

Assoziation der Marburg I und II Mutation des
Faktor VII aktivierenden Proteins bei koronarer
Herzerkrankung und Myokardinfarkt

Michael Kläßen

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



edition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2014

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2014

© 2014 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Assoziation der Marburg I und II Mutation des
Faktor VII aktivierenden Proteins bei koronarer
Herzerkrankung und Myokardinfarkt**

INAUGURAL-DISSERTATION

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

eingereicht von

Michael Klaßen

aus Bocholt

Gießen 2013

Aus dem Zentrum für innere Medizin, medizinische Klinik I Kardiologie;
Chefarzt: Prof. Dr. med. C. Hamm

der Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. H. Hölschermann

Gutachter: Prof. Dr. med. C. Hamm

Tag der Disputation 04.02.2014

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Einführung in die Thematik	5
1.2 Grundlagen	7
1.2.1 Die koronare Herzerkrankung und der Zusammenhang mit dem Gerinnungs- und Fibrinolyse-System	7
1.2.2 Fibrinolyse	8
1.2.2.1 FSAP-Protease und ihre Eigenschaften	10
1.2.2.2 FSAP-Mutationen	14
1.2.3 Marburg I - Mutation, Arteriosklerose	15
2. Zielsetzung der Arbeit	17
3. Material und Methoden	18
3.1 Patientenkollektiv und Einschlusskriterien	18
3.1.1 Charakteristika der Probanden	18
3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	18
3.2 Definitionen	19
3.3 Versuchsdurchführung	22
3.3.1 Versuchsablauf der PCR zur Suche nach Punktmutationen (SNP's)	22
3.3.2 Polymerase-Kettenreaktion	22
3.3.3 DNA-Isolierung und Sequenzierung	23
3.3.4 Amplifizierung	23
3.4 Statistische Methoden und grafische Darstellung	25
4. Ergebnisse	26
4.1 Patientencharakteristika	26
4.2 Vergleich der epidemiologischen Parameter und des Koronarstatus bezüglich SNP1 und SNP2	27
4.2.1 Adipositas	27
4.2.2 Raucher	28
4.2.3 Diabetes mellitus	31
4.2.4 Hyperlipoproteiämie	33
4.2.5 Arterielle Hypertonie	35
4.2.6 Herzinfarkt	37
4.2.7 KHK gesamt	39
4.2.8 Koronarstatus	41
4.3 Assoziation zwischen SNP1 und SNP2	45
5. Diskussion	47
6. Zusammenfassung	56

<u>8. Abkürzungsverzeichnis</u>	<u>58</u>
<u>9. Abbildungsverzeichnis</u>	<u>59</u>
<u>10. Literaturverzeichnis</u>	<u>60</u>
<u>11. Lebenslauf</u>	<u>71</u>
<u>12. Danksagung.....</u>	<u>72</u>

1. Einleitung

1.1 Einführung in die Thematik

Pro Jahr sterben in den europäischen Ländern ca. 750.000 Menschen an einem Herzinfarkt. Die Atherosklerose der Koronargefäße und der Myokardinfarkt zählen in Deutschland zu den häufigsten Todesursachen. Neben den bekannten Risikofaktoren, wie Alter, Bluthochdruck, Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus, Zigarettenrauchen oder Übergewicht, spielen vererbare Risikofaktoren zunehmend eine Rolle in der Genese¹.

Eine kontinuierlich wachsende Anzahl von Polymorphismen wird in Genen beschrieben, deren Produkte selbst oder deren Interaktionen oder die Fehlfunktion der Genprodukte zu KHK-begünstigenden Mechanismen führen²⁻⁴. Insbesondere bei Vorliegen von den allgemein bekannten Risikofaktoren zeigt sich eine Verstärkung des Risikos an einer KHK zu erkranken⁵. In zahlreichen Untersuchungen und Studien wurden in letzter Zeit in verschiedenen Funktionssystemen Polymorphismen entdeckt, die ein erhöhtes Risikoprofil aufzeigen, an einer koronaren Herzerkrankung zu erkranken. Obwohl in den letzten beiden Jahren große Fortschritte erzielt wurden, können bislang nur circa 10 Prozent der genetischen Einflüsse auf das Herzinfarktisiko erklärt werden⁶.

In einer Übersichtsarbeit wurde gezeigt, dass in den letzten zwanzig Jahren spezifische Gene (sog. Kandidatengene) untersucht worden sind, um bestimmte Mutationen zu finden, die ein pathologisches Korrelat zur Arteriosklerose aufweisen. Die Arbeitsgrundlage war, dass Proteine, die an der Pathophysiologie der Atherosklerose beteiligt sind, durch Mutation so verändert sind oder Fehlfunktionen aufweisen, die dann zum Herzinfarkt oder zur koronaren Herzerkrankung führen können. Es bestehen über fünftausend Publikationen, aber dennoch gelang es nur vereinzelt im Lipidstoffwechsel Gene reproduzierbar mit dem Herzinfarktisiko zu assoziieren⁷⁻⁹.

Unter anderem besteht aktuell der genetisch stärkste Effekt für das Risiko eines Myokardinfarktes (Stand Oktober 2010) von einem Abschnitt auf Chromosom 9p21.3. Dieser Risiko-Lokus für den Herzinfarkt wurde insgesamt an mehreren zehntausend Fällen und Kontrollen mehrfach nachgewiesen. In dieser chromosomalen Region ist überraschender Weise kein Protein-kodierendes Gen zu finden. Ursache und der Pathomechanismus ist bislang noch nicht gefunden worden^{9,10}.

Für das Risikoallel auf Chromosom 9p21.3 konnte zu dem oben genannten Risiko noch gezeigt werden, dass es sowohl die koronare Herzerkrankung als auch für das Schlaganfallrisiko und die Manifestation von Aneurysmata und einer peripheren Verschlusskrankheit steigert^{11,12}.

Abbildung 1. Zeigt beispielsweise Polymorphismen aus Studien vom Monat Januar bis Mai im Jahr 2011 mit den betroffenen Funktionssystemen, sowie den Bezug auf die koronare Herzerkrankung oder den Herzinfarkt.

Autor/Journal	Funktionssystem	Polymorphismus	KHK Bezug
Karaca E./Anatol Journal of Cardiology	Entzündung	IL-10 -592C/A	KHK bei Pat >45J OR:2
Huang H/Archives of Medical Research	Fettstoffwechsel	ALOX5AP	KHK OR:1,33
De Caterina/Atherosclerosis	Lipidtransport	APOA5-1131T>C	KHK OR: 1,44
Mohamed A/Annals of Saudi Medicine	Endothelentzündung	ICAM-1/ K469E	Verschlechterung einer KHK OR: 3,8
Zhang HF/Thrombosis res	Entzündung/Immunsystem	TNF α G308A	KHK OR:1,5

Abbildung 1.

1.2 Grundlagen

1.2.1 Die koronare Herzerkrankung und der Zusammenhang mit dem Gerinnungs- und Fibrinolyse-System

Die Hämostase ist eng an zahlreichen Regelsystemen gebunden, so dass Wechselbeziehungen untereinander auftreten. Diese Systeme und die daraus folgenden Interaktionen beeinflussen zum Teil stark die Entstehung und den Verlauf der Arteriosklerose und die daraus folgende koronare Herzerkrankung und die Genese eines Herzinfarktes. Dazu gehören die vaskulären Regulatoren, der Fettstoffwechsel, der insulin gesteuerte Metabolismus, der Homocysteinstoffwechsel und das inflammatorische System¹³. Es wurde bewiesen, dass bezüglich der KHK sowohl der intrinsische als auch der extrinsische Weg infolge von intrakoronaren Plaquerupturen und negativen Oberflächen häufiger und empfindlicher reagiert. Zudem sind erhöhte Fibrinogenkonzentrationen festgestellt worden, diese Aktivität kann besonders in der Phase der Exazerbation bei einem Myokardinfarkt eine entscheidende Rolle spielen¹⁴. Einige Studien zeigten, dass zwischen dem Vorkommen der Faktor II G20210A Mutation und dem Risiko für einen MI ein eindeutiger Zusammenhang besteht¹⁵⁻¹⁷. Insbesondere zeigt sich dies bei Vorliegen von weiteren kardialen Risikofaktoren^{18, 19}. Die Hauptaktivatoren des extrinsischen Weges sind das Gewebsthromboplastin (tissue factor) und der Faktor VII. Da dieser bei Aktivierung (FVIIa) den gemeinsamen Weg der Gerinnungskaskade in Gang setzt, können durch erhöhte Faktor VII - Konzentrationen schwerwiegende akute myokardiale Infarkte hervorgerufen werden^{20, 21}. Die Faktor VII - Mutationen scheinen in der Zusammenschau, trotz anfänglicher Hinweise^{22, 23}, keinen Einfluss auf akute Myokardinfarkte oder auf die KHK zu haben. Girelli et al. zeigte sogar einen leichten protektiven Einfluss²⁴⁻²⁷. Auch für weitere Gerinnungsfaktoren wie für den Faktor VIII konnte ein erhöhtes assoziiertes Risiko für venöse und arterielle Thrombosen bei erhöhten Konzentrationen und somit auch ein erhöhtes Risiko für arterielle Infarkte nachgewiesen werden, so dass sich sogar bei Vorlage von mehreren Mutationen im Bereich des Gerinnungssystems das Risiko eines Myokardinfarktes drastisch erhöhen kann^{28, 29}.

Für den Faktor V, bezüglich der Faktor V – Leiden – Mutation, konnte bis 2010 Untersuchungen keine Korrelation bzgl. arterieller Thrombosen oder der koronaren Herzerkrankung und myokardialer Infarkte gefunden werden³⁰⁻³³. Eine Studie bot Hinweise auf ein kardiologisches Risikoprofil, insbesondere in Kombination mit der Mutation des C3*F Allels³⁴. 2010 gelang der Nachweis, dass die Mutation von Faktor V (F5 G1691A) mit einem erhöhten Risiko, ein Myokardinfarkt zu erleiden, verbunden ist (OR:1,66)³⁵. Mutationen in der Gerinnungskaskade müssen jedoch nicht zwangsläufig ein arterielles Risikoprofil aufweisen³⁶.

1.2.2 Fibrinolyse

Das im Plasma vorhandene Plasminogen kann durch Gewebe- oder Blutfaktoren (Fibrinolytinasen) - analog dem extrinsischen und intrinsischen System der Gerinnung aktiviert werden und zwar zu Plasmin (Fibrinolytin).

Plasmin ist eine Serinprotease, die Fibrin durch Abspaltung löslicher Peptide aufzulösen vermag und gleichzeitig Thrombin hemmt. Außerdem spaltet Plasmin Fibrinogen, Prothrombin und die Faktoren V, VIII, IX, XI und XII, wodurch es ebenfalls zu einer Verminderung der Gerinnungsfähigkeit kommt.

Die wichtigsten Faktoren der Fibrinolyse sind sogenannte Plasminogenaktivatoren. Die wichtigsten und wesentlichen Plasminogen-Aktivator-Systeme sind der Gewebetyp-Plasminogen-Aktivator (TPA) und der Urokinasetyp-Plasminogen-Aktivator (UPA). Diese Aktivatoren sind vornehmlich endothelial vorhanden und werden hauptsächlich intravasal freigesetzt. Sowohl bei der UPA als auch bei dem dazugehörigen Rezeptor sind Störungen bekannt, die arteriosklerotische Prozesse negativ beeinflussen können und hochwahrscheinlich bei akuten koronaren Verschlüssen eine relevante Ursache spielen^{37, 38}.

Der wesentliche Inhibitor (Hemmer) in diesem System ist der Plasminogenaktivator-Inhibitor (PAI) und der C1-Esterase-Inhibitor.

Störungen im Bereich der Fibrinolyse, wie zum Beispiel erhöhte Konzentrationen von PAI, erhöhen ebenfalls das Risiko für thrombembolische Erkrankungen im arteriellen Abschnitt des Gefäßsystems^{39, 40}, obwohl hier auch in einigen Studien gegensätzliche Ergebnisse vorliegen^{41, 42}. Gesicherte Mutationen wie die Mutation von Prothrombin 20210A und PAI-1 sind bekannt, die ein erhöhtes Herzinfarkttrisiko nach sich ziehen^{17, 43}.

Die ECTIM-Studie konnte schon 1996 für Mutationen des β -Fibrinogens eine Assoziation mit der koronaren Herzerkrankung und Myokardinfarkt, insbesondere bei Rauchern, zeigen⁴⁴. Beide Systeme, Gerinnung und Fibrinolyse, sind eng miteinander verbunden und können sich gegenseitig durch Aktivierung und Inhibierung regulieren. Abbildung 2. zeigt ein vereinfachtes Schema der Fibrinolyse.

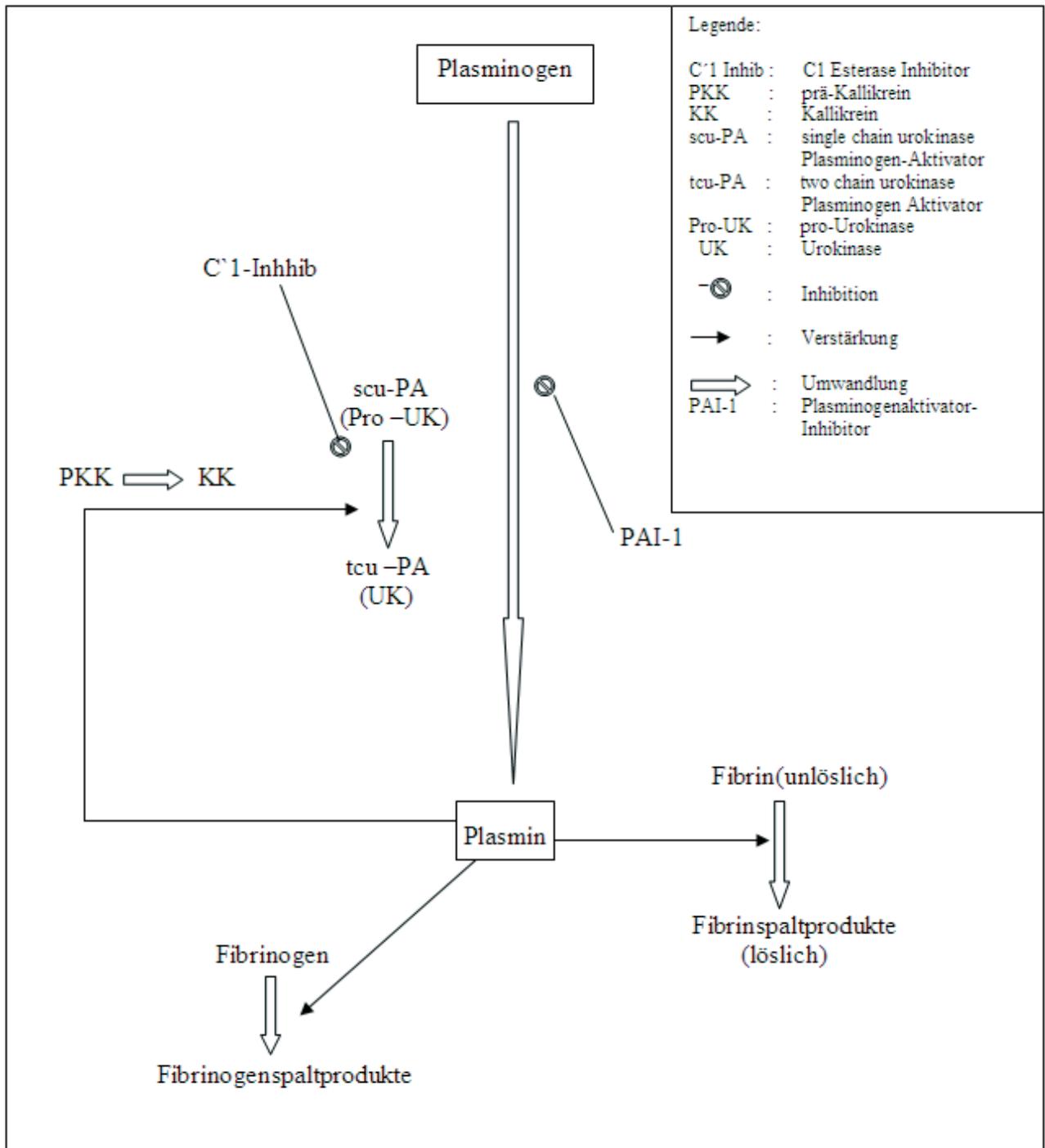


Abbildung 2. Fibrinolyse (vereinfacht)

Es ist ihr möglich, Faktor VII als auch einkettige (single-chain)-Pro-Urokinase (scuPA) und einkettige (single-chain) „tissue-factor (sct-PA)“ zu aktivieren^{47, 52}. Als positive Rückkopplung wird das Proenzym selbst von Pro-Urokinase aktiviert⁵³. Im Kontrast dazu werden die Gerinnungsfaktoren Faktor V und Faktor VIII von dieser Protease inaktiviert^{53, 54}. Die Serin-Protease wird, nachgewiesen in immunhistologischen Untersuchungen, hauptsächlich in der Leber synthetisiert. Da auch andere Gewebe eine immunhistochemische Färbung aufweisen, besonders zahlreiche endokrine und exokrine Drüsen, herrscht Unklarheit über weitere Synthese-, Speicher- und Abbauorte. In weiteren Studien wurde eine „vor Ort Synthese“ in Monozyten und Makrophagen, unter anderem im Rahmen der atheromatösen Plaquebildung, nachgewiesen⁵⁵. Hohe Konzentrationen von dieser Protease in inflammatorischen Geweben unterstützen dies.⁵⁶ Die Halbwertszeit des Proenzym in der Zirkulation beträgt ca. sechs Stunden. Folglich kann das Proenzym entfernte Orte erreichen, wohin es durch bisher unbekannte Mechanismen transportiert wird⁵⁷. Genetisch ist diese Protease auf Chromosom 10 (10q25-q26) lokalisiert.

PHBP nannte man wegen der initial gefundenen Eigenschaften „FSAP“ (factor seven activating protein), weil sie diesen Gerinnungsfaktor unabhängig vom „tissue factor“ aktivieren kann^{53, 58}. Der offizielle Name ist Hyaluronic acid binding protein 2 (HABP2). Im weiteren Kontext wird die Abkürzung „FSAP“ verwendet, siehe Abbildung 4.).

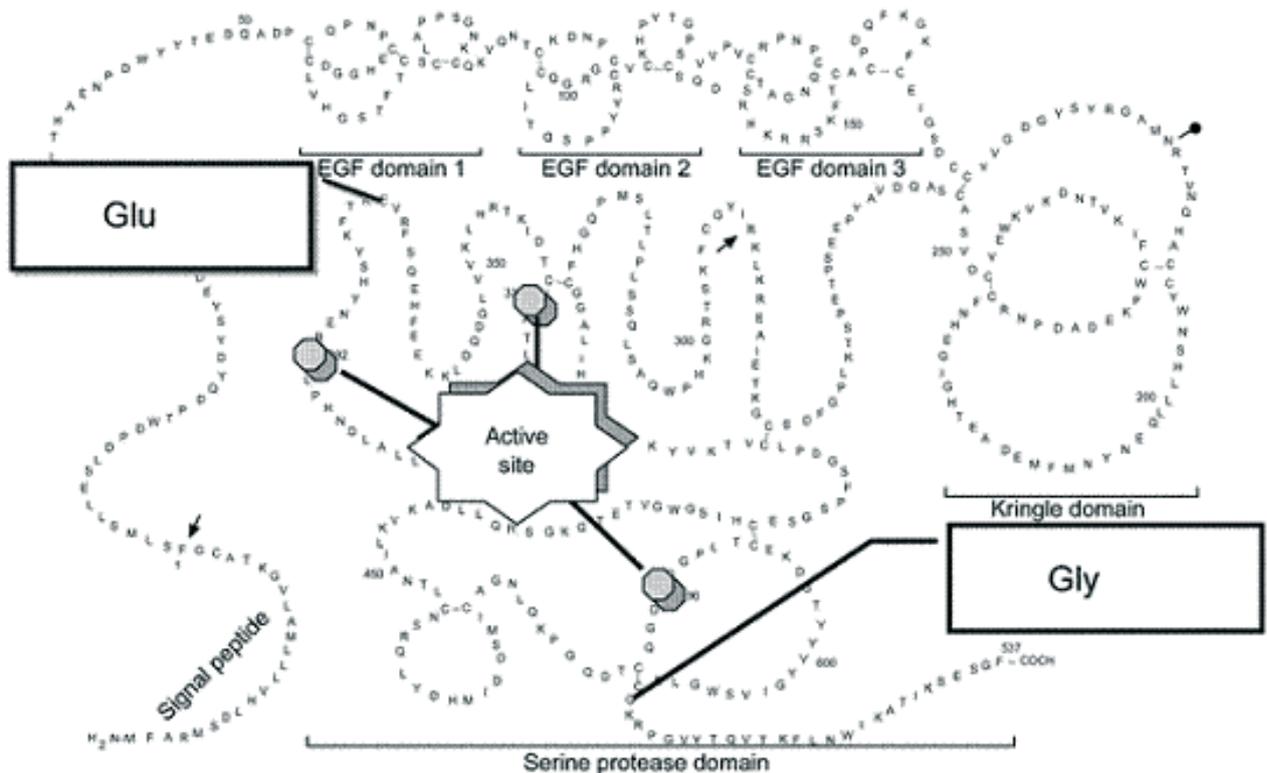


Abbildung 4. Serin Protease (FSAP)⁴⁵

FSAP zirkuliert im Plasma als einkettiges inaktives Proenzym mit einer Konzentration von 12µg/ml^{51, 52, 54, 59} und ist weiterhin in der Lage, sich selbst in die proteolytische zweikettige etwa 48kDa schwere Form (tcFSAP) zu aktivieren, was (in vitro) durch die Substanzen Dextran - Sulfat, Lysin, Heparin, negativ geladenen Polyanionen, Polyphosphaten und Phosphatidylethanolamin noch beschleunigt wird^{54, 59, 60}. Im Plasma (in vivo) scheint nach bisherigem Wissen apoptotische oder abgestorbene Zellen und Zellmaterial wie Histone⁶¹ und Nucleosome⁶² FSAP zu aktivieren, Polyanionen sind in diesem Milieu nicht effektiv.⁶³ Calciumionen verlangsamen die Umwandlung der einkettigen Proenzymform zur aktiven Zwei - Ketten Protease. Die Aktivität wird jedoch interessanterweise durch Ca²⁺ Ionen verstärkt und stabilisiert⁵². Die Substrate Aprotinin, C1-Esterase-Inhibitor, Plasminogen Aktivator Inhibitor-1 (PAI-1) und α2-Antiplasmin inhibieren die Protease effektiv. Im menschlichen Plasma ist C1-Esterase der Hauptinhibitor⁵⁴. FSAP kann zudem durch die in den Gefäßen vorkommende Serinprotease PN-1 (Protease nexin-1) in ihrer enzymatischen Aktivität gehemmt werden, eine Heparinpräsenz verhindert dies nicht⁶¹.

Der Tissue Factor Pathway-Inhibitor (TFPI) zeigt sich in einer Studie in hohen Konzentrationen als effizienter Inhibitor von FSAP induzierter Freisetzung von Nucleosomen aus apoptotischen Zellen, FSAP wird hierbei wesentlich stärker FSAP-Aktivität blockiert als durch den C1-Inhibitor oder α-Antiplasmin⁶⁴. Allerdings ist auch FSAP in der Lage TFPI zu inhibieren⁶⁵, mit der Folge einer gegenseitigen Hemmung.

Die aktive Form ist ein zweikettiges Protein (two- chain FSAP (tcFSAP)). Die Protease hat ihren Aktivitätsgipfel zwischen pH 6 - 7,4. FSAP ist in seiner einkettigen Form schwierig zu isolieren, da sie sehr empfindlich gegenüber Proteolyse und autokatalytischen Abbau ist⁵³.

Es wurde festgestellt, dass die Protease ein sehr potenter Urokinase-Aktivator ist. Die Aktivierungsfähigkeit ist vergleichbar mit der von Kallikrein⁶⁶. Des Weiteren kann die Serin – Protease Bradykinin und basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF) freisetzen⁶⁷. Das Bradykinin, ein entzündlicher Mediator, welcher für die Dilatation der Blutgefäße und erhöhte Permeabilität dieser verantwortlich ist, zeigt eine inflammatorische Eigenschaft der Serinprotease.

FASP kann bFGF auch wieder durch Spaltung und Komplexbildung abbauen⁶⁸, ebenso wie verschiedene Matrix Proteine wie Fibronectin und Fibrinogen⁵¹. Die Serinprotease ist als weitere Eigenschaft in der Lage, platelet-derived growth factor-BB (PDGF–BB) suffizient mit hoher proteolytischer Aktivität abzubauen und kann weiterhin die PDGF-BB induzierte Zellproliferation von Lebersternzellen sowie die Migration von glatten Muskelzellen verhindern^{69, 70}. Zudem konnte ein weiterer Co-Faktor für die Aktivierung von FSAP gefunden werden, extrazelluläre RNA stellte sich als zusätzlicher aktivierender Faktor dar⁷¹. Heparin und RNA binden an dasselbe aktive Zentrum, die sogenannte EGF3 Domäne⁷².

1.2.2.2 FSAP-Mutationen

Bei einigen Proben wurde eine Verminderung dieser Aktivität entdeckt und beschrieben. Es wurde vermutet, dass diese durch eine Mutation der Protease ausgelöst wird. Nach genetischen Untersuchungen wurden zwei Mutationen, sogenannte „single nukleotid polymorphisms“ (SNP'S) entdeckt, die sehr wahrscheinlich für die Aktivitätsminderungen verantwortlich sind. Die Punktmutationen liegen im Bereich der Serin-Protease Domäne: Glutamat wurde an Position 370 gegen Glutamin (Glu370Gln) und Glycin an Position 511 gegen Glutamat ausgetauscht (Gly511Glu) (Abbildung 5.). Diese Mutationen betreffen etwa fünf Prozent der Bevölkerung in Westdeutschland ⁷³.

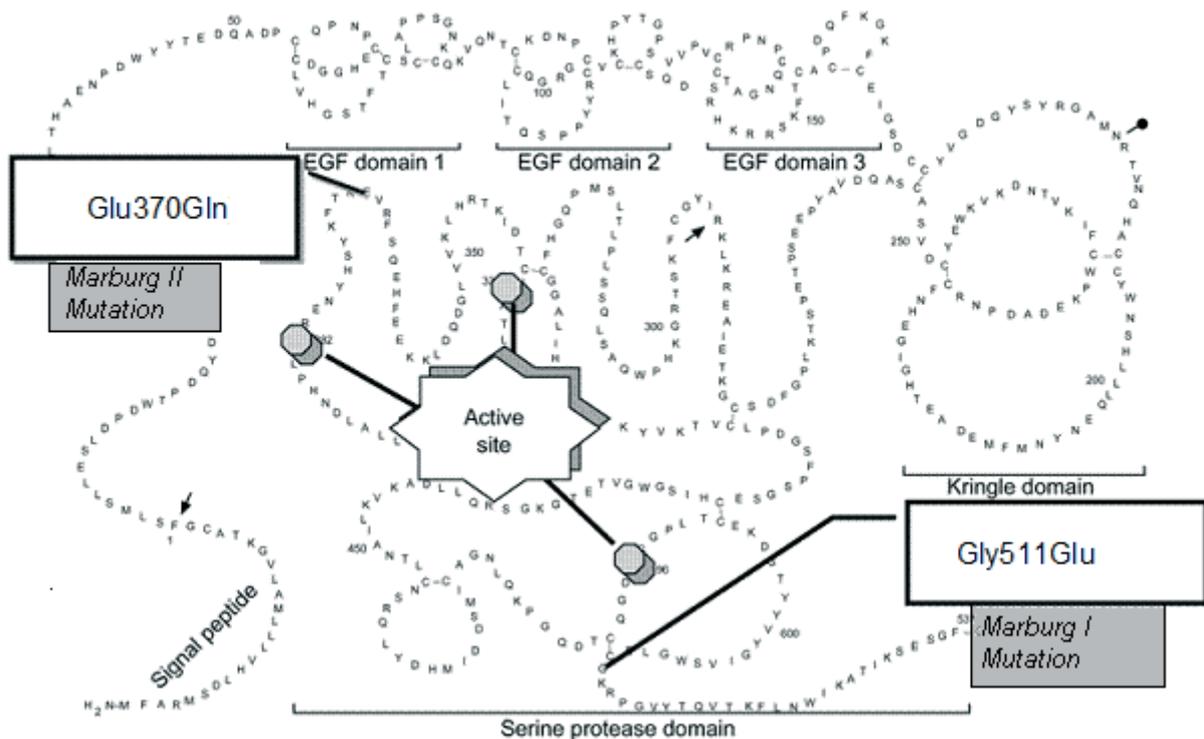


Abbildung 5. Mutationspunkte der Protease

Es konnte bewiesen werden, dass die Mutation an Position 511 eine signifikante Urokinase-Aktivitätsminderung verursachte. Diese Mutation wurde SNP1 (Single-Nukleotid-Polymorphismus I (Marburg - I)) genannt. Für die Mutation in Position 370 wird die Abkürzung SNP2 oder Marburg-II benutzt ^{73, 74}.

1.2.3 Marburg 1 und Marburg 2 Mutation, und der Zusammenhang mit Arteriosklerose

Im Jahre 2003 konnte im Rahmen einer Gefäßstudie der signifikante Zusammenhang zwischen fortgeschrittener stenosierender Arteriosklerose in den Carotiden und der Marburg I - Mutation (SNP1) bewiesen werden, jedoch fand sich kein Zusammenhang bei Frühstadien der Arteriosklerose⁷⁵. Diese Untersuchung basierte auf der Bruneck Studie von 1990, welche eine prospektive Übersicht zur Untersuchung der Epidemiologie und der Ätiologie der Karotisarteriosklerose und Stenosen darstellt⁷⁶⁻⁷⁸.

Die Kombination des SNP1 Polymorphismus mit anderen Risikofaktoren wie Lipoproteine und Diabetes mellitus waren ein besserer Prädiktor für eine arteriosklerotische A. carotis Stenose als einer der oben genannten Faktoren alleine. Eine andere Studie zeigte, dass Träger des SNP1 - Mutation mit höheren Cholesterin- Triglycerid- und Fibrinogenkonzentrationen ein 5-faches erhöhtes Risiko der koronaren Herzkrankheit haben^{79, 80}. FSAP wurde in weiteren arteriosklerotischen Plaques wie Karotis-, Iliacal- und Femoralarterien in erhöhten Konzentrationen identifiziert, sodass ein ubiquitäres Vorkommen insbesondere bei Arteriosklerose anzunehmen ist, da FSAP in normalen Arterien nicht nachzuweisen war⁶⁹.

Interessanterweise beeinflussen die Mutationen die Faktor-VII-Aktivierungen nicht, aber Marburg I verursacht eine extreme Verringerung der Prourokinase Aktivität⁷³. In nachfolgenden Studien konnten noch weitere Eigenschaften der Factor 7-activating Protease (FSAP) nachgewiesen werden, wodurch die Pathogenese der Arteriosklerose und der Plaqueentwicklung unter FSAP und der Marburg I Mutation zunehmend besser erklärt werden konnte. Einige Faktoren des Hämostase-Systems haben Doppel-Funktionen wie zum Beispiel aktiviertes Protein C⁸¹, Faktor Xa⁸² und Faktor VIIa⁸³ an Blutplättchen, Leukozyten, Endothelzellen, sowie glatten Muskelzellen. In diesem Zusammenhang sind Auswirkungen der FSAP auf Endothelzellen und vaskulären glatten Muskelzellen zu nennen.

Die Protease inhibiert die Wachstumsfaktor - getriggerte Zellproliferation und Migration der sogenannten „Vascular smooth muscle cells“ (VSMC) durch die Hemmung von platelet-derived growth factor (PDGF-BB)⁶⁹, was bei der bekannten Funktion der VSMC im Rahmen der Genese der Arteriosklerose ein wichtiger Faktor ist⁸⁴⁻⁸⁶. Bei der Marburg I Mutation fehlt die Hemmung von PDGF-BB. Die lokale Applikation von Wildtyp-FSAP an Maus Modellen führte zu einer 70%igen Reduktion der Neointima-Bildung, die Marburg I - Mutation konnte dies hingegen nicht⁸⁷. Passend hierzu konnte der Nachweis von hohen FSAP-Konzentrationen in instabilen arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen werden⁵⁵. Ebenso ist die Inhibition von TFPI beim Marburg I Polymorphismus vermindert.⁶⁵

Die SNP 2 (Marburg II) - Mutation zeigte bis Dato keine Auswirkung auf die Funktion des FSAP Proteins, auch konnte kein Zusammenhang bezüglich der Progression der Arteriosklerose der A. carotis gefunden werden ^{73, 75}.

2. Zielsetzung der Arbeit

Die Hämostase spielt in der Entwicklung von koronarer Herzkrankheit und Myokardinfarkt eine entscheidende Rolle.

In der vorliegenden retrospektiven Studie wurde von 733 Patienten mit KHK und/oder Myokardinfarkt die Genotypverteilung der Marburg I - (SNP1) und II - (SNP2) Mutation untersucht.

Ziel der Studie war es zu klären, ob die Marburg I – und II – Mutationen alleine oder in Kombination mit anderen Risikofaktoren der KHK eine Assoziation für die koronare Herzerkrankung oder für den Myokardinfarkt zeigt.

3. Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv und Einschlusskriterien

3.1.1 Charakteristika der Probanden

Für die Studie wurden 173 Probanden, die aus diagnostischen oder therapeutischen Gründen zur Koronarangiographie stationär in die Station „Volhard“, Station „Morawitz“, Notaufnahmestation und Intensivstation der Medizinischen Klinik II der Justus-Liebig-Universität Gießen im Jahre 1999/2000 aufgenommen wurden, rekrutiert. Die Patienten wurden über die Studie ausführlich aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis. Das notwendige positive Ethikvotum liegt vor (Antrag Nr. 56/00, Vorsitzener der Ethikkommission Gießen: Prof. Dr. Dr. H. Federlein). Das Studiendesign war retrospektiv ohne Verblindung.

Zusätzlich wurden 560 Proben genetisch nach Polymorphismen untersucht, welche aus einer Gendatenbank vom Institut für klinische Chemie der Universität Gießen zur Verfügung gestellt wurden. Alle Proben stammen von Probanden, welche ebenfalls zu diagnostischen oder therapeutischen Zwecken koronarangiographiert wurden. Alle Proben wurden anonymisiert, so dass ein Rückschluss auf die persönlichen Daten der Patienten nicht möglich war. Die Studie wurde gemäß den Richtlinien der „Good Clinical Practise“ durchgeführt, wobei auch Belange des Datenschutzes berücksichtigt wurden.

3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Abgesehen von der Diagnose der koronaren Herzerkrankung und des Myokardinfarktes war die klinische Stabilität der Patienten Einschlussbedingung. Es sollte so die Selektierung verringert und ein großes Kollektiv geschaffen werden, welches repräsentativ für die Justus-Liebig-Universität Gießen war.

Hinsichtlich der Einnahme von Antihypertensiva, Thrombozytenaggregationshemmern und Antidiabetika wurden keine Einschränkungen gemacht. Es bestanden folgende Ausschlusskriterien:

- Patienten unter oraler Antikoagulation (z.B. Phenprocoumon)
- maligne Tumorerkrankung
- schwere Systemerkrankungen (z.B. Kollagenosen, chronische Infektionen)
- Drogen- oder Alkoholabusus
- Minderung der kognitiven Fähigkeit

Es wurden beide Patientengruppen nach Abgleichung der Daten zusammen statistisch (n=733) untersucht.

3.2 Erhobene Parameter

Die Studienpopulation umfasst 733 Patienten, es wurden die Parameter Alter, Adipositas, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie, arterielle Hypertonie, Herzinfarkt, KHK, Koronarstatus und Raucher erhoben. Alle Patienten waren weiße Europäer (Kaukasier). Um ein möglichst aussagefähiges Ergebnis zu erhalten, war es notwendig, die Parameter zu definieren.

Der Parameter **Koronare Herzkrankheit** (KHK) beruht streng auf koronarangiographischen Kriterien.. Gemäß den Kriterien der American Heart Association wurden werden die drei großen Koronararterien in 15 Segmente unterteilt. (Abbildung 6.) Die Bildgebung der Angiographien erfolgte auf einem Bildschirm nach einem standardisierten Schema.

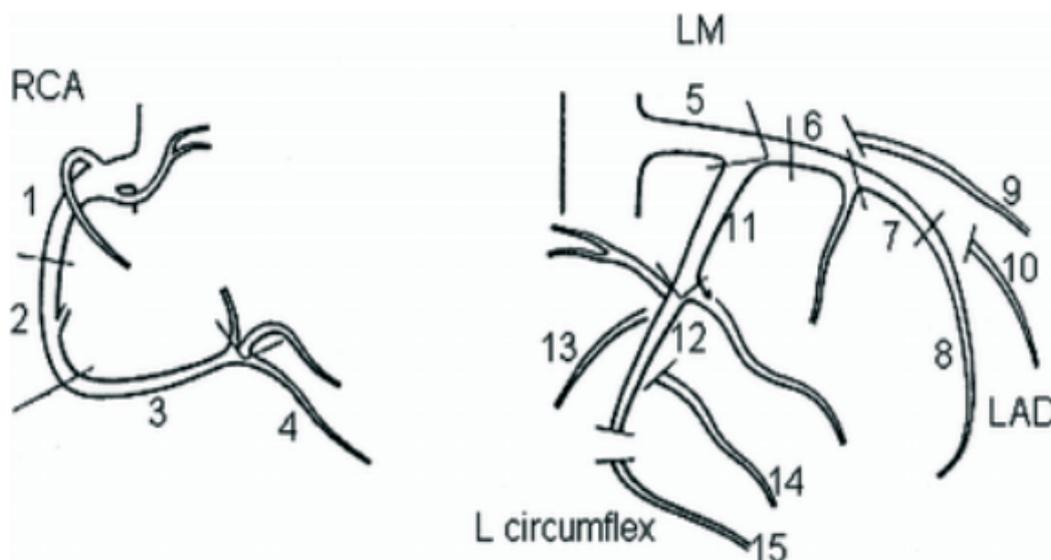


Abbildung 6. Einteilung der Koronarsegmente nach der American Heart Association ⁸⁸

Da bekannt ist, dass die Hälfte aller Myokardinfarkte auf der Ruptur eines arteriosklerotischen Plaques bei einer Stenose von weniger als 50% beruhen ⁸⁹, wurden alle Patienten mit einer Wandunregelmäßigkeit von wenigstens 20% an mindestens einem Koronararteriensegment der Gruppe „Koronare Herzkrankheit“ (KHK) zugeordnet.

Die koronare **ein-, zwei- und drei-Gefäßerkrankung** wurde folgend unterteilt: Eine 3-Gefäßerkrankung wurde definiert mit dem Vorliegen einer größer/gleich 50%igen Stenose an allen drei großen Koronararterien, eine 2-Gefäßerkrankung mit dem Nachweis einer wenigstens 50%igen Stenose an zwei der drei großen Koronararterien. In die Gruppe der 1-

Gefäßerkrankungen wurden alle Patienten mit einer mindestens 20%igen Gefäßwandveränderung an mindestens einer der drei Hauptkoronararterien gerechnet, so dass unter dem Terminus der 1-Gefäßerkrankung auch solche Patienten aufgenommen wurden, die eine leichte Verlaufsform der KHK aufwiesen.

Der Parameter **Myokardinfarkt** wurde über typische EKG-Veränderungen, persistierende pektanginöse Beschwerden (therapieresistent auf Gabe von Nitroglyzerin- bzw. Isosorbiddinitratapplikation), über einen Zeitraum von mehr als 20 Minuten vorliegen und zusätzlich – oder an Stelle dieser Beschwerden – charakteristische Enzymveränderungen definiert.

Als typische EKG-Veränderung galt für einen Myokardinfarkt die ST-Streckenhebung (transmurale oder „Q-wave“- Infarkt) von 2 mm in mindestens zwei nebeneinander liegenden Brustwandableitungen bzw. von 1 mm in zwei benachbarten Extremitätenableitungen.

Als typische Veränderungen für einen Myokardinfarkt ohne ST-Streckenhebung (nichttransmurale oder „non-Q-wave“-Infarkt) waren charakteristische Enzymveränderungen insbesondere ein Anstieg von Troponin T bzw. I über den Referenzwert zu werten. Zudem wurde im Rahmen der möglichen EKG Veränderungen eine neu aufgetretene ST-Streckensenkung von über 1 mm in zwei benachbarten Ableitungen, eine T-Negativierung von über 1 mm in mindestens drei nebeneinander liegenden Ableitungen mit Ausnahme von V1 und aVR oder ein neu aufgetretener Linksschenkelblock gewertet.

Ältere Myokardinfarkte wurden für die Diagnose eines Myokardinfarktes durch ärztliche Dokumente wie z. B. Entlassungsbriefe anerkannt.

Es wurde in dieser Arbeit nicht zwischen akutem oder älterem Herzinfarkt oder zwischen Q-wave und „non-Q-Wave“ Infarkt unterschieden.

Der laborchemische Nachweis einer erhöhten Konzentration des Cholesterins (>250mg/dl ohne KHK-Risikofaktoren; >200mg/dl mit KHK-Risikofaktoren, >180mg/dl bei bestehender KHK/Arteriosklerose), der Triglyceride (>200mg/dl) und der Lipoproteine (Lipoprotein (a), Risikogrenze >30mg/dl), führte zur Einstufung der Patienten in den Parameter **Hyperlipoproteinämie**. Eine weitere Unterteilung des Lipoproteinstoffwechsels und sonstiger Lipidämien fand nicht statt. Patienten mit bestehender Diagnose und / oder medikamentöser Behandlung wurden ebenfalls in diese Gruppe aufgenommen.

Als **Raucher** wurden alle aktuellen und ehemaligen (< sieben Jahre) Zigaretten-, Zigarren und Pfeifenraucher eingestuft.

Der Parameter **Diabetes mellitus** wurde über einen Plasmaglukosespiegel von größer 126 mg/dl nach zumindest achtstündiger Nahrungskarenz oder einen 2-h-Plasmaglukosewert von 200 mg/dl beim oralen Glukose- Toleranztest mit 75 g Glukose und das Vorliegen eines

Erhöhten HbA1c oder durch eine bestehende antidiabetische Therapie mit oralen Antidiabetika bzw. Insulin definiert.

Adipositas: Die Definition wurde nach den WHO Kriterien ausgerichtet und lag bei einem Body-Maß-Index (BMI) größer 30 kg/m, übergewichtige Patienten mit einem BMI von >25 wurden mit aufgenommen.

Für das Vorliegen einer arteriellen **Hypertonie** war ein mindestens dreimal gemessener systolischer Blutdruck größer 140 mm Hg und/oder ein diastolischer Wert 90 mm Hg oder das Bestehen einer antihypertensiven Therapie notwendig.

3.3 Versuchsdurchführung

Die Proben wurden in der allgemeinen Notfall und/oder Routinediagnostik durch standardisierte Blutentnahmen (im Liegen, nach 20 min Ruhe, kein Vacotainer System) entnommen.

Im Rahmen der Routinelaborparameter wurde ein weiteres Zitratröhrchen Blut gewonnen. Dieses wurde mit 5000 U/min für 15 min abzentrifugiert, Plasma und Blut wurden in 1,5 ml EppendorfgeläÙe separiert und bei - 80 Grad Celsius eingefroren.

Die 173 klinisch erworbenen Proben und 560 DNA Proben wurden unter Trockeneiskühlung zum Biochemischen Institut der Firma Aventis Behring (Labor J. Römisch) transportiert und dort untersucht.

3.3.1 Versuchsablauf der PCR zur Suche nach Punktmutationen

3.3.2 Polymerase-Kettenreaktion

Mit der Polymerase Kettenreaktion (PCR) ist es möglich, durch einen zugefügten Primer einen klar definierten DNA-Abschnitt in hoher Anzahl zu vervielfältigen. Der Primer entspricht dabei einer festgelegten DNA-Sequenz, die dem Reaktionsgemisch zugefügt wird und die sich der DNA an den ihr komplementären Stellen anlagert. Der Primer stellt somit einen Startpunkt für die replizierenden Enzyme dar und markiert damit den Anfang und das Ende des zu vervielfältigenden Abschnitts der DNA. Abbildung 7. zeigt eine vereinfachte Form der Durchführung.

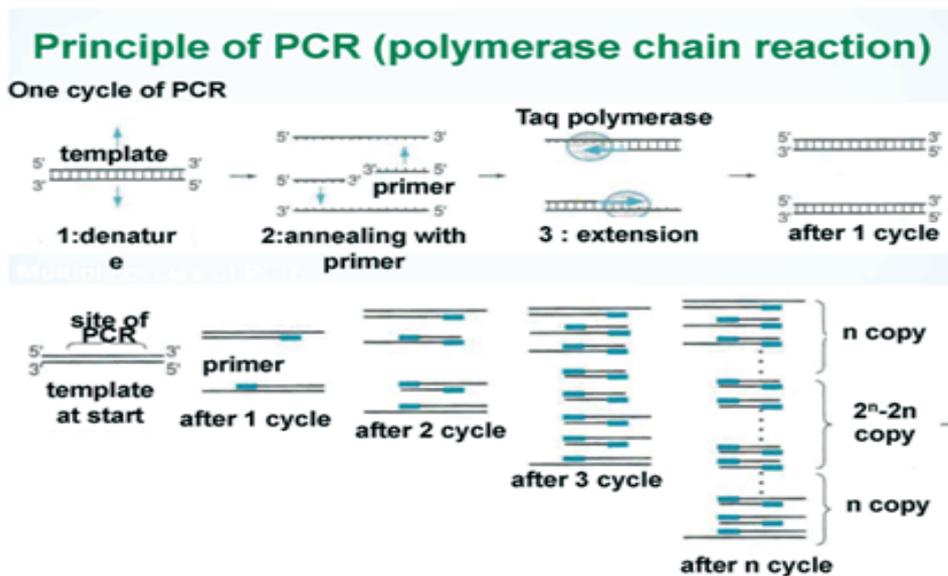


Abbildung 7. PCR Ablauf ⁹⁰

3.3.3 DNA Isolierung und Sequenzierung

DNA wurde aus gefrorenem Vollblut mit einem DNA Isolierungs- Kit (Genomic- Prep- Blood-DNA Isolation Kit von Amersham Pharmacia Biothec) gewonnen.

Fünf (5) µl DNA wurden in einem „Taq-gold-reaction“ Puffer mit 50 pmol forward und reverse Primer wie 2,5 pmol vom Wildtyp und einer mutanten spezifischen Probe vermischt. Zudem enthielt der Lösungsansatz 3 mmol/Liter Magnesiumchlorid 200 mmol/Liter Desoxynucleosidtriphosphat und 1,2 Units Taq Gold DNA Polymerase (Perkin Primer) in einem Gesamtvolumen von etwa 50 µl. Es handelt sich dabei um ein hitzestabiles Polypeptid, das trotz der hohen Temperaturen in der Denaturierungsphase noch intakt ist.

Der Ansatz der PCR erfolgte als 50 µl-Ansatz in 96er Mikrotiterplatten.

3.3.4 Amplifizierung

Die Amplifizierung teilt sich in die Schritte Denaturierung, Annealing und Extension auf. Es folgte eine initiale Denaturierung von 10 Minuten bei 95°, danach 50 Zyklen mit einer alternierenden Denaturierung mit 1 Minute bei 95° Celsius. In weiteren Schritten erfolgte die duplizierende Elongation mit einem Perkin Elmer 7700 Real Time PCR-Gerät.

Während der Amplifizierung wächst die Anzahl der neu synthetisierten doppelsträngigen DNA-Moleküle, in der Regel mit einer Verdopplungsrate pro Zyklus.

Ein programmierter Ablauf legt die während der einzelnen Schritte herrschenden Temperaturen fest. Während der Denaturierung sorgt eine hohe Temperatur für die Auftrennung des DNA-Doppelstranges in die beiden Einzelstränge. Während der Annealingzeit sinkt die Temperatur und gibt den Primern die Möglichkeit, sich an die einzelnen DNA Stränge anzulagern. Die optimale Annealingtemperatur ist unter anderem abhängig von der Länge des gewählten Primers und dem Anteil Basen in der Sequenz, da diese eine besonders hohe Annealingtemperatur verlangen. Die errechnete Temperatur wurde dann experimentell optimiert, indem die Primer bei verschiedenen Annealingtemperaturen verwendet wurden und dann der quantitativ erfolgreichste Versuch bestimmt wurde.

Marburg 1 (Gly511Glu) Polymorphismus wurde isoliert und mit den folgenden Modifikationen vervielfältigt: 22,5 pmol forward Primer (5`GTGTCCATT-GTTGGCCATGAG3`) und reverse Primer (5`GATGTCTCTGGTTCACGAGG3`), dreimal 5 pmol Wildtyp (5`Fam-CTGGAGTGTGGGAAGAGGC-Tarama3`) sowie eine Mutant-spezifische Probe (5`Tet-CTGGAGTGGAGAAGAGGC-Tamara3`), zudem 63 Units „taq gold DNA Polymerase“ mit Gesamtvolumen von 25 µl. In weiteren Schritten erfolgte ebenfalls die Denaturierung mit zehn Minuten auf 95° und einer alternierenden Denaturierung von 15 Minuten bei 92° Celsius. Die

Evaluation der Ergebnisse wurde nach Typ und Mutantenfragmenten in equimolaren Versuchen verglichen ⁵⁹.

Der Marburg 2(Glu370Gln)Polymorphismus wurde in gleicher Weise isoliert, allerdings mit folgenden Primern: 22,5pmol forward Primer (5`ATCTCATCTCTTT-CAGTTGTAGTGGC3`), reverse Primer (5`GGACCAGGACCTGAAGAAAGAAG3`), 5 pmol des Wild Types (5`Fam-ATATCTTCTCCACCCTAAA-minor groove binding protein [mbg] 3`), und die Mutant-spezifische Probe (5`Vic-TATCTTCTGCACCCTAAA-mbg3`).

3.4 Statistische Methoden und grafische Darstellung

Die statistische Auswertung hatte zum Ziel, in dem Studienkollektiv von 733 Patienten eine positive oder negative Korrelation zwischen dem Marburg I - Mutation und der Manifestation eines Myokardinfarktes oder einer koronaren Herzkrankheit entweder nachzuweisen oder zu widerlegen. Nach Erfassung der Daten in Papierform erfolgte die doppelt geprüfte Übertragung in eine Excel-Tabelle.

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 19.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt.

Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte und Mediane, während die Streumaße als Standardabweichungen und Quartile angegeben wurden.

Die durchgeführten Kolmogorov-Smirnov-Tests belegten, dass die zu analysierenden Stichproben nicht normalverteilt waren. Bei den Vergleichen der Stichproben wurden daher durchgehend nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben herangezogen.

Die kategorisierten Daten wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests bzw. des exakten Tests nach Fisher ausgewertet.

Zur Bestimmung des Risikos bezüglich des Auftretens eines Ereignisses wurde die Odds ratio (OR) bestimmt. Diese beschreibt das Risiko für das Auftreten eines Ereignisses – z.B. einer Krankheit – beim Vorliegen einer bestimmten Bedingung (z.B. einem Risikofaktor) im Vergleich zu einem Kollektiv ohne diesen Risikofaktor.

Die Odds ratio berechnet sich folgendermaßen:

	Krankheit	
	ja	nein
Risiko	a	b
Kein Risiko	c	d

OR für die Risikogruppe: $(a \times d) / (c \times b)$

Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein p-Wert $< 0,05$ als statistisch signifikant angenommen wurde. Ergebnisse mit einem p-Wert $\leq 0,15$ wurden als Trend interpretiert.

Die Grafiken wurden ebenfalls mit SPSS erstellt. Hierbei wurden die kategorisierten Daten mit Hilfe von Balkendiagrammen dargestellt.

4. Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Insgesamt wurden in der vorliegenden Fallkontrollstudie 733 Patienten, die zu diagnostischen Zwecken koronarangiographiert worden sind, für die Marburg I und II Mutationen genotypisiert. Anamnestische Daten sowie zahlreiche technische und Labormesswerte wurden erfasst und ausgewertet.

Abb.8) zeigt die Altersverteilung. Das mittlere Alter lag bei $62,6 \pm 9,7$ Jahren, der Median bei 63,0 Jahren.

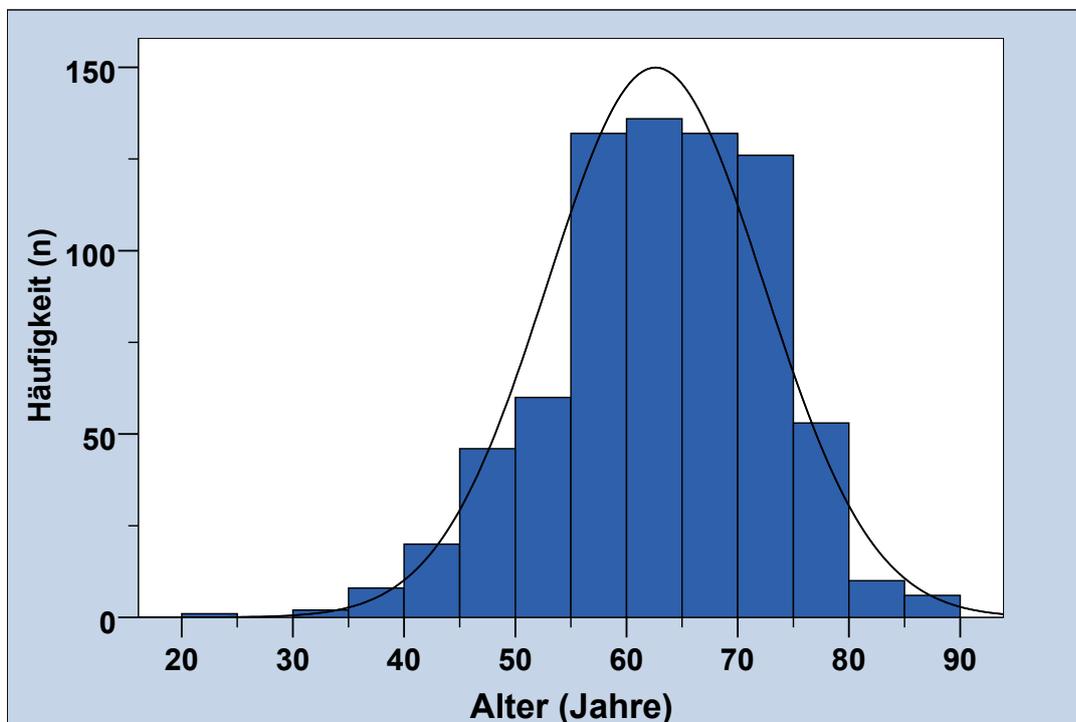


Abb.8. Altersverteilung

4.2 Vergleich der epidemiologischen Parameter und des Koronarstatus bezüglich SNP1 und SNP2

4.2.1. Adipositas

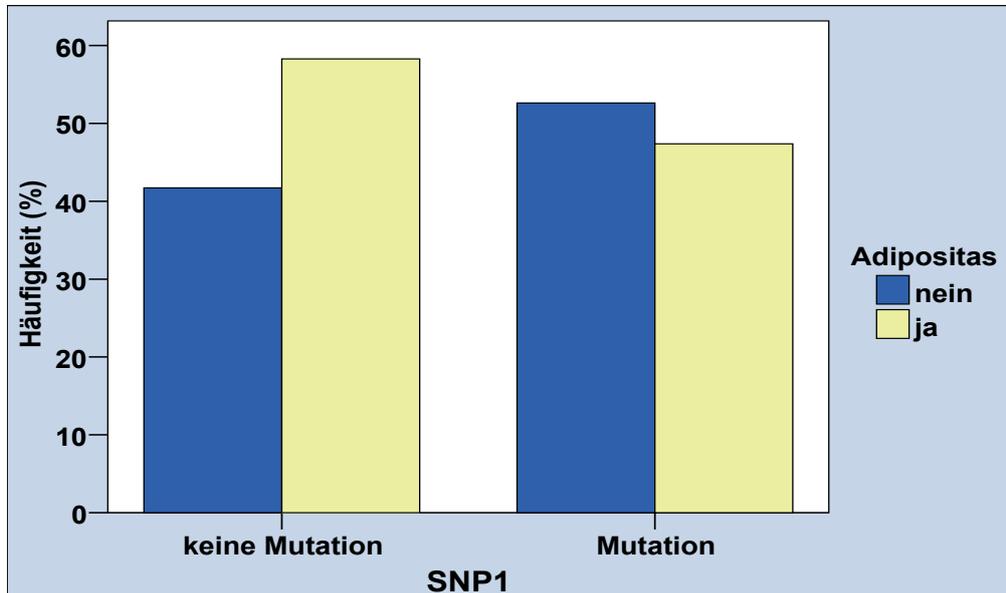


Abbildung 9. Adipositas mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Adipositas nein	Anzahl	282	30	312	
	% von Adipositas	90,4%	9,6%	100,0%	
	% von SNP1	41,7%	52,6%	42,6%	
ja	Anzahl	394	27	421	
	% von Adipositas	93,6%	6,4%	100,0%	
	% von SNP1	58,3%	47,4%	57,4%	
Gesamt	Anzahl	676	57	733	
	% von Adipositas	92,2%	7,8%	100,0%	
	% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabelle 1) Adipositas mit vs. ohne SNP1-Mutation

Tab.1) und Abb. 9) veranschaulichen den Anteil an Adipositas mit vs. ohne SNP1-Mutation. Unter den 733 Probanden fanden sich 57,4% Personen (n = 421), die adipös waren. Von diesen Personen konnte die SNP1-Mutation bei 6,4% (n=27) der Probanden nachgewiesen werden, während in der Gruppe der „nicht Adipösen“ der Anteil der Mutationsträger 9,6% (n=30) betrug. Bezüglich dieses beschriebenen Unterschiedes bestand im Fisher-Test keine statistische Signifikanz (p=0,125).

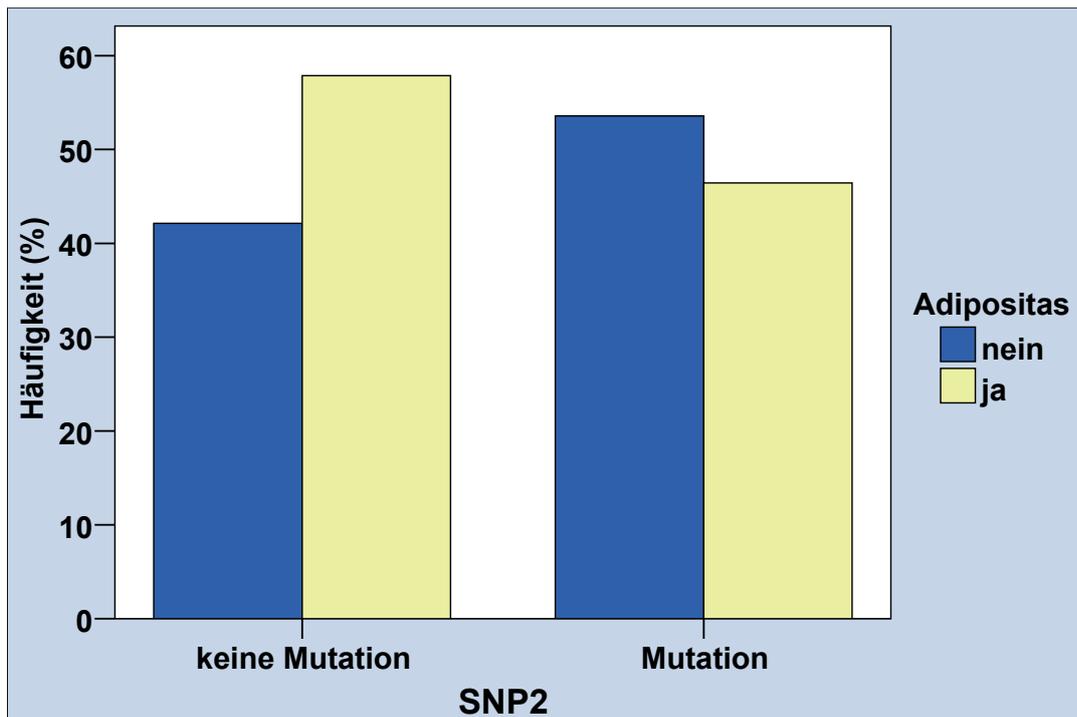


Abb. 10. Adipositas mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Adipositas	nein	Anzahl	297	15	312
		% von Adipositas	95,2%	4,8%	100,0%
		% von SNP2	42,1%	53,6%	42,6%
	ja	Anzahl	408	13	421
		% von Adipositas	96,9%	3,1%	100,0%
		% von SNP2	57,9%	46,4%	57,4%
Gesamt		Anzahl	705	28	733
		% von Adipositas	96,2%	3,8%	100,0%
		% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%

Tab.2) Adipositas mit vs. ohne SNP2-Mutation

Der Anteil an Adipositas mit vs. ohne SNP2-Mutation wird in Tab.2) und Abb. 10) dargestellt. In der Untersuchung der SNP2-Mutation waren 3,1% (n=13) der adipösen Patienten Mutationsträger, in der Gruppe der Personen mit normalem BMI konnte in 4,8% (n=15) die SNP2-Mutation nachgewiesen werden. Auch hier war durch die statistische Untersuchung keine Signifikanz zu erhalten (Fisher-Test; p=0,247).

4.2.2. Raucher

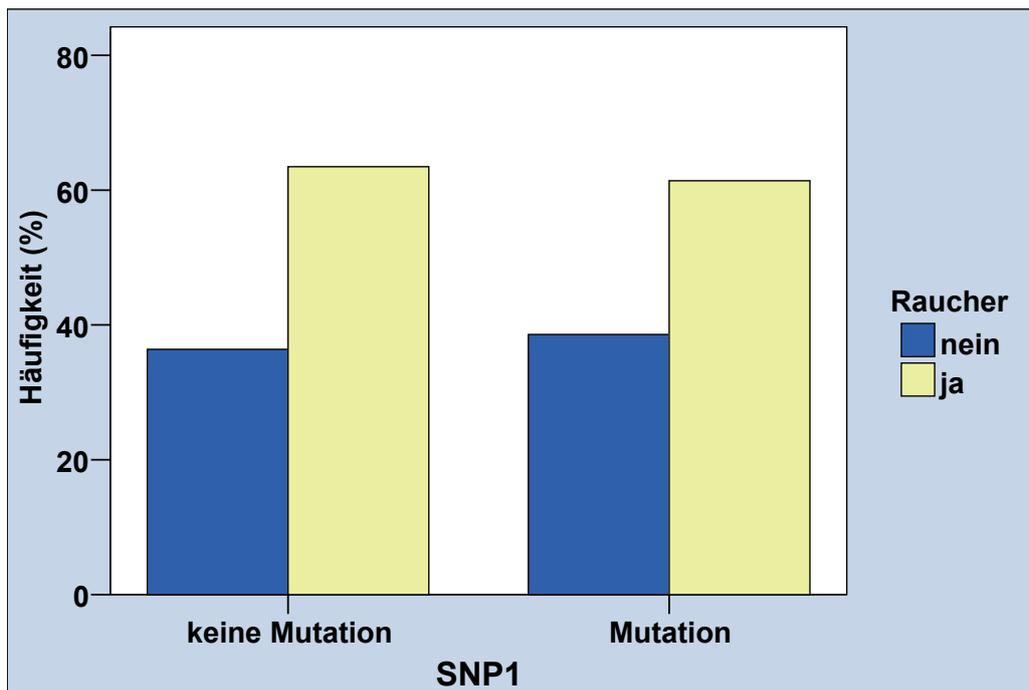


Abbildung 11. Nikotinstatus mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Raucher nein	Anzahl	246	22	268	
	% von Raucher	91,8%	8,2%	100,0%	
	% von SNP1	36,4%	38,6%	36,6%	
ja	Anzahl	429	35	464	
	% von Raucher	92,5%	7,5%	100,0%	
	% von SNP1	63,5%	61,4%	63,3%	
Keine Angabe	Anzahl	1	0	1	
	% von Raucher	100,0%	,0%	100,0%	
	% von SNP1	,1%	,0%	,1%	
Gesamt	Anzahl	676	57	733	
	% von Raucher	92,2%	7,8%	100,0%	
	% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabelle 3) Nikotinstatus mit vs. ohne SNP1-Mutation

Während bei Rauchern bei 7,5% (n=35) eine Mutation nachgewiesen wurde, bestand der Anteil an Patienten mit Mutation bei Nichtrauchern bei 8,2% (n=22). Hinsichtlich dieses diskreten Unterschiedes bestand keine statistische Signifikanz im Chi-Quadrat-Test. ($p=0,910$) [Abbildung 11. und Tabelle 3)].

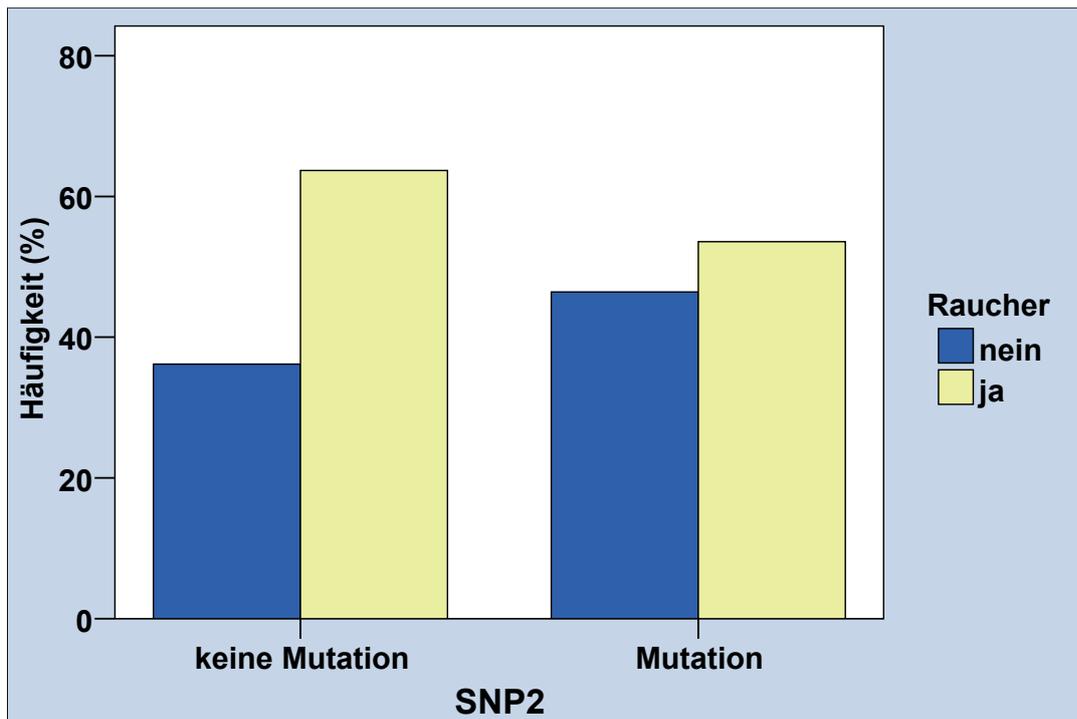


Abb. 12. Nikotinstatus mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Raucher	nein	Anzahl	255	13	268
		% von Raucher	95,1%	4,9%	100,0%
		% von SNP2	36,2%	46,4%	36,6%
	ja	Anzahl	449	15	464
		% von Raucher	96,8%	3,2%	100,0%
		% von SNP2	63,7%	53,6%	63,3%
keine Angabe	Anzahl	1	0	1	
	% von Raucher	100,0%	,0%	100,0%	
	% von SNP2	,1%	,0%	,1%	
Gesamt	Anzahl	705	28	733	
	% von Raucher	96,2%	3,8%	100,0%	
	% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%	

Tab. 4) Nikotinstatus mit vs. ohne SNP2-Mutation

Wie der aus Abbildung 12. und Tabelle 4) zu entnehmen ist, bestand ebenfalls kein wesentlicher Unterschied bezüglich der SNP2-Mutation bei Rauchern und Nichtrauchern (Chi-Quadrat Test

p=0,535). Bezüglich der genauen Angaben sei auf oben genannte Tabelle und Abbildung verwiesen.

4.2.3 Diabetes mellitus

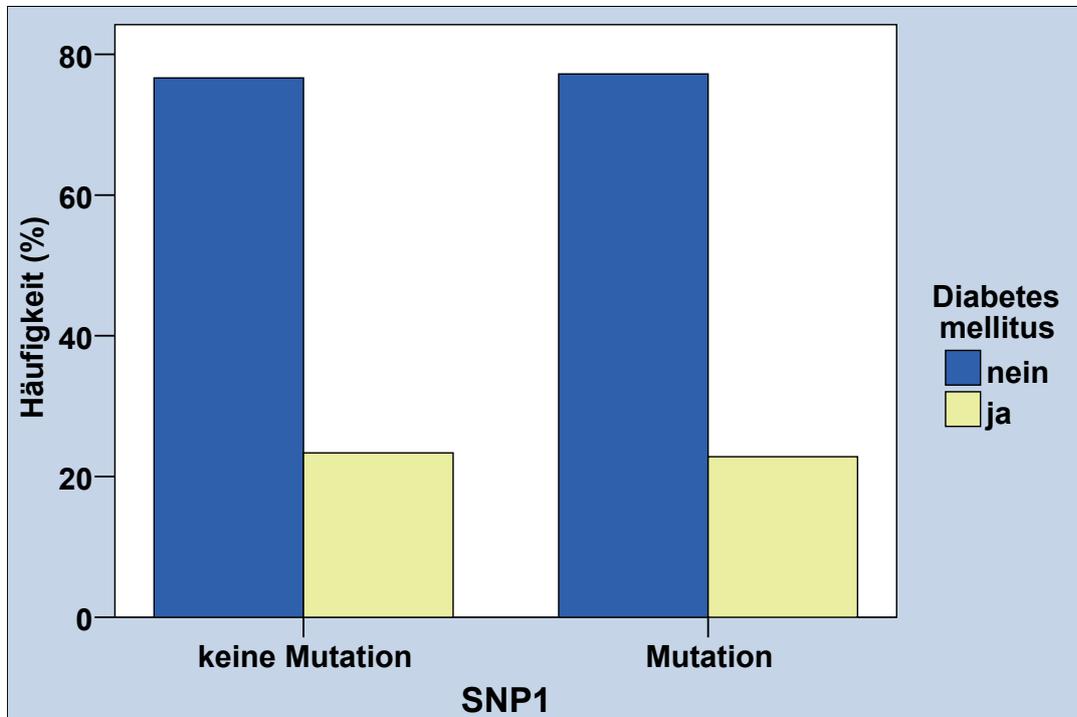


Abbildung 13. Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Diabetes mellitus	nein	Anzahl	518	44	562
		% von Diabetes mellitus	92,2%	7,8%	100,0%
	% von SNP1	76,6%	77,2%	76,7%	
ja	Anzahl	158	13	171	
		% von Diabetes mellitus	92,4%	7,6%	100,0%
	% von SNP1	23,4%	22,8%	23,3%	
Gesamt	Anzahl	676	57	733	
		% von Diabetes mellitus	92,2%	7,8%	100,0%
	% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%	

Tab 5) Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP1-Mutation

Insgesamt waren von den 733 Patienten 21% (n=158) an einem Diabetes mellitus erkrankt. Die verschiedenen Typen des Diabetes mellitus wurden nicht berücksichtigt.

Die Häufigkeiten der SNP1-Mutation mit vs. ohne Diabetes mellitus waren mit 7,8% (n=44) bzw. 7,6% (n=13) annähernd identisch, so dass diesbezüglich keine statistische Signifikanz erhoben werden konnte (Fisher Test, $p=1,0$).

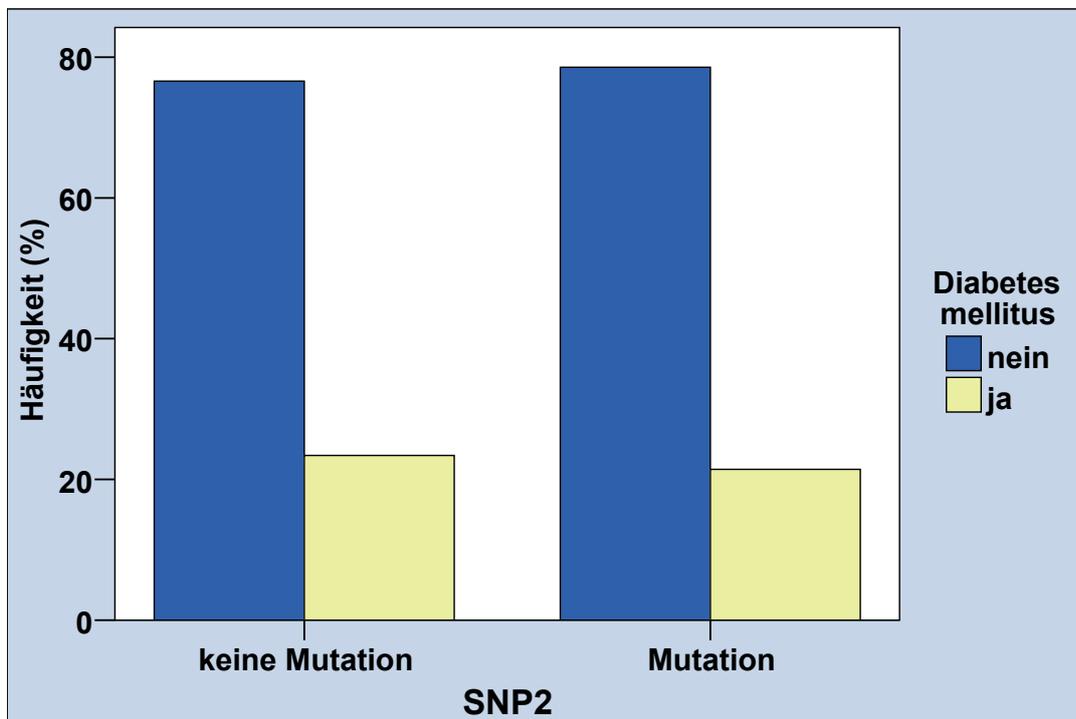


Abbildung 14. Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		
			keine Mutation	Mutation	Gesamt
Diabetes mellitus	nein	Anzahl	540	22	562
		% von Diabetes mellitus	96,1%	3,9%	100,0%
	% von SNP2	76,6%	78,6%	76,7%	
ja	Anzahl	165	6	171	
		% von Diabetes mellitus	96,5%	3,5%	100,0%
	% von SNP2	23,4%	21,4%	23,3%	
Gesamt	Anzahl	705	28	733	
		% von Diabetes mellitus	96,2%	3,8%	100,0%
	% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%	

Tab.6) Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP2-Mutation

In der Analyse der Daten für Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP2-Mutation ergaben sich ähnliche Ergebnisse. 3,5% der Diabetiker (n=6) und 3,9% der Nicht-Diabetiker (n=22) wiesen eine SNP2-Mutation auf. Im Fisher Test war erneut ein $p=1,0$ zu erhalten, so dass sich kein Anhalt für einen

Einfluss der SNP2-Mutation auf die Prävalenz des Diabetes mellitus ergab (Abbildung 14. und Tabelle 6)).

4.2.4 Hyperlipoproteinämie

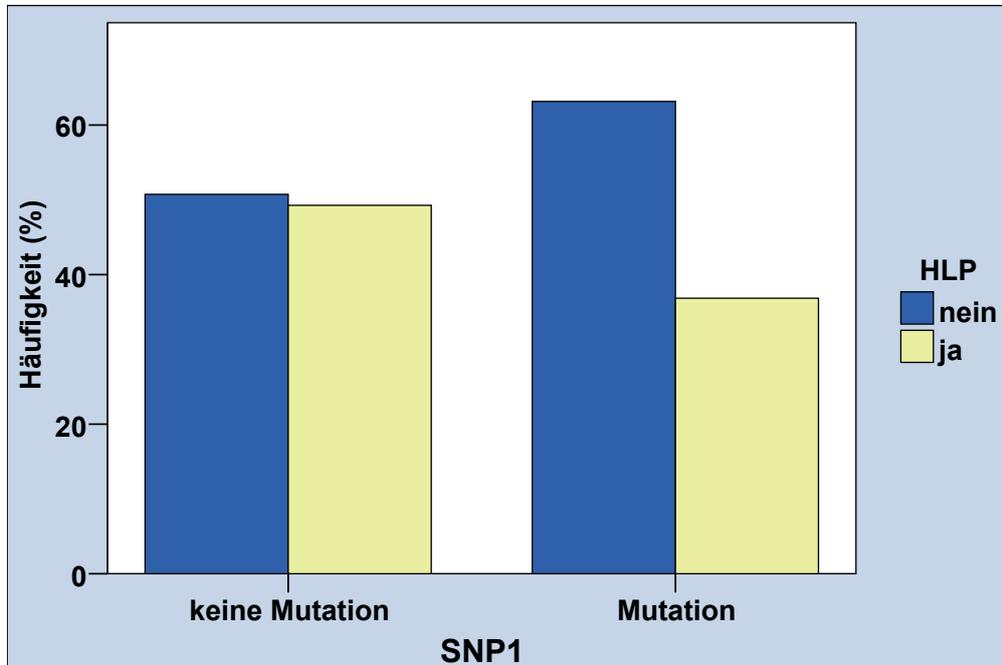


Abbildung 15. HLP mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		
			keine Mutation	Mutation	Gesamt
HLP	nein	Anzahl	343	36	379
		% von HLP	90,5%	9,5%	100,0%
		% von SNP1	50,7%	63,2%	51,7%
	ja	Anzahl	333	21	354
		% von HLP	94,1%	5,9%	100,0%
		% von SNP1	49,3%	36,8%	48,3%
Gesamt	Anzahl	676	57	733	
	% von HLP	92,2%	7,8%	100,0%	
	% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%	

Tab. 7) HLP mit vs. ohne SNP1-Mutation

Tab. 7) und Abb. 15. stellen den Anteil an Patienten mit Hyperlipoproteinämie (HLP) mit vs. ohne SNP1-Mutation dar. Unter den 733 Probanden fanden sich 48,2% Personen (n = 354), die die Diagnose einer HLP aufwiesen. Hier konnte die SNP1-Mutation bei 5,9% (n=21) der Probanden nachgewiesen werden, während in der Gruppe der Patienten ohne HLP der Anteil der Mutationsträger 9,5% (n=36) betrug. Bezüglich dieses beschriebenen Unterschiedes

bestand im Fisher-Test keine statistische Signifikanz, jedoch konnte ein deutlicher Trend berechnet werden ($p=0,074$).

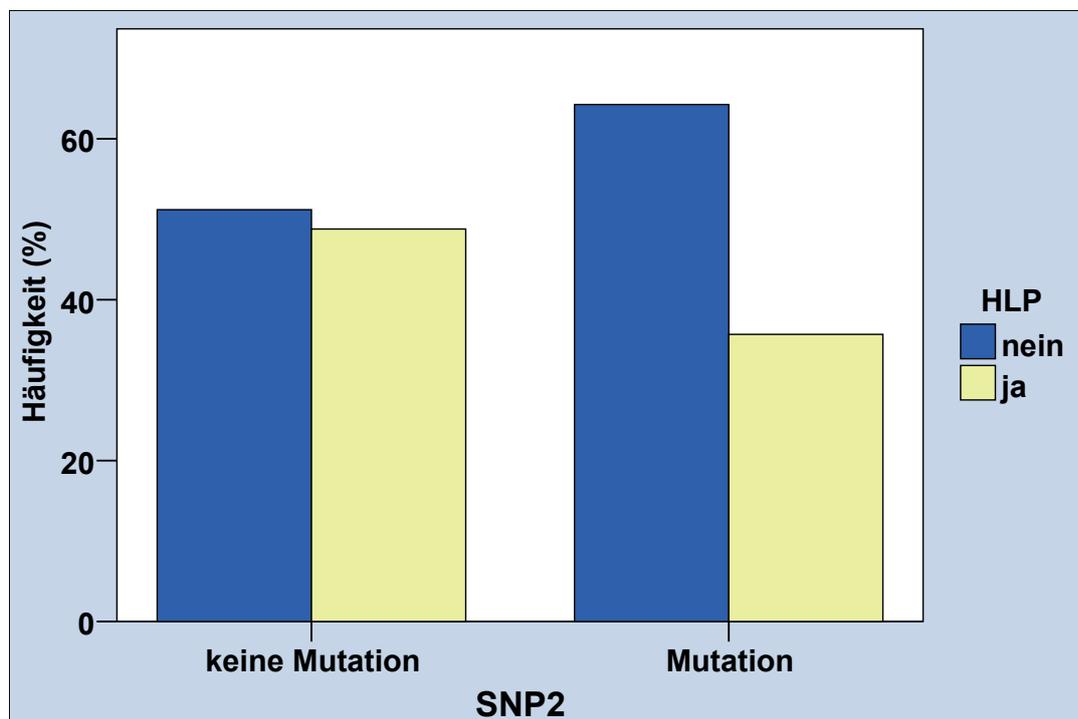


Abbildung 16. HLP mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		
			keine Mutation	Mutation	Gesamt
HLP	nein	Anzahl	361	18	379
		% von HLP	95,3%	4,7%	100,0%
		% von SNP2	51,2%	64,3%	51,7%
	ja	Anzahl	344	10	354
		% von HLP	97,2%	2,8%	100,0%
		% von SNP2	48,8%	35,7%	48,3%
Gesamt	Anzahl		705	28	733
	% von HLP		96,2%	3,8%	100,0%
	% von SNP2		100,0%	100,0%	100,0%

Tab.8) HLP mit vs. ohne SNP2-Mutation

Der Anteil an HLP mit vs. ohne SNP2-Mutation wird in Tab.8) und Abb. 16. dargestellt. Für die Untersuchung der SNP2-Mutation waren 2,8% ($n=10$) der Patienten mit erhöhten Blutfetten und bei der Gruppe der Personen mit normalem Blutfetten 4,7% ($n=18$). Auch hier war somit eine mäßige Differenz festzustellen, durch die statistische Untersuchung war auch hier keine Signifikanz zu erhalten (Fisher-Test; $p=0,184$).

4.2.5 Arterielle Hypertonie

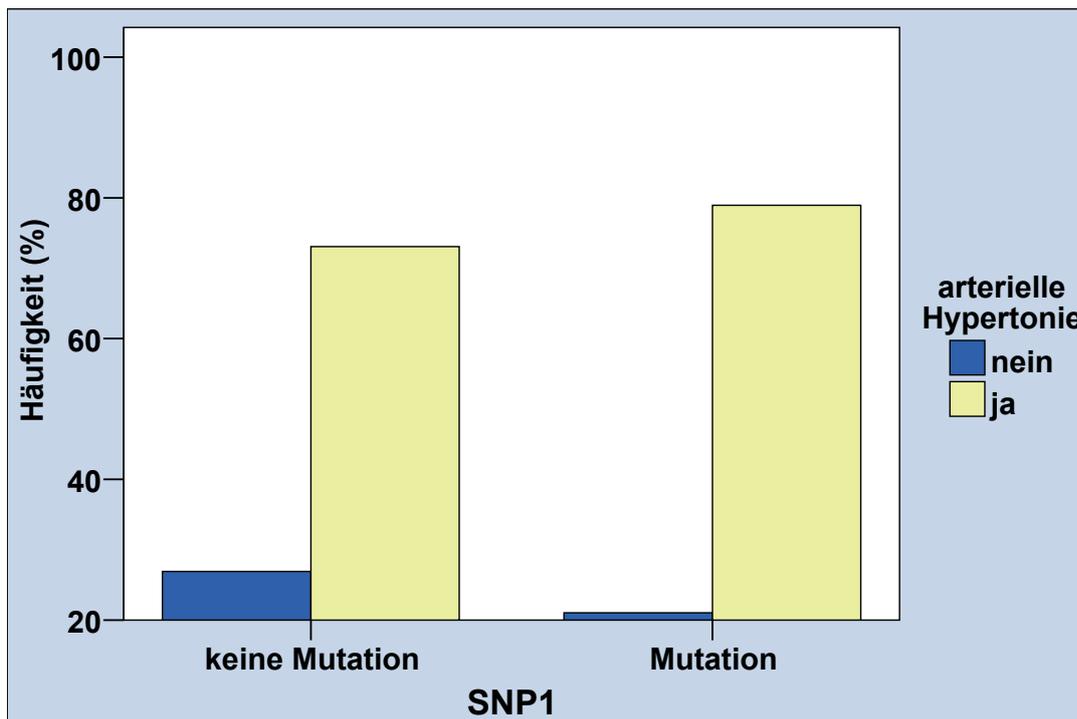


Abbildung 17. arterielle Hypertonie mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
arterielle Hypertonie	nein	Anzahl	182	12	194
		% von arterielle Hypertonie	93,8%	6,2%	100,0%
		% von SNP1	26,9%	21,1%	26,5%
	ja	Anzahl	494	45	539
		% von arterielle Hypertonie	91,7%	8,3%	100,0%
		% von SNP1	73,1%	78,9%	73,5%
Gesamt		Anzahl	676	57	733
		% von arterielle Hypertonie	92,2%	7,8%	100,0%
		% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%

Tab.9) arterielle Hypertonie mit vs. ohne SNP1-Mutation

Im Patientenkollektiv waren 539 Menschen an einem arteriellen Hypertonus erkrankt; das sind annähernd drei Viertel des Kollektivs (73,5%). Hier waren bei 8,3% (n= 45) eine SNP1-Mutation nachzuweisen; die Gruppe der Patienten ohne arteriellen Hypertonus wies 6,2% (n=12) Mutationsträger auf. Die statistische Untersuchung zeigte auch hier keine Signifikanz (Fisher-Test mit $p=0,434$). In Abbildung 17. und Tabelle 9) sind die Daten veranschaulicht.

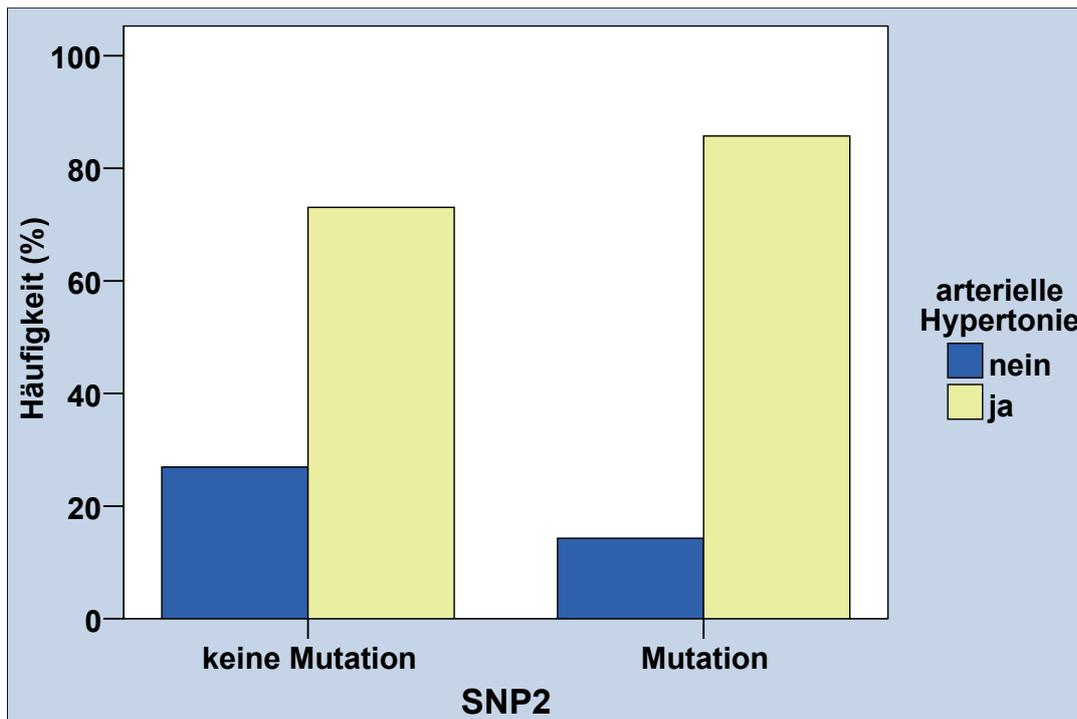


Abbildung 18. arterielle Hypertonie mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
arterielle Hypertonie	nein	Anzahl	190	4	194
		% von arterielle Hypertonie	97,9%	2,1%	100,0%
		% von SNP2	27,0%	14,3%	26,5%
	ja	Anzahl	515	24	539
		% von arterielle Hypertonie	95,5%	4,5%	100,0%
		% von SNP2	73,0%	85,7%	73,5%
Gesamt		Anzahl	705	28	733
		% von arterielle Hypertonie	96,2%	3,8%	100,0%
		% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%

Tab.10 arterielle Hypertonie mit vs. ohne SNP2-Mutation

Wie der Abbildung 18. und Tabelle 10) zu entnehmen ist, war eine SNP2-Mutation bei 4,5% (n=24) der Patienten mit arterieller Hypertonie und bei 2,1% (n=4) nachzuweisen. Somit ist die Prävalenz der Mutation in der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie etwa doppelt so hoch. Jedoch ist aufgrund der kleinen Fallzahl kein wesentlicher Unterschied bezüglich der SNP2-Mutation bei Patienten mit und ohne Diagnose einer arteriellen Hypertonie (Fisher-Test, $p=0,189$) zu sehen.

4.2.6 Herzinfarkt

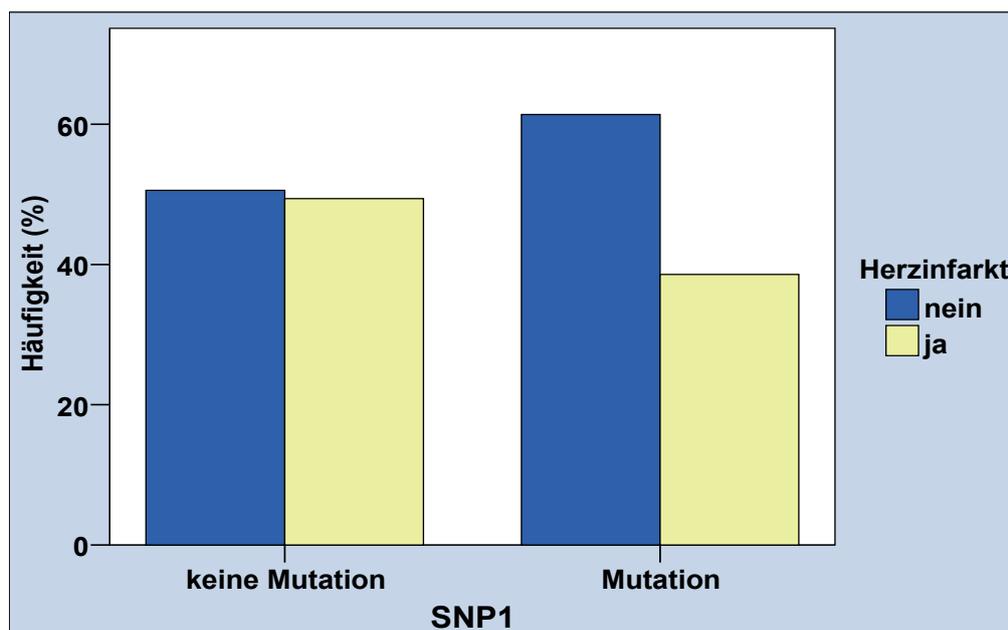


Abbildung 19. Herzinfarkt mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Herzinfarkt	nein	Anzahl	342	35	377
		% von Herzinfarkt	90,7%	9,3%	100,0%
		% von SNP1	50,6%	61,4%	51,4%
	ja	Anzahl	334	22	356
		% von Herzinfarkt	93,8%	6,2%	100,0%
		% von SNP1	49,4%	38,6%	48,6%
Gesamt		Anzahl	676	57	733
		% von Herzinfarkt	92,2%	7,8%	100,0%
		% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%

Tab 11) Herzinfarkt mit vs. ohne SNP1-Mutation

In der Analyse der Daten für den Herzinfarkt mit vs. ohne SNP1-Mutation ergaben sich folgende Ergebnisse: Insgesamt hatten 356 Patienten einen anamnestischen Herzinfarkt, einen klinisch nachgewiesenen Myokardinfarkt oder einen NSTEMI (non-ST-elevation myocardial infarction) was einen prozentualen Anteil von 48,6% darstellt. Hier waren 6,2% (n=22) dieser Patienten Träger der SNP1-Mutation.

Im Gegensatz hierzu wiesen 9,3% (n=35) der Patienten ohne Herzinfarkt eine SNP1 Mutation auf. In Fisher's exaktem Test war ein $p=0,130$ zu erhalten, so dass sich kein Anhalt für einen Einfluss der SNP1-Mutation auf die Prävalenz eines Herzinfarktes ergab (Abbildung 19. und Tabelle 11)).

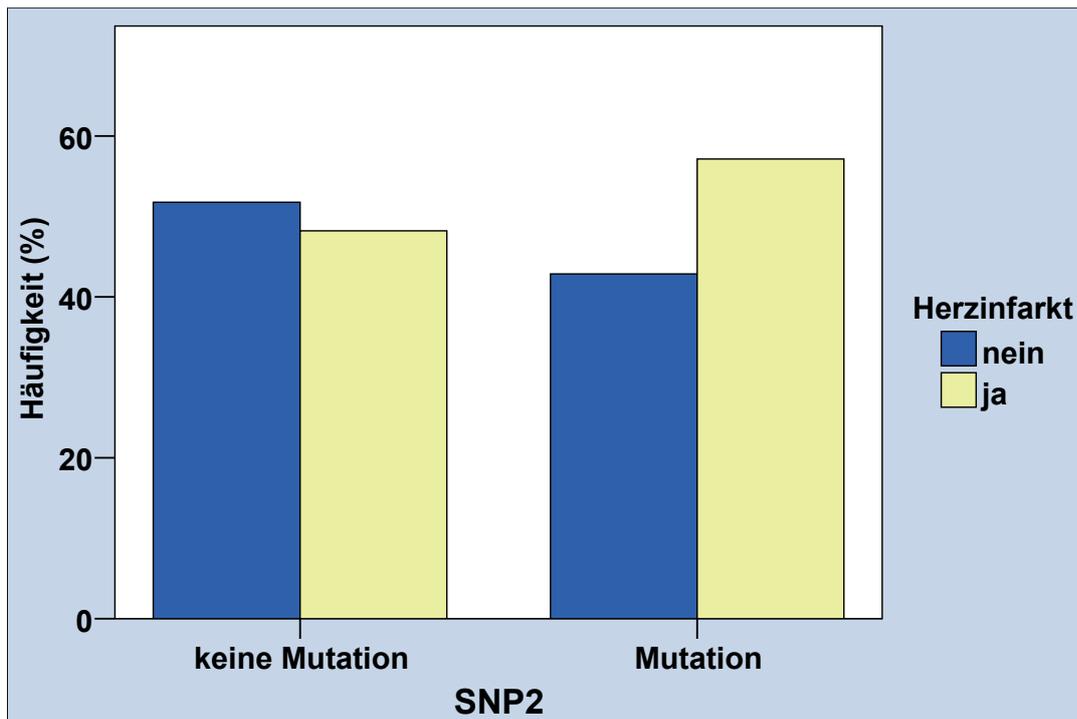


Abbildung 20. Herzinfarkt mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Herzinfarkt nein	Anzahl	365	12	377	
	% von Herzinfarkt	96,8%	3,2%	100,0%	
	% von SNP2	51,8%	42,9%	51,4%	
ja	Anzahl	340	16	356	
	% von Herzinfarkt	95,5%	4,5%	100,0%	
	% von SNP2	48,2%	57,1%	48,6%	
Gesamt	Anzahl	705	28	733	
	% von Herzinfarkt	96,2%	3,8%	100,0%	
	% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%	

Tab. 12) Herzinfarkt mit vs. ohne SNP2-Mutation

Die Häufigkeiten der SNP2-Mutation mit vs. ohne Herzinfarkt waren mit 4,5% (n=16) bzw. 3,2% (n=12) leicht unterschiedlich, jedoch war in der statistischen Datenanalyse nach Fisher ein p-Wert von 0,441 und somit keine Signifikanz bezüglich dieses Unterschiedes zu erhalten. Insgesamt gesehen ist somit ist kein Zusammenhang zwischen der SNP2-Mutation und dem Herzinfarkt abzuleiten (Abbildung 20. und Tabelle 12)).

4.2.7 KHK gesamt

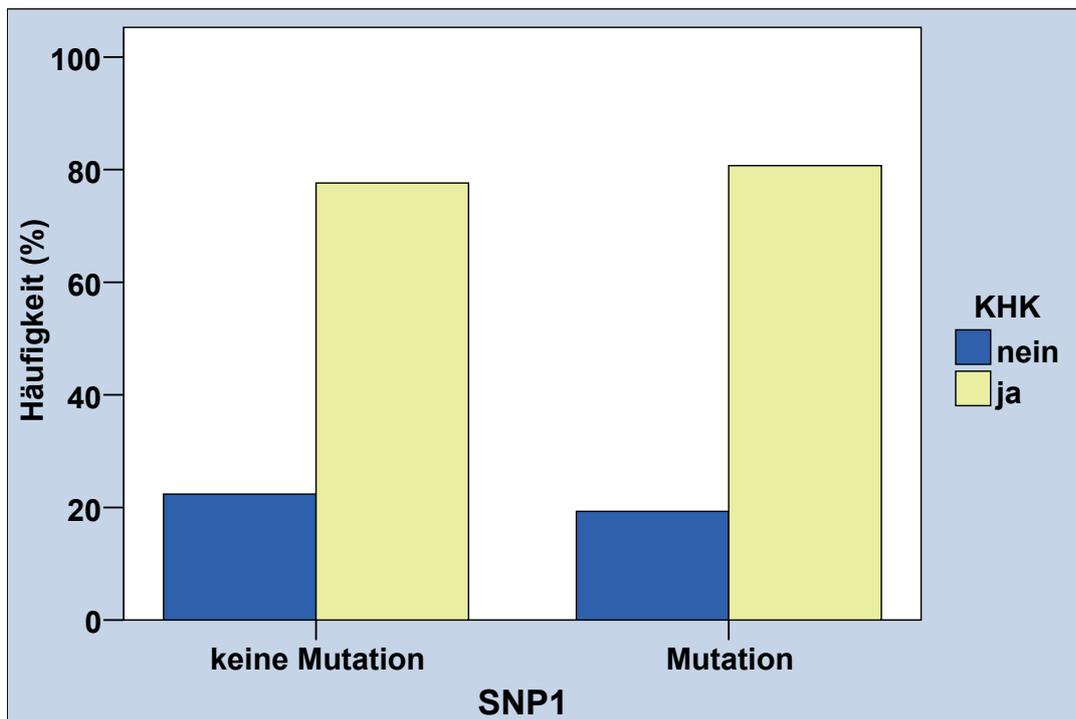


Abbildung 21. KHK mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		
			keine Mutation	Mutation	Gesamt
KHK	nein	Anzahl	151	11	162
		% von KHK	93,2%	6,8%	100,0%
		% von SNP1	22,4%	19,3%	22,1%
	ja	Anzahl	524	46	570
		% von KHK	91,9%	8,1%	100,0%
		% von SNP1	77,6%	80,7%	77,9%
Gesamt		Anzahl	675	57	732
		% von KHK	92,2%	7,8%	100,0%
		% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%

Tab 13) KHK mit vs. ohne SNP1-Mutation

Im Patientenkollektiv waren 570 Personen an einer koronaren Herzerkrankung erkrankt, das sind mehr als drei Viertel des Kollektivs (77,9%). Hier waren bei 8,1% (n= 46) eine SNP1-Mutation nachzuweisen, die Gruppe der Patienten ohne koronarer Herzkrankheit wies dagegen 6,8% (n=11) Mutationsträger auf. Die statistische Untersuchung zeigte bezüglich dieses diskreten Unterschiedes keine Signifikanz (Fischer Test mit $p=0,74$), so dass sich kein Anhalt für einen wesentlichen Einfluss der SNP1-Mutation auf die Entstehung ergibt. In Abbildung 21.und Tabelle 13) sind die Daten einzusehen.

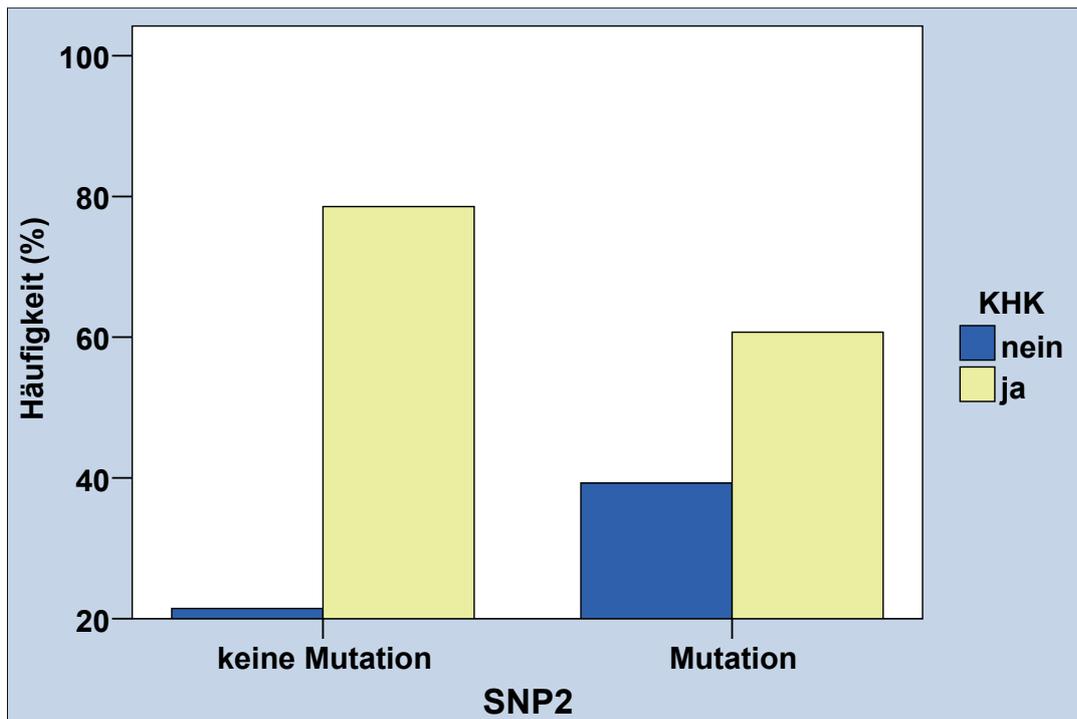


Abbildung 22. KHK mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
KHK	nein	Anzahl	151	11	162
		% von KHK	93,2%	6,8%	100,0%
		% von SNP2	21,4%	39,3%	22,1%
	ja	Anzahl	553	17	570
		% von KHK	97,0%	3,0%	100,0%
		% von SNP2	78,6%	60,7%	77,9%
Gesamt		Anzahl	704	28	732
		% von KHK	96,2%	3,8%	100,0%
		% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%

Tab.14) KHK mit vs. ohne SNP2-Mutation

Der Anteil an koronarer Herzerkrankung mit vs. ohne SNP2-Mutation wird in Tab.14) und Abb.22. dargestellt. Für die Untersuchung der SNP2-Mutation waren 3,0% der Patienten mit einer KHK (n=17) und bei der Gruppe der Personen ohne KHK 6,8% (n=11). Die Träger der SNP2-Mutation waren somit mehr als doppelt so häufig in der nicht erkrankten Gruppe zu finden. Hier war durch die statistische Untersuchung eine Signifikanz zu erhalten (Fisher-Test; $p=0,035$). In der Odds Ratio bezüglich der SNP2-Mutation ergab sich eine OR von 0,422, so dass hier der Hinweis einer Protektion der SNP2 Mutation besteht.

4.2.8 Koronarstatus

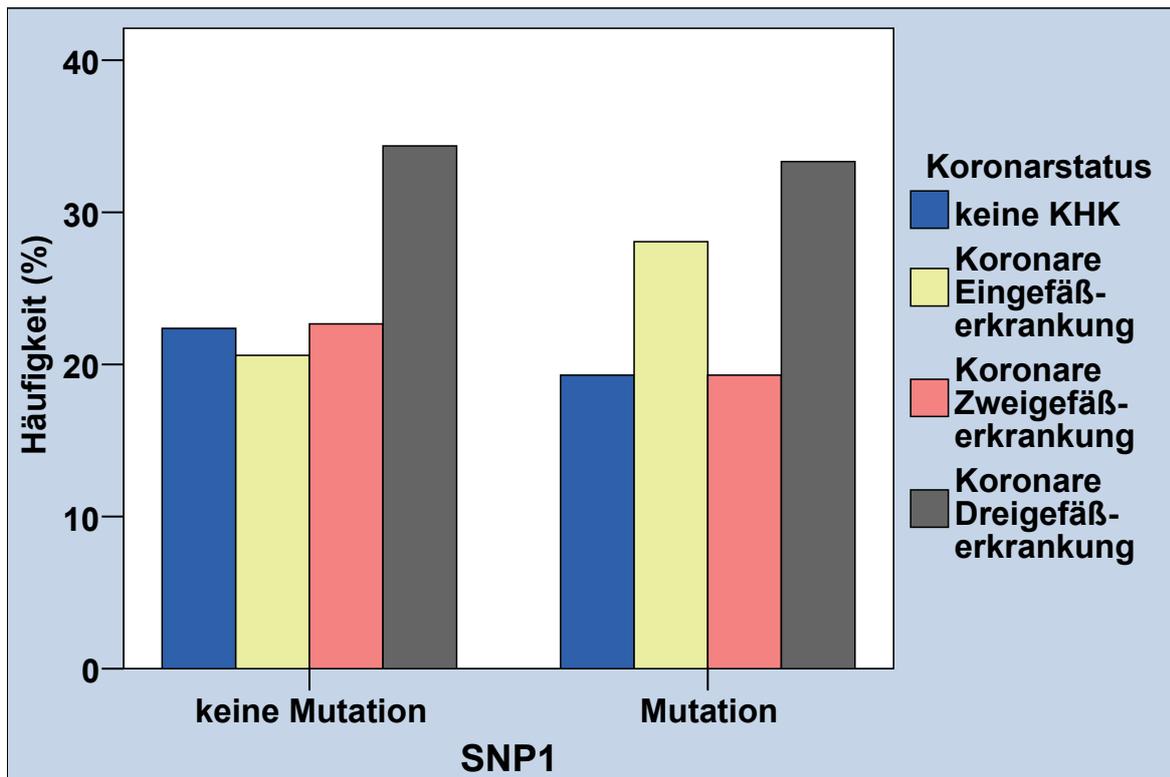


Abbildung 23. Koronarstatus mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Koronarstatus	keine KHK	Anzahl	151	11	162
		% von Koronarstatus	93,2%	6,8%	100,0%
	Koronare Eingefäß-erkrankung	% von SNP1	22,4%	19,3%	22,1%
		Anzahl	139	16	155
	Koronare Zweigefäß-erkrankung	% von Koronarstatus	89,7%	10,3%	100,0%
		% von SNP1	20,6%	28,1%	21,2%
	Koronare Dreigefäß-Erkrankung	Anzahl	153	11	164
		% von Koronarstatus	93,3%	6,7%	100,0%
	Gesamt	% von SNP1	22,7%	19,3%	22,4%
		Anzahl	232	19	251
		% von Koronarstatus	92,4%	7,6%	100,0%
		% von SNP1	34,4%	33,3%	34,3%
		Anzahl	675	57	732
		% von Koronarstatus	92,2%	7,8%	100,0%
		% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%

Tab 15) Koronarstatus mit vs. ohne SNP1-Mutation

Es wurde zur weiteren Analyse eine Subgruppenuntersuchung der koronaren Herzerkrankung vorgenommen. Es erfolgte die Unterteilung in vier Gruppen: keine KHK, Eingefäß-KHK, Zweigefäß-KHK und Dreigefäß-KHK. An einer Eingefäß-KHK waren insgesamt 21,1% Patienten erkrankt (n=155). Hier waren 10,3% (n=16) SNP1-Mutationsträger nachzuweisen. In der Gruppe der Zweigefäß-KHK Patienten fanden sich 22,4% des Kollektivs (n=164). Der Anteil der SNP1-Mutationen lag hier bei 6,7%. Die letzte Gruppe der Patienten mit einer Dreigefäß-KHK ergab die größte Gruppe mit 34,3% (n=251). Dort fanden sich 7,6% (n=19) Patienten, wo sich die SNP1-Mutation nachweisen ließ. Insgesamt gesehen ist somit ist kein Zusammenhang zwischen der SNP1-Mutation und des Koronarstatus erkennbar, so dass die statistische Berechnung im Chi-Quadrat- Test keine Signifikanz zeigte (p=0,595). In Tabelle 15) und Abbildung 23. wird dies dargestellt.

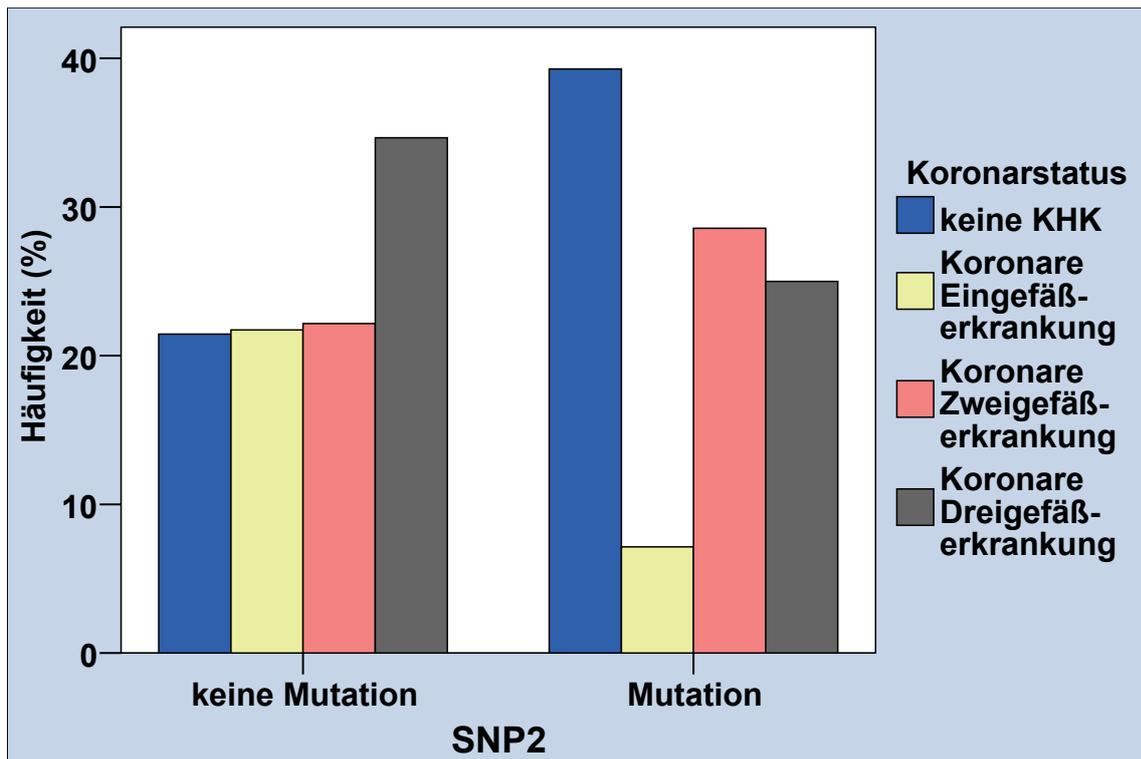


Abbildung 24. Koronarstatus mit vs. ohne SNP2-Mutation

			SNP2		Gesamt
			keine Mutation	Mutation	
Koronarstatus	keine KHK	Anzahl	151	11	162
		% von Koronarstatus	93,2%	6,8%	100,0%
		% von SNP2	21,4%	39,3%	22,1%
	Koronare Eingefäß-erkrankung	Anzahl	153	2	155
		% von Koronarstatus	98,7%	1,3%	100,0%
		% von SNP2	21,7%	7,1%	21,2%
	Koronare Zweigefäß-erkrankung	Anzahl	156	8	164
		% von Koronarstatus	95,1%	4,9%	100,0%
		% von SNP2	22,2%	28,6%	22,4%
	Koronare Dreigefäß-erkrankung	Anzahl	244	7	251
		% von Koronarstatus	97,2%	2,8%	100,0%
		% von SNP2	34,7%	25,0%	34,3%
Gesamt	Anzahl	704	28	732	
	% von Koronarstatus	96,2%	3,8%	100,0%	
	% von SNP2	100,0%	100,0%	100,0%	

Tab 16) Koronarstatus mit vs. ohne SNP2-Mutation

Die Untersuchung der SNP2-Mutation wurde ebenfalls in oben genannte Subgruppen aufgeschlüsselt. Es waren auffällig wenig Fallzahlen in der Gruppe der Eingefäß-KHK-Patienten zu finden, lediglich 1,3% (n=2) SNP2-Mutationsträger waren nachzuweisen. In der Gruppe der Zweigefäß-KHK Patienten fand sich ein Anteil der SNP2-Mutationen von 4,9% (n=8). In der letzten Gruppe der Patienten mit einer Dreigefäß-KHK zeigten sich 2,8% (n=7) SNP2-Mutationsträger. Weiterhin war, im Vergleich zu den KHK Patienten, eine nahezu doppelte Anzahl von Mutationsträgern in der Gruppe der nicht an KHK erkrankten zu beobachten (39,8% versus 21,4%.) Wie in Tabelle und Abbildung veranschaulicht, ist zusammenfassend ein sichtbarer Unterschied zu sehen, der sich in der Analyse (Chi-Quadrat-Test) als grenzwertig signifikant darstellt ($p=0,050$). Es zeigte sich ein Hinweis eines möglichen Zusammenhanges mit dem Vorliegen einer SNP2-Mutation und dem Fehlen einer KHK.

4.3 Assoziation zwischen SNP1 und SNP2

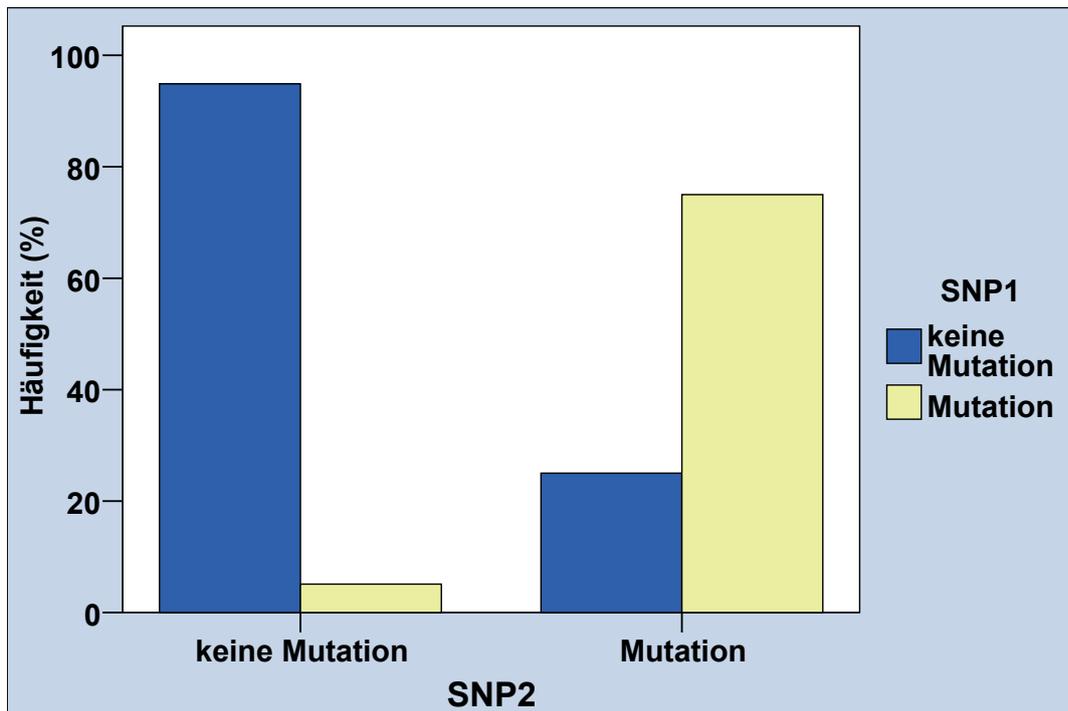


Abbildung 25. Häufigkeit von SNP2-Mutationen mit vs. ohne SNP1-Mutation

			SNP1		
			keine Mutation	Mutation	Gesamt
SNP2	keine Mutation	Anzahl	669	36	705
		% von SNP2	94,9%	5,1%	100,0%
		% von SNP1	99,0%	63,2%	96,2%
	Mutation	Anzahl	7	21	28
		% von SNP2	25,0%	75,0%	100,0%
		% von SNP1	1,0%	36,8%	3,8%
Gesamt	Anzahl	676	57	733	
	% von SNP2	92,2%	7,8%	100,0%	
	% von SNP1	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabelle 17) Zusammenhang zwischen SNP1 und SNP2

Es wurden im Kollektiv der 733 Patienten 64 Mutationen nachgewiesen, der Prozentsatz lag bei 8,7%. Von SNP1-Mutationen wurden 7,8 % (n=36) entdeckt. Die Träger der SNP2-Mutation lagen bei 3,8% (n=28).

Bei Vorliegen einer SNP2-Mutation lag in 75% (n=21) eine SNP1-Mutation vor. Im Gegensatz hierzu betrug der Anteil der SNP1-Mutation ohne Anteil der SNP2-Mutation lediglich 4,9% (n=36).

Zwischen den beiden Mutationen war durch die statistische Berechnung (Fisher-Test: $p < 0,001$) ein hochsignifikanter Zusammenhang zu erheben. Ebenfalls konnte eine signifikante mittelgradige Korrelation ermittelt werden (Korrelation nach Spearman; $r = 0,5$; $p < 0,001$).

5. Diskussion

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit stand die Beantwortung der Frage, ob eine Assoziation der Marburg I - und II - Mutation allein oder in Kombination mit anderen Risikofaktoren bezüglich KHK und/oder dem Myokardinfarkt zu finden ist. An der Untersuchung nahmen 733 Patienten im Alter zwischen 20 und 90 Jahre teil, die sich wegen einer KHK oder eines vorangehenden oder akut erlittenen Myokardinfarktes in stationärer Behandlung befanden.

Mit dem Risikofaktor Rauchen ist ein hohes Risiko an einer arteriosklerotischen Gefäßerkrankung, an einer KHK oder an einem Myokardinfarkt zu erkranken, verbunden ^{91, 92}. Die Schwere des Risikofaktors kann dadurch unterstrichen werden, dass, falls zum Rauchen noch weitere Risikofaktoren für eine kardiovaskuläre Erkrankung vorliegen, sich das Risiko nicht addiert, sondern potenziert ⁹³.

Hierzu wurden in den letzten Jahren Polymorphismen wie zum Beispiel die Mutation MTHR677C>T entdeckt. Die Träger dieser homozygoten Mutation haben bei Zigarettenkonsum das 3-4 fach erhöhte Risiko, an Arteriosklerose zu erkranken ⁹⁴.

Die Marburg I - Mutation ist nicht in der Lage, die Proliferation der vaskulären glatten Muskelzellen (VSMC) effektiv zu hemmen ⁶⁹, zudem fehlen die antikoagulatorischen Eigenschaften ^{65, 74}. Da die Exazerbation von arteriosklerotischen Stenosen in der A.carotis interna eine starke Assoziation mit dem Marburg I - Polymorphismus aufweist ⁷⁵, könnte man vermuten, dass der Risikofaktor Rauchen und das Vorhandensein der FSAP-Variante einen Zusammenhang zeigen könnte. In dieser Studie lag der Anteil der Raucher mit Marburg I - Mutation bei 7,5%, was einer leichten Erhöhung bezüglich der Normalbevölkerung (5%) entspricht ⁷³. Bei der Studie von Ireland et al. ⁷⁹ lag der Anteil mit 10,9% etwas höher als in unserer Studie, bei Trompet et al. ⁹⁵ waren die Zahlen nicht einsehbar. Für die Erhöhung könnte die mehr als doppelt so hohe Fallzahl bei von Ireland et al. eine Rolle spielen. Eine Assoziation zwischen Rauchen und der Marburg I- und II- Mutante in dieser Studie konnte nicht gefunden werden, was sich mit den oben genannten vorhergehenden Untersuchungen deckt.

Definierte Adipositas mit einem BMI > 30 ist unter anderem einer der wesentlichen Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen wie KHK und Myokardinfarkt ^{96, 97}. Der alleinige Risikofaktor Adipositas mit einem BMI > 30 verdoppelt nahezu die Sterblichkeitsrate, ab einem BMI von >40 steigt die Sterblichkeitsrate sogar auf das Vierfache ⁹⁸. Zudem steigt das Risiko, an einem Typ II Diabetes zu erkranken, auf das 5,4-fache, an einer arteriellen Hypertonie zu erkranken auf das 2,7-fache, also für zwei weitere Hauptrisikofaktoren der koronaren Herzerkrankung ⁹⁹. Bei einigen SNP - Polymorphismen konnte eine Assoziation zu Adipositas nachgewiesen werden ¹⁰⁰⁻¹⁰². Der Parameter Adipositas wurde bei oben genannten Eigenschaften und durch die Schwere der Komorbidität von Adipositas in dieser Studie mit untersucht, zumal auch eine isolierte Erhöhung des Arterioskleroserisikos besteht ⁹⁸. Aktuell

wurde bisher nur in einer Studie diese Assoziation mit der Marburg I Mutation untersucht. Wir fanden nahezu identische Wahrscheinlichkeiten zur Studie von Ireland et al.⁷⁹ ($p=0,13$; $p=0,125$). Passend zu dieser vorhergehenden Untersuchung wurde auch in dieser Studie keine Korrelation mit den Marburg I - und II- Polymorphismen gefunden. In Betrachtung der Eigenschaften von FSAP sind bisher keine Verbindungen bezüglich Fettstoffwechsel beobachtet worden, so dass sehr wahrscheinlich keine Korrelation zwischen Adipositas und der Serinprotease und deren Mutationen bestehen dürfte. Der Diabetes mellitus Typ2 (DMT2) ist ein deutlicher unabhängiger Einzel- aber auch Kofaktor für Erkrankungen und Komplikationen des Herz-Kreislauf-Systems und der daraus resultierenden Todesfolge^{103, 104}. DMT2 ist eng mit den anderen kardialen Risikofaktoren verbunden, so könnte das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit langjährigem Diabetes mit einer multifaktoriellen Therapie halbiert werden^{105, 106}, insbesondere bei einer frühen Behandlung^{107, 108}. Von 2000 an bis 2011 wurden bisher ca. 40 Genomvarianten gefunden, die das Risiko an Diabetes zu erkranken, erhöhen. Die Odd's Ratio lag bei den Faktoren zwischen 1,07 und 1,41^{109, 110}. Dies zeigt lediglich eine milde Erhöhung des Risikos. Da jedoch eine Zunahme des Erkrankungsrisikos bei Vorhandensein von mehreren Varianten nachgewiesen werden konnte^{111, 112}, kann man davon ausgehen, dass sich bei Vorlage mehrerer Gen-Varianten das Risiko, an Diabetes mellitus zu erkranken, erhöht. Da der DMT2 im Rahmen der starken Interaktion mit den anderen Risikofaktoren eine Verzerrung der Ergebnisse hätte zeigen können, wurde bei Ireland et al. der DMT2 zunächst ausgeklammert. Die Ergebnisse blieben jedoch unverändert, so dass in dieser Studie die Interaktion nicht berücksichtigt wurde. Bezüglich der Marburg I - Mutante ist der DMT2 mit der negativen Beeinflussung der Angiogenese¹¹³ und der Beeinträchtigung der VSMC¹¹⁴ von Bedeutung. Es besteht ein gestörtes Gleichgewicht zwischen zirkulierenden endothelial Progenitorzellen (Vorläuferzellen) oder zirkulierenden angiogenen Zellen und glatten Muskelzellen Progenitorzellen bei Typ 2-Diabetes, zu Gunsten einer Abnahme der Endothel und der angiogenen Zellen, was zu einer relativen Steigerung der glatten Muskelzellen Progenitorzellen führt, mit der Konsequenz eines fehlerhaften Gefäßaufbaus oder Gefäßheilung¹¹³. Zudem besteht eine Beeinträchtigung der VSMC durch die Störung des intrazellulären Ca^{++} -Haushaltes¹¹⁴. Hierbei könnten sich die fehlenden Fähigkeiten der Marburg I - Mutante noch stärker bemerkbar machen, da die Mutante nicht in der Lage ist, PDGF-BB effektiv zu hemmen^{69, 87}, wodurch es zu einer Hyperproliferation der VSMC kommt. Dies könnte durch die oben genannten diabetischen Pathomechanismus negativ verstärkt werden.

Die Studie von Willeit et al. zeigte passend hierzu neben der Assoziation der fortgeschrittenen Atherosklerose bei ACI - Stenosen und der Marburg I Mutante eine starke Verbindung des DMT2 und der FSAP - Variante, die Signifikanz wurde mit einer Odd's Ratio von 6,38 angegeben⁷⁵. Die Untersuchung in unserer Studie erbrachte jedoch keinen Nachweis einer Assoziation zwischen Diabetes mellitus und den Marburg - Polymorphismen. Vorhergehende

Studien zeigten ebenfalls keine Assoziation bezogen auf die KHK^{79, 95}. Damit ist auch hier eine direkte Verbindung mit DMT2 nicht anzunehmen. Die leicht unterschiedliche Genese der Arteriosklerose im Koronarsystem und der peripheren Arterien könnten für die fehlende Übereinstimmung verantwortlich sein. Zudem bestehen unterschiedliche Blutflussgeschwindigkeiten und Strömungsprofile in den oben genannten Gefäßsystemen.

Die nicht behandelte arterielle Hypertonie (aHT) ist mit potenziell reversiblen strukturellen und funktionellen Veränderungen in der zerebralen Durchblutung¹¹⁵ und einem erhöhten Risiko für zerebralen, kardialen und renalen Erkrankungen verbunden^{116, 117}. Auf die KHK bezogen ist schon die moderate Senkung des aHT mit einer Reduktion der koronaren Herzkrankheit um etwa 16% assoziiert¹¹⁸. Selbst die Reduktion von 1 mm Hg des diastolischen Blutdrucks bietet einen 2-3%igen Rückgang des Risikos, an einer KHK zu erkranken¹¹⁹. Allerdings sollte eine Blutdruckeinstellung mit Zielgröße < 140 mm Hg angestrebt werden, da eine intensiviertere Einstellung des aHT < 120mmHg keinen weiteren Effekt auf die Risikoreduktion von kardiovaskulären Erkrankungen zu haben scheint¹²⁰. Darüber hinaus sind in der letzten Zeit mindestens sechzehn neue Genvarianten entdeckt worden, die den Blutdruck pathologisch beeinflussen. Insgesamt waren bis 2011 etwa 29 Polymorphismen mit negativem Einfluss auf den Blutdruck nachzuweisen¹²¹. Die permanent pathologisch erhöhten hämodynamischen Faktoren des aHT können zur Destabilisierung von vaskulären Mikroläsionen führen, was zur Beschleunigung oder Exazerbation von atherosklerotischen und thrombotischen Prozessen führen kann¹¹⁶. Die druckinduzierte Verengung ist eine wichtige Reaktion in den Blutgefäßen. Die Antwort wird vom vaskulären glatten Muskelzellen (VSMCs) vermittelt und ist durch eine druckinduzierte Vasokonstriktion gekennzeichnet. Dieser Mechanismus, der die Blutflussautoregulation beeinflusst und Schutz gegen die Blutdruck-induzierten Schäden an den Gefäßen bietet¹²², könnte durch den Pathomechanismus der FSAP-Variante (fehlende Hemmung von platelet-derived growth factor (PDGF-BB)) die Hyperproliferation der VSMC noch weiter verstärken⁶⁹. Aufgrund der prokoagulatorischen und proatheromatösen Fähigkeiten und durch die pathologische Wirkung auf die Blutflussautoregulation von Marburg I wurde die These formuliert, dass es durch die Marburg I - Variante zur zusätzlichen Beschleunigung von atherothrombotischen Erkrankungen kommt. In unserer Arbeit konnten wir keinen Zusammenhang bezüglich der Marburg - Varianten darstellen, die Arbeiten von Ireland et al. und Trompet et al.^{79, 95} fanden ebenfalls keine Korrelation, so dass insgesamt keine Assoziation zu vermuten ist.

Erhöhte- Lipoprotein(a) (Lp(a)) Plasmaspiegel können das Risiko der Arteriosklerose durch Lp(a) induzierten Cholesterineinschluss in der Intima über die inflammatorische Rekrutierung von Zellen und / oder über die Bindung von pro-inflammatorischen, oxidierten Phospholipiden erhöhen. Diese Risikoerhöhung ist unabhängig von Low Density Lipoproteine

(LDL-C) ¹²³. Damit besteht zusätzlich ein bedeutsames Risiko für eine kardiovaskuläre Erkrankung ¹²⁴. Für die erhöhten Plasmaspiegel von LDL-C ist die Studienlage vergleichbar.

Die pathologischen Lipid-Profile verursachen nicht nur eine Zunahme von arteriellen Stenosen in den Koronararterien, sondern führen auch zu einer verminderten Mikrozirkulation, mit den Folgen einer Myokardischämie, einer periphereren arteriellen Verschlusskrankheit oder eines ischämischen Schlaganfalles ^{125, 126}. Das Erkrankungsrisiko kann durch Mutationen von Apolipoprotein B dem Haupttransportprotein von LDL weiter zunehmen ¹²⁷. Auch die Hypercholesterinämie zeigt Veränderungen der Endothelfunktionen ¹²⁸, unter anderem durch Anreicherung und Kristallisation im Zytoplasma von Makrophagen mit Bildung von Schaumzellen und der Progression von arteriosklerotischen Plaques ¹²⁹.

Die Triglyceride zeigen in Kombination von VLDL und ihm Rahmen einer Typ III Hyperlipidämie einen deutlichen Nachweis für eine erhöhte Rate an koronaren Herzerkrankungen ^{130, 131}. In dieser Studie wurden die oben genannten Blutfetterhöhungen in einem Parameter zusammengefasst und als Parameter Hyperlipoproteinämie definiert. Die Berechnungen ergaben zwar keine Signifikanz zwischen der Marburg I Mutante, jedoch konnte ein deutlicher Trend ($p=0,074$) beobachtet werden. Die Arbeit von Willeit et al. ^{75, 72} bot eine Korrelation zwischen dem Lipoprotein(a) und Marburg I, Ireland et al. zeigten eine Signifikanz hinsichtlich der Parameter Hypertriglyceridämie und Hypercholesterinämie ($p=0,005$ und $p=0,02$) ⁷⁹. Unglücklicherweise war eine Aufspaltung unseres Parameters „Hyperlipoproteinämie“ nicht mehr möglich. Trotz alledem unterstreichen zusammenfassend die Daten die Assoziation von Marburg I und der Hypertriglyceridämie, der Hypercholesterinämie und des Lipoprotein (a).

Für den Myokardinfarkt besteht, wie schon seit längerem bekannt ist, zu einem eine gewisse familiäre Disposition und gehört weltweit zu den führenden Ursachen für Tod und Behinderung ¹³². Die Mehrheit der Infarkte tritt statistisch häufiger bei Personen oberhalb des 65. Lebensjahres auf, während 5-10% der Myokardinfarkte bei jüngeren Patienten zu beobachten sind. Dies steht nachweislich im einen weit größeren hereditären Zusammenhang ^{132, 133}; somit bietet insgesamt die Diagnose „Myokardinfarkt“ vielversprechende Möglichkeiten für eine genetische Untersuchung.

Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) haben zum Beispiel acht SNPs in dem 9p21 Intervall identifiziert, die stark mit einer koronaren Herzerkrankung, Myokardinfarkt ^{10, 134-137} einer cerebralen Ischämie ¹¹ sowie abdominalen und intrakardialen Aneurysmen ¹² assoziiert waren. Die Odds Ratios lagen in Bereichen von 1,2-1,6. Hierbei ist von wesentlicher Bedeutung, dass jede Kopie der Allele deutlich die Wahrscheinlichkeit der Erkrankung erhöht ¹³⁷. In der Pathophysiologie des Myokardinfarktes ist die Exacerbation der Arteriosklerose durch lokal thrombotische Geschehen mit der Folge von Gefäßverschlüssen entscheidend. Die arteriosklerotische Plaqueruptur ist nachweislich einer der häufigsten Gründe für einen Myokardinfarkt ¹³⁸. Da die Koronararterien in der Diastole perfundiert werden, bestehen dort im

Gegensatz zu dem übrigen peripheren arteriellen System insbesondere bei Vorlage von höhergradigen arteriosklerotischen Stenosen niedrige Perfusionsdrücke^{139, 140}. Hierdurch steigt das Risiko einer Thrombusformation, da hier die Mechanismen bezüglich venöser- und arterieller Thrombose annähernd gleich sind¹⁴¹. Für ähnliche Gegebenheiten wurde für die FSAP - Mutante Marburg I im venösen System ein prokoagulatorischer Effekt mit einem erhöhten Thromboserisiko zugesprochen. Bezüglich dieses Thromboserisikos herrscht allerdings aufgrund gegensätzlicher Studienergebnisse Uneinigkeit¹⁴². Eine kombinierte Auswertung der Ergebnisse von Hoppe et al.¹⁴³, van Minkelen et al. und¹⁴⁴ Franchi et al.¹⁴⁵ zeigten keine signifikante Assoziation von idiopathischer und sekundärer VTE mit dem Marburg I - Polymorphismus. Eine positive Assoziationsstudie bezüglich TVT und Marburg I von Gulesserian et al.¹⁴⁶ wurde nicht in die übergeordnete Analyse eingeschlossen, da es keine Kontrollgruppe in dieser Studie gab. Insgesamt war jedoch eine starke Assoziation zwischen der FSAP - Marburg I - Variante und der unselektierten VTE darzustellen. Eine Assoziation mit der Marburg I - Variante und idiopathischer VTE fand sich in der übergeordneten Analyse nicht¹⁴². Weitere Studien konnten wiederum eine Assoziation mit tiefen Beinvenenthrombosen und rezidivierenden venösen Thrombosen inklusive Lungenembolien nachweisen^{147, 148}. Da in neueren Studien gezeigt wurde, dass FSAP den Tissue factor pathway inhibitor hemmen kann und da FSAP als Marburg I - Variante nicht in der Lage ist, TFPI zu inaktivieren⁶⁵, könnte der prokoagulatorische Effekt der Marburg I - Mutante noch verstärkt werden. Insgesamt kann somit mit Berücksichtigung der oben genannten Pathophysiologie und den neu gefundenen Eigenschaften von FSAP die These formuliert werden, dass eine Verbindung zwischen der FSAP - Variante Marburg I und dem Myokardinfarkt bestehen könnte. Beide Mutationen, Marburg I und Marburg II, wurden auf eine Assoziation mit dem Myokardinfarkt überprüft. Es wurde jedoch keine Assoziation beider Mutationen gefunden. Die Ergebnisse sind mit den Negativergebnissen von Ireland et al.⁷⁹ und Trompet et al.⁹⁵ vergleichbar, wenn man die Mutationen einzeln als Genomvarianten untersucht. Man muss letztendlich unter Berücksichtigung dieser Arbeit inklusive zwei negativer Assoziationsstudien schlussfolgern, dass eine Exacerbation einer Stenose der A.carotis interna anders zu werten ist als eine Plaqueruptur in den Koronararterien. Es wird im unteren Abschnitt der koronaren Herzerkrankung näher darauf eingegangen. Auch der bestehende prokoagulatorische Effekt der Mutante scheint im Koronarsystem eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Insgesamt sind bis 2011 etwa 34 Genpolymorphismen bekannt, die mit einer koronaren Gefäßverkalkung assoziiert sind, die Odd's Ratio liegt zwischen 1,06 und 1,79 wobei die meisten zwischen 1,1 und 1,2 angegeben werden¹⁴⁹. Auch einige Genpolymorphismen im Hämostase-System sind mit der KHK assoziiert. Bei Faktor V Leiden konnte letztendlich in einer Metaanalyse nach einigen Negativstudien^{30, 31, 150} ein mild erhöhtes Risiko bezüglich einer

koronaren Herzerkrankung errechnet werden (Odd's Ratio 1,17). Ebenso gilt dieser Zusammenhang zur KHK für die Prothrombinmutation 202012A (Odd's Ratio 1,31)^{17,35}.

Allerdings scheint das leicht erhöhte Risiko bei Vorhandensein von Polymorphismen von Gerinnungsfaktoren nur bei einem myokardialen Erstereignis eine Rolle zu spielen; bisher konnte keine Assoziation bei rezidivierenden Myokardinfarkten gefunden werden²⁶. Die Marburg I - Mutante bot in vorangegangenen Studien eine hohe Korrelation im Hinblick auf fortgeschrittene Stenosen und die Exacerbation dieser⁷⁵. Es wurden folgende kausale Zusammenhänge in der Entstehung der Arteriosklerose¹⁵¹ im Sinne von pathophysiologischen Eigenschaften und der Genese der koronaren Herzerkrankung^{79,87} beobachtet. Es besteht eine interaktive Wirkung zwischen dem Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung, Marburg I und erhöhten Cholesterin- und Triglyceridspiegeln - die Odds Ratio wurde mit 5,64 angegeben - an einer KHK zu erkranken⁷⁹. Die Wildtyp-Protease inhibiert die getriggerte Zellproliferation und Migration „Vascular smooth muscle cells“ (VSMC) durch die Hemmung von platelet-derived growth factor (PDGF-BB)⁶⁹, was bei der bekannten Funktion der VSMC im Rahmen der Genese der Arteriosklerose ein elementarer Faktor ist⁸⁴⁻⁸⁶. Unter anderem kommt es zusammen mit Makrophagen und T-Lymphozyten zur Anhäufung der intimalen glatten Muskelzellen (VSMC) und zur Bildung von proliferierenden VSMC. Dazu akkumulieren Kollagen, Elastinfasern, Proteoglykane und Lipide, die hauptsächlich in Form von Cholesterinestern und als freies intrazelluläres Cholesterin zu finden sind¹⁵²⁻¹⁵⁴. Entscheidend hierbei ist, dass die Marburg I - Mutation nicht in der Lage ist, PDGF-BB effektiv zu hemmen^{69,87,155}. Die Regulation der zellulären Funktionen von FSAP ist streng abhängig von der proteolytischen Aktivität. Dies erhärtet die Hypothese, dass aktiviertes FSAP ein Schutzfaktor im Gefäßsystem ist, welcher die atherosklerotische Plaque-Bildung mildert und eine Hyperproliferation in der Gefäßwand verhindert^{155,156}. Da nun diese Aktivität bei der Marburg I - Mutante stark vermindert ist, besteht zu der o.g. prokoagulatorischen Fehlfunktion vom Marburg I - Polymorphismus ein weiterer Grund, dass unter den Trägern des Marburg I - Gens vermehrt thrombotische und arteriosklerotische Erkrankungen und Exacerbationen der arteriosklerotischen Plaques und Stenosen zu finden sind. Diese Annahme wird weiter unterstützt, Parahuleva et al. eine deutliche Anreicherung von FSAP in instabilen Plaques im Rahmen der instabilen Arteriosklerose zeigte⁵⁵. Da diese Konzentrationserhöhung als Schutzmaßnahme zur weiteren Proliferation der VSMC und zur Minderung der Größe der weichen Plaques gewertet werden kann, hat dies bei o.g. Defekten der Marburg I FSAP - Variante eine fatale Beschleunigung der Plaquebildung zur Folge. Einige Faktoren des Hämostase-Systems besitzen, wie schon oben genannt, Doppel-Funktionen⁸¹⁻⁸³. Für FSAP wurden bereits mehrere Funktionen gefunden. Hierzu konnte nun bewiesen werden, dass der bis dato bekannte Nucleosom releasing Factor (NRF) identisch mit FSAP ist. Die Übereinstimmung liegt bei 100 % mit dem N-Terminus der leichten Kette von FSAP. *In vivo*

haben sich bisher die *in vitro* gefundenen FSAP-Aktivatoren als ineffektiv erwiesen. Die nun entdeckten Zellfragmente wie Nucleosome und Histone, apoptotische bzw. nekrotische Zellen stellen wohl die eigentlichen Aktivatoren *in vivo* dar.^{62, 157} Damit zeigte sich eine wichtige zusätzliche Beteiligung von FSAP im inflammatorischen System. Dadurch, dass die Konzentration von Nucleosomen als ein relativer Marker für den Schweregrad einer Entzündung angesehen werden kann und FSAP quasi mit der Nucleosomkonzentration positiv korreliert¹⁵⁸, besteht nun ein weiterer Parameter für die Beurteilung einer Entzündung⁶³. Die Fähigkeit von FSAP in der Entzündungskaskade einzugreifen, wird durch MU et al.¹⁵⁹ unterstützt. FSAP zeigt eine sichtbare Konzentrationserhöhung in der Frühphase des akuten Lungenversagens“ (ARDS). Durch die Hemmung der PDGF - induzierten Synthese von Collagen III wird FSAP eine antiinflammatorische Eigenschaft zugesprochen¹⁵⁹. Die Arbeit von Wygrecka et al. stützt diese Vermutung⁵⁶. Schlussfolgernd könnte man eine antiinflammatorische Eigenschaft von FSAP in der Frühphase einer Entzündung oder bei moderaten Entzündungsprozessen herauslesen. Dies wäre dann die Eigenschaft, die bei dem Marburg I - Polymorphismus wegfallen würde.

Es ist mittlerweile die These akzeptiert, dass Arteriosklerose unter anderem durch eine chronische Entzündung getriggert wird¹⁶⁰, welche sich als Reaktion auf die Anreicherung von subendothelialen Lipoprotein entwickelt^{161, 162}. Dieser Prozess wird zusätzlich durch das erworbene und angeborene Immunsystem moduliert¹⁶³. Damit könnte unter anderem die proinflammatorische Komponente der Marburg I - Variante bei Arteriosklerose erklärt werden, insbesondere, wenn die Bradikininfreisetzung erhalten bliebe, was jedoch aus aktueller Studienlage unklar ist. Die Komplement Faktoren C3 und C5 werden von FSAP in einer dosis- und zeitabhängigen Beziehung zu funktionellen C3a und C5a Anaphylatoxine gespalten. Die Aktivierung von endogenen FSAP im Plasma führte zu einer erhöhten C5a - Bildung, die Marburg I FSAP - Variante zeigte aber nur eine schwache bis fehlende Aktivierung¹⁶⁴. Damit könnte oben gezeigte pro-entzündliche Komponente der FSAP - Variante zu einem gewissen Teil abgeschwächt werden.

In unserer Studie wurde die Assoziation einer KHK und der FSAP - Variante Marburg I und Marburg II untersucht. Mit dem Hintergrund der beschriebenen Fähigkeiten von FSAP und den pathologischen Eigenschaften von Marburg I wurde die KHK in dieser Studie in Schweregrade (KHK 1-3 Gefäßerkrankung) unterteilt und auf Zusammenhänge überprüft. Für Marburg I zeigte sich trotz der starken Hinweise einer Assoziation durch die pathologischen Eigenschaften keine direkte Assoziation bezüglich der KHK. Damit sind Träger des Marburg I - Polymorphismus sehr wahrscheinlich nicht mit dem Risiko behaftet, alleine durch das Vorhandensein des SNP's eine koronare Herzerkrankung zu erleiden. Die fehlende Assoziation bezüglich KHK und Herzinfarkt könnte zum einen durch die Tatsache zu begründen sein, dass die Genese der Arteriosklerose

bei Carotisstenosen und der Koronararterien zwar ähnlich, aber nicht vollkommen gleich sind. Zum einen bestehen verschiedene Strömungs- und Widerstandverhältnisse in den beiden Gefäßsystemen ¹⁴⁰. Die meisten Carotisstenosen betreffen die A. Carotis interna, wobei diese Stenosen abgangsnah zu finden sind. Es ist bekannt, dass Gabelungen und Gefäßabzweigungen für Stenosen im europäischen Raum und USA stark prädestiniert sind ^{165, 166}. Zum anderen gibt es im koronaren System eine koronare Flussreserve. Zwar weiß man, dass diese mit der Präsenz und die Schwere der Koronararterienkalzifizierung invers korreliert ¹⁶⁷, man kann aber davon ausgehen, dass durch die Reservekapazität der Koronararterien genügend Kompensationskapazität existiert. Zudem sind die KHK-Risiko-Abschätzungen mit Einbeziehung der kardialen Risikofaktoren und Genotyp-Risikofaktoren effektiver als die Risikoabschätzungen der kardialen Standardrisikofaktoren alleine ⁵, daher ist eine isolierte Betrachtung der Marburg I -Mutation wahrscheinlich nicht ausreichend. Auch wenn in dieser Studie keine Assoziation zwischen der koronaren Herzerkrankung und dem Marburg I - Polymorphismus nachgewiesen werden konnte, kann aus den vorliegenden oben genannten Studien ein deutlicher prokoagulatorischer (und proatherothrombotischer) Effekt gezeigt werden. Da kombinierte hämostatisch wirksame Genpolymorphismen ein erhöhtes Risiko eines akuten Myokardinfarktes aufweisen ^{111, 112}, kann der Nachweis insbesondere von mehreren prothrombotischen Polymorphismen dazu beitragen, das Risiko eines drohenden Myokardinfarktes bei Patienten mit fortgeschrittener KHK zu prognostizieren. Weiterhin von Bedeutung ist, dass die Risikofaktoren erfasst werden, die indirekt das Risiko einer KHK oder einen Myokardinfarkt zu erleiden erhöhen. Es gibt bestimmte genetische Polymorphismen, die die Entwicklung der koronaren Atherosklerose fördern, während andere das Risiko einer akuten Plaqueruptur mit konsekutivem akuten Myokardinfarkt aggravieren ¹⁶⁸. Mit dem aktuellen Wissen, dass die FSAP - Variante Marburg I eine Pathologie mit prothrombotischen, proarteriosklerotischen und proinflammatorischen Aspekten besitzt, gehört der Marburg I - Polymorphismus sehr wahrscheinlich zu diesen genetischen Varianten.

Für die FSAP Variante Marburg II war in dieser Analyse ein protektiver Effekt für eine koronare Herzerkrankung errechnet worden ($p=0,0355$ bzw. $p=0,05$), die Odds Ratio lag bei 0,422. In den meisten Studien ist die Marburg II -Variante nicht untersucht worden ^{79, 169}, es wurden allerdings ähnliche aber weitaus schwächere Eigenschaften wie die Marburg I - Variante dargestellt ⁹⁵ oder es wurde keine Assoziation gefunden ^{73, 75, 170}. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind bei sehr niedriger Fallzahl der Marburg II Variante ($n=11$) sehr wahrscheinlich ein Zufallsbefund und werden daher nicht gewertet. Erneut konnte eine hohe Kopplung der beiden Varianten gezeigt werden, was schon in mehreren Arbeiten dargestellt wurde ^{75, 95}.

Für die Serinprotease FSAP wurde in den meisten Studien gezeigt, dass sie sowohl in die Fibrinolyse als auch in die Genese der Arteriosklerose und der Plaquentwicklung eingreift. Es

ist zu überlegen, ob hier eine Verbindung zwischen Thrombose und der Arteriosklerose existiert. Tatsächlich sind im Jahre 2003 diesbezüglich Zusammenhänge gefunden worden, es konnte in einer kleinen Studie eine Odd's Ratio für A. carotis - Plaques bei Patienten mit spontanen Thrombosen, wie bei Patienten mit sekundärer Thrombosen von 2,3 (95% Konfidenzintervall (KI) :1,4 bis 3,7) und 1,8 (95% KI: 1,1 bis 2,9) errechnet werden ¹⁷⁴. In einer multivariaten Analyse, wo die Risikofaktoren für die Atherosklerose herausgerechnet wurden, blieb die oben genannte Assoziation unverändert ¹⁷⁴. In den letzten Jahren sind weitere Studien hinzugekommen, die diese These erhärten. Eine Studie mit 1919 Probanden zeigte ein erhöhtes Risiko von einer symptomatischen Arteriosklerose bei Patienten mit einer idiopathischen Thrombose (IVT) eine Hazard Ratio von 1,6 (95% KI: 1,2 bis 2,0) ¹⁷⁵, Bova et al. errechnete eine Hazard Ratio für kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit IVT von 2,86 ¹⁷⁶. Für Patienten unterhalb des 40. Lebensjahres erscheint das Risiko von kardialen Ereignissen bei Bestehen einer IVT nochmals stärker zu sein ¹⁷⁷. Eine Metaanalyse im Jahr 2010 von siebzehn Studien mit über 80.000 Patienten erhärtete diese Schlussfolgerung, denn das Risiko, an einem arteriellen kardiovaskulären Ereignis zu erkranken, lag nach unprovoked IVT sowie bei provozierten IVT bei 1,87, beziehungsweise bei 1,86 ¹⁷⁸. FSAP und die Marburg I - Variante könnte in diesem Aspekt ein Bindeglied darstellen.

6. Zusammenfassung

Der Marburg I - Polymorphismus (Gly511Glu) von FSAP (Hyaluronic acid binding protein 2, HABP2) besitzt prothrombotische, proarteriosklerotische und proinflammatorische Eigenschaften, so dass eine erhöhte Prävalenz von ACI - Stenosen, Beinvenenthrombosen und der KHK diskutiert wird. Für die Marburg II - Mutation wurden bisher gleiche, aber weitaus schwächere Eigenschaften wie für die Marburg I - Variante dargestellt, oder es wurden keine Assoziationen gefunden.

Das Ziel der Studie war zu klären, ob die Marburg I - und II - Mutationen alleine oder in Kombination mit anderen Risikofaktoren eine Assoziation für die KHK oder für den Myokardinfarkt zeigt . Es wurden 723 Patienten nach durchgeführter Koronar-Angiographie, oder nach Diagnose eines Myokardinfarktes, auf die Marburg - Mutationen I und II untersucht. Die Risikofaktoren Adipositas, Rauchen, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus und Hyperlipoproteinämie wurden ebenfalls bezüglich einer Assoziation zu den Mutationen überprüft. Für die Risikofaktoren Adipositas, Rauchen arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus wurde keine Verbindung zu den Mutationen gefunden, es konnte dagegen für Marburg I ein Trend für die Hyperlipoproteinämie ($p=0,074$) gefunden werden. Vorangegangene Studien stützen dies durch die signifikante Assoziation bezüglich der Parameter Hypertriglyceridämie, Lipoprotein(a) und Hypercholesterinämie. Hinsichtlich des Myokardinfarktes wurde keine direkte Assoziation gefunden ($p=0,130$ für Marburg I und $p=0,441$ für Marburg II), ebenso fand sich kein Hinweis bezüglich KHK und der Marburg I - Mutation ($p=0,74$).

Die Studie unterstützt nur mit Berücksichtigung der vorherigen Studien die These einer Risikoerhöhung für eine KHK bei Hyperlipoproteinämie und der Marburg I - Mutation. Es konnte zudem eine hohe Kopplung der beiden Varianten gezeigt werden. Bei Vorliegen einer SNP2-Mutation lag in 75% ($n=21$) eine SNP1-Mutation vor. Zwischen den beiden Mutationen war durch die statistische Berechnung (Fisher-Test: $p<0,001$) ein hochsignifikanter Zusammenhang zu erheben. Ebenfalls konnte eine signifikante mittelgradige Korrelation ermittelt werden (Korrelation nach Spearman; $r=0,5$; $p<0,001$).

7.Summary

The Marburg I - polymorphism (Gly511Glu) of FSAP (Hyaluronic acid binding protein 2, HABP2) has prothrombotic, proatherosclerotic and proinflammatory properties, so that its association with an increased prevalence of ICA - stenosis, venous thrombosis and coronary heart disease is discussed. To date, for the Marburg II - mutation either the same but much weaker associations or the absence of an association with atherosclerosis was found.

The aim of the study was to clarify whether the Marburg I - and II - mutations by themselves or in combination with other risk factors shows an Association for CHD or myocardial infarction. We investigated the presence of Marburg I and II – mutations in 723 patients, who underwent coronary angiography or had a diagnosis of myocardial infarction. As cardiovascular risk factors obesity, smoking, hypertension, diabetes mellitus and hyperlipidemia were also tested for an association with the FSAP - mutations. For obesity, smoking, hypertension, diabetes mellitus this test was negative. There was a trend for an association of the Marburg I - mutation with hyperlipoproteinemia ($p = 0.074$). Previous studies confirm the presence of a significant association between the parameters hypertriglyceridemia, lipoprotein (a) and hypercholesterolemia and the Marburg I- mutation. However, the results for a direct association of Marburg I-mutation or Marburg II-mutation with the presence of myocardial infarction were negative ($p = 0.130$ for Marburg I-mutation, $p = 0.441$ for Marburg II- mutation). In addition, there was no association of the Marburg I- mutation with the presence of CHD ($p = 0.74$). Only taking into account the previous studies, the study supported the hypothesis of an increased risk of coronary heart disease associated with hyperlipoproteinemia and the Marburg I – Mutation. It could also be shown a high degree of coupling of the two variants. In the presence of SNP2 mutation ($n = 21$) was at 75% before a SNP1 mutation. Between the two mutations was revealed by the statistical calculation (Fisher's test: $p < 0.001$) a highly significant correlation. The moderate correlation could be determined (Spearman correlation, $r = 0.5$, $p < 0.001$).

8. Abkürzungsverzeichnis

BMI : Body-Mass-Index
bFGF : Fibroblasten-Wachstumsfaktor
DMT2 : Diabetes mellitus Typ2
EGF : epidermal groth factor
FSAP : factor seven activating proteine
GWAS : Genomweite Assoziationsstudien
HABP2: Hyaluronic acid binding proteins 2 = FSAP
HGFA : hepatozyt groth factor activator
HLP : Hyperlipoproteinämie
IVT : idiopathische venöse Thrombose
LDL-C : Low Density Lipoproteine
Lp(a) : Lipoprotein(a)
NSTEMI : non-ST-elevation myocardial infarction
OR : Odds ratio
PAI : Plasminogenaktivator- Inhibitor
PHBP : Plasma hyaluron binding Protein
PDGF–BB : platelet -derived growth factor-BB
PCR : Polymerase Kettenreaktion
SNP : single nucleotid polymorphism
TPA : Gewebetyp- Plasminogen-Aktivator
TFPI : Tissue Factor Pathway-Inhibitor
UPA : Urokinasetyp-Plasminogen-Aktivator
VSMC: Vascular smooth muscle cell

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Polymorphismen aus Studien	Seite 6
Abbildung 2. Fibrinolyse.....	Seite 9
Abbildung 3. Darstellung der FSAP-Aktivität.....	Seite 10
Abbildung 4. Serin Protease(FSAP).....	Seite 12
Abbildung 5. Mutationspunkte der Protease.....	Seite 14
Abbildung 6. Einteilung der Koronarsegmente.....	Seite 19
Abbildung 7. PCR Ablauf.....	Seite 22
Abbildung 8. Altersverteilung.....	Seite 26
Abbildung 9. Adipositas mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 27
Abbildung 10. Adipositas mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 28
Abbildung 11. Nikotinstatus mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 29
Abbildung 12. Nikotinstatus mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 30
Abbildung 13. Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 31
Abbildung 14. Diabetes mellitus mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 32
Abbildung 15. HLP mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 33
Abbildung 16. HLP mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 34
Abbildung 17. arterielle Hypertonie mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 35
Abbildung 18. arterielle Hypertonie mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 36
Abbildung 19. Herzinfarkt mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 37
Abbildung 20. Herzinfarkt mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 38
Abbildung 21. KHK mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 39
Abbildung 22. KHK mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 40
Abbildung 23. Koronarstatus mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 41
Abbildung 24. Koronarstatus mit vs. ohne SNP2-Mutation.....	Seite 43
Abbildung 25. Häufigkeit von SNP2-Mutationen mit vs. ohne SNP1-Mutation.....	Seite 45

10. Literaturverzeichnis

1. Prof. Dr. Heribert Schunkert UL. Atherogenomics; Nationales Genomforschungsnetz, www.ngfn.de.
2. Ortlepp JK HH, Polymorphismen - Genetische Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung? *Deutsche medizinische Wochenschrift*. 1999; **124**: 600-8.
3. Tang Z, Tracy RP. Candidate genes and confirmed genetic polymorphisms associated with cardiovascular diseases: a tabular assessment. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 2001; **11**(1): 49-81.
4. Jensen MK, Pers TH, Dworzynski P, Girman CJ, Brunak S, Rimm EB. Protein interaction-based genome-wide analysis of incident coronary heart disease. *Circulation cardiovascular Genetics* 2011; **4**(5): 549-56.
5. Humphries SE, Cooper JA, Talmud PJ, Miller GJ. Candidate gene genotypes, along with conventional risk factor assessment, improve estimation of coronary heart disease risk in healthy UK men. *Clinical Chemistry* 2007; **53**(1): 8-16.
6. Kathiresan S, Voight BF, Purcell S, Musunuru K, Ardissino D, Mannucci PM, et al. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nature Genetics* 2009; **41**(3): 334-41.
7. Meng W, Hughes AE, Patterson CC, Belton C, Kee F, McKeown PP. Chromosome 9p21.3 is associated with early-onset coronary heart disease in the Irish population. *Disease markers* 2008; **25**(2): 81-5.
8. Mayer B, Erdmann J, Schunkert H. Genetics and heritability of coronary artery disease and myocardial infarction. *Clinical Research in Cardiology* 2007; **96**(1): 1-7.
9. Erdmann JL-N, Patrick; Schunkert, Heribert Genetische Ursachen des Herzinfarktes: Neue Aspekte durch genomweite Assoziationsstudien. *Deutsches Ärzteblatt* 2010; **107**(40): : 694-9; .
10. Schunkert H, Gotz A, Braund P, McGinnis R, Tregouet DA, Mangino M, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation* 2008; **117**(13): 1675-84.
11. Gschwendtner A, Bevan S, Cole JW, Plourde A, Matarin M, Ross-Adams H, et al. Sequence variants on chromosome 9p21.3 confer risk for atherosclerotic stroke. *Annals of Neurology* 2009; **65**(5): 531-9.
12. Helgadottir A, Thorleifsson G, Magnusson KP, Gretarsdottir S, Steinthorsdottir V, Manolescu A, et al. The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm. *Nature Genetics* 2008; **40**(2): 217-24.
13. Hellstern P BJ, Haubelt H et al. . Genpolymorphismen der Hämostase und Koronarrisiko. *Medizinische Klinik* 2001; **96**:217-27.
14. Hoffmeister HM, Heller W, Seipel L. Blood coagulation and fibrinolysis in arteriosclerosis. *Zeitschrift für Kardiologie* 1999; **88**(5): 315-23.
15. Woods KL, Fletcher S, Jagger C. Modification of the circadian rhythm of onset of acute myocardial infarction by long-term antianginal treatment. *British Heart Journal* 1992; **68**(5): 458-61.
16. Franco RF, Trip MD, ten Cate H, van den Ende A, Prins MH, Kastelein JJ, et al. The 20210 G-->A mutation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene and the risk for arterial thrombotic disease. *British Journal of Haematology* 1999; **104**(1): 50-4.
17. Ye Z, Liu EH, Higgins JP, Keavney BD, Lowe GD, Collins R, et al. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006; **367**(9511): 651-8.

18. Gardemann A, Arsic T, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W. The factor II G20210A and factor V G1691A gene transitions and coronary heart disease. *Thrombosis and Haemostasis* 1999; **81**(2): 208-13.
19. Neudert C. Untersuchungen zum Einfluß von Human-Antigen-1b (HPA-1b), Faktor V-Mutation (G1691A, Faktor V-Leiden), Prothrombin-Mutation (G20210A), und Methylentetrahydrofolat-Reduktase-Polymorphismus (MTHFR 677TT) auf den postoperativen Verlauf nach aortokoronarer Bypass-Operation. *Dissertation* 2000
20. Meade TW, Ruddock V, Stirling Y, Chakrabarti R, Miller GJ. Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1993; **342**(8879): 1076-9.
21. Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, van de Loo J. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1994; **14**(1): 54-9.
22. Grant PJ, Humphries SE. Genetic determinants of arterial thrombosis. *Bailliere's best practice & research Clinical Haematology* 1999; **12**(3): 505-32.
23. Bernardi F, Marchetti G, Pinotti M, Arcieri P, Baroncini C, Papacchini M, et al. Factor VII gene polymorphisms contribute about one third of the factor VII level variation in plasma. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 1996; **16**(1): 72-6.
24. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, Olivieri O, Pinotti M, Friso S, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine* 2000; **343**(11): 774-80.
25. Shimokata K, Kondo T, Ohno M, Takeshita K, Inden Y, Iino S, et al. Effects of coagulation Factor VII polymorphisms on the coronary artery disease in Japanese: Factor VII polymorphism and coronary disease. *Thrombosis Research* 2002; **105**(6): 493-8.
26. van der Krabben MD, Rosendaal FR, van der Bom JG, Doggen CJ. Polymorphisms in coagulation factors and the risk of recurrent cardiovascular events in men after a first myocardial infarction. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2008; **6**(5): 720-5.
27. Peyvandi F, Bernardinelli L, Martini CH, Celli P, Mannucci PM. Factor VII gene polymorphisms are not associated with myocardial infarction in young women. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; **3**(4): 803-4.
28. Bank I, Libourel EJ, Middeldorp S, Hamulyak K, van Pampus EC, Koopman MM, et al. Elevated levels of FVIII:C within families are associated with an increased risk for venous and arterial thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; **3**(1): 79-84.
29. Gorog DA, Rakhit R, Parums D, Laffan M, Davies GJ. Raised factor VIII is associated with coronary thrombotic events. *Heart* 1998; **80**(4): 415-7.
30. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. *The New England Journal of Medicine* 1995; **332**(14): 912-7.
31. Buyru N, Altinisik J, Somay G, Ulutin T. Factor V Leiden mutation in cerebrovascular disease. *Clinical and applied Thrombosis/Hemostasis* 2005; **11**(3): 339-42.
32. Cushman M, Rosendaal FR, Psaty BM, Cook EF, Valliere J, Kuller LH, et al. Factor V Leiden is not a risk factor for arterial vascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study. *Thrombosis and Haemostasis* 1998; **79**(5): 912-5.
33. Endler G, Funk M, Haering D, Lalouschek W, Lang W, Mirafzal M, et al. Is the factor XIII 34Val/Leu polymorphism a protective factor for cerebrovascular disease? *British Journal of Haematology* 2003; **120**(2): 310-4.
34. El-Hazmi MA. Hematological risk factors for coronary heart disease. *Medical Principles and Practice*. 2002; **11 Suppl 2**: 56-62.

35. Mannucci PM, Asselta R, Duga S, Guella I, Spreafico M, Lotta L, et al. The association of factor V Leiden with myocardial infarction is replicated in 1880 patients with premature disease. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010; **8**(10): 2116-21.
36. Thrombosis aVBISG. No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. *Circulation* 2003; **107**(8): 1117-22.
37. Steins MB, Padro T, Schwaenen C, Ruiz S, Mesters RM, Berdel WE, et al. Overexpression of urokinase receptor and cell surface urokinase-type plasminogen activator in the human vessel wall with different types of atherosclerotic lesions. *Blood, Coagulation & Fibrinolysis* 2004; **15**(5): 383-91.
38. Kienast J, Padro T, Steins M, Li CX, Schmid KW, Hammel D, et al. Relation of urokinase-type plasminogen activator expression to presence and severity of atherosclerotic lesions in human coronary arteries. *Thrombosis and Haemostasis* 1998; **79**(3): 579-86.
39. Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987; **2**(8549): 3-9.
40. Wiman B, Andersson T, Hallqvist J, Reuterwall C, Ahlbom A, deFaire U. Plasma levels of tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex and von Willebrand factor are significant risk markers for recurrent myocardial infarction in the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 2000; **20**(8): 2019-23.
41. Anderson JL, Muhlestein JB, Habashi J, Carlquist JF, Bair TL, Elmer SP, et al. Lack of association of a common polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene with coronary artery disease and myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 1999; **34**(6): 1778-83.
42. Scarabin PY, Aillaud MF, Amouyel P, Evans A, Luc G, Ferrieres J, et al. Associations of fibrinogen, factor VII and PAI-1 with baseline findings among 10,500 male participants in a prospective study of myocardial infarction--the PRIME Study. Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. *Thrombosis and Haemostasis* 1998; **80**(5): 749-56.
43. Lee AJ, Fowkes FG, Lowe GD, Connor JM, Rumley A. Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh Artery Study. *Thrombosis and Haemostasis* 1999; **81**(4): 553-60.
44. Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, et al. Beta fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM Study. Etude Cas-Temoins sur l'Infarctus du Myocarde. *Circulation* 1996; **93**(3): 440-9.
45. Choi-Miura NH, Tobe T, Sumiya J, Nakano Y, Sano Y, Mazda T, et al. Purification and characterization of a novel hyaluronan-binding protein (PHBP) from human plasma: it has three EGF, a kringle and a serine protease domain, similar to hepatocyte growth factor activator. *Journal of Biochemistry*. 1996; **119**(6): 1157-65.
46. Hashimoto K, Tobe T, Sumiya J, Saguchi K, Sano Y, Nakano Y, et al. Cloning of the cDNA for a mouse homologue of human PHBP: a novel hyaluronan-binding protein. *Biological & pharmaceutical Bulletin* 1997; **20**(11): 1127-30.
47. Sumiya J, Asakawa S, Tobe T, Hashimoto K, Saguchi K, Choi-Miura NH, et al. Isolation and characterization of the plasma hyaluronan-binding protein (PHBP) gene (HABP2). *Journal of Biochemistry* 1997; **122**(5): 983-90.
48. Choi-Miura NH. Quantitative measurement of the novel human plasma protein, IHRP, by sandwich ELISA. *Biological & pharmaceutical Bulletin* 2001; **24**(3): 214-7.
49. Choi-Miura NH, Saito K, Takahashi K, Yoda M, Tomita M. Regulation mechanism of the serine protease activity of plasma hyaluronan binding protein. *Biological & pharmaceutical Bulletin* 2001; **24**(3): 221-5.

50. Choi-Miura NH, Takahashi K, Yoda M, Saito K, Mazda T, Tomita M. Proteolytic activation and inactivation of the serine protease activity of plasma hyaluronan binding protein. *Biological & pharmaceutical Bulletin* 2001; **24**(5): 448-52.
51. Choi-Miura NH, Yoda M, Saito K, Takahashi K, Tomita M. Identification of the substrates for plasma hyaluronan binding protein. *Biological & pharmaceutical Bulletin* 2001; **24**(2): 140-3.
52. Romisch J, Feussner A, Vermohlen S, Stohr HA. A protease isolated from human plasma activating factor VII independent of tissue factor. *Blood, Coagulation & Fibrinolysis*. 1999; **10**(8): 471-9.
53. Romisch J, Vermohlen S, Feussner A, Stohr H. The FVII activating protease cleaves single-chain plasminogen activators. *Haemostasis* 1999; **29**(5): 292-9.
54. Etscheid M, Hunfeld A, Konig H, Seitz R, Dodt J. Activation of proPHBSP, the zymogen of a plasma hyaluronan binding serine protease, by an intermolecular autocatalytic mechanism. *Biological Chemistry* 2000; **381**(12): 1223-31.
55. Parahuleva MS, Kanse SM, Parviz B, Barth A, Tillmanns H, Bohle RM, et al. Factor Seven Activating Protease (FSAP) expression in human monocytes and accumulation in unstable coronary atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2008; **196**(1): 164-71.
56. Wygrecka M, Markart P, Fink L, Guenther A, Preissner KT. Raised protein levels and altered cellular expression of factor VII activating protease (FSAP) in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Thorax* 2007; **62**(10): 880-8.
57. Romisch J, Feussner A, Stohr HA. Quantitation of the factor VII- and single-chain plasminogen activator-activating protease in plasmas of healthy subjects. *Blood, Coagulation & Fibrinolysis* 2001; **12**(5): 375-83.
58. Choi-Miura NH, Otsuyama K, Sano Y, Saito K, Takahashi K, Tomita M. Hepatic injury-specific conversion of mouse plasma hyaluronan binding protein to the active hetero-dimer form. *Biological & pharmaceutical Bulletin* 2001; **24**(8): 892-6.
59. Kannemeier C, Feussner A, Stohr HA, Weisse J, Preissner KT, Romisch J. Factor VII and single-chain plasminogen activator-activating protease: activation and autoactivation of the proenzyme. *European Journal of Biochemistry* 2001; **268**(13): 3789-96.
60. Muhl L, Galuska SP, Oorni K, Hernandez-Ruiz L, Andrei-Selmer LC, Geyer R, et al. High negative charge-to-size ratio in polyphosphates and heparin regulates factor VII-activating protease. *The FEBS Journal* 2009; **276**(17): 4828-39.
61. Muhl L, Nykjaer A, Wygrecka M, Monard D, Preissner KT, Kanse SM. Inhibition of PDGF-BB by Factor VII-activating protease (FSAP) is neutralized by protease nexin-1, and the FSAP-inhibitor complexes are internalized via LRP. *Biochemical Journal* 2007; **404**(2): 191-6.
62. Zeerleder S, Zwart B, te Velthuis H, Stephan F, Manoe R, Rensink I, et al. Nucleosome-releasing factor: a new role for factor VII-activating protease (FSAP). *FASEB Journal* 2008; **22**(12): 4077-84.
63. Stephan F, Hazelzet JA, Bulder I, Boermeester MA, van Till JO, van der Poll T, et al. Activation of factor VII-activating protease in human inflammation: a sensor for cell death. *Critical Care* 2011; **15**(2): R110.
64. Stephan F, Dienava I, Bulder I, Wouters D, Mast AE, Te Velthuis H, et al. Tissue factor pathway inhibitor is an inhibitor of Factor VII-activating protease. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012; Jun; **10**(6):1165-71.
65. Kanse SM, Declerck PJ, Ruf W, Broze G, Etscheid M. Factor VII-activating protease promotes the proteolysis and inhibition of tissue factor pathway inhibitor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 2012; **32**(2): 427-33.
66. Etscheid M, Beer N, Fink E, Seitz R, Johannes D. The hyaluronan-binding serine protease from human plasma cleaves HMW and LMW kininogen and releases bradykinin. *Biological Chemistry* 2002; **383**(10): 1633-43.

67. Kress JA, Seitz R, Dodt J, Etscheid M. Induction of intracellular signalling in human endothelial cells by the hyaluronan-binding protease involves two distinct pathways. *Biological Chemistry* 2006; **387**(9): 1275-83.
68. Etscheid M, Beer N, Kress JA, Seitz R, Dodt J. Inhibition of bFGF/EGF-dependent endothelial cell proliferation by the hyaluronan-binding protease from human plasma. *European Journal of Cell Biology* 2004; **82**(12): 597-604.
69. Kannemeier C, Al-Fakhri N, Preissner KT, Kanse SM. Factor VII-activating protease (FSAP) inhibits growth factor-mediated cell proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *FASEB Journal* 2004; **18**(6): 728-30.
70. Wasmuth HE, Tag CG, Van de Leur E, Hellerbrand C, Mueller T, Berg T, et al. The Marburg I variant (G534E) of the factor VII-activating protease determines liver fibrosis in hepatitis C infection by reduced proteolysis of platelet-derived growth factor BB. *Hepatology* 2009; **49**(3): 775-80.
71. Nakazawa F, Kannemeier C, Shibamiya A, Song Y, Tzima E, Schubert U, et al. Extracellular RNA is a natural cofactor for the (auto-)activation of Factor VII-activating protease (FSAP). *Biochemistry Journal* 2005; **385**(Pt 3): 831-8.
72. Altincicek B, Shibamiya A, Trusheim H, Tzima E, Niepmann M, Linder D, et al. A positively charged cluster in the epidermal growth factor-like domain of Factor VII-activating protease (FSAP) is essential for polyanion binding. *Biochemistry Journal* 2006; **394**: 687-92.
73. Roemisch J, Feussner A, Nerlich C, Stoehr HA, Weimer T. The frequent Marburg I polymorphism impairs the pro-urokinase activating potency of the factor VII activating protease (FSAP). *Blood, Coagulation & Fibrinolysis* 2002; **13**(5): 433-41.
74. Romisch J. Factor VII activating protease (FSAP): a novel protease in hemostasis. *Biological Chemistry* 2002; **383**(7-8): 1119-24.
75. Willeit J, Kiechl S, Weimer T, Mair A, Santer P, Wiedermann CJ, et al. Marburg I polymorphism of factor VII-activating protease: a prominent risk predictor of carotid stenosis. *Circulation* 2003; **107**(5): 667-70.
76. Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part I: incidence and progression. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 1999; **19**(6): 1484-90.
77. Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part II: vascular remodeling. Bruneck Study Group. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 1999; **19**(6): 1491-8.
78. Willeit J, Kiechl S, Oberhollenzer F, Rungger G, Egger G, Bonora E, et al. Distinct risk profiles of early and advanced atherosclerosis: prospective results from the Bruneck Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 2000; **20**(2): 529-37.
79. Ireland H, Miller GJ, Webb KE, Cooper JA, Humphries SE. The factor VII activating protease G511E (Marburg) variant and cardiovascular risk. *Thrombosis and Haemostasis* 2004; **92**(5): 986-92.
80. Mann KG. Factor VII-activating protease: coagulation, fibrinolysis, and atherothrombosis? *Circulation* 2003; **107**(5): 654-5.
81. Petaja J. Inflammation and coagulation. An overview. *Thrombosis research* 2011; **127 Suppl 2**: S34-7.
82. Belting M, Ahamed J, Ruf W. Signaling of the tissue factor coagulation pathway in angiogenesis and cancer. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular Biology* 2005; **25**: 1545-50.
83. Sen P, Gopalakrishnan R, Kothari H, Keshava S, Clark CA, Esmon CT, et al. Factor VIIa bound to endothelial cell protein C receptor activates protease activated receptor-1 and mediates cell signaling and barrier protection. *Blood* 2011; **117**(11): 3199-208.
84. Bretschneider E, Braun M, Fischer A, Wittpoth M, Glusa E, Schror K. Factor Xa acts as a PDGF-independent mitogen in human vascular smooth muscle cells. *Thrombosis and Haemostasis* 2000; **84**(3): 499-505.

85. Millette E, Rauch BH, Defawe O, Kenagy RD, Daum G, Clowes AW. Platelet-derived growth factor-BB-induced human smooth muscle cell proliferation depends on basic FGF release and FGFR-1 activation. *Circulation research* 2005; **96**(2): 172-9.
86. Jahn L, Kreuzer J, von Hodenberg E, Kubler W, Franke WW, Allenberg J, et al. Cytokeratins 8 and 18 in smooth muscle cells. Detection in human coronary artery, peripheral vascular, and vein graft disease and in transplantation-associated arteriosclerosis. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1993; **13**(11): 1631-9.
87. Sedding D, Daniel JM, Muhl L, Hersemeyer K, Brunsch H, Kemkes-Matthes B, et al. The G534E polymorphism of the gene encoding the factor VII-activating protease is associated with cardiovascular risk due to increased neointima formation. *The Journal of experimental Medicine* 2006; **203**(13): 2801-7.
88. Scanlon PJ, Faxon DP, Audet AM, Carabello B, Dehmer GJ, Eagle KA, et al. ACC/AHA guidelines for coronary angiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines (Committee on Coronary Angiography). Developed in collaboration with the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *Journal of the American College of Cardiology* 1999; **33**(6): 1756-824.
89. Little WC, Downes TR, Applegate RJ. The underlying coronary lesion in myocardial infarction: implications for coronary angiography. *Clinical Cardiology* 1991; **14**(11): 868-74.
90. Takenaka A. The properties of rumen microorganism and their contribution to methane production. National Institute of Livestock and Grassland Science. *WIDE Project School of Internet Working Group* 2008
91. Ockene IS, Miller NH. Cigarette smoking, cardiovascular disease, and stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1997; **96**(9): 3243-7.
92. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; **117**(6): 743-53.
93. Jackson R, Lawes CM, Bennett DA, Milne RJ, Rodgers A. Treatment with drugs to lower blood pressure and blood cholesterol based on an individual's absolute cardiovascular risk. *Lancet* 2005; **365**(9457): 434-41.
94. Sawabe M, Arai T, Araki A, Hosoi T, Kuchiba A, Tanaka N, et al. Smoking confers a MTHFR 677C>T genotype-dependent risk for systemic atherosclerosis: results from a large number of elderly autopsy cases that died in a community-based general geriatric hospital. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2009; **16**(2): 91-104.
95. Trompet S, Pons D, Kanse SM, de Craen AJ, Ikram MA, Verschuren JJ, et al. Factor VII Activating Protease Polymorphism (G534E) Is Associated with Increased Risk for Stroke and Mortality. *Stroke Research and Treatment* 2011; **2011**: 424759.
96. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *The Journal of the American Medical Association* 2005; **293**(15): 1861-7.
97. Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *The Journal of the American Medical Association* 1999; **282**(16): 1523-9.
98. Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, Kipnis V, Mouw T, Ballard-Barbash R, et al. Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *The New England Journal of Medicine* 2006; **355**(8): 763-78.
99. Juonala M, Magnussen CG, Berenson GS, Venn A, Burns TL, Sabin MA, et al. Childhood adiposity, adult adiposity, and cardiovascular risk factors. *The New England Journal of Medicine* 2011; **365**(20): 1876-85.

100. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007; **316**(5826): 889-94.
101. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nature Genetics* 2008; **40**(6): 768-75.
102. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, Li S, Lindgren CM, Heid IM, et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature Genetics* 2009; **41**(1): 25-34.
103. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care* 2007; **30**(3): 753-9.
104. Huxley R, Barzi F, Woodward M. Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies. *BMJ* 2006; **332**(7533): 73-8.
105. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GV, Parving HH, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine* 2003; **348**(5): 383-93.
106. Gaede P, Lund-Andersen H, Parving HH, Pedersen O. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine* 2008; **358**(6): 580-91.
107. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine* 2008; **359**(15): 1577-89.
108. Griffin SJ, Borch-Johnsen K, Davies MJ, Khunti K, Rutten GE, Sandbaek A, et al. Effect of early intensive multifactorial therapy on 5-year cardiovascular outcomes in individuals with type 2 diabetes detected by screening (ADDITION-Europe): a cluster-randomised trial. *Lancet* 2011; **378**(9786): 156-67.
109. Imamura M, Maeda S. Genetics of type 2 diabetes: the GWAS era and future perspectives [Review]. *Endocrine Journal* 2011; **58**(9): 723-39.
110. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007; **445**(7130): 881-5.
111. Guella I, Duga S, Ardissino D, Merlini PA, Peyvandi F, Mannucci PM, et al. Common variants in the haemostatic gene pathway contribute to risk of early-onset myocardial infarction in the Italian population. *Thrombosis and Haemostasis* 2011; **106**(4): 655-64.
112. Martinelli N, Trabetti E, Pinotti M, Olivieri O, Sandri M, Friso S, et al. Combined effect of hemostatic gene polymorphisms and the risk of myocardial infarction in patients with advanced coronary atherosclerosis. *PloS one* 2008; **3**(2): e1523.
113. van Ark J, Moser J, Lexis CP, Bekkema F, Pop I, van der Horst IC, et al. Type 2 diabetes mellitus is associated with an imbalance in circulating endothelial and smooth muscle progenitor cell numbers. *Diabetologia* 2012; **55**(9):2501-12.
114. Velmurugan GV, White C. Calcium homeostasis in vascular smooth muscle cells is altered in type 2 diabetes by Bcl-2 protein modulation of InsP3R calcium release channels. *American Journal of physiology Heart and circulatory Physiology* 2012; **302**(1): H124-34.
115. Lipsitz LA, Gagnon M, Vyas M, Iloputaife I, Kiely DK, Sorond F, et al. Antihypertensive therapy increases cerebral blood flow and carotid distensibility in hypertensive elderly subjects. *Hypertension* 2005; **45**(2): 216-21.
116. Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. *Lancet* 2007; **370**: 591-603.
117. MacMahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* 1990; **335**(8692): 765-74.

118. McInnes GT. Hypertension and coronary artery disease: cause and effect. *Journal of hypertension Supplement* 1995; **13**(2): S49-56.
119. Keil U. Coronary artery disease: the role of lipids, hypertension and smoking. *Basic research in Cardiology* 2000; **95 Suppl 1**: I52-8.
120. Cushman WC, Evans GW, Byington RP, Goff DC, Jr., Grimm RH, Jr., Cutler JA, et al. Effects of intensive blood-pressure control in type 2 diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine* 2010; **362**(17): 1575-85.
121. Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, Chasman DI, et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* 2011; **478**(7367): 103-9.
122. Drummond HA. betaENaC is a molecular component of a VSMC mechanotransducer that contributes to renal blood flow regulation, protection from renal injury, and hypertension. *Frontiers in Physiology* 2012; **3**: 341.
123. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Boren J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *European Heart Journal* 2010; **31**(23): 2844-53.
124. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, Kyriakou T, Goel A, Heath SC, et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *The New England Journal of Medicine* 2009; **361**(26): 2518-28.
125. Koga N. Effects of low-density lipoprotein apheresis on coronary and carotid atherosclerosis and diabetic scleredema in patients with severe hypercholesterolemia. *Therapeutic Apheresis* 2001; **5**(4): 244-51.
126. Carleton RA, Dwyer J, Finberg L, Flora J, Goodman DS, Grundy SM, et al. Report of the Expert Panel on Population Strategies for Blood Cholesterol Reduction. A statement from the National Cholesterol Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health. *Circulation* 1991; **83**(6): 2154-232.
127. Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Meinertz H, Schnohr P, Nordestgaard BG. Association of mutations in the apolipoprotein B gene with hypercholesterolemia and the risk of ischemic heart disease. *The New England Journal of Medicine* 1998; **338**(22): 1577-84.
128. Busse R, Fleming I. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Journal of vascular Research* 1996; **33**(3): 181-94.
129. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Kastelein JJ. Lipid parameters for measuring risk of cardiovascular disease. *Nature reviews Cardiology* 2011; **8**(4): 197-206.
130. Hopkins PN, Nanjee MN, Wu LL, McGinty MG, Brinton EA, Hunt SC, et al. Altered composition of triglyceride-rich lipoproteins and coronary artery disease in a large case-control study. *Atherosclerosis* 2009; **207**(2): 559-66.
131. Hopkins PN, Wu LL, Hunt SC, Brinton EA. Plasma triglycerides and type III hyperlipidemia are independently associated with premature familial coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2005; **45**(7): 1003-12.
132. Rissanen AM. Familial occurrence of coronary heart disease: effect of age at diagnosis. *The American Journal of Cardiology* 1979; **44**(1): 60-6.
133. Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2008; **117**(4): e25-146.
134. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; **447**(7145): 661-78.
135. Helgadóttir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdóttir S, Blondal T, Jonasdóttir A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* 2007; **316**(5830): 1491-3.

136. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, Cox DR, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007; **316**(5830): 1488-91.
137. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine* 2007; **357**(5): 443-53.
138. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine* 2005; **352**(16): 1685-95.
139. Flynn AE, Coggins DL, Goto M, Aldea GS, Austin RE, Doucette JW, et al. Does systolic subepicardial perfusion come from retrograde subendocardial flow? *The American Journal of Physiology* 1992; **262**(6 Pt 2): H1759-69.
140. Ferro G, Duilio C, Spinelli L, Liucci GA, Mazza F, Indolfi C. Relation between diastolic perfusion time and coronary artery stenosis during stress-induced myocardial ischemia. *Circulation* 1995; **92**(3): 342-7.
141. Lowe GD. Common risk factors for both arterial and venous thrombosis. *British Journal of Haematology* 2008; **140**(5): 488-95.
142. Weisbach V, Ruppel R, Eckstein R. The Marburg I polymorphism of factor VII-activating protease and the risk of venous thromboembolism. *Thrombosis and Haemostasis* 2007; **97**(5): 870-2.
143. Hoppe B, Dorner T, Kiesewetter H, Salama A. Marburg I polymorphism of factor VII-activating protease and risk of recurrent venous thromboembolism. *Thrombosis and Haemostasis* 2006; **95**(5): 907-8.
144. van Minkelen R, de Visser MC, Vos HL, Bertina RM, Rosendaal FR. The Marburg I polymorphism of factor VII-activating protease is not associated with venous thrombosis. *Blood* 2005; **105**(12): 4898.
145. Franchi F, Martinelli I, Biguzzi E, Bucciarelli P, Mannucci PM. Marburg I polymorphism of factor VII-activating protease and risk of venous thromboembolism. *Blood* 2006; **107**(4): 1731.
146. Gulesserian T, Hron G, Endler G, Eichinger S, Wagner O, Kyrle PA. Marburg I polymorphism of factor VII-activating protease and risk of recurrent venous thromboembolism. *Thrombosis and Haemostasis* 2006; **95**(1): 65-7.
147. Ahmad-Nejad P, Dempfle CE, Weiss C, Bugert P, Borggrefe M, Neumaier M. The G534E-polymorphism of the gene encoding the Factor VII-activating protease is a risk factor for venous thrombosis and recurrent events. *Thrombosis Research* 2012; **30**(3):441-4.
148. Sidelmann JJ, Vitzthum F, Funding E, Munster AM, Gram J, Jespersen J. Factor VII-activating protease in patients with acute deep venous thrombosis. *Thrombosis Research* 2008; **122**(6): 848-53.
149. Peden JF, Farrall M. Thirty-five common variants for coronary artery disease: the fruits of much collaborative labour. *Human molecular Genetics* 2011; **20**(R2): R198-205.
150. Berredjeb Ben Slama D, Fekih-Mrissa N, Haggui A, Nsiri B, Baraket N, Haouala H, et al. Lack of association between factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms in Tunisian subjects with a history of myocardial infarction. *Cardiovascular Pathology* 2013 Jan-Feb; **22**(1):39-41
151. Parahuleva MS, Holschermann H, Erdogan A, Langanke E, Prickartz I, Parviz B, et al. Factor seven activating protease (FSAP) levels during normal pregnancy and in women using oral contraceptives. *Thrombosis Research* 2010; **126**(1): e36-40.
152. Schoen F. Textbook :*The Heart in Robbin's Pathological Basis of Disease*: W.B. Saunders Co; 1994
153. Fleming RM. *The Pathogenesis of Vascular Disease*. Textbook of Angiology New York, Springer-Verlag; 1999

154. Braunwald E., *Braunwald's Heart Disease, A Textbook of Cardiovascular Medicine* Elsevier Saunders, 2005
155. Kanse SM, Etscheid M. Factor VII activating protease. Single nucleotide polymorphisms light the way. *Hamostaseologie* 2011; **31**(3): 174-6, 7-8.
156. Shibamiya A, Muhl L, Tannert-Otto S, Preissner KT, Kanse SM. Nucleic acids potentiate Factor VII-activating protease (FSAP)-mediated cleavage of platelet-derived growth factor-BB and inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation. *Biochemistry Journal* 2007; **404**(1): 45-50.
157. Yamamichi S, Fujiwara Y, Kikuchi T, Nishitani M, Matsushita Y, Hasumi K. Extracellular histone induces plasma hyaluronan-binding protein (factor VII activating protease) activation in vivo. *Biochemical and biophysical Research Communications* 2011; **409**(3): 483-8.
158. Zeerleder S, Zwart B, Wuillemin WA, Aarden LA, Groeneveld AB, Caliezi C, et al. Elevated nucleosome levels in systemic inflammation and sepsis. *Critical care Medicine* 2003; **31**(7): 1947-51.
159. Mu E, Liu X, Chen S, Zhi L, Li X, Xu X, et al. Changes in factor VII-activating protease in a bleomycin-induced lung injury rat model and its influence on human pulmonary fibroblasts in vitro. *International Journal of molekular Medicine*. 2010; **26**(4): 549-55.
160. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *American Heart Journal* 1999; **138**(5 Pt 2): S419-20.
161. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature* 2010; **464**(7293): 1357-61.
162. Tabas I, Williams KJ, Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation* 2007; **116**(16): 1832-44.
163. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunology* 2011; **12**(3): 204-12.
164. Kanse SM, Gallenmueller A, Zeerleder S, Stephan F, Rannou O, Denk S, et al. Factor VII-activating protease is activated in multiple trauma patients and generates anaphylatoxin C5a. *Journal of Immunology* 2012; **188**(6): 2858-65.
165. Sacco RL, Kargman DE, Gu Q, Zamanillo MC. Race-ethnicity and determinants of intracranial atherosclerotic cerebral infarction. The Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 1995; **26**(1): 14-20.
166. Wityk RJ, Lehman D, Klag M, Coresh J, Ahn H, Litt B. Race and sex differences in the distribution of cerebral atherosclerosis. *Stroke* 1996; **27**(11): 1974-80.
167. Wang L, Jerosch-Herold M, Jacobs DR, Jr., Shahar E, Detrano R, Folsom AR. Coronary artery calcification and myocardial perfusion in asymptomatic adults: the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *Journal of the American College of Cardiology* 2006; **48**(5): 1018-26.
168. Reilly MP, Li M, He J, Ferguson JF, Stylianou IM, Mehta NN, et al. Identification of ADAMTS7 as a novel locus for coronary atherosclerosis and association of ABO with myocardial infarction in the presence of coronary atherosclerosis: two genome-wide association studies. *Lancet* 2011; **377**(9763): 383-92.
169. Hanson E, Kanse SM, Joshi A, Jood K, Nilsson S, Blomstrand C, et al. Plasma factor VII-activating protease antigen levels and activity are increased in ischemic stroke. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012; **10**(5): 848-56.
170. Kanse SM, Parahuleva M, Muhl L, Kemkes-Matthes B, Sedding D, Preissner KT. Factor VII-activating protease (FSAP): vascular functions and role in atherosclerosis. *Thrombosis and Haemostasis* 2008; **99**(2): 286-9.
171. Theodoraki EV, Nikopentis T, Suhorutsenko J, Peppes V, Fili P, Kolovou G, et al. Fibrinogen beta variants confer protection against coronary artery disease in a Greek case-control study. *BMC Medical Genetics* 2010; **11**: 28.

172. Senti M, Fernandez-Fernandez JM, Tomas M, Vazquez E, Elosua R, Marrugat J, et al. Protective effect of the KCNMB1 E65K genetic polymorphism against diastolic hypertension in aging women and its relevance to cardiovascular risk. *Circulation Research* 2005; **97**: 1360-5.
173. Koch W, Hoppmann P, Michou E, Jung V, Pfeufer A, Mueller JC, et al. Association of variants in the BAT1-NFKBIL1-LTA genomic region with protection against myocardial infarction in Europeans. *Human molecular Genetics* 2007; **16**(15): 1821-7.
174. Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, et al. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. *The New England Journal of Medicine* 2003; **348**(15): 1435-41.
175. Prandoni P, Ghirarduzzi A, Prins MH, Pengo V, Davidson BL, Sorensen H, et al. Venous thromboembolism and the risk of subsequent symptomatic atherosclerosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; **4**(9): 1891-6.
176. Bova C, Marchiori A, Noto A, Rossi V, Daniele F, Santoro C, et al. Incidence of arterial cardiovascular events in patients with idiopathic venous thromboembolism. A retrospective cohort study. *Thrombosis and Haemostasis* 2006; **96**(2): 132-6.
177. Spencer FA, Ginsberg JS, Chong A, Alter DA. The relationship between unprovoked venous thromboembolism, age, and acute myocardial infarction. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2008; **6**(9): 1507-13.
178. Becattini C, Vedovati MC, Ageno W, Dentali F, Agnelli G. Incidence of arterial cardiovascular events after venous thromboembolism: a systematic review and a meta-analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010; **8**(5): 891-7.

**Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen
Version der Arbeit entfernt.**

**The curriculum vitae was removed from the
electronic version of the paper.**

12. Danksagung

Ich danke meiner Frau Sabrina, die mir in den letzten zwei Jahren die Zeit trotz Geburt der Zwillinge gegeben hat.

Ich danke meinem Bruder Oliver für die Lektorentätigkeit.

Ich danke Frau Dr. Kottmann, für die Betreuung, Hilfestellung und der konstruktiven Kritik während der Fertigstellung der Arbeit.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie es in der Satzung der JLU-Gießen/Marburg niedergelegt ist, eingehalten sowie ethische datenschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Ausland noch Inland vorgelegt.

Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet oder auf das Bezug genommen wurde, wurde als solches kenntlich gemacht. Es wurden alle Personen genannt, die an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Mit der Überprüfung durch eine Plagiatserkennungssoftware erkläre ich mich einverstanden.

M. Klößen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6204-0



9 783835 196204 0

