasen [71] im Bereich des Plaques kann es zu Instabilitäten kommen. Diese Instabilität führt im Extremfall zum Einreißen der Gefäßwand. Nach Andauen der Matrixkappe, am häufigsten im Bereich der Plaqueschulter, gelangen thrombogene Substanzen ins Gefäßlumen und es kommt durch Anstoßen der Gerinnungskaskade zur Atherothrombose [71; 79]. Tissue factor, der ebenfalls gehäuft in der Plaqueschulter vorhanden ist, wirkt zusätzlich als potenter Initiator der Gerinnungskaskade [132]. Besonders gefürchtet ist die Bildung eines, das Gefäßlumen verschließenden Thrombus an einer rupturierten Plaque [16]. Der vollständige Verschuß des Gefäßes bewirkt die bereits beschriebene komplette Ischämie der nachfolgenden Versorgungsgebiete und damit deren Funktionsbeeinträchtigung. Für das akute ischämische Ereignis sind vor allem thromboembolische Prozesse und nicht die vorbestehende Stenose von Bedeutung [71; 95; 132].

1.1.1 Risikofaktoren der Atherosklerose

Zu den heute bekannten unbeeinflussbaren Risikofaktoren zählen die familiäre Prädisposition, das Lebensalter und das männliche Geschlecht. Beeinflussbare Risikofaktoren sind Fettstoffwechselstörungen, Adipositas, Hypertonie, Diabetes mellitus, das metabolische Syndrom sowie der Nikotinabusus. Diese

Faktoren haben einen hohen Einfluß auf die Entstehung einer Atherosklerose. Zu den weniger starken, beeinflussbaren Risikofaktoren zählen Bewegungsmangel, Dysstress, Hyperfibrinogenämie und Hyperhomocysteinämie [54]. Obwohl schon sehr viele Erkenntnisse über die Risikofaktoren der Atherosklerose gewonnen wurden, sind wesentliche Ursachen für die Entstehung dieser Erkrankung bisher unbekannt [16].

1.1.1.1 Gerinnungsstörungen als Risikofaktor

In den achtziger Jahren erweiterte sich die Kenntnis um die Bedeutung von Gerinnungsstörungen als ein Risikofaktor für die Koronarthrombose [37]. Die Bedeutung der Hämostase für die Entstehung eines akuten Koronarsyndroms wurde bis dahin unterschätzt [17]. Zusätzlich dazu zeigte sich jedoch auch die Bedeutung der Gerinnungsfaktoren in den frühen Stadien der Atherosklerose [108].

Faktoren, die eine Erhöhung für das Risiko der Entstehung einer Atherothrombose verursachen, sind beispielsweise die Faktor-V-Leiden-Mutation [123], Veränderungen des Fibrinogens [43; 123], des Antithrombins III (ATIII) [21] und von Protein C und Protein S [17; 84; 84]. Besonders bei Plaque Ruptur und Thrombose sind ATIII und Protein C durch Veränderungen der Konzentrationen (zunächst von erniedrigter und im Verlauf durch steigende Konzentrationen) von Bedeutung [21]. Protein S scheint bereits in der Phase der Entstehung der Plaque Ruptur durch eine erniedrigte Konzentration und Limitierung der Protein C-Aktivität eine Rolle zu spielen [21].

Außerdem wird das Risiko für eine Koronarthrombose bei Vorliegen von etablierten Risikofaktoren und gleichzeitiger Störung eines Gerinnungsfaktors noch weiter erhöht. Träger des 20210 AG Prothrombin Genotyps oder der Faktor-V-Leiden Mutation haben beispielsweise ein erhöhtes Myokardinfarktrisiko (relatives Risiko zwischen 3 und 6) bei vorhandenen Risikofaktoren wie Hypertonus, Diabetes mellitus, Adipositas oder Nikotinabusus [34].

1.1.1.2 Genpolymorphismen als Risikofaktoren

Zusätzlich zu den etablierten Risikofaktoren wurden und werden durch die molekularbiologische Forschung weitere Risikoindikatoren entdeckt, die auf genetischen Variationen beruhen. Aufgrund der Fortschritte in der molekularbiologischen Forschung konnte nachgewiesen werden, daß auch die Kandidatengene für die Entstehung und Progression der KHK und deren Komplikationen polymorph sind. Verschiedene Polymorphismen dieser Kandidatengene sind mit einem veränderten Phänotyp assoziiert, der zur Entstehung und Progression der KHK und deren Komplikation prädisponiert [84]. Der Polymorphismus C₈₀₇T des Glycoproteins Ia an Thrombozyten zeigte beispielsweise eine deutliche Assoziation zum Myokardinfarktrisiko [112]. Bei diesem Polymorphismus ist eine erhöhte Expression von GPIa mit einem höheren Risiko eines akuten koronaren Syndroms assoziiert [112]. Weitere Risikoindikatoren greifen z.B. in den Fettstoffwechsel [11; 46; 47], in die Immunologie [44; 51] und in die Wechselwirkungen zwischen den beteiligten Geweben, z.B. durch verminderte Aktivität des growth suppressor p27^{kip1} [53] oder durch verminderte Interaktionen zwischen aktivierten Endothelien und Leukozyten [60], ein.

1.1.1.3 Immunologie bei Atherosklerose

Seit einiger Zeit wird eine entzündliche Genese der Atherosklerose im Sinne einer unspezifischen Reaktion mit systemischer Antwort verstärkt diskutiert [9; 102]. So konnte in einigen Publikationen eine epidemiologische Verbindung zwischen Chlamydien-Infektion und koronarer Herzkrankheit festgestellt werden [31]. Chlamydien können bei Mäusen eine inflammatorische Herzkrankheit über eine autoimmunologische Mimikrie verursachen [4]: Injiziert man Chlamydienpeptide in den Mäuseorganismus kommt es zu einer perivaskulären Entzündung mit einem fibrotischen Umbau. Zusätzlich wird ein Zusammenhang zwischen Chlamydienantikörpern und KHK vermutet [138]. Die Bedeutung der Chlamydieninfektion bleibt jedoch trotz vieler Studien in hohem Maße umstritten [12; 31; 32; 103]. Haberbosch et al. [56] konnten bei der Untersuchung von Immunglobulintiter gegen verschiedene Chlamydienantigene keinen

statistischen Zusammenhang zwischen Chlamydieninfektion und koronarer Herzkrankheit beobachten [65]. Darüber hinaus wird diskutiert, ob der Chlamydienantikörpertiter aufgrund der speziellen Pathogenese der Chlamydien als intrazelluläre Bakterien in jedem Fall auf eine bestehende oder abgelaufene Infektion hinweist [31].

Es stehen allerdings auch andere bakterielle oder virale Infekte im Verdacht, bei der Atheroskleroseentstehung mitzuwirken. Besonders häufig wird das Herpesvirus als Verursacher diskutiert [77; 117; 130]. Trotz ebenfalls öfters beschriebener Assoziation von Antikörpertiter und Atherosklerose [77] konnte Khairy [70] keine dosisabhängigen Trends zwischen Serumantikörpertiter und Endothelfunktionsstörungen bei jungen Männern feststellen. Die Kausalkette bleibt bei der Herpesvirusinfektion und der Chlamydieninfektion ungeklärt. Besonders die initial hervorgerufenen Störungen der Endothelzellfunktion durch die Mikroorganismen sind umstritten. Die sehr konträre Datenlage könnte mit der wahrscheinlichen Beeinflussung und Unterhaltung der KHK durch mikrobielle Infektionen im fortgeschrittenen Stadium zu erklären sein [70]. Wahrscheinlich nehmen Mikroorganismen eher eine begleitende und keine kausale Rolle bei der Atherosklerose ein [80]. Herpesviren könnten durch vermehrte Adhäsionsmolekülbildung die Entzündung fördern und unterhalten [130].

Die Hypothese der durch Mimikry verursachten Infektion sowie deren Auswirkungen auf die Atherosklerose sind ebenfalls noch nicht eindeutig bewiesen [36]. Sicher ist jedoch, daß inflammatorische Prozesse in der Atherogenese eine Rolle spielen [9; 84; 84; 102].

1.2 Fc γ - Rezeptoren

Fc γ - Rezeptoren gehören zur Immunglobulin Superfamilie [125]. Es gibt die drei Hauptklassen Fc γ RI, Fc γ RII und Fc γ RIII [126]. Sie binden den Fc - Teil von Immunglobulinen und nehmen so eine Schlüsselstellung bei der Vermittlung zwischen humoraler und zellulärer Immunantwort ein [125]. Durch die Bindung an Fc - Rezeptoren können extrazelluläre Pathogene durch Phagozyten aufgenommen und zerstört werden. Zusätzlich wirken sie bei der Aktivierung von natürlichen Killerzellen mit [64].

Fc γ RI bindet monomeres Immunglobulin G, Fc γ RII und Fc γ RIII können nur mit Immunkomplexen reagieren [126]. Sie sind aus verschiedenen Untereinheiten aufgebaut. Die Erkennung der Immunglobuline wird über die α -Kette des Rezeptors vermittelt. Die α -Kette übernimmt beim Fc γ RIIIa auch die Nachrichtenübertragung, die bei allen anderen Rezeptoren über die γ -Kette vermittelt wird.

1.2.1 Fc γ Rezeptor IIa

Der Fc γ Rezeptor IIa (Fc γ RIIIa) ist ein Rezeptor für den Fc-Teil von aggregiertem Immunglobulin G [125]. Er gehört neben Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa und Fc γ RIIIb aufgrund seiner Bindungsfähigkeit zu den sogenannten Low-affinity Fc-Rezeptoren [125]. Diese werden so genannt, weil monomeres IgG mit geringer Affinität gebunden wird. Im Gegensatz dazu werden IgG-Immunkomplexe mit hoher Affinität gebunden [90]. Neben anderen aggregiert Fc γ RIIIa mit Immunkomplexen aus oxidiertem Low-density-Lipoprotein und IgG [83]. Zusätzlich ist Fc γ RIIIa der Hauptrezeptor für das C-reaktive Protein (CRP) [139], dem Prototyp der Akute-Phasenproteine [10]. Die Bedeutung des Fc γ RIIIa besteht zudem darin, die Aktivierung anderer Fc γ R-Klassen zu modulieren, wie z.B. Fc γ RIII auf polymorphkernigen Neutrophilen [134]. Dabei stellt Fc γ RIIIa den primären Signalvermittler für Fc γ RIIIb dar. Durch Fc γ RIIIa können aggregierte Fc γ RIIIb-Moleküle polymorphkernige Neutrophile aktivieren [27].

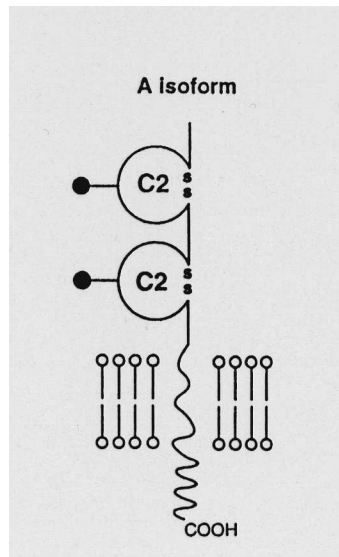


Abbildung 1: Form des Fcγ-Rezeptors IIa (Abbildung aus [6])

Schematische Darstellung des humanen Fcγ-Rezeptor IIa. Der Fc Rezeptor besitzt zwei extrazellulär liegende Immunglobulin-ähnliche Domänen und intrazelluläre Anteile

FcγRII wird von drei Genen für die jeweiligen Isoformen A, B und C auf dem Chromosom 1q23-24 kodiert [6; 91]. Auf diesem Chromosom befinden sich außerdem, in direkter räumlicher Nähe, die Genorte der anderen Low-affinity-Rezeptoren und ebenso die Genorte für Interleukin-6, CRP und die Blutgruppe Duffy [73; 89; 114; 133; 137]. FcγRIIa besteht aus einem transmembranären Molekül mit mehreren Polypeptidketten. Der extrazelluläre Anteil besitzt zwei C2 Immunglobulinbindungsstellen, die, aufgrund ihrer zu den Immunglobulinen homologen Struktur, Immunglobulin-ähnliche Domänen genannt werden. Dieser Anteil ist mit Untereinheiten verbunden, die ins Zellinnere reichen. Dort befinden sich als ITAM (immunoreceptor tyrosine activation motif) bezeichnete Motive, die, in phosphorylierter Form, Bindungsstellen für Signalproteine der Phagozytose sind. FcγRIIa besitzt ein von anderen Fc-Rezeptoren unterschiedliches ITAM [62], das als eine Ursache für die unterschiedlichen Signalwege bei der Phagozytose gewertet wird [62].

FcγRIIa, auch CD32 genannt, wird auf Monozyten, Granulozyten, Makrophagen und B-Zellen exprimiert. Er ist ebenfalls auf Thrombozyten vorhanden und stellt dort den einzigen Rezeptor für IgG dar [61]. Neben den Zellen der hämatopoetischen Reihe ist der Rezeptor auch auf Endothelzellen und glatten Muskelzellen vorhanden [96; 126].

1.2.1.1 Rolle des FcγRezeptors IIa in der Atherosklerose

Verschiedene Arbeiten zum Thema FcγRIIa und Atherosklerose wurden veröffentlicht [22; 90; 94]. Bei Patienten mit schwerer Atherosklerose wurde eine erniedrigte FcγRIIa-Expression auf peripheren Blutzellen gefunden [90]. Außerdem zeigte sich eine Korrelation zwischen HDL-Cholesterin und der Dichte der FcγRIIa - Rezeptoren auf Monozyten [90]. FcγRIIa konnte in atherosklerotischen Plaques sowohl örtlich gehäuft, als auch diffus verteilt nachgewiesen werden [94]. Bei der Untersuchung der FcγRIIa-Expression auf Thrombozyten wurden Hinweise für ein erhöhtes Risiko von atherothrombotischen Ereignissen gefunden [22]. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Erhöhung der Rezeptorexpression und Myokardinfarkt konnte bisher nur bei Patienten mit Diabetes mellitus beobachtet werden [23].

1.2.1.2 HR¹³¹ - Polymorphismus am FcγRezeptor IIa

Der HR¹³¹ - Polymorphismus ist durch einen Basenaustausch an der Basenposition 507 (X121Y) entstanden [135]. In Abhängigkeit von den Basen Adenin oder Guanin werden zwei unterschiedliche Aminosäuren an der Aminosäure-Position 131 eingebaut: Histidin (H) bei Vorliegen der Base Adenin oder Arginin (R) bei Vorhandensein der Base Guanin. Dadurch resultieren drei verschiedene Phänotypen (HH¹³¹, HR¹³¹ und RR¹³¹), von denen nur die HH¹³¹ Isoform IgG₂ – Moleküle effektiv binden kann. Bei Patienten mit dem Genotypen HH¹³¹ werden erniedrigte IgG₂ (Immunglobulin G₂) Spiegel gefunden. Dies wird auf einen erhöhten Turnover der Immunglobuline zurückgeführt. IgG₂ ist besonders bei der Bakterienabwehr von Bedeutung [42]. Im Gegensatz zur effektiven IgG₂ – Bindung binden Monozyten des Genotyps HH¹³¹ das C-reaktive Protein (CRP) schlechter als Monozyten mit dem Genotyp RR¹³¹ [105; 119]. Die Blutkonzentration des CRP ist mit der Pathogenese der Atherosklerose verknüpft [67; 98; 101; 123]. Es zeigte sich eine signifikante

Korrelation zwischen erhöhter CRP - Blutkonzentration und dem Schweregrad von atherosklerotischen Erkrankungen [71; 81; 139].

Zusätzlich hat die vermehrte Bindung von CRP negative Auswirkungen auf die Bindungsfähigkeit von Immunkomplexen. Unter inflammatorischen Bedingungen wird jedoch die CRP-Bindung aller Rezeptorenphänotypen hochreguliert [119].

Entgegen der besseren Bindungsfähigkeit des HH¹³¹ Genotypen für aggregiertes IgG im Vergleich zum RR¹³¹ Genotypen beim Menschen wird er „low responder“ genannt, da der Polymorphismus bei Mäusen entdeckt wurde und der Typ HH¹³¹ Maus-IgG schlecht bindet [28; 87; 88; 121; 135].

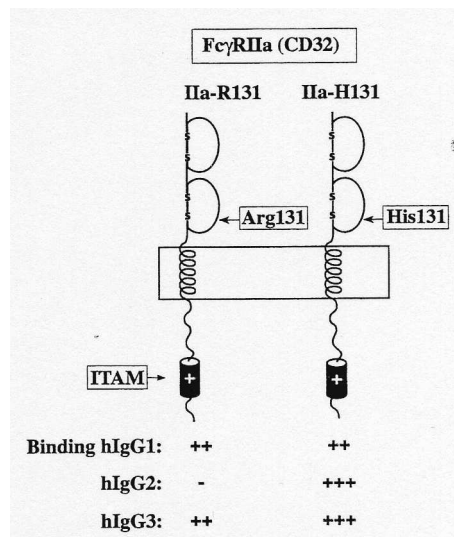


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Polymorphismus am FcγRezeptor IIa und seiner Bedeutung (Abbildung aus [93])

Schematische Darstellung des humanen FcγRezeptor IIa H/R¹³¹ Polymorphismus. Es gibt zwei verschiedene allotypische Formen, die sich durch Arginin (R131) oder Histidin (H131) an der Aminoposition 131 auszeichnen. Der transmembranäre Rezeptor enthält zwei extrazelluläre Immunglobulin-ähnliche Domänen und intrazelluläre Anteile mit als ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) bezeichneten Motiven. Die verschiedenen Allotypen interagieren unterschiedlich mit Immunglobulinen, wie in der enthaltenen Tabelle aufgeführt.

1.2.1.3 Relevanz des FcγRezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus

In verschiedenen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus am FcγRezeptor IIa und infektiösen bzw. autoimmunologischen Erkrankungen untersucht. Träger des FcγRIIa HH¹³¹ - Genotyp haben einen signifikanten Vorteil bei der Bekämpfung von Infektionen

[18; 40]. Im Rahmen von autoimmunologischen Erkrankungen zeigte sich bei FcγRIIa RR¹³¹ – Trägern mit systemischem Lupus erythematodes (SLE) eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer Nephritis [35; 76; 107]. Bei der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP) zeigte Williams et al. [140], daß der FcγRIIa HH¹³¹ – Genotyp ein protektiver Faktor bei der ITP zu sein scheint. Im Gegensatz dazu konnte diese Vermutung bei einer Metaanalyse von Lehrnbecher et al. [76] nicht gestützt werden. Ergänzend zu den bereits beschriebenen Erkrankungen befasst sich eine Vielzahl von Studien mit einem möglichen Zusammenhang zwischen dem FcγRIIa HR¹³¹ - Polymorphismus und der Heparin induzierten Thrombozytopenie [76].

1.2.1.4 Bedeutung des FcγRezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus bei der Heparin induzierten Thrombozytopenie

Eine gefürchtete Komplikation der Heparintherapie ist die Heparin induzierte Thrombozytopenie (HIT) Typ II, die durch thromboembolische Komplikationen charakterisiert ist [38; 59]. Durch Heparin/Plättchenfaktor 4/HIT-Antikörper-Immunkomplexe kommt es durch Vermittlung des FcγRIIa zur Plättchenaktivierung und Gerinnung. Bei Patienten mit dem Genotypen RR¹³¹ ist durch die mangelnde Funktion des Fc - Rezeptors die Immunkomplexclearance herabgesetzt.

Durch die längere Verweildauer der Komplexe im Blutkreislauf ist der Titer und damit die Wahrscheinlichkeit höher, daß es zu einer Gerinnung und dadurch zu einer Thrombose kommt [24].

1.3 Fragestellung

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus am FcγRezeptor IIa und der koronaren Herzkrankheit bzw. deren Komplikation, dem Herzinfarkt besteht. Im einzelnen sollten die Fragen beantwortet werden, wie die Genverteilung in einem Kollektiv von Herzgesunden, Koronarkranken und Herzinfarktpatienten war und ob es einen Unterschied in der Genverteilung zwischen dem Kollektiv der

Koronarkranken und Herzinfarktpatienten im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv gab. Bei einem Unterschied in der Genverteilung sollte klargestellt werden, ob eines der beiden Allele einen protektiven Faktor oder einen Risikoindikator der Atherosklerose und des Herzinfarktes als deren Komplikation darstellte.

2 Material und Methoden

2.1 Technische Hilfsmittel

2.1.1 Geräte

Autoklav, Melag GmbH, Berlin

Behring-Nephelometer, Behring AG, Marburg

BM/Hitachi System 171, Boehringer, Mannheim

DNA-Sequenzer, ABI PRISM 310 Genetic Analyser,

Perkin Elmer, Foster City, CA

Feinwaage, Mettler-Toledo, Gießen

Gelkammer, von Kreutz Laborgeräte, Reiskirchen

Gene Amp PCR System 9600, Perkin Elmer

Grobwaage, Artoris, Göttingen

Mikrowelle, Bosch, München

pH-Meter CG 840, Schott, Hofheim Taunus

Pipette 0,5-10 µl (Gilson), Abimed, Langenfeld

Pipette 10-100 µl (Gilson), Abimed, Langenfeld

Pipette 100-1000 µl (Gilson), Abimed, Langenfeld

PCR-Express, Hybaid

Thermocycler (Crocodile), Appligene, Heidelberg

Thermocycler Gene Amp PCR System 2400

Ultraviolett Transluminator, International Biotechnologies,

Inc. New Haven, Conn., USA

Vortex-Schüttler IKA-VIBRO-FIX VF2, IKA, Staufen

Zentrifuge (Biofuge 13), Heraeus, Osterode

2.1.2 Kleinmaterial

Mikroreaktionsgefäße; (Ultra-Tubes), 0,65 ml, silikonisiert, Roth, Karlsruhe

Mikroreaktionsgefäße; (Ultra-Tubes), 1,7 ml, silikonisiert, Roth, Karlsruhe

Parafilm, American Can, Greenwich, USA

Pipettenspitzen, weiß, Sarstedt, Nümbrecht

Pipettenspitzen, gelb, Sarstedt, Nümbrecht

Pipettenspitzen, blau, Sarstedt, Nümbrecht

Robbins Strip-Ease-8, 0,2 ml PCR-Tubes, Robbins Scientific Corporation, USA

Robbins PCR-Tube-Caps, Robbins Scientific Corporation, USA

Safe Seal Microcentrifuge Tubes 1,7 ml Sorenson BioScience, Inc. Salt Lake City, Utah, USA

2.1.3 Reagenzien

AmpliTaq Gold, Perkin Elmer, Foster City, CA

Apolipoprotein-Kontroll-Serum CHD (human), Behringwerke AG, Marburg

Aqua dest., Braun, Melsungen

100 bp DNA Ladder, BioLabs

Testkit zur Cholesterin-Bestimmung, Boehringer GmbH, Mannheim

CREA Testkit für Kreatinin, Boehringer, Mannheim

CRP Testkit, Roche

DNA Sequencing Kit Dye Terminator Cycle Sequencing Reaction; Perkin Elmer

GLU Testkit für Glucose, Roche

Lysis-Puffer K:

Gelatine; Merck, Darmstadt

KCl; Merck, Darmstadt

MgCl₂; Merck, Darmstadt

Tris-HCl; USB, Homburg

Tween 20; Sigma Chemie GmbH, Deisenhofen

N Antiserum gegen Human-Apolipoprotein A, Behringwerke AG, Marburg

N Antiserum gegen Human-Apolipoprotein B, Behringwerke AG, Marburg

N Apolipoprotein-Standard-Serum (human), Behringwerke AG, Marburg

N Latex Lp(a) Reagenz, Behringwerke AG, Marburg

N Lp(a) Kontrolle/Standard SY (human), Behringwerke AG, Marburg

PIPES-Puffer, Behringwerke AG, Marburg

STA Fibrinogen-Test-Kit, Diagnostica Stago, Roche

TAE-Puffer:

EDTA , Merck, Darmstadt

Tris-Acetat, USB, Bad Homburg

TE-Puffer:

EDTA, Merck, Darmstadt

Tris-HCl, USB, Bad Homburg

Triglycerid-Reaktionsgemisch, Boehringer GmbH, Mannheim

Ultrapure dNTP Set, Amersham Pharmacia Biotech Inc, NY, USA

Primer: MWG-Biotech AG, Ebersberg

2.2 Methode

2.2.1 Studienpopulation

Die Studienpopulation setzte sich aus einem Kontroll- und einem Fallkollektiv zusammen. Es wurden insgesamt 3077 Probanden untersucht. Das Kontrollkollektiv machte 535 Probanden, das Fallkollektiv 2542 Patienten aus.

2.2.1.1 Kontrollkollektiv

Der Nachweis einer potentiellen Assoziation des Fc γ R11a – Polymorphismus mit der ischämischen Herzerkrankung war nur durch einen Vergleich mit einem unabhängigen Kontrollkollektiv möglich. Die Voraussetzung für die Aufnahme in das Kontrollkollektiv war, daß die Probanden anamnestisch keinerlei Herz- oder Gefäßerkrankungen hatten und mit der Teilnahme an der Studie einverstanden waren. Die individuellen Herzkreislaufferkrankungen wurden mit Hilfe des Fragebogens von Rose begutachtet [99] (siehe 6.3.1). Dieser Fragebogen ist ein Mittel zur Objektivierung der Diagnose der ischämischen Herzkrankheit, der eine hohe Spezifität (68%) und gute Sensitivität (66%) aufweist [99]. Es stellten sich Probanden aus dem Großraum Gießen zur Verfügung. Dieses Kontrollkollektiv bestand aus 510 Patienten, bei denen grundlegende klinische Parameter abgefragt und die KHK-relevanten Risikofaktoren gemessen wurden. Die Anamnese wurde in beiden Kollektiven nach einem im Prinzip gleichen Fragebogen erhoben.

2.2.1.2 Fallkollektiv

Das Fallkollektiv bestand aus 2542 männlichen Patienten der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie der Justus-Liebig-Universität Gießen und der Kerkhoffklinik in Bad Nauheim. Es nahmen nur Patienten an der Studie teil, die dazu ihr Einverständnis gegeben hatten. Bei allen Patienten wurde zur Diagnosestellung der koronaren Herzkrankheit eine Koronarangiographie nach Judkins durchgeführt. Dabei wurden nach Seldinger-Technik über die A. femoralis dextra drei Katheter zur Ventrikulographie und zur Sondierung der beiden

Koronarien eingeführt. Durch Kontrastmittelinjektion und gleichzeitige Röntgenfilmaufnahmen mit einer Gammakamera konnten sowohl die Ventrikelaktionen als auch die Arterienverhältnisse beurteilt werden. Die Gefäße wurden gemäß der Anatomie in 3 Hauptarterien unterteilt. Es handelte sich dabei um die A.coronaria dextra, den Ramus interventricularis und den Ramus circumflexus der A.coronaris sinistra. Je nach Anzahl der befallenen Arterien wurde die Koronare Herzerkrankung in 0-, 1-, 2- oder 3-Gefäßerkrankung unterteilt. Eine Stenose über 50% wurde als Erkrankung angesehen.

Ein genauerer Grad der koronaren Erkrankung wurde anhand des Gensini Scores bestimmt [49]. Bei dieser Einteilung wurde nicht nur, wie klinisch üblich, die Einteilung in 0-, 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung vorgenommen, sondern zusätzlich noch der Grad der Stenose sowie die genauere Lokalisation und somit die klinische Relevanz berücksichtigt.

Bei der Berechnung des Scores wurde der Grad der Stenose, der die Werte 1 bis 32 annehmen konnte (Tabelle 1) , mit dem Faktor 0,5; 1; 2,5 oder 5 (Tabelle 1), der sich nach der Lokalisation der Stenose und somit nach der Bedeutung für die vitale Funktion des Herzens richtete, multipliziert.

Tabelle 1: Berechnung des Gensini Scores

Score	Grad der Stenose
1	25%
2	50%
4	75%
8	90%
16	99%
32	100%

Multiplikationsfaktor	Lokalisation
5	LCA
2,5	LAD
1	RCX
	RCA
0,5	weitere Äste

Abkürzungen: LCA: A. coronaria sinistra; LAD: Ramus interventricularis der A. coronaria sinistra; RCX: Ramus circumflexus der A. coronaria sinistra; RCA: A. coronaria dextra

Die Diagnosen akuter Myokardinfarkt und Angina pectoris wurden nach den Kriterien der World Health Organisation gestellt. Zusätzlich wurden die wichtigsten Risikofaktoren für eine koronare Herzkrankheit anamnestisch und laborchemisch erhoben. Durch Anamnese wurden Lebensalter, Nikotinabusus in „Pack-Years“ (ein „Pack-Year“ entspricht 20 Zigaretten pro Tag über ein Jahr) und familiäre Disposition zu Herz-Kreislauf-Erkrankungen festgestellt. Ebenfalls wurde nach Bluthochdruck und Diabetes mellitus gefragt. Eine arterielle Hypertension lag vor, wenn der Patient medikamentös behandelt wurde oder ein diastolischer Wert über 95 mm Hg jeweils bei zwei unterschiedlichen Messungen vorlag. Der Body-Mass-Index (BMI) wurde durch die anamnestisch erhobenen Werte von Körpergewicht und Körpergröße errechnet ($\text{BMI} = \frac{\text{kg Körpergewicht}}{\text{m}^2 \text{ Körpergröße}^2}$). Zu den im Zentrallabor des Institutes für klinische Chemie und Pathobiochemie durchgeführten Laboruntersuchungen gehörten Glucose, Harnsäure, Kreatinin, Gesamtcholesterin, Triglyceride, Lipoprotein (a) (Lp(a)), Apolipoprotein AI (Apo AI) und Apolipoprotein B (Apo B), C-reaktives Protein, Fibrinogen, Quick-Test, aPTT und TZ als Gerinnungsparameter und ein Blutbild. Die Krankenanamnese umfaßte die Dauer der Erkrankung, deren Verlauf, die Medikation und die bisher vorgenommenen therapeutischen Interventionen. Verifiziert wurden diese Angaben durch Befunde aus den Patientenakten.

2.2.1.3 Definition von Niedrig- und Hochrisikountergruppen

Die Mittelwerte und die Mediane der koronaren Risikofaktoren (Alter, Apo AI, Apo B, Apo AI/B Ratio, Lp(a), Fibrinogen und Nikotinabusus) wurden für die Unterteilung in Niedrig- und Hochrisikountergruppen verwendet. Bluthochdruck und Diabetes mellitus wurden als dichotome Variablen ohne weitere Subklassifizierung erfasst. Die Gruppen wurden über die Abwesenheit bzw. das Vorhandensein dieser Risikofaktoren definiert.

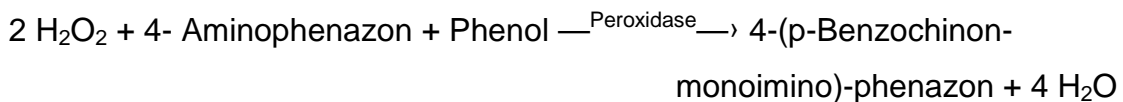
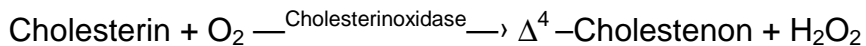
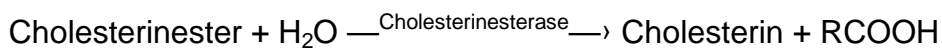
2.2.2 Untersuchungen

Die durchgeführten klinisch-chemischen Methoden der durchgeführten Untersuchungen werden im Folgenden näher erläutert.

2.2.2.1 Gesamtcholesterin

Die Gesamtcholesterinkonzentration wurde im Serum am klinisch-chemischen Probenanalysator Hitachi 717 der Firma Boehringer gemessen.

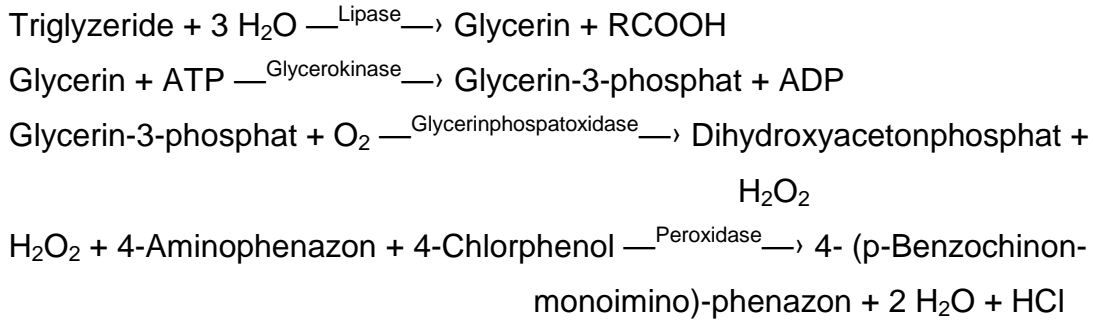
3 μl Serum wurden mit 250 μl Cholesterinreagenz (PIPES-Puffer: 75 mmol/l, pH 6,8; Mg^{2+} : 10 mmol/l; Natriumcholat: 0,2 mmol/l; 4-Aminophenazon \geq 0,15 mmol/l; Phenol \geq 4,2 mmol/l; Fettalkoholpolyglycolaether 1 %; Cholesterin-Esterase \geq 0,5 U/ml; Cholesterin-Oxidase \geq 0,15 U/ml; Peroxidase \geq 0,25 U/ml) vermischt. Das Prinzip der Reaktion beruht darauf, daß die in der Probe vorhandenen Cholesterinester durch eine Cholesterinesterase hydrolysiert werden. Das entstandene Cholesterin wird durch eine spezifische Oxidase zu Δ^4 -Cholestenon umgewandelt. Das dabei entstandene Wasserstoffperoxid ergibt mit Phenol und 4- Aminophenazon unter der katalytischen Wirkung von Peroxidase einen Farbstoff der photometrisch bei einer Wellenlänge von 700 nm und einer Temperatur von 37°C gemessen werden kann und der Konzentration von Cholesterin direkt proportional ist.



2.2.2.2 Triglyceride

Die Konzentration der Triglyceride wurde am Hitachi 717 (Boehringer) gemessen. Es wurde ein Probenvolumen von 3 μl mit 300 μl Reagenz (Tris-Puffer: 150 mmol/l pH 7,6; Magnesiumsulfat: 17,5 mmol/l; EDTA: Dinatriumsalz: 10 mmol/l; 4-Chlorphenol: 3,5 mmol/l; Natriumchlorat: 0,15 %; Kaliumhexaferrat (II): 6 $\mu\text{mol/l}$; Fettalkoholpolyglykoläther: 0,12 %; ATP \geq 0,5 mmol/l; 4-Aminophenazon: 0,35 mmol/l; Lipase \geq 3 U/ml; Glycerinphosphatoxidase \geq 2,5 U/ml; Glycerokinase \geq 0,2 U/ml; Peroxidase \geq 0,15 U/ml) vermischt. Bei der Spaltung der Triglyceride durch Lipase und Esterase entstand Glycerin. Bei der Phosphorylierung des Glycerins mit ATP entstand mit Hilfe der Glycerokinase ADP und Glycerin-3-phosphat. Glycerin-3-

phosphat wurde durch die Glycerinphosphatoxidase zu Dihydroacetonphosphat oxidiert. Das entstandene Wasserstoffperoxid oxidierte wiederum 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol. Es entstand 4-(p-Benzochinon-monoimino)-phenazon, das photometrisch bei 700 nm bestimmt werden konnte.



2.2.2.3 Apolipoprotein AI und Apolipoprotein B

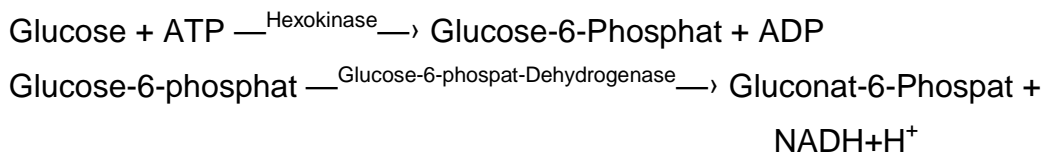
Das Reaktionsprinzip der quantitativen Messung der Apolipoproteine AI (Apo AI) und B (Apo B) beruht auf einer immunchemischen Reaktion mit spezifischen Antikörpern, bei der Immunkomplexe gebildet werden, an denen eingestrahktes Licht gestreut wird. Die Intensität des Streulichtes ist abhängig von der Konzentration des jeweiligen Apoproteins der Probe. Die Auswertung erfolgt durch den Vergleich mit einem Standard in bekannter Konzentration. Aus patentrechtlichen Gründen können die Konzentrationen der Reaktionspartner zur Bestimmung des Apo AI und des Apo B nicht angegeben werden.

2.2.2.4 C-reaktives Protein

Die Konzentration des CRPs wurde mit Hilfe eines immunologischen Trübungstestes bestimmt. CRP und spezifische Antikörper wurden zusammengegeben. Die verwendeten Puffer bestanden aus TRIS / HCL-Puffer: 100 mmol/l, pH 7,5; Natriumchlorid: 300 mmol/l; Polyethylenglycol 2,0 % und Konservierungsmittel. Das Reaktionsreagenz enthielt Anti-Human-CRP-Antikörper der Ziege in unterschiedlichen Titerstufen sowie Puffer. Der entstandene Antigen-Antikörperkomplex wurde durch eine turbidimetrische Messung quantitativ bestimmt.

2.2.2.5 Glucose

Die Glucosekonzentration wurde mittels enzymatischer Hilfs- und Indikatorreaktion photometrisch gemessen. Glucose wurde durch Hexokinase unter Hinzugabe von ATP zu Glucose-6- Phosphat phosphoryliert. Glucose-6-phosphat und NADP^+ wurden durch Glucose-6-phosphat Dehydrogenase zu Gluconat-6-Phosphat und $\text{NADPH} + \text{H}^+$ umgewandelt. Die Menge an entstandenem NADPH war proportional der Glucosekonzentration und konnte photometrisch bestimmt werden. Die verwendeten Reagenzien R1 (TRIS-Puffer: 100 mmol/l, pH 7,8; Mg^{2+} : 4 mmol/l; $\text{ATP} \geq 1,7$ mmol/l; $\text{NADP} \geq 1,0$ mmol/l; Konservierungsmittel) und R2 (HEPES-Puffer: 30 mmol/l. pH 7,0; Mg^{2+} : 4 mmol/l; $\text{HK} \geq 8,3$ U/ml (aus Hefe); $\text{G-6-PDH} \geq 15$ U/ml (aus E.coli); Konservierungsmittel) wurden zu der Probe gegeben und dadurch die Reaktion gestartet.



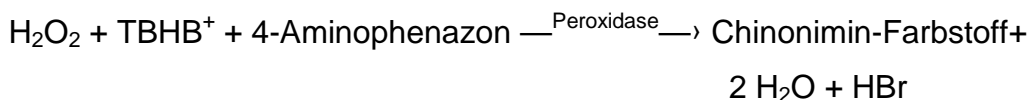
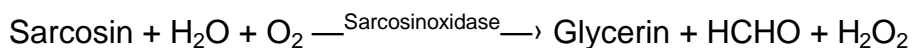
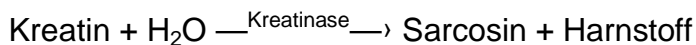
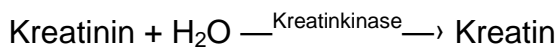
2.2.2.6 Lipoprotein(a)

Das Prinzip der quantitativen Bestimmung von Lipoprotein(a) (Lp(a)) im Serum mittels Behring-Nephelometer beruht auf der Agglutination von Lipoprotein(a)-haltigen Proben bei Mischungen mit Antikörpern gegen Lipoprotein(a) beladenen Polystyrolpartikeln. Der Referenzbereich liegt bei < 300 mg/l. Aus patentrechtlichen Gründen können die Konzentrationen der Reaktionspartner nicht angegeben werden.

2.2.2.7 Kreatinin

Bei der Bestimmung des Kreatinins handelte es sich um einen enzymatischen Farbstest, der mit dem Hitachi 717 der Firma Boehringer durchgeführt wurde. Kreatinin wird durch die Kreatininkinase zu Kreatin umgewandelt. Kreatin wird durch die Kreatinase zu Sarcosin und Harnstoff katalysiert. Sarcosin wird durch

die Sarcosinoxidase zu Glycerin, HCHO und Wasserstoffperoxid umgewandelt. Das Wasserstoffperoxid oxidiert einen Farbstoff. Der entstandene Farbumschlag ist proportional zur Kreatininkonzentration. Die gebrauchsfertigen Lösungen hatten folgende Konzentrationen: R1 bestand aus Kaliumphosphatpuffer: 100 mmol/l, pH 7,9; 2,4,6-Tribrom-3-hydroxybenzoesäure: 8,6 mmol/l; Detergenz: 0,3 %; 4-Aminophenazon: 0,8 mmol/l; Creatinase \geq 20 U/ml; Sarcosinoxidase \geq 12 U/ml; Peroxidase \geq 1 U/ml. R2 enthielt Kaliumphosphatpuffer: 20 mmol/l, pH 7,9; Detergenz 0,3 %; Creatinase \geq 164 U/ml.



2.2.2.8 Fibrinogen

Die Bestimmung des Fibrinogengehaltes wurde nach der Methode nach Clauss [29] durchgeführt und Reagenzien der Firma Roche verwendet. Die Probe wurde mit einer hochkonzentrierten Human-Thrombin Lösung gemischt. Die Methode ist durch die hohe Thrombinkonzentration unabhängig von dem im Plasma befindlichen Thrombin und Antithrombin. Die Geschwindigkeit der Thrombin-Fibrinogen-Reaktion ist damit direkt von der Fibrinogenkonzentration abhängig.

2.2.2.9 Isolierung der Desoxyribonukleinsäure aus Vollblut

Zur Isolierung der DNA wurde mit EDTA antikoaguliertes, im Kühlschrank gekühltes Vollblut verwendet, das nicht älter als drei Tage war. Es wurden 100 μ l EDTA-Blut mit 500 μ l TE-Puffer (10 mM Tris-HCl pH 8,0, 1 mM EDTA) in einen Eppendorf-Cup pipettiert und gut gerüttelt. Danach wurde die Probe 10 sec bei 13000 g zentrifugiert und der Überstand vorsichtig abpipettiert. Das

Pellet wurde mit 500 µl TE-Puffer resuspendiert und erneut gerüttelt. Es folgte eine erneute Zentrifugation mit Entfernen des Überstandes und Resuspension des Pellets in diesmal 100 µl Lysis-Puffer K (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,01 % Gelatine, 0,5 % Tween 20). Anschließend wurde 10 µl Proteinase K (10 mg/ml) hinzugefügt und die Proben jeweils leicht anzentrifugiert. Der Abbau der Proteine erfolgte während einer 45 minütigen Inkubation bei 56°C mit anschließender Inaktivierung der Proteinase K bei 96°C für 10 min in einem Thermocycler. Die Proben wurden schließlich nach einer kurzen Zentrifugation bei -20°C eingefroren [63].

2.2.2.10 Polymerasekettenreaktion

Bei der Polymerasekettenreaktion (PCR) handelt es sich um eine der am häufigsten verwendeten Standardmethoden in der Molekularbiologie, die das erste Mal 1984 von Kary Mullis veröffentlicht wurde [116]. Dabei wird aus dem DNA-Doppelstrang eine bestimmte Sequenz amplifiziert, wobei nur geringste Mengen der Ausgangs-DNA benötigt werden. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, daß eine DNA-Sequenz durch eine hitzestabile DNA-Polymerase und Desoxynukleotide vermehrt wird. Jeder Reaktionszyklus erfordert eine spezielle Temperatur, um eine DNA-Vermehrung erreichen zu können. Vor dem ersten Zyklus wird die Probe auf 96°C gebracht, bei der die thermostabile Taq-Polymerase aktiviert und die doppelsträngige DNA in ihre Einzelstränge zerlegt wird. Bei jedem darauf folgenden Zyklus wird die Probe zuerst auf 95°C erhitzt, um eine Trennung der Doppelhelix zu erreichen. Die spezifisch zugesetzten Oligonukleotide, die der Sequenz an den 5' Enden der beiden Einzelstränge komplementär sind, benötigen zum Anheften eine Temperatur, die Annealingtemperatur genannt wird und höher als die Schmelztemperatur T_m sein muss. Als Schmelztemperatur T_m ist dabei diejenige Temperatur definiert, bei der 50 % der DNA denaturiert ist. Die absolute Größe von T_m ist von einer Reihe von Faktoren abhängig. T_m steigt mit dem Gehalt einer DNA an GC-Paaren an, da diese drei Wasserstoffbrücken ausbilden, während AT-Paare durch zwei Wasserstoffbrücken verbunden sind. Außerdem ist T_m von der Konzentration der Ionen des Lösungsmittels, der Natur des Lösungsmittels und

dem pH-Wert abhängig. Je höher die Annealingtemperatur ist, um so spezifischer wird die eigentliche Reaktion. Anschließend wird der Zyklus mit einer Temperatur von 72°C beendet, bei der es zu einer Verlängerung und Vervollständigung von neuen Doppelsträngen kommt. Als Startpunkt der Extension dient der angeheftete Primer. Die Reaktion wird von der Taq-Polymerase katalysiert. Durch Wiederholung der Zyklen ergibt sich im Idealfall eine exponentielle Zunahme der DNA-Moleküle. Die Zyklen werden so oft wiederholt, bis eine ausreichende Menge an PCR-Produkten amplifiziert worden ist, um sie in der Gelelektrophorese darstellen zu können. Die dabei nachgewiesenen DNA-Stücke unterscheiden sich bei den verschiedenen PCR-Methoden in der Anzahl der Basenpaare, die durch die Distanz der 5´ Enden beider Primer bestimmt wird. Die einzelnen Temperaturen und Zeiten der drei Schritte Denaturierung, Annealing und Extension werden individuell gewählt, sind jedoch vom Prinzip her bei jeder PCR gleich. Eine Sonderform der PCR ist die sequenzspezifische PCR. Sie ist besonders gut geeignet zum Nachweis von Polymorphismen, die durch einen Basenaustausch entstanden sind. Die sequenzspezifische PCR bindet die Primer auf dem DNA-Stück, das die nachzuweisende variante Base enthält. Deshalb benötigt man für jeden Polymorphismus einen eigenen Primer. Kann der Primer an der DNA binden, wird die Sequenz amplifiziert. Wird in der PCR die Sequenz amplifiziert, so erscheint in der Gelelektrophorese eine spezifische Bande. Um unterscheiden zu können, ob die DNA-Sequenz im Genom nicht vorhanden ist oder ob die PCR-Durchführung fehlerhaft war, wird immer eine interne Kontrolle mitgeführt. Dabei handelt es sich um eine Sequenz, die in jedem Genom vorhanden ist.

2.2.2.11 Spezifische Methode zum Nachweis des FcγRezeptor IIa HR¹³¹ -Polymorphismus

2.2.2.11.1 Prinzip der Methode

Zum Nachweis des FcγRIIa HR¹³¹ - Polymorphismus wurde eine Methode verwendet, die 1998 von Brigitte Flesch aus der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Neppert veröffentlicht wurde [41]. Das Besondere der Methode ist, daß man

unterschiedliche Zyklen mit verschiedenen Annealingtemperaturen hintereinander durchführt. Die Denaturierung bei 95°C und die Extension bei 72°C sind in beiden Zyklenarten gleich, allerdings unterscheiden sich die Annealingtemperaturen. Es wird in den zehn ersten Zyklen eine Annealingtemperatur von 57°C verwendet; dadurch entsteht eine sehr hohe Spezifität der Methode. In den 22 folgenden Zyklen wird eine Annealingtemperatur von 54°C verwendet. Bei dieser Temperatur wird die Spezifität zwar etwas erniedrigt, dafür erhält man eine sehr hohe Ausbeute. Eine interne Kontrolle wird mit HGH1 (human growth hormone) und HGH2 durchgeführt [7].

2.2.2.11.2 Durchführung der Methode

Es wurde jeweils ein Mastermix für die in dem Untersuchungsdurchlauf zu untersuchenden Proben hergestellt. Dazu wurde zuerst die Menge der benötigten Reagenzien ermittelt, indem die vorgegebenen Mengen mit der Anzahl der Proben plus zwei Proben multipliziert wurden. Dann wurden die Reagenzien der Reihe nach zusammenpipettiert, gut gemischt und in die Reaktionsgefäße pipettiert. Danach wurde die genomische DNA in die jeweiligen Gefäße hineingegeben und wieder gut gemischt. In ein Gefäß wurde zur Kontrolle der Reagenzien an Stelle der DNA Aqua dest. hineinpipettiert. Anschließend wurden alle Proben in den Cycler gesetzt und unter den angegebenen Bedingungen amplifiziert.

Tabelle 2: Nukleotidsequenzen der Primer für die PCR-Reaktion

Kiel A	5'- ATCCCAGAAATTCTCCAA-3'
Kiel G	5'- ATCCCAGAAATTCTCCCG-3'
Kiel	5'- CAATTTTGCTGCTATGGGC-3'
HGH I	5'- CAGTGCCTTCCCAACCATTCCCTTA-3'
HGH II	5'- ATCCA CT CACGGATT TCTGTTGTGTTTC-3'

Abkürzungen: Kiel A, spezifischer Primer für FcγRIIa H¹³¹; Kiel G, spezifischer Primer für FcγRIIa R¹³¹; Kiel, unspezifischer Primer für FcγRIIa H/R¹³¹; HDH1/HDH1I, Primer für die PCR-Kontrolle
5': 5' Phosphatende; 3': 3' OH-Ende; A: Adenin; T: Thymin; C: Cytosin; G: Guanin;

**Tabelle 3: Reaktionsgemisch zur Amplifikation des Fc γ Rezeptors IIa
H/R131 Polymorphismus**

DNA	1,0 μ l
H ₂ O	7,4 μ l
Puffer 10x	2,5 μ l
dNTP (1,25 mM each)	4,0 μ l
Kiel (5 μ M)	2,5 μ l
Kiel A/G (5 μ M)	2,5 μ l
HGH I (1,6 μ M)	2,5 μ l
HGH II (1,6 μ M)	2,5 μ l
Taq (5U/ μ l)	0,1 μ l
Gesamt	25,0 μ l

Reaktionsgemisch

Reaktionspartner: DNA : isolierte Desoxyribonukleinsäure aus der Patientenvollblutprobe; H₂O: Aqua destillata; Puffer 10x: Fertigpuffer aus Ultrapure dNTP Set; dNTP: aus dNTP Set; Kiel, Kiel A/G: verwendete Primer für den Polymorphismus-Nachweis; HGH I, HGH II: verwendete Primer für die interne Kontrolle; Taq: Enzym

Tabelle 4: Temperaturbedingungen der PCR

	96°C	10 min
10x	95°C	1 min
	57°C	2 min
	72°C	1 min
	95°C	1 min
22x	54°C	2 min
	72°C	1 min
	72°C	5 min

Spalte 1: Anzahl der Wiederholungen; Spalte 2: Temperaturbedingungen der Reaktion; Spalte 3: Dauer eines Reaktionszyklus

2.2.2.12 Agarosegelelektrophorese

2.2.2.12.1 Prinzip der Methode

Die verschiedenen PCR-Produkte wurden mit Hilfe einer Agarosegelelektrophorese aufgetrennt und sichtbar gemacht.

Agarose bildet als pflanzliches Polysaccharid im Gel netzähnliche Strukturen aus, durch die die PCR-Produkte nach Anlegen der Spannung in Abhängigkeit nach ihrer Größe, Form der Moleküle, der angelegten Spannung und Eigenschaft des Trägers und aufgrund ihrer negativ geladenen Phosphatgruppen Richtung Anode wandern. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist direkt proportional der angelegten Spannung und der Ladung und umgekehrt proportional dem Radius der Teilchen. Da unter den Versuchsbedingungen nur

das Molekulargewicht unterschiedlich ist, kann mit Hilfe einer Basenpaarleiter ihre Molekülgröße bestimmt werden. Die DNA-Fragmente werden mit Hilfe von Ethidiumbromid dargestellt. Bei diesem Farbstoff handelt es sich um einen intercalierenden Farbstoff, der sich zwischen die gestapelten Basen schiebt, wodurch ihre Fluoreszenz im Vergleich zum freien Farbstoff intensiviert wird.

2.2.2.12.2 Durchführung der Methode

Zuerst wurde ein 1,5 % Agarosegel gegossen. Dazu wurde die Agarose mit TBE-Puffer (10,8 g Tris, 5,5 g Borsäure, 4 ml EDTA 0,5 M pH 8,0 ad 1000 ml Aqua dest.) aufgekocht. Anschließend wurden 16 µl Ethidiumbromid pro 100 ml Gel hinzugefügt und die Lösung in einen Schlitten mit Kämmen geschüttet. Dadurch entstanden sogenannte Slots, in welche die Proben nach der Polymerisationszeit von mindestens 30 min und Abkühlung der Gele gefüllt werden. 10 µl PCR-Produkte wurden mit 2 µl Loadingbuffer (40 % Saccharose, 0,03 % Bromphenolblau und 0,05 M EDTA) vermischt. 1 µl Basenpaarleiter wurde mit 9 µl Aqua dest. und ebenfalls 2 µl Loadingbuffer gemischt. Die Basenpaarleiter (BPL) ermöglichte eine Größenbestimmung der durch die PCR amplifizierten DNA Produkte. Die BPL enthielt DNA Fragmente mit unterschiedlicher Länge, so daß das zu untersuchende PCR Produkt in der Länge der Basenpaare abgeschätzt werden konnte. Die gemischten Reagenzien wurden in die Slots hineinpipettiert.

Bei einer Spannung von 120 Volt wurden die Produkte über 45 min aufgetrennt. Nach Abschluß des Laufes wurden die Amplifikate mit Hilfe einer UV-Lampe sichtbar gemacht und mit einem Kamerasystem dokumentiert. Das Bild konnte entweder auf einer Diskette abgespeichert oder mit einem Thermotransferdrucker ausgedruckt werden.

2.2.2.13 Sequenzierung

2.2.2.13.1 Prinzip der Methode

Um die Genotypisierung mittels PCR zu überprüfen, wurde zusätzlich für einen Teil der Probe eine Sequenzierung durchgeführt. Hierzu wurde jeweils die

amplifizierte DNA verwendet, deren Genotyp mit der beschriebenen Methode bestimmt worden war. Die Prinzipien von PCR und Sequenzierung sind ähnlich. Bei der Sequenzierung wird anstelle einer exponentiellen Vermehrung eine lineare Vermehrung erreicht.

2.2.2.13.2 Durchführung der Methode

Zur Herstellung eines PCR-Produktes wurde der erste Schritt der von L.Carlsson veröffentlichten Nested-PCR verwendet [24]. Dabei wurden 10 µl DNA, 55 µl H₂O, 10 µl 10x Puffer, 20 µl dNTP, 2 µl der Primer und 1 µl Taq gemischt und 10 Minuten (min) bei 96°C, 5 min bei 95° C, 5 min bei 55°C, 5 min bei 72°C amplifiziert. Es folgten 35 Zyklen mit 3 Schritten. Es wurde jeweils eine Minute bei 95°C, 55°C und 72°C erhitzt. Es folgten 10 min bei 72°C.

Tabelle 5: Nukleotidsequenzen der Primer für die Sequenzierungsreaktion

P63	5´- CAA GCC TCT GGT CAA GGT C -3´
P52	5´- GAA GAG CTG CCC ATG CTG -3´

Abkürzungen: P63: Vorwärtsprimer; P52: Rückwärtsprimer 5´: 5´Phosphatende; 3´: 3´OH-Ende; A: Adenin; T: Thymin; C: Cytosin; G: Guanin;

Tabelle 6: Reaktionsgemisch zur Amplifikation des FcγRIIIa H/R131 Polymorphismus für die Sequenzierung

DNA	10 µl
Aqua dest.	55 µl
Puffer 10x	10 µl
dNTP (1,25 mM each)	20 µl
P 63	2 µl
P 52	2 µl
Taq A 70	1 µl
Gesamt	100 µl

Reaktionsgemisch Reaktionspartner: DNA : isolierte Desoxyribonukleinsäure aus der Patientenvollblutprobe; Aqua dest.: Aqua destillata; Puffer 10x: Fertigpuffer aus Ultrapure dNTP Set; P 63, P 52: verwendete Primer; Taq A 70: Enzym

Tabelle 7: Temperaturbedingungen der PCR-Reaktion zur Sequenzierung

	96°C	10 min
1x	95°C	5 min
	55°C	5 min
	72°C	5 min
	72°C	10 min
35x	95°C	1 min
	55°C	1 min
	72°C	1 min
	72°C	10 min
	4°C	∞

Spalte 1: Anzahl der Wiederholungen; Spalte 2: Temperaturbedingungen der Reaktion; Spalte 3: Dauer eines Reaktionszyklus

Die Sequenzierung erfolgte mit dem Sequenzierungskit der Firma Perkin Elmer nach einer Methode nach Sanger [111]. 4 µl „Ready Reaction“ Mix (Perkin Elmer), 20 ng PCR-Produkt und 1 µl Sequenzierungsprimer (5 µM) wurden zu einem Endvolumen von 20 µl mit Aqua dest. vermischt. Die Sequenzierungsreaktion erfolgte im Thermocycler Gene Amp PCR System 2400 in 25 Zyklen. Die Denaturierung erfolgte für 10 Sekunden (sec) bei 96°C, die Primeranlagerung für 5 sec bei 50°C und die Polymerisation für 4 min bei 60°C.

Nach der Fällungsreaktion mit 10 µl 3 M Natriumacetat und 250 µl 100% Ethanol bei Raumtemperatur und Waschen der DNA mit 250 µl 75% Ethanol bei 13000 g wurde die DNA mit 25 µl Template-Suppressor-Reagenz-Puffer vermischt und bei 90°C über 2 min denaturiert. Die Proben wurden nach dem Abkühlen auf 0°C im DNA-Sequencer analysiert.

2.2.3 Statistische Fragestellungen

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus am FcγRezeptor IIa und der koronaren Herzkrankheit bzw. deren Komplikation, dem Herzinfarkt besteht. Sämtliche statistischen Fragestellungen wurden nach Vorgaben von Herrn W. Pabst (Institut für klinische Informatik, Universität Gießen) erstellt.

Im einzelnen wurden die verschiedenen Gruppen in Bezug auf deren Gen- oder Allelhäufigkeit miteinander verglichen:

1. Gesunde Kontrollen versus koronarangiographierte KHK-Patienten
2. Koronarangiographierte Patienten ohne signifikante KHK versus KHK-Patienten
3. Koronarangiographierte Patienten mit verschiedenen Graden der koronaren Herzkrankheit
4. Gesunde Kontrollen versus Myokardinfarktpatienten
5. Koronarangiographierte Patienten ohne Myokardinfarkt versus Myokardinfarktpatienten

2.2.4 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe der SPSS-Software (Version 9.0 für Windows) durchgeführt. Der χ^2 -Test wurde für die Untersuchung potentieller Abweichungen der Genotypen von der Hardy-Weinberg-Verteilung eingesetzt. Um die etablierten Risikofaktoren zwischen den Genotypgruppen zu vergleichen, wurden die Relationen der kontinuierlichen Variablen zur Genvariation durch die Kruskal-Wallis 1-way ANOVA Methode und der binären Variablen Diabetes und Hypertonus zum Genpolymorphismus durch den χ^2 -Test untersucht. Die etablierten Risikofaktoren für die koronare Herzkrankheit und den Myokardinfarkt wurden durch die multiple Regressionsanalyse (Grad der koronaren Herzerkrankung) oder durch multiple logistische Regression (Bestehen oder Abwesenheit von koronarer Herzkrankheit oder Myokardinfarkt) identifiziert. Die statistische Beziehung der FcγRIIa Genvariation zum Grad der Koronaren Herzerkrankung wurde durch die multiple Regressionsanalyse unter Berücksichtigung der nachgewiesenen koronaren Risikofaktoren bestimmt. Das relative Risiko (Odds-ratio) mit 95%igem Konfidenzintervall für die Koronare Herzerkrankung und den Myokardinfarkt wurden mit der multiplen logistischen Regression unter Berücksichtigung der koronaren Risikofaktoren errechnet. Ein zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert von $p \leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant definiert. Die Analysen basierten auf den Modellen rezessiver, kodominanter und dominanter Vererbung.

3 Ergebnisse

Sämtliche Ergebnisse wurden nach Vorgaben von Herrn W. Pabst (Institut für klinische Informatik, Universität Gießen) erstellt.

3.1 Fall- und Kontrollkollektiv

Die Studienpopulation setzte sich aus einem Kontroll- und einem Fallkollektiv zusammen. Zur Genotypisierung stand die DNA von 3077 Probanden zur Verfügung. Von diesen Probanden lagen jedoch nur bei 2901 Probanden die für die statistischen Analysen benötigten Daten vor. Daher wurden diese 2901 Probanden zur Datenanalyse herangezogen. Das Kontrollkollektiv bestand aus 510 Probanden, das Fallkollektiv aus 2391 Patienten.

3.2 Charakterisierung der Studienpopulation

In der Studie sollte geklärt werden, wie die Genotyp- bzw. Allelverteilung des FcγRIIa HR^{o131} - Polymorphismus in einem Kollektiv von Herzgesunden, Koronarkranken und Herzinfarktpatienten war und ob es einen Unterschied in der Genotyp- bzw. Allelverteilung in dem Kollektiv von Koronarkranken und Herzinfarktpatienten im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv gab. Bei einem Unterschied in der Genverteilung sollte geklärt werden, ob einer der Genotypen oder eines der beiden Allele einen protektiven Faktor oder einen Risikoindikator der Atherosklerose und des Herzinfarktes als deren Komplikation darstellten. Die Charakterisierung der Studienpopulation erfolgte zur Darstellung der Validität des Fall- und Kontrollkollektives.

3.2.1 Risikoprofil der einzelnen Gruppen

3.2.1.1 Altersstruktur

3.2.1.1.1 Altersstruktur der Probanden

Es sollte die Altersstruktur der Probanden des gesamten Kollektives untersucht werden.

Die Studienpopulation hatte eine in der Abbildung 3 dargestellte Altersverteilung. Die Patienten wurden zur besseren Übersicht in 8 verschiedene Altersgruppen von jeweils einer Dekade unterteilt. Die größte Gruppe machten die 61-70 jährigen Probanden aus. Der Mittelwert der Altersverteilung innerhalb der Gesamtpopulation bei einer Größe von 2901 Patienten betrug $60,6 \pm 10,2$ Jahre mit einem 95% Konfidenzintervall von 60,2 bis 61,0. Die Altersverteilung entsprach einer Normalverteilung.

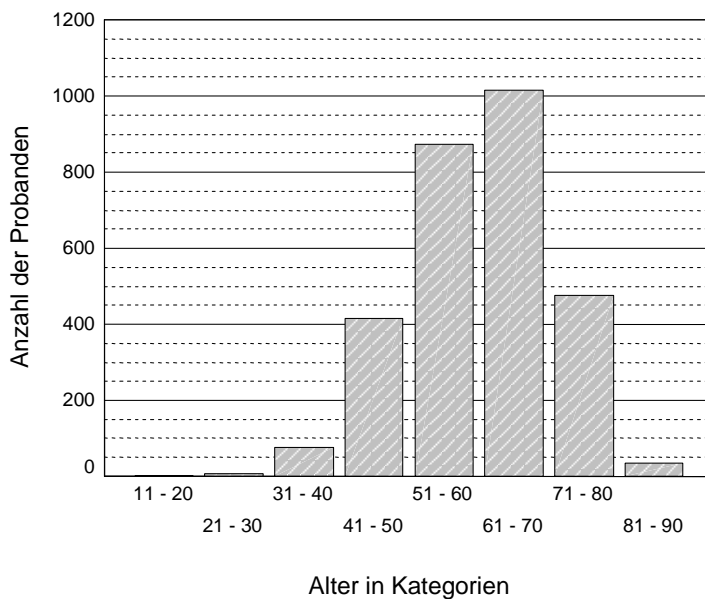


Abbildung 3: Anzahl der Probanden in den jeweiligen Altersgruppen

Häufigkeit der Probanden in den Altersgruppen: 11-20: 2 (0,1%); 21-30: 8 (0,3%); 31-40: 76 (2,3%); 41-50: 414 (10,5%); 51-60: 873 (29,1%); 61-70: 1017 (38,1%); 71-80: 476 (18,4%); 81-90: 35(1,3%).

3.2.1.1.2 Altersstruktur innerhalb der Kontrollgruppe

Das Durchschnittsalter betrug $55,2 \pm 10,2$ Jahre. Das 95% Konfidenzintervall lag zwischen 54,3 und 56,1 Jahren.

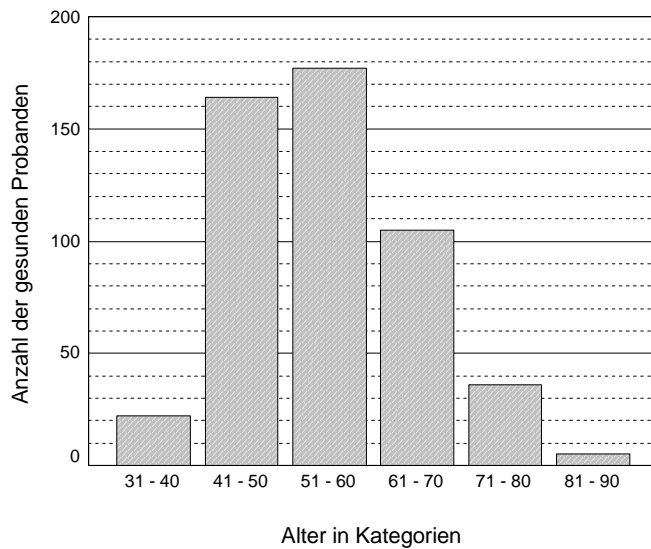


Abbildung 4: Anzahl der Probanden der Kontrollgruppe in den jeweiligen Altersgruppen

Häufigkeit der Probanden in den Altersgruppen: 31-40: 22 (4,3%); 41-50: 164 (32,2%); 51-60: 177 (34,8%); 61-70: 106 (20,8%); 71-80: 36 (7,1%); 81-90: 5 (1,0%).

3.2.1.1.3 Anteil der Patienten mit koronarer Herzerkrankung in den verschiedenen Altersgruppen

Für die koronarangiographierten Patienten wurde ebenfalls die Altersstruktur ermittelt (Abbildung 5). Es wurden bei den koronarangiographierten Patienten in Patienten mit und ohne relevante Stenose (< 50%) unterteilt. Abbildung 5 verdeutlicht, daß mit steigendem Alter der relative Anteil an Patienten mit relevanter Stenose zunahm. Dieser Zusammenhang verdeutlichte die Abhängigkeit der KHK vom Lebensalter.

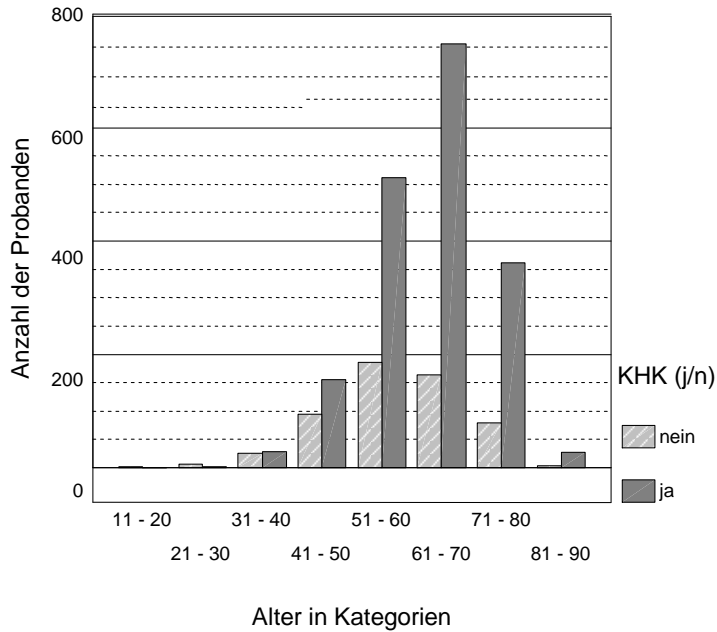


Abbildung 5: Gegenüberstellung der Anzahl der Probanden in den verschiedenen Altersgruppen mit und ohne koronarer Herzkrankheit

Häufigkeit der Probanden in den Altersgruppen: (1) Probanden ohne signifikante Stenose (als Patienten ohne KHK dargestellt): 11-20: 2(<0,01); 21-30: 7(<0,01); 31-40: 26 (0,01); 41-50: 95(0,04); 51-60: 185(0,08); 61-70: 163(0,07); 71-80: 79(0,03); 81-90: 3(< 0,01); (2) Probanden mit KHK: 11-20: 0; 21-30: 1(< 0,01); 31-40: 28(0,01); 41-50: 155(0,06); 51-60: 511(0,21); 61-70: 748(0,31); 71-80: 361(0,15); 81-90: 27(0,01). Abkürzungen: j:ja; n:nein (ohne signifikante Stenose, d.h. Stenose < 50%).

3.2.1.1.4 Altersstruktur in Abhängigkeit vom Schweregrad der koronaren Herzerkrankung

Abbildung 6 zeigt die Altersstruktur unter Berücksichtigung des Schweregrades der KHK. Die Patienten mit durchgeführter Koronarangiographie wurden jeweils nach der Ausprägung der KHK in vier Gruppen mit 0-, 1-, 2-, und 3-Gefäßerkrankungen unterteilt. Die Patienten ohne signifikante KHK (n= 560) waren durchschnittlich $58,3 \pm 11,0$ Jahre, Patienten mit einer 1-Gefäßerkrankung (n= 484) $61,1 \pm 9,6$ Jahre, Patienten mit einer 2-Gefäßerkrankung $62,6 \pm 9,6$ Jahre und Patienten mit einer 3-Gefäßerkrankung (n= 827) waren $63,9 \pm 8,6$ Jahre alt. Der relative Anteil der 2- und 3-Gefäßerkrankten nahm mit steigendem Alter zu, so betrug der Anteil der 3-Gefäßerkrankten in der Population zwischen 31-40 Jahren nur 11%, während der Anteil zwischen 71-80 Jahren bereits 44% ausmachte.

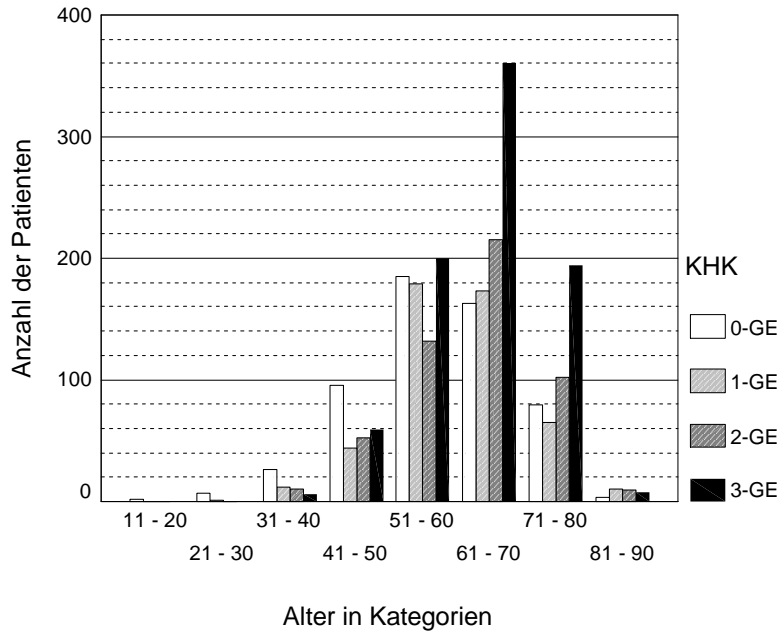


Abbildung 6: Anzahl der Probanden in den verschiedenen Altersgruppen in Abhängigkeit von der Schwere der Erkrankung unterteilt in 0-, 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung

Häufigkeit der Probanden in den Altersgruppen:

(1) Probanden ohne signifikante Stenose (0-GE): 11-20: 2(<0,01); 21-30: 7(<0,01); 31-40: 26 (0,01); 41-50: 95(0,04); 51-60: 185(0,08); 61-70: 163(0,07); 71-80: 79(0,03); 81-90: 3(< 0,01); **(2) Probanden mit 1-Gefäßerkrankung (1-GE):** 11-20: 0 (<0,01); 21-30: 1(<0,01); 31-40: 12(<0,01); 41-50: 44 (0,02); 51-60: 179(0,07); 61-70: 173(0,07); 71-80: 65(0,03); 81-90: 10(<0,01); **(3) Probanden mit 2-Gefäßerkrankung (2-GE):** 11-20: 0(<0,01); 21-30: 0(<0,01); 31-40: 10(<0,01); 41-50: 52(0,02); 51-60: 132(0,06); 61-70: 215(0,09); 71-80: 102(0,04); 81-90: 9(<0,01) **(4) Probanden mit 3-Gefäßerkrankung (3-GE):** 11-20: 0(<0,01); 21-30: 0(<0,01); 31-40: 6(<0,01); 41-50: 59(0,02); 51-60: 200(0,08); 61-70: 360(0,15); 71-80: 194(0,08); 81-90: 8(<0,01)

3.2.1.1.5 Anteil der Myokardpatienten in den verschiedenen Altersgruppen

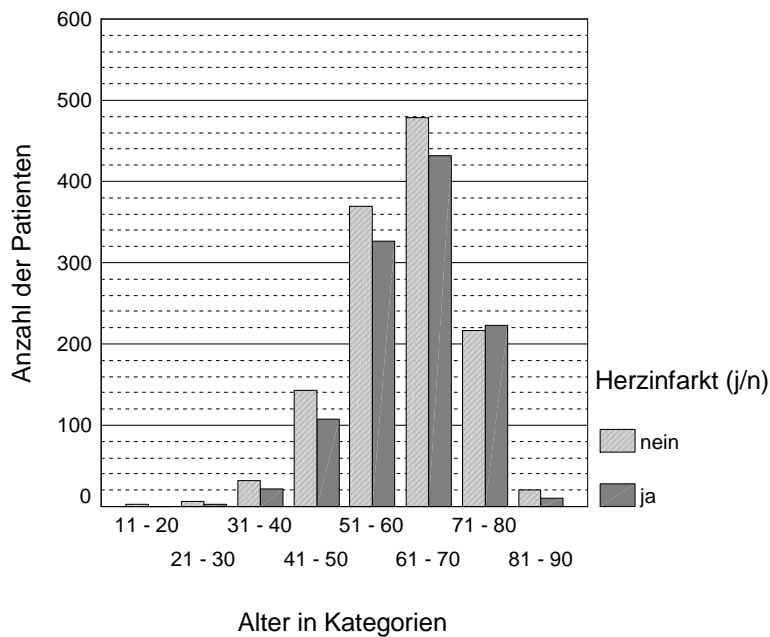


Abbildung 7: Anzahl der Patienten in den verschiedenen Altersgruppen mit und ohne Herzinfarkt

Häufigkeit der Probanden in den Altersgruppen: (1) Probanden ohne Herzinfarkt: 11-20: 2(<0,01); 21-30: 6(<0,01); 31-40: 32 (0,01); 41-50: 143(0,06); 51-60: 370(0,15); 61-70: 479(0,20); 71-80: 217(0,09); 81-90: 20(< 0,01); (2) Probanden mit Herzinfarkt: 11-20: 0(< 0,01); 21-30: 2(< 0,01); 31-40: 22 (< 0,01); 41-50: 107(0,04); 51-60: 326(0,14); 61-70: 432(0,18); 71-80: 223 (0,09); 81-90: 10(< 0,01)

Das Gesamtkollektiv wurde zusätzlich in Probanden mit und ohne Herzinfarkt eingeteilt. Zunächst wurden die Altersstrukturen beider Gruppen verglichen. Das mittlere Alter der Patienten ohne Myokardinfarkt ($n=1269$) lag bei $61,3 \pm 10,2$ Jahren, während der Mittelwert der Patienten mit Myokardinfarkt ($n=1122$) $62,2 \pm 9,5$ Jahren betrug. Im wesentlichen wurde beobachtet, daß mit steigendem Alter der relative Anteil der Herzinfarktpatienten zunahm.

3.2.1.2 Beziehung zwischen koronarer Herzkrankheit und Myokardinfarkt

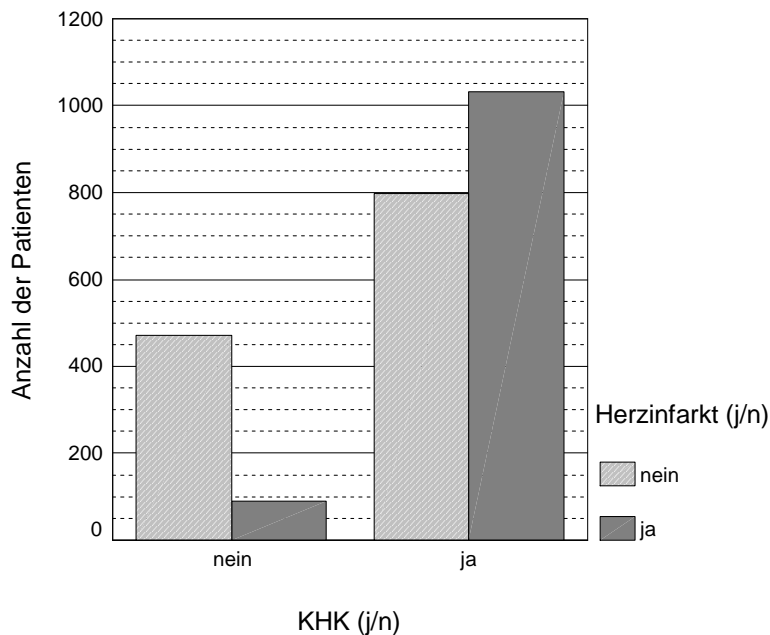


Abbildung 8: Anzahl der Patienten mit/ohne Herzinfarkt bei Probanden in Abhängigkeit von der koronaren Herzerkrankung

Anzahl der Patienten: Abkürzung j:ja; n:nein; KHK: koronare Herzkrankheit
(1) ohne KHK und ohne Herzinfarkt: 471 (0,2); (2) ohne KHK und mit Herzinfarkt: 89 (<0,1); (3) mit KHK und ohne Herzinfarkt: 798 (0,3) (4) mit KHK und mit Herzinfarkt: 1033 (0,3).

Weiterhin sollte die Beziehung zwischen KHK und Herzinfarkt im Kollektiv der Koronarangiographierten untersucht werden. 471 Patienten hatten weder eine KHK, noch hatten sie einen Herzinfarkt erlitten. 89 Patienten ohne signifikante Stenose (<50%) erlitten einen Herzinfarkt, während 798 Patienten nur die Symptome einer KHK hatten. 1033 Patienten erlitten einen Herzinfarkt bei nachgewiesener KHK. Es ließ sich erkennen, daß bei Patienten mit nachgewiesener KHK ein Herzinfarkt deutlich häufiger eintrat ($p < 0,01$, χ^2 -Test). Dieser Vergleich war zwischen dem gesunden Kontrollkollektiv und den Myokardinfarktpatienten nicht möglich. Die Probanden des Kontrollkollektives waren per definitionem herzgesund und hatten keinen Herzinfarkt erlitten. Ein solcher Vergleich konnte daher nur auf jene Population beschränkt werden, bei der mittels Koronarangiographie der Koronarstatus ermittelt wurde.

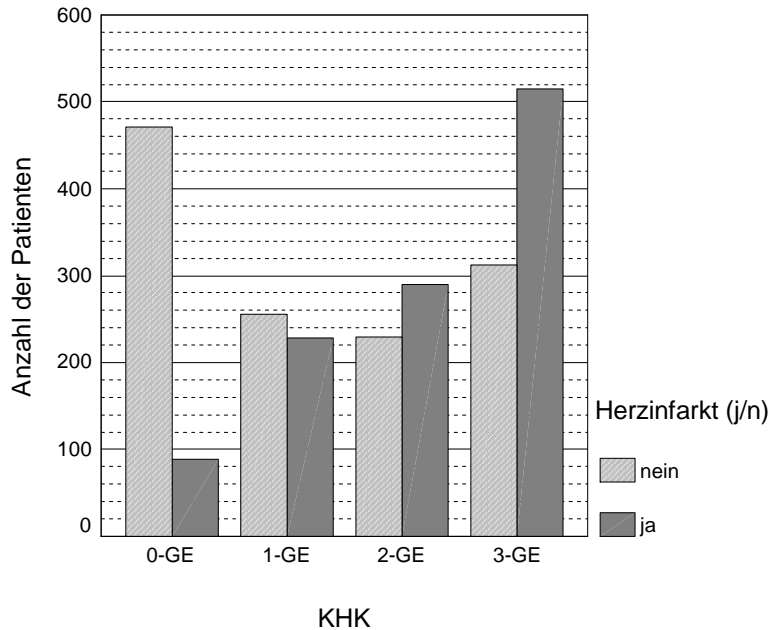


Abbildung 9: Anzahl der Probanden mit/ohne Herzinfarkt in Abhängigkeit von der Ausprägung der koronaren Herzkrankheit

Anzahl der Patienten: (1) mit 0-GE und ohne Herzinfarkt: 471 (2) mit 0-GE und mit Herzinfarkt: 89 (3) mit 1-GE und ohne Herzinfarkt: 256 (4) mit 1-GE und mit Herzinfarkt: 228 (5) mit 2-GE und ohne Herzinfarkt: 230 (6) mit 2-GE und mit Herzinfarkt: 290 (7) mit 3-GE und ohne Herzinfarkt: 312 (8) mit 3-GE und mit Herzinfarkt: 515 Abkürzungen: j:ja; n:nein; 0-Gefässerkrankung : 0-GE; 1-Gefässerkrankung : 1-GE; 2-Gefässerkrankung : 2-GE; 3-Gefässerkrankung:3-GE;

Da in der vorliegenden Population beobachtet wurde (Abbildung 8), daß der Herzinfarkt bei KHK-Patienten häufiger auftrat, wurde zusätzlich untersucht, ob der Schweregrad der Erkrankung in der Studienpopulation eine Auswirkung auf die Häufigkeit des Myokardinfarktes hatte. Abbildung 9 veranschaulicht den Zusammenhang zwischen dem relativen Anteil der Herzinfarktpatienten in Abhängigkeit vom Schweregrad der koronaren Herzerkrankung. 15% der Patienten ohne KHK, 47% der Patienten mit einer 1-Gefäßerkrankung, 55% der Patienten mit einer 2-Gefäßerkrankung und 62% mit einer 3-Gefäßerkrankung hatten einen Herzinfarkt erlitten. Es zeigte sich deutlich, daß mit steigendem KHK-Schweregrad der relative Anteil der Herzinfarktpatienten zunahm ($p < 0,01$, χ^2 - Test).

3.2.1.3 Gensini Score

3.2.1.3.1 Höhe des Gensini Scores in Abhängigkeit von der KHK

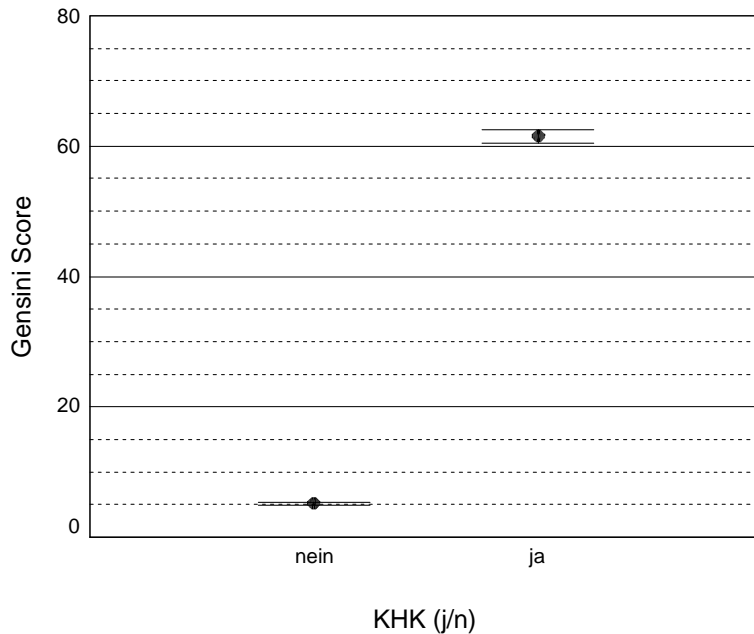


Abbildung 10: Vergleich des mittleren Gensini Scores bei Patienten mit und ohne KHK

Gensini Score: **(1)** Ohne KHK $5,2 \pm 0,2$ **(2)** Mit KHK $61,5 \pm 1,0$
 Angaben in Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; Abkürzungen: j:ja; n:nein;

Der als alternative Schweregradeinteilung für die KHK verwendete Gensini Score wurde mit der in der Kardiologie etablierten Einteilung in 0-, 1-, 2- und 3-Gefäßerkrankung verglichen. Letztere stellte nur ein grobes Raster für die Erfassung des KHK-Schweregrades dar. Dagegen ermöglichte der Gensini Score eine feinere Graduierung des KHK-Schweregrades unter Berücksichtigung aller Koronaräste. So ließ sich eine genauere Unterteilung des Kollektivs mit dem Gensini Score vornehmen. Patienten mit einer Koronarstenose unter 50% wurden z.B. in der herkömmlichen Einteilung als gesund eingestuft, der Gensini Score ermöglicht bereits eine Erfassung dieser Probanden als Patienten mit KHK.

Der Vergleich zwischen dem Gensini Score und der in der Klinik üblichen Einteilung konnte nur bei den Probanden vorgenommen werden, die sich einer Koronarangiographie unterzogen hatten. Bei diesem Vergleich konnte daher das Kontrollkollektiv keine Berücksichtigung finden.

Patienten ohne koronarangiographisch festgestellte Herzkrankheit hatten im Durchschnitt einen Gensini Score von $5,2 \pm 0,2$ (Mittelwert \pm Standardfehler) . Patienten mit einer Herzerkrankung hatten einen Gensini Score von $61,5 \pm 1$ (Mittelwert \pm Standardfehler) ($p = 0,00001$; Kruskal-Wallis 1-way ANOVA) (siehe Abbildung 10).

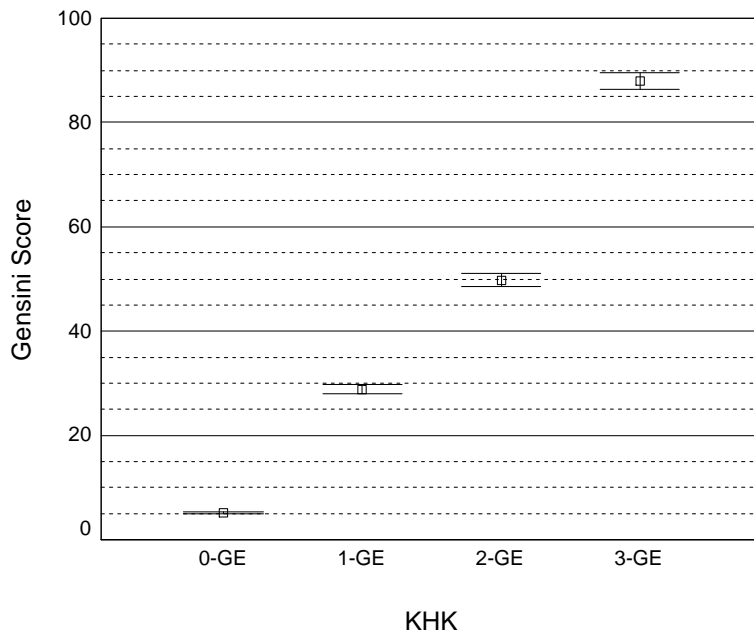


Abbildung 11: Vergleich des mittleren Gensini Scores mit der Stadieneinteilung der Koronaren Herzkrankheit in 0-, 1-, 2-, und 3-Gefäßerkrankung

Gensini Score: **(1) 0-GE:** $5,2 \pm 0,2$ **(2) 1-GE:** $28,9 \pm 0,9$ **(3) 2-GE:** $49,8 \pm 1,3$ **(4) 3-GE:** $87,9 \pm 1,6$; Angaben in Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes. Abkürzungen: 0-GE: 0-Gefäßerkrankung; 1-GE: 1-Gefäßerkrankung; 2-GE: 2-Gefäßerkrankung; 3-GE: 3-Gefäßerkrankung

Wie in Abbildung 11 zu erkennen ist, stieg der Gensini Score nahezu linear von der 0-Gefäßerkrankung zur 3-Gefäßerkrankung ($p < 0,01$, Kruskal-Wallis 1-way ANOVA). Bei Patienten mit 0-Gefäßerkrankung lag der mittlere Gensini Score bei $5,2 \pm 0,3$ und stieg kontinuierlich über $28,9 \pm 0,9$ (1- Gefäßerkrankung) und $49,8 \pm 1,3$ (2-Gefäßerkrankung) auf einen mittleren Gensini Score von $87,9 \pm 1,6$ bei Patienten mit 3-Gefäßerkrankung (jeweils Mittelwerte \pm Standardfehler).

3.2.1.3.2 Höhe des Gensini Scores in Abhängigkeit vom Myokardinfarkt

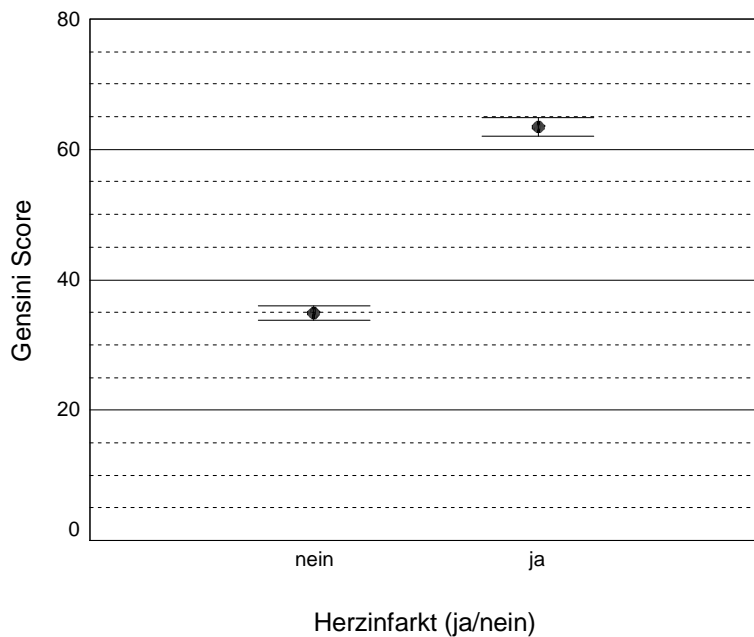


Abbildung 12: Vergleich des mittleren Gensini Scores bei Patienten ohne und mit Myokardinfarkt

Gensini Score: **(1) Patienten ohne Herzinfarkt:** $34,9 \pm 1,1$; **(2) Patienten mit Herzinfarkt:** $63,5 \pm 1,4$
Angaben in Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes

Wie für die KHK wurde die Höhe des Gensini Scores bei Patienten ohne und mit Myokardinfarkt ermittelt. Bei Patienten ohne Herzinfarkt lag der Mittelwert bei 34,9, während der Wert bei Patienten mit Herzinfarkt 63,5 betrug ($p < 0,01$, Kruskal-Wallis 1-way ANOVA). Dieser hochsignifikante Zusammenhang spiegelte die bekannte Tatsache wider, daß mit zunehmendem Schweregrad der koronaren Herzkrankheit auch das Risiko anstieg, einen Myokardinfarkt zu erleiden.

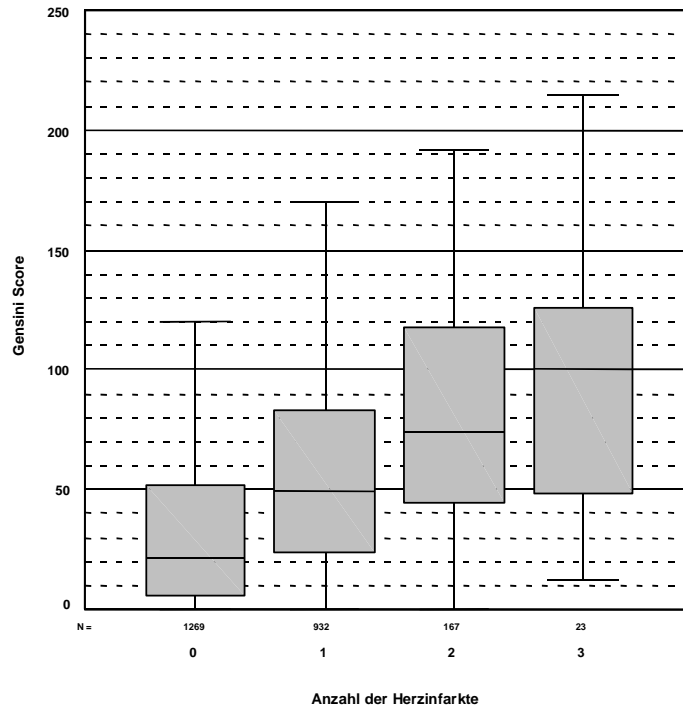


Abbildung 13: Gegenüberstellung des Gensini Scores mit der Anzahl der Herzinfarkte

Gensini Score: **(1) Patienten ohne Herzinfarkt:** $34,9 \pm 1,1$, **(2) Patienten mit einem Herzinfarkt:** $59,4 \pm 1,5$ **(3) Patienten mit zwei Herzinfarkten:** $81,6 \pm 4,0$ **(4) Patienten mit drei Herzinfarkten:** $95,3 \pm 10,9$; Angaben in Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes

Dieser bekannte Zusammenhang stellte sich auch dann dar, wenn der mittlere Gensini Score in Abhängigkeit von der Anzahl der erlittenen Herzinfarkte dargestellt wurde (Abbildung 13; $p < 0,01$, Kruskal-Wallis 1-way ANOVA).

3.2.1.4 Identifikation etablierter Risikofaktoren

Um die Validität der Studienpopulation zu überprüfen, wurde analysiert, ob die etablierten Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung auch innerhalb der vorliegenden Studienpopulation identifiziert werden konnten. Die Prüfung der Validität wurde auf drei Säulen aufgebaut. Zum einen wurde die Altersabhängigkeit der KHK und des Myokardinfarktes überprüft. Die Altersabhängigkeit im Studienkollektiv konnte sowohl für die KHK (Abbildung 6) als auch für den Myokardinfarkt gezeigt werden (Abbildung 7). Eine weitere Säule zur Validierung stellte die Überprüfung des hochsignifikanten

Zusammenhangs zwischen KHK und Myokardinfarkt in der Studienpopulation dar. Dieser konnte mit Hilfe des Gensini Scores ebenfalls dargestellt werden (Abbildung 12, Abbildung 13). Zuvor wurde der bestehende Zusammenhang zwischen Gensini Score und konventioneller Einteilung in 0-, 1-, 2-, und 3-Gefäßerkrankung innerhalb der Studienpopulation überprüft (Abbildung 11). Als dritte Säule diente die Identifikation der etablierten Risikofaktoren in Abhängigkeit des Vorhandenseins der Erkrankung (Tabelle 8) und deren Schweregrad (Tabelle 9).

Die genannten Gesichtspunkte zeigten eine Verteilung der Risikofaktoren, wie diese in der Normalbevölkerung vorkommen.

3.2.1.4.1 Etablierte Risikofaktoren der Patienten mit koronarer Herzkrankheit

Die KHK wurde als abhängige Variable eingesetzt und die Signifikanz der etablierten Risikofaktoren innerhalb der Studienpopulation überprüft. Es konnten Alter ($p < 0,0001$), Apolipoprotein B ($p < 0,0001$), Lipoprotein (a) ($p < 0,001$), Diabetes mellitus ($p < 0,0002$), Hypertonie ($p < 0,00001$) und Rauchen ($p < 0,005$) als Risikofaktoren für eine KHK nachgewiesen werden. Apolipoprotein AI wurde als protektiver Faktor mit einer Signifikanz von $p < 0,001$ identifiziert (Tabelle 8). Die Risikofaktoren konnten auch in bezug auf den Schweregrad der KHK nachgewiesen werden (Tabelle 9).

3.2.1.4.2 Etablierte Risikofaktoren der Herzinfarktpatienten

Ebenso wie bei der Untersuchung der KHK wurde auch das Herzinfarktereignis als abhängige Variable eingesetzt. Alle unter 3.2.1.4.1 dargestellten Faktoren konnten jeweils mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,001$ als Risikofaktoren nachgewiesen werden (Tabelle 9).

Tabelle 8: Etablierte Risikofaktoren in den verschiedenen Kollektiven

Risikofaktor	± Koronare Herzkrankheit					± Myokardinfarkt				
	- KHK ⁽¹⁾ (n = 510)	- KHK ⁽²⁾ (n = 560)	+ KHK (n = 1831)	2 p ⁽¹⁾	2 p ⁽²⁾	- MI ⁽¹⁾ (n = 510)	- MI ⁽²⁾ (n = 1269)	+ MI (n = 1122)	2 p ⁽¹⁾	2 p ⁽²⁾
Alter (Jahre)	55,2 ± 10,2	58,3 ± 11,0	62,8 ± 9,3	<0,001	<0,001	55,2 ± 10,2	61,3 ± 10,2	62,2 ± 9,5	<0,001	0,004
BMI (kg/m ²)	26,7 ± 3,3	27,1 ± 3,6	26,9 ± 3,6	0,483	0,096	26,7 ± 3,3	27,1 ± 3,5	26,9 ± 3,3	0,995	0,111
Pack Years	16,1 ± 28,0	19,5 ± 24,0	23,6 ± 27,0	0,001	0,01	16,1 ± 28,0	20,1 ± 25,0	25,5 ± 27,0	<0,001	<0,001
% Diabetes	7	12	21	0,001	<0,001	7	17	21	0,001	0,072
% Hypertonus	15	55	65	<0,001	0,002	15	63	62	<0,001	0,507
ApoAI (g/l)	1,47 ± 0,25	1,46 ± 0,30	1,42 ± 0,29	<0,001	<0,001	1,47 ± 0,25	1,45 ± 0,29	1,41 ± 0,30	<0,001	<0,001
ApoB (g/l)	1,11 ± 0,25	1,20 ± 0,31	1,28 ± 0,34	<0,001	<0,001	1,11 ± 0,25	1,26 ± 0,33	1,27 ± 0,34	<0,001	0,032
Lp(a) (mg/l)	20,0 ± 26,0	21,0 ± 29,0	30,0 ± 38,0	<0,001	0,003	20,0 ± 26,0	26,0 ± 35,0	29,3 ± 36,0	<0,001	0,004

Die dargestellten Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung oder % der Gruppe. **-KHK⁽¹⁾**: gesunde Kontrollprobanden ohne Koronarangiographie; **-KHK⁽²⁾**: Probanden mit Koronarangiographie und Nullgefäßkrankung (Ohne Gefäßkrankung oder mit einer Stenose unter 50%); **+KHK**: Patienten mit Gefäßkrankung; **-MI⁽¹⁾**: Kontrollprobanden ohne Koronarangiographie; **-MI⁽²⁾**: Patienten mit Koronarangiographie und ohne Myokardinfarkt; **+MI**: Patienten mit Myokardinfarkt; **2 p⁽¹⁾**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert p beim Vergleich von KHK/MI-Patienten mit Kontrollgruppe "-KHK⁽¹⁾" und "-MI⁽¹⁾"; **2 p⁽²⁾**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert p beim Vergleich von Patienten mit durchgeführter Koronarangiographie.

Abkürzungen: **n**: Anzahl der Probanden; **Alter (Jahre)**: Lebensalter in Jahren **BMI**: Body-mass-index; **Pack Years**: Nikotinabusus in Pack years (1Pack year entspricht einem Nikotinabusus von 1Päckchen pro Tag über ein Jahr); **% Diabetes**: Anzahl der Probanden mit Diabetes mellitus in %; **% Hypertonie**: Anzahl der Probanden mit arterieller Hypertonie in %; **Apo AI**: Apolipoprotein AI; **Apo B**: Apolipoprotein B; **Lp(a)**: Lipoprotein (a)

Tabelle 9: Etablierte Risikofaktoren in den verschiedenen Kollektiven der KHK-Patienten

Risikofaktor	Grad der Koronaren Herzerkrankung						2 p ⁽¹⁾	2 p ⁽²⁾
	Ohne KHK ⁽¹⁾ (n = 510)	0-GE ⁽²⁾ (n = 560)	1-GE ⁽²⁾ (n = 485)	2-GE ⁽²⁾ (n = 520)	3-GE ⁽²⁾ (n = 827)			
Alter (Jahre)	55,2 ± 10,2	58,3 ± 11,0	61,1 ± 9,6	62,6 ± 9,6	63,9 ± 8,6	<0,001	<0,001	
BMI (kg/m ²)	26,3 ± 3,3	27,1 ± 3,6	27,1 ± 3,5	26,8 ± 3,6	26,9 ± 3,1	0,155	0,036	
Pack Years	16,1 ± 28,0	19,5 ± 24,2	25,9 ± 28,6	22,9 ± 26,5	22,8 ± 25,4	<0,001	0,004	
% Diabetes	7	12	14	23	24	<0,001	<0,001	
% Hypertonus	15	55	63	66	66	<0,001	0,01	
ApoAI (g/l)	1,47 ± 0,25	1,46 ± 0,30	1,42 ± 0,28	1,43 ± 0,29	1,40 ± 0,34	<0,001	<0,001	
ApoB (g/l)	1,11 ± 0,25	1,20 ± 0,31	1,23 ± 0,32	1,287 ± 0,34	1,31 ± 0,33	<0,001	<0,001	
Lp(a) (mg/dl)	19,6 ± 25,6	21,2 ± 29,1	27,8 ± 34,9	30,2 ± 38,0	30,2 ± 38,1	0,005	<0,001	

Die dargestellten Werte sind Mittelwerte ± Standardabweichung oder % der Gruppe. ⁽¹⁾ Gesunde Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie, ⁽²⁾ Patienten ohne Gefäßerkrankung oder mit einer Stenose unter 50% (**0-GE**); Eingefäßerkrankung (**1-GE**); Zweigefäßerkrankung (**2-GE**); Dreigefäßerkrankung (**3-GE**); **2 p**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert p beim Vergleich von KHK-Patienten mit Koronarangiographie und der Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie **2p⁽¹⁾**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert p beim Vergleich von KHK -Patienten mit Kontrollgruppe "-KHK⁽¹⁾"; **2 p⁽²⁾**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert p beim Vergleich von Patienten mit durchgeführter Koronarangiographie.

Abkürzungen: **n**: Anzahl der Probanden; **Alter (Jahre)**: Lebensalter in Jahren; **BMI**: Body-mass-index; **Pack Years**: Nikotinabusus in Pack years (1Pack year entspricht einem Nikotinabusus von 1Päckchen pro Tag über ein Jahr); **% Diabetes**: Anzahl der Probanden mit Diabetes mellitus in %; **% Hypertonie**: Anzahl der Probanden mit arterieller Hypertonie in %; **Apo AI**: Apolipoprotein AI; **Apo B**: Apolipoprotein B; **Lp(a)**: Lipoprotein (a)

3.3 Ergebnisse der Polymerasekettenreaktion

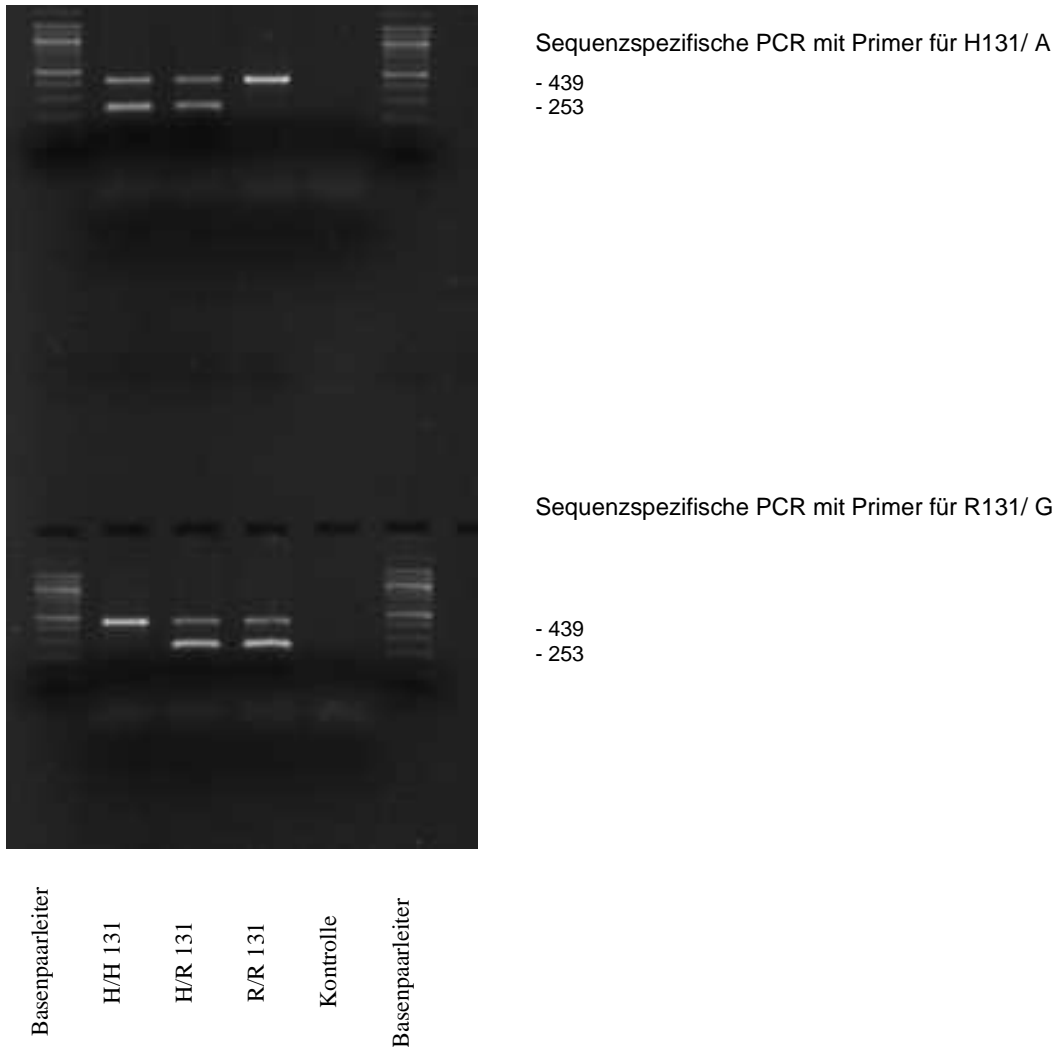


Abbildung 14: Beispiel für das Ergebnis der Polymerasekettenreaktion (PCR)

Beschriftung: Waagrecht: Proben in den einzelnen Slots: 1) und 5) Basenpaarleiter 2) Probe mit dem Genotyp HH¹³¹ 3) Probe mit dem Genotyp HR¹³¹ 4) Probe mit dem Genotyp RR¹³¹ 5) Negativkontrolle (Reagenzien ohne DNA)

Senkrecht: (Oben) Lauf nach Durchführung der sequenzspezifischen PCR mit dem Primer für H¹³¹, Beschriftung der Basenpaargröße von der Amplifikationskontrolle bei 439 Basenpaaren, spezifisches Amplifikat bei 253 Basenpaaren (Unten) Lauf nach Durchführung der sequenzspezifischen PCR mit dem Primer für R¹³¹, Beschriftung der Basenpaargröße von der Amplifikationskontrolle bei 439 Basenpaaren, spezifisches Amplifikat bei 253 Basenpaaren

Bei dem HR¹³¹ - Polymorphismus am FcγRezeptor IIa waren drei unterschiedliche Genotypen möglich. Es handelte sich um die beiden homozygoten und die heterozygote Form des Polymorphismus. Im Einzelnen waren dies die HH¹³¹, die RR¹³¹ und die RH¹³¹ Formen. Der Nachweis wurde mittels einer sequenzspezifischen PCR und anschliessender Auftrennung der Amplifikate mittels Agaroseelektrophorese erbracht. Beim Nachweis eines Polymorphismus mittels einer sequenzspezifischen PCR ist nur die vorhandene Sequenz nachzuweisen. Da ein negatives Testergebnis sowohl ein Testversager, als auch ein Nachweis der Abwesenheit des Genes beinhalten konnte, war eine Amplifikationskontrolle nötig. In diesem Fall wurde dazu HGH1/2 (Human growth hormone) verwendet. Bei dieser PCR war bei Vorhandensein von DNA und unter optimalen Nachweisbedingungen unabhängig vom Genotyp eine Kontrollbande im Agarosegel abzulesen. Bei der verwendeten Kontrolle mit HGH1/2 war diese bei 439 Basenpaaren darzustellen.

Die Basenpaarlänge für FcγRIIa HR¹³¹ lag bei 253 Basenpaaren.

Um die Größe des zu analysierenden Amplifikates abzuschätzen, wurde bei jedem Agaroselauf eine Basenpaarleiter aufgetragen. Die Basenpaarleiter enthielt Amplifikate unterschiedlicher Grösse und Menge. In der verwendeten Zusammensetzung hatte die Basenpaarleiter Amplifikate von 100 Basenpaaren. Die Basenpaare von 500 und 1000 Basenpaaren traten durch eine höhere Konzentration in der Gelelektrophorese besonders deutlich hervor (Abbildung 14; Reihe 1).

Beim Nachweis des Genotyps HH¹³¹ (Abbildung Reihe) wurde nur in der sequenzspezifischen PCR eine Bande bei 253 dargestellt. In beiden PCR ist die Kontrollbande in korrekter Weise zu sehen (Abbildung 14; Reihe 2).

Der Nachweis des heterozygoten Genotyps HR¹³¹ zeigte sowohl in der sequenzspezifischen PCR für H¹³¹ als auch in der sequenzspezifischen PCR für R¹³¹ eine Bande. Beide Gene wurden somit nachgewiesen. Zusätzlich waren die Kontrollbanden in beiden PCR vorhanden.

Beim Nachweis des Genotyps RR¹³¹ wurde die spezifische Bande wie bei dem Genotyp HH¹³¹ nur in einer PCR, bei korrektem Vorhandensein der Kontrollen

nachgewiesen. In diesem Fall wurde jedoch nur in der sequenzspezifischen PCR für R¹³¹ die spezifische Bande dargestellt.

Um Verunreinigungen der Reagenzien auszuschließen, wurde bei jeder Reaktion eine Kontrolle ohne DNA mitgeführt. Diese Kontrolle zeigte kein Amplifikat.

3.4 Ergebnis der Sequenzierung

Die Sequenzierung der Proben von den drei unterschiedlichen Genotypen des FcγRIIa HR¹³¹ – Polymorphismus zeigten dieselben Genotypen wie bei der PCR – Methode (Ergebnisse nicht dargestellt).

3.5 Genotypverteilung in der Studienpopulation

Es konnten 2934 der insgesamt 3077 Patientenproben eindeutig genotypisiert werden. Die nicht eindeutig typisierbaren 143 Proben entsprachen einer Ausfallquote von 4,6%. Die Ausfallquote war bei der Kontroll- und der Krankengruppe gleich (Ergebnisse nicht dargestellt). Die generell geforderte maximale Ausfallquote von 5% wurde somit nicht überschritten. Von den erfolgreich untersuchten 2934 Proben, waren 831 oder 28,3% homozygot A (HH¹³¹), 1509 oder 51,4% heterozygot (HR¹³¹) und 594 oder 20,2% hatten den Genotyp GG (RR¹³¹) (siehe Abbildung 15).

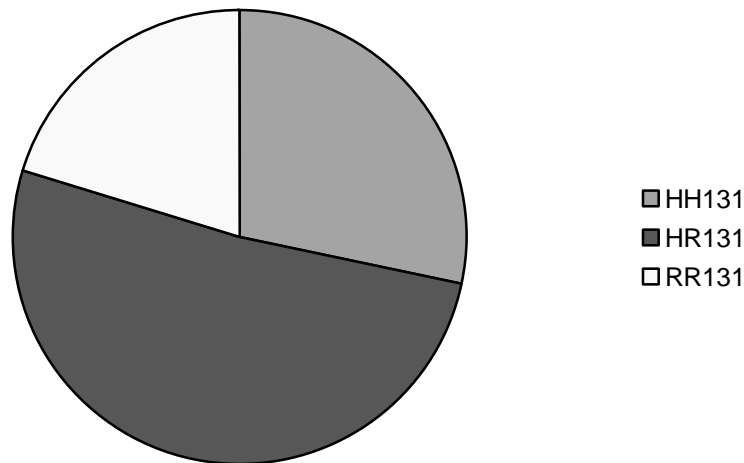


Abbildung 15: Häufigkeit der Genotypen in der Gesamtpopulation

Häufigkeit der Genotypen: **(1)HH¹³¹**: 831 Probanden (28,3%); **(2)HR¹³¹**: 1509 Probanden (51,4%); **(3)RR¹³¹**: 594 Probanden (20,2%)

Die relative Häufigkeit des A-Allels lag bei 53,9% (95% Konfidenzintervall von 52,7 - 55,2 %) und die des G-Allels bei 46,1% (95% Konfidenzintervall von 44,8 – 47,3%) (siehe Abbildung 16).

Die Allel- und Genverteilungen sämtlicher Populationen (Gesamtpopulation, Niedrigrisikogruppen, Hochrisikogruppen, Herzgesunde, Patienten mit koronarer Herzkrankheit, Patienten mit Myokardinfarkt) zeigten keine Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Gesamtpopulation: $p=0,172$; Genotyp- und Allelverteilung nicht dargestellt; Untergruppen: siehe Tabelle 11, Tabelle 13, Tabelle 15, Tabelle 16). Bei 33 der 2934 Probanden fehlten entweder klinische oder klinisch-chemische Daten, so daß die Studie eine Population von 2901 Probanden umfasste.

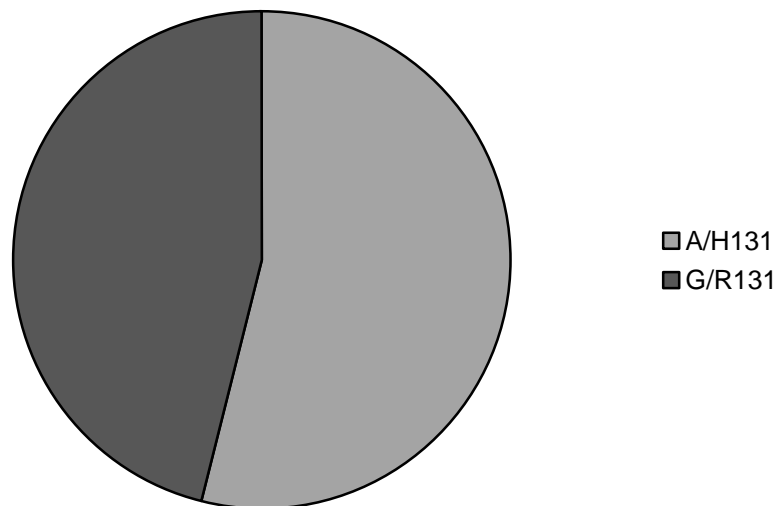


Abbildung 16: Allelverteilung in der Gesamtpopulation

Häufigkeit der Allele: (1)A/H¹³¹: 53,9% (2)G/R¹³¹: 46,1%

3.5.1 Koronare Risikofaktoren in Abhängigkeit vom FcγRezeptor IIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus

Es wurden die koronaren Risikofaktoren in Abhängigkeit vom FcγRIIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus untersucht. Die untersuchten Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung waren in allen drei verschiedenen Genotypen annähernd gleich. Ein signifikanter, genotypabhängiger Unterschied der koronaren Risikofaktoren wurde somit nicht festgestellt (Tabelle 10). Gleichartige Ergebnisse wurden für sämtliche untersuchten Untergruppen beobachtet (Ergebnisse nicht dargestellt).

Tabelle 10: Verteilung der Genotypen bei etablierten Risikofaktoren

	FcγRIIa-Polymorphismus			2 p
	RR¹³¹ (n=818)	RH¹³¹ (n=1492)	HH¹³¹ (n=591)	
Alter (Jahre)	60,3 ± 10,0	60,5 ± 10,4	61,0 ± 10,3	0,476
Cholesterin (mg/dl)	208 ± 41	210 ± 43	208 ± 43	0,627
Triglyceride (mg/dl)	147 ± 85	150 ± 89	151 ± 89	0,657
ApoAI (g/l)	1,45 ± 0,29	1,43 ± 0,30	1,42 ± 0,27	0,148
ApoB (g/l)	1,23 ± 0,31	1,24 ± 0,34	1,23 ± 0,32	0,671
Lp(a) (mg/dl)	26 ± 33	26 ± 35	26 ± 33	0,869
Glucose (mg/dl)	110 ± 46	110 ± 43	112 ± 52	0,705
Diabetes (%)	18	16	17	0,588
Hypertonie (%)	54	53	56	0,578
BMI (kg/m ²)	27,0 ± 3,4	26,8 ± 3,5	26,8 ± 3,3	0,219
Nikotinabusus (PY)	20 ± 25	22 ± 26	23 ± 30	0,11

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; **RH¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **BMI**: Body-mass-index; **Apo AI**: Apolipoprotein AI; **Apo B**: Apolipoprotein B; **Lp(a)**: Lipoprotein (a); **PY**: Pack Years: 1 Packung Zigaretten pro Tag über ein Jahr; **2 p**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert

3.5.2 Beziehung zwischen dem FcγRezeptor IIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus und dem Risiko der koronaren Herzerkrankung

In der Gesamtpopulation wurde die Genverteilung des FcγRIIa HR¹³¹-Polymorphismus zwischen den Herzgesunden und den KHK-Kranken untersucht. Die Tabelle 11 veranschaulicht, daß keine Unterschiede bezüglich der drei Genotypen zwischen Gesunden und Erkrankten auftraten.

Tabelle 11: Vergleich der Häufigkeiten der Genotypen und der Allele des gesunden Kontrollkollektives mit denen der Koronarkranken

	[n]	FcγRIIa-Polymorphismus			H¹³¹ (95%CI)	R¹³¹ (95%CI)	Abw. v. HWG 2p
		HH¹³¹	HR¹³¹	RR¹³¹			
- KHK	510	155	251	104	0,55 (0,51-0,58)	0,45 (0,41-0,48)	0,737
+KHK	1831	497	964	370	0,54 (0,53-0,55)	0,46 (0,45-0,47)	0,101

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; **H**: FcγRIIa H¹³¹; **R**: FcγRIIa R¹³¹; 95%CI: 95% Konfidenzintervall; **-KHK**: Gesunde Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie, **+KHK**: Patienten mit koronarangiographisch nachgewiesener KHK; **Abw. v. HWG**: Abweichung vom Hardy – Weinberg – Gleichgewicht; **2p**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert

In Abbildung 17 wird die erwartete Anzahl der Genotypen der nachgewiesenen Anzahl in den beiden gebildeten Hauptgruppen der Gesunden und der Koronarkranken gegenübergestellt.

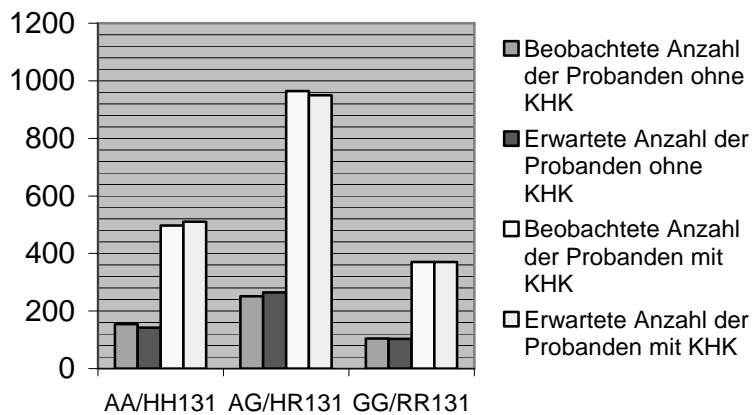


Abbildung 17: Gegenüberstellung von erwarteten und nachgewiesener Genotyphäufigkeit in Abhängigkeit vom Risiko der koronaren Herzerkrankung

Gegenüberstellung von der erwarteten Anzahl und der nachgewiesenen Anzahl der Probanden in den Gruppen der Gesunden und Koronarkranken X-Achse: Darstellung der drei möglichen Genotypen Y-Achse: Anzahl der Probanden

Zusätzlich zu den bereits vorgestellten Ergebnissen wurde eine potentielle Assoziation zwischen dem FcγRIIIa HR¹³¹ - Polymorphismus und dem KHK-Risiko in Hoch- und in Niedrigrisikogruppen untersucht. Die Mittelwerte und die Mediane der koronaren Risikofaktoren (Alter, Apo AI, Apo B, Apo AI/B Ratio, Lp(a), Fibrinogen und Nikotinabusus) wurden für die Unterteilung der kontinuierlichen Variablen in Niedrig- und Hochrisikountergruppen verwendet. Bluthochdruck und Diabetes mellitus wurden als dichotome Variablen ohne weitere Subklassifizierung erfasst. Diese Gruppen wurden über die Abwesenheit bzw. das Vorhandensein der Risikofaktoren definiert. Nahezu in allen Niedrig- und Hochrisikogruppen wurde eine gleiche Verteilung der Genotypen bzw. Allele bei Gesunden und Erkrankten beobachtet.

Lediglich in zwei Subpopulationen wurden signifikante Unterschiede bezüglich der Allelverteilung zwischen der Kontrollpopulation der Herzgesunden und KHK-Kranken gefunden. Bei älteren Probanden (≥ 62 Jahre) trat in wenigen Niedrigrisikogruppen das G-Allel (FcγRIIIa R¹³¹) im KHK-Kollektiv signifikant

häufiger als in der Gruppe der Herzgesunden auf. So wiesen ältere KHK-Patienten (≥ 62 Jahre) bei niedrigem Apolipoprotein B Wert ($< 1,25$ g/l) und niedrigem Lipoprotein(a) Spiegel ($< 27,3$ mg/dl) einen signifikant höheren Anteil des G-Allels auf ($p= 0,02$; siehe Tabelle 12). Bei zusätzlicher Abwesenheit von Diabetes mellitus in dieser Population zeigte sich ebenfalls eine signifikante Allelverschiebung ($p= 0,03$) zugunsten des G-Allels ($n= 286$; siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Assoziationen zwischen dem G-Allel des Fc γ RIIa HR¹³¹ - Polymorphismus und dem KHK-Risiko in Niedrigrisikogruppen

FcγRIIa-Polymorphismus						
Anwesenheit des G-Allels (R¹³¹)						
		nein		ja		2p
	[n]	erwartete Anzahl	Anzahl	erwartete Anzahl	Anzahl	
Subpopulation 1	381					0,0236
Kontrolle	61	16,2	24	44,8	37	
KHK-Patienten	320	84,8	77	235,2	243	
Subpopulation 2	286					0,0258
Kontrolle	52	13,1	20	38,9	32	
KHK-Patienten	234	58,9	52	175,1	182	

Abkürzungen: **Subpopulation 1:** Patienten mit Lebensalter ≥ 62 Jahre; Apolipoprotein B $< 1,25$ g/l; Lipoprotein (a) $< 27,3$ mg/dl; **Subpopulation 2:** Patienten mit Lebensalter ≥ 62 Jahre; Apolipoprotein B $< 1,25$ g/l; Lipoprotein (a) $< 27,3$ mg/dl; ohne Diabetes mellitus; n: Fallzahl; **2p:** Signifikanzniveau

3.5.2.1 Beziehung zwischen dem Fc γ Rezeptor IIa HR¹³¹ - Polymorphismus und dem Schweregrad der koronaren Herzkrankheit (klinische Einteilung)

Die Gesamtpopulation der Gesunden und Koronarkranken wurde nach der klinisch üblichen Definition unterteilt. Unabhängig vom Erbgang zeigte der Fc γ RIIa HR¹³¹ - Polymorphismus keine Assoziation zum Schweregrad der koronaren Herzerkrankung, welcher durch die Anzahl der erkrankten Gefäße definiert war (0- bis 3-Gefäßerkrankung: Tabelle 13).

Tabelle 13: Genotypverteilung in Abhängigkeit vom Schweregrad der koronaren Herzkrankheit

	[n]	FcγRIIa-Polymorphismus			H (95%CI)	R (95%CI)	Abw. v. HWG 2p
		HH ¹³¹	HR ¹³¹	RR ¹³¹			
- KHK	510	155	251	104	0,55 (0,51-0,58)	0,45 (0,41-0,48)	0,737
0-GE	560	166	277	117	0,54 (0,51-0,57)	0,46 (0,43-0,48)	0,996
1-GE	485	138	252	94	0,55 (0,52-0,58)	0,46 (0,43-0,48)	0,524
2-GE	520	135	285	100	0,53 (0,51-0,56)	0,47 (0,44-0,50)	0,353
3-GE	827	224	427	176	0,53 (0,51-0,55)	0,47 (0,45-0,50)	0,581

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; **H**: FcγRIIa H¹³¹; **R**: FcγRIIa R¹³¹; 95%CI: 95% Konfidenzintervall; Gesunde Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie (-KHK), Patienten ohne Gefäßerkrankung oder mit einer Stenose unter 50% (**0-GE**); Eingefäßerkrankung (**1-GE**); Zweigefäßerkrankung (**2-GE**); Dreigefäßerkrankung (**3-GE**); **Abw. v. HWG**: Abweichung von Hardy – Weinberg – Gleichgewicht; **2p**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert

In Abbildung 18 wird die erwartete Anzahl der Genotypen der nachgewiesenen Anzahl in den gebildeten Hauptgruppen der Gesunden und der Koronarkranken mit den unterschiedlichen Schweregraden der koronaren Herzkrankheit gegenübergestellt.

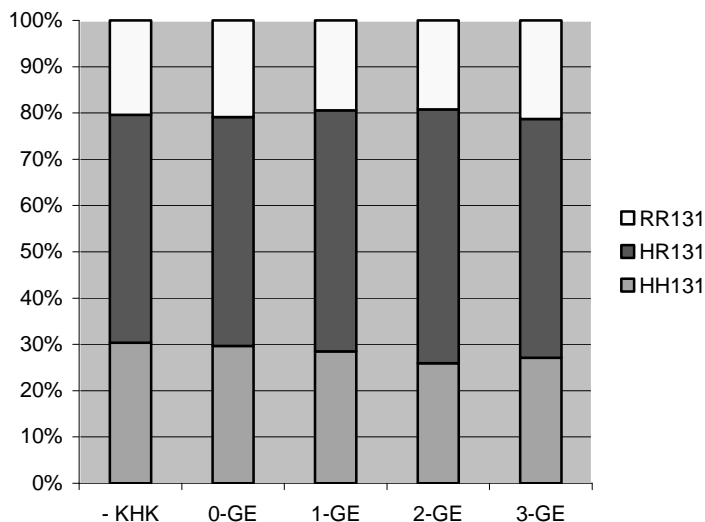


Abbildung 18: Genotypverteilung in Abhängigkeit vom Schweregrad der koronaren Herzkrankung

Abkürzungen: **HH131**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR131**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR131**: FcγRIIa RR¹³¹; Gesunde Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie (-KHK), Patienten ohne Gefäßerkrankung oder mit einer Stenose unter 50% (0-GE); 1-Gefäßerkrankung (1-GE); 2-Gefäßerkrankung (2-GE); 3-Gefäßerkrankung (3-GE);

Auch in den Hoch- und Niedrigrisikogruppen wurden keine Assoziationen zwischen den Gen- und Allelverteilungen des FcγRIIa – HR¹³¹ Polymorphismus

und dem Schweregrad der koronaren Herzerkrankung beobachtet (Ergebnisse nicht dargestellt).

3.5.2.2 Beziehung zwischen dem Fc γ Rezeptor IIa HR¹³¹ - Polymorphismus und dem Schweregrad der koronaren Herzkrankheit (Gensini Score)

Ebenso wie bei der klinischen Einteilung der Patienten in 0- bis 3-Gefäßerkrankte wurde auch nach Einteilung des KHK-Schweregrades entsprechend dem Gensini Score keine Assoziation zwischen dem Fc γ RIIa HR¹³¹ - Polymorphismus und dem Ausmaß der koronaren Herzerkrankung identifiziert (siehe Tabelle 14, Abbildung 19).

Tabelle 14: Gensini Score in Abhängigkeit vom Genotyp

Gensini Score	Fc γ RIIa-Polymorphismus			Gesamt (n=2391)
	HH ¹³¹ (n=663)	HR ¹³¹ (n=1241)	RR ¹³¹ (n=487)	
Mittelwert	47,0	49,0	48,0	48,2
Standardabweichung	44,9	45,6	45,5	45,5
Standardfehler	1,75	1,29	2,09	0,93

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; HH¹³¹: Fc γ RIIa HH¹³¹; HR¹³¹: Fc γ RIIa HR¹³¹; RR¹³¹: Fc γ RIIa RR¹³¹;

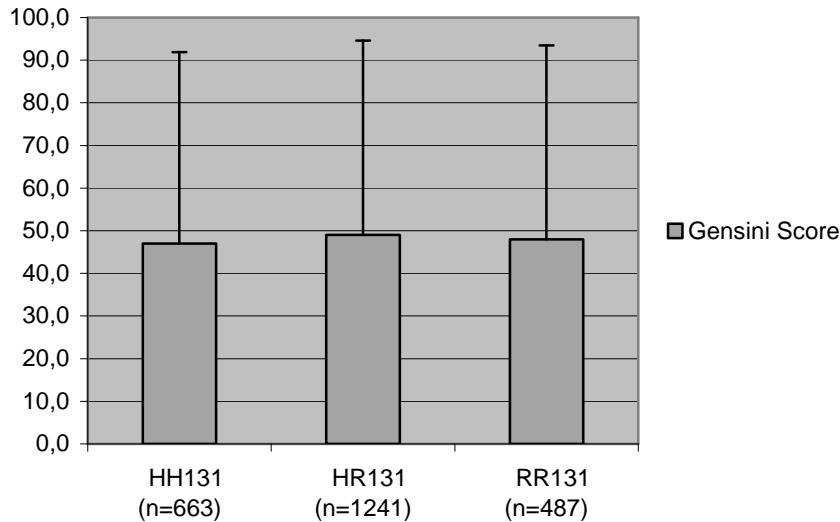


Abbildung 19: Darstellung des durchschnittlichen Gensini Scores in der Population in Abhängigkeit vom Genotyp

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; Box: Mittelwert; Whisker: Standardabweichung vom Mittelwert

3.5.3 Beziehung zwischen dem FcγRezeptor IIa HR¹³¹ - Polymorphismus und dem Myokardinfarkttrisiko

In der Gesamtpopulation wurde die Genverteilung des FcγRIIa HR¹³¹ - Polymorphismus zwischen den Herzgesunden und den Myokardinfarktpatienten untersucht. Bei den Myokardinfarktpatienten handelte es sich ausschließlich um Patienten, die den Myokardinfarkt überlebt hatten. Beim Vergleich von Herzgesunden und Myokardinfarktpatienten wurden keine unterschiedlichen Allel- und Genverteilungen beobachtet (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Vergleich der Genotypen des gesunden Kontrollkollektives mit den Genotypen der Myokardinfarktpatienten

	FcγRIIa-Polymorphismus						
	[n]	HH ¹³¹	HR ¹³¹	RR ¹³¹	H (95%CI)	R (95%CI)	Abw. v. HWG 2p
- MI	510	155	251	104	0,55 (0,51-0,58)	0,45 (0,41-0,48)	0,737
+MI	1122	306	578	238	0,53 (0,51-0,55)	0,47 (0,45-0,49)	0,521

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; **H**: FcγRIIa H¹³¹; **R**: FcγRIIa R¹³¹; **95%CI**: 95% Konfidenzintervall; **-MI**: Gesunde Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie; **+MI**: Patienten mit koronarangiographisch nachgewiesenem Myokardinfarkt; **Abw. v. HWG**: Abweichung von Hardy – Weinberg – Gleichgewicht; **2p**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert

Wurde die Analyse auf jene Probanden beschränkt, die sich einer Koronarangiographie unterzogen hatten, so zeigten sich gleiche Verteilungen der Allele und Genotypen des FcγRIIa HR¹³¹ – Polymorphismus, wenn Probanden ohne Myokardinfarkt mit Patienten verglichen wurden, die mindestens einen Myokardinfarkt überlebt hatten (siehe Tabelle 16).

Tabelle 16: Vergleich der Genotypen der Kontrollkollektive mit den Genotypen der Myokardinfarktpatienten

	FcγRIIa-Polymorphismus						
	[n]	HH ¹³¹	HR ¹³¹	RR ¹³¹	H (95%CI)	R (95%CI)	Abw. v. HWG 2p
- MI ⁽¹⁾	510	155	251	104	0,55 (0,51-0,58)	0,45 (0,41-0,48)	0,737
- MI ⁽²⁾	1269	357	663	240	0,54 (0,52-0,56)	0,46 (0,44-0,48)	0,807
+ MI	1122	306	578	238	0,53 (0,51-0,55)	0,47 (0,45-0,49)	0,521

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; **H**: FcγRIIa H¹³¹; **R**: FcγRIIa R¹³¹; **95%CI**: 95% Konfidenzintervall; **-MI**: Gesunde Kontrollgruppe ohne Koronarangiographie; **-MI⁽¹⁾**: Kontrollprobanden ohne Koronarangiographie; **-MI⁽²⁾**: Patienten mit Koronarangiographie und ohne Myokardinfarkt; **+MI**: Patienten mit koronarangiographisch nachgewiesenem Myokardinfarkt; **Abw. v. HWG**: Abweichung von Hardy – Weinberg – Gleichgewicht; **2p**: zweiseitiger Wahrscheinlichkeitswert

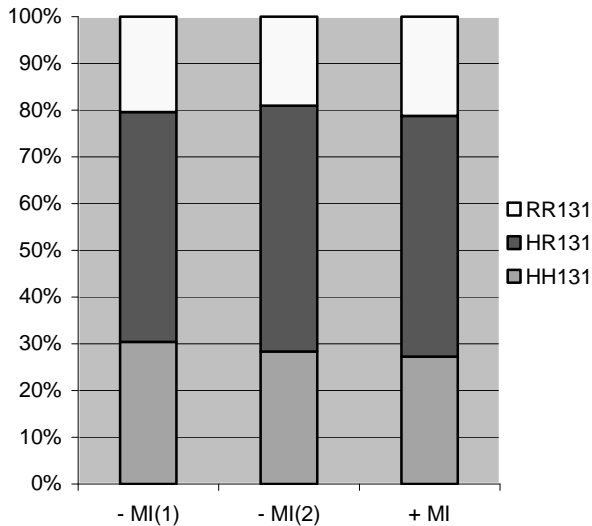


Abbildung 20: Genotypverteilung in der Population in Abhängigkeit vom Myokardinfarkttrisiko

Abkürzungen: **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹; **-MI⁽¹⁾**: Kontrollprobanden ohne Koronarangiographie; **-MI⁽²⁾**: Patienten mit Koronarangiographie und ohne Myokardinfarkt; **+MI**: Patienten mit Myokardinfarkt

In Abbildung 20 wird die erwartete Anzahl der Genotypen der nachgewiesenen Anzahl in den Hauptgruppen der Gesunden und der Myokardinfarktpatienten gegenübergestellt. Es konnten keine Unterschiede in der Genverteilung festgestellt werden. Da möglicherweise genotypabhängige Unterschiede in bezug auf das Alter beim ersten Myokardinfarkt bestanden, wurden die drei Genotypen miteinander verglichen. Es zeigte sich, daß alle drei Genotypen mit nahezu identischem Alter den ersten Myokardinfarkt erlitten (siehe Tabelle 17).

Tabelle 17: Alter der Patienten beim ersten Myokardinfarkt

Alter in Jahren	FcγRIIa-Polymorphismus			Gesamt (n=1042)
	HH ¹³¹ (n=288)	HR ¹³¹ (n=537)	RR ¹³¹ (n=217)	
Mittelwert	56,5	56,6	56,5	56,6
Standardabweichung	9,8	9,9	10,8	10
Standardfehler	0,6	0,4	0,7	0,3

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; **HH¹³¹**: FcγRIIa HH¹³¹; **HR¹³¹**: FcγRIIa HR¹³¹; **RR¹³¹**: FcγRIIa RR¹³¹;

Auch eine Untersuchung des zeitlichen Abstandes zwischen dem ersten Myokardinfarkt und der erneuten Aufnahme in die Klinik wegen kardialer Probleme, der als Maß für die Schnelligkeit der Progredienz gewertet wurde, zeigte keine Unterschiede zwischen den Genotypen (siehe Tabelle 18). Die Progredienz der Erkrankung scheint somit vom Genotyp unabhängig zu sein.

Tabelle 18: Zeitlicher Abstand zwischen erstem Myokardinfarkt und Wiedereintritt in die Klinik in Jahren

Zeitraum in Jahren	FcγRIIa-Polymorphismus			Gesamt (n=1042)
	HH ¹³¹ (n=288)	HR ¹³¹ (n=537)	RR ¹³¹ (n=217)	
Mittelwert	5,5	5,7	5,62	5,6
Standardabweichung	6,4	6,7	7	6,7
Standardfehler	0,4	0,3	0,5	0,2

Abkürzungen: [n]: Anzahl der Patienten; HH¹³¹: FcγRIIa HH¹³¹; HR¹³¹: FcγRIIa HR¹³¹; RR¹³¹: FcγRIIa RR¹³¹;

Wie bei den Analysen des FcγRIIa HR¹³¹ - Polymorphismus zwischen Herzgesunden und KHK-Patienten zeigten sich in Niedrigrisikogruppen älterer Probanden signifikante Unterschiede in der Genverteilung. In wenigen Niedrigrisikogruppen trat das G-Allel (FcγRIIaR¹³¹) signifikant häufiger bei Patienten mit Myokardinfarkt auf. Im einzelnen handelte es sich um ältere Patienten (≥ 60 Jahre) ohne Diabetes mellitus, mit einem niedrigen Apolipoprotein B Spiegel (< 1,23 g/l) und einem niedrigen Lipoprotein(a) Wert (< 26,2 mg/dl), bei denen in der Gruppe der Myokardinfarktpatienten signifikant häufiger G-Allelträger gefunden wurden (p= 0,04; n= 214; siehe Tabelle 19). Ebenfalls signifikante Unterschiede mit einer Überrepräsentation des G-Allels in der Gruppe der Myokardinfarktpatienten wurden bei Vergleichen in Niedrigrisikopopulationen älterer Probanden (≥ 60 Jahre) gefunden, die nicht rauchten und keinen Diabetes mellitus aufwiesen (p= 0,01; n= 332; siehe Tabelle 19). Gleichartige Beobachtungen wurden bei älteren Nichtraucher (≥ 60 Jahre) gemacht, die nicht an Diabetes mellitus erkrankt waren und deren Lp(a) Plasmaspiegel unter 26,2 mg/dl lagen (p= 0,01, n= 332; siehe Tabelle 19), gemacht.

Tabelle 19: Assoziationen zwischen dem G-Allel des FcγRIIIa HR¹³¹ – Polymorphismus und dem Myokardinfarktrisiko in Niedrigrisikogruppen

FcγRIIIa-Polymorphismus						
Anwesenheit des G-Allels (R¹³¹)						
		nein		ja		
	[n]	erwartete Anzahl	Anzahl	erwartete Anzahl	Anzahl	2p
Subpopulation 1	214					0,0398
Kontrolle	60	15,4	22	44,6	38	
MI-Patienten	154	39,6	33	114,4	121	
Subpopulation 2	332					0,0131
Kontrolle	84	21,0	31	63,0	53	
MI-Patienten	248	62,0	52	186,0	196	
Subpopulation 3	332					0,0131
Kontrolle	84	21,0	52	63,0	53	
KHK-Patienten	248	62,0	52	175,1	182	

Abkürzungen: MI: Myokardinfarkt; **Subpopulation 1:** Patienten mit Lebensalter ≥ 60 Jahre; Apolipoprotein B $< 1,23$ g/l; Lipoprotein (a) $< 26,2$ mg/dl; ohne Diabetes mellitus; **Subpopulation 2:** Patienten mit Lebensalter ≥ 60 Jahre; ohne Diabetes mellitus; ohne Nikotinabusus; **Subpopulation 3:** Patienten mit Lebensalter ≥ 60 Jahre; ohne Diabetes mellitus; ohne Nikotinabusus; Lipoprotein (a) $< 26,2$ mg/dl; **2p:** Signifikanzniveau

4 Diskussion

Entgegen den Erwartungen konnten die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie die wichtige Rolle des Rezeptors bei der Atheroskleroseentstehung nicht stützen. Die Verteilung der FcγRIIa-Genotypen ergab in der Gesamtpopulation in bezug auf das KHK - Risiko und dem KHK - Schweregrad keine signifikanten Unterschiede. Auch die Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und Studienkollektiv zeigten in bezug auf das Myokardinfarktrisiko keinen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und dem klinischen Ereignis. Lediglich in wenigen Untergruppen konnte ein Zusammenhang zwischen den Erkrankungen und dem FcγRIIa R¹³¹ - Allel festgestellt werden. Bei den Untergruppen handelte es sich um Niedrigrisikogruppen älterer Patienten. Deren Risikoprofil war durch höheres Alter, Abwesenheit von Diabetes, sowie erniedrigten Werten von Lp(a) und/oder Apo B charakterisiert. Bei Patienten mit diesem Risikoprofil wirkte sich das Vorhandensein des FcγRIIaR¹³¹ –Gens signifikant ungünstiger auf das KHK- und das Herzinfarkt-Risiko aus. Diese Subpopulationen von FcγRIIa R¹³¹ –Genträger unterliegen einem erhöhten KHK- und Myokardinfarktrisiko. Bezüglich der Gesamtpopulation konnte der Genpolymorphismus nicht als unabhängiger Risikoindikator der KHK und des Myokardinfarktes nachgewiesen werden. Die Bedeutung in der vorliegenden Untersuchung blieb somit reduziert auf wenige Subpopulationen von älteren Probanden mit günstigem KHK-Risikoprofil in bezug auf den Diabetes mellitus und den Fettstoffwechsel.

Verfälschungen der Ergebnisse könnten durch mehrere unterschiedliche Faktoren ausgelöst worden sein. Zum einen könnten die Genotypen durch Fehler bei der Typisierung verschoben worden sein. Zum spezifischen Nachweis des FcγRIIa-Polymorphismus diente eine modifizierte PCR – SSP Technik (Sequenzspezische Polymerasekettenreaktion) nach B.Flesch et al. [41]. Die Methode ermöglicht einen spezifischen und schnellen Nachweis der FcγRIIa – Genotypen. Im Gegensatz zu anderen bisher veröffentlichten Methoden basiert diese Methode auf einer einstufigen PCR-Reaktion. Andere PCR-SSP-Techniken benötigen dagegen eine zweistufige PCR-Reaktion, in der das primäre PCR-Produkt in einer zweiten PCR-Reaktion reamplifiziert werden

mußte („nested – PCR“) [24; 85], um die Spezifität zu erhöhen. Darüberhinaus wurde die Spezifität unserer Methode validiert, indem die Typisierung von sequenzierter Standard-DNA mit bekanntem FcγRIIa – Polymorphismus (homozygot HH¹³¹ oder RR¹³¹) als Kontrolle stets mitgeführt wurde [24]. Die Ausfallquote der PCR-SSP lag sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei dem Patientenkollektiv unter der allgemein akzeptierten Grenze von 5% (vergleichbar). Verfälschungen durch Fehltypisierung erscheinen somit unwahrscheinlich.

Darüber hinaus könnte es aufgrund von Fehlern bei der Erstellung der Studienpopulation zu Genfrequenzverschiebungen gekommen sein. Die Tatsache, daß die Genotypverteilungen in der Gesamtpopulation und in den Untergruppen stets im Einklang mit dem Hardy – Weinberg - Gleichgewicht standen, sprechen gegen diese Vermutung. Zudem ist das untersuchte Kollektiv mit 2901 Probanden eines der größeren Kollektive, die auf genetische Varianten untersucht wurden. Die Wahrscheinlichkeit eines statistischen Fehlers erster oder zweiter Ordnung ist damit bei dem untersuchten Kollektiv kleiner als bei anderen Kollektiven. Die meisten Untersuchungen zum FcγRIIa HR¹³¹ - Polymorphismus sind sehr klein und arbeiten zum Teil mit weniger als 50 Probanden [20; 85; 92; 97]. Bei kleinen Kollektiven haben zufällige Fehler einen stärkeren Einfluß auf das Ergebnis und können dadurch zu falschen Schlussfolgerungen führen.

Die Validität des Studienkollektives konnte mit Hilfe verschiedener Parameter bewiesen werden. In bezug auf die Altersabhängigkeit der KHK und des Myokardinfarktes wurden repräsentative Daten erhoben (Abschnitt 3.2.1.1). Der Schweregrad der KHK stieg mit dem Alter der Patienten. Dies ist durch die Tatsache zu erklären, daß Atherosklerose eine fortschreitende Systemerkrankung ist. Beim Überleben eines Akutgeschehens nimmt der pathologische Mechanismus weiter zu und greift auf andere Gefäßabschnitte über. Zusätzlich zeigte sich im Studienkollektiv ein signifikanter Zusammenhang zwischen KHK-Schweregrad und Myokardinfarkt (Abschnitt 3.2.1.2). Die Infarktrate war umso höher, je ausgeprägter die KHK war (Abbildung 9). Zusätzlich wurde gezeigt, daß sowohl der Gensini Score als auch die konventionelle Einteilung auf die Population anwendbar waren und eine

signifikante Korrelation aufwiesen (Abbildung 10 bis Abbildung 13). Ebenfalls wichtig für die Validität des Kollektives war, daß die etablierten Risikofaktoren innerhalb der Population einen signifikanten Einfluß auf die Erkrankung hatten. Dies ist in den untersuchten Gruppen der KHK- und Herzinfarktpatienten der Fall (3.2.1.4).

Kritisch anzumerken ist jedoch, daß sich die Alterstruktur von Kontroll- und Studienkollektiv unterschied. Der Mittelwert des Alters in Jahren war bei der Kontrollgruppe mit 55,2 niedriger als in der Gesamtpopulation mit 60,6 (siehe Abschnitt 3.2.1.1). Eine Einflussnahme des Alters auf das Ergebnis ist somit nicht sicher auszuschließen.

Für die Detektion der Erkrankungen wurde der Fragebogen nach Rose verwendet [99] (siehe 6.3.1). Dieser Fragebogen ist eine international anerkannte und oft verwendete Methode zur Identifikation einer klinisch manifesten koronaren Herzkrankheit, eines stattgefundenen Myokardinfarktes und einer arteriellen Verschlusskrankheit [30]. Er ist ein Mittel zur Objektivierung der Diagnose, der eine hohe Spezifität (68%) und gute Sensitivität (66%) aufweist [99].

Verschiebungen der Studienergebnisse könnten, wie auch bei der Studie von Mollaki et al. [82] dadurch hervorgerufen worden sein, daß ausschließlich Myokardinfarktpatienten in die Studienpopulation einbezogen wurden, die den Myokardinfarkt überlebt hatten. Patienten mit einem letalen Ausgang des Infarktgeschehens wurden nicht in die Studienpopulation aufgenommen. Bei Einbeziehung dieser Patienten hätte man alle in den Studienzeitraum am Herzinfarkt verstorbenen Patienten in die Studie einbeziehen müssen. Bei hospitalisierten Patienten mit letalem Ausgang des Infarktgeschehens wäre nur durch die Zustimmung der Angehörigen eine Probenentnahme möglich gewesen. Eine Zustimmung wäre jedoch nur in den wenigsten Fällen zu erlangen gewesen. In jedem Fall sind die Patienten, die nicht mehr hospitalisiert wurden, nicht in das Kollektiv eingegangen. Nur bei einem repräsentativen Verhältnis zwischen überlebten und letal verlaufenen Myokardinfarkten kann man Verschiebungen sicher ausschließen. Um eine zusätzliche Verzerrung des Kollektives durch ein falsches Verhältnis zwischen überlebten und letalen

Infarkten zu vermeiden, wurde auf die Einbeziehung der Patienten mit einem letalen Myokardinfarkt verzichtet.

Eine weitere Einschränkung des Studiendesigns könnte durch den Studienaufbau entstanden sein, der eine retrospektive und keine prospektive Untersuchung beinhaltet. Im Vergleich zur Studie von Mollaki et al. [82] zeigen sich jedoch die gleichen Einschränkungen. Eine Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Atherosklerose und dem FcγRezeptors IIa HR¹³¹ – Polymorphismus erscheint somit in einer Studie mit prospektiven Design und in anderen Populationen als sinnvoll. Zusätzlich zum prospektiven Design sollten weitere Studien funktionelle Tests enthalten. Die in mehreren Publikationen beschriebenen niedrigeren IgG₂ Spiegel bei Individuen mit dem FcγRIIa HH¹³¹ Genotyp werden auf eine vermutete erhöhte Immunkomplexclearance zurückgeführt [87]. Da diese Vermutung in verschiedenen Publikationen [24] als Schlüssel zur Pathogenese der Thrombose angenommen wird, könnte die Immunkomplexclearance mittels markierter Antikörper bei allen Genotypen gemessen werden. Zusätzlich wäre die Erforschung der Rolle des FcγRIIa in der Atherosklerose mit Hilfe von knock out-Tiermodellen des FcγRIIa möglich. Der Vergleich von Mutanten zum Wildtyp könnte Hinweise auf die Rolle des FcγRIIa in der Pathogenese geben.

4.1 Bedeutung des FcγRezeptors IIa HR¹³¹ – Genpolymorphismus für die Atherosklerose

Eine Studie, die einen protektiven Faktor des FcγRezeptors IIa H¹³¹-Allels bei der peripheren Atherosklerose zeigt, wurde 2004 von van der Meer et al. veröffentlicht [129]. Im Vergleich zu homozygoten FcγRezeptor IIa RR¹³¹ - Trägern hatten Probanden mit einem oder zwei FcγRezeptors IIa H¹³¹ - Allelen signifikant weniger periphere Atherosklerose. Dieser Effekt war unabhängig von den traditionellen Risikofaktoren der Atherosklerose.

4.1.1 Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus für die koronare Herzkrankheit und den Myokardinfarkt

Bis zum jetzigen Zeitpunkt (Juli 2005) liegt ausser der Publikation, die auf Ergebnissen dieser Arbeit beruht [45], lediglich eine weitere publizierte Studie zur potentiellen Assoziationen des Fc γ Rezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus mit der koronaren Herzkrankheit oder dem Myokardinfarkt vor [82]. Bei dieser Studie wurden lediglich Myokardinfarktpatienten untersucht, die diesen überlebt hatten. Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Fc γ Rezeptors IIa HR¹³¹ – Genpolymorphismus und dem Auftreten eines Myokardinfarktes gefunden werden. Etliche Studien beschäftigten sich jedoch mit der Bedeutung des Fc γ RIIa in bezug auf atherosklerotische Veränderungen [22; 90; 94; 131] und dessen Mitwirkung im Rahmen thromboembolischer Prozesse [86; 100] (siehe Abschnitt 4.3.2.).

Ebenso wie die Fc γ RIIa Expression auf Monozyten [90] stieg die Expression des Rezeptors in atherosklerotischen Plaques in Korrelation zur Atherosklerose [94]. Die Expression in den atherosklerotischen Plaques steigt zunehmend mit einer bestehenden Chlamydieninfektion [131], die weiterhin als potentielle Ursache der Atherosklerose diskutiert wird [4; 32; 138]

Zusätzlich zeigte sich eine Vermehrung von Fc γ RIIa auf Thrombozyten bei diabeteskranken Koronarpatienten und die erhöhte Aggregationsfähigkeit in Abhängigkeit von der Anzahl des Rezeptors [100]. Die Aktivierung der Thrombozyten durch Fc γ RIIa Vermittlung erfolgte nicht nur durch Immunkomplexe, sondern konnte auch durch Thrombin allein induziert werden [86]. Zur Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa HR¹³¹ – Polymorphismus im Rahmen von verschiedenen Erkrankungen wie Infektionen [18]; autoimmunologischen Erkrankungen [107] und der Heparin induzierten Thrombozytopenie (HIT) [14; 24; 33] wurden mehrere Publikationen veröffentlicht. Diese zeigten eine wichtige klinische Relevanz des Polymorphismus bei den Erkrankungen (siehe Abschnitt 4.4.2).

Die Erkenntnisse zur Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa für die Atherosklerose sowie die klinische Relevanz des Fc γ RIIa – Polymorphismus und die Bedeutung des Fc γ RIIa – Polymorphismus im Rahmen anderer Erkrankungen, legten die

Vermutung nahe, daß eine Beziehung zwischen dem Fc γ RIIa – Polymorphismus und der Atherosklerose bestehen könnte. Erklärungsmodelle für die Korrelation des Fc γ RIIa – Polymorphismus mit den untersuchten Erkrankungen könnten auch auf einen möglichen Zusammenhang mit der Atherosklerose übertragen werden. Die beschriebene verminderte Immunkomplexclearance des Fc γ RIIa R¹³¹ Genotyps (siehe 4.4.2), könnte ähnlich wie bei der HIT zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der Thrombozytenaggregation durch Fc γ RIIa [24] und somit zu einer erhöhten Neigung zur Atherothrombose führen.

Zusätzlich dazu ergab sich bei der unterschiedlichen Bindungsfähigkeit der verschiedenen Genotypen für CRP und dessen Bedeutung in der Atherosklerose weitere Einflußmöglichkeiten des Fc γ RIIa – Polymorphismus [98; 101] in der Atheroskleroseentstehung (siehe auch 4.3.2 und 4.4.1). Es zeigte sich insbesondere die Bedeutung von CRP im Rahmen der Plaquestabilisation, die über Fc γ RIIa vermittelt wird [139]. Da die CRP-Bindung genotypabhängig unterschiedlich ist [119], könnte der Polymorphismus auch so einen Einfluß auf die Progredienz der koronaren Herzkrankheit nehmen. Studien zu diesem möglichen Zusammenhang liegen zur Zeit nicht vor (Juli 2005).

4.2 Klinische Bedeutung der Fc γ - Rezeptoren

Fc γ - Rezeptoren sind Rezeptoren für den konstanten Fc-Teil von Gammaimmunglobulinen [42]. Es sind drei verschiedene Untergruppen bekannt: Fc γ - Rezeptor I (Fc γ RI), Fc γ - Rezeptor II (Fc γ RII) und Fc γ - Rezeptor III (Fc γ RIII). Fc γ RI bindet monomeres Immunglobulin G, Fc γ RII und Fc γ RIII können nur mit Immunkomplexen reagieren [126]. Alle Interaktionen eines Antigen-Antikörperkomplexes mit der zellulären Abwehr entstehen durch die Bindung des Komplexes an Fc - Rezeptoren [96].

Interaktionen zwischen Antigen-Antikörperkomplexen und der zellulären Immunabwehr verursachen verschiedene Arten von Immunantworten [96]. Unter anderem kommt es durch die Stimulation von Effektorzellfunktionen zu

Mastzelldegeneration, Phagozytose, Lymphozytenproliferation und Antikörpersekretion [42; 96; 126].

Es gibt mehrere Möglichkeiten, wie Fc - Rezeptoren am Prozess der Atheroskleroseentstehung beteiligt sein können [90]. Während der ablaufenden Immunreaktion binden ebenfalls zirkulierende Immunkomplexe an die Fc - Rezeptoren. Dadurch kann die Produktion von proteolytischen Enzymen und anderen proteolytischen Substanzen verstärkt werden [42; 102]. Zusätzlich können die Rezeptoren durch die Bindung an oxidierte Low-density-Immunkomplexe sowie C-reaktives Protein (CRP) in den inflammatorischen Prozeß eingreifen [10; 83; 119]. Es gibt viele Hinweise darauf, daß besonders die Fc γ - Rezeptor vermittelte Immunclearance eine Rolle in der Atheroskleroseentstehung spielt [90]. Genauere Untersuchungen zu der Rolle der Fc - Rezeptoren in der Atherosklerose wurden vor allem in bezug auf die Rolle des Fc γ RII veröffentlicht [22; 90; 94].

4.3 Klinische Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa

4.3.1 Allgemeine klinische Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa

Unterschiede des Fc γ RII im Vergleich mit anderen Fc γ Rezeptoren zeigen sich in vielerlei Hinsicht. Fc γ RII sind maßgebend an der Phagozytose beteiligt und können Signale zur Phagozytose von Leukozyten aussenden [1]. Zusätzlich sind sie ebenfalls in der Lage, in Abwesenheit anderer Fc γ Rezeptoren Immunkomplexe zu binden und die Phagozytose einzuleiten [61]. Zellen mit ausschließlich Fc γ RI scheinen dazu nicht in der Lage zu sein [61]. Die Bindung von Immunglobulin G₂ (IgG₂) Immunkomplexen ist ebenfalls ausschließlich über Fc γ RII möglich [40]. Des weiteren ist es durch Fc γ RII möglich, die Aktivierung anderer Fc γ R-Klassen zu modulieren. Dies ist unter anderem bei der Fc γ RIII-Funktion auf polymorphkernigen Neutrophilen der Fall [134]. Dabei stellt Fc γ RIIa den primären Signalvermittler für Fc γ RIIIb dar. Die Fc γ RIIIb-Signalvermittlung wird nach Koloalisation mit Fc γ RIIa-Molekülen innerhalb des hydrophoben Anteils der Membran von dem Effektor der Fc γ RIIa-Moleküle

vorgenommen, wodurch es zur Aktivierung des polymorphkernigen Neutrophilen kommt [27].

4.3.2 Klinische Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa im Rahmen der Atherosklerose

Verschiedene Arbeiten, die sich direkt mit der Rolle des Fc γ RIIa und Atherosklerose beschäftigen, wurden veröffentlicht [22; 90; 94; 131]. Pfeiffer et al. fanden bei Patienten mit schwerer Atherosklerose eine signifikant erniedrigte Fc γ RIIa-Expression auf peripheren Monozyten [90]. Zusätzlich ließ sich eine signifikante Korrelation zwischen HDL-Cholesterin Serumkonzentration und der Dichte der Fc γ RIIa - Rezeptoren auf peripheren Monozyten feststellen [90]. Daraufhin wurde vermutet, daß die Fc γ RIIa-Expression durch intrazelluläres Cholesterin oder über Signale der HDL - Rezeptoren reguliert wird. Genauere Erklärungsmodelle liegen noch nicht vor. Eine gleichzeitige Untersuchung der Fc γ RI-Expression auf peripheren Monozyten ergab zwischen Kranken- und Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede [90].

Die Publikation von Pfeiffer et al. wurde durch eine Arbeit von Ratcliffe et al. ergänzt, die sich mit der Detektion von Fc γ - Rezeptoren in atherosklerotischen Plaques beschäftigte [94]. Fc γ RIIa konnte in atherosklerotischen Plaques sowohl örtlich gehäuft, als auch diffus verteilt nachgewiesen werden. Das gehäufte Auftreten weist auf Fc γ RIIa positive Zellen, die diffuse Verteilung auf gelöste Rezeptoren hin [94].

Gesunde Endothelzellen sind keine Träger von Fc γ Rezeptoren IIa. Geschädigte oder infizierte Endothelzellen sind jedoch zur Expression des Rezeptors in der Lage [104]. Es konnte gezeigt werden, daß eine Chlamydieninfektion, vielfach im Rahmen der Atheroskleroseentstehung genannt, diese Expression triggern kann. Eine Induktion der Expression von anderen Fc γ Rezeptoren konnte nicht beobachtet werden [131].

Ein weiteres Augenmerk wurde auf die Bedeutung von Fc γ RIIa auf Thrombozyten gelegt [23; 26; 100]. Fc γ RIIa stellt auf Thrombozyten den einzigen Rezeptor für IgG dar [61]. Bereits 1987 wurde von Rosenfeld et al.

[100] eine variable Anzahl von Fc γ RIIa Molekülen auf Thrombozyten gefunden. Die Höhe der Expression korrelierte mit der Thrombozytenaggregation, die durch Immunkomplexe hervorgerufen wurde [100]. Eine signifikante Erhöhung der Expression von Fc γ RIIa zeigte sich auch bei Patienten mit thromboembolischen Prozessen [26].

Im Rahmen einer Plaquedestabilisation führt die kollagenvermittelte Thrombozytenaktivierung zu einem koronaren Thrombus [22]. In neueren Untersuchungen wurde neben der antikörperbasierten Aktivierung auch die Aktivierung durch Thrombin beschrieben [86]. Durch den gebildeten Thrombus kam es zur Ausprägung der für die Atherosklerose typischen klinischen Symptomatik. Studien haben die Rolle des Fc γ RIIa in diesem Prozeß bestätigt [22]. Eine signifikante Expressionserhöhung von Fc γ RIIa konnte bisher nur bei Koronarkranken mit Diabetes mellitus festgestellt werden [22]. Bei Diabetikern wurde zudem eine erhöhte Expression von Fc γ RIIa gefunden und dieses als Ursache für eine thrombozytäre Hypersensitivität gewertet [23].

Williams et al. [139] veröffentlichten eine Studie zur Bedeutung von CRP und Fc γ RII während der Plaquedestabilisation. CRP stimulierte die Matrixmetalloproteinase 1 (MMP1) über Fc γ RII und scheint somit die Plaquevulnerabilität zu fördern. Ob der Fc γ RIIa HR¹³¹ Polymorphismus und die beschriebenen verschiedenen Bindungskapazitäten für CRP [119] dabei eine Rolle spielen, wurde bisher noch nicht untersucht.

4.4 Klinische Bedeutung des Fc γ - Rezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus

4.4.1 Funktionelle Bedeutung des Fc γ Rezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus

Der Fc γ RIIa - Polymorphismus spielt bei verschiedene Funktionen des Rezeptors eine große Rolle. Die Bindung von IgG₂ Immunkomplexen ist ausschließlich über Fc γ RIIa möglich [40]. Individuen mit einem Fc γ RIIa HH¹³¹ Genotyp haben einen niedrigeren IgG₂ Spiegel im Serum, was auf einen

höheren Turnover der Immunkomplexe zurückgeführt wurde [87]. Es wurde ebenfalls gezeigt, daß Neutrophile mit dem Genotypen FcγRIIa HH¹³¹ durch IgG₂ opsonierte Bakterien deutlich besser phagozytieren als Neutrophile mit dem Genotypen FcγRIIa RR¹³¹. [106; 110]. Zusätzlich dazu zeigten sich ebenfalls verminderte Phagozytoseraten beim Genotypen FcγRIIa HR¹³¹ [109]. Ausschließlich Zellen mit dem homozygoten Genotyp HH¹³¹ sind zur IgG₂-Immunkomplexbindung in ausreichendem Maße befähigt [135].

Darüber hinaus ist die CRP - Bindung (c-reaktives Protein) vom Genotypen abhängig. FcγRIIa R¹³¹ ist der Hauptrezeptor für CRP. Die vermehrte Bindung von CRP hat ebenfalls negative Auswirkungen auf die Bindungsfähigkeit von Immunkomplexen. Unter inflammatorischen Bedingungen wird jedoch die CRP - Bindung sowohl der CRP- als auch des FcγRIIa R¹³¹ hochreguliert [119].

4.4.2 Klinische Bedeutung des FcγRezeptors IIa HR¹³¹ - Polymorphismus

Es wurden bereits mehrere Erkrankungen auf eine Korrelation mit dem FcγRIIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus untersucht [127; 128]. Im einzelnen wird die Assoziation zu infektiösen Erkrankungen, autoimmunologischen und thromboembolischen Erkrankungen näher beschrieben.

Infektiöse Erkrankungen:

Aufgrund der unterschiedlichen IgG₂-Bindungsfähigkeit wurde der Polymorphismus im Hinblick auf bakterielle Infektionen untersucht [128]. Bredius et. al. [18] zeigten eine höhere Anzahl überlebender Kinder mit dem Genotyp FcγRIIa RR¹³¹ nach fulminanter Meningokokkensepsis. Dieses Ergebnis wurde als Prävalenz für die Entwicklung einer Sepsis im Rahmen einer Meningokokkeninfektion bei FcγRIIa RR¹³¹ - Trägern gesehen. Zusätzlich zeigten andere Studien ebenfalls einen Vorteil des FcγRIIa HH¹³¹ bei der Bekämpfung von Infektionen [40].

Autoimmunologische Erkrankungen:

Bereits in den achtziger Jahren wurden Fc - Rezeptor Dysfunktionen im Rahmen von autoimmunologischen Erkrankungen beschrieben [57; 68; 72]. Als Prototyp der Autoimmunerkrankung mit zirkulierenden Immunglobulinen wird

der systemische Lupus erythematodes (SLE) bezeichnet [107]. Bei dieser Erkrankung zeigte sich der Genotyp FcγRIIa RR¹³¹ als Risikofaktor mit pathophysiologischer Bedeutung. Insbesondere bei der Entstehung der Lupus Nephritis scheint dieser eine Rolle zu spielen, da die Anzahl der Patienten mit dem Genotyp FcγRIIa RR¹³¹ in einer Studie von Duits et al. signifikant höher war [35]. Des Weiteren zeigte sich in einer folgenden Studie von Salmon et al. eine deutlich geringere Anzahl an Patienten, wenn der homozygote FcγRIIa HH¹³¹ – Genotyp vorlag [107]. Sowohl FcγRIIa RR¹³¹ als auch FcγRIIa HR¹³¹ scheinen eine schlechtere Immunkomplexclearance und damit ein höheres Risiko für Immunkomplexablagerungen zu haben [107]. Damit zeigte sich FcγRIIa HH¹³¹ als einzig protektiver Faktor für die Lupus Nephritis. Eine Metaanalyse mit Probanden europäischer Herkunft über die Assoziation zwischen SLE und den FcγRIIa-Varianten blieb jedoch ohne signifikantes Ergebnis [76], so daß der FcγRIIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus als genetischer Risikofaktor für den SLE ausgeschlossen wurde. Zusätzlich wurde eine Metaanalyse aller Studien, die sich mit SLE und Nephritis in Bezug auf den FcγRIIa-Genort beschäftigt haben, durchgeführt [76]. In diesen Studien, die der Metaanalyse zugrunde lagen, wurden zum Teil Assoziationen mit dem Genotyp FcγRIIa RR¹³¹ gefunden. Bei bestehender Erkrankung könnte somit der Schweregrad der klinischen Manifestation vom Genotyp abhängig sein [76]. Während in einer Studie von Taylor et al. [122] bei sichelkranken Menschen keine Assoziation zwischen cerebraler Ischämie durch thromboembolische Prozesse und dem FcγRIIa HR¹³¹ - Polymorphismus nachgewiesen werden konnte, zeigte sich in einer Studie von Schallmoser et al. [113] eine verminderte Anzahl von FcγRIIa RR¹³¹ Trägern bei Lupus anticoagulans Patienten mit einer thromboembolischen Komplikation.

Thromboembolische Erkrankungen:

Die Heparin induzierte Thrombozytopenie (HIT) ist durch eine FcγRIIa vermittelte Thrombozytenaggregation charakterisiert [93]. Eine Heparintherapie kann unter verschiedenen Umständen die Bildung von Antikörpern triggern, die gegen Heparin/Thrombozytenproteinkomplexe gerichtet sind. Diese Immunkomplexe können, vermittelt durch den FcγRIIa der Thrombozyten, eine

Thrombozytenaktivierung auslösen [2; 25; 69]. Bei den Untersuchungen zur HIT zeigten Studien mit höherer Fallzahl einen signifikanten Zusammenhang zwischen FcγRIIa R¹³¹ und der Erkrankung [14; 24; 33]. Allerdings gab es auch Studien mit geringen Fallzahlen, die keinen Zusammenhang erkennen ließen. In der von Lehrnbecher et al. [76] publizierten Metaanalyse zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang. Carlsson et al. [24], mit dem größten untersuchten Kollektiv konnte FcγRIIa HH¹³¹ als einen protektiven Faktor identifizieren. Es wurden die Genotypen von HIT-Patienten mit Patienten mit Thrombozytopenie und thromboembolischen Prozessen anderer Genese und gesunden Blutspendern verglichen. In den beiden Kontrollgruppen war keine unterschiedliche Genverteilung zu beobachten. Die Anzahl der HIT-Patienten mit einem homozygoten Genmuster wichen jedoch von den Kontrollkollektiven ab. Die homozygote Form FcγRIIa RR¹³¹ war überdurchschnittlich häufig, die homozygote Form FcγRIIa HH¹³¹ war überdurchschnittlich selten im Kollektiv der HIT-Patienten vertreten.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Vermutung geäußert, daß Patienten mit dem Genotyp FcγRIIa HH¹³¹ mit einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit an einer HIT erkrankten als FcγRIIa RR¹³¹ – Homozygote. Als Ursache für die geringere Erkrankungshäufigkeit wurde, wie bei der SLE, eine beschleunigte Immunkomplexclearance vermutet. Rezeptoren mit dem Genotyp FcγRIIa RR¹³¹ haben eine deutlich schlechtere Fähigkeit, Immunkomplexe zu binden. Aus diesem Grund wurde bei Trägern des Genotyps FcγRIIa RR¹³¹ vermutet, daß durch die verlangsamte Elimination der Immunkomplexe im Blut ein höheres Risiko für die Thrombozytenaktivierung bestand, die zu den gefürchteten Thrombosen bei einer HIT führte.

Eine Metaanalyse beider Studien, die sich mit der Idiopathisch Thrombozytopenischen Purpura (ITP) beschäftigen, zeigte keinen Zusammenhang zwischen der Erkrankung und dem FcγRIIa HR¹³¹ - Genpolymorphismus [140]. Eine der beiden Studien [140] zeigte jedoch einen signifikant höheren Anteil an FcγRezeptors Ila RR¹³¹ – Trägern in der Gruppe der ITP – Kranken und vermutete einen Zusammenhang zwischen der verminderten Clearancerate und der Krankheitsentstehung [76; 140].

5 Literatur

1. Anderson, C. L., L. Shen, D. M. Eicher, M. D. Wewers, and J. K. Gill. "Phagocytosis mediated by three distinct Fc gamma receptor classes on human leukocytes." J.Exp.Med. 171(1990): 1333-45.
2. Anderson, G. P. "Insights into heparin-induced thrombocytopenia." Br.J.Haematol. 80(1992): 504-08.
3. Bachelot-Loza, C., R. Saffroy, D. Lasne, G. Chatellier, M. Aiach, and F. Rendu. "Importance of the FcgammaRIIa-Arg/His-131 polymorphism in heparin-induced thrombocytopenia diagnosis." Thromb.Haemost. 79(1998): 523-28.
4. Bachmaier, K., N. Neu, L. M. de la Maza, S. Pal, A. Hessel, and J. M. Penninger. "Chlamydia infections and heart disease linked through antigenic mimicry." Science 283(1999): 1335-39.
5. Badimon, J. J., V. Fuster, and L. Badimon. "Role of high density lipoproteins in the regression of atherosclerosis." Circulation 86(1992): III86-III94.
6. Barclay, A. and M. Brown. The Leukocyte Antigen. 2 ed. 1997.
7. Bein, G., R. Glaser, and H. Kirchner. "Rapid HLA-DRB1 genotyping by nested PCR amplification." Tissue Antigens 39(1992): 68-73.

8. Bendeck, M. P., N. Zempo, A. W. Clowes, R. E. Galardy, and M. A. Reidy. "Smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase expression after arterial injury in the rat." Circ.Res. 75(1994): 539-45.
9. Berliner, J. A., M. Navab, A. M. Fogelman, J. S. Frank, L. L. Demer, P. A. Edwards, A. D. Watson, and A. J. Lusis. "Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics." Circulation 91(1995): 2488-96.
10. Bharadwaj, D., M. P. Stein, M. Volzer, C. Mold, and T. W. Du Clos. "The major receptor for C-reactive protein on leukocytes is fcgamma receptor II." J.Exp.Med. 190(1999): 585-90.
11. Blankenberg, S., L. Tiret, C. Bickel, A. Schlitt, W. Jungmair, S. Genth-Zotz, E. Lubos, C. Espinola-Klein, and H. J. Rupprecht. "[Genetic variation of the cholesterol ester transfer protein gene and the prevalence of coronary artery disease. The AtheroGene case control study]." Z.Kardiol. 93 Suppl 4(2004): IV16-IV23.
12. Bloemenkamp, D. G., W. P. Mali, F. L. Visseren, and Graaf Y. van der. "Meta-analysis of sero-epidemiologic studies of the relation between Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: does study design influence results?" Am.Heart J. 145(2003): 409-17.
13. Boren, J., K. Olin, I. Lee, A. Chait, T. N. Wight, and T. L. Innerarity. "Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction

- without affecting LDL receptor binding." J.Clin.Invest 101(1998): 2658-64.
14. Brandt, J. T., C. E. Isenhardt, J. M. Osborne, A. Ahmed, and C. L. Anderson. "On the role of platelet Fc gamma RIIa phenotype in heparin-induced thrombocytopenia." Thromb.Haemost. 74(1995): 1564-72.
 15. Brasen, J. H. and A. Niendorf. "[Atherosclerosis. Formal pathogenesis, classification and functional significance]." Pathologe 18(1997): 218-27.
 16. Braunwald, E. et al. Harrisons Principles of Internal Medicine . 2001.
 17. Bray, P. F. "Integrin polymorphisms as risk factors for thrombosis." Thromb.Haemost. 82(1999): 337-44.
 18. Bredius, R. G., B. H. Derkx, C. A. Fijen, T. P. de Wit, M. de Haas, R. S. Weening, J. G. van de Winkel, and T. A. Out. "Fc gamma receptor IIa (CD32) polymorphism in fulminant meningococcal septic shock in children." J.Infect.Dis. 170(1994): 848-53.
 19. Bult, H., A. G. Herman, and K. E. Matthys. "Antiatherosclerotic activity of drugs in relation to nitric oxide function." Eur.J.Pharmacol. 375(1999): 157-76.
 20. Burgess, J. K., R. Lindeman, C. N. Chesterman, and B. H. Chong. "Single amino acid mutation of Fc gamma receptor is associated with the development of heparin-induced thrombocytopenia." Br.J.Haematol. 91(1995): 761-66.

21. Callas, P. W., R. P. Tracy, E. G. Bovill, C. Cannon, B. Thompson, and K. G. Mann. "The Association of Anticoagulant Protein Concentrations with Acute Myocardial Infarction in the Thrombolysis in Myocardial Infarction Phase II (TIMI II) Trial." J.Thromb.Thrombolysis. 5(1998): 53-60.
22. Calverley, D. C., E. Brass, M. R. Hacker, D. D. Tsao-Wei, B. M. Espina, V. A. Pullarkat, H. N. Hodis, and S. Groshen. "Potential role of platelet FcγRIIA in collagen-mediated platelet activation associated with atherothrombosis." Atherosclerosis 164(2002): 261-67.
23. Calverley, D. C., M. R. Hacker, K. A. Loda, E. Brass, T. A. Buchanan, D. D. Tsao-Wei, and S. Groshen. "Increased platelet Fc receptor expression as a potential contributing cause of platelet hypersensitivity to collagen in diabetes mellitus." Br.J.Haematol 121(2003): 139-42.
24. Carlsson, L. E., S. Santoso, G. Baurichter, H. Kroll, S. Papenberg, P. Eichler, N. A. C. Westerdaal, V. Kiefel, J. G. J. van de Winkel, and A. Greinacher. "Heparin-induced thrombocytopenia: New insights into the impact of the Fc gamma RIIa-R-H131 polymorphism." Blood 92(1998): 1526-31.
25. Chong, B. H., I. Fawaz, C. N. Chesterman, and M. C. Berndt. "Heparin-induced thrombocytopenia: mechanism of interaction of the heparin-dependent antibody with platelets." Br.J.Haematol. 73(1989): 235-40.
26. Chong, B. H., R. L. Pilgrim, M. A. Cooley, and C. N. Chesterman. "Increased expression of platelet IgG Fc receptors in immune heparin-induced thrombocytopenia." Blood 81(1993): 988-93.

27. Chuang, F. Y., M. Sassaroli, and J. C. Unkeless. "Convergence of Fc gamma receptor IIA and Fc gamma receptor IIIB signaling pathways in human neutrophils." J.Immunol. 164(2000): 350-60.
28. Clark, M. R., S. B. Clarkson, P. A. Ory, N. Stollman, and I. M. Goldstein. "Molecular basis for a polymorphism involving Fc receptor II on human monocytes." J.Immunol. 143(1989): 1731-34.
29. Clauss and A. "Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens." Acta Haematol 17(1957): 237-46.
30. Cook, D. G., A. G. Shaper, and P. W. MacFarlane. "Using the WHO (Rose) angina questionnaire in cardiovascular epidemiology." Int.J.Epidemiol. 18(1989): 607-13.
31. Danesh, J., R. Collins, and R. Peto. "Chronic infections and coronary heart disease: is there a link?" Lancet 350(1997): 430-36.
32. Danesh, J., P. Whincup, M. Walker, L. Lennon, A. Thomson, P. Appleby, Y. Wong, M. Bernardes-Silva, and M. Ward. "Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis." BMJ 321(2000): 208-13.
33. Denomme, G. A., T. E. Warkentin, P. Horsewood, J. A. Sheppard, M. N. Warner, and J. G. Kelton. "Activation of platelets by sera containing IgG1 heparin-dependent antibodies: an explanation for the predominance of the Fc gammaRIIa "low responder" (his131) gene in patients with heparin-induced thrombocytopenia." J.Lab Clin.Med. 130(1997): 278-84.

34. Doggen, C. J., V. M. Cats, R. M. Bertina, and F. R. Rosendaal.
"Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors:
increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or
prothrombin 20210A." Circulation 97(1998): 1037-41.
35. Duits, A. J., H. Bootsma, R. H. Derksen, P. E. Spronk, L. Kater, C. G.
Kallenberg, P. J. Capel, N. A. Westerdal, G. T. Spierenburg, F. H.
Gmelig-Meyling, and . "Skewed distribution of IgG Fc receptor IIa (CD32)
polymorphism is associated with renal disease in systemic lupus
erythematosus patients." Arthritis Rheum. 38(1995): 1832-36.
36. Epstein, S. E., J. Zhu, M. S. Burnett, Y. F. Zhou, G. Vercellotti, and D.
Hajjar. "Infection and atherosclerosis: potential roles of pathogen burden
and molecular mimicry." Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol. 20(2000): 1417-
20.
37. Ernst, E. and K. L. Resch. "Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a
meta-analysis and review of the literature." Ann.Intern.Med. 118(1993):
956-63.
38. Fabris, F., G. Luzzatto, P. M. Stefani, B. Girolami, G. Cella, and A.
Girolami. "Heparin-induced thrombocytopenia." Haematologica 85(2000):
72-81.
39. Falk, E. "Why do plaques rupture?" Circulation 86(1992): III30-III42.
40. Fijen, C. A., R. G. Bredius, E. J. Kuijper, T. A. Out, M. de Haas, A. P. De
Wit, M. R. Daha, and J. G. De Winkel. "The role of Fc gamma receptor

- polymorphisms and C3 in the immune defence against *Neisseria meningitidis* in complement-deficient individuals." Clin.Exp.Immunol. 120(2000): 338-45.
41. Flesch, B. K., F. Bauer, and J. Neppert. "Rapid typing of the human Fc gamma receptor IIA polymorphism by polymerase chain reaction amplification with allele-specific primers." Transfusion 38(1998): 174-76.
 42. Flesch, B. K. and J. Neppert. "Functions of the Fc receptors for immunoglobulin G." J.Clin.Lab Anal. 14(2000): 141-56.
 43. Folsom, A. R., M. Szklo, J. Stevens, F. Liao, R. Smith, and J. H. Eckfeldt. "A prospective study of coronary heart disease in relation to fasting insulin, glucose, and diabetes. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study." Diabetes Care 20(1997): 935-42.
 44. Francis, S. E., N. J. Camp, R. M. Dewberry, J. Gunn, P. Syrris, N. D. Carter, S. Jeffery, J. C. Kaski, D. C. Cumberland, G. W. Duff, and D. C. Crossman. "Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease." Circulation 99(1999): 861-66.
 45. Gardemann, A., A. Horstmann, and S. Santoso. "Fc gamma RIIa-R131H polymorphism: its impact on coronary heart disease in a German cohort." Thromb.Haemost. 90(2003): 1218-20.
 46. Gardemann, A., D. Ohly, M. Fink, N. Katz, H. Tillmanns, F. W. Hehrlein, and W. Haberbosch. "Association of the insertion/deletion gene

- polymorphism of the apolipoprotein B signal peptide with myocardial infarction." Atherosclerosis 141(1998): 167-75.
47. Gardemann, A., M. Philipp, K. Hess, N. Katz, H. Tillmanns, and W. Haberbosch. "The paraoxonase Leu-Met54 and Gln-Arg191 gene polymorphisms are not associated with the risk of coronary heart disease." Atherosclerosis 152(2000): 421-31.
48. Garg, U. C. and A. Hassid. "Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells." J.Clin.Invest 83(1989): 1774-77.
49. Gensini, G. G. "A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease." Am.J.Cardiol. 51(1983): 606.
50. George, S. J. "Tissue inhibitors of metalloproteinases and metalloproteinases in atherosclerosis." Curr.Opin.Lipidol. 9(1998): 413-23.
51. Georges, J. L., V. Loukaci, O. Poirier, A. Evans, G. Luc, D. Arveiler, J. B. Ruidavets, F. Cambien, and L. Tiret. "Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde." J.Mol.Med. 79(2001): 300-05.
52. Gimbrone, M. A., Jr. "Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherosclerosis." Thromb.Haemost. 82(1999): 722-26.

53. Gonzalez, P., A. Diez-Juan, E. Coto, V. Alvarez, J. R. Reguero, A. Batalla, and V. Andres. "A single-nucleotide polymorphism in the human p27kip1 gene (-838C>A) affects basal promoter activity and the risk of myocardial infarction." BMC.Biol. 2(2004): 5.
54. Grundy, S. M., R. Pasternak, P. Greenland, Smith S Jr, and V. Fuster. "Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology." Circulation 100(1999): 1481-92.
55. Gudewicz, P. W., M. B. Frewin, L. A. Heinel, and F. L. Minnear. "Priming of human monocyte superoxide production and arachidonic acid metabolism by adherence to collagen- and basement membrane-coated surfaces." J.Leukoc.Biol. 55(1994): 423-29.
56. Haberbosch, W. and C. Jantos. "Chlamydia pneumoniae infection is not an independent risk factor for arterial disease." Herz 25(2000): 79-83.
57. Hamburger, M. I., T. J. Lawley, R. P. Kimberly, P. H. Plotz, and M. M. Frank. "A serial study of splenic reticuloendothelial system Fc receptor functional activity in systemic lupus erythematosus." Arthritis Rheum. 25(1982): 48-54.
58. Hansson, G. K., P. Libby, U. Schonbeck, and Z. Q. Yan. "Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis." Circ.Res. 91(2002): 281-91.

59. Harenberg, J., I. Jorg, and T. Fenyvesi. "Heparin-induced thrombocytopenia: pathophysiology and new treatment options." Pathophysiol.Haemost.Thromb. 32(2002): 289-94.
60. Herrmann, S. M., S. Ricard, V. Nicaud, C. Mallet, A. Evans, J. B. Ruidavets, D. Arveiler, G. Luc, and F. Cambien. "The P-selectin gene is highly polymorphic: reduced frequency of the Pro715 allele carriers in patients with myocardial infarction." Hum.Mol.Genet. 7(1998): 1277-84.
61. Indik, Z., C. Kelly, P. Chien, A. I. Levinson, and A. D. Schreiber. "Human Fc gamma RII, in the absence of other Fc gamma receptors, mediates a phagocytic signal." J.Clin.Invest 88(1991): 1766-71.
62. Indik, Z. K., J. G. Park, S. Hunter, and A. D. Schreiber. "The molecular dissection of Fc gamma receptor mediated phagocytosis." Blood 86(1995): 4389-99.
63. Innis, M. A. PCR Applications. 1999.
64. Janeway, C. and P. Travers. Immunologie. 2 ed. 1997.
65. Jantos, C. A., C. Krombach, F. N. Wuppermann, A. Gardemann, S. Bepler, H. Asslan, J. H. Hegemann, and W. Haberbosch. "Antibody response to the 60-kDa heat-shock protein of Chlamydia pneumoniae in patients with coronary artery disease." J.Infect.Dis. 181(2000): 1700-05.
66. Jonasson, L., J. Holm, O. Skalli, G. Bondjers, and G. K. Hansson. "Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle

- cells in the human atherosclerotic plaque." Arteriosclerosis 6(1986): 131-38.
67. Jousilahti, P., V. Salomaa, V. Rasi, E. Vahtera, and T. Palosuo. "The association of c-reactive protein, serum amyloid a and fibrinogen with prevalent coronary heart disease--baseline findings of the PAIS project." Atherosclerosis 156(2001): 451-56.
68. Kabbash, L., S. Brandwein, J. Esdaile, D. Danoff, A. Fuks, and J. Shuster. "Reticuloendothelial system Fc receptor function in systemic lupus erythematosus." J.Rheumatol. 9(1982): 374-79.
69. Kelton, J. G., J. W. Smith, T. E. Warkentin, C. P. Hayward, G. A. Denomme, and P. Horsewood. "Immunoglobulin G from patients with heparin-induced thrombocytopenia binds to a complex of heparin and platelet factor 4." Blood 83(1994): 3232-39.
70. Khairy, P., S. Rinfret, J. C. Tardif, R. Marchand, S. Shapiro, J. Brophy, and J. Dupuis. "Absence of association between infectious agents and endothelial function in healthy young men." Circulation 107(2003): 1966-71.
71. Kher, N. and J. D. Marsh. "Pathobiology of atherosclerosis--a brief review." Semin.Thromb.Hemost. 30(2004): 665-72.
72. Kimberly, R. P., T. M. Parris, R. D. Inman, and J. S. McDougal. "Dynamics of mononuclear phagocyte system Fc receptor function in

- systemic lupus erythematosus. Relation to disease activity and circulating immune complexes." Clin.Exp.Immunol. 51(1983): 261-68.
73. Kluck, P. M., J. Wiegant, R. P. Jansen, M. W. Bolk, A. K. Raap, R. Willemze, and J. E. Landegent. "The human interleukin-6 receptor alpha chain gene is localized on chromosome 1 band q21." Hum.Genet. 90(1993): 542-44.
74. Kubes, P., M. Suzuki, and D. N. Granger. "Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion." Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 88(1991): 4651-55.
75. Lefer, A. M. "Nitric oxide: nature's naturally occurring leukocyte inhibitor." Circulation 95(1997): 553-54.
76. Lehrnbecher, T., C. B. Foster, S. X. Zhu, S. F. Leitman, L. R. Goldin, K. Huppi, and S. J. Chanock. "Variant genotypes of the low-affinity Fc gamma receptors in two control populations and a review of low-affinity Fc gamma receptor polymorphisms in control and disease populations." Blood 94(1999): 4220-32.
77. Leinonen, M. and P. Saikku. "Infections and atherosclerosis." Scand.Cardiovasc.J. 34(2000): 12-20.
78. Lopez, A. D. and C. C. Murray. "The global burden of disease, 1990-2020." Nat.Med. 4(1998): 1241-43.
79. Lusa, A. J. "Atherosclerosis." Nature 407(2000): 233-41.

80. Mahony, J. B. and B. K. Coombes. "Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: does the evidence support a causal or contributory role?" FEMS Microbiol.Lett. 197(2001): 1-9.
81. Maseri, A. and V. Fuster. "Is there a vulnerable plaque?" Circulation 107(2003): 2068-71.
82. Mollaki, V., R. P. Steeds, N. J. Samani, K. S. Channer, and M. E. Daly. "The FcγRIIa His131Arg polymorphism and its association with myocardial infarction." J.Thromb.Haemost. 2(2004): 1014-15.
83. Morganelli, P. M., D. S. Groveman, and J. R. Pfeiffer. "Evidence that human Fc gamma receptor IIA (CD32) subtypes are not receptors for oxidized LDL." Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol. 17(1997): 3248-54.
84. Naghavi, M., P. Libby, E. Falk, S. W. Casscells, S. Litovsky, J. Rumberger, J. J. Badimon, C. Stefanadis, P. Moreno, G. Pasterkamp, Z. Fayad, P. H. Stone, S. Waxman, P. Raggi, M. Madjid, A. Zarrabi, A. Burke, C. Yuan, P. J. Fitzgerald, D. S. Siscovick, C. L. de Korte, M. Aikawa, K. E. Airaksinen, G. Assmann, C. R. Becker, J. H. Chesebro, A. Farb, Z. S. Galis, C. Jackson, I. K. Jang, W. Koenig, R. A. Lodder, K. March, J. Demirovic, M. Navab, S. G. Priori, M. D. Reikhter, R. Bahr, S. M. Grundy, R. Mehran, A. Colombo, E. Boerwinkle, C. Ballantyne, W. Insull, Jr., R. S. Schwartz, R. Vogel, P. W. Serruys, G. K. Hansson, D. P. Faxon, S. Kaul, H. Drexler, P. Greenland, J. E. Muller, R. Virmani, P. M. Ridker, D. P. Zipes, P. K. Shah, and J. T. Willerson. "From vulnerable

- plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II." Circulation 108(2003): 1772-78.
85. Osborne, J. M., G. W. Chacko, J. T. Brandt, and C. L. Anderson. "Ethnic variation in frequency of an allelic polymorphism of human Fc gamma RIIA determined with allele specific oligonucleotide probes." J.Immunol.Methods 173(1994): 207-17.
86. Pain, S., H. Falet, A. Saci, C. Bachelot-Loza, and F. Rendu. "Tyrosine phosphorylation and association of Fc gamma RII and p72(Syk) are not limited to the Fc gamma RII signalling pathway." Cell Signal. 12(2000): 165-71.
87. Parren, P. W., P. A. Warmerdam, L. C. Boeije, J. Arts, N. A. Westerdaal, A. Vlug, P. J. Capel, L. A. Aarden, and J. G. van de Winkel. "On the interaction of IgG subclasses with the low affinity Fc gamma RIIa (CD32) on human monocytes, neutrophils, and platelets. Analysis of a functional polymorphism to human IgG2." J.Clin.Invest 90(1992): 1537-46.
88. Parren, P. W., P. A. Warmerdam, L. C. Boeije, P. J. Capel, J. G. van de Winkel, and L. A. Aarden. "Characterization of IgG FcR-mediated proliferation of human T cells induced by mouse and human anti-CD3 monoclonal antibodies. Identification of a functional polymorphism to human IgG2 anti-CD3." J.Immunol. 148(1992): 695-701.
89. Peltz, G. A., H. O. Grundy, R. V. Lebo, H. Yssel, G. S. Barsh, and K. W. Moore. "Human Fc gamma RIII: cloning, expression, and identification of

the chromosomal locus of two Fc receptors for IgG."

Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 86(1989): 1013-17.

90. Pfeiffer, J. R., P. S. Howes, M. A. Waters, M. L. Hynes, P. P. Schnurr, E. Demidenko, F. R. Bech, and P. M. Morganelli. "Levels of expression of Fc gamma receptor IIA (CD32) are decreased on peripheral blood monocytes in patients with severe atherosclerosis." Atherosclerosis 155(2001): 211-18.
91. Qiu, W. Q., D. de Bruin, B. H. Brownstein, R. Pearse, and J. V. Ravetch. "Organization of the human and mouse low-affinity Fc gamma R genes: duplication and recombination." Science 248(1990): 732-35.
92. Raknes, G., G. O. Skeie, N. E. Gilhus, S. Aadland, and C. Vedeler. "Fc gamma RIIA and Fc gamma RIIIB polymorphisms in myasthenia gravis." J.Neuroimmunol. 81(1998): 173-76.
93. Rascu, A., R. Repp, N. A. Westerdal, J. R. Kalden, and J. G. van de Winkel. "Clinical relevance of Fc gamma receptor polymorphisms." Ann.N.Y.Acad.Sci. 815(1997): 282-95.
94. Ratcliffe, N. R., S. M. Kennedy, and P. M. Morganelli. "Immunocytochemical detection of Fc gamma receptors in human atherosclerotic lesions." Immunol.Lett. 77(2001): 169-74.
95. Rauch, U., J. I. Osende, V. Fuster, J. J. Badimon, Z. Fayad, and J. H. Chesebro. "Thrombus formation on atherosclerotic plaques:

- pathogenesis and clinical consequences." Ann.Intern.Med. 134(2001): 224-38.
96. Ravetch, J. V. and J. P. Kinet. "Fc receptors." Annu.Rev.Immunol. 9(1991): 457-92.
97. Reilly, M. P., S. M. Taylor, N. K. Hartman, G. M. Arepally, B. S. Sachais, D. B. Cines, M. Poncz, and S. E. McKenzie. "Heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis in a transgenic mouse model requires human platelet factor 4 and platelet activation through FcγRIIA." Blood 98(2001): 2442-47.
98. Ridker, P. M., M. Cushman, M. J. Stampfer, R. P. Tracy, and C. H. Hennekens. "Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease." Circulation 97(1998): 425-28.
99. Rose, G. A. "The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys." Bull WHO 27(1962): 645-58.
100. Rosenfeld, S. I., D. H. Ryan, R. J. Looney, C. L. Anderson, G. N. Abraham, and J. P. Leddy. "Human Fc gamma receptors: stable inter-donor variation in quantitative expression on platelets correlates with functional responses." J.Immunol. 138(1987): 2869-73.
101. Rosenson, R. S. and W. Koenig. "Utility of inflammatory markers in the management of coronary artery disease." Am.J.Cardiol. 92(2003): 10i-8i.
102. Ross, R. "Atherosclerosis is an inflammatory disease." Am.Heart J. 138(1999): S419-S420.

103. Rothenbacher, D., H. Brenner, A. Hoffmeister, T. Mertens, K. Persson, and W. Koenig. "Relationship between infectious burden, systemic inflammatory response, and risk of stable coronary artery disease: role of confounding and reference group." *Atherosclerosis* 170(2003): 339-45.
104. Ryan, U. S. "The endothelial surface and responses to injury." *Fed.Proc.* 45(1986): 101-08.
105. Saeland, E., A. van Royen, K. Hendriksen, H. Vile-Weekhout, G. T. Rijkers, L. A. Sanders, and J. G. van de Winkel. "Human C-reactive protein does not bind to Fc γ RIIa on phagocytic cells." *J.Clin.Invest* 107(2001): 641-43.
106. Salmon, J. E., J. C. Edberg, N. L. Brogle, and R. P. Kimberly. "Allelic polymorphisms of human Fc γ receptor IIA and Fc γ receptor IIIB. Independent mechanisms for differences in human phagocyte function." *J.Clin.Invest* 89(1992): 1274-81.
107. Salmon, J. E., S. Millard, L. A. Schachter, F. C. Arnett, E. M. Ginzler, M. F. Gourley, R. Ramsey-Goldman, M. G. Peterson, and R. P. Kimberly. "Fc γ RIIA alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African Americans." *J.Clin.Invest* 97(1996): 1348-54.
108. Salomaa, V., V. Stinson, J. D. Kark, A. R. Folsom, C. E. Davis, and K. K. Wu. "Association of fibrinolytic parameters with early atherosclerosis. The ARIC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study." *Circulation* 91(1995): 284-90.

109. Sanders, L. A., R. G. Feldman, M. M. Voorhorst-Ogink, M. de Haas, G. T. Rijkers, P. J. Capel, B. J. Zegers, and J. G. van de Winkel. "Human immunoglobulin G (IgG) Fc receptor IIA (CD32) polymorphism and IgG2-mediated bacterial phagocytosis by neutrophils." Infect.Immun. 63(1995): 73-81.
110. Sanders, L. A., J. G. van de Winkel, G. T. Rijkers, M. M. Voorhorst-Ogink, M. de Haas, P. J. Capel, and B. J. Zegers. "Fc gamma receptor Ila (CD32) heterogeneity in patients with recurrent bacterial respiratory tract infections." J.Infect.Dis. 170(1994): 854-61.
111. Sanger, F., S. Nicklen, and A. R. Coulson. "DNA sequencing with chain-terminating inhibitors." Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 74(1977): 5463-67.
112. Santoso, S., T. J. Kunicki, H. Kroll, W. Haberbosch, and A. Gardemann. "Association of the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction in younger patients." Blood 93(1999): 2449-53.
113. Schallmoser, K., C. Rosin, R. Knittelfelder, T. Sailer, S. Ulrich, C. Zoghiami, S. Lehr, I. Pabinger, and S. Panzer. "The Fc gammaRIIa polymorphism R/H131, autoantibodies against the platelet receptors GPIb alpha and Fc gammaRIIa and a risk for thromboembolism in lupus anticoagulant patients." Thromb.Haemost. 93(2005): 544-48.
114. Schnackenberg, L., B. K. Flesch, and J. Neppert. "Linkage disequilibria between Duffy blood groups, Fc gamma Ila and Fc gamma IIIb allotypes." Exp.Clin.Immunogenet. 14(1997): 235-42.

115. Scott, J. "Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease." Curr.Opin.Genet.Dev. 14(2004): 271-79.
116. Shampo, M. A. and R. A. Kyle. "Kary B. Mullis--Nobel Laureate for procedure to replicate DNA." Mayo Clin.Proc. 77(2002): 606.
117. Siscovick, D. S., S. M. Schwartz, L. Corey, J. T. Grayston, R. Ashley, S. P. Wang, B. M. Psaty, R. P. Tracy, L. H. Kuller, and R. A. Kronmal. "Chlamydia pneumoniae, herpes simplex virus type 1, and cytomegalovirus and incident myocardial infarction and coronary heart disease death in older adults : the Cardiovascular Health Study." Circulation 102(2000): 2335-40.
118. Sary, H. C. "Composition and classification of human atherosclerotic lesions." Virchows Arch.A Pathol.Anat.Histopathol. 421(1992): 277-90.
119. Stein, M. P., J. C. Edberg, R. P. Kimberly, E. K. Mangan, D. Bharadwaj, C. Mold, and T. W. Du Clos. "C-reactive protein binding to Fc gamma RIIa on human monocytes and neutrophils is allele-specific." J.Clin.Invest 105(2000): 369-76.
120. Streblov, D. N., S. L. Orloff, and J. A. Nelson. "Do pathogens accelerate atherosclerosis?" J.Nutr. 131(2001): 2798S-804S.
121. Tate, B. J., E. Witort, I. F. McKenzie, and P. M. Hogarth. "Expression of the high responder/non-responder human Fc gamma RII. Analysis by PCR and transfection into FcR-COS cells." Immunol.Cell Biol. 70 (Pt 2)(1992): 79-87.

122. Taylor, J. G., D. Tang, C. B. Foster, G. R. Serjeant, G. P. Rodgers, and S. J. Chanock. "Patterns of low-affinity immunoglobulin receptor polymorphisms in stroke and homozygous sickle cell disease." Am.J.Hematol. 69(2002): 109-14.
123. Thompson, S. G., J. Kienast, S. D. Pyke, F. Haverkate, and J. C. van de Loo. "Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group." N.Engl.J.Med. 332(1995): 635-41.
124. Valgimigli, M., E. Merli, P. Malagutti, O. Soukhomovskaia, G. Cicchitelli, G. Macri, and R. Ferrari. "Endothelial dysfunction in acute and chronic coronary syndromes: evidence for a pathogenetic role of oxidative stress." Arch.Biochem.Biophys. 420(2003): 255-61.
125. van de Winkel, J. G. and C. L. Anderson. "Biology of human immunoglobulin G Fc receptors." J.Leukoc.Biol. 49(1991): 511-24.
126. van de Winkel, J. G. and P. J. Capel. "Human IgG Fc receptor heterogeneity: molecular aspects and clinical implications." Immunol.Today 14(1993): 215-21.
127. van der, Pol W. and J. G. van de Winkel. "IgG receptor polymorphisms: risk factors for disease." Immunogenetics 48(1998): 222-32.

128. van Sorge, N. M., W. L. van der Pol, and J. G. van de Winkel. "FcγR polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy." Tissue Antigens 61(2003): 189-202.
129. van, der Meer, I, J. C. Witteman, A. Hofman, C. Kluft, and M. P. de Maat. "Genetic variation in Fcγ receptor IIa protects against advanced peripheral atherosclerosis. The Rotterdam Study." Thromb.Haemost. 92(2004): 1273-76.
130. Vercellotti, G. M. "Overview of infections and cardiovascular diseases." J.Allergy Clin.Immunol. 108(2001): S117-S120.
131. Vielma, S., G. Virella, A. Gorod, and M. Lopes-Virella. "Chlamydia pneumoniae infection of human aortic endothelial cells induces the expression of FC γ receptor II (FcγRII)." Clin.Immunol. 104(2002): 265-73.
132. Viles-Gonzalez, J. F., S. X. Anand, C. Valdiviezo, M. U. Zafar, R. Hutter, J. Sanz, T. Rius, M. Poon, V. Fuster, and J. J. Badimon. "Update in atherothrombotic disease." Mt.Sinai J.Med. 71(2004): 197-208.
133. Walsh, M. T., A. Divane, and A. S. Whitehead. "Fine mapping of the human pentraxin gene region on chromosome 1q23." Immunogenetics 44(1996): 62-69.
134. Warmerdam, P. A., P. W. Parren, A. Vlug, L. A. Aarden, J. G. van de Winkel, and P. J. Capel. "Polymorphism of the human Fc γ

- receptor II (CD32): molecular basis and functional aspects."
Immunobiology 185(1992): 175-82.
135. Warmerdam, P. A., J. G. van de Winkel, A. Vlug, N. A. Westerdaal, and P. J. Capel. "A single amino acid in the second Ig-like domain of the human Fc gamma receptor II is critical for human IgG2 binding."
J.Immunol. 147(1991): 1338-43.
136. Watson, A. D., J. A. Berliner, S. Y. Hama, B. N. La Du, K. F. Faull, A. M. Fogelman, and M. Navab. "Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein." J.Clin.Invest 96(1995): 2882-91.
137. Watson, M. L., S. F. Kingsmore, G. I. Johnston, M. H. Siegelman, M. M. Le Beau, R. S. Lemons, N. S. Bora, T. A. Howard, I. L. Weissman, R. P. McEver, and . "Genomic organization of the selectin family of leukocyte adhesion molecules on human and mouse chromosome 1." J.Exp.Med. 172(1990): 263-72.
138. Wierzbicki, W. B. and K. O. Hagmeyer. "Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae, and cytomegalovirus: chronic infections and coronary heart disease." Pharmacotherapy 20(2000): 52-63.
139. Williams, T. N., C. X. Zhang, B. A. Game, L. He, and Y. Huang. "C-reactive protein stimulates MMP-1 expression in U937 histiocytes through Fc[gamma]RII and extracellular signal-regulated kinase pathway:: an implication of CRP involvement in plaque destabilization." Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol. 24(2004): 61-66.

140. Williams, Y., S. Lynch, S. McCann, O. Smith, C. Feighery, and A. Whelan. "Correlation of platelet Fc gammaRIIA polymorphism in refractory idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura." Br.J.Haematol. 101(1998): 779-82.
141. Yao, S. K., J. C. Ober, A. Krishnaswami, J. J. Ferguson, H. V. Anderson, P. Golino, L. M. Buja, and J. T. Willerson. "Endogenous nitric oxide protects against platelet aggregation and cyclic flow variations in stenosed and endothelium-injured arteries." Circulation 86(1992): 1302-09.
142. Zhou, J., M. Chew, H. B. Ravn, and E. Falk. "Plaque pathology and coronary thrombosis in the pathogenesis of acute coronary syndromes." Scand.J.Clin.Lab Invest Suppl 230(1999): 3-11.

6 Anhang

6.1 Abbildungen

Abbildung 1: Form des Fc γ Rezeptors IIa (Abbildung aus [6])	17
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Polymorphismus am	19
Abbildung 3: Anzahl der Probanden in den jeweiligen Altersgruppen	41
Abbildung 4: Anzahl der Probanden der Kontrollgruppe in den jeweiligen Altersgruppen.....	42
Abbildung 5: Gegenüberstellung der Anzahl der Probanden in den verschiedenen Altersgruppen mit und ohne koronarer Herzkrankheit.....	43
Abbildung 6: Anzahl der Probanden in den verschiedenen Altersgruppen	44
Abbildung 7: Anzahl der Patienten in den verschiedenen Altersgruppen	45
Abbildung 8: Anzahl der Patienten mit/ohne Herzinfarkt bei Probanden in.....	46
Abbildung 9: Anzahl der Probanden mit/ohne Herzinfarkt in Abhängig-	47
Abbildung 10: Vergleich des mittleren Gensini Scores bei Patienten mit.....	48
Abbildung 11: Vergleich des mittleren Gensini Scores mit der Stadienein-	49
Abbildung 12: Vergleich des mittleren Gensini Scores bei Patienten ohne	50
Abbildung 13: Gegenüberstellung des Gensini Scores mit der Anzahl der.....	51
Abbildung 14: Beispiel für das Ergebnis der Polymerasekettenreaktion (PCR)	55
Abbildung 15: Häufigkeit der Genotypen in der Gesamtpopulation	58
Abbildung 16: Allelverteilung in der Gesamtpopulation.....	59
Abbildung 17: Gegenüberstellung von erwarteten und nachgewiesener Genotyphäufigkeit in Abhängigkeit vom Risiko der koronaren Herzerkrankung.....	61
Abbildung 18: Genotypverteilung in Abhängigkeit vom Schweregrad der koronaren Herzerkrankung	63
Abbildung 19: Darstellung des durchschnittlichen Gensini Scores in der Population in Abhängigkeit vom Genotyp	65
Abbildung 20: Genotypverteilung in der Population in Abhängigkeit vom Myokardinfarkttrisiko	67

6.2 Tabellen

Tabelle 1: Berechnung des Gensini Scores.....	26
Tabelle 2: Nukleotidsequenzen der Primer für die PCR-Reaktion	34
Tabelle 3: Reaktionsgemisch zur Amplifikation des FcγRezeptors IIa	35
Tabelle 4: Temperaturbedingungen der PCR	35
Tabelle 5: Nukleotidsequenzen der Primer für die Sequenzierungsreaktion	37
Tabelle 6: Reaktionsgemisch zur Amplifikation des FcγRIIa H/R131.....	37
Tabelle 7: Temperaturbedingungen der PCR-Reaktion zur Sequenzierung.....	38
Tabelle 8: Etablierte Risikofaktoren in den verschiedenen Kollektiven	53
Tabelle 9: Etablierte Risikofaktoren in den verschiedenen Kollektiven der KHK-Patienten.....	54
Tabelle 10: Verteilung der Genotypen bei etablierten Risikofaktoren	60
Tabelle 11: Vergleich der Häufigkeiten der Genotypen und der Allele des gesunden Kontrollkollektives mit denen der Koronarkranken	60
Tabelle 12: Assoziationen zwischen dem G-Allel des FcγRIIa HR ¹³¹ - Polymorphismus und dem KHK-Risiko in Niedrigrisikogruppen.....	62
Tabelle 13: Genotypverteilung in Abhängigkeit vom Schweregrad der koronaren Herzkrankheit.....	63
Tabelle 14: Gensini Score in Abhängigkeit vom Genotyp.....	64
Tabelle 15: Vergleich der Genotypen des gesunden Kontrollkollektives mit den Genotypen der Myokardinfarktpatienten	66
Tabelle 16: Vergleich der Genotypen der Kontrollkollektive mit den Genotypen der Myokardinfarktpatienten.....	66
Tabelle 17: Alter der Patienten beim ersten Myokardinfarkt	67
Tabelle 18: Zeitlicher Abstand zwischen erstem Myokardinfarkt und Wiedereintritt in die Klinik in Jahren	68
Tabelle 19: Assoziationen zwischen dem G-Allel des FcγRIIa HR ¹³¹ – Polymorphismus und dem Myokardinfarktrisiko in Niedrigrisikogruppen ..	69

6.3 Zusatzmaterial

6.3.1 Fragebogen nach Rose [99]:

Questionnaire

Section A: Effort pain

Have you ever had any pain or discomfort in your chest?

(Yes/No)

If no, have you ever had any pressure or heaviness in your chest?

(Yes/No)

If no, proceed to Section B. If yes, ask next question.

If during the remainder of Section A an answer is recorded in a box marked (*), proceed to Section A (Optional) without asking any more Section A questions.

Do you get it when you walk uphill or hurry?

Yes (if either walking uphill or hurrying causes pain or discomfort)

No (*)

Never hurries nor walks uphill

Do you get it when you walk at an ordinary pace on the level?

(Yes/No)

If yes to either of the last two questions, ask

What do you do if you get it while you are walking?

Stop or slow down + if subject carries on after taking nitroglycerin

Carry on (*)

If you stand still, what happens to it?

Relieved

Not relieved

How soon?

10 minutes or less

More than 10 minutes

Will you show me where it was?

Sternum (upper or middle)

Sternum (lower)

Left anterior chest

Left arm

Other

Did you feel it anywhere else?

If yes, record additional information above

Section A (optional)

Have you had this pain or discomfort more than three times?

If no, proceed to Section B

Does any other kind of exertion bring it on?

Excitement? (Yes/No)

Stooping? (Yes/No)

Eating? (Yes/No)

Breathing? (Yes/No)

Cold wind? (Yes/No)

Coughing? (Yes/No)

Is it worse if you have a chest cold or cough?

(Yes/No)

Would you describe it as a pain or discomfort?

Pain

Discomfort

Would any of these words describe the sensation?

Heaviness? (Yes/No)

Burning? (Yes/No)

Tightness? (Yes/No)

Stabbing? (Yes/No)

Pressure? (Yes/No)

Section B

Have you ever had a severe pain across the front of your chest lasting for half an hour or more?

(Yes/No)

If yes, ask

How many of these attacks have you had?

Have you ever had an electrical recording of your heart performed?

Where? / When?

Did you see a doctor because of this pain?

(Yes/No)

If yes, what did he say it was?

Section C

If an answer is recorded in a box marked (*), no further questions need be asked.

Do you get pain in either leg on walking?

(Yes/No (*))

Does this pain ever begin when you are standing still or sitting?

(Yes (*)/No)

In what part of your leg do you feel it?

Pain includes calf / calves

Pain does not include calf / calves (*)

If calves not mentioned, ask "anywhere else"?

Do you get it when you walk uphill or hurry?

Yes

No (*)

Never hurries or walk uphill

Do you get it when you walk at an ordinary pace on the level?

(Yes/No)

If yes to either of the last two questions, ask

Does the pain ever disappear while you are still walking?

(Yes (*)/No)

What do you do if you get it when you are walking?

Stop or slacken pace

Carry on (*)

What happens to it if you stand still?

Relieved

Not relieved (*)

How soon?

10 minutes or less

More than 10 minutes

6.4 Zusammenfassung

In der hier vorgestellten Studie sollte der mögliche Zusammenhang zwischen Atherosklerose und dem Polymorphismus H/R¹³¹ am FcγRezeptor IIa überprüft werden. Mehrere Ursachen der Atheroskleroseentstehung sind bereits bekannt, jedoch sind viele der Atherosklerose zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen noch nicht bzw. noch nicht vollständig erforscht. Der Polymorphismus am FcγRezeptor IIa ist klinisch relevant. Abhängig vom Genotyp gibt es veränderte Bindungsfähigkeiten für Immunglobuline. Verschiedene Erkrankungen wurden mit dem Polymorphismus in Zusammenhang gebracht. Besonders Erkrankungen mit verstärkter Gerinnung und verminderter Immunabwehr sind von klinischer Bedeutung. Bei der Atheroskleroseentstehung spielen Gerinnungsveränderungen und autoimmunologische Prozesse ebenfalls eine wichtige Rolle. Die Studienpopulation setzte sich aus einem Kontroll- und einem Fallkollektiv zusammen. Es wurden insgesamt 3077 Probanden untersucht. Das Kontrollkollektiv machte 535 Probanden, das Fallkollektiv 2542 Patienten aus. Bei den Probanden wurde außer der Genotypbestimmung mittels PCR auch Untersuchungen vorgenommen, die eine Abschätzung des Risikos für eine koronare Herzerkrankung möglich machen. Die statistischen Untersuchungen wurden mit Hilfe von SPSS vorgenommen. Entgegen den Erwartungen konnten die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie die wichtige Rolle des Rezeptors bei der Atheroskleroseentstehung nicht stützen. Die Verteilung der FcγRIIa-Genotypen ergab in der Gesamtpopulation in bezug auf das KHK – Risiko, dem KHK - Schweregrad und dem Myokardinfarkttrisiko keine signifikanten Unterschiede. Lediglich in wenigen Untergruppen konnte ein Zusammenhang zwischen den Erkrankungen und dem FcγRIIa R¹³¹ - Allel festgestellt werden. Bei diesen Untergruppen handelte es sich um Patienten höheren Alters mit einem niedrigen Atheroskleroserisiko. Die Bedeutung des Polymorphismus ist in dieser Population für die Atherosklerose von untergeordneter Bedeutung. Eine Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Atherosklerose und dem FcγRezeptors IIa HR¹³¹ – Polymorphismus erscheint jedoch in einer Studie mit prospektiven Design und in anderen Populationen als sinnvoll.

6.5 Summary

Atherosclerosis, the primary cause of heart disease, is characterized by a non-specific local inflammatory process which is accompanied by a systemic response. Fc γ receptors (Fc γ R), of which there are three different classes (Fc γ RI, II and III) and at least 12 subtypes, are cell surface effector molecules that bind the Fc portion of immunoglobulin G (IgG) and therefore important mediators of inflammation. Activation of Fc γ R can trigger immune complex uptake and degradation, antibody-dependent cellular cytotoxicity, production of superoxide anion, and secretion of pro-inflammatory active molecules. The Fc γ RIIIa subclass which binds with high affinity to multivalent IgG immune complexes could be demonstrated on monocytes, macrophages, granulocytes and platelets. There is increasing evidence that Fc γ RIIIa plays a potential role in atherothrombosis. Numerous Fc γ RIIIa positive cells were found in the proliferative areas of atherosclerotic plaques and the levels of Fc γ RIIIa expression were decreased on monocytes in patients with severe atherosclerosis. Furthermore, platelet Fc γ RIIIa surface expression is increased in patients with an acute coronary or cerebrovascular event.

Two Fc γ RIIIa isoforms (HR¹³¹) have been identified. Recently, the R¹³¹ allotype of Fc γ RIIIa was identified as a high affinity receptor for C-reactive protein, which seems to be directly involved in the pathogenesis of atherothrombosis. On the basis of these observations, it was speculated that this dimorphism might have an impact on the risk and extent of coronary heart disease. Therefore, the impact of the Fc γ RIIIa HR¹³¹ gene polymorphism on ischaemic heart disease was analysed in 510 healthy men and 2391 male participants with coronary angiography. The subpopulation of individuals who underwent coronary angiography was divided into subjects without any angiographically detectable coronary artery disease (CAD) or with coronary arterial stenoses less than 50% and individuals with single, double or triple vessel disease. The severity of CAD was also estimated by calculating the Gensini score. Acute myocardial infarction (MI) were diagnosed according to criteria established by the World Health Organisation. Genotyping was performed by an allele specific PCR. Data

were evaluated by regression analyses with adjustment for established coronary risk factors.

In the total sample and in all subpopulations, the frequencies of the HR¹³¹ genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium. Established coronary risk factors did not differ between FcγRIIa HR¹³¹ genotypes in the total study sample and all subgroups. No associations were observed between the FcγRIIa HR¹³¹ polymorphism and the risks of CAD and MI. This observation applies to the total sample and almost all low- and high-risk groups. Only when the study sample was restricted to low-risk groups of older individuals, the FcγRIIa HR¹³¹ polymorphism was linked to the risk of CAD and MI. For example, the FcγRIIa R¹³¹ allele was overrepresented in patients with CAD and MI when the total sample was restricted to older participants with favourable lipid profiles (low apolipoprotein B and low lipoprotein (a)). Finally, in the total sample and in almost all low- and high-risk-groups, the FcγRIIa HR¹³¹ dimorphism was not linked to the extent of CAD, defined either by the number of diseased vessels or the Gensini score.

The present data indicate that the FcγRIIa HR¹³¹ polymorphism might not be an independent risk indicator of CAD and MI and that the impact of this gene variation might be restricted to older individuals who are at low risk for this disease.

6.6 Lebenslauf

Name: Horstmann
 Vorname: Anna Yuriko
 Geburtsdatum: 06. Mai 1974
 Wohnort: An der Elbe 3, 39104 Magdeburg

Schulbildung: 1980 Einschulung in die Gemeinschaftsgrundschule am Buttendick, Wesel
 1984 Übertritt ins Andreas-Vesalius-Gymnasium, Wesel
 1993 Abitur

Berufliche Tätigkeiten: 1993 Ausbildung in der Lehranstalt für medizinische technische
 Laboratoriumsassistenten am Knappschafts Krankenhaus Bochum
 1995 Staatsexamen als MTA
 1995 Anstellung als Medizinisch-technische Laboratoriumsassistentin
 bei LD-Labor Diagnostika, Heiden

Studium: 1996 Medizinstudium an der Justus-Liebig-Universität zu Gießen
 1998 Physikum
 1999 1. Staatsexamen
 2000 Studium der Medizin in Padua, Italien
 - 2001 (Stipendium des Erasmus-Programmes)
 2001 2. Staatsexamen
 2001 Praktisches Jahr:
 - 2002 Chirurgie: Allgemeines Regional Krankenhaus Bozen, Italien
 Anästhesie: Kantonales Spital Walenstadt, Schweiz
 Innere: Klinikum Wetzlar
 2002 3. Staatsexamen

Studienbegleitende Tätigkeiten:
 1997 Anstellung als studentische Hilfskraft in der Blutbank des Instituts
 - 2001 für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin, JLU Gießen
 1999 Beginn der Doktorarbeit am Institut für Klinische Chemie, JLU Gießen

Famulaturen: 1998 Famulatur in der Anaesthesieabteilung des St. Josefs Krankenhaus,
 Gießen
 2000 Famulatur im Institut für medizinische Mikrobiologie der JLU Gießen
 2000 Famulatur im Departement Frauenheilkunde des Universitätsspitals
 Zürich, Schweiz
 2001 Famulatur bei Dres. Marck, Allgemeinmedizin und Diabetologie,
 Pohlheim

Ärztliche Tätigkeiten:
 2003 Assistenzärztin in der Chirurgie des kantonalen Spitals Altstätten,
 - 2004 Schweiz
 seit Oktober 2004 Assistenzärztin in der Anaesthesiologie und Intensivtherapie,
 Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg

6.7 Danksagungen

Vielen, die mich in meiner Arbeit unterstützt haben, bin ich zu Dank verpflichtet. Besonders danken möchte ich:

Herrn Prof. Dr. Dr. Andreas Gardemann für seine Geduld, seine Anregungen, seine Hilfe und guten Ratschläge bei der Erstellung und Durchsicht des Arbeit

Herrn Dr. Sentot Santoso für seine viele Zeit, die wertvollen Hilfestellungen bei der Versuchsdurchführung, die guten Anregungen zu wissenschaftlichen Themen und für die Durchsicht des Manuskriptes

Herrn Prof. Dr. G. Bein für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Ressourcen seines Institutes

Allen Mitarbeitern des Institutes für klinische Immunologie und Transfusionsmedizin für die freundliche Hilfe und nette Zusammenarbeit bei der Labortätigkeit und bei der Kollektiverstellung

Herrn Dr. G. Wiesner für die besondere Unterstützung bei der Kollektiverstellung

Den vielen freiwilligen Probanden

Meiner Familie und meinen Freunden für das große Verständnis und ihre Unterstützung