

Technische Universität München

Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen,
Deutsches Herzzentrum München des Freistaats Bayern
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. Schunkert)

**Assoziation der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf dem
Chromosom 6 mit dem akuten Myokardinfarkt**

Matthias Christian Schrempf

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. A. Kastrati
2. Univ.-Prof. Dr. K.-L. Laugwitz

Die Dissertation wurde am 20.11.2013 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 09.07.2014 angenommen.

Meinem Großvater

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	5
1. Einleitung.....	7
1.1 Die koronare Herzkrankheit und der Myokardinfarkt	7
1.2 Epidemiologie.....	8
1.3 Die Atherosklerose und Risikofaktoren der KHK.....	9
1.4 Die Pathogenese der Atherosklerose.....	10
1.5 Lipoproteine und Atherosklerose.....	14
1.6 Struktur und physiologische Funktion des Lp(a).....	16
1.7 Pathogenes Potential des Lp(a)	17
1.8 Polymorphismen und Haplotypen im menschlichen Genom	18
1.9 SNPs und deren Assoziation mit der KHK	20
1.10 Die <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion.....	21
1.11 Genetische Analyse der <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion	23
1.12 Ziel der Arbeit.....	24
2. Material und Methoden.....	26
2.1 AMI-Patienten und Kontrollpersonen.....	26
2.2 Definitionen	26
2.3 Genotypisierung	28
2.4 Statistische Auswertung	34
2.5 Geräte und Materialien.....	35
3. Ergebnisse.....	37
3.1 AMI- und Kontrollgruppe	37
3.2 Genotypanalyse	38
3.3 Genotypverteilung in der AMI- und Kontrollgruppe.....	40
3.4 Allelhäufigkeit und Risikoabschätzung	42

3.5 rs2048327 und der AMI	45
3.6 rs3127599 und der AMI	45
3.7 rs3798220 und der AMI	46
3.8 rs7767084 und der AMI	47
3.9 rs10755578 und der AMI	48
3.10 rs10455872 und der AMI	48
3.11 Häufigkeiten der Haplotypen und Assoziation mit dem AMI	49
3.12 Korrelation des CCTC-Haplotyps mit rs3798220 und des CTTG- Haplotyps mit rs10455872	51
4. Diskussion	52
4.1 Assoziation der SNPs in der <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion mit dem AMI und Gegenüberstellung der Resultate mit publizierten Daten	52
4.2 Die <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion und das kardiovaskuläre Risiko	60
4.3 Vergleich der aktuellen Haplotypanalyse mit publizierten Studien- ergebnissen	63
4.4 Erweiterte Haplotypanalyse der <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion	67
5. Zusammenfassung	74
Literaturverzeichnis	76
Zeitschriftenartikel, Monographien und Buchbeiträge	76
Internetquellen	96
Tabellenverzeichnis	97
Abbildungsverzeichnis	98
Publikation	99
Danksagung	100

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenosin
ACS	Akutes Koronarsyndrom (acute coronary syndrome)
AMI	Akuter Myokardinfarkt
AP	Angina pectoris
Apo(a)	Apolipoprotein(a)
C	Cytidin
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
G	Guanosin
HDL	High-density lipoprotein
HR	Hazard Ratio
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Revision 10
IDL	Intermediate-density lipoprotein
KHK	Koronare Herzkrankheit
KI	Konfidenzintervall
KIV-2	Kringle IV type 2
LDL	Low-density lipoprotein
Lp(a)	Lipoprotein(a)
<i>LPA</i>	Lipoprotein(a)-Gen
<i>LPAL2</i>	Lipoprotein(a)-like 2 pseudogene
MI	Myokardinfarkt
NO	Stickstoffmonoxid
NSTEMI	Nicht-ST-Hebungsinfarkt (non-ST elevation myocardial infarction)
OCT	Organic cation transporter
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction)
<i>SLC22A3</i>	Solute carrier family 22, member 3
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus (single nucleotide polymorphism)
STEMI	ST-Hebungsinfarkt (ST elevation myocardial infarction)
T	Thymidin

tPA	Gewebsspezifischer Plasminogenaktivator (tissue-type plasminogen activator)
VLDL	Very-low-density lipoprotein

1. Einleitung

1.1 Die koronare Herzkrankheit und der Myokardinfarkt

Die koronare Herzkrankheit (KHK) wird definiert als Manifestation der Atherosklerose in den Herzkranzarterien. Im Rahmen dieses entzündlich-fibroproliferativen Prozesses kommt es zu einer zunehmenden Einengung der Koronargefäße (Ross 1993; Ross 1999; Herold 2011). Die flusslimitierenden Stenosen führen zu einer Abnahme der Myokardperfusion und damit zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf des Herzmuskels. Dies wird als Koronarinsuffizienz bezeichnet (Herold 2011).

Je nach Verminderung des Gefäßdurchmessers und Länge der Stenose in der Koronarangiographie werden verschiedene Schweregrade der Koronarstenose unterschieden (Gould 1985; Herold 2011). Bereits aus einer Koronarstenose kann eine chronische Myokardischämie resultieren. Die akut einsetzende Ischämie beim Myokardinfarkt (MI) ist aber meist die Folge einer Koronarthrombose in einem Herzkranzgefäß oder einem Koronararterienast auf dem Boden einer atherosklerotischen Plaque (Anderson et al. 2007; Herold 2011). Die Myokardischämie kann entweder klinisch stumm als asymptomatische KHK oder als symptomatische KHK verlaufen. Letztere kann sich als stabile Angina pectoris (AP) oder als Akutes Koronarsyndrom (ACS = acute coronary syndrome) manifestieren. Zum ACS werden die drei Entitäten instabile AP, Infarkt mit ST-Hebungen (STEMI = ST elevation myocardial infarction) und der Infarkt ohne ST-Hebungen (NSTEMI = non-ST elevation myocardial infarction) gezählt (Grech & Ramsdale 2003; Achar et al. 2005; Anderson et al. 2007). Als instabile AP bezeichnet man jede innerhalb der letzten zwei Monate neu aufgetretene AP, eine AP in Ruhe, sowie eine AP mit zunehmender Dauer, Häufigkeit oder Stärke. Da ein großer Teil der Patienten mit instabiler AP unbehandelt einen MI erleidet und die Abgrenzung zum NSTEMI in der akuten Phase oft schwierig ist, wird die instabile AP dem ACS zugerechnet (Anderson et al. 2007). Im Gegensatz zur instabilen AP, tritt die stabile AP bei einer definierten

Belastung auf und klingt nach Ende der Belastung oder nach Einnahme von Nitraten ab (Braunwald 1989; Yeghiazarians et al. 2000).

Im Falle des MI kommt es zu einer irreversiblen Koagulationsnekrose der Herzmuskulatur. Zu den Folgeerkrankungen und Komplikationen zählen die Herzinsuffizienz nach ischämischer Herzmuskelschädigung, sowie Herzrhythmusstörungen bis hin zu Kammerflimmern und plötzlichem Herztod.

Nach der Definition der *European Society of Cardiology* und des *American College of Cardiology* liegt ein MI vor, wenn bei einem Patienten ein Anstieg der Herzmarker (Troponin oder MB-Fraktion der Kreatinkinase) zu beobachten ist und zusätzlich entweder Symptome einer Myokardischämie (z.B. Angina pectoris) zu beobachten sind, infarkttypische Veränderungen in einem 12-Kanal-Elektrokardiogramm vorliegen oder eine Koronarintervention vorausgegangen ist (Alpert et al. 2000).

1.2 Epidemiologie

Kardiovaskuläre Erkrankungen gelten sowohl in den westlichen Industrienationen als auch in den Entwicklungsländern als häufigste Todesursache. Den größten Anteil innerhalb dieser Gruppe nimmt die KHK ein (Lopez et al. 2006; Lloyd-Jones et al. 2010; http://www.nhlbi.nih.gov/resources/docs/2009_ChartBook.pdf 2009).

Im Jahre 2010 waren nach Angaben des Statistischen Bundesamts in Deutschland 41,1% aller Todesfälle durch Krankheiten des Herzkreislaufsystems (ICD-10, I00-I99) bedingt. Haupttodesursache war die KHK, mit einem Anteil von 8,5% (ICD-10, I25) aller Todesursachen, gefolgt vom akuten Myokardinfarkt (AMI) mit einem Anteil von 6,5% (ICD-10, I21). Damit belegen die KHK und der AMI die ersten beiden Plätze der deutschen Todesursachenstatistik (www.destatis.de 2012). Die KHK und der AMI werden in der Todesursachenstatistik der Bundesrepublik als getrennte Entitäten betrachtet. Diese strikte Trennung ist jedoch nicht immer möglich, da der AMI häufig eine Folge oder Manifestation der KHK darstellt. Unter Männern betrug der Anteil der KHK 8,3%, der Anteil des AMI 7,5%. Bei Frauen war der Anteil der KHK mit 8,6% etwas höher, der Anteil des AMI mit 5,5% aller Todesursachen niedriger (www.destatis.de 2012).

Obwohl kardiovaskuläre Erkrankungen zu den häufigsten Todesursachen weltweit zählen, gibt es mehrere Studien, die eine Abnahme der Mortalität von KHK und MI seit den 1960er Jahren zeigen (McGovern et al. 1996; Rosamond et al. 1998; Fox et al. 2004; Preis et al. 2009). Darüber hinaus gibt es Daten, die zusätzlich eine Abnahme der KHK-Inzidenz in den Industrieländern belegen. So wurde in der als Follow-up Studie angelegten *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) anhand von zwei Kohorten zwischen den Zeiträumen 1971 bis 1982 und 1982 bis 1992 eine Abnahme der KHK-Inzidenz von 133 auf 114 Fälle pro 10.000 Personenjahre festgestellt (Ergin et al. 2004). In einer weiteren Studie von Arciero et al. (2004) wurde im Zeitraum von 1979 bis 1998 ebenfalls eine Abnahme der Inzidenz der KHK verzeichnet.

Trotz der sinkenden Inzidenz der KHK kann in vielen Studien keine Abnahme der MI-Inzidenz festgestellt werden. Dies ist zum Teil durch eine Zunahme der Inzidenz des NSTEMI bei gleichzeitiger Abnahme der Inzidenz des STEMI bedingt (Furman et al. 2001; Rogers et al. 2008). Daneben gibt es jedoch Studien, in denen eine Abnahme der MI-Inzidenz gezeigt wurde (Hardoon et al. 2008; Roger et al. 2010).

Diese diskrepanten Studienergebnisse und die Zunahme der Inzidenz des NSTEMI sind wohl zum Teil durch die Einführung sensitiverer Labortests, wie der Messung von Troponin I und Troponin T und durch eine Veränderung der Definition und Diagnosekriterien des MI in den letzten Jahrzehnten bedingt (Parikh et al. 2009; Roger et al. 2010).

1.3 Die Atherosklerose und Risikofaktoren der KHK

Die Atherosklerose ist eine Form der Arteriosklerose, die durch eine Ablagerung von Lipiden und entzündlich-proliferative Prozesse in der Gefäßwand großer und mittelgroßer Arterien gekennzeichnet ist (Ross 1993). Je nach betroffener Gefäßregion kann sich die Atherosklerose klinisch als KHK, periphere arterielle Verschlusskrankheit, zerebrale Durchblutungsstörung oder viszerale Durchblutungsstörung manifestieren (Renz-Polster et al. 2008).

In den letzten Jahrzehnten sind durch große epidemiologische Studien zahlreiche Risikofaktoren der Atherosklerose und der KHK identifiziert worden. Als

Paradebeispiel auf diesem Gebiet gilt seit den 1950er Jahren die Framingham-Studie (Dawber et al. 1957; Dawber & Kannel 1966; Castelli et al. 1986). Als Risikofaktoren gelten sowohl genetische Prädispositionen, Umwelteinflüsse und Lebensweise als auch bestimmte anatomische Eigenschaften, die mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Krankheit einhergehen oder die Progression einer Erkrankung statistisch begünstigen (Böcker et al. 2008). Tabelle 1 zeigt eine Auflistung der wichtigsten Risikofaktoren für die Atherosklerose und die KHK.

Tabelle 1: Risikofaktoren für Atherosklerose und die KHK (nach Lusis 2000)

Genetische Prädispositionen	Lebensweise und Umweltfaktoren
Erhöhte LDL- und VLDL-Spiegel	Fetteiche Ernährung
Erniedrigte HDL-Spiegel	Rauchen
Erhöhte Lipoprotein(a)-Spiegel	Niedrige Antioxidantienspiegel
Bluthochdruck	Mangel an Bewegung
Erhöhte Homocystein-Spiegel	Infektion mit <i>Chlamydia pneumoniae</i>
Familiäre Häufung von KHK	Infektion mit CMV
Diabetes mellitus	
Adipositas	
Erhöhte Spiegel von Gerinnungsfaktoren	
Depression und Verhaltensstörungen	
Männliches Geschlecht	
Metabolisches Syndrom	
Systemische inflammatorische Erkrankungen mit erhöhten CRP-Spiegeln	

HDL = High-density lipoprotein; LDL = Low-density lipoprotein; VLDL = Very-low-density lipoprotein; CRP = C-reaktives Protein; CMV = Zytomegalievirus

1.4 Die Pathogenese der Atherosklerose

Das derzeit umfassendste Modell zur Erklärung der Pathogenese der Atherosklerose ist die modifizierte „Response-to-injury“-Hypothese (Consigny 1995; Ross 1999; Lusis 2000; Tegos et al. 2001). Im Rahmen dieser Hypothese werden Prozesse beschrieben, die im Bereich der Gefäßwand als Reaktion („response“) auf eine

Schädigung („injury“) des Gefäßendothels ablaufen (Ross 1999). Obwohl eine Vielzahl von Faktoren bekannt ist, die zur Pathogenese der Atherosklerose beitragen, ist der genaue Ablauf der initialen Endothelschädigung nicht bekannt. Zu den frühesten beobachteten Irregularitäten gehören eine Endotheldysfunktion und Mikroläsionen des Endothels (Ross 1999; Lusis 2000). Die Schädigung des Endothels führt zur Einleitung von kompensatorischen Mechanismen, die das Einwandern von Entzündungszellen begünstigen und die Permeabilität der Gefäßwand für Lipide erhöhen. In den betroffenen Gefäßabschnitten kommt es zu einer Ablagerung von Lipiden in der Intima und zur Einleitung von Umbauprozessen, die mit einer Bindegewebsproliferation einhergehen (Ross 1999). Dies führt zur Ausbildung von fibrösen Plaques und schließlich zur Entstehung von komplexen, rupturgefährdeten Läsionen mit erhöhtem thrombogenen Potential (Lusis 2000).

Die individuelle Manifestation und das Fortschreiten der Erkrankung werden jedoch wesentlich durch das Vorhandensein von Risikofaktoren beeinflusst. Individuen mit Hypertonie, Hypercholesterinämie, Hyperglykämie, bestimmten genetischen Veränderungen (siehe Tab. 1) sowie Raucher gelten als besonders gefährdet, da diese Risikofaktoren einen entscheidenden Beitrag zur Entstehung und zum Progress der Atherosklerose leisten (Ross 1999; Lusis 2000).

Prädisponiert für die Manifestation der Atherosklerose sind Gefäßabzweigungen, Bifurkationen und stark gebogene Gefäßabschnitte. In diesen herrscht, im Gegensatz zu tubulären, geradlinigen Gefäßabschnitten, kein laminarer Blutfluss, sondern eine turbulente Strömung. Dies hat zur Folge, dass das Endothel erhöhten Scherkräften ausgesetzt ist. Dadurch wird sowohl die Morphologie als auch die Anordnung der Endothelzellen dahingehend beeinflusst, dass sie keine klare Ausrichtung zum Blutfluss mehr besitzen und nicht mehr ellipsenförmig, sondern polygonal erscheinen. Diese Regionen zeigen eine erhöhte Permeabilität für das „low-density lipoprotein“ (LDL) und sind prädisponiert für die Entstehung einer atherosklerotischen Läsion (Gimbrone 1999; Lusis 2000). Die erhöhten Scherkräfte in Gefäßabschnitten mit turbulenter Strömung führen außerdem zu einer veränderten endothelialen Genexpression (Gimbrone 1999). In Endothelzellen, die gleichmäßigen laminaren Scherkräften ausgesetzt sind, wird die Expression von Genen, deren Genprodukte eine antithrombotische, antiinflammatorische, antiproliferative oder antioxidative Wirkung auf das Gefäßendothel besitzen, hochreguliert (Topper et al. 1996; Topper & Gimbrone 1999). Zu diesen Genen zählen unter anderem eNOS

(endotheliale NO-Synthase), COX-2 (induzierbare Form der Cyclooxygenase) und Mn-SOD (Mangan-abhängige Superoxid-Dismutase) (Topper et al. 1996). Durch die vermehrte Expression dieser Gene wird der Einfluss systemischer Risikofaktoren wie Bluthochdruck, Hyperglykämie und Hypercholesterinämie auf das Gefäßendothel reduziert (Gimbrone 1999). Daher weisen Gefäßabschnitte mit laminarer Strömung, gegenüber Abschnitten mit turbulenter Strömung, eine geringere Prädisposition für atherosklerotische Läsionen auf (Topper & Gimbrone 1999; Gimbrone 1999).

Im weiteren Verlauf kommt es zur Akkumulation von Lipiden im subendothelialen Gewebe. Das LDL diffundiert passiv durch die Zell-Zell-Verbindungen und kann an den prädisponierten Stellen in der Intima akkumulieren (Lusis 2000). Dies wird durch erhöhte LDL-Spiegel begünstigt (Lusis 2000). Auch andere Apolipoprotein-B-haltige Lipoproteine (Tab. 2), wie Lipoprotein-Abbauprodukte (Remnants) und Lipoprotein(a) (Lp(a)), können sich in der Intima ansammeln und das Fortschreiten der Atherosklerose fördern (Lusis 2000). Interaktionen zwischen dem Apolipoprotein B und subendothelialen Proteoglykanen tragen zur Bindung und Speicherung von LDL in der Gefäßwand bei (Skálén et al. 2002).

Das „high-density lipoprotein“ (HDL) besitzt im Gegensatz zum LDL einen protektiven Effekt (Lusis 2000). Zum einen nimmt das HDL überschüssiges Cholesterin aus peripheren Geweben und Gefäßwänden auf, zum anderen kann es die Oxidation von Lipoproteinen hemmen (Shah et al. 2001). Diese Eigenschaft wird zum Teil durch das Enzym Paraoxonase auf der Oberfläche von HDL-Molekülen vermittelt (Navab et al. 1996; Shih et al. 2000). Bestandteile im Zigarettenrauch können die Aktivität des Enzyms Paraoxonase im Plasma verringern und damit zur Manifestation der Atherosklerose beitragen (Nishio & Watanabe 1997). Das HDL besitzt darüber hinaus antiinflammatorische und antithrombotische Eigenschaften (Shah et al. 2001). Deshalb stellen niedrige HDL-Spiegel einen Risikofaktor für die Atherosklerose dar (Lusis 2000).

Das LDL wird in der Intima durch Oxidation, Lipolyse und Proteolyse modifiziert. Durch Enzyme, Radikale und reaktive Sauerstoffspezies wird das LDL zunächst zum „minimally oxidized“-LDL oxidiert und durch weitere Oxidationsschritte zum „highly oxidized“-LDL. An diesem Prozess sind unter anderem die Enzyme Lipoxygenase, Myeloperoxidase, Sphingomyelinase und sekretorische Phospholipase sowie reaktive Sauerstoffspezies aus Endothelzellen und Makrophagen beteiligt (Stocker &

Keaney 2004). Rauchen kann die Oxidation von LDL zusätzlich begünstigen (Heitzer et al. 1996).

Das oxidierte LDL stimuliert Epithelzellen zur Expression von Adhäsionsmolekülen, chemotaktischen Molekülen und Wachstumsfaktoren, wie dem „macrophage colony-stimulating factor“ (Stocker & Keaney 2004). Zudem kann es die biologische Aktivität von Stickstoffmonoxid (NO), einem bedeutsamen Vasodilatator, reduzieren (Stocker & Keaney 2004). Durch die vermehrte Expression von chemotaktischen Molekülen und Adhäsionsmolekülen kommt es zu einer Einwanderung von T-Zellen und Monozyten in die Gefäßwand. Unter dem Einfluss des „macrophage colony-stimulating factor“ erfolgt in der Gefäßwand die Umwandlung von Monozyten zu Makrophagen, die Enzyme und reaktive Sauerstoffspezies produzieren (Smith et al. 1995; Lüscher 2000).

Durch die Freisetzung von Zytokinen und Enzymen aus den eingewanderten Leukozyten entsteht ein entzündliches Milieu, das die weitere Oxidation und enzymatische Modifikation des LDL fördert (Stocker & Keaney 2004). Das oben genannte „highly-oxidized“-LDL, welches eine stark veränderte Form des LDL darstellt, wird von den Makrophagen in atherosklerotischen Läsionen vorwiegend über die Bindung an Scavenger-Rezeptoren wie CD36, CD68 und SR-A aufgenommen und gespeichert (de Villiers & Smart 1999; Podrez et al. 2000; Lüscher 2000; Stocker & Keaney 2004). Die schnelle Aufnahme der hochoxidierten LDL-Partikel führt zur Bildung von Schaumzellen, die im weiteren Verlauf zum Teil durch Apoptose und Nekrose zersetzt werden und freie Lipide in der Intima freisetzen (Libby et al. 1996; Lüscher 2000; Stocker & Keaney 2004). Erhöhte LDL-Spiegel stellen daher einen der größten Risikofaktoren für die Entstehung einer Atherosklerose und KHK dar.

Zytokine und Wachstumsfaktoren, die von T-Zellen und Makrophagen produziert werden, regen glatte Muskelzellen zur Migration und Proliferation sowie zur Produktion von extrazellulärer Matrix an. Weitere Faktoren, wie erhöhte Homocysteinspiegel (Gerhard & Duell 1999) und Hypertonie (Lüscher 2000), tragen zu diesem Prozess bei.

Innerhalb der Plaque kommt es durch die Interaktion von CD40 auf Makrophagen, Epithelzellen und glatten Muskelzellen mit CD40L (Syn.: CD154) auf T-Zellen zur Ausschüttung von Interferon- γ und Proteasen (Lüscher 2000). Interferon- γ stimuliert einerseits die Produktion von Extrazellulärmatrix durch die glatten

Muskelzellen, andererseits fördert es die Freisetzung von Proteasen wie Stromelysin, Kollagenase und Gelatinase. Die Produktion von extrazellulärer Matrix stellt einen Reparaturprozess dar, der zur Ausbildung einer fibrösen Plaque führt. Durch die freigesetzten Proteasen kommt es jedoch im Inneren der Plaque gleichzeitig zum Abbau der extrazellulären Matrix und damit zu einer Unterbrechung des Reparaturvorganges (Lusis 2000). Dies führt zu einer zunehmenden Destabilisierung der Plaque und Ausbildung einer komplexen rupturgefährdeten Läsion (Libby et al. 1996). Im Falle einer Plaqueruptur kommt es zur Freisetzung des „tissue-factor“ und dadurch zur Einleitung der Gerinnungskaskade und zur Thrombusbildung (Lusis 2000).

1.5 Lipoproteine und Atherosklerose

Lipide dienen im menschlichen Körper als Ausgangsmaterial für die Synthese verschiedener Hormone und Transmitterstoffe, als Bausteine für Zellmembranen und werden zur Energiegewinnung abgebaut. Die Aufnahme erfolgt zum großen Teil über die Nahrung. Zusätzlich ist der menschliche Körper in der Lage eine Vielzahl von Lipiden selbst zu synthetisieren. Die Lipide sind im Blutplasma unlöslich und werden deshalb in Form von Lipoproteinen transportiert (Cox & García-Palmieri 1990). Bestandteile von Lipoproteinen sind Triacylglyceride, Cholesterin, Cholesterinester, Phospholipide und Proteine (Rader et al. 1994). Je nach Lipoprotein sind diese Komponenten in unterschiedlicher Menge vorhanden. Die Proteinbestandteile der kugelförmig geformten Lipoproteine befinden sich an ihrer Oberfläche und werden als Apolipoproteine bezeichnet. Sie tragen ebenso wie die Phospholipide aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften zur Löslichkeit der Lipoproteine im Blutplasma bei. Darüber hinaus fungieren die verschiedenen Apolipoproteine als Kofaktoren für Enzyme und als Liganden für verschiedene Rezeptoren (siehe Tab. 2) (Rader et al. 1994). Es werden fünf Hauptklassen von Lipoproteinen unterschieden.

Die Chylomikronen sind die größten Lipoproteine. Sie werden im Intestinaltrakt synthetisiert und transportieren aus der Nahrung resorbierte Lipide zu peripheren Geweben (Cox & García-Palmieri 1990).

Das „very-low-density lipoprotein“ (VLDL) wird in den Hepatozyten hergestellt. Es besteht zum größten Teil aus Triacylglyceriden (Cox & García-Palmieri 1990). Seine Hauptfunktion besteht im Transport von Lipiden von der Leber zu peripheren Geweben. Durch Lipolyse und Abgabe von Lipiden an Gewebe und andere Lipoproteine entsteht aus dem VLDL das „intermediate-density lipoprotein“ (IDL). Das IDL wird dann von den Leberzellen aufgenommen oder im Blutplasma durch weitere Hydrolyse zum LDL umgewandelt (Rader et al. 1994).

Das LDL besteht zum großen Teil aus Cholesterinestern und Phospholipiden (Cox & García-Palmieri 1990). Es kann von peripheren Geweben und der Leber über einen rezeptorvermittelten Transport aufgenommen werden (Brown & Goldstein 1986). Zusätzlich kann das LDL über einen unregulierten Transport durch die Scavenger-Rezeptoren auf Makrophagen aufgenommen werden (de Villiers & Smart 1999).

Die Vorstufen des HDL werden in der Leber und im Intestinaltrakt produziert. Durch die Aufnahme von Lipiden und Apolipoproteinen aus anderen Lipoproteinen entstehen aus den Vorstufen die HDL-Moleküle. Das HDL kann überschüssiges Cholesterin aus den Körperzellen und Geweben aufnehmen und dieses zurück zur Leber transportieren (Tall 1990; Rosenson et al. 2012).

Störungen im Metabolismus der Apolipoproteine und der Lipoproteine führen zu einem veränderten Lipidtransport und Lipidmetabolismus und stellen einen der Hauptrisikofaktoren für Atherosklerose und die KHK dar (Rader et al. 1994; Lusis 2000).

Tabelle 2: Apolipoproteine und ihre Funktionen (modifiziert nach Rader et al. 1994)

Apolipoprotein	Lipoprotein	Hauptfunktionen
Apo A-I	HDL	Strukturprotein im HDL Aktivierung der LCAT
Apo A-II	HDL	Strukturprotein im HDL Aktivierung der hepatischen Lipase
Apo A-IV	HDL, Chylomikron	Aktivierung von LPL und LCAT
Apo B-100	VLDL, IDL, LDL, Lp(a)	Strukturprotein im LDL, VLDL und Lp(a) Ligand für den LDL-Rezeptor
Apo B-48	Chylomikron, Lipoprotein- Abbauprodukt (Remnant)	Strukturprotein im Chylomikron
Apo C-II	Chylomikron, VLDL	Essentieller Kofaktor der LPL
Apo C-III	Chylomikron, VLDL, HDL	Inhibiert Bindung des Lipoproteins an Rezeptoren
Apo E	Lipoprotein-Abbauprodukt (Remnant), VLDL, LDL, HDL	Ligand für den Abbauprodukt (Remnant)- Apo E- Rezeptor Ligand für den LDL-Rezeptor
Apo (a)	Lp(a)	Strukturprotein im Lp(a) Möglicher Inhibitor der Plasminogenakti- vierung

Apo = Apolipoprotein; HDL = High-density lipoprotein; IDL = Intermediate-density lipoprotein; LCAT = Lecithin-Cholesterin-Acetyltransferase; LDL = Low-density lipoprotein; Lp(a) = Lipoprotein(a); LPL = Lipoproteinlipase; VLDL = Very-low-density lipoprotein

1.6 Struktur und physiologische Funktion des Lp(a)

Lp(a) ist in seiner Struktur dem LDL sehr ähnlich. Der Proteinanteil dieses Lipoproteins besteht aus dem Apolipoprotein(a) (Apo(a)), welches kovalent über eine Disulfidbrücke an das Apolipoprotein B-100 gebunden ist (Steyrer et al. 1994; Arai et al. 2010). Die Apo(a)-Kette enthält fünf cysteinreiche Abschnitte, die als „kringles“ bezeichnet werden. Der Vierte dieser Abschnitte ist ein Homolog der fibrinbindenden Domäne des Plasminogens, welches eine entscheidende Rolle bei der Thrombolysen spielt (McLean et al. 1987). Über die physiologische Funktion des Lp(a) ist bisher nur wenig bekannt. Das Lp(a) scheint im Mausmodell Entzündungsreaktionen zu modulieren und die Rekrutierung von Neutrophilen zu inhibieren (Hoover-Plow et al. 2009).

1.7 Pathogenes Potential des Lp(a)

Seit Anfang der 1990er Jahre wurde Lp(a) in mehreren prospektiven Studien und Fallkontrollstudien als ein kardiovaskulärer Risikofaktor identifiziert und eine Assoziation von erhöhten Lp(a)-Spiegeln mit der KHK und dem MI nachgewiesen (Schaefer et al. 1994; Danesh et al. 2000; Holmer et al. 2003; Bennet et al. 2008; Erqou et al. 2009). Seitdem wurden mehrere mögliche Mechanismen beschrieben über die Lp(a) die Thrombogenese, Fibrinolyse und Atherogenese beeinflussen könnte (Hancock et al. 2003).

Plasminogen ist die Vorstufe des aktiven fibrinolytischen Enzyms Plasmin und wird durch den „tissue-type plasminogen activator“ (tPA) aktiviert. Das Lp(a) besitzt die Fähigkeit diese Aktivierung zu hemmen und dadurch Einfluss auf die Fibrinolyse zu nehmen (Marcovina & Koschinsky 2003). Es wurden sowohl eine kompetitive als auch eine nicht-kompetitive Inhibition der tPA-vermittelten Plasminogenaktivierung durch das Lp(a) beschrieben (Edelberg et al. 1990; Loscalzo et al. 1990).

Für die effektive Katalyse der Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin ist die Bildung eines Komplexes aus Plasminogen, tPA und Fibrin nötig (Marcovina & Koschinsky 2003). Aufgrund der strukturellen Verwandtschaft von Apo(a) und Plasminogen wurde angenommen, dass die Inhibition der Plasminogenaktivierung aus einer Konkurrenz zwischen Apo(a) und Plasminogen um Bindestellen auf dem Fibrinmolekül oder Zelloberflächen resultiert (Marcovina & Koschinsky 2003). Hancock et al. (2003) stellten in neueren Untersuchungen fest, dass sich in Anwesenheit von Apo(a) ein Komplex aus Apo(a), tPA, Fibrin und Plasminogen bildet, der eine langsamere Aktivierung von Plasminogen zur Folge hat. Dies kann zu einer verlangsamten Fibrinolyse führen.

Argaves et al. (1997) zeigten, dass der VLDL-Rezeptor von Makrophagen und Fibroblasten in atherosklerotischen Plaques exprimiert wird und eine Rolle bei der rezeptorvermittelten Endozytose von Lp(a) spielt. Das Lp(a) wird von Fibroblasten aufgenommen, die den VLDL-Rezeptor exprimieren, nicht jedoch von Fibroblasten ohne den VLDL-Rezeptor. Zudem kann durch spezifische Antikörper gegen den VLDL-Rezeptor die Aufnahme von Lp(a) in die Zelle gehemmt werden (Argaves et al. 1997). Der VLDL-Rezeptor könnte daher einen Beitrag zur intrazellulären Akkumulation von Lipiden in Makrophagen leisten (Argaves et al. 1997).

Der LDL-Rezeptor hingegen scheint für den normalen Metabolismus von Lp(a) eine untergeordnete Rolle zu spielen. Es wurde zwar festgestellt, dass Lp(a) an den LDL-Rezeptor bindet und im Mausmodell eine Überexpression des LDL-Rezeptors zu einer schnelleren Aufnahme von Lp(a) aus dem Plasma führt (Hofmann et al. 1990), dennoch zeigen sich im Vergleich von Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie, die homozygot für das defekte LDL-Rezeptorgen sind und Individuen ohne eingeschränkte LDL-Rezeptorfunktion, keine signifikanten Unterschiede im Metabolismus des Lp(a) (Rader et al. 1995).

Darüber hinaus fördert Lp(a) die Expression des Adhäsionsmoleküls „intercellular adhesion molecule 1“ auf Endothelzellen. Dies erfolgt möglicherweise indirekt über eine verminderte Produktion von aktiviertem „transforming growth factor β “. Die Expression des „intercellular adhesion molecule 1“ könnte die Einwanderung von Leukozyten in die atherosklerotischen Plaques begünstigen (Takami et al. 1998). Gestützt werden diese Daten durch *in vivo* Ergebnisse von Dangas et al. (1998), die zeigen, dass die Menge an Lp(a) in einer Plaque sowohl mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung als auch mit der Anzahl an Makrophagen in einer atherosklerotischen Läsion korreliert.

1.8 Polymorphismen und Haplotypen im menschlichen Genom

Das menschliche Genom umfasst ca. 3,3 Milliarden Basenpaare (<http://www.ensembl.org/index.html> 2012). Vergleicht man die Sequenzen zweier zufällig ausgewählter menschlicher Genome, so sind sie zu ca. 99,9% identisch und unterscheiden sich nur zu ca. 0,1% (Jorde & Wooding 2004). Diese interindividuellen Unterschiede sind zum größten Teil durch den Austausch von Nukleotiden bedingt. Treten in einer Population, an einer definierten Position in der genomischen DNA mehrere, in der Regel zwei, verschiedene Nukleotide auf, so spricht man von einem Einzelnukleotid-Polymorphismus („single nucleotide polymorphism“, SNP) (Ziegler et al. 2010). Eine strengere Definition fordert zusätzlich, dass das seltenste Allel eines SNP eine Häufigkeit von mindestens einem Prozent aufweist (Brookes 1999; Ziegler et al. 2010). SNPs machen den größten Teil (ca. 90%) der genetischen Variationen im menschlichen Genom aus (The International HapMap Consortium 2003; Ziegler et

al. 2010). Derzeit sind in der Datenbank „dbSNP“ des „National Center for Biotechnology Information“ ca. 38 Millionen validierte SNPs im Genom des Menschen erfasst (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP> 2012).

Eine bestimmte Kombination von SNP-Allelen in einer DNA-Region oder auf einem Chromosom wird als Haplotyp bezeichnet (Pääbo 2003; Manolio 2010). SNP-Allele eines Haplotyps unterliegen einem Kopplungsungleichgewicht, weil sie eine räumliche Nähe auf dem DNA-Strang aufweisen. Dies bedeutet, dass einzelne Haplotypen in einer Bevölkerung häufiger oder seltener vorkommen als man es bei einer freien Kombination ihrer Allelkomponenten erwarten würde (Reich et al. 2001; Bickeböllner & Fischer 2007; Ziegler et al. 2010).

Haplotypenanalysen haben im letzten Jahrzehnt im Rahmen von Assoziationsstudien eine zunehmende Bedeutung erlangt (Ziegler et al. 2010). Ziel dieser Studien ist es eine Assoziation eines bestimmten Phänotyps oder einer Krankheit mit bestimmten genetischen Variationen nachzuweisen. Als genetische Marker werden dabei häufig SNP-Kombinationen in Form von Haplotypen verwendet (Hirschhorn & Daly 2005; Bickeböllner & Fischer 2007; Manolio 2010).

Die Analyse von Haplotypen im Rahmen von Assoziationsstudien kann, aufgrund bestimmter Eigenschaften von Haplotypen, Vorteile gegenüber der alleinigen Analyse von SNPs bieten. Ein Haplotyp kann eine stärkere Assoziation mit einer Krankheit aufweisen als die Einzelanalyse der SNP-Allele vermuten ließe. Dies ist beispielsweise dann der Fall, wenn keines der haplotypbildenden Allele zur eigentlichen Krankheit führt, sondern der Haplotyp mit einer weiteren Variation assoziiert ist, die in der Nähe der haplotypbildenden Allele liegt (Ziegler et al. 2010). Sowohl Simulationsstudien als auch analytische Studien haben gezeigt, dass Haplotypenanalysen eine höhere Teststärke (*Power*) besitzen als die Analyse einzelner SNPs. Dies gilt insbesondere dann, wenn es mehrere krankheitsassoziierte Allele und Gene gibt oder Interaktionen zwischen mehreren Allelen vorliegen (Clark 2004; Ziegler et al. 2010).

1.9 SNPs und deren Assoziation mit der KHK

In den letzten Jahren wurden in Fall-Kontroll- und Kohortenstudien zunehmend SNPs identifiziert, die zu einem erhöhten KHK-Risiko beitragen (Topol 2006; Samani et al. 2007; Shiffman et al. 2008; Clarke et al. 2009).

Zahlreiche SNPs in Genen von Proteinen des Gerinnungssystems, des Lipidstoffwechsels, der Elektrolyt- und Blutdruckregulation sowie von kardialen und endothelialen Schlüsselproteinen sind bisher mit einem erhöhten KHK-Risiko in Verbindung gebracht worden. Dazu zählen unter anderem das Apo(a)-Gen, das Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Typ 1-Gen sowie die Gene der endothelialen NO-Synthase und der Lipoproteinlipase (Lusis 2000).

Je nach Lage und Nukleotidaustausch des entsprechenden SNP können unter anderem Genregulation, Splicing, Proteinstruktur und Proteinfunktion beeinflusst werden (Buckland 2006). Beispielsweise führt das G-Allel des rs268-Polymorphismus (A/G) im Codon 291 des Lipoproteinlipase-Gens, gegenüber dem A-Allel, zum Austausch der Aminosäure Asparagin gegen Serin (N291S) und ist gegenüber dem A-Allel mit einem erhöhten KHK-Risiko assoziiert (Wittrup et al. 1997; Wittrup et al. 1999; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP> 2012). Im Gen der endothelialen NO-Synthase kommt es durch den rs1799983-Polymorphismus (T/G), bei Vorliegen des T-Allels anstelle des G-Allels im Codon 298, zum Austausch von Glutamat gegen Aspartat in der Primärstruktur des Proteins. Für das rs1799983-T-Allel wurde eine Assoziation mit einem erhöhten KHK- und MI-Risiko festgestellt (Hingorani et al. 1999; Colombo et al. 2002; Zhang et al. 2012). Liegen SNPs im Bereich des Genpromotors außerhalb des kodierenden Abschnitts können sie die Transkription eines Gens beeinflussen. Dieser Mechanismus liegt möglicherweise dem Polymorphismus -603 (A/G) in der Promotorregion des „tissue factor“-Gens zu Grunde. Das G-Allel dieses SNP ist mit einem erhöhten MI-Risiko und einer erhöhten mRNA-Expression im Vergleich zum A-Allel assoziiert (Ott et al. 2004).

1.10 Die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion

Die drei Gene *LPA* (OMIM [Online Mendelian Inheritance in Man] 152200), *LPAL2* (OMIM 611682) und *SLC22A3* (OMIM 604842) liegen unmittelbar benachbart auf dem langen Arm des Chromosoms 6 im Abschnitt 6q26-q27. Im Rahmen einer genomweiten Haplotyp-Assoziationsstudie von Trégouët et al. (2009) wurde diese Genregion als Risikolokus für die KHK identifiziert.

Das *LPA*-Gen kodiert für das Apo(a). Es hat eine Länge von 136 Kilobasen (kb) und besitzt 40 Exonen. Das Gen kodiert für drei verschiedene Transkripte. Eines davon besteht aus 39 Exonen mit einer Länge von 6.414 bp und eines aus 40 Exonen mit einer Länge von 6.490 bp. Aus beiden Transkripten wird ein Protein mit einer Primärstruktur von 2.040 Aminosäuren erzeugt. Das dritte Transkript ist eine verkürzte Version, die nicht translatiert wird. Es besteht aus 6 Exonen und hat eine Länge von etwa 465 bp (<http://www.ensembl.org/index.html> 2012; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> 2012). Im Bereich des *LPA*-Gens sind über 2.500 genetische Variationen dokumentiert. Dabei handelt es sich überwiegend um SNPs (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP> 2012). Neben der großen Anzahl an punktuellen Variationen wurde ein Längenpolymorphismus des *LPA*-Gens mit klinischer Relevanz beschrieben (Erqou et al. 2010). Es handelt sich um den „kringle IV type 2“ (KIV-2)-Längenpolymorphismus. Dieser ist definiert durch eine unterschiedliche Anzahl an Kopien einer 5.5 kb-langen Sequenz (Repeat), die für die cysteinreiche KIV-2-Struktur kodiert (Lackner et al. 1993). Es können zwischen 2 und mehr als 40 Kopien der KIV-2-Struktur vorliegen (Nordestgaard et al. 2010). Dies führt zu unterschiedlich großen Apo(a)-Isoformen mit einer Größe zwischen 250 bis 900 kDa (McLean et al. 1987; Lackner et al. 1993). Die Anzahl an KIV-2-Kopien korreliert dabei invers mit dem Lp(a)-Spiegel (Utermann 1989; Nordestgaard et al. 2010) und es wird davon ausgegangen, dass der interindividuelle Unterschied in der Höhe des Lp(a)-Spiegels zum großen Teil auf diesen Polymorphismus zurückzuführen ist (Boerwinkle et al. 1992; Kamstrup et al. 2009). Für Apo(a)-Isoformen mit einer geringen Anzahl an KIV-2-Kopien (≤ 22 Kopien) wurde, im Vergleich zu Isoformen mit einer hohen Anzahl an KIV-2-Kopien (> 22 Kopien), eine Assoziation mit einem erhöhten KHK- und MI-Risiko nachgewiesen (Holmer et al. 2003; Erqou et al. 2010).

Die unterschiedliche Anzahl an KIV-2-Kopien ist mit bestimmten SNPs im *LPA*-Gen assoziiert. Dazu gehören die SNPs rs3798220 und rs10455872. Der SNP rs3798220 (T/C) liegt in einem kodierenden Abschnitt des *LPA*-Gens. Das rs3798220-C-Allel führt gegenüber dem T-Allel zum Austausch der Aminosäure Isoleucin gegen Methionin (I4399M) in der proteasenähnlichen Domäne des Apo(a)-Proteins (Luke et al. 2007; Chasman et al. 2009; Clarke et al. 2009). Der SNP rs10455872 (A/G) liegt in einer nichtkodierenden Region des *LPA*-Gens (Clarke et al. 2009). Für die Allele rs3798220-C und rs10455872-G wurde sowohl eine Assoziation mit einer geringeren Anzahl an KIV-2-Kopien als auch eine Assoziation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln nachgewiesen (Luke et al. 2007; Chasman et al. 2009; Clarke et al. 2009). In der Arbeit von Clarke et al. (2009) wiesen homozygote Träger des rs3798220-C-Allels zwischen 19 und 21 KIV-2-Kopien auf, bei homozygoten Trägern des rs10455872-G-Allels fanden sich 17 bis 20 KIV-2-Kopien.

Beim *LPAL2*-Gen (lipoprotein(a)-like 2, pseudogene) handelt es sich um ein Pseudogen mit einer Länge von etwa 59 kb (<http://www.ensembl.org/index.html> 2012). Das Gen weist eine große Ähnlichkeit zum *LPA*-Gen auf, allerdings besitzen die Transkripte dieses Gens ein verkürztes offenes Leseraster („open reading frame“). Dies führt zur Entstehung von Nonsense-Genprodukten, die dem Abbau zugeführt werden (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> 2012). Bei den über 900 beschriebenen genetischen Variationen in der Region des *LPAL2*-Gens handelt es sich hauptsächlich um SNPs (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP> 2012).

Das *SLC22A3*-Gen (solute carrier family 22, member 3) hat eine Länge von ungefähr 108 kb und enthält 11 Exonen. Zwei verschieden lange Transkripte des Gens sind bekannt. Die zugehörigen Proteine besitzen eine Länge von 556 und 557 Aminosäuren (<http://www.ensembl.org/index.html> 2012). Bei den über 1.700 dokumentierten genetischen Variationen in dieser Genregion handelt es sich ebenfalls überwiegend um SNPs (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP> 2012). Das Gen kodiert für einen Transporter aus der Familie der „organic cation transporters“ (OCT) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> 2012), der auch als extraneuronaler Monoamintransporter bezeichnet wird (Vialou et al. 2004). Diese Transporter sind an der zellulären Aufnahme und Elimination einer Vielzahl von physiologisch im Körper vorkommenden und körperfremden kationischen Substanzen beteiligt (Vialou et al. 2004). Während die Subtypen OCT1 und OCT2 hauptsächlich in Leber, Niere und Dünndarm gefunden wurden, zeigt der vom

SLC22A3-Gen kodierte Subtyp OCT3 ein vermehrtes Vorkommen in Herz, Gehirn und Plazenta. Es wurde beschrieben, dass OCT3 Noradrenalin, Serotonin und Histamin transportiert und somit an der Monoamin-Homöostase *in vivo* beteiligt sein könnte (Gründemann et al. 1998; Gründemann et al. 1999). Außerdem spielt der OCT3-Transporter eine Rolle bei der Regulation der Flüssigkeits-Homöostase und der Regulation der Plasmaosmolarität (Vialou et al. 2004).

1.11 Genetische Analyse der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion

Trégouët et al. (2009) identifizierten mittels einer genomweiten Haplotypanalyse die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf dem Chromosom 6 als Risikolokus für die KHK. Im Rahmen dieser Haplotypanalyse wurden die vier SNPs rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578 sowie die daraus gebildeten Haplotypen untersucht. Für rs2048327 wurde von Trégouët et al. (2009) eine Assoziation mit der KHK nachgewiesen, für die anderen drei SNPs wurde keine Assoziation festgestellt. Haplotypen mit einer Häufigkeit von mehr als einem Prozent (insgesamt sieben Haplotypen) wurden in die statistische Auswertung von Trégouët et al. (2009) eingeschlossen. Diese sieben Haplotypen und ihre Häufigkeit werden in Tabelle 3 gezeigt. Zwei der sieben Haplotypen (CTTG und CCTC) waren mit einem erhöhten KHK-Risiko assoziiert. Dieser Effekt war jedoch durch keinen der vier haplotypbildenden SNPs alleine ausreichend zu erklären (Trégouët et al. 2009).

Tabelle 3: Die häufigsten Haplotypen in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion in der Arbeit von Trégouët et al. (2009)

rs2048327	rs3127599	rs7767084	rs10755578	Häufigkeit ^a
T	C	T	C	47,8%
C	T	T	G	16,7%
C	C	C	G	15,4%
T	T	T	G	11,5%
C	C	T	G	3,2%
C	C	T	C	2,4%
T	T	T	C	1,5%

^a Häufigkeit der Haplotypen in der Gesamtpopulation von Trégouët et al. (2009)

1.12 Ziel der Arbeit

Die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf dem Chromosom 6 wurde als ein Risikolokus für die KHK identifiziert. Bestimmte genetische Variationen im *LPA*-Gen stehen im Zusammenhang mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln und für erhöhte Lp(a)-Spiegel wurde eine Assoziation mit der KHK gezeigt.

Das erste Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, eine Assoziation der sechs SNPs rs2048327, rs3127599, rs3798220, rs7767084, rs10755578 und rs10455872 in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit dem AMI, als akute Manifestationsform der KHK, nachzuweisen. Als Studienpopulation dienten 2.136 AMI-Patienten und 1.211 Kontrollpersonen mit unauffälligem Befund in der Koronarangiographie, die am Deutschen Herzzentrum München sowie am Klinikum rechts der Isar rekrutiert wurden. Als zweites Ziel sollte eine Assoziation von Haplotypen, bestehend aus den vier SNPs rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578, mit dem AMI gezeigt werden. Diese Haplotypen erfassen einen großen Teil der Gesamtvariation in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion. Unter der Voraussetzung einer bestehenden Assoziation von Haplotypen der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit dem AMI, sollte als drittes und wichtigstes Ziel der Arbeit der Nachweis erbracht werden, dass

eine Korrelation der SNPs rs3798220 und rs10455872 im *LPA*-Gen mit Haplotypen der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion besteht und somit ein möglicher Einfluss von Haplotypen in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf das AMI-Risiko zum Teil durch diese beiden SNPs erklärt werden kann.

2. Material und Methoden

2.1 AMI-Patienten und Kontrollpersonen

Die untersuchte Studienpopulation bestand aus Europäern mit größtenteils (90%) deutscher Abstammung. Alle Studienteilnehmer wurden im Zeitraum 1993 bis 2002 am Deutschen Herzzentrum München oder der 1. Medizinischen Klinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München rekrutiert. 3.605 Studienteilnehmer wurden nach einer Koronarangiographie in die Gruppe der Patienten mit AMI oder in die Kontrollgruppe eingeteilt. 97,3% (n=3.508) der Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis für genetische Analysen. Von keinem der Teilnehmer wurde das Einverständnis zurückgenommen. Blutproben zur DNA-Isolierung wurden von 95,4% (n=3.347) derjenigen Personen gewonnen, die ihr Einverständnis zur Teilnahme gegeben hatten. Aus diesem Personenkreis, bestehend aus 2.136 Patienten mit AMI und 1.211 Kontrollpersonen, setzte sich die Studienpopulation zusammen.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München genehmigt und stand im Einklang mit den Prinzipien der aktuellen Fassung der Deklaration von Helsinki (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html> 2011).

2.2 Definitionen

Die Diagnose des AMI wurde gestellt, wenn thorakale Schmerzen mit einer Dauer von über 20 Minuten in Kombination mit ST-Segment-Hebungen oder pathologischen Q-Zacken im Oberflächen-Elektrokardiogramm vorlagen. Bei allen Patienten wurde eine Koronarangiographie durchgeführt. Um in die Studie eingeschlossen zu werden, musste bei den Patienten entweder ein Verschluss einer, mit dem MI korrespondierenden Arterie, in der Koronarangiographie nachgewiesen werden oder regionale Bewegungsstörungen der Herzwand, in einem mit der elektrokardio-

graphischen Infarktlokalisierung korrespondierenden Areal, vorliegen. Die Diagnose des AMI wurde zusätzlich durch den Anstieg der MB-Fraktion der Kreatinkinase oder des Troponin T über den Referenzbereich hinaus bestätigt.

Für die Zuteilung der Probanden zur Kontrollgruppe mussten mehrere Kriterien erfüllt sein. In der koronarangiographischen Untersuchung war erforderlich, dass die Probanden einen unauffälligen Befund der Herzkranzgefäße hatten oder nur geringfügige Veränderungen der Gefäßwände mit einer Reduktion des Gefäßdurchmessers von weniger als 10% vorlagen. Zusätzlich durften die Probanden keinen MI in der medizinischen Vorgeschichte haben, keine MI-typischen Symptome zeigen und weder regionale Bewegungsstörungen der Herzwand noch elektrokardiographische AMI-Zeichen aufweisen. Die Koronarangiographie wurde bei den Kontrollpersonen zur differentialdiagnostischen Abklärung von thorakalen Schmerzen durchgeführt.

Systemische arterielle Hypertonie wurde als Einnahme einer antihypertensiven Medikation oder als systolischer Blutdruck ≥ 140 mmHg und / oder diastolischer Blutdruck ≥ 90 mmHg definiert (Chalmers et al. 1999). Die erhöhten Blutdruckwerte mussten bei mindestens zwei separaten Messungen vorliegen. Hypercholesterinämie wurde als ein Gesamtcholesterinwert im Serum ≥ 240 mg/dl (6,2 mmol/l) oder als Einnahme von cholesterinsenkenenden Medikamenten entsprechend den Definitionen und Informationen der „Thrombolysis In Myocardial Infarction (TIMI) Study Group“ im Dokument „TIMI definitions for commonly used terms in clinical trials“ (<http://www.timi.org/wp-content/uploads/2010/10/TIMI-Definitions.pdf> 2013) definiert. Probanden, die nach eigener Aussage in den letzten sechs Monaten regelmäßig geraucht hatten, wurden als Raucher bezeichnet. Das Vorliegen eines Diabetes mellitus wurde als derzeitige Behandlung mit Insulin oder oralen Antidiabetika definiert. Bei Personen, die nur mit Ernährungsumstellung behandelt wurden, wurde zusätzlich ein dokumentierter abnormaler Wert der Nüchtern-glucose oder ein abnormaler oraler Glucosetoleranz-Test, basierend auf den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation, benötigt (WHO 1985).

2.3 Genotypisierung

Für die Genotypisierung wurde genomische DNA der Studienteilnehmer verwendet. Die DNA war aus Blutproben der Probanden aus peripheren Blutleukozyten mit Hilfe von kommerziell erhältlichen Reagenzien (Nucleo-Spin Blood Quick Pure; Macherey-Nagel) extrahiert, bei -25 °C gelagert und für diese Arbeit zur Verfügung gestellt worden.

Zur Genotypisierung der sechs Polymorphismen rs2048327, rs3127599, rs7767084, rs10755578, rs3798220 und rs10455872 in der Studienpopulation wurde die TaqMan-Methode eingesetzt, die eine Kombination aus der Polymerasekettenreaktion (PCR) und der 5'-Nuklease Reaktion darstellt (Livak 1999; de Kok et al. 2002). Im Folgenden wird die TaqMan-Methode erläutert, die in Abbildung 1 veranschaulicht wird.

Für die TaqMan-Methode werden, neben den für eine PCR benötigten Reagenzien (darunter ein Primerpaar) zwei DNA-Sonden benötigt, von denen die eine spezifisch für das häufigere und die andere spezifisch für das seltenere Allel eines SNP ist. Bei den Sonden handelt es sich um Oligonukleotide mit einer Länge von 14-22 Basen, deren Basensequenz komplementär zum DNA-Abschnitt ist, der die polymorphe Sequenz beinhaltet. Die Sonden tragen an ihrem 5'-Ende ein Reportermolekül, welches durch Licht einer bestimmten Wellenlänge zur Fluoreszenz angeregt werden kann. Von den beiden allelspezifischen Sonden, die pro SNP verwendet werden, ist die eine mit dem Reportermolekül 6-FAM (6-Carboxyfluorescein), die andere mit dem Reportermolekül VIC (Fluoreszenzfarbstoff der Firma Applied Biosystems), markiert. Die Reportermoleküle 6-FAM und VIC unterscheiden sich in ihren Fluoreszenzeigenschaften und ermöglichen dadurch bei der späteren Auswertung die Unterscheidung der beiden Allele eines SNP. Die Fluoreszenzeigenschaften der beiden verwendeten Reportermoleküle sind in Tabelle 4 dargestellt.

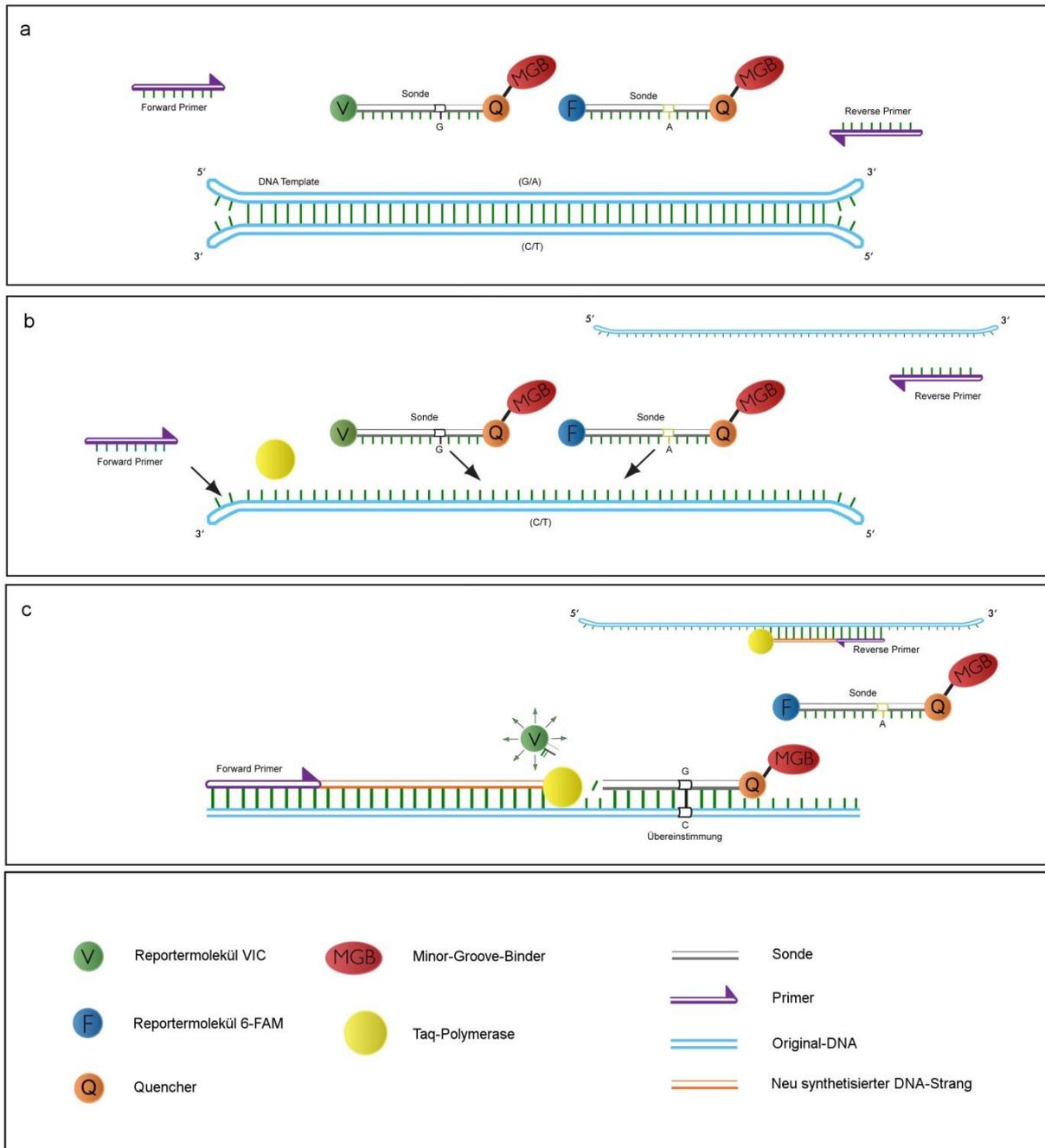


Abbildung 1: Die TaqMan-Methode

a: Primer, Sonden und doppelsträngige Original-DNA

b: Denaturierte einzelsträngige Original-DNA, Primer und Sonden vor der Hybridisierung

c: Primerelongation, Abbau der passgenauen (vollständig komplementären) Sonde und Freisetzung des Reportermoleküls

(Abbildung modifiziert in Anlehnung an eine Darstellung aus „Applied Biosystems – Product Bulletin – TaqMan Genotyping Assays“; online verfügbar unter http://tools.invitrogen.com/content/sfs/brochures/cms_040597.pdf 2012)

Tabelle 4: Fluoreszenzeigenschaften der verwendeten Reporter-moleküle

Reporter-molekül	Anregungswellenlänge	Emissionswellenlänge
6-FAM	492 nm	517 nm
VIC	538 nm	554 nm

Am 3'-Ende tragen die Sonden einen nichtfluoreszierenden Quencher, der durch seine räumliche Nähe zum Reporter-molekül dessen Fluoreszenz unterdrückt (Lakowicz 2006). Zudem verfügen die Sonden am 3'-Ende über eine „Minor-Groove-Binder“-Gruppe, die durch Interaktion mit der kleinen Furche der DNA-Helix („minor groove“) den Komplex aus einzelsträngiger Original-DNA und gebundener Sonde stabilisiert und den Einsatz kürzerer Sonden ermöglicht (Afonina et al. 1997; de Kok et al. 2002). Kürzere Sonden haben gegenüber längeren Sonden den Vorteil, dass sich der Unterschied in der Denaturierungstemperatur („melting temperature“ T_m) zwischen spezifisch gebundenen Sonden und unspezifisch oder falsch gebundenen Sonden erhöht und somit eine bessere Diskrimination der Allele erreicht wird (Kutyavin et al. 2000).

Wie bei einer PCR werden bei der TaqMan-Methode mehrere Zyklen, jeweils bestehend aus den Phasen Denaturierung („melting“), Hybridisierung („annealing“) und Elongation („extension“), durchlaufen. Mit jedem Zyklus wird die Anzahl der durch Forward- und Reverse-Primer festgelegten DNA-Abschnitte verdoppelt, so dass es zu einem exponentiellen Anstieg der PCR-Produkte kommt. Nach der Denaturierung erfolgt die Hybridisierung der Primer und Sonden an die DNA-Einzelstränge. Während der darauf folgenden Primer-Elongation wird durch die 5'→3'-Exonukleaseaktivität der Taq-Polymerase, die an den DNA-Strang hybridisierte, vollkommen komplementäre Sonde hydrolysiert - nicht jedoch die unvollständig komplementäre Sonde, die freigesetzt wird und intakt bleibt. Durch den Abbau der passgenauen Sonde kommt es zur räumlichen Trennung des Quenchers und Reporter-moleküls dieser Sonde und damit zu einer, für die Messung relevanten, Zunahme der Fluoreszenzintensität des Reporter-moleküls.

Ein Reaktionsansatz für die Genotypisierung mit der TaqMan-Methode enthielt die Lösung „Absolute QPCR ROX Mix“ (Thermo Fisher Scientific), ein Primerpaar

(bestehend aus Forward- und Reverse-Primer), ein Sondenpaar sowie die Original-DNA („template“). Die Sequenzen der verwendeten Primer und Sonden wurden mit der „Primer Express Software“ (Version 2.0; Applied Biosystems) ermittelt, von Applied Biosystems synthetisiert und vom Labor zur Verfügung gestellt. Tabelle 5 zeigt die Sequenzen der verwendeten Primer und Sonden.

Der „Absolute QPCR ROX Mix“ enthielt die Thermo-Start DNA-Polymerase, eine chemisch modifizierte „hot-start“ Version der Taq-DNA-Polymerase. Diese benötigt einen Aktivierungsschritt bei 95°C, wodurch eine mögliche unspezifische DNA-Amplifikation in der Vorbereitungsphase verhindert werden kann. Außerdem enthielt der „Absolute QPCR ROX Mix“ eine Pufferkomponente, um eine geeignete chemische Umgebung für die Funktion und Stabilität der DNA-Polymerase und der DNA zu schaffen, Desoxyribonukleotidtriphosphate für die Synthese des neuen DNA-Stranges sowie Mg²⁺-Ionen, die für die Funktion der DNA-Polymerase benötigt werden.

Bereits im Voraus waren für jeden untersuchten SNP DNA-Lösungen als Positivkontrollen („Standards“) hergestellt worden. Dazu wurde DNA von zwei Probanden mit bekanntem Genotyp verwendet, von denen einer homozygot für das häufigere Allel und der andere homozygot für das seltenere Allel war. Positivkontrollen waren zuvor aus mehreren verschiedenen DNA-Proben durch Sequenzierung ermittelt worden und wurden zur Verfügung gestellt.

Bei der Herstellung des Reaktionsansatzes wurde zunächst eine Lösung für 100 Bestimmungen, bestehend aus „Absolute QPCR ROX Mix“, Forward- und Reverse-Primer, zwei Sonden und DNA-freiem Wasser hergestellt (Tab. 6). Von dieser Lösung wurden jeweils 15µl in jede Vertiefung einer 96-Loch-Platte gegeben. In 90 Positionen wurden DNA-Proben von Probanden mit unbekanntem Genotyp (je 2µl DNA-Lösung), in 2 Positionen wurden Positivkontrollen für das häufigere Allel (je 2µl DNA-Lösung), in 2 Positionen wurden Positivkontrollen für das seltenere Allel (je 2µl DNA-Lösung) und in 2 Positionen wurden Negativkontrollen (je 2 µl steriles, DNA-freies Wasser) gegeben.

Tabelle 5: Übersicht über die verwendeten Primer und Sonden

SNP	Allele	Primer (5'→3')	TaqMan-Sonden (5'→3')*
rs2048327	T/C	GCCTTTCTGAGCAGGTTGGAT GGAGGTCATTGCCTGGAACA	FAM-TGCTCA <u>I</u> GCTCAACA VIC-CTGCTCA <u>C</u> GCTCAA
rs3127599	C/T	AACTTACTACATTTCCAGAATGGTAGGAA GCTATCAATGCCACAAACCAGAA	FAM-TGTCCATCT <u>G</u> CTTACAAA VIC-CATGTCCATCT <u>A</u> CTTACAAA
rs3798220	T/C	GTGAGCGAGTACCTGCTTAGCTTT CATCCTCATCTTTTCTAGGTCCTCAA	FAM-CTAGACACTTC <u>I</u> ATTTCTGAA VIC-TAGACACTT <u>C</u> ATTTCTGA
rs7767084	T/C	CCTGTCCCCAGGAGAGCAA AGGTCTTGGGCTGGTCACTTTT	FAM-TAGCTG <u>I</u> GGCTTTC VIC-ATAGCTG <u>C</u> GGCTTT
rs10755578	C/G	CATTGTCAGGCCACTGGAAT GGGAATATTTCAAAGACACTTGTTAAGACT	FAM-ATGTCCCT <u>G</u> AATATT VIC-ATGTCCCT <u>C</u> AATATT
rs10455872	A/G	ACTCTCAGCTGCCTTCCTCCTT CATGTTTGTCTTGGGTAACAAGTGA	FAM-CAGAACCCA <u>A</u> TGTGTTTA VIC-AACCCAG <u>T</u> GTTTAT

*Unterstrichen sind jeweils die allelspezifischen Nukleotide.

Tabelle 6: Zusammensetzung einer Lösung (1500µl) für 100 TaqMan-Reaktionen
(ohne die DNA-Lösung)

Substanz	Menge	Konzentration	Endkonzentration*
Absolute QPCR ROX MIX	850 µl	2-fach	1-fach
Forward-Primer	25,5 µl	20 µM	340 nM
Reverse-Primer	25,5 µl	20 µM	340 nM
MGB-Sonde (FAM)	15 µl	10 µM	100 nM
MGB-Sonde (VIC)	15 µl	10 µM	100 nM
H ₂ O	569 µl		

* Nach Zugabe von 2µl DNA-Lösung pro TaqMan-Reaktion

Die Platten wurden mit einer selbstklebenden Folie verschlossen, um eine Verdunstung des Reaktionsansatzes während der PCR zu verhindern. Um Rückstände des Reaktionsansatzes an den Wänden der Reaktionskammern zu vermeiden und die Komponenten am Boden der Reaktionskammer zu konzentrieren, wurden die Platten für 10 Sekunden bei 1.500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Eppendorf Centrifuge 5430). Der Reaktionsansatz wurde im Thermocycler einmalig für 10 Minuten auf 95°C erhitzt, um die Thermo-Start DNA-Polymerase zu aktivieren. Danach erfolgten 40 PCR-Zyklen, bestehend aus je zwei Schritten. Im ersten Schritt erfolgte für 15 Sekunden bei 92°C die Denaturierung des Doppelstrangs der Original-DNA. Im zweiten Schritt wurde der Reaktionsansatz für eine Minute auf 60°C abgekühlt, um die Hybridisierung der Primer und Sonden an die DNA-Einzelstränge und die anschließende Primer-Elongation sowie den Abbau der hybridisierten Sonden und damit die Freisetzung der Reporter-moleküle zu ermöglichen.

Im Anschluss an die 40 PCR-Zyklen erfolgte die automatisierte Genotypbestimmung mit Hilfe der Fluoreszenzanalyse im „ABI Prism 7000 Sequence Detection System“ (Applied Biosystems, Darmstadt) unter Verwendung der Software „ABI Prism 7000 SDS Software Version 1.0“. Durch Einstrahlung von Licht einer

definierten Wellenlänge wurden die freigesetzten Reporter-moleküle zur Fluoreszenz angeregt und die Emissionsmaxima durch das „ABI Prism 7000 Sequence Detection System“ registriert.

2.4 Statistische Auswertung

Die Resultate der statistischen Auswertung wurden für diese Arbeit zur Verfügung gestellt. Die statistische Auswertung bestand aus dem getrennten Vergleich von Allel- und Haplotyphäufigkeiten zwischen der AMI-Gruppe und der Kontrollgruppe. Diskrete Variablen wurden als absolute Werte bzw. prozentuale Werte angegeben und mit Hilfe des χ^2 -Tests verglichen. Das Alter wurde als Mittelwert \pm Standardabweichung angegeben und mit einem *t*-Test für unverbundene Stichproben verglichen. Das allelbezogene „Odds Ratio“ (OR) und das 95%-Konfidenzintervall (KI) des selteneren Allels wurden mittels logistischer Regression berechnet. Innerhalb der Kontrollgruppe wurde jeder SNP auf Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts getestet. Mit Hilfe von Modellen für multiple logistische Regression wurde auf eine Assoziation zwischen SNPs und dem AMI, unabhängig von möglichen verzerrenden Störgrößen, getestet. Als Kovariablen dienten Alter, Geschlecht, bekannter arterieller Hypertonus, bekannte Hypercholesterinämie, Raucherstatus und Vorliegen eines Diabetes mellitus. Das korrigierte OR und die 95%-Wald-Konfidenzintervalle wurden auf Basis dieser Regressionsmodelle berechnet.

Die Haplotypen wurden unter Verwendung der Genotypdaten mit der Software *PHASE* rekonstruiert (Stephens et al. 2001). Die resultierenden Haplotyp-Wahrscheinlichkeiten wurden verwendet, um die Assoziation mit dem AMI in einer logistischen Regressionsanalyse zu überprüfen (Zaykin et al. 2002) und um die Haplotyphäufigkeiten zu berechnen. Die Maßzahlen für das Kopplungsungleichgewicht (D' und r^2) zwischen den haplotypbildenden SNPs wurden mit Hilfe der Software *Haploview* berechnet (Barrett et al. 2005). Das Kopplungsungleichgewicht (r^2) zwischen den Haplotypen und den Allelen der SNPs rs3798220 und rs10455872 wurde mit der Software *MIDAS* (Gaunt et al. 2006) abgeschätzt.

Dazu wurde die bestmögliche Haplotyp-Rekonstruktion verwendet, die mit der *PHASE* Software ermittelt worden war.

2.5 Geräte und Materialien

PCR-Thermocycler:

Thermal Cycler 2720	Applied Biosystems, Darmstadt
GeneAmp PCR System 9600	Applied Biosystems, Darmstadt
GeneAmp PCR System 9700	Applied Biosystems, Darmstadt

Gerät und Software für die Fluoreszenzanalyse:

ABI Prism 7000 Sequence Detection System	Applied Biosystems, Darmstadt
ABI Prism 7000 SDS Software Version 1.0	Applied Biosystems, Darmstadt

Zentrifugen:

Eppendorf Centrifuge 5430	Eppendorf AG, Hamburg
Mikrozentrifuge A14	Jouan, Unterhaching

Mixer:

Vortex-Genie 2	Scientific Industries Inc., Bohemia, N.Y.
----------------	--

Pipetten:

Eppendorf Research
Eppendorf Reference
Eppendorf Multipette plus

Eppendorf AG, Hamburg
Eppendorf AG, Hamburg
Eppendorf AG, Hamburg

PCR-Reagenzien:

Absolute QPCR ROX Mix

Primer und TaqMan-Sonden
DNA-Proben der Studienpopulation

Thermo Fisher Scientific,
Epsom, Surrey U.K.
Applied Biosystems, Darmstadt
Vom Labor zur Verfügung gestellt

Verbrauchsmaterialien:

Selbstklebende Folie für 96-Loch-Platten
PCR-Platten (96-Loch-Platten)
Reaktionsgefäße und Spitzen

G. Kisker GbR, Steinfurt
G. Kisker GbR, Steinfurt
Eppendorf AG, Hamburg

3. Ergebnisse

3.1 AMI- und Kontrollgruppe

In der untersuchten Studienpopulation (n=3.347) unterschieden sich die AMI-Gruppe (n=2.136) und die Kontrollgruppe (n=1.211) in mehreren Charakteristika. Diese sind in Tabelle 7 dargestellt. Die AMI-Gruppe bestand aus 560 Frauen und 1.576 Männern, die Kontrollgruppe beinhaltete 598 Frauen und 613 Männer. Damit war der Anteil an Frauen unter den AMI-Patienten signifikant geringer als in der Kontrollgruppe. Ebenso war das Durchschnittsalter in der AMI-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Der Anteil der aktiven Raucher war in der Kontrollgruppe geringer als unter den Patienten. Die AMI- und die Kontrollgruppe unterschieden sich außerdem in der Verteilung der kardiovaskulären Risikofaktoren Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Hypercholesterinämie, deren Anteil unter den AMI-Patienten höher war.

Tabelle 7: Charakteristika von AMI- und Kontrollgruppe

	AMI-Gruppe (n=2.136)	Kontrollgruppe (n=1.211)	P
Alter	63,0 ± 12,5	60,3 ± 11,9	< 0,0001
Frauen	560 (26,2%)	598 (49,4%)	< 0,0001
Raucher	1.136 (53,2%)	184 (15,2%)	< 0,0001
Hypercholesterinämie	1.221 (57,2%)	602 (49,7%)	< 0,0001
Arterielle Hyertonie	1.197 (56,0%)	589 (48,6%)	< 0,0001
Diabetes mellitus	375 (17,6%)	65 (5,4%)	< 0,0001

Alter: Durchschnittsalter ± Standardabweichung; alle anderen Variablen: Absolute Zahlen (prozentualer Anteil)

3.2 Genotypanalyse

In der Studienpopulation wurde eine Genotypisierung der sechs SNPs rs2048327, rs3127599, rs3798220, rs7767084, rs10755578 und rs10455872 in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit der TaqMan-Methode durchgeführt. Zur Überprüfung der Korrektheit der TaqMan-Methode wurde zunächst für jeden der sechs untersuchten SNPs der Genotyp von 100 zufällig ausgewählten DNA-Proben von einer anderen Person durch Sequenzierung bestimmt. Die spätere Gegenüberstellung der Sequenzierdaten und der TaqMan-Ergebnisse zeigte in allen Fällen eine Übereinstimmung der Genotypen von 100%.

Mit dem „ABI Prism 7000 Sequence Detection System“ und der zugehörigen Software (ABI Prism 7000 SDS Software Version 1.0) erfolgte eine automatisierte Registrierung der Emissionsmaxima aller Proben auf einer 96-Loch-Platte und ihre graphische Darstellung. Die Software ermöglichte es jedem registrierten Signal die entsprechende Position auf der 96-Loch-Platte zuzuordnen. Abbildung 2 zeigt die graphische Darstellung der registrierten Emissionsmaxima durch die verwendete Software sowie den ersten Schritt der Auswertung einer 96-Loch-Platte am Beispiel des SNP rs3127599: die Signale der Positiv- und Negativkontrollen werden anhand ihrer bekannten Positionen auf der 96-Loch-Platte festgestellt und farblich markiert (Abb. 2); die 90 DNA-Proben mit unbekanntem Genotyp sind noch nicht farblich hervorgehoben und durch ein schwarzes X dargestellt (Abb. 2).

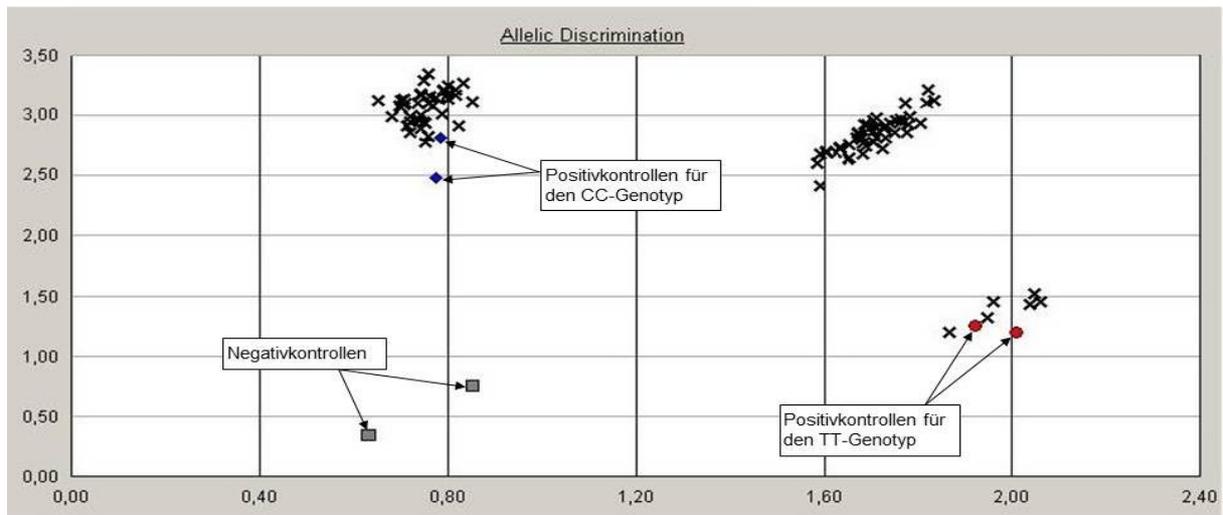


Abbildung 2: Anzeige der Positivkontrollen und Negativkontrollen

Anzeige erfolgt am Beispiel einer 96-Loch-Platte für den SNP rs3127599. Die 90 DNA-Proben mit unbekanntem Genotyp sind durch ein schwarzes X dargestellt. (ABI Prism 7000 SDS Software Version 1.0)

Im zweiten Schritt wurde den 90 DNA-Proben mit unbekanntem Genotyp manuell ein Genotyp zugeordnet, indem das Fluoreszenzverhalten der Proben mit dem der Positivkontrollen verglichen wurde. Abbildung 3 zeigt das Resultat der manuellen Genotyp-Zuordnung am Beispiel des SNP rs3127599: Proben, deren Fluoreszenzsignal im Bereich der CC-Positivkontrollen liegt, wird der Genotyp CC zugeordnet (Abb. 3); Proben, deren Fluoreszenzsignal im Bereich der TT-Positivkontrollen liegt, wird der Genotyp TT zugeordnet (Abb. 3); Proben, deren Fluoreszenzsignal im Bereich zwischen den Signalen der beiden homozygoten Bereiche liegt, wird der heterozygote Genotyp CT zugeordnet (Abb. 3). Für den heterozygoten Genotyp wurde keine Positivkontrolle verwendet, da die Fluoreszenzsignale der heterozygoten Proben bei der graphischen Darstellung im Bereich zwischen den Signalen der homozygoten Proben erwartet wurden. Dieses Vorgehen ermöglichte es, allen 90 DNA-Proben mit unbekanntem Genotyp auf einer 96-Loch-Platte eindeutig einen Genotyp zuzuordnen. Für die anderen SNPs wurde die gleiche Vorgehensweise bei der Zuordnung des Genotyps angewandt und es ergaben sich entsprechende Grafiken.

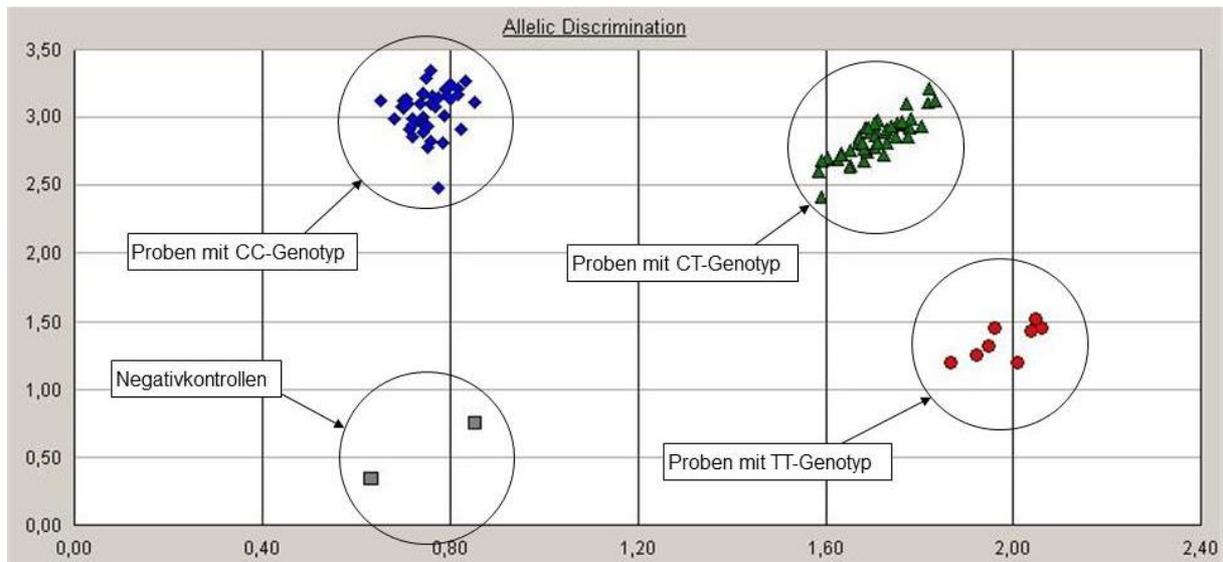


Abbildung 3: Typisches Genotypisierungsergebnis einer 96-Loch-Platte

Anzeige erfolgt für den SNP rs3127599. (ABI Prism 7000 SDS Software Version 1.0)

Zum Zweck einer stichprobenartigen Prüfung auf Korrektheit von Probenverarbeitung und Datenermittlung wurde eine partielle Re-Genotypisierung mit Hilfe von DNA, die in einem zweiten, unabhängigen Isolierungsprozess aus den ursprünglichen Blutproben gewonnen worden war, durchgeführt. Von einer zweiten Person wurde für 20% der Studienteilnehmer der Genotyp der sechs SNPs erneut bestimmt. Durch diese Vorgehensweise wurde eine hohe Objektivität der Datenermittlung gewährleistet. Es zeigte sich, dass die Resultate der Erstbestimmung und Re-Genotypisierung vollständig übereinstimmten.

3.3 Genotypverteilung in der AMI- und Kontrollgruppe

Die Lage der sechs untersuchten SNPs rs2048327 (*SLC22A3*), rs3127599 (*LPAL2*), rs3798220 (*LPA*), rs7767084 (*LPA*), rs10755578 (*LPA*) und rs10455872 (*LPA*) in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion wird in Abbildung 4 gezeigt. Die Verteilung der Genotypen der sechs untersuchten Polymorphismen in der AMI- und Kontrollgruppe wird in Tabelle 8 dargestellt. In der Kontrollgruppe wurde für jeden SNP ein Test auf Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht durchgeführt. Bei einem

Schwellenwert für eine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht von $P=0,009$ (6 SNPs) ergab sich für keinen der SNPs in der Kontrollgruppe eine signifikante Abweichung der Genotypverteilung (Tab. 8).

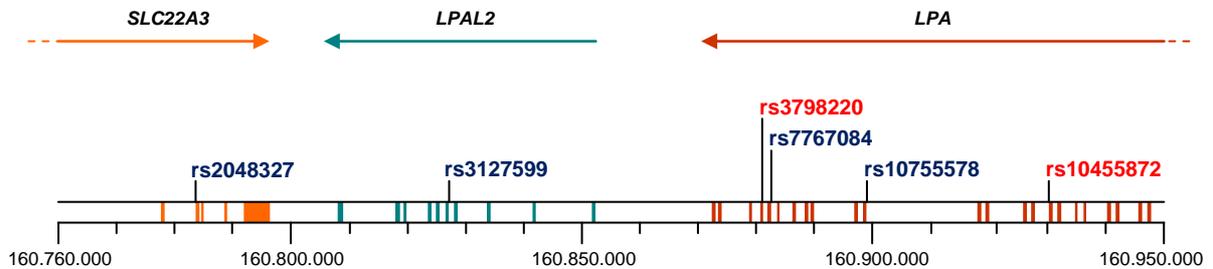


Abbildung 4: Position der untersuchten SNPs in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion

Dargestellt sind die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf dem langen Arm von Chromosom 6 und die Positionen der analysierten SNPs. Blau dargestellte SNPs wurden in die Haplotypanalyse miteinbezogen. Die rot dargestellten SNPs wurden nicht in die Haplotypanalyse miteinbezogen, sondern auf eine Korrelation mit den häufigsten Haplotypen getestet. Exone der Gene sind in Abhängigkeit ihrer Größe als vertikale Linien unterschiedlicher Dicke dargestellt. Die Abbildung basiert auf *Genome Build 36.3* und wurde mit Hilfe von online verfügbaren Informationen des HapMap Consortiums erstellt (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>).

Tabelle 8: Verteilung der Genotypen in AMI- und Kontrollgruppe

SNP ^a (Position ^b)	Genotyp	AMI-Gruppe	Kontrollgruppe	P_{HWE}^c
rs2048327 (160.783.522)	TT	869 (40,7%)	501 (41,4%)	0,057
	TC	967 (45,3%)	579 (47,8%)	
	CC	300 (14,0%)	131 (10,8%)	
rs3127599 (160.827.124)	CC	1.028 (48,1%)	625 (51,6%)	0,036
	CT	899 (42,1%)	510 (42,1%)	
	TT	209 (9,8%)	76 (6,3%)	
rs3798220 (160.881.127)	TT	2.032 (95,1%)	1.178 (97,3%)	1,00
	TC	104 (4,9%)	33 (2,7%)	
	CC	0	0	
rs7767084 (160.882.493)	TT	1.497 (70,1%)	820 (67,7%)	0,32
	TC	590 (27,6%)	359 (29,6%)	
	CC	49 (2,3%)	32 (2,6%)	
rs10755578 (160.889.728)	CC	594 (27,8%)	338 (27,9%)	0,34
	CG	1.054 (49,3%)	619 (51,1%)	
	GG	488 (22,8%)	254 (21,0%)	
rs10455872 (160.930.108)	AA	1.821 (85,3%)	1.084 (89,5%)	0,80
	AG	302 (14,1%)	123 (10,2%)	
	GG	13 (0,6%)	4 (0,3%)	

^aSNP Identifikationsnummer nach der „National Center for Biotechnology Information SNP database“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

^bPosition der SNPs auf Chromosom 6 (genome build 36.3)

^c P -Wert für den Test auf Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE) in der Kontrollgruppe

3.4 Allelhäufigkeit und Risikoabschätzung

Die Häufigkeiten der Allele der sechs Polymorphismen in der AMI- und Kontrollgruppe werden in Tabelle 9 gezeigt. Für die drei SNPs rs3127599, rs3798220 und

rs10455872 bestand eine Assoziation mit dem AMI bei einer Signifikanzschwelle von $P=0,05$ (Tab. 9). Der SNP rs3127599 liegt im *LPAL2*-Gen, rs3798220 und rs10455872 liegen im *LPA*-Gen (Abb. 4). Für das Allel rs3127599-T ergab sich ein OR von 1,18 (95% KI 1,06-1,32), für das Allel rs3798220-C errechnete sich ein OR von 1,81 (95% KI 1,22-2,68) und für das Allel rs10455872-G ein OR von 1,45 (95% KI 1,18-1,79). Die drei übrigen SNPs rs2048327, rs7767084 und rs10755578 zeigten keine Assoziation mit dem AMI (Tab. 9).

Tabelle 9: Allelhäufigkeit und Risikoabschätzung

SNP ^a	Allele ^b	AMI-Gruppe (4.272 Allele)		Kontrollgruppe (2.422 Allele)		OR (95% KI) ^c	P
		Häufigeres Allel	Selteneres Allel	Häufigeres Allel	Selteneres Allel		
rs2048327	T>C	2.705 (63,3%)	1.567 (36,7%)	1.581 (65,3%)	841 (34,7%)	1,09 (0,98-1,21)	0,11
rs3127599	C>T	2.955 (69,2%)	1.317 (30,8%)	1.760 (72,7%)	662 (27,3%)	1,18 (1,06-1,32)	0,0026
rs3798220	T>C	4.168 (97,6%)	104 (2,4%)	2.389 (98,6%)	33 (1,4%)	1,81 (1,22-2,68)	0,0029
rs7767084	T>C	3.584 (83,9%)	688 (16,1%)	1.999 (82,5%)	423 (17,5%)	0,91 (0,79-1,04)	0,15
rs10755578	C>G	2.242 (52,5%)	2.030 (47,5%)	1.295 (53,5%)	1.127 (46,5%)	1,04 (0,94-1,15)	0,44
rs10455872	A>G	3.944 (92,3%)	328 (7,7%)	2.291 (94,6%)	131 (5,4%)	1,45 (1,18-1,79)	0,00042

Angaben für OR, 95% KI und P-Wert beziehen sich auf die univariate Analyse.

^a SNP Identifikationsnummer nach der „National Center for Biotechnology Information SNP database“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>; 2012).

^b Häufigeres und selteneres Allel in der Studienpopulation.

^c Odds Ratio und 95%-Konfidenzintervall für das selteneres Allel.

3.5 rs2048327 und der AMI

Die prozentuale Verteilung der Allelfrequenzen für rs2048327 im *SLC22A3*-Gen wird in der Abbildung 5 dargestellt. Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Verteilung der Allele ($P=0,11$) zwischen den Patienten mit AMI und der Kontrollgruppe. Für das Allel rs2048327-C ergab sich ein OR von 1,09 (95% KI 0,98-1,21). Eine Assoziation von rs2048327 mit dem AMI war deshalb nicht nachweisbar.

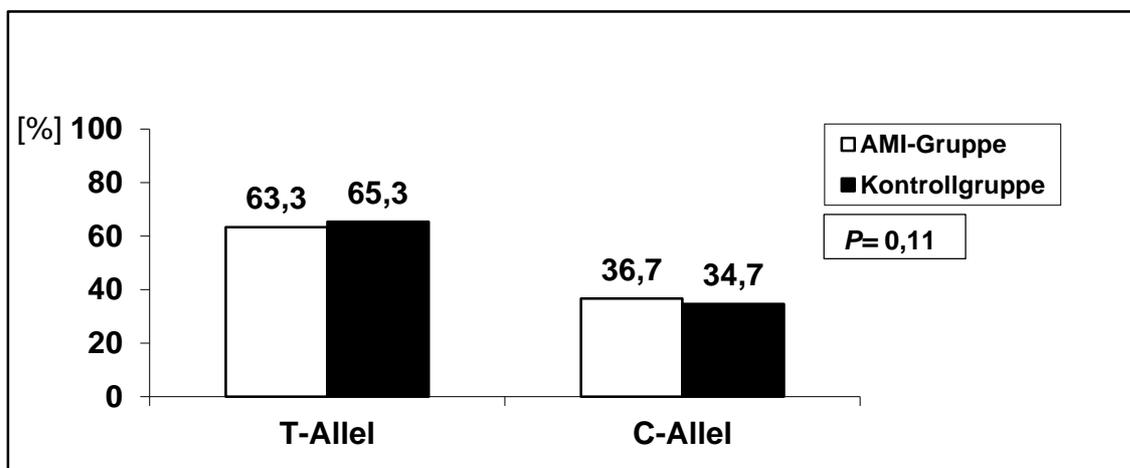


Abbildung 5: Allelfrequenzen des SNP rs2048327

3.6 rs3127599 und der AMI

Abbildung 6 zeigt die prozentuale Verteilung der Allelfrequenzen für rs3127599 im *LPAL2*-Gen. Es bestand ein signifikanter Unterschied in der Verteilung der Allele zwischen Patienten mit AMI und der untersuchten Kontrollgruppe ($P=0,0026$). Dabei errechnete sich für das Risikoallel rs3127599-T ein OR von 1,18 (95% KI 1,06-1,32). Nach Korrektur für die kardiovaskulären Risikofaktoren Alter, Geschlecht, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, Rauchen und Diabetes mellitus war diese Assoziation jedoch nicht mehr nachweisbar ($P=0,18$). Für die Träger des Risiko-Allels ergab sich ein korrigiertes OR von 1,15 (95% KI 0,94-1,42).

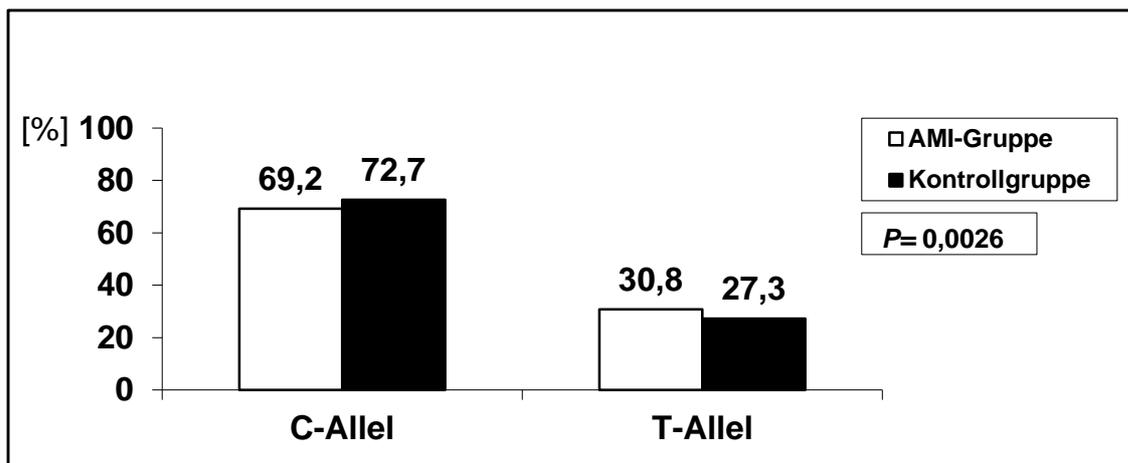


Abbildung 6: Allelfrequenzen des SNP rs3127599

3.7 rs3798220 und der AMI

Von den sechs in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen ist der SNP rs3798220 der einzige, der sich in einem kodierenden DNA-Abschnitt (*LPA*) befindet. Abbildung 7 zeigt die prozentuale Verteilung der Allelfrequenzen. Es zeigte sich eine signifikante Assoziation von rs3798220-C mit dem AMI ($P=0,0029$). Für das Risikoallel wurde ein erhöhtes Risiko für den AMI mit einem OR von 1,81 (95% KI 1,22-2,68) festgestellt. Nach Korrektur für die häufigen kardiovaskulären Risikofaktoren (siehe 3.6) ergab sich eine hoch signifikante Assoziation mit dem AMI ($P=0,0008$) mit einem korrigierten OR von 2,14 (95% KI 1,37-3,33). Von allen in dieser Arbeit untersuchten SNPs zeigt das Allel rs3798220-C damit die stärkste Risikoerhöhung für den AMI.

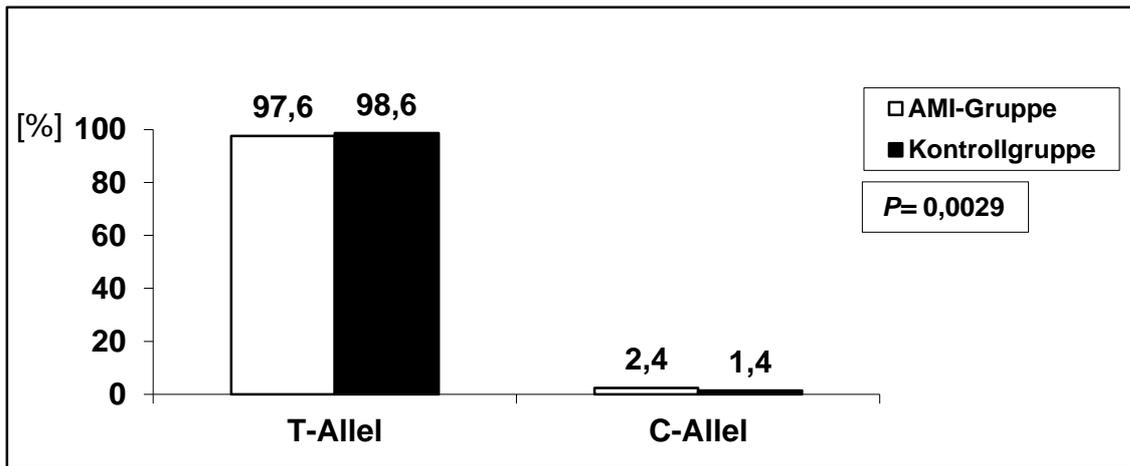


Abbildung 7: Allelfrequenzen des SNP rs3798220

3.8 rs7767084 und der AMI

In Abbildung 8 wird die prozentuale Verteilung der Allelfrequenzen von rs7767084 im *LPA*-Gen dargestellt. Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Verteilung der Allele zwischen Patienten mit AMI und der Kontrollgruppe ($P=0,15$). Das OR für das seltenere Allel rs7767084-C betrug 0,91 (95% KI 0,79-1,04). Somit ließ sich keine Assoziation mit dem AMI nachweisen.

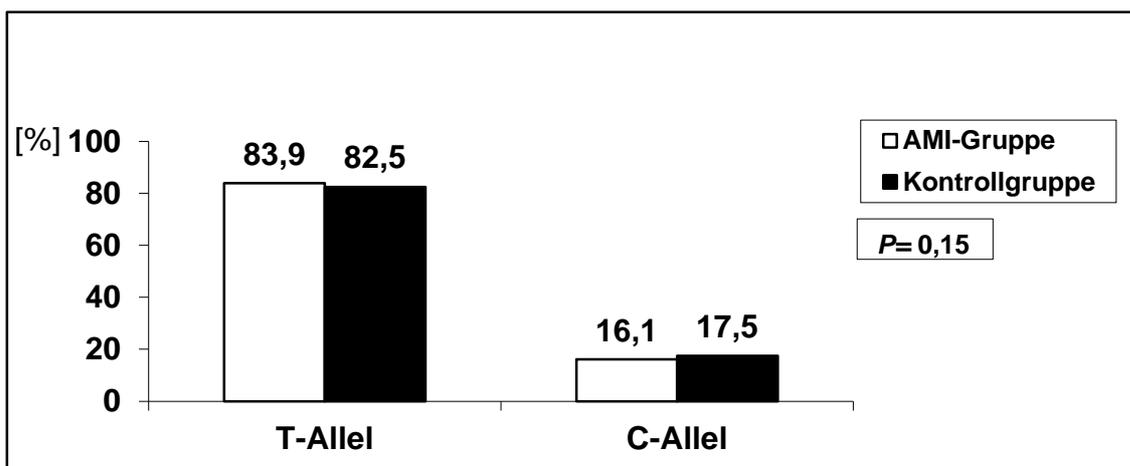


Abbildung 8: Allelfrequenzen des SNP rs7767084

3.9 rs10755578 und der AMI

Die prozentuale Verteilung der Allelfrequenzen von rs10755578 im *LPA*-Gen wird in Abbildung 9 gezeigt. Die Verteilung der Allele bei Patienten mit AMI und der Kontrollgruppe unterschieden sich nicht signifikant ($P=0,44$). Das OR für das seltenere Allel rs10755578-G betrug 1,04 (95% KI 0,94-1,15). Es ließ sich keine Assoziation mit dem AMI nachweisen.

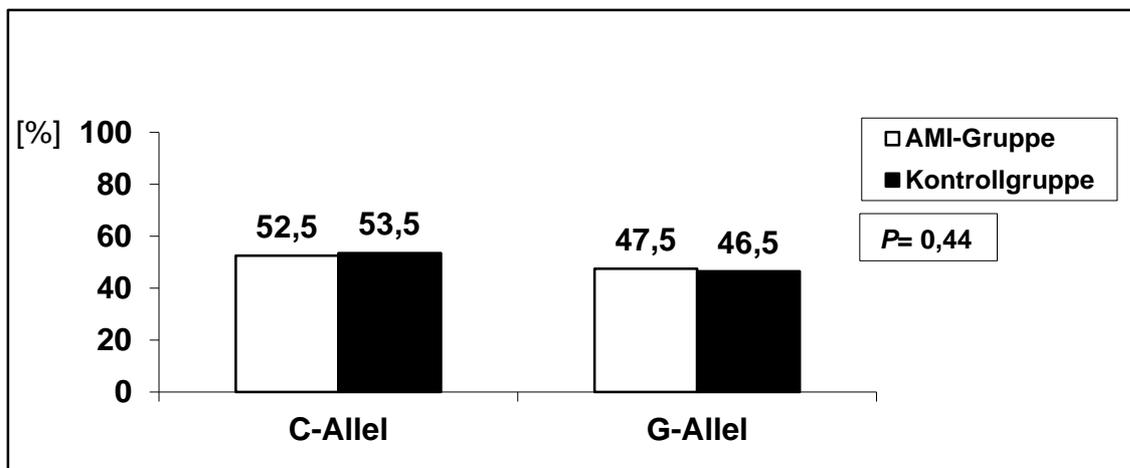


Abbildung 9: Allelfrequenzen des SNP rs10755578

3.10 rs10455872 und der AMI

Die prozentuale Verteilung der Allelfrequenzen von rs10455872 wird in Abbildung 10 dargestellt. Dieser SNP befindet sich im Intron 25 des *LPA*-Gens. Er war in der vorliegenden Arbeit signifikant mit dem AMI assoziiert ($P=0,00042$). Für das Risiko-Allel 10455872-G ergab sich ein OR von 1,45 (95% KI 1,18-1,79). Nach Korrektur für die häufigen kardiovaskulären Risikofaktoren (siehe 3.6) zeigte sich eine noch stärkere und weiterhin hoch signifikante Assoziation mit dem AMI ($P<0,00001$) bei einem korrigierten OR von 1,74 (95% KI 1,36-2,24).

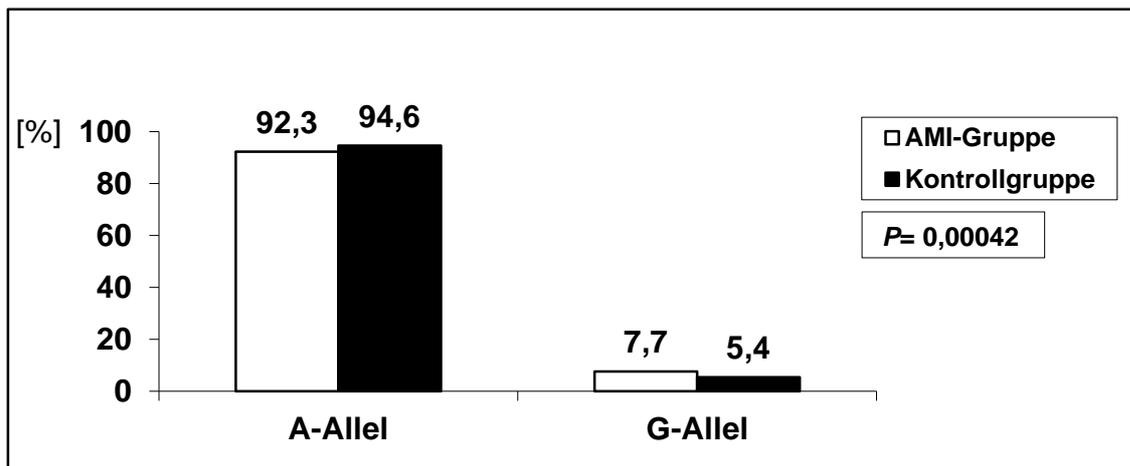


Abbildung 10: Allelfrequenzen des SNP rs10455872

3.11 Häufigkeiten der Haplotypen und Assoziation mit dem AMI

Basierend auf den vier Polymorphismen rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578 in der *SLC22A3-LPAL2-LPA* Genregion auf Chromosom 6 wurde eine Haplotypanalyse durchgeführt. Sieben Haplotypen (TCTC, CCCG, CTTG, TTTG, CCTG, CCTC und TTTC) kamen mit einer Häufigkeit von mehr als einem Prozent in der untersuchten Studienpopulation vor (Tab. 10). Von diesen sieben häufigsten Haplotypen wurde für vier (TCTC, CTTG, CCTC und TTTC) eine Assoziation mit dem AMI nachgewiesen.

Unter den fünf relativ häufigen Haplotypen (Häufigkeit > 10%) waren der TCTC-Haplotyp ($P=0,017$) und der CTTG-Haplotyp ($P=0,0022$) mit dem AMI assoziiert. Für den TCTC-Haplotyp (47,3%), welcher am häufigsten in der Studienpopulation vorkam, wurde eine signifikante Risikoreduktion für den AMI, mit einem OR von 0,89 (95% KI 0,80-0,98), festgestellt. Der CTTG-Haplotyp (14,7%) war mit einem erhöhten AMI-Risiko mit einem zugehörigen OR von 1,25 (95% KI 1,08-1,45) assoziiert.

Unter den relativ seltenen Haplotypen (Häufigkeit < 5%) zeigten der CCTC-Haplotyp ($P=0,0074$) und der TTTC-Haplotyp ($P=0,039$) eine Assoziation mit dem AMI. Für den CCTC-Haplotyp (2,2%) betrug das OR 1,65 (95% KI 1,14-2,38). Für den TTTC-Haplotyp (1,3%) errechnete sich ein OR von 1,66 (95% KI 1,02-2,70). Der CCCG-, TTTG- und CCTG-Haplotyp wies keine Assoziation mit dem AMI auf (Tab. 10).

Tabelle 10: Häufigkeit und Risikoschätzung der Haplotypen (mit einer Frequenz > 1%)

rs2048327	rs3127599	rs7767084	rs10755578	AMI-Gruppe (%)	Kontrollgruppe (%)	OR (95% KI)	<i>P</i>
T	C	T	C	46,2	49,3	0,89 (0,80-0,98)	0,017
C	C	C	G	15,0	16,4	0,89 (0,78-1,03)	0,11
C	T	T	G	15,7	12,9	1,25 (1,08-1,45)	0,0022
T	T	T	G	12,8	12,6	1,01 (0,87-1,18)	0,85
C	C	T	G	2,7	3,2	0,83 (0,62-1,12)	0,23
C	C	T	C	2,6	1,6	1,65 (1,14-2,38)	0,0074
T	T	T	C	1,5	0,9	1,66 (1,02-2,70)	0,039
Alle anderen Haplotypen zusammen:				3,6	3,1	1,19 (0,91-1,54)	0,20

3.12 Korrelation des CCTC-Haplotyps mit rs3798220 und des CTTG-Haplotyps mit rs10455872

Bei der gemeinsamen Analyse der Haplotyp- und Allel­daten ergab sich für den mit einem erhöhten AMI-Risiko verknüpften CCTC-Haplotyp (Tab.10), eine starke Korrelation ($r^2=0,77$) mit dem Risikoallel rs3798220-C. Für den CTTG-Haplotyp, der ebenfalls mit einem erhöhten AMI-Risiko assoziiert war (Tab. 10), wurde eine Korrelation ($r^2=0,28$) mit dem Risikoallel rs10455872-G festgestellt. Keiner der anderen der sieben häufigsten Haplotypen (Tab. 10) wies eine nennenswerte Korrelation ($r^2\leq 0,02$) mit dem rs3798220-C- oder rs10455872-G-Allel auf. Daraus ergibt sich, dass der Effekt des CCTC- und CTTG-Haplotyps auf das AMI-Risiko zum großen Teil durch eine Kopplung mit dem rs3798220-C- bzw. dem rs10455872-G-Allel erklärt werden kann.

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand einer Studienpopulation, bestehend aus 3.347 Individuen (2.136 AMI-Patienten, 1.211 Kontrollpersonen), in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf dem Chromosom 6, eine Korrelation zwischen dem CCTC-Haplotyp und dem rs3798220-C-Allel sowie zwischen dem CTTG-Haplotyp und dem rs10455872-G-Allel nachgewiesen. Sowohl der CCTC- und CTTG-Haplotyp als auch rs3798220-C und rs10455872-G zeigten eine Assoziation mit einem erhöhten AMI-Risiko. Es ist daher anzunehmen, dass rs3798220-C und rs10455872-G einen Teil des Risikopotentials des CCTC- bzw. des CTTG-Haplotyps tragen.

Von den insgesamt sechs untersuchten SNPs (rs2048327, rs3127599, rs7767084, rs10755578, rs3798220 und rs10455872) zeigten zwei eine signifikante Assoziation mit dem AMI (rs3798220 und rs10455872). Von den sieben häufigsten Haplotypen (TCTC, CCCG, CTTG, TTTG, CCTG, CCTC und TTTC), gebildet aus den SNPs rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578, waren vier mit dem AMI assoziiert (TCTC, CTTG, CCTC und TTTC).

4.1 Assoziation der SNPs in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit dem AMI und Gegenüberstellung der Resultate mit publizierten Daten

Von den in dieser Arbeit untersuchten Variationen zeigten das rs3798220-C-Allel (korrigiertes OR 2,14; 95% KI 1,37-3,33) und das rs10455872-G-Allel (korrigiertes OR 1,74; 95% KI 1,36-2,24) eine Assoziation mit dem AMI. Die Häufigkeit des rs3798220-C-Allels betrug in der vorliegenden Arbeit 2,2% und lag damit im Bereich der publizierten Häufigkeit von 2% (Clarke et al. 2009; Schunkert et al. 2011) bis 3,2% (Li et al. 2011). Die genannte Häufigkeit gilt für Studienpopulationen europäischer Abstammung. In anderen ethnischen Gruppen, insbesondere in der ostasiatischen Bevölkerung (China und Japan) und bei US-Amerikanern mexikanischer Abstammung (ethnische Herkunft nicht erklärt) wurde ein deutlich häufigeres Vorkommen von 10,2% bzw. 42,6% beschrieben (Li et al. 2011). Die

Häufigkeit des Risikoallels rs10455872-G betrug in der vorliegenden Arbeit 7% und lag damit ebenfalls im Bereich der publizierten Häufigkeit von 7% (Clarke et al. 2009) bis 11% (Li et al. 2011). Bereits in früheren Studien wurden rs3798220-C und rs10455872-G mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko in Verbindung gebracht (Luke et al. 2007; Shiffman et al. 2008; Clarke et al. 2009; Shiffman et al. 2010; Hopewell et al. 2011; Schunkert et al. 2011; Li et al. 2011; Qi et al. 2012).

Von Luke et al. (2007) wurde anhand einer Studienpopulation (n=927) bestehend aus 554 KHK-Patienten und 373 Kontrollpersonen gezeigt, dass Träger des rs3798220-C-Allels verglichen mit Trägern des T-Allels, ein erhöhtes KHK-Risiko besitzen (OR 2,0; 90% KI 1,09-3,70; $P=0,031$). Nach Korrektur für Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Diabetes mellitus, Hypertonie, Body-Mass-Index und Dyslipidämie zeigte sich im Vergleich zum unkorrigierten OR sogar eine noch stärkere Risikoerhöhung mit einem korrigierten OR von 3,14 (90% KI 1,51-6,56; $P=0,005$) (Luke et al. 2007). Der rs3798220-Polymorphismus (T/C) bedingt den Aminosäureaustausch (I4399M) in der proteasenähnlichen Domäne des Apo(a) Proteins. Luke et al. (2007) zeigten anhand einer zusätzlichen Studienpopulation (n=485), dass Träger des 4399M-Allels (entspricht dem rs3798220-C-Allel) (n=21) fünffach höhere mediane Lp(a)-Plasmaspiegel aufwiesen als Nichtträger (n=464) ($P=0,003$). Mittels einer weiteren Population (n=149) überprüften sie, ob die Assoziation des 4399M-Allels mit der KHK auf eine Korrelation mit dem KIV-2-Längenpolymorphismus im *LPA*-Gen zurückzuführen ist, der bereits in früheren Studien eine Assoziation mit der KHK gezeigt hatte (Kraft et al. 1996; Kronenberg et al. 1999). Obwohl Träger des 4399M-Allels (n=35) signifikant kleinere Apo(a)-Isoformen (Median 17 KIV-2-Kopien) aufwiesen als Nichtträger (n=114, Median 22 KIV-2-Kopien), bestand die Assoziation des 4399M-Allels mit der KHK auch nach Korrektur für die Apo(a)-Größe weiter (OR 4,36; 95% KI 1,53-12,4; $P=0,006$), so dass die Assoziation nicht durch einen Apo(a)-Größenpolymorphismus erklärt werden konnte (Luke et al. 2007).

Shiffman et al. (2008) untersuchten anhand der *Cardiovascular Health Study*-Kohorte, bestehend aus 4.522 Individuen (3.849 US-Amerikaner europäischer Abstammung, 673 US-Amerikaner afrikanischer Abstammung), die Assoziation von rs3798220 mit dem MI. Während einer Nachbeobachtungszeit von 13 Jahren entwickelten 539 (12%) der Studienteilnehmer einen MI (Shiffman et al. 2008). Nach Korrektur für Alter und Geschlecht wurde unter den Studienteilnehmern europäischer

Abstammung eine Assoziation von rs3798220-C mit dem MI festgestellt („Hazard Ratio“ (HR) 1,62; 90% KI 1,09-2,42; $P=0,022$). Diese war jedoch nach weiterer Korrektur für die Risikofaktoren Raucherstatus, Diabetes, Body-Mass-Index, Bluthochdruck und Hypercholesterinämie nicht mehr nachweisbar (HR 1,46; 90% KI 0,96-2,24; $P=0,069$). Unter den Studienteilnehmern afrikanischer Abstammung bestand keine Assoziation von rs3798220-C mit dem MI (HR korrigiert für Alter und Geschlecht 1,55; 90% KI 0,29-8,21; $P=0,33$) (Shiffman et al. 2008).

In einer Fall-Kontroll-Studie von Clarke et al. (2009) wurde für rs3798220-C und rs10455872-G anhand der *PROCARDIS*-Studienpopulation ($n=6.497$) eine Assoziation mit der KHK nachgewiesen. Die *PROCARDIS*-Population setzte sich aus 3.145 KHK-Patienten und 3.352 Kontrollpersonen europäischer Abstammung zusammen. Bei allen Patienten wurde eine KHK vor dem 66. Lebensjahr diagnostiziert und alle Patienten hatten ein Geschwister, bei dem die Diagnose einer KHK ebenfalls vor dem 66. Lebensjahr gestellt wurde. 27 SNPs im Bereich des *LPA*-Gens wurden in Bezug auf eine Assoziation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln und der KHK untersucht. Für die Replikation der Ergebnisse und eine anschließende Metaanalyse wurden weitere 4.846 KHK-Patienten und 4.594 Kontrollpersonen aus drei zusätzlichen Studienpopulationen untersucht (Clarke et al. 2009). Dabei handelte es sich um die „Trio Familien“ der *PROCARDIS*-Population (*PROCARDIS* Consortium 2004), die Population der *International Study of Infarct Survival* (Clarke et al. 2006) sowie die gemeinsame Studienpopulation des *Stockholm Heart Epidemiology Program* (Reuterwall et al. 1999) und der *Stockholm Coronary Artery Risk Factor Study* (Samnegård et al. 2005). Innerhalb der *PROCARDIS*-Population wurden die Lp(a)-Plasmaspiegel von 1.822 KHK-Patienten bestimmt.

Sowohl rs3798220-C ($P=5,9 \times 10^{-51}$) als auch rs10455872-G ($P=3,6 \times 10^{-166}$) zeigten eine Assoziation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln (Clarke et al. 2009). Zudem waren beide Risikoallele mit einer geringeren Apo(a)-Größe assoziiert (Clarke et al. 2009). In der Metaanalyse der vier Studienpopulationen (7.991 Patienten, 7.946 Kontrollen), wurde für rs3798220-C eine Assoziation mit der KHK mit einem OR von 1,68 (95% KI 1,43-1,98) festgestellt und für 10455872-G eine Assoziation mit der KHK mit einem OR von 1,47 (95% KI 1,35-1,60) (Clarke et al. 2009).

Clarke et al. (2009) untersuchten zusätzlich die Assoziation der Summe aller Risikoallele der beiden SNPs rs3798220 (C) und rs10455872 (G) („*LPA* genotype score“) mit der KHK (Clarke et al. 2009). Bei der Betrachtung der *PROCARDIS*-

Population wurde eine Assoziation des „LPA genotype score“ mit der KHK festgestellt. Im Vergleich zu Individuen ohne Risikoallel betrug das OR für die Entwicklung einer KHK für Träger von einem Risikoallel 1,73 (95% KI 1,51-1,98) und für Träger von zwei oder mehr Risikoallelen 4,87 (95% KI 2,80-8,48). In der Metaanalyse der vier Studienpopulationen ergab sich eine Assoziation des „LPA genotype score“ mit der KHK mit einem OR von 1,51 (95% KI 1,38-1,66) für die Träger eines Risikoallels und einem OR von 2,57 (95% KI 1,80 bis 3,67) für Träger von zwei bis vier Risikoallelen, verglichen mit Individuen ohne Risikoallel (Clarke et al. 2009).

Für das Allel rs10455872-G wurde von Shiffman et al. (2010) in einer Studienpopulation, bestehend aus 725 MI-Patienten und 786 Kontrollpersonen, ebenfalls eine Assoziation mit der KHK nachgewiesen ($P=1,7 \times 10^{-5}$). Träger des G-Allels hatten ein um 81% erhöhtes KHK-Risiko im Vergleich zu Nichtträgern (OR 1,81; 95% KI 1,38-2,36) (Shiffman et al. 2010).

In einer Arbeit von Hopewell et al. (2011) wurde anhand von zwei Studienpopulationen ($n_1=12.964$; $n_2=14.465$) aus der *Heart Protection Study* für rs3798220-C und rs10455872-G die Assoziation mit der KHK untersucht. Die Studienpopulation n_1 bestand aus 9.277 KHK-Patienten die bereits zum Zeitpunkt der Rekrutierung erkrankt waren und 3.687 Kontrollpersonen. Die Studienpopulation n_2 bestand aus 14.465 Probanden die prospektiv betrachtet wurden. Von diesen entwickelten 2.106 Individuen während einer fünfjährigen Nachbeobachtungszeit eine KHK. In der retrospektiv betrachteten Studienpopulation (n_1) zeigte rs3798220-C keine Assoziation mit der KHK, allerdings war ein Trend zu einem erhöhten KHK-Risiko erkennbar (OR 1,21; 95% KI 0,99-1,48). Für rs10455872-G bestand eine Assoziation mit der KHK (OR 1,17; 95% KI 1,06-1,29). Bei der Analyse der prospektiven Studienpopulation n_2 wurden ähnliche Resultate für rs3798220-C (HR 1,17; 95% KI 0,96-1,43) und rs10455872-G (HR 1,18; 95% KI 1,07-1,30) erzielt (Hopewell et al. 2011). Hopewell et al. (2011) bestätigten die von Clarke et al. (2009) beschriebene Assoziation des „LPA genotype score“ mit der KHK. In der retrospektiv betrachteten Studienpopulation n_1 , war der „LPA genotype score“ mit einem OR von 1,19 (95% KI 1,08-1,30; $P=0,0002$) pro Risikoallel mit der KHK assoziiert. Auch in der prospektiv untersuchten Studienpopulation n_2 ergab sich eine Assoziation des „LPA genotype score“ mit der KHK (HR 1,19; 95% KI 1,09-1,30; $P=0,0002$) (Hopewell et al. 2011).

Von Schunkert et al. (2011) wurde für 32.584 Studienteilnehmer (Angaben zur Anzahl der Patienten und Kontrollpersonen liegen nicht vor) der Genotyp im SNP rs3798220 bestimmt. Für Träger des rs3798220-C-Allels wurde ein erhöhtes KHK-Risiko im Vergleich zu Trägern des rs3798220-T-Allels mit einem OR von 1,54 (95% KI 1,36-1,74; $P=9,62 \times 10^{-12}$) nachgewiesen (Schunkert et al. 2011).

Li et al. (2011) überprüften in einer Metaanalyse, die sieben Studienpopulationen aus prospektiven Studien und acht Studienpopulationen aus Fall-Kontroll-Studien einschloss, mit einer Gesamtzahl von etwa 30.000 Patienten und über 80.000 Kontrollpersonen, die Assoziation von rs3798220 mit der KHK. Bei den Patienten handelte es sich, je nach Studie, um KHK-Patienten, MI-Patienten, ACS-Patienten oder Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung (definiert als MI oder ischämischer Schlaganfall oder Tod durch eine kardiovaskuläre Erkrankung) (Li et al. 2011). Unter den eingeschlossenen Studienpopulationen befanden sich die oben genannten Studienpopulationen von Luke et al. (2007), Shiffman et al. (2008), Clarke et al. (2009), Hopewell et al. (2011) und Schunkert et al. (2011). Li et al. (2011) wiesen für Träger des rs3798220-C-Allels ein um 57% erhöhtes KHK-Risiko im Vergleich zu Nichtträgern nach (OR 1,57; 95% KI 1,38-1,79; $P=1,04 \times 10^{-11}$). Auch der SNP rs10455872 wurde von Li et al. (2011) mittels einer Metaanalyse auf eine Assoziation mit der KHK überprüft. Eingeschlossen wurden eine Studienpopulation aus einer prospektiven Studie und fünf Studienpopulationen aus Fall-Kontrollstudien mit einer Gesamtzahl von über 10.000 Patienten und mehr als 20.000 Kontrollpersonen (Li et al. 2011). Bei den Patienten handelte es sich je nach Studienpopulation um Probanden mit einem MI, einer KHK oder einem ACS. Aus den oben genannten Arbeiten wurden die Studienpopulationen von Clarke et al. (2009), Shiffman et al. (2010) und Hopewell et al. (2011) in diese Metaanalyse mit einbezogen. Für Träger des rs10455872-G-Allels errechnete sich ein um 42% höheres KHK-Risiko (OR 1,42; 95% KI 1,22-1,65; $P=3,8 \times 10^{-6}$) im Vergleich zu Nichtträgern (Li et al. 2011). Damit wurde in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur Metaanalyse von Li et al. (2011) qualitativ ein ähnliches Ergebnis erzielt. Bei der quantitativen Betrachtung der Resultate zeigte sich in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur Arbeit von Li et al. (2011) eine etwas stärkere Risikoerhöhung für Träger des rs3798220-C-Allels (korrigiertes OR 2,14; 95% KI 1,37-3,33) und des rs10455872-G-Allels (korrigiertes OR 1,74; 95% KI 1,36-2,24).

Qi et al. (2012) untersuchten, anhand von 1.450 Patienten mit Diabetes mellitus, die Assoziation von rs10455872 mit dem Lp(a)-Spiegel und anhand einer Population bestehend aus 589 Diabetes-Patienten mit KHK und 1.661 Diabetes-Patienten ohne zusätzliche kardiovaskuläre Erkrankung, die Assoziation von rs10455872 mit der KHK. Für rs10455872-G wurde zwar eine Assoziation mit einem erhöhten Lp(a)-Spiegel nachgewiesen ($P=4,6 \times 10^{-39}$), nicht jedoch mit einem erhöhten KHK-Risiko (OR 0,94; 95% KI 0,69-1,28; $P=0,71$).

Die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578 wurden auch von Trégouët et al. (2009) im Rahmen einer genomweiten Assoziationsstudie auf ihre Assoziation mit der KHK geprüft. Von Trégouët et al. (2009) wurde dabei eine Gesamtpopulation bestehend aus insgesamt 8.999 Patienten und 10.263 Kontrollpersonen untersucht, die sich aus den Studienpopulationen der *Wellcome Trust Case Controls Consortium Study (WTCCC;* 1.926 KHK-Patienten, 2.938 Kontrollen), der *German Myocardial Infarction Family Study I (GerMIFS I;* 875 KHK-Patienten, 1.644 Kontrollen), der *German Myocardial Infarction Family Study II (GerMIFS II;* 1.222 KHK-Patienten, 1.298 Kontrollen), der *Angio-Lueb-Studie* (1.679 KHK-Patienten, 1.524 Kontrollen), der *PopGen-Studie* (2.199 KHK-Patienten, 1.809 Kontrollen) und der *ECTIM-Studie* (1.098 MI-Patienten, 1.050 Kontrollen) zusammensetzte (Trégouët et al. 2009).

In dieser Arbeit wurde für den SNP rs2048327 im *SLC22A3*-Gen keine Assoziation mit dem AMI nachgewiesen (OR 1,09; 95% KI 0,98-1,21; $P=0,11$). In der Arbeit von Trégouët et al. (2009) wurde in der Gesamtpopulation eine Assoziation von rs2048327-C mit einem erhöhten KHK-Risiko festgestellt ($P=3,98 \times 10^{-13}$) (Tab. 11). In der oben genannten Arbeit von Qi et al. (2012) wurde bei Diabetikern für rs2048327-C eine Assoziation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln gezeigt ($P=3,71 \times 10^{-8}$). Es bestand jedoch keine Assoziation mit einem erhöhten KHK-Risiko ($P=0,29$) (Qi et al. 2012).

Der SNP rs3127599 im *LPAL2*-Pseudogen wies in der vorliegenden Arbeit keine Assoziation mit dem AMI auf (OR 1,15; 95% KI 0,94-1,42; $P=0,18$). In der Arbeit von Trégouët et al. (2009) war rs3127599 bei der Betrachtung der Gesamtpopulation nicht mit der KHK assoziiert (Tab. 11).

Für rs7767084 im *LPA*-Gen wurde in der Studienpopulation dieser Arbeit keine Assoziation mit dem AMI festgestellt (OR 0,91; 95% KI 0,79-1,04; $P=0,15$). Trégouët

et al. (2009) wiesen für rs7767084 in der Gesamtpopulation keine Assoziation mit der KHK nach (Tab. 11). Von Dumitrescu et al. (2011) wurde eine Assoziation ($P=5,88 \times 10^{-5}$) des SNP rs7767084 mit erniedrigten Lp(a)-Spiegeln in einer Studienpopulation bestehend aus US-Amerikanern afrikanischer Abstammung ($n=1.711$) nachgewiesen. Bei US-Amerikanern europäischer Abstammung ($n=2.397$) und US-Amerikanern mexikanischer Abstammung ($n=1.749$; ethnische Herkunft nicht erklärt) war diese Assoziation nicht nachweisbar (Dumitrescu et al. 2011).

Der SNP rs10755578 im *LPA*-Gen war in der vorliegenden Arbeit nicht mit dem AMI assoziiert (OR 1,04; 95% KI 0,94-1,15; $P=0,44$). Von Trégouët et al. (2009) wurde in der Gesamtpopulation für rs10755578 keine Assoziation mit der KHK nachgewiesen (Tab. 11) (Trégouët et al. 2009). In der *PROCARDIS*-Kohorte wurde von Clarke et al. (2009) eine Assoziation von rs10755578-G mit der KHK gezeigt. Dabei ergab sich eine Risikoerhöhung für Träger des G-Allels gegenüber Nichtträgern um 11% (OR 1,11; 95% KI 1,03-1,20). Zusätzlich war rs10755578-G mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln assoziiert ($P=3,4 \times 10^{-13}$) (Clarke et al. 2009). Daher wird der Effekt dieses Polymorphismus auf das kardiovaskuläre Risiko möglicherweise zum Teil über erhöhte Lp(a)-Spiegel vermittelt.

Tabelle 11: Assoziation des SNP rs2048327 mit der KHK in der Arbeit von Trégouët et al. (2009)

SNP	WTCCC			GerMIFS I			GerMIFSII		
	Patienten (n=1.926)	Kontrollen (n=2.938)	<i>P</i>	Patienten (n=875)	Kontrollen (n=1.644)	<i>P</i>	Patienten (n=1.222)	Kontrollen (n=1.298)	<i>P</i>
rs2048327 (T>C)	0,422	0,386	3x10 ⁻⁴	0,390	0,341	9x10 ⁻⁴	0,388	0,361	0,051
rs3127599 (C>T)	0,324	0,308	0,096	0,289	0,298	0,519	0,298	0,297	0,953
rs7767084 (T>C)	0,159	0,159	0,978	0,175	0,172	0,759	0,174	0,158	0,126
rs10755578 (C>G)	0,491	0,476	0,146	0,487	0,482	0,713	0,490	0,477	0,354

SNP	Angio-Lueb			PopGen			ECTIM		
	Patienten (n=1.679)	Kontrollen (n=1.524)	<i>P</i>	Patienten (n=2.199)	Kontrollen (n=1.809)	<i>P</i>	Patienten (n=1.098)	Kontrollen (n=1.050)	<i>P</i>
rs2048327 (T>C)	0,383	0,350	0,007	0,409	0,376	0,002	0,387	0,338	6x10 ⁻⁴
rs3127599 (C>T)	0,306	0,294	0,282	0,312	0,293	0,072	0,305	0,276	0,035
rs7767084 (T>C)	0,176	0,167	0,327	0,170	0,168	0,767	0,170	0,146	0,027
rs10755578 (C>G)	0,489	0,474	0,229	0,498	0,483	0,182	0,476	0,435	0,006

P-Werte nicht adjustiert.

4.2 Die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion und das kardiovaskuläre Risiko

Lp(a) wird seit längerem als Risikofaktor für die KHK, die periphere arterielle Verschlusskrankheit, den ischämischen Schlaganfall und die Karotisstenose angesehen (Valentine et al. 1994; Smolders et al. 2007; Bennet et al. 2008; Catalano et al. 2008; Erqou et al. 2009; Ronald et al. 2011).

Bennet et al. (2008) untersuchten anhand der *Reykjavik Study* die Assoziation von erhöhten Lp(a)-Spiegeln mit der KHK. In der Studienpopulation, bestehend aus 2.047 KHK-Patienten und 3.921 Kontrollpersonen, wurde eine Risikoerhöhung mit einem OR von 1,60 (95% KI 1,38-1,85) für Individuen mit Lp(a)-Spiegeln im oberen Drittel (>149mg/l) der gemessenen Werte im Vergleich zu Individuen mit Lp(a)-Spiegeln im unteren Drittel (<42mg/l) festgestellt (Bennet et al. 2008).

Erqou et al. (2009) untersuchten mittels einer Metaanalyse von 26 prospektiven Kohortenstudien und 10 eingebetteten Fall-Kontrollstudien (über 126.000 Personen) den Zusammenhang zwischen erhöhten Lp(a)-Spiegeln und der KHK bzw. dem ischämischen Schlaganfall. Aus den eingeschlossenen Studien ergab sich ein medianer Lp(a)-Spiegel von 126mg/l (Interquartilsabstand 49-321mg/l) (Erqou et al. 2009). In 24 der 26 Kohortenstudien waren während der Nachbeobachtungszeit KHK-Fälle aufgetreten. In einer Metaanalyse dieser 24 Kohortenstudien (über 112.000 Personen) errechnete sich eine KHK-Häufigkeit von 5,6 pro 1.000 Personenjahre (entspricht bei 1.000 Teilnehmern in einer Kohortenstudie einem Beobachtungszeitraum von 1 Jahr) in der Gruppe mit Lp(a)-Werten im oberen Drittel im Vergleich zu 4,4 KHK-Fällen pro 1.000 Personenjahre in der Gruppe mit Lp(a)-Werten im unteren Drittel (Erqou et al. 2009). Für 30 Studienpopulationen (21 Kohortenstudien, 9 eingebettete Fall-Kontroll-Studien, über 106.000 Personen) lagen Daten für Blutdruck, Geschlecht, Alter, Diabetes, Raucherstatus, Body-Mass-Index und Cholesterinspiegel vor. Nach Korrektur für diese Risikofaktoren betrug das relative Risiko für die Entstehung einer KHK bei Probanden mit Lp(a)-Spiegeln im oberen Drittel der gemessenen Werte im Vergleich zu Probanden mit Lp(a)-Spiegeln im unteren Drittel 1,27 (95% KI 1,17-1,38) (Erqou et al. 2009). Pro Erhöhung des Lp(a)-Spiegels um den Faktor 3,5 (entsprechend einer Standardabweichung) errechnete sich ein relatives Risiko von 1,13 (95% KI 1,09-1,18) (Erqou et al. 2009).

Die Höhe des Lp(a)-Spiegels wird durch zahlreiche SNPs in der Region des *LPA*-Gens beeinflusst, darunter auch die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Polymorphismen rs3798220, rs10455872 und rs10755578 (Boerwinkle et al. 1992; Boomsma et al. 2000; Clarke et al. 2009; Dumitrescu et al. 2011). Für den SNP rs2048327 wurde lediglich in einer Studienpopulation, bestehend aus Diabetes-Patienten (n=1.450), eine Assoziation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln nachgewiesen (siehe Abschnitt 4.1) (Qi et al. 2012). Von Dumitrescu et al. (2011) wurde für rs7767084 lediglich in einer Studienpopulation, bestehend aus US-Amerikanern afrikanischer Herkunft (n=1.711), eine Assoziation mit erniedrigten Lp(a)-Spiegeln gezeigt (siehe Abschnitt 4.1). Der SNP rs3127599 wurde bisher nicht mit veränderten Lp(a)-Spiegeln in Zusammenhang gebracht.

Daneben korreliert die Höhe des Lp(a)-Spiegels und des KHK-Risikos mit der Größe der Apo(a)-Isoformen (Erqou et al. 2010; Dumitrescu et al. 2011). Eine Review-Arbeit mit einer Studienpopulation von 58.000 Personen zeigte ein relatives Risiko von 2,08 (95% KI 1,67-2,58) für die Entwicklung einer KHK bei Personen mit kleinen Apo(a)-Isoformen (≤ 22 KIV-2-Kopien) im Vergleich zu Individuen mit großen Apo(a)-Isoformen (> 22 KIV-2-Kopien) (Erqou et al. 2010). Die Anzahl an KIV-2-Kopien kann jedoch nur einen Teil der interindividuellen Variabilität der Lp(a)-Spiegel erklären (Dumitrescu et al. 2011).

Die beiden Risikoallele rs3798220-C (4399M) und rs10455872-G sind, wie im Abschnitt 4.1 erläutert, sowohl mit der KHK und dem MI als auch mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln und kleineren Apo(a)-Isoformen assoziiert (Shiffman et al. 2008; Clarke et al. 2009). In mehreren Arbeiten wurde daher versucht die Frage zu klären, in welchem Ausmaß die Assoziation dieser Risikoallele mit der KHK und dem MI auf eine Korrelation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln und einer geringeren Apo(a)-Größe zurückzuführen ist (Shiffman et al. 2008; Chasman et al. 2009; Clarke et al. 2009).

Clarke et al. (2009) zeigten in einer Metaanalyse von vier Studienpopulationen (7.991 KHK-Patienten, 7.946 Kontrollen) eine Assoziation des oben beschriebenen „*LPA* genotype score“ (Summe aus den Risikoallelen der beiden SNPs rs3798220 (C) und rs10455872 (G)) mit einem erhöhten KHK-Risiko (Clarke et al. 2009). Allerdings wurde von Clarke et al. (2009) anhand einer Subgruppe mit verfügbaren Daten über die Höhe des Lp(a)-Spiegels (3.137 KHK-Patienten, 3.728 Kontrollen) festgestellt, dass nach Korrektur für den Lp(a)-Spiegel die ursprüngliche Assoziation

zwischen dem „LPA genotype score“ (OR 1,52; 95% KI 1,36-1,72) und der KHK nicht mehr nachweisbar war (OR 1,02; 95% KI 0,88-1,18). Die beiden SNPs rs3798220 und rs10455872 zusammen waren für 36% des interindividuellen Unterschieds in der Höhe des Lp(a)-Plasmaspiegels verantwortlich (Clarke et al. 2009). Entsprechend dieser Ergebnisse könnte die Assoziation von rs3798220-C und rs10455872-G mit der KHK vollständig durch die Assoziation der beiden Risikoallele mit einem erhöhten Lp(a)-Spiegel erklärt werden (Clarke et al. 2009).

Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Clarke et al. (2009) stehen die Ergebnisse der im Abschnitt 4.1 besprochenen *Cardiovascular Health Study* von Shiffman et al. (2008). Unter den Studienteilnehmern europäischer Abstammung der *Cardiovascular Health Study* (n=3.849) hatten Träger des rs3798220-C-Allels im Durchschnitt höhere Lp(a)-Spiegel als Nichtträger (63 mg/dl vs. 42 mg/dl; $P<0,00005$). Die Assoziation von rs3798220-C mit einem erhöhten MI-Risiko (HR (korrigiert für Alter und Geschlecht) 1,62; 90% KI 1,09-2,42; $P=0,022$) bestand jedoch auch nach Korrektur für den Lp(a)-Spiegel nahezu unverändert fort (HR (zusätzlich korrigiert für den Lp(a)-Spiegel) 1,64; 90% KI 1,10-2,45) (Shiffman et al. 2008). Bei einem Kausalzusammenhang zwischen erhöhten Lp(a)-Spiegeln und dem MI wäre jedoch zu erwarten gewesen, dass nach Korrektur für den Lp(a)-Spiegel eine schwächere oder keine Assoziation zwischen rs3798220 und dem MI bestehen würde. Liegt allerdings ein vom Lp(a)-Spiegel unabhängiger Einfluss von rs3798220 auf das MI-Risiko vor, geht eine mögliche Assoziation auch nach Korrektur für den Lp(a)-Spiegel nicht verloren. Die diskrepanten Ergebnisse müssten möglicherweise durch weitere Studien geklärt werden.

Anhand der *Women's Health Study*, einer randomisierten, placebokontrollierten Studie mit dem Ziel, den Effekt von Aspirin zur Primärprävention von kardialen und vaskulären Erkrankungen zu untersuchen, wurde von Chasman et al. (2009) die klinische Bedeutung des SNP rs3798220 gezeigt. In der Studienpopulation, bestehend aus 25.131, zu Studienbeginn kardial gesunden Frauen europäischer Abstammung, wurde gezeigt, dass Trägerinnen des seltenen 4399M-Allels (3,7%) stärker von einer niedrig dosierten Aspirin-Therapie zur Vermeidung eines kardialen oder vaskulären Ereignisses (MI, ischämischer Schlaganfall oder Tod durch eine kardiale bzw. vaskuläre Erkrankung) profitierten als Nichtträgerinnen (96,3%) (Chasman et al. 2009). Nach einer medianen Nachbeobachtungszeit von 9,9 Jahren

betrug bei Trägerinnen des 4399M-Allels das absolute Risiko für ein schweres kardiovaskuläres Ereignis 2,14% in der Aspirin-Gruppe und 4,83% in der Placebo-Gruppe, mit einer Reduktion des relativen Risikos um 56% ($P=0,033$) (Li et al. 2011; Chasman et al. 2009). Im Gegensatz dazu betrug das absolute Risiko für ein schweres kardiovaskuläres Ereignis unter den Frauen mit dem 4399I-Wildtyp-Allel 2,13% in der Aspirin-Gruppe und 2,25% in der Placebo-Gruppe, mit einer nicht signifikanten Reduktion des relativen Risiko um 9% ($P=0,30$) (Chasman et al. 2009). Die „number needed to treat“ (NNT) zur Verhinderung eines kardialen bzw. vaskulären Ereignisses betrug unter den Trägerinnen des 4399M-Allels 37 und unter den Nichtträgerinnen 625 (Chasman et al. 2009). Niedrig dosiertes Aspirin besitzt vor allem eine hemmende Wirkung auf die Thrombozytenaggregation (Hennekens et al. 2006). Die stärkere Risikoreduktion für ein kardiales Ereignis durch eine niedrig dosierte Aspirin-Einnahme bei Trägerinnen des 4399M-Allels im Vergleich zu Nichtträgerinnen, könnte ein Hinweis auf die Beeinflussung der Hämostase durch den Aminosäureaustausch I4399M in der proteasenähnlichen Domäne des Apo(a) sein (Hancock et al. 2003; Luke et al. 2007; Chasman et al. 2009).

Im Gegensatz zum *LPA* ist die Rolle der beiden Gene *SLC22A3* und *LPAL2* bei der Entstehung der Atherosklerose und der KHK bisher unklar. Das Gen *SLC22A3*, welches für einen extraneuronalen Monoamintransporter kodiert (Gründemann & Schömig 2000) und das Pseudogen *LPAL2*, welches eine verkürzte Version des *LPA*-Gens darstellt (Byrne et al. 1995), werden nicht als Kandidatengene für die KHK oder den MI angesehen.

4.3 Vergleich der aktuellen Haplotypanalyse mit publizierten Studienergebnissen

In der vorliegenden Arbeit wurde für vier (TCTC, CTTG, CCTC und TTTC) der sieben häufigsten Haplotypen in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion eine Assoziation mit dem AMI nachgewiesen (Tab. 10). Der CCCG-, TTTG- und CCTG-Haplotyp zeigte keine Assoziation mit dem AMI (Tab. 10). Auch Trégouët et al. (2009) untersuchten anhand von sechs Studienpopulationen, mit insgesamt 8.999 Patienten und 10.263

Kontrollpersonen, die Assoziation von Haplotypen der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit der KHK. In der Arbeit von Trégouët et al. (2009) zeigten zwei (CTTG und CCTC) der sieben häufigsten Haplotypen eine Assoziation mit der KHK. Die restlichen fünf Haplotypen (TCTC, CCCG, TTTG, CCTG und TTTC) wiesen keine Assoziation mit der KHK auf (Trégouët et al. 2009).

In der vorliegenden Arbeit zeigte der häufigste Haplotyp (TCTC; 47,3%) eine Assoziation mit dem AMI ($P=0,019$). Als Einziger der untersuchten Haplotypen führte er zu einer signifikanten Reduktion des AMI-Risikos mit einem OR von 0,89 (95% KI 0,80-0,98). Während in der vorliegenden Arbeit die sieben häufigsten Haplotypen untereinander verglichen wurden, verwendeten Trégouët et al. (2009) den TCTC-Haplotyp (47,8%) als Referenz und stellten, bei der Berechnung des OR, die restlichen Haplotypen dem TCTC-Haplotyp gegenüber.

Der CTTG-Haplotyp (14,7%) zeigte in dieser Arbeit eine Assoziation mit dem AMI ($P=0,0022$). Das zugehörige OR betrug 1,25 (95% KI 1,08-1,45). In der Arbeit von Trégouët et al. (2009) war der CTTG-Haplotyp (16,7%) mit einem erhöhten KHK-Risiko assoziiert (OR 1,202; 95% KI 1,133-1,275; $P=1,19 \times 10^{-9}$).

Für den CCTC-Haplotyp (2,2%) wurde in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation mit dem AMI festgestellt ($P=0,0074$) und eine Risikoerhöhung mit einem OR von 1,65 (95% KI 1,14-2,38) gezeigt. Trégouët et al. (2009) wiesen für den CCTC-Haplotyp (2,4%) eine Assoziation mit der KHK nach (OR 1,822; 95% KI 1,568-2,116; $P=4,20 \times 10^{-9}$).

In der vorliegenden Arbeit wurde zusätzlich für den TTTC-Haplotyp (1,3%) eine Assoziation mit dem AMI nachgewiesen ($P=0,039$). Für den TTTC-Haplotyp ergab sich ein OR von 1,66 (95% KI=1,02-2,70). In der Arbeit von Trégouët et al. (2009) zeigte der TTTC-Haplotyp (1,5%) keine Assoziation mit der KHK.

Für den CCCG-, TTTG- und CCTG-Haplotyp wurde weder in der vorliegenden Arbeit noch in der Arbeit von Trégouët et al. (2009) eine Assoziation mit dem AMI bzw. der KHK nachgewiesen.

Keiner der vier haplotypbildenden SNPs (rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578) war in der vorliegenden Arbeit, nach Korrektur für die häufigsten kardiovaskulären Risikofaktoren, mit dem AMI assoziiert. Diese SNPs können für sich alleine daher nicht die Assoziation der vier Haplotypen (TCTC, CTTG, CCTC, TTTC) mit dem AMI erklären.

Im Unterschied zur vorliegenden Arbeit enthielten in der Arbeit von Trégouët et al. (2009) die beiden Haplotypen, die mit der KHK assoziiert waren (CTTG und CCTC), das rs2048327-C-Allel, welches bei der Betrachtung der Gesamtheit aller von Trégouët et al. (2009) untersuchten Studienpopulationen, eine Assoziation mit der KHK zeigte ($P=3,98 \times 10^{-13}$). Die Hypothese, dass die Assoziation der Haplotypen mit der KHK allein auf dieses Allel zurückzuführen sei, wurde jedoch abgelehnt ($P=3,14 \times 10^{-11}$) (Trégouët et al. 2009). Damit wurde durch keinen der vier von Trégouët et al. (2009) untersuchten SNPs alleine der Effekt des CTTG- und CCTC-Haplotyps auf das KHK-Risiko ausreichend erklärt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit warfen die Frage auf, ob die Assoziation des CCTC-, CTTG und TTTC-Haplotyps mit einem erhöhten AMI-Risiko durch die spezifische Kombination der haplotypbildenden SNPs erklärt werden kann oder ob diese Assoziation auf eine Korrelation der Haplotypen mit den Risikoallelen rs3798220-C und rs10455872-G in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion zurückzuführen ist. Diese beiden Risikoallele wiesen in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation mit dem AMI auf und hatten bereits in früheren Studien eine Assoziation mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln und kürzeren Apo(a)-Isoformen gezeigt (Luke et al. 2007; Chasman et al. 2009; Clarke et al. 2009).

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Korrelation zwischen dem CCTC-Haplotyp und dem Risikoallel rs3798220-C sowie eine Korrelation zwischen dem CTTG-Haplotyp und dem Risikoallel rs10455872-G nachgewiesen. Die Assoziation des CCTC- und CTTG-Haplotyps mit dem AMI beruht daher zum Teil auf einer Kopplung mit dem rs3798220-C-Allel bzw. rs10455872-G-Allel. Im Gegensatz dazu wurde für den TTTC-Haplotyp, der in der vorliegenden Arbeit ebenfalls eine Assoziation mit einem erhöhten AMI-Risiko zeigte, keine Korrelation mit den Risikoallelen rs3798220-C bzw. rs10455872-G festgestellt ($r^2 \leq 0,02$). Dies wirft die Frage auf, ob die Assoziation des TTTC-Haplotyps mit dem AMI möglicherweise auch auf einer bisher nicht beschriebenen Korrelation mit einem Risikoallel in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Region beruht.

Der SNP rs3798220 zeigte bei der Analyse von Genotypdaten des *Wellcome Trust Case Control Consortium* auch eine Korrelation ($r^2=0,86$) mit dem CCTC-Haplotyp (Clarke et al. 2009).

Von Shiffman et al. (2010) wurde anhand einer Studienpopulation, bestehend aus 725 MI-Patienten und 786 Kontrollpersonen, überprüft, ob die Erhöhung des KHK-Risikos durch den CCTC- und CTTG-Haplotyp durch eine Koinzidenz mit den Risikoallelen rs3798220-C bzw. rs10455872-G erklärt werden kann. Die Autoren wiesen für den CCTC-Haplotyp bei gleichzeitigem Vorliegen des rs3798220-C-Allels eine Assoziation mit der KHK nach (OR 1,68; 95% KI 1,05-2,68; $P=0,03$), nicht jedoch bei gleichzeitigem Vorliegen des rs3798220-T-Allels (Shiffman et al. 2010). Der CTTG-Haplotyp zeigte bei gleichzeitigem Vorliegen des rs10455872-G-Allels eine Assoziation mit der KHK mit einem OR von 1,57 (95% KI 1,15-2,13; $P=0,004$), die bei gleichzeitigem Vorliegen des rs10455872-A-Allels nicht nachweisbar war (Shiffman et al. 2010). Die Daten von Clarke et al. (2009) und Shiffman et al. (2010) stützen damit die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

Die Genotypisierungsergebnisse und die Haplotypanalyse dieser Arbeit sprechen für die Annahme, dass die genetischen Varianten mit Auswirkungen auf das AMI-Risiko eher im Bereich des *LPA*-Gens anstatt im Bereich der Gene *SLC22A3* und *LPAL2* zu finden sind, da keiner der untersuchten SNPs in den Genen *SLC22A3* und *LPAL2* eine Assoziation mit dem AMI aufwies und die Assoziation des CCTC- und CTTG-Haplotyps zum großen Teil auf eine Korrelation mit Risikoallelen im *LPA*-Gen zurückgeführt wurde.

4.4 Erweiterte Haplotypanalyse der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion

Diese Arbeit ist Teil eines umfangreicheren Projekts, bei dem 9-Marker-Haplotypen gebildet aus neun SNPs (rs2048327, rs2076828, rs3127599, rs3123630, rs9346818, rs9457930, rs9365168, rs7767084 und rs10755578) in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf ihre Assoziation mit dem AMI untersucht wurden (Koch et al. 2013). Die SNPs rs2048327, rs3127599, rs7767084, rs10755578 und die daraus gebildeten 4-Marker-Haplotypen wurden bereits in der vorliegenden Arbeit im Rahmen einer engeren Haplotypanalyse betrachtet. Die erweiterte Haplotypanalyse, bezogen auf die bereits vorgestellten Ergebnisse dieser Arbeit wurde durchgeführt, um eine detailliertere Analyse der genetischen Risikomarker in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Region zu ermöglichen.

Mit Hilfe von Daten der HapMap Datenbank (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov> 2013; Frazer et al. 2007) wurden acht sogenannte *tagging SNPs* für die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion identifiziert. Diese acht repräsentativen SNPs (rs2048327, rs3127599, rs10755578, rs2076828, rs3123630, rs9346818, rs9457930 und rs9365168) stellen einen genetischen Marker für 56 SNPs in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion dar. Jeder der acht *tagging SNPs* korrelierte mit einem Teil dieser 56 SNPs in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion ($r^2 \geq 0,80$; im Durchschnitt $r^2 = 0,93$). Zusätzlich wurde der SNP rs7767084 mit in die Analyse einbezogen, da er bereits in der Haplotypanalyse von Trégouët et al. (2009) eingeschlossen war.

Abbildung 11 zeigt die Positionen der neun SNPs der erweiterten Haplotypanalyse sowie die Positionen der SNPs rs3798220 und rs10455872, die für eine Korrelationsanalyse mit den 9-Marker-Haplotypen verwendet wurden.

Die Allelhäufigkeiten und Risikoabschätzungen der neun SNPs aus der erweiterten Haplotypanalyse und der beiden SNPs rs3798220 und rs10455872 sind in Tabelle 12 dargestellt. Die Werte in Tabelle 12 wurden nicht für kardiovaskuläre Risikofaktoren korrigiert. Für rs3798220 und rs10455872 wurde eine Assoziation mit dem AMI festgestellt. Dies wird bereits im Abschnitt 3.7 bzw. 3.10 gezeigt. Zusätzlich wies der SNP rs9346818 im *LPAL2*-Gen eine Assoziation mit dem AMI auf (Tab. 12). Für das Risikoallel rs9346818-G betrug das korrigierte OR 1,26 (95% KI 1,00-1,57; $P=0,047$). Beim rs9346818-G-Allel handelt es sich um das häufigere Allel dieses

SNP. Der SNP rs3127599 war nach Korrektur für die häufigsten kardiovaskulären Risikofaktoren nicht mit dem AMI assoziiert.

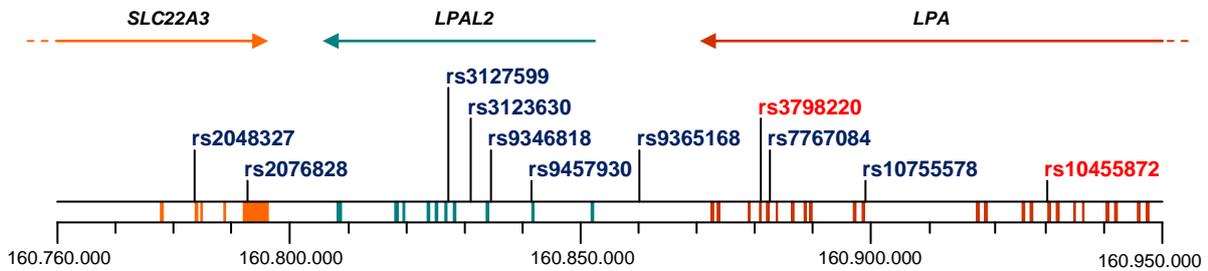


Abbildung 11: Positionen der untersuchten SNPs der erweiterten Haplotypanalyse in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion

Dargestellt sind die *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf dem langen Arm von Chromosom 6 und die Positionen der analysierten SNPs. Blau dargestellte SNPs wurden in die Haplotypanalyse miteinbezogen. Rot dargestellte SNPs wurde nicht in die Haplotypanalyse miteinbezogen, sondern für eine spätere Korrelationsanalyse mit den 9-Marker-Haplotypen verwendet. Exonen der Gene sind in Abhängigkeit von ihrer Größe als vertikale Linien unterschiedlicher Dicke dargestellt. Die Abbildung basiert auf *Genome Build 36.3* und wurde mit Hilfe von online verfügbaren Informationen des HapMap Consortiums erstellt.

Tabelle 12: Allelhäufigkeiten und Risikoschätzungen der erweiterten Analyse

SNP ^a	Position ^b	Allele ^c	AMI-Gruppe (4.272 Allele)		Kontrollgruppe (2.422 Allele)		OR (95% KI) ^d	P
			Häufigeres Allel	Selteneres Allel	Häufigeres Allel	Selteneres Allel		
rs2048327	160.783.522	T>C	2.705 (63,3)	1.567 (36,7)	1.581 (65,3)	841 (34,7)	1,09 (0,98-1,21)	0,11
rs2076828	160.792.776	C>G	2.439 (57,1)	1.833 (42,9)	1.360 (56,2)	1.062 (43,8)	0,96 (0,87-1,06)	0,46
rs3127599	160.827.124	C>T	2.955 (69,2)	1.317 (30,8)	1.760 (72,7)	662 (27,3)	1,18 (1,06-1,32)	0,0026
rs3123630	160.831.043	T>C	3.482 (81,5)	790 (18,5)	1.949 (80,5)	473 (19,5)	0,93 (0,82-1,06)	0,30
rs9346818	160.834.450	G>A	2.623 (61,4)	1.649 (38,6)	1.410 (58,2)	1.012 (41,8)	0,88 (0,79-0,97)	0,011
rs9457930	160.841.556	T>G	2.174 (50,9)	2.098 (49,1)	1.179 (48,7)	1.243 (51,3)	0,92 (0,83-1,01)	0,082
rs9365168	160.860.110	G>A	2.891 (67,7)	1.381 (32,3)	1.624 (67,1)	798 (32,9)	0,97 (0,87-1,08)	0,60
rs3798220 ^e	160.881.127	T>C	4.168 (97,6)	104 (2,4)	2.389 (98,6)	33 (1,4)	1,81 (1,22-2,68)	0,0029
rs7767084	160.882.493	T>C	3.584 (83,9)	688 (16,1)	1.999 (82,5)	423 (17,5)	0,90 (0,79-1,04)	0,15
rs10755578	160.889.728	C>G	2.242 (52,5)	2.030 (47,5)	1.295 (53,5)	1.127 (46,5)	1,04 (0,94-1,15)	0,44
rs10455872 ^e	160.930.108	A>G	3.944 (92,3)	328 (7,7)	2.291 (94,6)	131 (5,4)	1,45 (1,18-1,79)	0,00042

^a SNP Identifikationsnummer nach der „National Center for Biotechnology Information SNP database“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>).

^b Position der SNPs auf dem Chromosom 6 (genome build 36.3)

^c Häufigeres und selteneres Allel in der Studienpopulation

^d Odds Ratio und 95%-Konfidenzintervall für das selteneres Allel

^e Die beiden SNPs rs3798220 und rs10455872 gingen nicht in die Haplotypanalyse ein sondern wurden für die Korrelationsanalyse mit den 9-Marker-Haplotypen verwendet.

Die blau hinterlegten SNPs wurden bereits in Tabelle 9 gezeigt. Diese SNPs wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht. Die Daten der nicht hinterlegten SNPs wurden zu Verfügung gestellt.

Die Abbildungen 12 und 13 zeigen die Resultate der quantitativen, paarweisen Analyse des Kopplungsungleichgewichts unter den für die Haplotypanalyse verwendeten SNPs. Die paarweise Prüfung der neun SNPs auf eine bestehende allelische Assoziation ergab eine geringe Rekombination. Dies wird durch relativ hohe D' -Werte in Abbildung 12 dargestellt. Weiterhin zeigte sich eine geringe Korrelation der einzelnen SNPs miteinander, veranschaulicht durch verhältnismäßig niedrige Werte für r^2 in Abbildung 13.

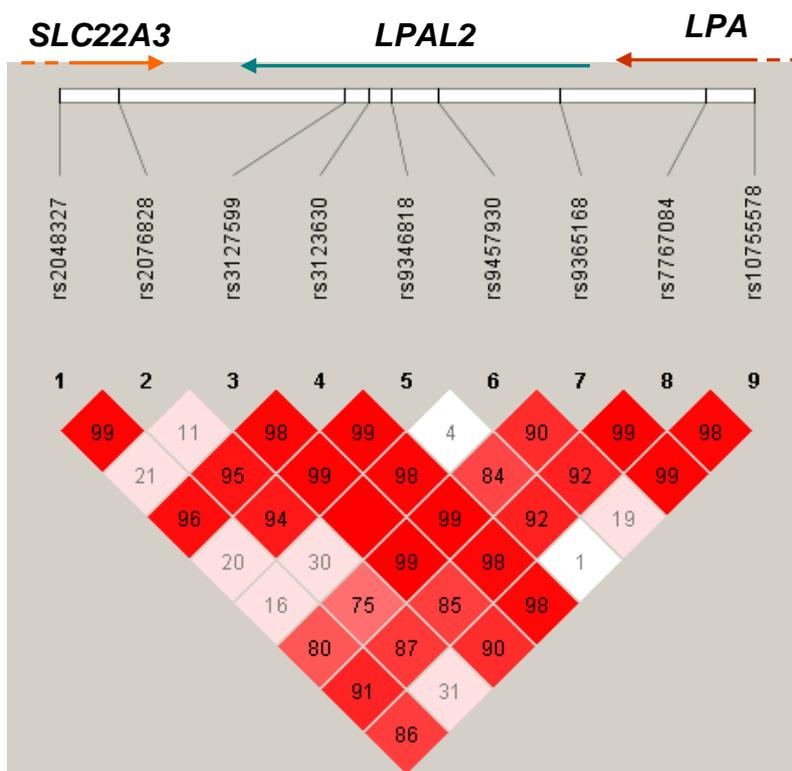


Abbildung 12: Kopplungsungleichgewicht zwischen SNPs, dargestellt als D' -Werte

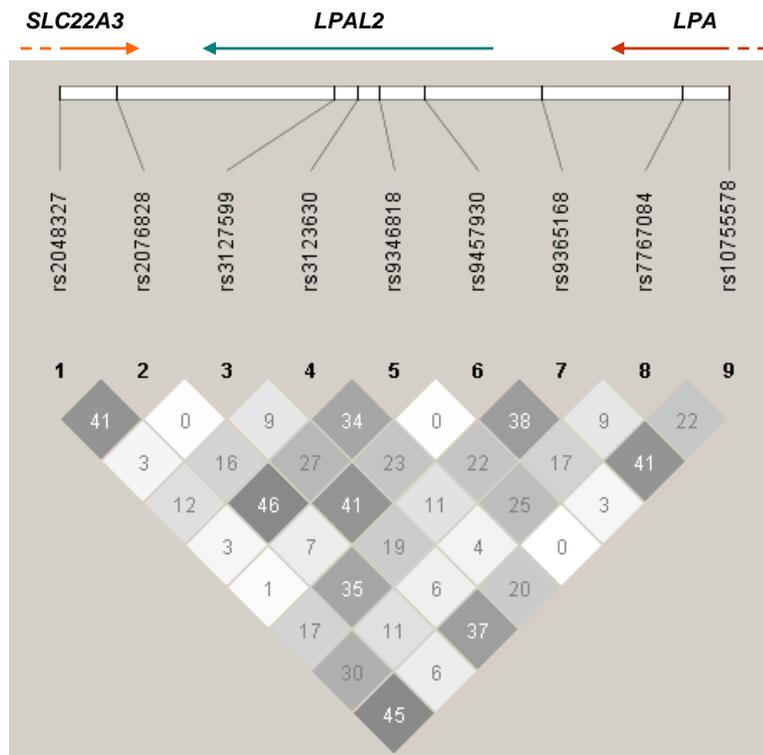


Abbildung 13: Kopplungsungleichgewicht zwischen SNPs, dargestellt als r^2 -Werte

Es wurden neun Haplotypen mit einer Häufigkeit von mehr als einem Prozent identifiziert. Von diesen wiesen drei eine Assoziation mit dem AMI auf (Tab. 13). Für den CCTTGTGTG-Haplotyp (14,7%) wurde eine Assoziation mit dem AMI mit einem OR von 1,25 (95% KI 1,08-1,45; $P=0,0022$) nachgewiesen. Der CCCTGGATC-Haplotyp (2,2%) zeigte ebenfalls eine Assoziation ($P=0,0074$) mit dem AMI. Er führte zu einer Risikoerhöhung für den AMI mit einem OR von 1,65 (95% KI 1,14-2,38). Auch für den TGTTGTGTC-Haplotyp (1,3%) bestand eine Assoziation ($P=0,039$) mit dem AMI. Das OR betrug 1,66 (95% KI 1,02-2,70). Für die sechs weiteren Haplotypen (TGCTGGATC, TCCCATGTC, CCCTAGGCG, TGTTGTGTG, CCCTAGGTG und TCCTATATC) bestand keine Assoziation mit dem AMI.

Tabelle 13: Haplotypen und assoziiertes AMI-Risiko in der erweiterten Haplotypanalyse

Haplotyp	AMI-Gruppe (%)	Kontrollgruppe (%)	OR (95% KI)	<i>P</i>
TGCTGGATC	27,0	28,7	0,92 (0,82-1,03)	0,14
TCCCATGTC	17,8	18,8	0,94 (0,82-1,06)	0,31
CCCTAGGCG	15,0	16,4	0,89 (0,78-1,03)	0,11
CCTTGTGTG	15,7	12,9	1,25 (1,08-1,45)	0,0022
TGTTGTGTG	12,8	12,6	1,01 (0,87-1,18)	0,85
CCCTAGGTG	2,7	3,2	0,83 (0,62-1,12)	0,23
CCCTGGATC	2,6	1,6	1,65 (1,14-2,38)	0,0074
TCCTATATC	1,4	1,8	0,79 (0,53-1,17)	0,24
TGTTGTGTC	1,5	0,9	1,66 (1,02-2,70)	0,039
Andere	3,6	3,1	1,16 (0,88-1,54)	0,29

^a Die Reihenfolge der Allele in den dargestellten Haplotypen stimmt mit der Reihenfolge der Positionen auf Chromosom 6 überein. Von links nach rechts: rs2048327, rs2076828, rs3127599, rs3123630, rs9346818, rs9457930, rs9365168, rs7767084, rs10755578.

Sechs der sieben häufigsten 4-Marker-Haplotypen (CCCG, CTTG, TTTG, CCTG, CCTC und TTTC), der engeren Haplotypanalyse der vorliegenden Arbeit, waren jeweils in genau einem der 9-Marker-Haplotypen (CCCTAGGCG, CCTTGTGTG, IGITGTGTG, CCCTAGGTG, CCCTGGATC und IGITGTGTC) der erweiterten Analyse enthalten. Der TCTC-Haplotyp (47,3%) war in drei der 9-Marker-Haplotypen (IGCTGGATC (27,6%), ICCCATGTC (18,2%) und ICCTATATC (1,5%)) in der erweiterten Haplotypanalyse enthalten. Jeder der drei Haplotypen IGCTGGATC, ICCCATGTC und ICCTATATC wies einen Trend zu einem protektiven Effekt für den AMI auf (Tab. 13). Dieser Trend verstärkte sich im 4-Marker-Haplotyp TCTC zu einer Assoziation mit einem erniedrigten AMI-Risiko (OR 0,89; 95% KI 0,80-0,98; *P*=0,017). Für den CCTTGTGTG-, CCCTGGATC- und IGITGTGTC-Haplotyp der erweiterten Haplotypanalyse wurde, wie für die entsprechenden 4-Marker-Haplotypen (CTTG, CCTC und TTTC), eine signifikante Risikoerhöhung für den AMI festgestellt.

Ähnlich wie die 4-Marker-Haplotypen wurden auch die 9-Marker-Haplotypen auf eine mögliche Korrelation mit den Polymorphismen rs3798220 und rs10455872 geprüft. Wie erwartet zeigte der CCCTGGATC-Haplotyp eine Korrelation ($r^2=0,77$) mit dem rs3798220-C-Allel. Der CCTTGTGTG-Haplotyp wies eine Korrelation ($r^2=0,28$) mit dem rs10455872-G-Allel auf. Für keinen der anderen Haplotypen bestand eine Korrelation mit rs3798220 oder rs10455872 ($r^2\leq 0,02$) (Koch et al. 2013). Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen den 9-Marker-Haplotypen und rs3798220 bzw. rs10455872 entsprechen damit den bereits vorgestellten Ergebnissen der Korrelationsanalyse der 4-Marker-Haplotypen (siehe 3.12).

Der Einfluss von Haplotypen in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf das AMI-Risiko wird daher in den wesentlichen Punkten bereits mit der Analyse der 4-Marker-Haplotypen erfasst, die im Ergebnisteil dieser Arbeit vorgestellt wurde. Auch die essentiellen Daten zur Korrelation von Haplotypen der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit den Risikoallelen rs3798220-C und rs10455872-G wurden bereits in der Korrelationsanalyse der 4-Marker-Haplotypen der vorliegenden Arbeit erhoben.

5. Zusammenfassung

Lp(a) zählt aufgrund seiner thrombogenen und atherogenen Eigenschaften zu den Risikofaktoren für die Entwicklung einer Atherosklerose. Interindividuelle Unterschiede in der Höhe des Lp(a)-Spiegels und in der Länge des Apo(a) stehen im Zusammenhang mit genetischen Variationen.

In der vorliegenden Arbeit wurden genetische Variationen (SNPs) in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion auf ihre Assoziation mit dem AMI geprüft. Das Studienkollektiv bestand aus 2.136 AMI-Patienten und 1.211 Kontrollpersonen. Zur Genotypisierung wurde die TaqMan-Methode verwendet.

Von den insgesamt sechs untersuchten SNPs (rs2048327, rs3127599, rs7767084, rs10755578, rs3798220 und rs10455872) wurde für zwei (rs3798220 und rs10455872) eine Assoziation mit einem erhöhten AMI-Risiko nachgewiesen. Haplotypen, gebildet aus den vier SNPs rs2048327, rs3127599, rs7767084 und rs10755578, die einen großen Teil der Gesamtvariation in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion erfassen, wurden auf eine Assoziation mit dem AMI geprüft. Von den sieben häufigsten Haplotypen (Häufigkeit >1%), waren vier (TCTC, CTTG, CCTC und TTTC) mit dem AMI assoziiert. Der CTTG-, CCTC- und TTTC-Haplotyp führte zu einer signifikanten Erhöhung des AMI-Risikos, der TCTC-Haplotyp zu einer signifikanten Risikoreduktion. Die drei restlichen Haplotypen (CCCG, TTTG und CCTG) wiesen keine Assoziation mit dem AMI auf.

Sowohl rs3798220-C und rs10455872-G als auch der CCTC- und CTTG-Haplotyp zeigten eine signifikante Risikoerhöhung für den AMI. Zwischen dem CCTC-Haplotyp und dem rs3798220-C-Allel, sowie zwischen dem CTTG-Haplotyp und dem rs10455872-G-Allel wurde eine Korrelation nachgewiesen. Daraus ergibt sich, dass die Risikoerhöhung durch den CCTC- und den CTTG-Haplotyp zum Teil durch eine Kopplung mit dem rs3798220-C- bzw. dem rs10455872-G-Allel erklärt werden kann.

Es stellte sich heraus, dass eine Haplotypanalyse mit 9 SNPs keine zusätzlichen Informationen zur Assoziation der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit dem AMI lieferte und die genetische Variabilität in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion bereits im wesentlichen Umfang durch die 4-Marker-Haplotypen erfasst wird.

Somit wurde die Assoziation von Haplotypen in der *SLC22A3-LPAL2-LPA*-Genregion mit dem AMI zum großen Teil auf eine Korrelation mit zwei bestimmten Nukleotiden im *LPA*-Gen zurückgeführt und eine präzisere Definition der Risikomarker erreicht.

Literaturverzeichnis

Zeitschriftenartikel, Monographien und Buchbeiträge

1. Achar S.A., Kundu S. & Norcross W.A.
Diagnosis of acute coronary syndrome.
Am. Fam. Physician 72 (2005) S.119–126.
2. Afonina I., Zivarts M., Kutyavin I., Lukhtanov E., Gamper H. & Meyer R.B.
Efficient priming of PCR with short oligonucleotides conjugated to a minor groove binder.
Nucleic Acids Res. 25 (1997) S.2657–2660.
3. Alpert J.S., Thygesen K., Antman E. & Bassand J.P.
Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction.
J. Am. Coll. Cardiol. 36 (2000) S.959–969.
4. Anderson J.L., Adams C.D., Antman E.M., Bridges C.R., Califf R.M., Casey D.E. Jr, Chavey W.E. 2nd, Fesmire F.M., Hochman J.S., Levin T.N., Lincoff A.M., Peterson E.D., Theroux P., Wenger N.K., Wright R.S., Smith S.C. Jr, Jacobs A.K., Adams C.D., Anderson J.L., Antman E.M., Halperin J.L., Hunt S.A., Krumholz H.M., Kushner F.G., Lytle B.W., Nishimura R., Ornato J.P., Page R.L. & Riegel B.
ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-Elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.
J. Am. Coll. Cardiol. 50 (2007) S.e1–e157.
5. Arai K., Luke M.M., Koschinsky M.L., Miller E.R., Pullinger C.R., Witztum J.L., Kane J.P. & Tsimikas S.
The I4399M variant of apolipoprotein(a) is associated with increased oxidized phospholipids on apolipoprotein B-100 particles.
Atherosclerosis 209 (2010) S.498–503.

6. Arciero T.J., Jacobsen S.J., Reeder G.S., Frye R.L., Weston S.A., Killian J.M. & Roger V.L.
Temporal trends in the incidence of coronary disease.
Am. J. Med. 117 (2004) S.228–233.
7. Argraves K.M., Kozarsky K.F., Fallon J.T., Harpel P.C. & Strickland D.K.
The atherogenic lipoprotein Lp(a) is internalized and degraded in a process mediated by the VLDL receptor.
J. Clin. Invest. 100 (1997) S.2170–2181.
8. Barrett J.C., Fry B., Maller J. & Daly M.J.
Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps.
Bioinformatics 21 (2005) S.263–265.
9. Bennet A., Di Angelantonio E., Erqou S., Eiriksdottir G., Sigurdsson G., Woodward M., Rumley A., Lowe G.D.O., Danesh J. & Gudnason V.
Lipoprotein(a) levels and risk of future coronary heart disease: large-scale prospective data.
Arch. Intern. Med. 168 (2008) S.598–608.
10. Bickeböller H. & Fischer C.
Einführung in die Genetische Epidemiologie
1. Auflage
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 2007
11. Böcker W., Denk H., Heitz P.U. & Moch H.
Pathologie
4. Auflage
Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München, 2008
12. Boerwinkle E., Leffert C.C., Lin J., Lackner C., Chiesa G. & Hobbs H.H.
Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations.
J. Clin. Invest. 90 (1992) S.52–60
13. Boomsma D.I., Knijff P., Kaptein A., Labeur C., Martin N.G., Havekes L.M. & Princen H.M.
The effect of apolipoprotein(a)-, apolipoprotein E-, and apolipoprotein A4-polymorphisms on quantitative lipoprotein(a) concentrations.
Twin Res. 3 (2000) S.152–158.
14. Braunwald E.
Unstable angina. A classification.
Circulation 80 (1989) S.410–414.

15. Brookes A.J.
The essence of SNPs.
Gene 234 (1999) S.177–186.
16. Brown M.S. & Goldstein J.L.
A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis.
Science 232 (1986) S.34–47.
17. Buckland P.R.
The importance and identification of regulatory polymorphisms and their mechanisms of action.
Biochim. Biophys. Acta 1762 (2006) S.17–28.
18. Byrne C.D., Schwartz K. & Lawn R.M.
Loss of a splice donor site at a “skipped exon” in a gene homologous to apolipoprotein(a) leads to an mRNA encoding a protein consisting of a single kringle domain.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 15 (1995) S.65–70.
19. Castelli W.P., Garrison R.J., Wilson P.W., Abbott R.D., Kalousdian S. & Kannel W.B.
Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study.
JAMA 256 (1986) S.2835–2838.
20. Catalano M., Cortelazzo A., Yilmaz Y., Perilli E., Carzaniga G. & Emanuele E.
The LPA gene C93T polymorphism influences plasma lipoprotein(a) levels and is independently associated with susceptibility to peripheral arterial disease.
Clin. Chim. Acta 387 (2008) S.109–112.
21. Chalmers J., MacMahon S., Mancia G., Whitworth J., Beilin L., Hansson L., Neal B., Rodgers A., Ni Mhurchu C. & Clark T.
1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. Guidelines sub-committee of the World Health Organization.
Clin. Exp. Hypertens. 21 (1999) S.1009–1060.
22. Chasman D.I., Shiffman D., Zee R.Y.L., Louie J.Z., Luke M.M., Rowland C.M., Catanese J.J., Buring J.E., Devlin J.J. & Ridker P.M.
Polymorphism in the apolipoprotein(a) gene, plasma lipoprotein(a), cardiovascular disease, and low-dose aspirin therapy.
Atherosclerosis. 203 (2009) S.371–376.

23. Clark A.G.
The role of haplotypes in candidate gene studies.
Genet. Epidemiol. 27 (2004) S.321–333.

24. Clarke R., Xu P., Bennett D., Lewington S., Zondervan K., Parish S., Palmer A., Clark S., Cardon L., Peto R., Lathrop M. & Collins R.
Lymphotoxin-alpha gene and risk of myocardial infarction in 6,928 cases and 2,712 controls in the ISIS case-control study.
PLoS Genet. 2 (2006) e107.

25. Clarke R., Peden J.F., Hopewell J.C., Kyriakou T., Goel A., Heath S.C., Parish S., Barlera S., Franzosi M.G., Rust S., Bennett D., Silveira A., Malarstig A., Green F.R., Lathrop M., Gigante B., Leander K., de Faire U., Seedorf U., Hamsten A., Collins R., Watkins H. & Farrall M.
Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease.
New Engl. J. Med. 361 (2009) S.2518–2528.

26. Colombo M.G., Andreassi M.G., Paradossi U., Botto N., Manfredi S., Masetti S., Rossi G., Clerico A. & Biagini A.
Evidence for association of a common variant of the endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298-->Asp polymorphism) to the presence, extent, and severity of coronary artery disease.
Heart 87 (2002) S.525–528.

27. Consigny P.M.
Pathogenesis of atherosclerosis.
Am. J. Roentgenol. 164 (1995) S.553–558.

28. Cox R.A. & García-Palmieri M.
Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins
In: „Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations“
Walker H.K., Hall W.D. & Hurst J.W. (Hrsg.)
Third Edition
Butterworths, Boston, 1990, S. 153-160.

29. Danesh J., Collins R. & Peto R.
Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies.
Circulation 102 (2000) S.1082–1085.

30. Dangas G., Mehran R., Harpel P.C., Sharma S.K., Marcovina S.M., Dube G., Ambrose J.A. & Fallon J.T.
Lipoprotein(a) and inflammation in human coronary atheroma: association with the severity of clinical presentation.
J. Am. Coll. Cardiol. 32 (1998) S.2035–2042.
31. Dawber T., Moore F. & Mann G.
Coronary heart disease in the Framingham study.
Am. J. Public Health Nations Health 47 (1957) S.4–24.
32. Dawber T. & Kannel W.
The Framingham study. An epidemiological approach to coronary heart disease.
Circulation 34 (1966) S.553–555.
33. Dumitrescu L., Glenn K., Brown-Gentry K., Shephard C., Wong M., Rieder M.J., Smith J.D., Nickerson D.A. & Crawford D.C.
Variation in LPA is associated with Lp(a) levels in three populations from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.
PLoS One 6 (2011) e16604.
34. Edelberg J.M., Gonzalez-Gronow M. & Pizzo S.V.
Lipoprotein(a) inhibition of plasminogen activation by tissue-type plasminogen activator.
Thromb. Res. 57 (1990) S.155–162.
35. Ergin A., Muntner P., Sherwin R. & He J.
Secular trends in cardiovascular disease mortality, incidence, and case fatality rates in adults in the United States.
Am. J. Med. 117 (2004) S.219–227.
36. Erqou S., Kaptoge S., Perry P.L., Di Angelantonio E., Thompson A., White I.R., Marcovina S.M., Collins R., Thompson S.G. & Danesh J.
Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality.
JAMA 302 (2009) S.412–423.
37. Erqou S., Thompson A., Di Angelantonio E., Saleheen D., Kaptoge S., Marcovina S. & Danesh J.
Apolipoprotein(a) isoforms and the risk of vascular disease: systematic review of 40 studies involving 58,000 participants.
J. Am. Coll. Cardiol. 55 (2010) S.2160–2167.

38. Fox C.S., Evans J.C., Larson M.G., Kannel W.B. & Levy D.
Temporal trends in coronary heart disease mortality and sudden cardiac death from 1950 to 1999: the Framingham Heart Study.
Circulation 110 (2004) S.522–527.
39. Frazer K.A., Ballinger D.G., Cox D.R., Hinds D.A., Stuve L.L., Gibbs R.A., Belmont J.W., Boudreau A., Hardenbol P., Leal S.M., Pasternak S., Wheeler D.A., Willis T.D., Yu F., Yang H., Zeng C., Gao Y., Hu H., Hu W., Li C., Lin W., Liu S., Pan H., Tang X., Wang J., Wang W., Yu J., Zhang B., Zhang Q., Zhao Hongbin, Zhao Hui, Zhou J., Gabriel S.B., Barry R., Blumenstiel B., Camargo A., Defelice M., Faggart M., Goyette M., Gupta S., Moore J., Nguyen H., Onofrio R.C., Parkin M., Roy J., Stahl E., Winchester E., Ziaugra L., Altshuler D., Shen Yan, Yao Z., Huang W., Chu X., He Y., Jin L., Liu Y., Shen Yayun, Sun W., Wang Haifeng, Wang Yi, Wang Ying, Xiong X., Xu L., Wayne M.M.Y., Tsui S.K.W., Xue H., Wong J.T.-F., Galver L.M., Fan J.-B., Gunderson K., Murray S.S., Oliphant A.R., Chee M.S., Montpetit A., Chagnon F., Ferretti V., Leboeuf M., Olivier J.-F., Phillips M.S., Roumy S., Sallée C., Verner A., Hudson T.J., Kwok P.-Y., Cai D., Koboldt D.C., Miller R.D., Pawlikowska L., Taillon-Miller P., Xiao M., Tsui L.-C., Mak W., Song Y.Q., Tam P.K.H., Nakamura Y., Kawaguchi T., Kitamoto T., Morizono T., Nagashima A., Ohnishi Y., Sekine A., Tanaka T., Tsunoda T., Deloukas P., Bird C.P., Delgado M., Dermitzakis E.T., Gwilliam R., Hunt S., Morrison J., Powell D., Stranger B.E., Whittaker P., Bentley D.R., Daly M.J., de Bakker P.I.W., Barrett J., Chretien Y.R., Maller J., McCarroll S., Patterson N., Pe'er I., Price A., Purcell S., Richter D.J., Sabeti P., Saxena R., Schaffner S.F., Sham P.C., Varilly P., Altshuler D., Stein L.D., Krishnan L., Smith A.V., Tello-Ruiz M.K., Thorisson G.A., Chakravarti A., Chen P.E., Cutler D.J., Kashuk C.S., Lin S., Abecasis G.R., Guan W., Li Y., Munro H.M., Qin Z.S., Thomas D.J., McVean G., Auton A., Bottolo L., Cardin N., Eyheramendy S., Freeman C., Marchini J., Myers S., Spencer C., Stephens M., Donnelly P., Cardon L.R., Clarke G., Evans D.M., Morris A.P., Weir B.S., Tsunoda T., Mullikin J.C., Sherry S.T., Feolo M., Skol A., Zhang H., Zeng C., Zhao Hui, Matsuda I., Fukushima Y., Macer D.R., Suda E., Rotimi C.N., Adebamowo C.A., Ajayi I., Aniagwu T., Marshall P.A., Nkwodimmah C., Royal C.D.M., Leppert M.F., Dixon M., Peiffer A., Qiu R., Kent A., Kato K., Niikawa N., Adewole I.F., Knoppers B.M., Foster M.W., Clayton E.W., Watkin J., Gibbs R.A., Belmont J.W., Muzny D., Nazareth L., Sodergren E., Weinstock G.M., Wheeler D.A., Yakub I., Gabriel S.B., Onofrio R.C., Richter D.J., Ziaugra L., Birren B.W., Daly M.J., Altshuler D., Wilson R.K., Fulton L.L., Rogers J., Burton J., Carter N.P., Clee C.M., Griffiths M., Jones M.C., McLay K., Plumb R.W., Ross M.T., Sims S.K., Willey D.L., Chen Z., Han H., Kang L., Godbout M., Wallenburg J.C., L'Archevêque P., Bellemare G., Saeki K., Wang Hongguang, An D., Fu H., Li Q., Wang Z., Wang R., Holden A.L., Brooks L.D., McEwen J.E., Guyer M.S., Wang V.O.,

- Peterson J.L., Shi M., Spiegel J., Sung L.M., Zacharia L.F., Collins F.S., Kennedy K., Jamieson R. & Stewart J.
A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs.
Nature 449 (2007) S.851–861.
40. Furman M.I., Dauerman H.L., Goldberg R.J., Yarzebski J., Lessard D. & Gore J.M.
Twenty-two year (1975 to 1997) trends in the incidence, in-hospital and long-term case fatality rates from initial Q-wave and non-Q-wave myocardial infarction: a multi-hospital, community-wide perspective.
J. Am. Coll. Cardiol. 37 (2001) S.1571–1580.
 41. Gaunt T.R., Rodriguez S., Zapata C. & Day I.N.M.
MIDAS: software for analysis and visualisation of interallelic disequilibrium between multiallelic markers.
BMC Bioinformatics 7 (2006) S.227.
 42. Gerhard G.T. & Duell P.B.
Homocysteine and atherosclerosis.
Curr. Opin. Lipidol. 10 (1999) S.417–428.
 43. Gimbrone M.A. Jr.
Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis.
Am. J. Pathol. 155 (1999) S.1–5.
 44. Gould K.L.
Quantification of coronary artery stenosis in vivo.
Circ. Res. 57 (1985) S.341–353.
 45. Grech E.D. & Ramsdale D.R.
Acute coronary syndrome: unstable angina and non-ST segment elevation myocardial infarction.
BMJ 326 (2003) S.1259–1261.
 46. Gründemann D., Schechinger B., Rappold G.A. & Schömig E.
Molecular identification of the corticosterone-sensitive extraneuronal catecholamine transporter.
Nat. Neurosci. 1 (1998) S.349–351.
 47. Gründemann D., Liebich G., Kiefer N., Köster S. & Schömig E.
Selective substrates for non-neuronal monoamine transporters.
Mol. Pharmacol. 56 (1999) S.1–10.

48. Gründemann D. & Schömig E.
Gene structures of the human non-neuronal monoamine transporters EMT and OCT2.
Hum. Genet. 106 (2000) S.627–635.
49. Hancock M.A., Boffa M.B., Marcovina S.M., Nesheim M.E. & Koschinsky M.L.
Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein(a): critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces.
J. Biol. Chem. 278 (2003) S.23260–23269.
50. Hardoon S.L., Whincup P.H., Lennon L.T., Wannamethee S.G., Capewell S. & Morris R.W.
How much of the recent decline in the incidence of myocardial infarction in British men can be explained by changes in cardiovascular risk factors? Evidence from a prospective population-based study.
Circulation 117 (2008) S.598–604.
51. Heitzer T., Ylä-Herttuala S., Luoma J., Kurz S., Münzel T., Just H., Olschewski M. & Drexler H.
Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. Role of oxidized LDL.
Circulation 93 (1996) S.1346–1353.
52. Hennekens C.H., Sechenova O., Hollar D. & Serebruany V.L.
Dose of aspirin in the treatment and prevention of cardiovascular disease: current and future directions.
J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther. 11 (2006) S.170–176.
53. Herold G.
Innere Medizin
Gerd Herold, Köln, 2011
54. Hingorani A.D., Liang C.F., Fatibene J., Lyon A., Monteith S., Parsons A., Haydock S., Hopper R.V., Stephens N.G., O’Shaughnessy K.M. & Brown M.J.
A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK.
Circulation 100 (1999) S.1515–1520.
55. Hirschhorn J.N. & Daly M.J.
Genome-wide association studies for common diseases and complex traits.
Nat. Rev. Genet. 6 (2005) S.95–108.

56. Hofmann S.L., Eaton D.L., Brown M.S., McConathy W.J., Goldstein J.L. & Hammer R.E.
Overexpression of human low density lipoprotein receptors leads to accelerated catabolism of Lp(a) lipoprotein in transgenic mice.
J. Clin. Invest. 85 (1990) S.1542–1547.
57. Holmer S.R., Hengstenberg C., Kraft H.-G., Mayer B., Pöll M., Kürzinger S., Fischer M., Löwel H., Klein G., Riegger G.A.J. & Schunkert H.
Association of polymorphisms of the apolipoprotein(a) gene with lipoprotein(a) levels and myocardial infarction.
Circulation 107 (2003) S.696–701.
58. Hoover-Plow J., Hart E., Gong Y., Shchurin A. & Schneeman T.
A physiological function for apolipoprotein(a): a natural regulator of the inflammatory response.
Exp. Biol. Med. 234 (2009) S.28–34.
59. Hopewell J.C., Clarke R., Parish S., Armitage J., Lathrop M., Hager J. & Collins R.
Lipoprotein(a) genetic variants associated with coronary and peripheral vascular disease but not with stroke risk in the Heart Protection Study.
Circ. Cardiovasc. Genet. 4 (2011) S.68–73.
60. Jorde L.B. & Wooding S.P.
Genetic variation, classification and “race.”
Nat. Genet. 36 (2004) S.S28–33.
61. Kamstrup P.R., Tybjaerg-Hansen A., Steffensen R. & Nordestgaard B.G.
Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction.
JAMA 301 (2009) S.2331–2339.
62. Koch W., Mueller J.C., Schrempf M., Wolferstetter H., Kirchhofer J., Schömig A. & Kastrati A.
Two rare variants explain association with acute myocardial infarction in an extended genomic region including the apolipoprotein(a) gene.
Ann. Hum Genet. 77 (2013) S.47–55.
63. De Kok J.B., Wiegerinck E.T.G., Giesendorf B.A.J. & Swinkels D.W.
Rapid genotyping of single nucleotide polymorphisms using novel minor groove binding DNA oligonucleotides (MGB probes).
Hum. Mutat. 19 (2002) S.554–559.

64. Kraft H.G., Lingenhel A., Köchl S., Hoppichler F., Kronenberg F., Abe A., Mühlberger V., Schönitzer D. & Utermann G.
Apolipoprotein(a) kringle IV repeat number predicts risk for coronary heart disease.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 16 (1996) S.713–719.
65. Kronenberg F., Kronenberg M.F., Kiechl S., Trenkwalder E., Santer P., Oberhollenzer F., Egger G., Utermann G. & Willeit J.
Role of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotype in atherogenesis: prospective results from the Bruneck study.
Circulation 100 (1999) S.1154–1160.
66. Kutuyavin I.V., Afonina I.A., Mills A., Gorn V.V., Lukhtanov E.A., Belousov E.S., Singer M.J., Walburger D.K., Lokhov S.G., Gall A.A., Dempcy R., Reed M.W., Meyer R.B. & Hedgpeth J.
3'-minor groove binder-DNA probes increase sequence specificity at PCR extension temperatures.
Nucleic Acids Res. 28 (2000) S.655–661.
67. Lackner C., Cohen J.C. & Hobbs H.H.
Molecular definition of the extreme size polymorphism in apolipoprotein(a).
Hum. Mol. Genet. 2 (1993) S.933–940.
68. Lakowicz J.R.
Quenching of Fluorescence
In: „Principles of Fluorescence Spectroscopy“
Lakowicz J.R. (Hrsg.)
Third Edition
Springer Science Business Media, New York, 2006, S. 277-330.
69. Li Y., Luke M.M., Shiffman D. & Devlin J.J.
Genetic variants in the apolipoprotein(a) gene and coronary heart disease.
Circ. Cardiovas. Genet. 4 (2011) S.565–573.
70. Libby P., Geng Y.J., Aikawa M., Schoenbeck U., Mach F., Clinton S.K., Sukhova G.K. & Lee R.T.
Macrophages and atherosclerotic plaque stability.
Curr. Opin. Lipidol. 7 (1996) S.330–335.
71. Livak K.J.
Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay.
Genet. Anal. 14 (1999) S.143–149.

72. Lloyd-Jones D., Adams R.J., Brown T.M., Carnethon M., Dai S., De Simone G., Ferguson T.B., Ford E., Furie K., Gillespie C., Go A., Greenlund K., Haase N., Hailpern S., Ho P.M., Howard V., Kissela B., Kittner S., Lackland D., Lisabeth L., Marelli A., McDermott M.M., Meigs J., Mozaffarian D., Mussolino M., Nichol G., Roger V.L., Rosamond W., Sacco R., Sorlie P., Stafford R., Thom T., Wasserthiel-Smoller S., Wong N.D. & Wylie-Rosett J.
Executive summary: heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association.
Circulation 121 (2010) S.948–954.
73. Lopez A.D., Mathers C.D., Ezzati M., Jamison D.T. & Murray C.J.L.
Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data.
Lancet 367 (2006) S.1747–1757.
74. Loscalzo J., Weinfeld M., Fless G.M. & Scanu A.M.
Lipoprotein(a), fibrin binding, and plasminogen activation.
Arteriosclerosis 10 (1990) S.240–245.
75. Luke M.M., Kane J.P., Liu D.M., Rowland C.M., Shiffman D., Cassano J., Catanese J.J., Pullinger C.R., Leong D.U., Arellano A.R., Tong C.H., Movsesyan I., Naya-Vigne J., Noordhof C., Feric N.T., Malloy M.J., Topol E.J., Koschinsky M.L., Devlin J.J. & Ellis S.G.
A polymorphism in the protease-like domain of apolipoprotein(a) is associated with severe coronary artery disease.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 27 (2007) S.2030–2036.
76. Lusis A.J.
Atherosclerosis.
Nature 407 (2000) S.233–241.
77. Manolio T.A.
Genomewide association studies and assessment of the risk of disease.
New Engl. J. Med. 363 (2010) S.166–176.
78. Marcovina S.M. & Koschinsky M.L.
Evaluation of lipoprotein(a) as a prothrombotic factor: progress from bench to bedside.
Curr. Opin. Lipidol. 14 (2003) S.361–366.

79. McGovern P.G., Pankow J.S., Shahar E., Doliszny K.M., Folsom A.R., Blackburn H. & Luepker R.V.
Recent trends in acute coronary heart disease--mortality, morbidity, medical care, and risk factors. The Minnesota Heart Survey Investigators.
New Engl. J. Med. 334 (1996) S.884–890.
80. McLean J.W., Tomlinson J.E., Kuang W.J., Eaton D.L., Chen E.Y., Fless G.M., Scanu A.M. & Lawn R.M.
cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen.
Nature 330 (1987) S.132–137.
81. Navab M., Berliner J.A., Watson A.D., Hama S.Y., Territo M.C., Lusis A.J., Shih D.M., Van Lenten B.J., Frank J.S., Demer L.L., Edwards P.A. & Fogelman A.M.
The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 16 (1996) S.831–842.
82. Nishio E. & Watanabe Y.
Cigarette smoke extract inhibits plasma paraoxonase activity by modification of the enzyme's free thiols.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 236 (1997) S.289–293.
83. Nordestgaard B.G., Chapman M.J., Ray K., Borén J., Andreotti F., Watts G.F., Ginsberg H., Amarenco P., Catapano A., Descamps O.S., Fisher E., Kovanen P.T., Kuivenhoven J.A., Lesnik P., Masana L., Reiner Z., Taskinen M.-R., Tokgözoğlu L. & Tybjaerg-Hansen A.
Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status.
Eur. Heart J. 31 (2010) S.2844–2853.
84. Ott I., Koch W., von Beckerath N., de Waha R., Malawaniec A., Mehilli J., Schömig A. & Kastrati A.
Tissue factor promotor polymorphism -603 A/G is associated with myocardial infarction.
Atherosclerosis 177 (2004) S.189–191.
85. Pääbo S.
The mosaic that is our genome.
Nature 421 (2003) S.409–412.

86. Parikh N.I., Gona P., Larson M.G., Fox C.S., Benjamin E.J., Murabito J.M., O'Donnell C.J., Vasan R.S. & Levy D.
Long-term trends in myocardial infarction incidence and case fatality in the National Heart, Lung, and Blood Institute's Framingham Heart study.
Circulation 119 (2009) S.1203–1210.
87. Podrez E.A., Febbraio M., Sheibani N., Schmitt D., Silverstein R.L., Hajjar D.P., Cohen P.A., Frazier W.A., Hoff H.F. & Hazen S.L.
Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species.
J. Clin. Invest. 105 (2000) S.1095–1108.
88. Preis S.R., Hwang S.-J., Coady S., Pencina M.J., D'Agostino R.B. Sr, Savage P.J., Levy D. & Fox C.S.
Trends in all-cause and cardiovascular disease mortality among women and men with and without diabetes mellitus in the Framingham Heart Study, 1950 to 2005.
Circulation 119 (2009) S.1728–1735.
89. PROCARDIS Consortium.
A trio family study showing association of the lymphotoxin-alpha N26 (804A) allele with coronary artery disease.
Eur. J. Hum. Genet. 12 (2004) S.770–774.
90. Qi Q., Workalemahu T., Zhang C., Hu F.B. & Qi L.
Genetic variants, plasma lipoprotein(a) levels, and risk of cardiovascular morbidity and mortality among two prospective cohorts of type 2 diabetes.
Eur. Heart J. 33 (2012) S.325–334.
91. Rader D.J., Hoeg J.M. & Brewer H.B. Jr.
Quantitation of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease.
Ann. Intern. Med. 120 (1994) S.1012–1025.
92. Rader D.J., Mann W.A., Cain W., Kraft H.G., Usher D., Zech L.A., Hoeg J.M., Davignon J., Lupien P. & Grossman M.
The low density lipoprotein receptor is not required for normal catabolism of Lp(a) in humans.
J. Clin. Invest. 95 (1995) S.1403–1408.

93. Reich D.E., Cargill M., Bolk S., Ireland J., Sabeti P.C., Richter D.J., Lavery T., Kouyoumjian R., Farhadian S.F., Ward R. & Lander E.S.
Linkage disequilibrium in the human genome.
Nature 411 (2001) S.199–204.
94. Renz-Polster H., Krautzig S. & Braun J.
Basislehrbuch Innere Medizin
4. Auflage
Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München, 2008
95. Reuterwall C., Hallqvist J., Ahlbom A., De Faire U., Diderichsen F., Hogstedt C., Pershagen G., Theorell T., Wiman B. & Wolk A.
Higher relative, but lower absolute risks of myocardial infarction in women than in men: analysis of some major risk factors in the SHEEP study. The SHEEP Study Group.
J. Intern. Med. 246 (1999) S.161–174.
96. Roger V.L., Weston S.A., Gerber Y., Killian J.M., Dunlay S.M., Jaffe A.S., Bell M.R., Kors J., Yawn B.P. & Jacobsen S.J.
Trends in incidence, severity, and outcome of hospitalized myocardial infarction.
Circulation 121 (2010) S.863–869.
97. Rogers W.J., Frederick P.D., Stoehr E., Canto J.G., Ornato J.P., Gibson C.M., Pollack C.V. Jr, Gore J.M., Chandra-Strobos N., Peterson E.D. & French W.J.
Trends in presenting characteristics and hospital mortality among patients with ST elevation and non-ST elevation myocardial infarction in the National Registry of Myocardial Infarction from 1990 to 2006.
Am. Heart J. 156 (2008) S.1026–1034.
98. Ronald J., Rajagopalan R., Cerrato F., Nord A.S., Hatsukami T., Kohler T., Marcovina S., Heagerty P. & Jarvik G.P.
Genetic variation in LPAL2, LPA, and PLG predicts plasma lipoprotein(a) level and carotid artery disease risk.
Stroke 42 (2011) S.2–9.
99. Rosamond W.D., Chambless L.E., Folsom A.R., Cooper L.S., Conwill D.E., Clegg L., Wang C.H. & Heiss G. Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. *The New Engl. J. Med.* 339 (1998) S.861–867.

100. Rosenson R.S., Brewer H.B. Jr, Davidson W.S., Fayad Z.A., Fuster V., Goldstein J., Hellerstein M., Jiang X.-C., Phillips M.C., Rader D.J., Remaley A.T., Rothblat G.H., Tall A.R. & Yvan-Charvet L.
Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport.
Circulation 125 (2012) S.1905–1919.
101. Ross R.
The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s.
Nature 362 (1993) S.801–809.
102. Ross R.
Atherosclerosis-an inflammatory disease.
New Engl. J. Med. 340 (1999) S.115–126.
103. Samani N.J., Erdmann J., Hall A.S., Hengstenberg C., Mangino M., Mayer B., Dixon R.J., Meitinger T., Braund P., Wichmann H.-E., Barrett J.H., König I.R., Stevens S.E., Szymczak S., Tregouet D.-A., Iles M.M., Pahlke F., Pollard H., Lieb W., Cambien F., Fischer M., Ouwehand W., Blankenberg S., Balmforth A.J., Baessler A., Ball S.G., Strom T.M., Braenne I., Gieger C., Deloukas P., Tobin M.D., Ziegler A., Thompson J.R., Schunkert H. & WTCCC and the Cardiogenics Consortium.
Genomewide association analysis of coronary artery disease.
New Engl. J. Med. 357 (2007) S.443–453.
104. Samnegård A., Silveira A., Lundman P., Boquist S., Odeberg J., Hulthe J., McPheat W., Tornvall P., Bergstrand L., Ericsson C.-G., Hamsten A. & Eriksson P.
Serum matrix metalloproteinase-3 concentration is influenced by MMP-3 -1612 5A/6A promoter genotype and associated with myocardial infarction.
J. Intern. Med. 258 (2005) S.411–419.
105. Schaefer E.J., Lamon-Fava S., Jenner J.L., McNamara J.R., Ordovas J.M., Davis C.E., Abolafia J.M., Lippel K. & Levy R.I.
Lipoprotein(a) levels and risk of coronary heart disease in men. The lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial.
JAMA 271 (1994) S.999–1003.
106. Schunkert H., König I.R., Kathiresan S., Reilly M.P., Assimes T.L., Holm H., Preuss M., Stewart A.F.R., Barbalic M., Gieger C., Absher D., Aherrahrou Z., Allayee H., Altshuler D., Anand S.S., Andersen K., Anderson J.L., Ardissino D., Ball S.G., Balmforth A.J., Barnes T.A., Becker D.M., Becker L.C., Berger K., Bis J.C., Boekholdt S.M., Boerwinkle E., Braund P.S., Brown M.J., Burnett M.S., Buyschaert I., Carlquist J.F., Chen L., Cichon S., Codd V., Davies

R.W., Dedoussis G., Dehghan A., Demissie S., Devaney J.M., Diemert P., Do R., Doering A., Eifert S., Mokhtari N.E.E., Ellis S.G., Elosua R., Engert J.C., Epstein S.E., de Faire U., Fischer M., Folsom A.R., Freyer J., Gigante B., Girelli D., Gretarsdottir S., Gudnason V., Gulcher J.R., Halperin E., Hammond N., Hazen S.L., Hofman A., Horne B.D., Illig T., Iribarren C., Jones G.T., Jukema J.W., Kaiser M.A., Kaplan L.M., Kastelein J.J.P., Khaw K.-T., Knowles J.W., Kolovou G., Kong A., Laaksonen R., Lambrechts D., Leander K., Lettre G., Li M., Lieb W., Loley C., Lotery A.J., Mannucci P.M., Maouche S., Martinelli N., McKeown P.P., Meisinger C., Meitinger T., Melander O., Merlini P.A., Mooser V., Morgan T., Mühleisen T.W., Muhlestein J.B., Münzel T., Musunuru K., Nahrstaedt J., Nelson C.P., Nöthen M.M., Olivieri O., Patel R.S., Patterson C.C., Peters A., Peyvandi F., Qu L., Quyyumi A.A., Rader D.J., Rallidis L.S., Rice C., Rosendaal F.R., Rubin D., Salomaa V., Sampietro M.L., Sandhu M.S., Schadt E., Schäfer A., Schillert A., Schreiber S., Schrezenmeir J., Schwartz S.M., Siscovick D.S., Sivananthan M., Sivapalaratnam S., Smith A., Smith T.B., Snoop J.D., Soranzo N., Spertus J.A., Stark K., Stirrups K., Stoll M., Tang W.H.W., Tennstedt S., Thorgeirsson G., Thorleifsson G., Tomaszewski M., Uitterlinden A.G., van Rij A.M., Voight B.F., Wareham N.J., Wells G.A., Wichmann H.-E., Wild P.S., Willenborg C., Witteman J.C.M., Wright B.J., Ye S., Zeller T., Ziegler A., Cambien F., Goodall A.H., Cupples L.A., Quertermous T., März W., Hengstenberg C., Blankenberg S., Ouwehand W.H., Hall A.S., Deloukas P., Thompson J.R., Stefansson K., Roberts R., Thorsteinsdottir U., O'Donnell C.J., McPherson R., Erdmann J. & Samani N.J. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease.

Nat. Genet. 43 (2011) S.333–338.

107. Shah P.K., Kaul S., Nilsson J. & Cercek B.

Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming, part I.

Circulation 104 (2001) S.2376–2383.

108. Shiffman D., O'Meara E.S., Bare L.A., Rowland C.M., Louie J.Z., Arellano A.R., Lumley T., Rice K., Iakoubova O., Luke M.M., Young B.A., Malloy M.J., Kane J.P., Ellis S.G., Tracy R.P., Devlin J.J. & Psaty B.M.

Association of gene variants with incident myocardial infarction in the Cardiovascular Health Study.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 28 (2008) S.173–179.

109. Shiffman D., Louie J.Z., Rowland C.M., Malloy M.J., Kane J.P. & Devlin J.J. Single variants can explain the association between coronary heart disease and haplotypes in the apolipoprotein(a) locus.

Atherosclerosis 212 (2010) S.193–196.

110. Shih D.M., Xia Y.R., Wang X.P., Miller E., Castellani L.W., Subbanagounder G., Cheroutre H., Faull K.F., Berliner J.A., Witztum J.L. & Lusis A.J.
Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis.
J. Biol. Chem. 275 (2000) S.17527–17535.
111. Skålen K., Gustafsson M., Rydberg E.K., Hultén L.M., Wiklund O., Innerarity T.L. & Borén J.
Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis.
Nature 417 (2002) S.750–754.
112. Smith J.D., Trogan E., Ginsberg M., Grigaux C., Tian J. & Miyata M.
Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92 (1995) S.8264–8268.
113. Smolders B., Lemmens R. & Thijs V.
Lipoprotein (a) and stroke: a meta-analysis of observational studies.
Stroke 38 (2007) S.1959–1966.
114. Stephens M., Smith N.J. & Donnelly P.
A new statistical method for haplotype reconstruction from population data.
Am. J. Hum. Genet. 68 (2001) S.978–989.
115. Steyrer E., Durovic S., Frank S., Giessauf W., Burger A., Dieplinger H., Zechner R. & Kostner G.M.
The role of lecithin: cholesterol acyltransferase for lipoprotein (a) assembly. Structural integrity of low density lipoproteins is a prerequisite for Lp(a) formation in human plasma.
J. Clin. Invest. 94 (1994) S.2330–2340.
116. Stocker R. & Keaney J.F. Jr.
Role of oxidative modifications in atherosclerosis.
Physiol. Rev. 84 (2004) S.1381–1478.
117. Takami S., Yamashita S., Kihara S., Ishigami M., Takemura K., Kume N., Kita T. & Matsuzawa Y.
Lipoprotein(a) enhances the expression of intercellular adhesion molecule-1 in cultured human umbilical vein endothelial cells.
Circulation 97 (1998) S.721–728.

118. Tall A.R.
Plasma high density lipoproteins. Metabolism and relationship to atherogenesis.
J. Clin. Invest. 86 (1990) S.379–384.
119. Tegos T.J., Kalodiki E., Sabetai M.M. & Nicolaides A.N.
The genesis of atherosclerosis and risk factors: a review.
Angiology 52 (2001) S.89–98.
120. The International HapMap Consortium.
The International HapMap Project.
Nature 426 (2003) S.789–796.
121. Topol E.J.
The genetics of heart attack.
Heart 92 (2006) S.855–861.
122. Topper J.N., Cai J., Falb D. & Gimbrone M.A. Jr.
Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1996) S.10417–10422.
123. Topper J.N. & Gimbrone M.A. Jr.
Blood flow and vascular gene expression: fluid shear stress as a modulator of endothelial phenotype.
Mol. Med. Today 5 (1999) S.40–46.
124. Trégouët D.-A., König I.R., Erdmann J., Munteanu A., Braund P.S., Hall A.S., Grosshennig A., Linsel-Nitschke P., Perret C., DeSuremain M., Meitinger T., Wright B.J., Preuss M., Balmforth A.J., Ball S.G., Meisinger C., Germain C., Evans A., Arveiler D., Luc G., Ruidavets J.-B., Morrison C., van der Harst P., Schreiber S., Neureuther K., Schäfer A., Bugert P., El Mokhtari N.E., Schrezenmeir J., Stark K., Rubin D., Wichmann H.-E., Hengstenberg C., Ouwehand W., Ziegler A., Tiret L., Thompson J.R., Cambien F., Schunkert H. & Samani N.J.
Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease.
Nat. Genet. 41 (2009) S.283–285.
125. Utermann G.
The mysteries of lipoprotein(a).
Science 246 (1989) S.904–910.

126. Valentine R.J., Grayburn P.A., Vega G.L. & Grundy S.M.
Lp(a) lipoprotein is an independent, discriminating risk factor for premature peripheral atherosclerosis among white men.
Arch. Intern. Med. 154 (1994) S.801–806.
127. Vialou V., Amphoux A., Zwart R., Giros B. & Gautron S.
Organic cation transporter 3 (Slc22a3) is implicated in salt-intake regulation.
J. Neurosci. 24 (2004) S.2846–2851.
128. De Villiers W.J. & Smart E.J.
Macrophage scavenger receptors and foam cell formation.
J. Leukoc. Biol. 66 (1999) S.740–746.
129. WHO.
Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group.
World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 727 (1985) S.1–113.
130. Wittrup H.H., Tybjaerg-Hansen A., Abildgaard S., Steffensen R., Schnohr P. & Nordestgaard B.G.
A common substitution (Asn291Ser) in lipoprotein lipase is associated with increased risk of ischemic heart disease.
J. Clin. Invest. 99 (1997) S.1606–1613.
131. Wittrup H.H., Tybjaerg-Hansen A. & Nordestgaard B.G.
Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis.
Circulation 99 (1999) S.2901–2907.
132. Yeghiazarians Y., Braunstein J.B., Askari A. & Stone P.H.
Unstable angina pectoris.
New Engl. J. Med. 342 (2000) S.101–114.
133. Zaykin D.V., Westfall P.H., Young S.S., Karnoub M.A., Wagner M.J. & Ehm M.G.
Testing association of statistically inferred haplotypes with discrete and continuous traits in samples of unrelated individuals.
Hum. Hered. 53 (2002) S.79–91.

134. Zhang K., Bai P., Shi S., Zhou B., Wang Y., Song Y., Rao L. & Zhang L.
The G894T polymorphism on endothelial nitric oxide synthase gene is associated with increased coronary heart disease among Asia population: evidence from a Meta analysis.
Thromb. Res. 130 (2012) S.192–197.

135. Ziegler A. & König I.R.
A Statistical Approach to Genetic Epidemiology: Concepts and Applications
Second Edition
Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2010

Internetquellen

1. <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>
International HapMap Project, 2013.
Stand: 09.03.2013
2. <http://www.ensembl.org/index.html>
Ensembl Genome Browser, 2012.
Stand: 13.10.2012
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>
Gene Homepage. National Center for Biotechnology Information, U.S.
National Library of Medicine, 2012
Stand: 20.01.2012
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
dbSNP Homepage. National Center for Biotechnology Information, U.S.
National Library of Medicine, 2012.
Stand: 11.12.2012
5. http://www.nhlbi.nih.gov/resources/docs/2009_ChartBook.pdf
Morbidity & Mortality: 2009 Chart Book on Cardiovascular, Lung, and Blood
Diseases. National Institutes of Health, 2009.
Stand: 13.01.2013
6. <http://www.timi.org/wp-content/uploads/2010/10/TIMI-Definitions.pdf>
TIMI Definitions for Commonly Used Terms in Clinical Trials. TIMI Study
Group, 2013. An Academic Research Organization of Brigham and Woman's
Hospital and Havard Medical School.
Stand: 13.01.2013
7. <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>
World Medical Association Declaration of Helsinki - Ethical Principles for
Medical Research Involving Human Subjects. World Medical Association, Inc.,
2013.
Stand: 17.08.2013
8. www.destatis.de
> Zahlen und Fakten > Gesundheit > Todesursachen > Tabellen
Statistisches Bundesamt, Wiesbaden 2012.
Stand: 25.07.2012

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Risikofaktoren für Atherosklerose und die KHK (nach Lusic 2000).....	10
Tabelle 2: Apolipoproteine und ihre Funktionen (modifiziert nach Rader et al. 1994)	16
Tabelle 3: Die häufigsten Haplotypen in der <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion in der Arbeit von Trégouët et al. (2009).....	24
Tabelle 4: Fluoreszenzeigenschaften der verwendeten Reporter-moleküle	30
Tabelle 5: Übersicht über die verwendeten Primer und Sonden.....	32
Tabelle 6: Zusammensetzung einer Lösung (1500µl) für 100 TaqMan-Reaktionen .	33
Tabelle 7: Charakteristika von AMI- und Kontrollgruppe	37
Tabelle 8: Verteilung der Genotypen in AMI- und Kontrollgruppe.....	42
Tabelle 9: Allelhäufigkeit und Risikoabschätzung.....	44
Tabelle 10: Häufigkeit und Risikoschätzung der Haplotypen (mit einer Frequenz > 1%)	50
Tabelle 11: Assoziation des SNP rs2048327 mit der KHK in der Arbeit von Trégouët et al. (2009)	59
Tabelle 12: Allelhäufigkeiten und Risikoschätzungen der erweiterten Analyse	69
Tabelle 13: Haplotypen und assoziiertes AMI-Risiko in der erweiterten Haplotypanalyse	72

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die TaqMan-Methode	29
Abbildung 2: Anzeige der Positivkontrollen und Negativkontrollen	39
Abbildung 3: Typisches Genotypisierungsergebnis einer 96-Loch-Platte	40
Abbildung 4: Position der untersuchten SNPs in der <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> - Genregion	41
Abbildung 5: Allelfrequenzen des SNP rs2048327	45
Abbildung 6: Allelfrequenzen des SNP rs3127599	46
Abbildung 7: Allelfrequenzen des SNP rs3798220	47
Abbildung 8: Allelfrequenzen des SNP rs7767084	47
Abbildung 9: Allelfrequenzen des SNP rs10755578	48
Abbildung 10: Allelfrequenzen des SNP rs10455872	49
Abbildung 11: Positionen der untersuchten SNPs der erweiterten Haplotyp- analyse in der <i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i> -Genregion	68
Abbildung 12: Kopplungsungleichgewicht zwischen SNPs, dargestellt als D'-Werte	70
Abbildung 13: Kopplungsungleichgewicht zwischen SNPs, dargestellt als r ² -Werte	71

Publikation

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in folgendem Artikel publiziert:

Koch W., Mueller J.C., Schrepf M., Wolferstetter H., Kirchhofer J., Schömig A. & Kastrati A.

Two rare variants explain association with acute myocardial infarction in an extended genomic region including the apolipoprotein(a) gene.

Ann. Hum. Genet. 77 (2013) S.47–55.

Danksagung

Ich danke Herrn Univ.-Prof. Dr. med. H. Schunkert, Direktor der Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen am Deutschen Herzzentrum München des Freistaats Bayern, für die Möglichkeit die vorliegende Dissertation an seiner Klinik zu verfassen.

Für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Promotion möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. A. Kastrati bedanken.

Mein Dank gilt Herrn Dr. W. Koch für seine freundliche und geduldige Betreuung und methodische Beratung bei der Anfertigung der Dissertation.

Frau M. Eichinger, Frau C. Ganser, Herrn W. Latz sowie allen Mitarbeitern des Genanalyzelabors der Arbeitsgruppe *Interventionelle Kardiologie* des Deutschen Herzzentrums München möchte ich herzlich für die Unterstützung und wertvollen Ratschläge während des experimentellen Teils der Arbeit danken.