

Assoziation zwischen Homocystein, Homocystein-Genpolymorphismen und der Restenose nach koronarer Stentimplantation

Marc Burghartz

I. Medizinische Klinik und Poliklinik, Klinikum rechts der Isar,
Technische Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Schömig)

Assoziation zwischen Homocystein, Homocystein-Genpolymorphismen
und der Restenose nach koronarer Stentimplantation

Marc Burghartz

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. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. A. Kastrati
2. Priv.-Doz. Dr. H. H. E. Baum

Die Dissertation wurde am 14.11.2005 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 29.03.2006 angenommen.

Jeder hat in tiefstem Dank derer zu gedenken,
die Flammen in ihm entzündet haben.

Albert Einstein

Verzeichnis der Abkürzungen	6
1 Einleitung	
1.1 Koronare Herzerkrankung	7
1.2 Homocystein als Risikofaktor für Gefäßerkrankungen	7
1.3 Hyperhomocysteinämie	8
1.4 Biochemie und Metabolismus von Homocystein	10
1.5 Pathogene Mechanismen ausgelöst durch Homocystein	12
1.6 Koronare Stentimplantation	15
1.7 Thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation	16
1.8 Restenose nach Stentimplantation	17
1.9 Der MTHFR-Genpolymorphismus	19
1.10 Zielsetzung und Fragestellung	21
2 Methoden	
2.1 Patienten und antithrombotische Therapie	22
2.2 Definitionen	22
2.3 Studienendpunkte	24
2.4 Messung der Homocystein-, Folat- und Vitamin B12 Konzentrationen	24
2.5 Die TaqMan Methode	25
2.6 Bestimmung des MTHFR Genotyps mittels TaqMan Verfahren	27
2.7 Bestimmung der Genotypen mittels Restriktionsanalyse	29
2.8 Materialien und Geräte	30
2.9 Statistik	31
3 Ergebnisse	
3.1 Basale Charakteristika der Patienten in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma	32
3.2 Eigenschaften der Läsionen und der Interventionen in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma	33
3.3 Angiographische/ klinische Restenose in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma	35
3.4 Akute und und subakute thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma	36
3.5 Langfristiger klinischer Verlauf (1 Jahr) nach Stentimplantation in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma	37

3.6 Basale Charakteristika der Patienten in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus	37
3.7 Eigenschaften der Läsionen und der Interventionen in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus	39
3.8 Angiographische/ klinische Restenose in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus	40
3.9 Akute und und subakute thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus	42
3.10 Langfristiger klinischer Verlauf (1Jahr) nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus	42
3.11 Basale Charakteristika der Patienten in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus	43
3.12 Eigenschaften der Läsionen und der Interventionen in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus	44
3.13 Angiographische/ klinische Restenose in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus	46
3.14 Akute und und subakute thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus	47
3.15 Langfristiger klinischer Verlauf (1Jahr) nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus	48
4 Diskussion	
4.1 Die Ziele und Ergebnisse dieser Arbeit im Überblick	49
4.2 Thrombotische Frühkomplikationen in Bezug auf Homocysteinwerte und MTHFR-Genpolymorphismen	50
4.3 Homocysteinwerte und Restenose nach Koronarintervention	50
4.4 MTHFR-Genpolymorphismen und Restenose nach Koronarintervention	52
4.5 Beziehung zwischen MTHFR-Genpolymorphismen und Plasmahomocystein- und Plasmafolatkonzentrationen	53
4.6 Thrombotische Spätkomplikationen (Einjahresergebnis)	54
4.7 Stellenwert der Ergebnisse	55
5 Zusammenfassung	56
6 Literaturverzeichnis	58
Danksagung	75

Verzeichnis der Abkürzungen

AdoHCY	-S-Adenosylhomocystein
AdoMet	-S-Adenosylmethionin
AP	-alkalische Phosphatase
CBS	-Cystathionin-beta-Synthetase
CL	-Cystathionin-gamma-Lyase
CYS	-Cystathionin
ESRD	-End-Stage Renal Disease
FAD	-Flavin-Adenin-Dinukleotid
FGF	-fibroblast growth Faktor
GFR	-glomeruläre Filtrationsrate
HCY	-Homocystein
KHK	-koronare Herzkrankheit
LAD	-left anterior descending coronary artery
MCP-I	-Monocyte Chemoattractant Protein
MI	-Myokardinfarkt
MTHF	-Methylentetrahydrofolat
MTHFR	-Methylentetrahydrofolatreduktase
NO	-Stickstoffmonoxid
PCR	-Polymerasekettenreaktion
PDGF	-Platelet Derived Growth Faktor
PTCA	-perkutane transluminale Koronarangioplastie
SNP	-Single-Nucleotid-Polymorphismus

1 Einleitung

1.1 Koronare Herzerkrankung

Die koronare Herzerkrankung (KHK) ist eine Erkrankung, bei der durch eine Atherosklerose der Herzkranzgefäße ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch des Herzmuskels entsteht. Die KHK ist die häufigste Todesursache in den Ländern der westlichen Zivilisation. Der Anteil der Gesamtmortalität liegt bei bis zu 30 %.

An der Entstehung der koronaren Herzkrankheit sind mehrere Faktoren beteiligt. Zu den "klassischen" Risikofaktoren zählen die Hypercholesterinämie, Diabetes, Bluthochdruck, Rauchen, männliches Geschlecht und erbliche Belastung (Kannel et al., 1979; Kannel and McGee, 1979; Hasin et al., 1979; Wilson et al., 1999). Diese klassischen Risikofaktoren machen etwa 2/3 der Variationen im anatomischen Ausmaß der KHK aus (Eikelboom et al., 1999). Es konnte gezeigt werden, dass Männer zwischen 45 und 50 Jahren wesentlich häufiger an KHK erkranken, als gleichaltrige Frauen (Tejada et al., 1968). Bei etwa 30% der Erkrankten spielt eine familiäre Belastung eine Rolle (Myers et al., 1990). Interessant ist, dass mit zunehmendem Alter der Einfluss der genetischen Faktoren abnimmt und der Einfluss der umweltbedingten, meist beeinflussbaren Faktoren, zunimmt (Ardissino et al., 1999). Man fand neue Faktoren, die im Zusammenhang mit erhöhtem Risiko für die KHK stehen, wie zum Beispiel die Hyperhomocysteinämie (Eikelboom et al., 1999; Glenn et al., 1999), die Insulinresistenz und/ oder die Hyperinsulinämie (Spallarossa et al., 1994; Meigs et al., 2000; Kuusisto et al., 2001), oder die Mikroalbuminurie (Gerstein et al., 2001).

1.2 Homocystein als Risikofaktor für Gefäßerkrankungen

Die Frage, ob erhöhtes Homocystein zur Atherosklerose führt, wird seit vielen Jahren kontrovers diskutiert. Im Jahr 1969 berichtete McCully erstmals über Atherosklerose und Thrombose bei Kindern mit Hyperhomocysteinämie und Homocysteinurie und eine damit in Verbindung stehende positive Korrelation, zwischen erhöhten Homocysteinwerten und Atherosklerose (McCully et al., 1969). Seither wurden viele Studien zum Thema Homocystein veröffentlicht. Boushey et al. fanden, dass die Hyperhomocysteinämie als starker unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre, zerebrovaskuläre und periphere atherosklerotische Veränderungen der Arterien prädisponiert (Boushey et al., 1995; Arnesen et al., 1995). Im Rahmen klinischer Studien unterstützen insbesondere retrospektive Studien die These eines kausalen Zusammenhangs zwischen erhöhtem Plasmahomocystein und Atherosklerose. Prospektive Studien konnten dies insgesamt seltener bestätigen (Brattström et al.,

1998; Klerk et al., 2002; The Homocysteine Studies Collaboration 2002). Eine Studie von Nygard et al. an Patienten mit angiologisch gesicherter KHK zeigte eine starke Wechselbeziehung zwischen Homocysteinkonzentration und Gesamtmortalität (Nygard et al., 1997).

Andere stellten in prospektiven Studien die Bedeutung von Homocystein als unabhängigen Risikofaktor für Atherosklerose in Frage (Frishman et al., 1998; Knekt et al., 2001; Nygard et al., 1997). Die Autoren vertreten vielmehr die Meinung, dass erhöhtes Plasmahomocystein ein Marker für ein kardiovaskuläres Risiko bei Patienten mit bestehender Vorerkrankung oder positiver Familienanamnese sei. (Frishman et al., 1998; Knekt et al., 2001; Nygard et al., 1997; Pajunen et al., 2002). Es wird diskutiert, dass die Atherosklerose selbst zu einer Erhöhung der Plasmahomocystein-konzentrationen führt - umgekehrte Kausalitätshypothese- und es auf diese Weise zu einer scheinbaren Assoziation zwischen Hyperhomocysteinämie und KHK kommt (Brattstrom et al., 1998; Folsom et al., 1998; Evans et al., 1997). Christen et al. beschreiben erhöhte Homocysteinwerte als Akute-Phase Reaktant (Christen et al., 2000), das mit konventionellen kardiovaskulären Risikofaktoren interagiert und so an der Entstehung akuter Krankheitsereignisse beteiligt ist (Nurk et al., 2002).

1.3 Hyperhomocysteinämie

Bei einem gesunden Menschen liegt der Homocysteinspiegel im Blut zwischen 5.0 $\mu\text{mol/l}$ und 15.9 $\mu\text{mol/l}$ (Ueland et al., 1993). Bei der Hyperhomocysteinämie wird die mäßig ausgeprägte (16-30 $\mu\text{mol/l}$), die mittelgradig ausgeprägte (31-100 $\mu\text{mol/l}$) und die ausgeprägte (>100 $\mu\text{mol/l}$) Form unterschieden (Kang et al., 1992). Als Ursachen einer Hyperhomocysteinämie kommen hereditäre und erworbene Ursachen in Betracht.

Hereditäre Ursachen:

Eine hereditäre Ursache für eine milde Form der Hyperhomocysteinämie ist der Methylentetrahydrofolatreduktase-Gen (MTHFR) 677C/T Single-Nukleotid-Polymorphismus (SNP) (Frosst et al., 1995; Kang et al., 1991; Kluijtmans et al., 1996). Es handelt sich hierbei um eine Punktmutation bei der Cytosin durch Thymin substituiert wird. In Kombination mit dem MTHFR-Gen 677C/T SNP sorgt auch der MTHFR-Gen 1298A/C SNP, bei dem Glutamat durch Alanin ersetzt wird, für erhöhte Homocysteinwerte (van der Put et al., 1998). Ein weiterer erblicher Grund für eine Hyperhomocysteinämie ist der Cystathionin-beta-Synthetase (CBS)-Mangel (Boers et al., 1985; Lehninger et al., 1994). Der homozygote CBS-Mangel ist äußerst selten und führt zu einer ausgeprägten Hyperhomocysteinämie mit dem Bild einer Homocysteinurie. Als klinische Manifestationen werden frühzeitige Artherosklerose und Thrombose, mentale Retardierung, rezidivierende Nephrolithiasis, skeletale Deformitäten, Pectus excavatum, Osteoporose, eine große Statur, Ektopie der Linsen und dünnes Haar beschrieben. Therapeutische Optionen sind methioninarme Diät und Vitaminsubstitution, sowie die Gabe von Thrombozytenaggregationshemmern (Spieker et al., 2001). Die heterozygote Form des CBS-Mangels

(Prävalenz 0.5%-1.5%) (Boers et al., 1985) kann eine mäßiggradig ausgeprägte Hyperhomocysteinämie aufweisen. Bei etwa 40% liegen die Werte aber im Normbereich (Kang et al. 1992; Murphy-Chutorian et al., 1985).

Erworbene Ursachen:

Ebenso können nutritive Ursachen zu einer moderaten Homocysteinämie führen. Mehrere Studien konnten zeigen, dass der Mangel an Folat, Vitamin B12 und B6 im Zusammenhang mit einer Hyperhomocysteinämie stehen (Lindenbaum et al., 1988. Stabler et al., 1988 Kang et al., 1987). In verschiedenen Arbeiten konnte durch therapeutische Gabe von Folat und B Vitaminen die Plasmahomocysteinkonzentration gesenkt werden (McKay et al., 2000; McKinley et al., 2001; Rydlewicz et al. 2002). Eine Metaanalyse von Clarke et al. ergab, dass bei Patienten, die über einen Zeitraum von 6-8 Wochen mit Folat (500-5000 µg/Tag) substituiert werden, sich die Plasmahomocysteinkonzentration um 25% (3.0 µmol/l) senken ließen. In der selben Studie führt eine Vitamin B12 Substitution von 500 µg/Tag zu einer Reduzierung des Plasmahomocysteinspiegels von rund 7% (Clarke et al., 2000).

Die Nierenfunktion spielt eine weitere wichtige Rolle im Metabolismus von Homocystein, darauf deutet die negative Korrelation zwischen Homocysteinwerten und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) hin (Bostom et al., 1999). Bei Patienten mit Niereninsuffizienz, besonders mit terminaler Niereninsuffizienz (End-Stage Renal Disease = ESRD), beobachtet man häufig Homocysteinwerte die teilweise um das dreifache der Norm erhöht sind (Blom et al., 2002; van Guldener et al., 2001).

Weitere Faktoren, die zu einer moderaten Erhöhung des Homocysteinspiegels führen können sind die Faktoren Alter, männliches Geschlecht, Alkohol und Koffeingenuss, arterielle Hypertension und andere begleitende traditionelle Risikofaktoren für Atheros (Nygard et al., 1995; Brattstrom et al., 1998; Selhub et al., 1999; Jacques et al., 2001). Verschiedene Erkrankungen, wie Hyperthyreoidismus (McCully et al., 1996), perniziöse Anämie, Karzinome (Mamma, Ovar, Pankreas) oder akute lymphatische Leukämie können zu erhöhten Homocysteinkonzentrationen führen (Mayer et al., 1996; Refsum et al., 1991). Auch Medikamente greifen in den Homocysteinmetabolismus ein und können diesen beeinflussen (z.B. Methotrexat, Phenytoin, Theophyllin) (Ubbink et al., 1996).

Tabelle 1 Ursachen für die Hyperhomocysteinämie

Enzym Mangel	<ul style="list-style-type: none"> - MTHFR Mangel - Cystathionin Mangel
Vitamin Mangel	<ul style="list-style-type: none"> - Folat Mangel - B12 Mangel - B6 Mangel
Demographische Faktoren	<ul style="list-style-type: none"> - Alter - Männliches Geschlecht
Krankheiten	<ul style="list-style-type: none"> - Renale Dysfunktion - Hypertonie - Hyperthyreose - Perniziöse Anämie - Karzinome (Mamma, Ovar, Pankreas) - Lymphatische Leukämie
Medikamente	<ul style="list-style-type: none"> - Metotrexat, Phenytoin, Theophyllin
Ernährung	<ul style="list-style-type: none"> - Alkohol, Koffein

1.4 Biochemie und Metabolismus von Homocystein

Homocystein ist eine potentiell zytotoxische, schwefelhaltige, nichtproteinbildende Aminosäure des Methioninstoffwechsels. Die essentielle Aminosäure Methionin wird mit der Nahrung aufgenommen, wobei tierisches Protein mehr Methionin enthält als pflanzliches. Homocystein kommt in der Nahrung nur in geringsten Mengen vor (Robinson, 2000).

Homocystein kommt im Plasma in verschiedenen biochemischen Formen vor. Als freie Formen sind dabei zu nennen: Homocystein als reduzierte Form (<2%), Homocystin als oxidierte Form (5-10%) und Homocystin-Cystin-gemischtes Disulfid (5-10%). Nur das freie Homocystein wird am Glomerulum gefiltert (Friedman et al., 2001). Den größten Anteil bildet jedoch das protein-gebundene Homocystein mit 80-90% (Sydow et al., 2001; Robinson, 2000). Die Bindung erfolgt hierbei über Disulfidbrücken, hauptsächlich an Albumin. Je höher die Homocysteingeskamt-konzentration ist, desto größer ist, aufgrund der gesättigten Proteinbindung, der Anteil der freien Formen. Zur Vereinfachung wird der Terminus Homocystein verwendet, der die Gesamtheit der verschiedenen, im Plasma auftretenden Formen beschreiben soll.

Die Zellen des menschlichen Organismus haben zwei Möglichkeiten, die Bildung des zytotoxischen Homocysteins zu verhindern. Zum einen können sie Homocystein ins Blut exportieren, wo es sehr schnell autooxidiert (Henk et al., 2002; Robinson, 2000). Beim gesunden Menschen werden 1,2 mmol oder 5-10% der täglichen zellulären Produktion ins Plasma exportiert (Friedman et al., 2001; Refsum, Guttormsen et al., 1998). Zum anderen können menschliche Zellen Homocystein in einen nicht zytotoxischen Metaboliten umwandeln. Hierzu dienen die Transsulfurierung und die Remethylierung, die niedrige intrazelluläre Konzentrationen der zytotoxischen Substanz gewährleisten. Die Transsulfurierung führt letztlich zu Cystathionin, die Remethylierung zu Methionin (Herrmann, 2002; Perna, 1999). Gewöhnlich werden ca. 50% des anfallenden HCY zu Methionin remethyliert. Eine wichtige Rolle beim Homocysteinmetabolismus spielen drei Vitamine: Pyridoxin (Vitamin B6), Cobalamin (Vitamin B12) und Folat.

Die Transsulfurierung ist eine irreversible Reaktion, die von dem Enzym CBS katalysiert wird (Nikfardiam et al., 2001). Hierbei kondensiert HCY mit Serin zu Cystathionin (CYS), als Kofaktor dient Vitamin B6. In einem weiteren Vit B6-abhängigen Schritt wird durch die Cystathionin gamma-Lyase (CL) wird CYS zu Cystein und alpha-Ketobutyrat hydrolysiert.

Bei der Remethylierung von Homocystein zu Methionin wird die Methylgruppe von 5-Methyltetrahydrofolat auf Homocystein übertragen. Zur Bildung von 5-Methyltetrahydrofolat ist das Enzym MTHFR notwendig. Diese in allen Geweben vorkommende Reaktion wird durch die Methioninsynthase katalysiert. Hierbei werden Folat und Vitamin B12 als Kofaktoren benötigt. Alternativ kann die Methylgruppe auch von Betain geliefert werden.

Bei der Transmethylierung wird Methionin zu S-Adenosylmethionin (AdoMet) transformiert, das hauptsächlich als universeller Methylgruppendonor für Aminosäuren, Neurotransmitter, Hormone und Phospholipide fungiert (Chiang et al., 1996; Friedman, 2001). Es ist damit der wichtigste Methylgruppendonor im Zellstoffwechsel. Bei der Demethylierung von AdoMet entsteht S-Adenosylhomocystein (AdoHCY).

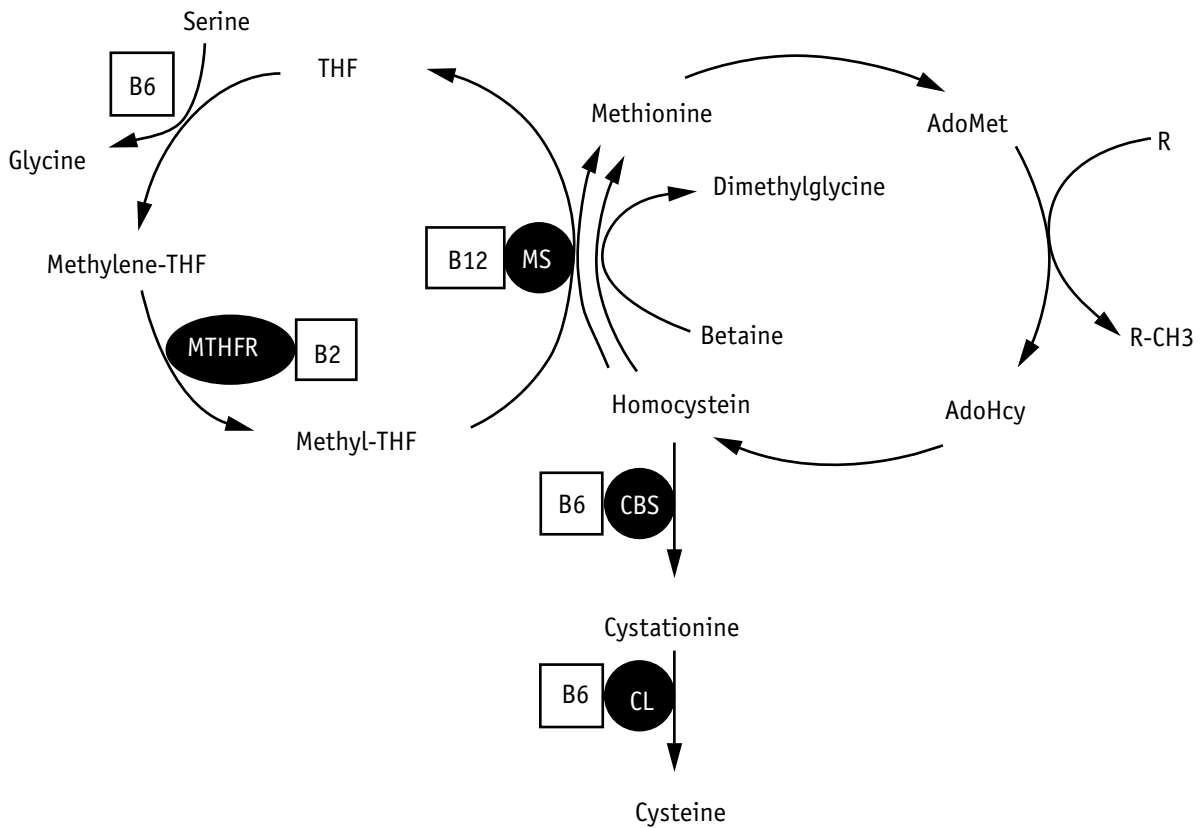
Werden zu wenig Vitamine substituiert kann dies zu teilweise erheblichen Einschränkungen des Homocysteinmetabolismus führen: Niedriges Folat, niedriges Vitamin B6 oder ein Mangel an MTHFR können zu einer gestörten Synthese von 5-MTHFR führen, mit der Konsequenz einer ebenfalls gestörten Remethylierung von HCY zu Methionin (Stabler et al., 1997; Allen et al., 1995; Robinson et al., 1998; Matinez et al., 2000). Als Kompensation versucht der Organismus Homocystein verstärkt durch Transsulfurierung zu katabolisieren. Der verstärkte Anfall an Homocystein kann jedoch nicht durch Transsulfurierung abgebaut werden, da der niedrige Spiegel von AdoMet nicht ausreicht, den katabolen Stoffwechselweg zu aktivieren

Vitamin B12 oder Methioninsynthasemangel blockiert die Remethylierung von Homocystein zu Methionin (Selhub et al., 1999). Die Hyperhomocysteinämie bei Vitamin B12 Mangel zeigt sich etwas weniger stark ausgeprägt als bei Folatmangel, da der Homocysteinkatabolismus bei Vitamin B12-Mangel aktiver ist als bei Folatmangel.

Bei Mangel an Vitamin B6 oder Vorliegen eines heterozygoten Mangels an CBS ist die Transsulfurierung nur mäßig gestört (Selhub et al., 1999). Die verbleibende Transsulfurierungsaktivität

verhindert zusammen mit der ungestörten Remethylierung eine Hyperhomocysteinämie, solange die Homocysteinbelastung niedrig ist. Jedoch findet sich bei Vitamin B6 Mangel postprandial oder nach Methioninbelastung eine ausgeprägte Hyperhomocysteinämie (Herrmann, 2002).

Abbildung 1



Homocystein- Metabolismus: AdoMet, S-Adenosyl Methionin; AdoHcy, S-Adenosyl Homocystein; THF, Tetrahydrofolat; CBS, Cystathionin Beta- Synthase; CL, Cystathionin gamma-Lyase; MS, Methionin Synthase; MTHFR, Methylentetrahydrofolat Reduktase; B6, Vitamin B6; B12, Vitamin B12; B2, Vitamin B2. Aus: Nygard et al. 1999

1.5 Pathogene Mechanismen ausgelöst durch Homocystein

In der Frage, wie Homocystein zum Restenoseprozess beitragen kann, werden mehrere Faktoren diskutiert: 1) Endothelzellschädigung, 2) Endotheliale Dysfunktion, 3) Störung des Gleichgewichtes zwischen prokoagulanten und antikoagulant Faktoren im Blut, 4) gesteigerte Proliferation glatter Muskelzellen und 5) Beeinflussung der Endothel- Leukozyten-Interaktion.

1) Untersuchungen an Endothelzellen menschlicher Nabelvenen mit unphysiologisch hohen Homocysteinkonzentrationen von 1-10 mmol/l ergaben, dass Homocystein dosisabhängig diese Zellen zerstören (Wall et al., 1980) oder deren DNA-Synthese inhibieren kann (Blundell et al., 1996; Tsai et al., 1994).

2) Upchurch et al. fanden, dass ein chronisch erhöhter Homocysteinspiegel zu einer gestörten Stickstoffmonoxid (NO)-Produktion führt (Upchurch et al., 1996). NO reguliert den Gefäßtonus und inhibiert sowohl die Plättchenaktivierung, als auch die Adhäsion und Aggregation der Thrombozyten (Murad et al., 1979; Upchurch et al., 1996). Homocystein ist in der Lage, die Aktivität der Glutathion Peroxidase in vitro zu inhibieren. Parallel dazu beobachtete man auch eine Reduktion der Glutathion Peroxidase mRNA Spiegel (Upchurch et al., 1997). Die Glutathion Peroxidase verhindert z.B. die oxidative Inaktivierung von Stickstoffmonoxid (Upchurch et al., 1997).

3) Homocystein führt schon in geringen Konzentrationen (0.5 mmol/l) zu einer erhöhten Faktor V Aktivität (Rodgers et al., 1986). Eine Homocysteinkonzentration von 0,3-0,6 mmol/l steigert die Transkriptionsrate und Aktivität des Tissue Faktors (Fryer et al., 1993). Homocystein vermindert die Konzentration von aktiviertem Protein C, indem es kompetitiv die Bindung von Thrombin an Thrombomodulin hemmt (Rodgers et al., 1990). Andere fanden, dass Homocystein sowohl Thrombomodulin als auch Protein C direkt und irreversibel hemmt (Lentz et al., 1991; Hayashi et al., 1992). Auch wird Homocystein für die verminderte Expression von antikoagulativ wirksamen "heparin-like-Glykosaminoglykan" (Nishinaga et al., 1993), verminderte Antithrombin-Konzentration (Palareti et al., 1986), Deaktivierung des Gewebe-Plasminogen-Aktivators (Hajjar, 1993; Harpel et al.; 1996, Mangoni et al., 2002) und für vermehrte Plättchenaktivierung verantwortlich gemacht (Di Minno et al., 1993).

4) Homocystein kann die Akkumulierung von glatten Muskelzellen in der Intima, mit der daraus resultierenden Bildung von extrazellulärer Matrix (Kollagen), direkt stimulieren. Homocysteinkonzentrationen von 0.01 mmol/l bewirkten einen dosis- und zeitabhängigen Anstieg der Kollagensynthese durch glatte Muskelzellen in menschlichen Gefäßen (Tyagi, 1998). Andere fanden, dass Homocysteinkonzentrationen von 0,1 mmol/l die DNA-Synthese, sowohl in glatten Muskelzellen von Ratten, als auch in glatten Muskelzellen der menschlichen Aorta steigern, was schließlich die Proliferation begünstigt (Tsai et al., 1994; Tsai et al., 1996).

5) In vitro Homocysteinkonzentrationen von 0.05 mmol/l an Endothelzellen menschlicher Nabelvenen bewirkten eine verstärkte Adhäsion und trans-endotheliale Wanderung von Neutrophilen (Dudman et al., 1999). Der Mechanismus der Homocystein-induzierten Endothel-Leukozyten-Interaktion schliesst den "Neutrophile-docking-Protein-Komplex CD 11b/CD18 und die endotheliale Expression von "monocyte chemoattractant protein-1" ein (Dudmann et al., 1999; Poddar et al., 1997). Auf diese Weise stimuliert Homocystein die Anlagerung von Monozyten. Aufgrund chemotaktischer Reize kommt es zu einer weiteren Zunahme der Leukozyten-Migration. Ausserdem soll Homocystein LDL oxidativ modifizieren (Refsum et al.1998). LDL gilt als wichtiger Mediator in der Genese der cholesterininduzierten Atherosklerose.

Tabelle 2 Potentielle pathogene Wirkungsmechanismen von HCY

	HCY Wirkung
Endothel	<ul style="list-style-type: none"> - DNA-Strangbrüche - DNA-Syntheseinhibition - NO↓ - Glutathion Peroxidase↓
Gerinnungssystem	<ul style="list-style-type: none"> - Fator V Aktivität↑ - Tissue Faktor Aktivität↑ - Protein-C-Aktivität↓ - tPA Aktivität↓ - Lipoprotein a Bindung an Fibrin↑
Glatte Muskelzellen	<ul style="list-style-type: none"> - Proliferation↑
Leukozyten	<ul style="list-style-type: none"> - Adhäsion↑ - Wanderung↑
LDL	<ul style="list-style-type: none"> - Oxidative Modifikation

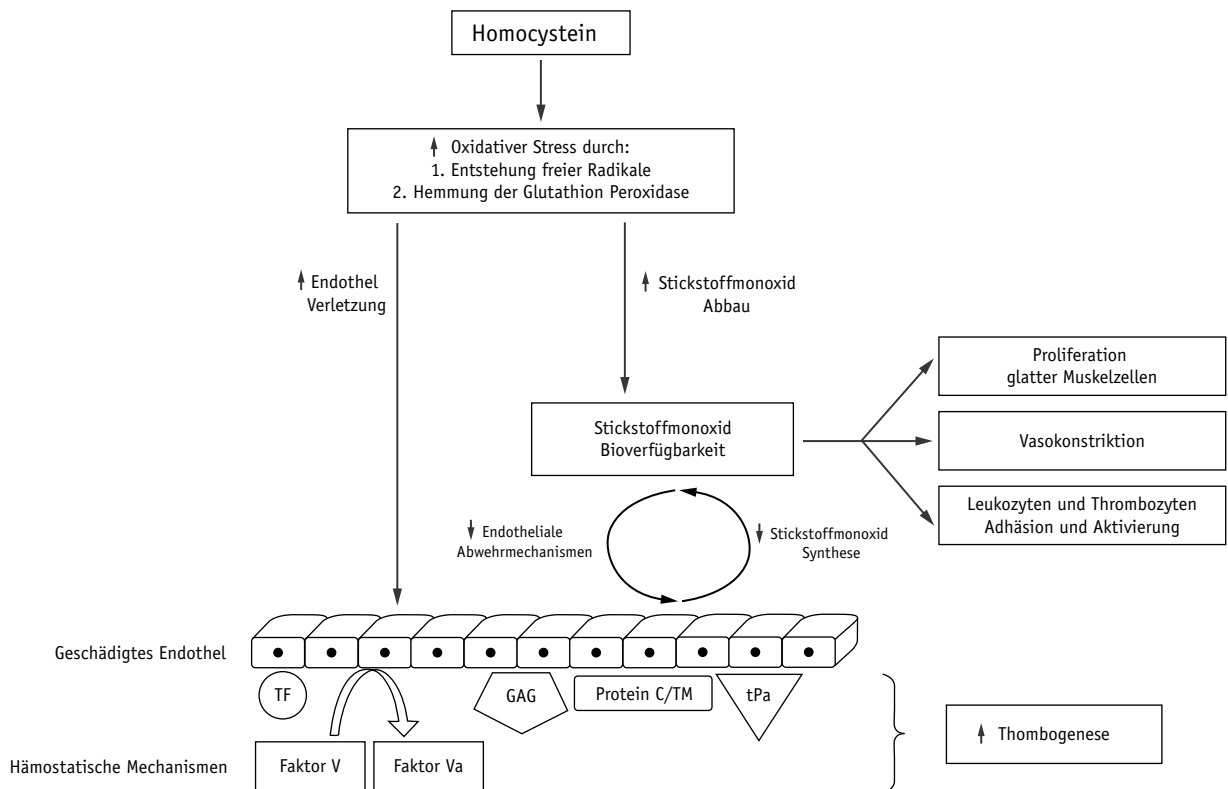


Abbildung 2 Mögliche, durch Homocystein ausgelöste, pathogene Mechanismen. GAG, Glukosaminoglykan-Antithrombin III Stoffwechselweg; Protein C/TM, Protein C-Thrombomodulin Stoffwechselweg; TF, Tissue Faktor; tPA, Tissue Plasminogen Aktivator. Aus: Thambyrajah and Townend (2000)

1.6 Koronare Stentimplantation

Die perkutane Koronarintervention nimmt derzeit eine zentrale Rolle in der Behandlung der koronaren Herzerkrankung ein. Andreas Gruentzig (Gruentzig, 1981) führte 1977 die Ballondilatation (perkutane transluminale Koronarangioplastie, PTCA) ein. Nach anfänglichen Erfolgen zeichneten sich aber auch Nachteile dieser Methode ab. In 30-50% der Fälle fand sich nach einigen Monaten eine erneut behandlungsbedürftige Restenose (Fischmann et al., 1994; Serruys et al., 1994). Heute gehört die koronare Angiographie mit zu den am meisten eingesetzten Verfahren in der interventionellen Kardiologie. So wurden in Europa im Jahr 2001 1.806.238 Koronarangiographien durchgeführt (Togni et al., 2004). Davon in Deutschland 611.882 (Togni et al., 2004).

Restenosen nach PTCA entstehen durch elastische Rückstellmechanismen (Recoil) und Umbauprozesse der Gefäßwand (Remodelling). Durch die Einführung von Gefäßstützen (Stents) Ende der 80er Jahre konnten Recoil und Remodelling verhindert werden. Die unkontrollierte Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen, ein weiterer essentieller Pathomechanismus in der Restenoseentwicklung, kann jedoch mittels Stent nicht aufgehoben werden. Sie stellt eine Reaktion der Gefäßwand auf die Verletzung während PTCA oder Stentimplantation dar (Schwartz, 1998). Erst der kombinierte Einsatz

moderner Thrombozytenaggregationshemmer Mitte der 90er Jahre führte zu einer deutlichen Reduktion der Stentthrombose (Schömig et al., 1996; Gawaz et al., 1996). Trotz dieser Fortschritte entwickeln aber immer noch 20-50% der Patienten nach Koronarintervention Komplikationen (Ferns et al., 2000), die zum Teil mit hoher Morbidität und Mortalität verbunden sind. Somit bilden das Auftreten eines thrombotischen Verschlusses (Stentthrombose) und die erneute Verengung (Restenose) des mit dem Stent behandelten Gefäßabschnitts die wesentliche Limitierung der koronaren Stentimplantation.

Die Reaktion der Gefäßwand auf die Ballondilatation und nachfolgende Stentimplantation zeigt die typischen Merkmale einer akuten Verletzung. Auf diese Verletzung der Gefäßwand folgt eine Kaskade von Reaktionen: Dazu gehören sowohl eine lokale, als auch systemische Aktivierung der Thrombozyten, als auch Migration und Vermehrung glatter Gefäßmuskelzellen, die zusätzlich extrazelluläre Matrix bilden. Wie in Tiermodellen und in postmortalen Untersuchungen gezeigt werden konnte (Edelmann et al., 1998; Schwartz, 1998; Grewe et al., 2000), verändern sich die mit einem Stent behandelten Gefäßläsionen ähnlich wie bei anderen Wundheilungsprozessen, in einer bestimmten chronologischen Reihenfolge. Grewe und Mitarbeiter (Grewe et al., 2001) beschreiben drei aufeinanderfolgende Phasen: 1. Frühphase (komplette Destruktion der Endothelschicht und thrombotische Auflagerungen im Bereich der Läsion und auf den Stentstreben). 2. Intermediärphase (Infiltration der Läsion mit Leukozyten und Lymphozyten, sowie Einwanderung, Proliferation und Sekretion der glatten Muskelzellen). 3. Spätphase (vollständige Reendothelisation und die Verdickung der Gefäßwand infolge der glatten Muskelzellvermehrung und der neu synthetisierten extrazellulären Matrix)

1.7 Thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation

Die bedeutendste und gefährlichste thrombotische Komplikation nach koronarer Stentimplantation ist der thrombotische Verschluss des mit einem Stent behandelten Gefäßsegments innerhalb der ersten 30 Tage, nach der Intervention („subakute Stentthrombose“). In klinischen Studien wird für die Analyse der thrombotischen Frühkomplikationen oft ein zusammengesetzter Endpunkt, bestehend aus Tod, Myokardinfarkt (unter Berücksichtigung des Verlaufs der kardialen Marker), angiographisch dokumentierter Stentthrombose und dringlicher Revaskularisierung des Zielgefäßes, innerhalb der ersten 30 Tage nach Implantation, verwendet. Durch dieses Vorgehen werden alle relevanten thrombotischen Ereignisse erfasst. Allerdings können auch noch nach 30 Tagen thrombotische Ereignisse auftreten.

Durch den Einsatz ballonexpandierter Stents in Koronargefäßen wird die Intima des Gefäßes verletzt. Dadurch werden tiefer liegende thrombogene Strukturen des Subendothels, wie Kollagen und Fibronektin, dem Blutstrom ausgesetzt (Bauters et al., 1997; Casterella et al., 1999; Waller, 1987), was zu einer Adhäsion und Aktivierung der Thrombozyten führt, wobei verschiedene

vasoaktive Substanzen (z.B. Serotonin, Thromboxan A₂) und Wachstumsfaktoren (z.B. PDGF, epidermaler Wachstumsfaktor, transformierender Wachstumsfaktor- β) freigesetzt werden (Gawaz et al., 1996). Die aktivierten Thrombozyten exprimieren nun ihrerseits Adhäsionsmoleküle, die sich an zirkulierende Leukozyten heften (Frederick, 2002) und diese aktivieren. Hinzu kommt, dass die Thrombozyten im akuten Koronarsyndrom (Myokardinfarkt, instabile Angina Pectoris) bereits vor der Intervention aktiviert sind (Gawaz et al., 1996). Das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung und die damit verbundene Degranulation im Verlauf nach Stentimplantation besitzt eine prädiktive Aussagekraft für das Auftreten der subakuten Stentthrombose (Gawaz et al., 1996). Dieser Vorgang findet in den ersten Tagen nach der Intervention statt und ist bis zu dreißig Tagen danach nachweisbar (Farb et al., 1999). In vielen tierischen Studien und an pathologisch-anatomischen Präparaten konnte gezeigt werden, dass die Endothelverletzung in der Frühphase nach Stentimplantation zur Ausbildung einer dünnen, membranösen Thrombusschicht auf der verletzten Gefäßwand führt. Zusätzlich ist die metallene Oberfläche des Stents in hohem Maße thrombogen (Herrmann et al., 1998). Diese Erkenntnisse deuten auf eine wichtige Funktion der Thrombozyten bei der Entwicklung einer subakuten Stentthrombose hin. Deshalb konnte, durch den Einsatz einer kombinierten antithrombotischen Therapie (Ticlopidin zusammen mit Aspirin) (Schömig et al., 1996; Urban et al., 1998; Leon et al., 1998) ggf. ergänzt durch ein Glykoprotein IIb/IIIa-Antagonisten, (Topol et al., 1999) das Risiko einer subakuten Stentthrombose und anderer thrombotischer Ereignisse drastisch gesenkt werden.

1.8 Restenose nach Stentimplantation

Obwohl die Stentimplantation das Risiko der angiographischen Restenose im Vergleich zur PTCA um 25-30% senkt, (Serrys et al., 1994; Fischmann et al., 1994) stellt die Restenose das überwiegend ungelöste Problem der interventionellen Kardiologie dar. Nach angiographischer Definition liegt eine Restenose vor, wenn es während der ersten 6 Monate nach Implantation zu einer Lumeneinengung mit mehr als 50%ige Reduktion des Gefäßdurchmessers gekommen ist (Schömig et al., 1997). Ein alternatives Maß für die Restenose ist die Inzidenz der notwendig gewordenen Reinterventionen während des ersten Jahres nach der Intervention. Diese Zahl repräsentiert die Fälle von Restenosierung, die zu einer erneuten Angina pectoris Symptomatik geführt haben.

Kastrati et al. konnten beweisen, dass die verschiedenen Stenttypen keinen signifikanten Einfluss auf die Restenoseraten haben (Kastrati et al., 2000). Auch Ergebnisse mit goldbeschichteten Stents waren nicht erfolgversprechend (Kastrati et al., 2000; vom Dahl et al., 2002). Sowohl eine spezifische systemische medikamentöse Therapie, als auch alternative angioplastische Verfahren wie die Rotablation, Artherektomie oder Laserbehandlung führten bisher zu keiner überzeugenden Reduktion der Restenose. Vielversprechend waren in dieser Hinsicht Studien mit Rapamycin beschichteten Stents (Rapamycin: entzündungshemmende und antiproliferativen Substanz) (Sousa et al., 2001; Morice et al., 2002; Serruys et al., 2002). Es sollten jedoch noch Langzeitbeobachtungen (follow up länger als

ein Jahr) abgewartet werden, da nicht auszuschließen ist, dass sich der Restenoseprozess auf einen späteren Zeitpunkt verlagert.

In letzter Zeit wurden zahlreiche klinische und läsionsabhängige Faktoren beschrieben die mitverantwortlich für den Prozess der Restenose sind. Diese Faktoren beinhalten das Geschlecht (Mehilli et al., 2003), Diabetes mellitus (Fattori et al., 2003; Agema et al., 2001; Mercado et al., 2001), Hypertonus (Cutlip et al., 2002; Weintraub et al., 1993), instabile Angina Pectoris (Cutlip et al., 2002) starke Koronarstenose (Cutlip et al., 2002), totale Okklusion (Kastrati et al., 2000), Mehrgefäßerkrankung (Mercado et al., 2001), Läsionslänge (Bauters et al., 1998) und Läsionen der left anterior descending coronary artery (LAD) (Weintraub et al., 1993). Restenose der Koronargefäße nach PTCA ist die Summe von Recoil, neointimaler Hyperplasie und konstriktivem geometrischem Remodelling mit Thrombose und Thrombozytenaggregation (Casterella et al., 1999; Post et al., 1997;

Chandrasekar et al., 2000). Das vorherrschende histopathologische Korrelat der Restenose ist aber die Hyperplasie der intimalen glatten Muskelzellen (Safian et al., 1990). Die nach Stentimplantation aktivierten Thrombozyten produzieren Wachstumsfaktoren, die die Proliferation und Migration der glatten Muskelzellen von der Media in die Intima fördern (Casscells, 1992; Anderson, 1993). Hierbei wandelt sich der kontraktile Phänotyp der glatten Muskelzellen in einen sekretorisch proliferativen Phänotyp um. Diese Umwandlung ist vermutlich unter anderem zurückzuführen auf den PDGF (Platelet Derived Growth Faktor) (Walker et al., 1986), der von Thrombozyten und Makrophagen in signifikanten Mengen freigesetzt werden kann. In einem Angioplastiemodell der Ratte konnte durch die Blockade des PDGF mittels eines neutralisierenden Antiserums eine Hemmung der Neointimabildung erreicht werden (Ferns et al., 1991). Ein zweites fundamentales Element der Restenose ist die Produktion und Sekretion extrazellulärer Matrix von glatten Muskelzellen, die in die verletzte Intimazone gewandert sind (Anderson et al., 1993). Eine Woche nach Stentimplantation kommt es zu einer massiven Infiltration der Gefäßwand mit Leukozyten, die an dem Restenoseprozess maßgeblich mitbeteiligt sind (Moreno et al., 1996). Glatte Muskelzellen, Endothelzellen, wie auch aktivierte Thrombozyten produzieren das Leukozytenchemokin MCP-I (Monocyte Chemoattractant Protein), das zur Rekrutierung von Monozyten in dem behandelten Gefäßabschnitt führen kann (Rollins et al., 1996). Aktivierte Makrophagen haben Einfluss auf Gefäßheilungsprozesse, indem sie eine Vielzahl von Mediatoren produzieren, wie z.B. den basic FGF (fibroblast growth Faktor) (Libby et al., 1992). Dieser Faktor führt zu einer zusätzlichen Stimulation der glatten Gefäßmuskelzellen. Studien an Hasen konnten eine Verminderung des neointimalen Wachstumsprozesses bei Inhibierung der Makrophagen zeigen (Rogers et al., 1996). Durch die oben beschriebenen Faktoren geht der initial durch die Stentimplantation erreichte Lumenzuwachs wieder verloren und es kommt zu einer relevanten Restenosierung.

Allerdings werden die Prozesse der Restenosierung beim Vergleich zwischen Ballonangioplastie und Stentimplantation in unterschiedlicher Ausprägung beobachtet. In Studien konnte gezeigt werden, dass in Gefäßen die mittels Stentimplantation behandelt wurden, ein stärkeres neointimales Wachstum stattfindet als in Gefäßen, die nur mit einem Ballon dilatiert wurden (Hoffmann et al., 1996). Zusätzlich fällt die Entzündungsreaktion des Gefäßes bei Stentimplantation stärker aus, als

bei Ballondilatation ohne Stentimplantation (Inoue et al., 2000). Wie in Autopsiestudien bei Menschen festgestellt werden konnte (Grewe et al., 2000) ist die volle Reendothelialisierung und Stabilisierung, der den Stent auskleidenden Neointima, 12 Wochen nach der Stentimplantation vollzogen.

1.9 Der MTHFR-Genpolymorphismus

Genpolymorphismen sind Variationen genomischer DNA. Per Definition kommt das häufigste Allel mit einer Frequenz <0.99 in der untersuchten Population vor. Meist handelt es sich um Einzelbasenpolymorphismen (SNPs = single nucleotide polymorphisms), die im Abstand von durchschnittlich etwa 1000 Basen im menschlichen Genom vorkommen. Auch bei den hier untersuchten Polymorphismen handelt es sich um SNPs. Polymorphismen haben vielfältigen Einfluss auf das Genprodukt und können es in Menge (Quantität) und Eigenschaften (Qualität) beeinflussen.

Genetische Polymorphismen der Gene, die für die Enzyme des Homocysteinmetabolismus kodieren, insbesondere die Methylenetetrahydrofolatreduktase (MTHFR), sind für eine moderate Erhöhung des Homocysteinwertes im Blut verantwortlich (Brattstrom et al., 1998). In dieser Arbeit wird der MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus und der MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus in Bezug auf Restenose untersucht. Der 677C/T Polymorphismus führt zu einer moderaten Hyperhomocysteinämie, wenn er mit niedrigen Plasmafolatwerten assoziiert ist (Kluijtmans et al., 1996; Legnani et al., 1997; Arruda et al., 1997). Der 1298A/C Polymorphismus steht nur im Zusammenhang mit erhöhtem Homocystein, wenn er zusammen mit der 677C/T Mutation auftritt (van der Put et al., 1998). Das MTHFR Gen ist auf Chromosom 1p36.3 lokalisiert.

Der MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus kodiert für das Enzym MTHFR (hierbei befindet sich an Position 677 anstelle von Alanin Valin). Dieses Enzyms besitzt eine reduzierte Enzymaktivität, sowie eine erhöhte Thermolabilität, die in Lymphozytenextrakten bei dem homozygoten Polymorphismus auf 30%, bei dem heterozygoten auf verbleibende 65% reduziert war (Frosst et al., 1995). Die enzymatische Konversion von 5,10-Methylenetetrahydrofolat (MTHF) zu 5-MTHF, die von MTHFR katalysiert wird, ist im Falle des Polymorphismus inhibiert und führt zu einem niedrigeren Spiegel von 5-MTHF. Infolgedessen kommt es zu einer gestörten Remethylierung von Homocystein zu Methionin. Experimentelle Studien zeigten, dass der MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus eine reduzierte Affinität zu Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) besitzt. FAD ist ein Kofaktor der MTHFR (Yamada et al., 2001). Folsäure-Derivate reduzieren den FAD-Verlust und helfen die Enzymaktivität aufrechtzuerhalten (Guenther et al., 1999). Dies könnte die Tatsache erklären, dass die Hyperhomocysteinämie, die mit diesem Polymorphismus assoziiert ist, sehr stark vom Folatstatus abhängig ist (Jacques et al., 1996). Bei Patienten mit ausreichender Folatversorgung konnte kein signifikanter Einfluss der heterozygoten 677-MTHFR-Mutation auf den Homocysteinpiegel festgestellt

werden (Herrmann, 2002; Harmon et al., 1996). Der homozygote 677-MTHFR-Polymorphismus führte aber bei jenen Patienten mit ungenügender Folatversorgung zu einer signifikanten Steigerung der Homocysteinkonzentration (Herrmann, 2002). Beim CC-Genotyp reduziert eine Folatsubstitution Homocystein um 3-7%, beim heterozygoten CT-Genotyp wird Homocystein durch Folat Gabe um 3-13% gesenkt und bei dem homozygoten TT-Genotyp ist durch Folat sogar eine 10-21% Senkung des Homocystein-Spiegels möglich (Malinow et al., 1997). Die Prävalenz des 677C/T Polymorphismus im Genom der europäischen Bevölkerung liegt in den einzelnen Studien bei 22% in Norwegen, bei 32% in Irland, bei 37% in England und bei 44% in Italien (Botto et al., 2000). Die Prävalenz des 677C/T Polymorphismus liegt in dem Genom bei anderen ethnischen Gruppen, wie den Mexikanern bei 78% (die Patienten dieser Studie waren mischrassig sog. Mestizos = Kind eines Weißen und eines Indianers) (Ruiz-Arguelles et al., 2001). Die Mehrzahl der Studien in Asien wurde an japanischen Kollektiven durchgeführt, hier lag die Prävalenz des 677C/T Polymorphismus im Genom der Personen, die in der Studie untersucht wurden, bei 34% (Botto et al., 2000).

Bei dem MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus wird Glutamat anstelle von Alanin gefunden (van der Put et al., 1998). Bisher fand man in Studien zwischen 1298A/C Polymorphismus und erhöhten Plasma Homocysteinwerten keine Assoziation (Friedman et al., 1999; Akar et al., 2000), obwohl der 1298A/C Polymorphismus eine verminderte enzymatische Aktivität besitzt (van der Put et al., 1998). Jedoch, so stellten Haviv et al. in einer Studie mit 120 hämodialysepflichtigen Patienten fest, korrelieren die heterozygoten Genotypen 677C/T und 1298A/C zusammen mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko (Haviv et al., 2002). Die Prävalenz des MTHFR 1298A/C Polymorphismus, im Genom unterschiedlicher ethnischer Gruppen, ist nur in wenigen Studien untersucht worden. Die Prävalenz im Genom der untersuchten Studienteilnehmern liegt in einer Studie aus Kanada (Weisberg et al., 1998) bei 10%, wohingegen eine Prävalenz von 13.8% im Genom bei Deutschen (Rothenbacher et al., 2002), von 17% im Genom von Chinesen (Song et al., 2001) und 41.1% im Genom von Brasilianern (Franco et al., 1999) gefunden werden konnte. Die Prävalenz im Genom der einzelnen Bevölkerungsgruppen für das kombinierte heterozygote Auftreten des 677C/T und des 1298A/C Polymorphismus liegt, so konnten Studien zeigen, bei 15% in der kanadischen Bevölkerung (Weisberg et al., 1998), bei 20% in der niederländischen Bevölkerung (van der Put et al., 1998) und bei 17% in der US-amerikanischen Bevölkerung (Trembath et al., 1999).

Für einen Zusammenhang zwischen dem MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus und dem Auftreten der Restenose nach Koronarstentimplantation gibt es noch keine überzeugenden Befunde. Es ist möglich, dass der 677C/T Polymorphismus eine Rolle in der Pathophysiologie der Restenose spielt, aufgrund seines Einflusses auf die Plasmahomocysteinspiegel (Frosst et al., 1995; Jacques et al., 1996; Klerk et al., 2002).

1.10 Zielsetzung und Fragestellung

Ein erhöhter Plasmahomocysteinspiegel ($>15 \mu\text{mo/l}$) wird als möglicher Risikofaktor für die Entstehung einer Restenose nach koronarer Stentimplantation diskutiert. Die beiden MTHFR-Gen 677C/T und 1298A/C Polymorphismen gelten u.a. als Determinanten der Homocysteinkonzentration. Die Frage, ob die MTHFR-Gen-Polymorphismen als Risikofaktoren an der Entstehung einer Restenose nach koronarer Stentimplantation beteiligt sind, wird in der Literatur momentan kontrovers diskutiert.

Ziel der Arbeit war es, den Einfluss des Plasmahomocysteinspiegels und der beiden Polymorphismen (677C/T und 1298A/C), auf den angiographischen und klinischen Verlauf nach koronarer Stentimplantation, an einer großen, vorwiegend aus Mitteleuropa stammenden Patientenpopulation ($n=800$) über ein langes follow up (1Jahr) zu untersuchen.

Da bisher nur sehr wenige veröffentlichte Studien zum MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus, sowie für die Kombinationen der Genotypen der beiden MTHFR-Polymorphismen vorliegen, beschäftigt sich diese Studie mit dem Zusammenhang des 677C/T und 1298A/C Polymorphismus in Bezug auf die Restenose nach koronarer Stentimplantation. Die vorliegende Studie ist die erste, die eine Assoziation des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus und seiner Genotypenkombinationen mit Restenose nach Stentimplantation evaluierte.

Diese Arbeit soll einen Beitrag zur Klärung der Genese von Komplikationen nach koronarer Stentimplantation liefern und aufzeigen, ob Produkte des Stoffwechsels (Homocystein) oder genetische Faktoren (MTHFR 677C/T oder 1298A/C Polymorphismen) zu einer Restenose führen können.

Folgende Fragen werden im einzelnen untersucht:

1. Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Homocysteinspiegel bzw. 677C/T und 1289A/C Polymorphismen und dem Auftreten einer angiographischen und/oder klinisch definierten Restenose nach koronarer Stentimplantation?
2. Welchen Einfluss haben Homocysteinspiegel und die beiden Polymorphismen 677C/T und 1298A/C auf das Auftreten klinischer Ereignisse (Dringliche Revaskularisierung, Tod, Myokardinfarkt) im Frühverlauf (30 Tage) nach koronarer Stentimplantation?
3. Besteht eine Assoziation zwischen dem Homocysteinspiegel oder der Polymorphismen 677C/T und 1298A/C und dem Auftreten thrombotischer Ereignisse (Tod und Myokardinfarkt) während eines längeren Beobachtungszeitraumes (12 Monate) nach koronarer Stentimplantation?
4. Abhängigkeit der Folat-, Vitamin-B12- und Kreatininkonzentration von der Plasmahomocysteinkonzentration?

Hierzu wurde in einem Kollektiv von 800 Patienten mit angiographisch gesicherter KHK und koronarer Stentimplantation die Plasmahomocysteinkonzentration mittels AxSYM Kits (Abbott Laboratories) gemessen, sowie der MTHFR 677C/T und 1298A/C Genotyp mittels TaqMan Technik (Applied Biosystems) bestimmt. Zusätzlich wurden die für die Interaktion mit Homocystein wichtigen Folsäure- und Vitamin B12 Konzentrationen mittels AxSYM Kits (Abbott Laboratories) bestimmt. Desweiteren wurden die anamnestischen, klinischen und angiographischen Daten erfasst und mittels statistischer Analysen untersucht.

2 Methoden

2.1 Patienten und antithrombotische Therapie

Die Studie schloss 800 weiße Patienten mit symptomatischer CAD ein, welche sich einer koronaren Stentimplantation am Deutschen Herzzentrum München im Zeitraum von September 2000 bis September 2001 unterzogen. Alle Patienten, die an der Studie teilnahmen, hatten zuvor ein Aufklärungsblatt für die Intervention, für die routine follow-up Angiographie (6 Monate später) und die Genotypenbestimmung unterschrieben. Das Studienprotokoll entsprach der Deklaration von Helsinki und war von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der TUM genehmigt worden.

Vor der Intervention erhielten alle Patienten 500 mg Acetylsalicylsäure i.v. sowie einen Heparinbolus (5000 UE). Die periinterventionelle Therapie bestand aus der Gabe von Heparin i.a. als Bolus (10 000 UE) mit anschließender Infusion über 12 Stunden (1000 UE/Stunde). Die post-interventionelle medikamentöse Therapie bestand aus Aspirin (100 mg zweimal täglich, unbegrenzt) und Clopidogrel (75 mg/d für 4 Wochen). Patienten bei denen man ein höheres Risiko für ischämische Komplikationen vermutete, erhielten zusätzlich den Glykoprotein IIb/IIIa Blocker Abciximab, der als Bolusinjektion (0.25 mg/kg Körpergewicht) während der Stentimplantation und als 12-Stunden Dauerinfusion (10 µg/min) danach gegeben wurde.

2.2 Definitionen

Um den Einfluss von erhöhten Homocysteinkonzentrationen auf das klinische und angiographische Outcome einzuschätzen, wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt, wobei der Median der Serum-Homocysteinkonzentration als Trennwert genommen wurde. Die 400 Patienten mit niedrigem Homocysteinwert ≤ 11.6 µmol/l bildeten die Patientengruppe mit "niedrigem Homocystein" und die 400 Patienten mit Homocysteinwerten ≥ 11.6 µmol/l bildeten die Gruppe mit "hohem Homocystein". Um die Auswirkung des MTHFR Polymorphismus auf das Outcome zu untersuchen wurden die Patienten auf ihren Genotyp bezüglich des 677 C/T SNP und des 1298 A/C SNP untersucht.

Die Patienten wurden als Diabetiker eingestuft, wenn sie insulinpflichtig waren oder orale Antidiabetika einnahmen. Entsprechend den WHO Kriterien wurde diese Diagnose auch für diätetisch eingestellte Diabetiker bei positivem Glukosetoleranztest vergeben, und/oder wenn während des Klinikaufenthalts bei zwei stressfreien Blutentnahmen (nüchtern) erhöhte Blutzuckerwerte (>140 mg/dl) festgestellt worden waren (World Health Organisation Study Group, 1985). Die Personen, die während der letzten 6 Monate regelmäßig rauchten, galten als Raucher. Eine arterielle Hypertonie wurde

bei systolischen Blutdruckwerten >140 mmHg und/oder diastolische Blutdruckwerte >90 mmHg bei mindestens zwei Messungen diagnostiziert (Guidelines Subcommittee, 1999). Eine Hypercholesterinämie lag bei einer Serumcholestrinkonzentration (nüchtern) von >240 mg/dl vor. Die Diagnose eines durchgemachten Myokardinfarktes (MI) wurde durch die charakteristischen Veränderungen im 12-Kanal EKG festgestellt. Ein akuter MI wurde bei anhaltenden Thoraxschmerzen (<30 min), verbunden mit einem Anstieg der Herzenzyme (CK oder CK-MB), auf mindestens das Zweifache des oberen Normwertes und ST-Hebungen (>2 mm) in zwei benachbarten EKG-Ableitungen diagnostiziert.

Eine dringliche Revaskularisierung des Zielgefäßes war eine PTCA (mit oder ohne Stentimplantation) oder Bypass OP während der ersten 30 Tage nach Stentimplantation. Die Diagnose einer "subakuten Stentthrombose" wurde angiographisch (Nachweis eines TIMI-Flusses Grad 0 oder Grad 1) während der ersten 30 Tage nach Intervention gestellt. Die Quantitativen Analysen der Angiographie-filme erfolgte auf einem separaten Computersystem (CMS, Medis Medical Imaging Systems, Leiden, Niederlande) und wurde von Personal durchgeführt, das weder in die Interventionsprozedur involviert, noch über die labortechnischen und genetischen Daten informiert war. Die folgenden Messwerte wurden für jedes behandelte Gefäßsegment erhoben: Minimaler Lumendurchmesser der Stenose vor Intervention, Stenoselänge, maximaler Durchmesser des Ballons, minimaler Lumendurchmesser innerhalb des Stents und Referenzdurchmesser nach Intervention. Die qualitative Beurteilung der Läsionen wurde nach dem modifizierten Klassifikationssystem des American College of Cardiology und der American Heart Association vorgenommen (Ryan et al., 1988). Die Einteilung erfolgt hierbei in Typ A, B1, B2 oder C, wobei Gefäßläsionen vom Typ B2 und Typ C als komplexe Läsionen bewertet wurden. Als angiographische Restenose wurde eine Durchmesserstenose von größer oder gleich 50% bei der Kontrollangiographie definiert. Angiogramme wurden aufgezeichnet kurz vor, sofort nach der Intervention und 6 Monate später. Das Follow up Protokoll beinhaltete einen Telefonanruf oder medizinischen Besuch in der den Patienten weiterbehandelnden Klinik nach 30 Tagen und nach 9-15 Monaten nach der Stentimplantation und eine Kontrollangiographie nach 6 Monaten. Klinische Ereignisse wurden auf der Basis der Information von klinischen Wiederaufnahmebefunden des behandelnden Arztes, oder eines Telefongesprächs mit dem Patienten, eingeschätzt. Bei allen Patienten, die während des Telefonats über kardiale Symptome berichteten, wurde eine klinische und elektrokardiographische Untersuchung in der weiterbehandelnden Klinik oder durch den behandelnden Arzt durchgeführt.

2.3 Studienendpunkte

Primärer Endpunkt war das Auftreten einer Restenose. Es gab zwei Definitionen für Restenose: Entweder die angiographische Restenose zum Zeitpunkt der Kontrollangiographie, 6 Monate nach der Intervention ($\geq 50\%$ Durchmesserstenose) oder die klinische Restenose (Revaskularisierung des behandelten Gefäßes innerhalb des ersten Jahres nach der Intervention aufgrund erneuter Angina pectoris Symptomatik).

Sekundärer Endpunkt der Studie war die Mortalität und die kombinierte Rate von Tod und Myokardinfarkt während des ersten Jahres nach Stentimplantation. Die Inzidenz von thrombotischen Ereignissen während der ersten 30 Tage nach Stentimplantation, resultierend in Tod, akutem Myokardinfarkt oder dringender TVR (PTCA oder ACVB), wurden von einander getrennt behandelt.

2.4 Messung der Homocystein-, Folat- und Vitamin B12 Konzentrationen

Blutproben wurden beim liegenden Patienten unmittelbar vor der Herzkatheteruntersuchung entnommen. Als Entnahmeorte dienten üblicherweise die Arteria femoralis, in Ausnahmefällen die Arteria brachialis. Das Blut wurde in heparinisierten Röhrchen ins Labor gebracht und sofort bei 1550 g für 10 Minuten zentrifugiert. Die so gewonnenen Plasmaproben wurden bei einer Temperatur von 4° C gelagert und binnen 3 Tagen analysiert. Totales Plasmahomocystein, Folsäure und Vitamin B12 Konzentration wurden mittels AxSYM Kits (Abbott Laboratories, Abbot Park, IL, USA) bestimmt.

Plasmahomocystein (Homocystein) wurde mittels automatisiertem Fluoreszenz Polarisations Immunoassay bestimmt, welches auf der Reduktion von proteingebundenem Homocystein und gemischten Disulfidformen basiert. Freies Homocystein wird hierbei enzymatisch in S-Adenosyl-L-Homocystein gespalten, welches dann von einem monoklonalen Antikörper erkannt und gebunden wird. Am Antikörper gebundener Tracer kann die Polarisation des Fluoreszenzstrahles beeinflussen. Die Polarisation wird umso stärker beeinflusst je mehr Tracermoleküle am Antikörper fixiert sind. Dies ist abhängig von der Homocysteinkonzentration in der Probe: Je höher die Homocysteinkonzentration, desto schwächer das Signal. Der obere Grenzwert des Messbereichs liegt bei 50 $\mu\text{mol/l}$ Homocystein in nativen Proben. Die Präzision der Analyse wurde gemäß dem Protokoll EP5-T2 des "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS) mit Hilfe von Kontrollproben im niedrigsten, mittleren und höchsten Bereich bestimmt. Der Variationskoeffizient dieser Messung beträgt 4.88% bei 7.7 $\mu\text{mol/l}$, 4.48% bei 13.8 $\mu\text{mol/l}$ und 2.0% bei 27.3 $\mu\text{mol/l}$. Eine mögliche Interferenz von Bilirubin, Triglyzeriden, Gesamteiweiß, Hämoglobin und Erythrozyten liegt bei $\leq 10\%$. Die analytische Sensitivität des Assays ist 0.8 $\mu\text{mol/l}$. (Sensitivität ist definiert als diejenige Konzentration, die zwei Standardabweichungen über dem Mittelwert des AxSYM Homocystein-Null-Kalibrators liegt).

Die Folsäurekonzentration wurde mittels Ionen Capture Assay bestimmt: Eine Fieberglassmatrix wird durch Zugabe einer quartären Ammoniumverbindung positiv geladen und fängt die während des

Testablaufs gebildeten negativen Komplexe aus dem Analyten Folat und Polyanion ein. Das Ionen Capture Assay benutzt ein lösliches Affinitätsreagenz bestehend aus Folat Bindungsprotein, gepaart mit monoklonalen Antikörpern. Diese monoklonalen Antikörper sind wiederum kovalent an Carboxymethylamylose, ein Polyanion gebunden. Nicht mit Folat besetztes Folat Bindungsprotein bindet ein Konjugat aus Pteroinsäure und alkalischer Phosphatase (AP). Gemessen wird die Aktivität der AP. Hierbei gilt: je höher die Aktivität der AP, desto geringer ist die Folsäurekonzentration in der Probe. Der obere Grenzwert des Messbereichs liegt bei 20 ng/l Folsäure. Die Präzision der Analyse wurde mit Hilfe von Kontrollproben im niedrigsten, mittleren und höchsten Bereich überprüft. Der Variationskoeffizient dieser Messung beträgt 7.66% bei 2.6 ng/l, 6.06% bei 6.6 ng/l und 3.5% bei 14.2 ng/l. Die analytische Sensitivität des AxSYM Folat Assay ist 0.9 ng/ml.

Die Vitamin B12 Konzentration wurde bestimmt, indem man ein Micropartikel Enzym Intrinsic Faktor Pfad benutzte. Mit Intrinsic Faktor beschichtete Mikropartikel werden zu der Reaktion hinzugegeben und binden das in der Probe vorhandene Vitamin B12. Die Reaktionsmischung wird auf eine Glasfiebermatrix aufgetragen, welche Mikropartikel irreversibel bindet. Freie Bindungsstellen des Intrinsic Faktor auf den Mikropartikeln können durch ein Vitamin B12-AP- Konjugat besetzt werden. Gemessen wird wiederum die Aktivität der gebundenen AP. Die obere Messgrenze ist bei 2000 pg/ml Vitamin B12 erreicht. Die Präzision der Analyse wurde mit Hilfe von Kontrollproben im niedrigsten, mittleren und höchsten Bereich bestimmt. Der Variationskoeffizient dieser Messungen beträgt 14.2% bei 197 pg/ml, 8.8% bei 392 pg/ml, 7.3% bei 773 pg/ml. Die analytische Sensitivität des Vitamin B12 Assays ist 60 pg/ml.

Alle Messungen wurden von Laborpersonal durchgeführt, das nicht informiert war über den Ausgang der Koronarangiographie oder den Genotyp.

2.5 Die TaqMan Methode

Die TaqMan Methode basiert auf der Polymerasekettenreaktion (PCR). Mittels PCR ist es möglich einen bestimmten Abschnitt der DNA (Amplikon) zu vervielfältigen. Bei diesem zyklischen Verfahren verdoppelt sich im Idealfall in jeder Runde die Anzahl der DNA- Kopien. Dabei kommt es zu einem exponentiellen Anstieg der DNA-Kopien. Zunächst wird die DNA durch Erhitzen auf 95°C denaturiert und somit die beiden DNA-Stränge voneinander getrennt. Nach erneutem Erhitzen und anschließendem Abkühlen der DNA-Lösung lagern sich bei einer bestimmten Temperatur die vorher ausgewählten Primer, spezifisch an die Enden des zu vervielfältigenden DNA-Segments an (Annealing). Die Taq- (DNA-) Polymerase katalysiert die Verlängerung der Primer, wobei die in einem geeigneten Puffer gelösten Nukleotide (dNTP), als Bausteine dienen. Nach der DNA-Vervielfältigung wird das 5' Nuklease Assay (Livak, 1999) durchgeführt. Für die Reaktion sind ein Primerpaar und zwei für die beiden Allele spezifische DNA-Sonden erforderlich. Die Sonden sind Oligonukleotide, die zum DNA-Abschnitt um die polymorphe Stelle komplementär sind. Sie sind mit einem Reporterfarbstoff am 5' Ende und

einem Quencher am 3' Ende markiert. Die beiden allelspezifischen Sonden sind mit den verschiedenen Reporterfarbstoffen FAM und VIC markiert. Die Nähe des Quenchers zum Reporter-Farbstoff, bei Intaktheit der Sonde, unterdrückt die Fluoreszenzintensität des letzteren. Die Taq-DNA-Polymerase besitzt eine 5' → 3'-Exonuklease-Aktivität, die eine während einer PCR an einen DNA-Strang hybridisierte komplementäre Sonde schneidet und zerstört. Schneiden der fluorogenen Sonde führt zur räumlichen Trennung von Reporterfarbstoff und Quencher und damit zu einer Erhöhung der Fluoreszenzintensität des Reporterfarbstoffes. Nach der Hydrolyse der Sonde wird die PCR fortgesetzt. Die Bestimmung des Genotyps erfolgt durch automatische Auswertung der allelspezifischen Fluoreszenzsignale im ABI-Prism 7700 Sequence Detection System.

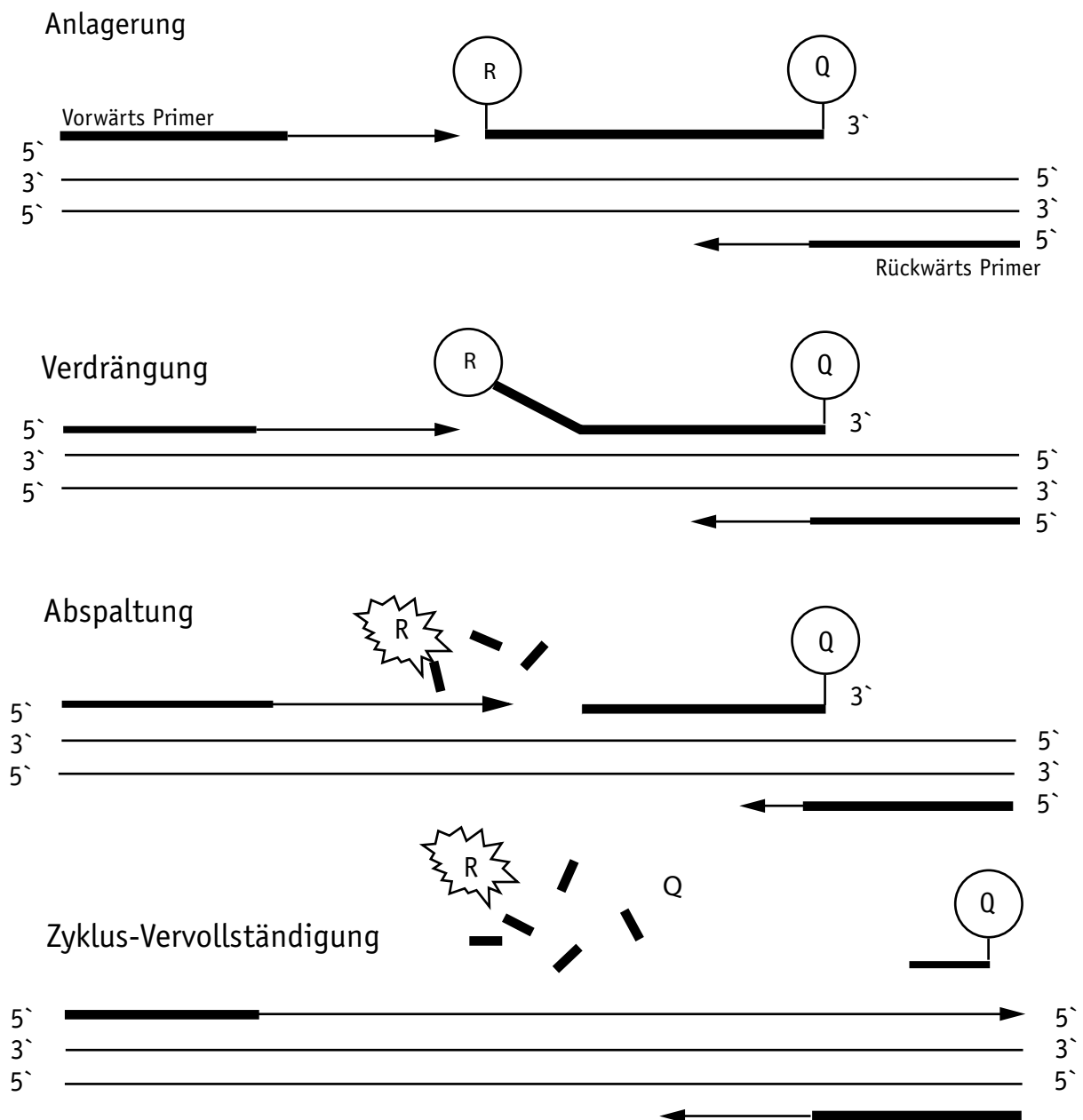


Abbildung 3 Prinzip des TaqMan-Verfahrens. Während der PCR werden die sich zuvor angelagerten DNA Sonden aufgrund der 3'→5'-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase abgespalten, was zur räumlichen Trennung von Reporter (R) und Quencher (Q) und damit zum Anstieg der allelspezifischen Fluoreszenz führt.

2.6 Bestimmung des MTHFR Genotyps mittels TaqMan Verfahren

Genomische DNA wurde aus Leukozyten von 200 µl peripherem Blut mit Hilfe kommerziell erwerblicher Kits QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) oder High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) gewonnen. Der Vorgang schloss Lyse der Zellen, Bindung der DNA, Reinigung und Isolierung der reinen DNA ein. Die DNA Proben wurden bei -21°C gelagert. Die Genotypenanalyse wurde mittels allelspezifischer fluoreszierender Oligonucleotid-Proben durchgeführt, in einem Assay welches die Polymerase Kettenreaktion (PCR) und die 5' Nuclease Reaktion (TaqMan technique; Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) kombiniert. Die Primer und Sonden wurden mit Hilfe der Primer Express Software (Version 2.0.0; Applied Biosystems), nach Download der DNA Sequenzen festgelegt, die unter Zugangsnummer AF 105980 (MTHFR Gen, Exon 4) und AF 105983 (MTHFR Gen, Exon 7) in der GenBank oder EMBL database deponiert sind. Die polymorphe Sequenz von Exon 4 des SNP 677C/T wurde mit ausgewählten Primern amplifiziert, hierzu war ein 96 Basenpaare (bp) großer DNA-Abschnitt nötig. [Tabelle 3](#) enthält die Sequenzen der Primer. Die polymorphe Sequenz von Exon 7 des SNP 1298A/C wurde mit ausgewählten Primern ([Tabelle 3](#)) vervielfacht, der hierfür benötigte DNA-Abschnitt war 87 Basenpaare groß.

[Tabelle 3](#) Primersequenzen für die Bestimmung des 677C/T SNP (96 bp)

Primersequenzen 677C/T SNP	
Vorwärts Primer	5' GAC CTG AAG CAC TTG AAG GAG AAG 3'
Rückwärts Primer	5' CTT CAC AAA GCG GAA GAA GTG T 3'

[Tabelle 4](#) Primersequenzen für die Bestimmung des 1298A/C SNP (87bp)

Primersequenzen 1298A/C SNP	
Vorwärts Primer	5' AGG AGG AGC TGC TGA AGA TGT G 3'
Rückwärts Primer	5' GTT CTC CCG AGA GGT AAA GAA CAA A 3'

Die 677 C und die 1298 A Allel Sonde war mit dem Reporterfarbstoff 6-Carbofluoreszin (FAM) und die 677 T und die 1298 C Allelsonde mit dem Reporter VIC (PE Biosystems) am 5' Ende markiert. Das 3' Ende der Sonden trug jeweils MGB Sonden (minor groove binder groups). Die jeweiligen Sonden sind in den [Tabelle 5+6](#) aufgelistet.

Tabelle 5 Nukleotidsequenzen der Sonde für den 677 C/T TaqMan Assay*

Sequenzen der Sonden	
Allel 677C	5' FAM TGA TGA AAT CGG CTC C 3'
Allel 677T	5' VIC TGA TGA AAT CGA CTC CC 3'

*Polymorphe Basen in fetter kursiver Schrift

Tabelle 6 Nukleotidsequenzen der Sonde für den 1298A/C TaqMan Assay*

Sequenzen der Sonden	
Allel 1298 A	5' FAM TCA AAG ACA CTT TCT TCA CT 3'
Allel 1298 C	5' VIC AAA GAC ACT TGC TTC ACT 3'

*Polymorphe Basen in fetter kursiver Schrift

Die 2-stufige PCR Prozedur bestand aus 35 Zyklen der Denaturierung bei 92°C für 15 sec. und des „Annealings“ und Verlängerung bei 60°C für 1 Minute. Die Genotypisierung wurde durchgeführt ohne die klinischen und angiographischen Daten der Patienten zu kennen. Als Kontrolle wurde eine unabhängige Bestimmung des Genotyps bei 20% der Patienten durchgeführt, indem man DNA benutzte die, separat von der ursprünglichen Blutprobe, vorbereitet wurde.

2.7 Bestimmung der Genotypen mittels Restriktionsanalyse

Um Träger der 4 homozygoten Genotypen (677 CC, 677 TT, 1298 AA, 1298 CC), die als Standards für die TaqMan- Reaktionen benötigt werden zu identifizieren, wurde mittels PCR eine DNA Proben Genotypenbestimmung von 10 Blutspendern durchgeführt. Hierbei wurden die selben Primer, die auch mit den Allel spezifischen Sonden benutzt wurden, eingesetzt. Die PCR Produkte wurden dann durch Restriktionsenzyme HinfI (677 C/T) und Mbo II (1298 A/C) verdaut. Die Identifizierung der Fragmente erfolgte durch Elektrophorese in einem Polyacrylamidgel (Invitrogen, Karlsruhe, Germany). Die zweistufige Thermocycling Prozedur bestand aus der Denaturierung bei 95°C für eine Minute. Die Anlagerung der Primer und die Verlängerung der Stränge erfolgte bei 60°C für eine Minute. Diese Schritte wurden in 35 Zyklen wiederholt, gefolgt von einer letzten Verlängerung bei 72°C für 7 Minuten. HinfI verdaute das 677 T spezifische Produkt in zwei Fragmente von 61bp und 35bp. Keine Erkennungsregion zeigte sich am 677 C spezifischen PCR Produkt. Mbo II verdaute das 1298 A spezifische PCR Produkt in 3 Fragmente von 33 bp, 28 bp und 26 bp. Das 1298 C spezifische Produkt wurde in 2 Fragmente von 61 bp und 26 bp verdaut.

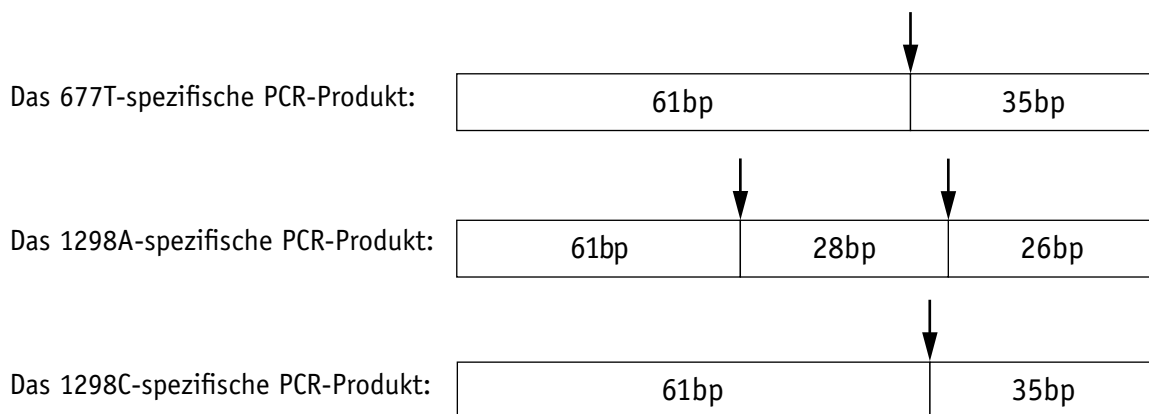


Abbildung 4: Bestimmung der MTHFR-Genotypen 677C/T bzw. 1298A/C durch allelspezifischen Verdau mit den Enzymen "HinfI" bzw. "MboII". Das Amplikon (96bp bzw. 87bp) wurde durch Restriktionsenzymverdau mit "HinfI" bzw. "MboII" in die entsprechenden Fragmente gespalten. Der Pfeil zeigt die Schnittstelle des Enzyms.

2.8 Materialien und Geräte

Geräte

PCR-Thermocycler:

-Authorized thermal Cycler for PCR	Hybaid, Heidelberg
-Primus 96 plus	MWG-Biotech, Ebersberg
-GeneAmp PCR System 9600	Applied Biosystems, Darmstadt
-GeneAmp PCR System 9700	Applied Biosystems
-ABI Prism 7700 Sequence Detection System	Applied Biosystems

Spannungsquelle:

-Power N Pac 300	Bio-Rad, München
------------------	------------------

Elektrophorese-Kammer:

-Xcell II	Invitrogen, Karlsruhe
-----------	-----------------------

Zentrifugen:

-Zentrifuge CR 3-12	Jouan, St. Herblain, Frankreich
-Zentrifuge A14	Jouan, St. Herblain
-Biofuge fresco	Heraeus Instruments, Hanau

Mixer:

-Vortexer	Genio2™ Bender & Obein AGV Zürich Schweiz
-Thermomixer Komfort	Eppendorf, Hamburg

Puffer und Lösungen

PCR-Puffer:

10x PCR-Puffer	Qiagen, GmbH, Hilden
----------------	----------------------

Desoxyribonukleotidlösung (10mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP):

-GeneAmp®	Invitrogen
-----------	------------

Ethidiumbromidlösung (1%):

1g Ethidiumbromid	Serva, Mannheim
ad 100 ml aqua dest.	

Elektrophoresepuffer:

-1x TBE-Puffer	Invitrogen
----------------	------------

2.9 Statistik

Diskrete Variablen wurden entweder als Zahl oder als Prozentanteil (%) angegeben und mittels Chi-Quadrat oder exaktem Test nach Fisher verglichen. Kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung (\pm S.D.) angegeben und mit dem nicht gepaarten, zweiseitigen t-Test oder einer Varianzanalyse für mehr als zwei Gruppen verglichen. Die unabhängige Rolle der Homocysteinwerte und der Polymorphismen wurde in einem Multivariat Modell (multiple logistische Regressionen) für Restenose eingeschätzt, welches die klinischen Eigenschaften, läsionsbezogene und prozeduralen Faktoren als mögliche Einflussfaktoren mit einbezog. Überleben frei von Myokardinfarkt wurde durch ein Cox Regressions Modell analysiert, das die Berechnung von Hazard Ratios und 95% Konfidenzintervallen erlaubt. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm S-Plus, Version 4.0 Professional (Mathsoft Inc, Seattle, Washington) durchgeführt. Als signifikant wurden P Werte unter 0.05 angenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Basale Charakteristika der Patienten in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma

Die Studienpopulation umfasste 800 Patienten mit koronarer Stentimplantation, wobei 400 Patienten dieser Population einen niedrigen Homocysteinwert (Gruppe 1: $\leq 11.6 \mu\text{mol/l}$) und 400 Patienten einen hohen Homocysteinwert (Gruppe 2: $> 11.6 \mu\text{mol/l}$) aufwiesen. Die klinischen Eigenschaften der Patienten sind in [Tabelle 7](#) dargestellt. Der Homocysteinwert lag im Schnitt bei $9.3 \pm 1.6 \mu\text{mol/l}$ in Gruppe 1. In Gruppe 2 lag er bei $15.7 \pm 3.4 \mu\text{mol/l}$; $P = < 0.001$. Das mittlere Alter war in der Gruppe mit niedrigem Homocystein signifikant niedriger im Vergleich zur Gruppe mit hohem Homocystein (63.2 ± 10.1 vs. 68.1 ± 10.8 ; $P = < 0.001$). Der Anteil der Frauen in den einzelnen Populationen (25.5% vs. 25.8%; $P = 0.94$) war annähernd gleich verteilt. Patienten mit hohem Homocystein hatten nicht signifikant häufiger eine arterielle Hypertension (78.0% vs. 81.0%; $P = 0.29$). Eine Hypercholesterinämie war bei 71.3% der Patienten der Gruppe 1 vorhanden. Mit 73.3% stellte man diese in Gruppe 2 fest ($P = 0.53$). Raucher waren folgendermaßen auf die Gruppen verteilt: 22.0% in Gruppe 1 vs. 21.5% in Gruppe 2. An Diabetes mellitus waren 21.5% in der Gruppe mit niedrigem Homocystein erkrankt. In der Gruppe mit hohem Homocystein waren es 22.5% ($P = 0.73$). Der Unterschied für das Auftreten einer instabilen Angina pectoris innerhalb der beiden Gruppen verteilte sich folgendermaßen: 19.8% Gruppe 1 vs. 20.0% in Gruppe 2 ($P = 0.93$). Einen akuten Myokardinfarkt erlitten Patienten der Gruppe 1 signifikant häufiger als Patienten der Gruppe 2 (18.0% vs. 10.5%; $P = 0.002$). Der Anteil an Patienten die einen Myokardinfarkt erlitten hatten (35.0% vs. 33.0%; $P = 0.55$), sowie mit zurückliegender Bypass OP (11.0% vs. 13.8%; $P = 0.24$) zeigte beim Vergleich innerhalb der Gruppen 1 und 2 keine Signifikanz. Der Unterschied der linksventikulären Auswurfraction zwischen den beiden Gruppen war signifikant (55.7% vs. 53.6%; $P = 0.04$). Sowohl die Folsäure ($10.6 \pm 3.0 \text{ ng/ml}$ vs. $8.4 \pm 2.9 \text{ ng/ml}$; $P = < 0.001$), als auch Vitamin B12 ($447 \pm 296 \text{ pg/ml}$ vs. $361 \pm 236 \text{ pg/ml}$; $P = < 0.001$), als auch Kreatinin ($1.07 \pm 0.19 \text{ mg/dl}$ vs. $1.22 \pm 0.36 \text{ mg/dl}$; $P = < 0.001$) zeigten signifikante Veränderungen. Bei den Patienten mit niedrigem Homocystein lag der Lipoprotein (a) Wert im Mittel bei $40.7 \pm 46.3 \text{ mg/dl}$, bei den Patienten mit hohem Homocysteinwert lag der Mittelwert bei $41.6 \pm 45.1 \text{ mg/dl}$; $P = 0.79$.

Tabelle 7 Basale Charakteristika der Patienten

	Homocystein		P
	≤11,6µmol/l (n=400)	>11.6µmol/l (n=400)	
Homocystein, µmol/l	9.3 (±1.6)	15.7 (±4.4)	<0.001
Alter, Jahren	63.2 (±10.1)	68.1 (±10.8)	<0.001
Frauen	102 (25.5)	103 (25.8)	0.94
Arterielle Hypertension	312 (78.0)	324 (81.0)	0.29
Hypercholesterinämie	285 (71.3)	293 (73.3)	0.53
Aktive Raucher	88 (22.0)	86 (21.5)	0.86
Diabetes mellitus	86 (21.5)	90 (22.5)	0.73
Instabile Angina pectoris	79 (19.8)	80 (20.0)	0.93
Akuter Myokardinfarkt (MI)	72 (18.0)	42 (10.5)	0.002
Z.n. MI	140 (35.0)	132 (33.0)	0.55
Z.n. Bypass-Operation	44 (11.0)	55 (13.8)	0.24
Zahl der pathologisch veränderten Gefäße			0.58
Eins	101 (25.3)	102 (25.5)	
Zwei	130 (32.5)	117 (29.3)	
Drei	169 (42.3)	181 (45.3)	
Eingeschränkte linksventrikuläre Funktion, %	55.7 (±13.3)	53.6 (±14.9)	0.04
Folsäure, ng/ml	10.6 (±3.3)	8.4 (±2.9)	<0.001
Vitamin B12, pg/ml	447 (±296)	361 (±236)	<0.001
Kreatinin, mg/dl	1.07 (±0.19)	1.22 (±0.36)	<0.001
Lipoprotein(a), mg/dl	40.7 (±46.3)	41.6 (±45.1)	0.79

Die Daten sind als Mittelwert ± S.D. angegeben. Die anderen Variablen sind als Zahlen der Patienten und in Klammern mit Anteilen in Prozent angegeben.

3.2 Eigenschaften der Läsionen und der Interventionen in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma

Die Eigenschaften der Läsionen waren im wesentlichen ausgeglichen zwischen den Patienten der Gruppe mit niedrigem und denen mit hohem Homocystein. Die Verteilung der implantierten Stents auf die verschiedenen Koronararterien zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 (P=0.63). Die Stentimplantation erfolgte aufgrund einer Restenose bei bereits mit einem Stent versorgten Gefäß bei 9.0% der Patienten mit niedrigem Homocystein und bei 7.8% der Patienten mit hohem Homocystein (P = 0.52). Chronische Verschlüsse wurden in Gruppe 1 mit einer Häufigkeit von 4.0%, in Gruppe 2 mit 6.0% behandelt (P = 0.19). Lediglich bei den komplexen Läsionen zeigte sich eine Signifikanz (72.8% vs. 79.0%; P=0.04). Auch bei den Interventionscharakteristika

gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Auch wenn die Länge des gestenteten Gefäßsegments bei Patienten mit niedrigem Homocystein geringer war (21.4 ± 10.4 mm vs. 22.6 ± 10.6 mm), zeigte sich keine Signifikanz ($P=0.12$).

Tabelle 8 Läsionsbezogene Charakteristika

	Homocystein $\leq 11,6 \mu\text{mol/l}$ (n=400)	Homocystein $> 11,6 \mu\text{mol/l}$ (n=400)	P
Lage der implantierten Stents			0.63
Hauptstamm	7 (1.8)	8 (2.0)	
LAD	176 (44.0)	156 (39.0)	
LCx	81 (20.3)	88 (22.0)	
RCA	123 (30.8)	130 (32.5)	
Venous bypass graft	13 (3.3)	18 (4.5)	
Chronische Occlusionen	16 (4.0)	24 (6.0)	0.19
Restenotische Läsionen	36 (9.0)	31 (7.8)	0.52
Komplexe Läsionen	291 (72.8)	316 (79.0)	0.04

Angaben sind absolute Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern. LAD steht für R. interventricularis anterior, LCx für R. circumflexus und RCA für A. coronaria dextra.

Tabelle 9 Interventionsbezogene Daten

	Homocystein $\leq 11,6 \mu\text{mol/l}$ (n=400)	Homocystein $> 11,6 \mu\text{mol/l}$ (n=400)	P
Vor Stentimplantation			
Läsionslänge (mm)	$12,1 \pm 6.8$	$12,6 \pm 6.8$	0.28
Referenzdurchmesser (mm)	2.96 ± 0.60	2.93 ± 0.57	0.45
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1.13 ± 0.62	1.12 ± 0.60	0.88
Durchmesser der Stenose (%)	61.6 ± 19.2	61.7 ± 18.5	0.90
Während Stentimplantation			
Ballondurchmesser (mm)	3.44 ± 0.58	3.42 ± 0.58	0.62
Maximaler Ballondruck (atü)	$12.96 \pm 2,68$	13.19 ± 2.71	0.23
Länge des gestenteten Gefäßsegments (mm)	21.4 ± 10.4	22.6 ± 10.6	0.12
Periprozedurale Therapie mit Abciximab	222 (55.5)	231 (57.8)	0.52
Unmittelbar nach der Stentimplantation			
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	2.91 ± 0.59	2.86 ± 0.57	0.28
Durchmesser der Stenose (%)	4.5 ± 10.4	5.3 ± 10.9	0.24

Angaben sind Mittelwerte \pm S.D., bzw. absolute Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern

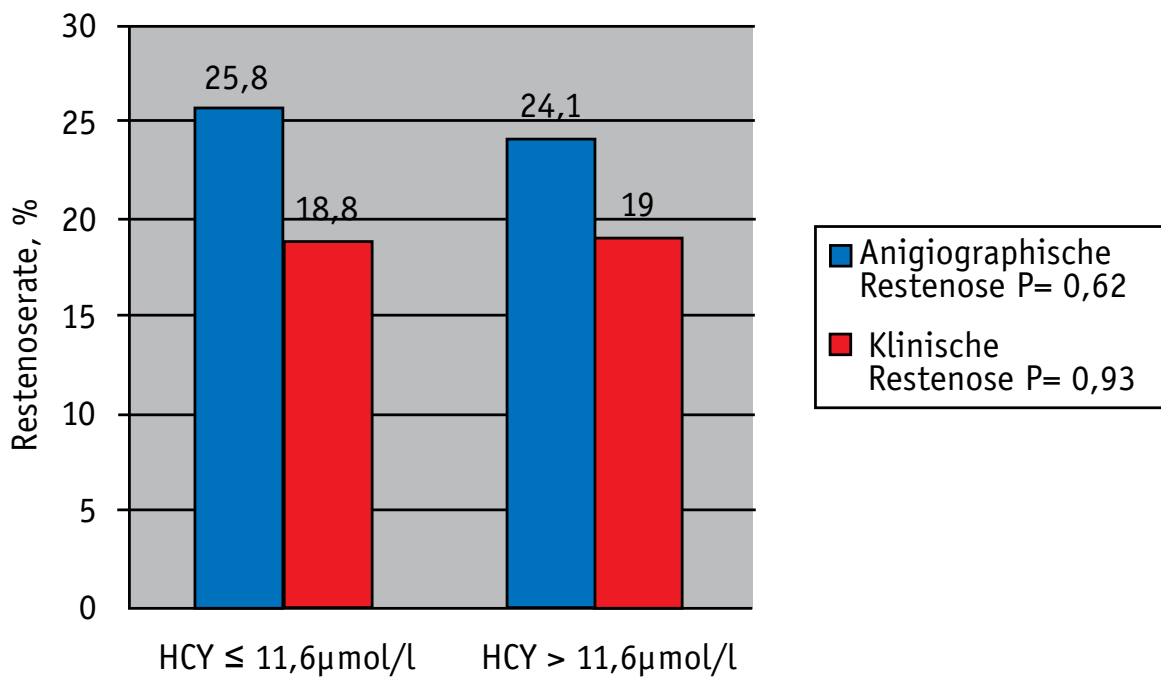
3.3 Angiographische/ klinische Restenose in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma

Bei 601 Patienten (75% der ursprünglich eingeschlossenen Population, n=800) konnte eine Kontrollangiographie 6 Monate nach der Intervention in unseren Kliniken durchgeführt werden. Dabei hatten 306 (76.5%) der Patienten einen niedrigen Homocysteinwert und 295 (73.8%) einen hohen Homocysteinwert (P=0.37). In der Patientengruppe mit niedrigem Homocystein hatten 25,8% der Patienten eine angiographische Restenose. In der Patientengruppe mit hohem Homocystein waren es 24.1%, (P=0.62). Der Homocysteinwert der Patienten mit einer angiographischen Restenose (n=150) lag bei $12.1 \pm 3,7 \mu\text{mol/l}$, der Homocysteinwert der Patienten ohne eine angiographische Restenose (n = 451) lag bei $12.7 \pm 4.9 \mu\text{mol/l}$ (P=0.19). Bei Patienten mit angiographischer Restenose betrug die Folsäurenkonzentration $9.5 \pm 3.3 \text{ ng/ml}$, bei denen ohne angiographische Restenose $9.4 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$ (P=0.76). Zusätzlich wurde die Beziehung zwischen Homocysteinkonzentration und angiographischer Restenose verdeutlicht, indem man die Homocysteinwerte in Quintilen einteilte. Innerhalb der Quintilen waren die Homocysteinkonzentrationen wie folgt festgelegt: von 3.6 bis 9.1 $\mu\text{mol/l}$, >9.1 bis 10.8 $\mu\text{mol/l}$, >10.8 bis 12.5 $\mu\text{mol/l}$, >12.5 bis 15.0 $\mu\text{mol/l}$, >15.0 bis 49.1 $\mu\text{mol/l}$. Die Restenoseraten in diesen Gruppen waren 28.8%, 20.5%, 25.0%, 24.8% und 25.8% (P = 0.68). Für Patienten in der höchsten Dezile (Homocysteinkonzentrationen überhalb der 90th Percentile von 18.0 $\mu\text{mol/l}$) ergab sich eine angiographische Restenoserate von 19.0% die klinische Restenoserate lag bei 17.5%. Die Notwendigkeit einer Reintervention aufgrund einer klinischen Restenose, während des ersten Jahres nach Stentimplantation, bestand bei 18.8% der Patienten mit niedrigem Homocystein und bei 19.0% der Patienten mit hohem Homocystein (P=0.93). In einer Multivarianzanalyse, die alle klinischen Eigenschaften der Patienten, alle läsionbezogenen und prozeduralen Charakteristika (Tabelle 7,8,9) miteinbezog, wurde die Rolle des Homocysteins in Bezug auf Restenose untersucht. Hierbei konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (P=0.15). Desweiteren konnte kein Zusammenhang zwischen erhöhten Homocysteinwerten und niedrigen Folsäurewerten in Bezug auf das Risiko einer Restenose beobachtet werden (P=0.93).

Tabelle 10 Quantitative Parameter der Restenose

	Homocystein $\leq 11,6 \mu\text{mol/l}$ (n=306)	Homocystein $> 11,6 \mu\text{mol/l}$ (n=295)	P
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1.87 ± 0.81	1.85 ± 0.80	0.80
Durchmesser der Stenose (%)	36.49 ± 22.93	36.41 ± 25.57	0.97
Lumenverlust (mm)	1.04 ± 0.69	1.01 ± 0.69	0.55
Verlustindex (%)	0.65 ± 0.54	0.61 ± 0.77	0.49
Angiographische Restenose (%)	79 (25.8)	71 (24.1)	0.62
Klinische Restenose (RePTCA + ACVB) (%)	58 (18.8)	56 (19.0)	0.93

Parameter sind als Mittelwerte \pm S.D., bzw. als Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern angegeben.



Graphik 1 Anigiographische und klinische Restenoserate bei den Patienten mit HCY ≤11.6 μmol/l und HCY >11,6μmol/l

3.4 Akute und subakute thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma

Die Inzidenz thrombotischer Ereignisse während der ersten 30 Tage nach Stentimplantation war in beiden Patientengruppen annähernd gleich (Gruppe 1: 1.0% vs. Gruppe 2: 1.3%; P= 0.74). Die Mortalität innerhalb der ersten 30 Tage war vergleichbar in beiden Gruppen (Gruppe 1: 1.0% vs. Gruppe 2: 0.75%; P=0.74). Die kombinierte Rate von Tod oder Myokardinfarkt war identisch (P=1.0) zwischen den Patienten mit niedrigem (1.8%) und mit hohem Homocystein (1.8%). Beim Vergleich der Patientengruppen mit niedrigem Homocystein und denen mit hohem Homocystein zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Inzidenzen von Tod oder Myokardinfarkt oder dringlicher Revaskularisierung (P≥0.43).

Tabelle 11 Klinische Ereignisse innerhalb der ersten 30 Tage nach Stentimplantation

	Homocystein ≤11,6μmol/l (n=400)	Homocystein >11.6μmol/l (n=400)	P
Subakute Stentthrombose (%)	4 (1.0)	5 (1.3)	0.74
Tod (%)	4 (1.0)	3 (0.8)	0.70
Tod oder MI (%)	7 (1.8)	7 (1.8)	1.0
Dringliche Revaskularisierung (%)	8 (2.0)	6 (1.5)	0.59

Daten sind als Zahl der Patienten und in Klammern als Anteile in Prozent angegeben

3.5 Langfristiger klinischer Verlauf (1 Jahr) nach Stentimplantation in Bezug auf die Homocysteinkonzentration im Plasma

Patienten mit hohem Homocysteinwert hatten keine signifikant höhere Mortalität (3.0%) im Vergleich zu den Patienten mit niedrigem Homocystein (1,5%) innerhalb eines Jahres nach Stentimplantation (P=0.15). Einen Myokardinfarkt erlitten 1,3 % der Patienten von Gruppe 1. In Gruppe 2 hatten 2.8 % der Patienten nach einem Jahr einen Myokardinfarkt. Die kombinierte Inzidenz von Tod oder Myokardinfarkt lag in Gruppe 1 bei 2.5 %, in Gruppe 2 bei 4.5 % (P = 0.14, Cox Modell). Somit war eine hohe Homocysteinkonzentration assoziiert mit einer Hazard Ratio von 1.80 (95 % CI 0.83 bis 3.91) für das Auftreten von Tod oder Myokardinfarkt.

Tabelle 12 Klinische Ereignisse innerhalb eines Jahres nach koronarer Stentimplantation

	Homocystein ≤11,6µmol/l (n=400)	Homocystein >11.6µmol/l (n=400)	P
Tod (%)	6 (1.5)	12 (3.0)	0.15
Myokardinfarkt (%)	5 (1.3)	11(2.8)	0.13
Tod oder MI (%)	10 (2.5)	18 (4.5)	0.12

Daten sind als Zahl der Patienten und in Klammern als Anteile in Prozent angegeben

3.6 Basale Charakteristika der Patienten in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

Unter den 800 Patienten waren die Genotypen des MTHFR Polymorphismus 677C/T folgendermaßen verteilt: 43.5% 677CC, 45.3% 677CT und 11.3% 677TT. In der Studie kamen Träger der Genotypenkombination 677CC/1289AA (CC/AA), CC/AC, CC/CC, CT/AA, CT/AC oder TT/AA vor. Träger der Genotypenkombination 677CT/1298CC (CT/CC), TT/AC oder TT/CC kamen nicht vor. Somit befindet sich 677T ausschließlich auf dem 1298A Allel und 1298C kommt nur auf dem 677C Allel vor. Die 677C Allel Frequenz lag bei 0,66 und die 1298 A Allel Frequenz lag bei 0,67. Das Alter (64.7 ±10.8 vs. 66.2 ±10.6 vs. 67.1 ±10.5; P = 0.07) sowie der Anteil an Frauen (25.3% vs. 26.5% vs. 23.3%; P=0.81), an aktiven Rauchern (22.1% vs. 19.9% vs. 27.8%; P=0.26) und an Diabetikern (24.1% vs. 20.2% vs. 21.1%; P= 0.43) waren bei den verschiedenen Genotypen des 677C/T MTHFR Polymorphismus nicht signifikant unterschiedlich. Auch bei dem Charakteristikum der arteriellen Hypertonie gab es keine signifikanten Unterschiede (79.6% vs. 79.0% vs. 81.1%; P=0.90). Eine instabile Angina pectoris war bei 20.1% der CC Allel tragenden Patienten, bei 19.9% der CT Allel tragenden und bei 18.9% der TT Allel tragenden Patienten aufgetreten. Der Anteil an Patienten mit akutem Myokardinfarkt (12.9% vs. 16.6% vs. 10.0%; P= 0.18), mit durchgemachtem MI (31.9 % vs. 37.3% vs. 28.9%; P=0.18), sowie

mit zurückliegender Bypass OP (13.2% vs. 10.5 % vs. 16.7%; P=0.23) wies ebenso keinen Unterschied zwischen CC, CT oder TT Allelträgern auf. Die linksventrikuläre Funktion war bei 14.9% der CC Patienten, 13.7% der CT und 12.7 % der TT eingeschränkt (P = 0.16). Signifikante Unterschiede konnten bei den Homocysteinwerten beobachtet werden (P=<0.001). Die CC Patienten wiesen einen Homocysteinwert von $12.0 \pm 3.9 \mu\text{mol/l}$ auf, bei den CT Patienten lag der Wert bei $12.5 \pm 4.5 \mu\text{mol/l}$ und bei den TT Patienten bei $14.4 \pm 6.5 \mu\text{mol/l}$. Auch bei den Folsäurewerten zeigten sich signifikante Unterschiede ($10.0 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$ vs. $9.3 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$ vs. $9.0 \pm 3.6 \text{ ng/ml}$; P= 0.003). Kreatinin ($1.13 \pm 0.23 \text{ mg/dl}$ vs. $1.16 \pm 0.36 \text{ mg/dl}$ vs. $1.12 \pm 0.25 \text{ mg/dl}$; P=0.31) und Lipoprotein (a) ($39.7 \pm 46.2 \text{ mg/dl}$ vs. $41.8 \pm 44.6 \text{ mg/dl}$ vs. $44.2 \pm 48.7 \text{ mg/dl}$; P=0.70) waren zwischen den einzelnen Genotypen nicht signifikant verschieden.

Tabelle 13 Basale Charakteristika der Patienten in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

	677CC (n=348)	677CT (n=362)	677TT (n=90)	P
Alter, Jahren	64.7 (± 10.8)	66.2 (± 10.6)	67.1 (± 10.5)	0.07
Frauen	88 (25.3)	96 (26.5)	21 (23.3)	0.81
Arterielle Hypertension	277 (79.6)	286 (79.0)	73 (81.1)	0.90
Hypercholesterinämie	241 (69.3)	271 (74.9)	66 (73.3)	0.24
Aktive Raucher	77 (22.1)	72 (19.9)	25 (27.8)	0.26
Diabetes mellitus	84 (24.1)	73 (20.2)	19 (21.1)	0.43
Instabile Angina pectoris	70 (20.1)	72 (19.9)	17 (18.9)	0.97
Akuter Myokardinfarkt (MI)	45 (12.9)	60 (16.6)	9 (10.0)	0.18
Z.n. MI	111 (31.9)	135 (37.3)	26 (28.9)	0.18
Z.n. Bypass-Operation	46 (13.2)	38 (10.5)	15 (16.7)	0.23
Zahl der beteiligten Gefäße				0.73
Eins	84 (24.1)	93 (25.7)	26 (28.9)	
Zwei	103 (29.6)	117 (32.3)	27 (30)	
Drei	161 (46.3)	152 (42.0)	37 (41.1)	
Eingeschränkte linksventrikuläre Funktion, %	54.3 (± 14.9)	55.5 (± 13.7)	52.4 (± 12.7)	0.16
Homocystein , $\mu\text{mol/ml}$	12.0 (± 3.9)	12.5 (± 4.5)	14.4 (± 6.5)	<0.001
Folsäure, ng/ml	10.0 (± 3.1)	9.3 (± 3.1)	9.0 (± 3.6)	0.003
Vitamin B12, pg/ml	405 (± 269)	392 (± 252)	451 (± 341)	0.18
Kreatinin, mg/dl	1.13 (± 0.23)	1.16 (± 0.36)	1.12 (± 0.25)	0.31
Lipoprotein(a), mg/dl	39.7 (± 46.2)	41.8 (± 44.6)	44.2 (± 48.7)	0.70

Daten sind als Mittelwert(\pm S.D.) angegeben. Die anderen Variablen sind als Zahl der Patienten und in Klammern mit Anteilen in Prozent angegeben

3.7 Eigenschaften der Läsionen und der Interventionen in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

Bei der Verteilung der implantierten Stents auf die verschiedenen Koronararterien konnte kein signifikanter Unterschied zwischen CC, CT und TT Polymorphismus festgestellt werden (P=0.34). Aufgrund einer Restenose erfolgte die Stentimplantation bei schon vorher mit einem Stent versorgten Gefäß bei 8.9% der CC, bei 8.6% der CT und bei 5.6% der TT Patienten (P=0.58). Chronische Verschlüsse verteilten sich in allen drei Gruppen wie folgt: 4.6% CC, 5.8% CT, 3.3% TT (P=0.57). Komplexe Läsionen wurden am häufigsten bei den TT Patienten (81.1%), gefolgt von den CT Patienten (77.9%) und den CC Patienten (72.4%) beobachtet (P=0.11).

Tabelle 14 Läsionsbezogene Charakteristika in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

	677CC (n=348)	677CT (n=362)	677TT (n=90)	P
Lage der implantierten Stents				0.34
Hauptstamm	9 (2.6)	5 (1.4)	1 (1.1)	
LAD	140 (40.2)	151 (41.7)	41 (45.6)	
LCx	72 (20.7)	83 (22.9)	14 (15.6)	
RCA	113 (32.5)	113 (31.2)	27 (30.0)	
Venous bypass graft	14 (4.0)	10 (2.8)	7 (7.8)	
Chronische Occlusionen	16 (4.6)	21 (5.8)	3 (3.3)	0.57
Restenotische Läsionen	31 (8.9)	31 (8.6)	5 (5.6)	0.58
Komplexe Läsionen	252 (72.4)	282 (77.9)	73 (81.1)	0.11

Angaben sind als absolute Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern. LAD steht für R. interventricularis anterior, LCx für R. circumflexus und RCA für A.coronaria dextra.

Tabelle 15 Interventionsbezogene Daten in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

	677CC (n=348)	677CT (n=362)	677TT (n=90)	P
Vor Stentimplantation				
Läsionslänge (mm)	12.4 ±7.1	12.4 ±6.6	11.9 ±6.4	0.82
Referenzdurchmesser (mm)	2.94 ±0.58	2.95 ±0.59	2.96 ±0.58	0.94
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1.12 ±0.60	1.12 ±0.63	1.18 ±0.60	0.69
Durchmesser der Stenose (%)	61.7 ±18.8	62.1 ±18.9	59.7 ±18.6	0.57
Während Stentimplantation				
Ballondurchmesser (mm)	3.43 ±0.57	3.44 ±0.59	3.39 ±0.58	0.77
Maximaler Ballondruck (atü)	13.2 ±2.6	12.9 ±2.6	3.5 ±3.2	0.07
Länge des gestenteten Gefäßsegments (mm)	21.7 ±10.4	22.1 ±9.9	22.6 ±12.9	0.78
Periprozedurale Therapie mit Abciximab	197 (56.6)	206 (56.9)	50 (55.6)	0.97
Unmittelbar nach der Stentimplantation				
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	2.87 ±0.58	2.90 ±0.59	2.91 ±0.51	0.69
Durchmesser der Stenose (%)	5.1 ±11.8	4.7 ±9.9	4.7 ±9.2	0.88

Angaben sind Mittelwerte ± S.D., bzw. absolute Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern.

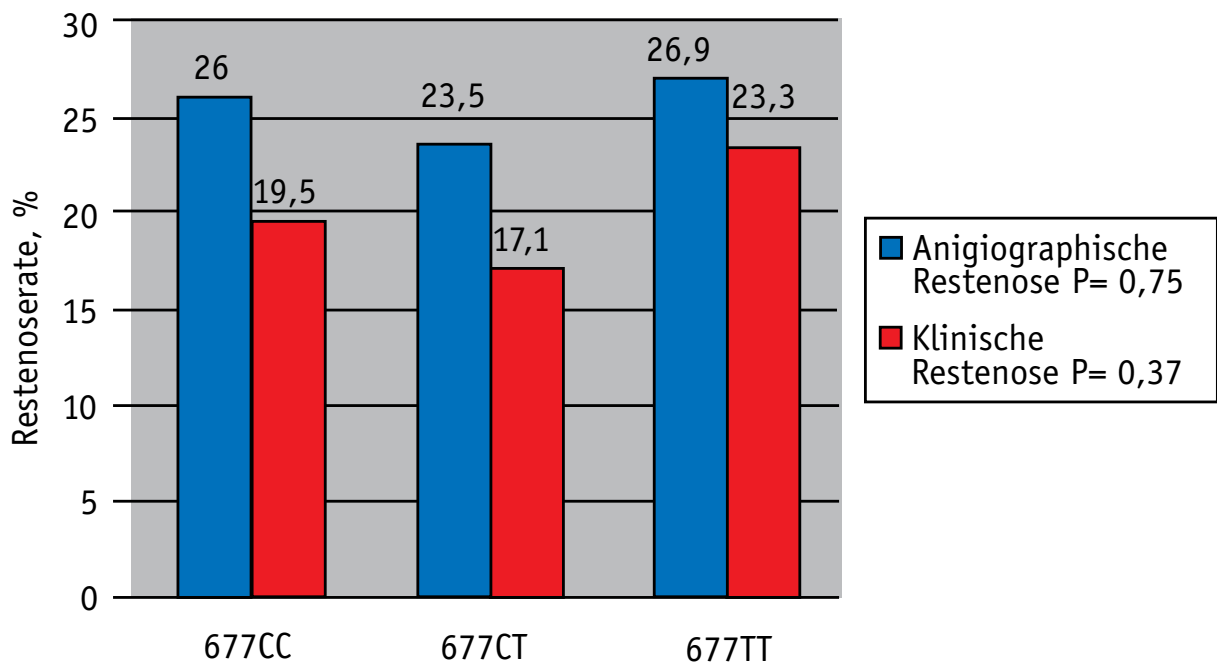
Auch bei den Interventionscharakteristika gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Genotypgruppen. Lediglich beim maximalen Ballondruck ging der Trend hin zu einem niedrigeren Druck bei den TT Allel Trägern (13.2 ± 2.6 atü vs. 12.9 ± 2.6 atü vs. 3.5 ± 3.2 atü; P=0.07).

3.8 Angiographische/ klinische Restenose in Bezug auf den MTHFR-Gen 677 C/T Polymorphismus

Tabelle 16 Quantitative Parameter der Restenose in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

	677 CC (n=262)	677 CT (n=272)	677 TT (n=67)	P
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1.83 ±0.78	1.88 ±0.83	1.92 ±0.81	0.59
Durchmesser der Stenose (%)	36.7 ±26.8	36.4 ±22.1	35.8 ±22.1	0.96
Lumenverlust (mm)	1.01 ±0.71	1.04 ±0.68	1.05 ±0.67	0.79
Verlustindex (%)	0.60 ±0.77	0.65 ±0.60	0.63 ±0.40	0.71
Angiographische Restenose (%)	68 (26.0)	64 (23.5)	18 (26.9)	0.75
Klinische Restenose (RePTCA + ACVB) (%)	51 (19.5)	47 (17.1)	16 (23.3)	0.37

Parameter sind als Mittelwerte ± S.D., bzw. als Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern angegeben.



Graphik 2 Angiographische und klinische Restenoserate bei den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

Bei 601 Patienten (75% der ursprünglich eingeschlossenen Population, n= 800), konnte eine Kontrollangiographie 6 Monate nach der Intervention durchgeführt werden. Diese Rekoronarangiographie wurde bei 262 (75.3%) der 677CC Patienten, bei 272 (75.1%) der 677CT Patienten und bei 67 (74.4%) der Patienten mit 677TT Polymorphismus durchgeführt (P = 1). Die angiographischen Restenoseraten waren 26.0 %, 23.5 % und 26.9 % bei den Trägern des 677CC, 677CT und 677TT Genotyps (P=0.75). Patienten mit den Genotypen 677CC, 677CT und 677TT hatten klinische Restenoseraten von 19.5%, 17.1% und 23.3% (P=0.37). Ein Vergleich der Gruppe von Patienten ohne angiographische Restenose (n=451) mit der Gruppe mit angiographischer Restenose zeigte (n=150), dass der Anteil von jedem MTHFR Genotyp oder jeder Genotypkombination nicht signifikant unterschiedlich innerhalb der beiden Gruppen war (P≥0.37). Die quantitativen Ergebnisse der Kontrollangiographie, wie minimaler Lumendurchmesser und Durchmesser der Stenose nach 6 Monaten, sowie Lumenverlust und Verlustindex, waren vergleichbar zwischen den CC, CT und TT Genotypen. In einer Mutivarianz Analyse bezüglich Restenose wurde die unabhängige Rolle des 677C/T evaluiert. Miteinbezogen in die Multivarianzanalyse wurden alle klinischen Eigenschaften der Patienten, die Eigenschaften der Interventionen und die läsionsbezogenen Charakteristika, die in [Tabelle 13,14,15](#) dargestellt sind. Diese Analyse zeigte allerdings keine Signifikanz für den 677C/T Polymorphismus (P=0.75).

3.9 Akute und subakute thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

Die Inzidenz thrombotischer Ereignisse während der ersten 30 Tage war in allen drei Patientengruppen selten (Tabelle 17). Subakute Stentthrombosen traten bei 0.05% der CC, bei 1.6% der CT und bei 1.1% der TT Patienten auf, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Patientengruppen festzustellen war ($P=0.39$). Die Mortalität während der ersten 30 Tage war nicht signifikant in allen drei Gruppen (1.4% bei den CC Patienten vs. 0.6% bei den CT Patienten vs. 0% bei den TT Patienten). Die kombinierte Rate von Tod und MI unterschied sich kaum zwischen den CC, CT und TT Patienten (1.7 % vs. 1.7 % vs. 2.2 %). Auch bei den Raten der dringlichen Revaskularisierung wurde keine Signifikanz erreicht (2.0 % CC Patienten vs. 1.1 % CT Patienten vs. 3.3 % TT Patienten; $P=0.31$). Beim Vergleich der verschiedenen Genotypgruppen des 677C/T SNP zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Inzidenzen von Tod oder Myokardinfarkt oder dringlicher Revaskularisierung ($P\geq 0.29$).

Tabelle 17 Klinische Ereignisse innerhalb der ersten 30 Tage nach Stentimplantation in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

	677CC (n=348)	677CT (n=362)	677TT (n=90)	P
Subakute Stentthrombose	2 (0.05)	6 (1.6)	1 (1.1)	0.39
Tod (%)	5 (1.4)	2 (0.6)	0.0	0.29
Tod oder MI (%)	6(1.7)	6 (1.7)	2 (2.2)	0.93
Dringliche Revaskularisierung (%)	7 (2.0)	4 (1.1)	3 (3.3)	0.31

Daten sind als Zahl der Patienten und in Klammern als Anteile in Prozent angegeben.

3.10 Langfristiger klinischer Verlauf (1 Jahr) nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

Tabelle 18 Klinische Ereignisse innerhalb eines Jahres nach koronarer Stentimplantation in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus

	677 CC (n=348)	677 CT (n=362)	677 TT (n=90)	P
Tod (%)	10 (2.9)	5 (1.4)	3 (0.3)	0.31
Myokardinfarkt (%)	4 (1.2)	7 (1.9)	5 (5.6)	0.03
Tod oder MI (%)	11 (3.2)	11 (3.0)	6 (6.7)	0.22

Daten sind als Zahl der Patienten und in Klammern als Anteile in Prozent angegeben

Die Patienten der CC Gruppe hatten eine höhere Mortalität (2.9%) als die Patienten der CT (1.4%) oder der TT Gruppe (0.3%); $P=0.31$. Signifikante Unterschiede zeigten sich bei der Myokardinfarktrate. Hier erlitten 1.2% der CC Patienten, 1.9% der CT Patienten und 5.6% der TT Patienten einen MI; $P = 0.03$. In den Gruppen mit 677CC, 677CT und 677TT Genotyp trat Tod oder nichttödlicher MI zu 3.2%, 3.0% und 6.7% auf ($P=0.24$, Cox Model). Dabei war der 677TT Genotyp beim Vergleich mit dem 677CC Genotyp mit einer Hazard Ratio von 2.14 (95% CI 0.79 bis 5.78) assoziiert.

3.11 Basale Charakteristika der Patienten in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

Bei den klinischen Eigenschaften der Patienten mit MTHFR 1298 Polymorphismus gab es signifikante Unterschiede im Alter (66.7 ± 10.7 AA vs. 65.1 ± 11.0 AC vs. 63.3 ± 9.2 CC; $P=0.009$), der Anteil an Frauen (25.2% AA vs. 27.2% AC vs. 21.6% CC; $P=0.52$) sowie an aktiven Rauchern (22.5% AA vs. 21.0% AC vs. 21.6% CC; $P=0.89$) zeigte keine Signifikanz. Die Häufigkeit einer arteriellen Hypertension war unter den verschiedenen Allelträgern annähernd gleich verteilt (79.7% AA vs. 79.9% AC vs. 77.3% CC; $P=0.88$). Eine Hypercholestrinämie hatten 97.6% der AA Patienten, 96.4% der AC Patienten und 95.9% der CC Patienten; $P=0.57$. Auch bei der klinischen Eigenschaft Diabetes mellitus konnte keine Signifikanz zwischen den AA, AC und CC Allelträgern festgestellt werden (19.5% vs. 24.0% vs. 24.7%; $P=0.29$). Eine instabile Angina Pectoris war bei 19.2% der AA Allel tragenden, bei 20.1% der AC Allel tragenden und bei 21.6% der CC Allel tragenden Patienten aufgetreten; $P=0.86$. Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zeigten sich innerhalb der AA, AC und CC Allel Gruppen im Hinblick auf akuten Myokardinfarkt (13.3% vs. 15.0% vs. 15.5%; $P = 0.76$) und durchgemachten Myokardinfarkt (36.3% vs. 30.8% vs. 36.1%; $P=0.28$). Bei den zurückliegenden Bypass Operationen gab es signifikante Unterschiede innerhalb der einzelnen Patientengruppen (14.4% AA vs. 8.4% AC vs. 18.6% CC; $P=0.008$). Die linksventrikuläre Funktion war bei 13.7% der AA Patienten, bei 15.0% der AC Patienten und bei 13.0% der CC Patienten eingeschränkt ($P=0.83$). Der Homocysteinwert lag in der Gruppe der AA Patienten bei 12.8 ± 5.2 $\mu\text{mo/l}$, bei den AC Patienten bei 12.2 ± 3.9 $\mu\text{mo/l}$ und den CC Patienten bei 12.0 ± 4.1 $\mu\text{mo/l}$; $P=0.14$. Sowohl bei der Folsäure (9.4 ± 3.2 ng/ml AA vs. 9.6 ± 3.2 ng/ml AC vs. 9.5 ± 3.0 ng/ml CC; $P=0.70$), bei Vitamin B12 (407 ± 277 pg/ml AA vs. 400 ± 271 pg/ml AC vs. 410 ± 253 pg/ml CC; $P=0.92$), bei Kreatinin (1.14 ± 0.24 mg/ml AA vs. 1.15 ± 0.37 mg/ml AC vs. 1.13 ± 0.21 mg/ml CC; $P=0.70$) als auch bei Lipoprotein (a) (43.6 ± 47.5 mg/dl AA vs. 38.0 ± 43.2 mg/dl AC vs. 42.3 ± 46.8 mg/dl CC; $P=0.31$) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Tabelle 19 Basale Charakteristika der Patienten in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

	1298AA (n=369)	1298AC (n=334)	1298CC (n=97)	P
Alter, Jahren	66.7 (±10.7)	65.1 (±11.0)	63.3 (±9.2)	0.009
Frauen	93 (25.2)	91 (27.2)	21 (21.6)	0.52
Arterielle Hypertension	294 (79.7)	267 (79.9)	75 (77.3)	0.88
Hypercholesterinämie	360 (97.6)	322 (96.4)	93 (95.9)	0.57
Aktive Raucher	83 (22.5)	70 (21.0)	21 (21.6)	0.89
Diabetes mellitus	72 (19.5)	80 (24.0)	24 (24.7)	0.29
Instabile Angina pectoris	71 (19.2)	67 (20.1)	21 (21.6)	0.86
Akuter Myokardinfarkt (MI)	49 (13.3)	50 (15.0)	15 (15.5)	0.76
Z.n. MI	134 (36.3)	103 (30.8)	35 (36.1)	0.28
Z.n. Bypass-Operation	53 (14.4)	28 (8.4)	18 (18.6)	0.008
Zahl der beteiligten Gefäße				0.72
Eins	96 (26.0)	116 (31.4)	157 (42.5)	
Zwei	86 (25.7)	104 (31.1)	144 (43.1)	
Drei	21 (21.6)	27 (27.8)	49 (50.5)	
Eingeschränkte linksventrikuläre Funktion, %	54.7 (13.7)	54.4 (15.0)	55.3 (13.0)	0.83
Homocystein, µmol/l	12.8 (±5.2)	12.2 (±3.9)	12.0 (±4.1)	0.14
Folsäure, ng/ml	9.4 (±3.2)	9.6 (±3.2)	9.5 (3.0)	0.70
Vitamin B12, pg/ml	407 (±277)	400 (±271)	410 (±253)	0.92
Kreatinin, mg/dl	1.14 (±0.24)	1.15 (±0.37)	1.13 (±0.21)	0.70
Lipoprotein(a), mg/dl	43.6 (±47.5)	38.0 (±43.2)	42.3 (±46.8)	0.31

Daten sind als Mittelwert (± S.D.) angegeben. Die anderen Variablen sind als Zahl der Patienten und in Klammern mit Anteilen in Prozent angegeben

3.12 Eigenschaften der Läsionen und der Interventionen in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

In Bezug auf die Verteilung der implantierten Stents auf die verschiedenen Koronararterien zeigten die verschiedenen Patientengruppen keinen signifikanten Unterschied (P=0.54). Die Stentimplantation erfolgte aufgrund einer Restenose, bei schon vorher mit einem Stent versorgten Gefäß bei 5.2% der AA Allelträger, bei 2.1% der AC Allelträger und bei 5.2% der CC Allelträger. Chronische Verschlüsse wurden zu 3.8% in der AA Patientengruppe, zu 7.2 % in der AC Patientengruppe und zu 2.1% in der CC Patientengruppe behandelt (P=0.04). Restenotische Läsionen (7.9% AA vs. 8.7% AC vs. 9.3% CC; P=0.87), sowie Komplexe Läsionen (76.7% AA vs. 76.9% AC vs. 69.1%; P=0.25) wiesen keine Signifikanz auf.

Tabelle 20 Läsionsbezogene Charakteristika in Abhängigkeit von den Genotypen des 1298A/C MTHFR Polymorphismus

	1298AA (n=369)	1298AC (n=334)	1298CC (n=97)	P
Lage der implantierten Stents				0.54
Hauptstamm	7 (1.9)	6 (1.8)	2 (2.1)	
LAD	153 (41.4)	139 (41.6)	40 (41.2)	
LCx	81 (22)	72 (21.6)	16 (16.5)	
RCA	109 (29.5)	110 (32.9)	34 (35.1)	
Venous bypass graft	19 (5.2)	7 (2.1)	5 (5.2)	
Chronische Occlusionen	14 (3.8)	24 (7.2)	2 (2.1)	0.04
Restenotische Läsionen	29 (7.9)	29 (8.7)	9 (9.3)	0.87
Komplexe Läsionen	283 (76.7)	257 (76.9)	67 (69.1)	0.25

Angaben sind als absolute Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern. LAD steht für R. interventricularis anterior, LCx für R. circumflexus und RCA für A. coronaria dextra.

Bei den Interventioncharakteristika gab es ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Genotypen. Es gab lediglich einen Trend (mit P Wert <0.2) für einen größeren Durchmesser der Stenose bei den AC Patienten (60.4 ± 18.2 AA vs. 63.4 ± 20.1 AC vs. 60.6 ± 16.2 CC; P=0.10).

Tabelle 21 Interventionsbezogene Daten in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

	1298AA (n=369)	1298AC (n=334)	1298CC (n=97)	P
Vor Stentimplantation				
Läsionslänge (mm)	12.4 \pm 6.5	12.0 \pm 6.4	13.2 \pm 8.6	0.25
Referenzdurchmesser (mm)	2.95 \pm 0.60	2.94 \pm 0.56	2.91 \pm 0.62	0.85
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1.16 \pm 0.60	1.08 \pm 0.66	1.13 \pm 0.50	0.28
Durchmesser der Stenose (%)	60.4 \pm 18.2	63.4 \pm 20.1	60.6 \pm 16.2	0.10
Während Stentimplantation				
Ballondurchmesser (mm)	3.44 \pm 0.56	3.43 \pm 0.60	3.42 \pm 0.59	0.95
Maximaler Ballondruck (atü)	13.3 \pm 2.70	12.8 \pm 2.64	13.2 \pm 2.84	0.10
Länge des gestenteten Gefäßsegments (mm)	21.6 \pm 10.3	22.6 \pm 10.5	21.3 \pm 11.3	0.32
Periprozedurale Therapie mit Abciximab	173 (46.9)	158 (47.3)	45 (46.4)	0.98
Unmittelbar nach der Stentimplantation				
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	2.92 \pm 0.58	2.88 \pm 0.57	2.80 \pm 0.60	0.19
Durchmesser der Stenose (%)	4.3 \pm 9.9	5.1 \pm 10.3	6.2 \pm 14.3	0.27

Angaben sind Mittelwerte \pm S.D., bzw absolute Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern.

3.13 Angiographische/ klinische Restenose in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

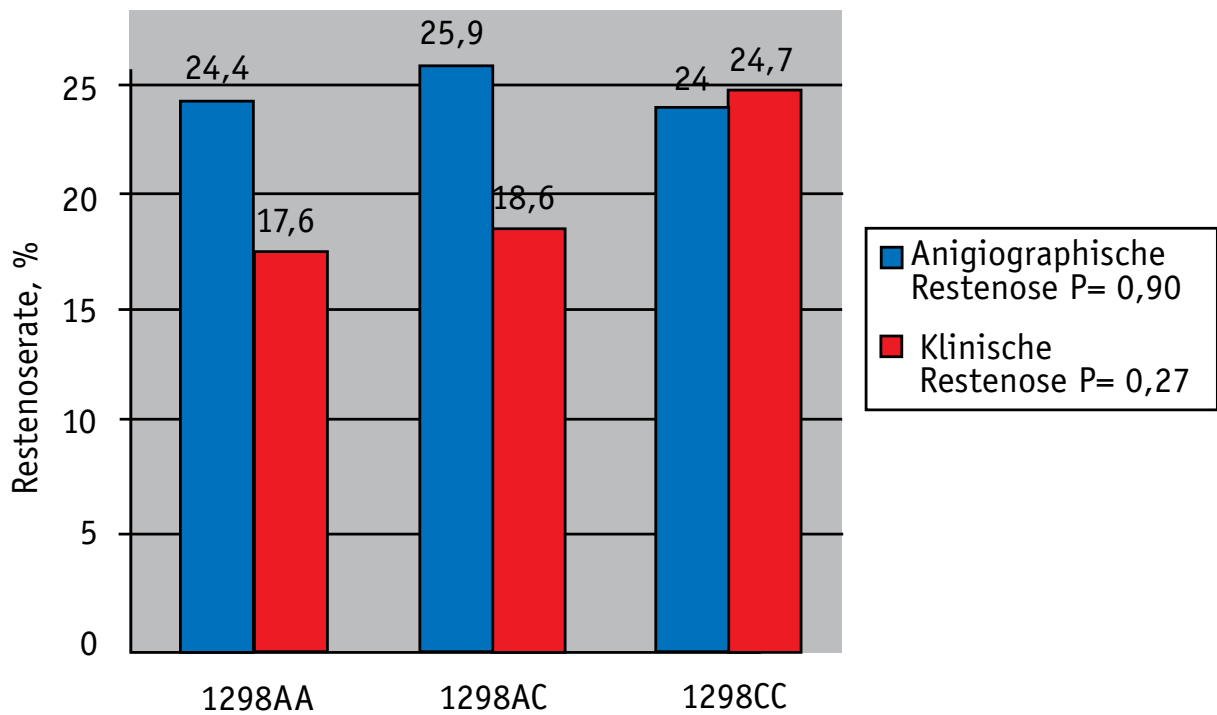
Eine Kontrollangiographie, 6 Monate nach der Intervention, wurde bei 601 (75%) der 800 in die Studie eingeschlossenen Patienten durchgeführt. Die Kontrollangiographie wurde bei 275 (74.5%) der Patienten mit AA Genotyp, bei 252 (75.1%) der Patienten mit AC Genotyp und bei 75 (77.3%) der Patienten mit CC Genotyp durchgeführt. Die dabei beobachteten Restenoseraten waren 24.4% für die Patienten mit dem AA Genotyp, 25.9% für die Patienten mit dem AC Genotyp und 24.0% für die Patienten mit dem CC Genotyp (P=0.90). Bei den klinischen Restenoseraten war folgende prozentuale Verteilung zu beobachten: Patienten mit dem Genotyp 1298AA 17.6%, mit dem Genotyp 1298AC 18.6% und mit dem Genotyp 1298CC 24.7%, (P=0.27). Die entsprechenden Daten zu den quantitativen Ergebnissen der Kontrollangiographie, wie minimaler Lumendurchmesser und Durchmesser der Stenose nach 6 Monaten, sowie Lumenverlust und Verlustindex waren vergleichbar zwischen den Genotypengruppen und können [Tabelle 22](#) entnommen werden. In einer Multivarianz Analyse bezüglich Restenose wurde die unabhängige Rolle des 1298 A/C Polymorphismus evaluiert. Miteinbezogen in die Multivarianz Analyse wurden alle klinischen Eigenschaften der Patienten, die Eigenschaften der Interventionen und die läsionsbezogenen Charakteristika, die in [Tabelle 19,20,21](#) dargestellt sind. Diese Analyse zeigte allerdings keine Signifikanz für den 1298 Polymorphismus (P=0.98).

Tabelle 22 Quantitative Parameter der Restenose in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

	1298AA (n=275)	1298AC (n=251)	1298CC (n=75)	P
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1.91 ±0.82	1.83 ±0.83	1.81 ±0.71	0.43
Durchmesser der Stenose (%)	35.9 ±22.	37.5 ±23.3	35.0 ±33.2	0.63
Lumenverlust (mm)	1.02 ±0.68	1.05 ±0.71	0.98 ±0.67	0.69
Verlustindex (%)	0.63 ±0.45	0.61 ±0.85	0.68 ±0.61	0.70
Angiographische Restenose (%)	67 (24.4)	65 (25.9)	18 (24.0)	0.90
Klinische Restenose (RePTCA + ACVB) (%)	48 (17.6)	47 (18.6)	19 (24.7)	0.27

Parameter sind als Mittelwerte ± S.D., bzw. als Anzahl der Patienten mit Prozentangaben in Klammern angegeben.

Graphik 3 Angiographische und klinische Restenoserate bei den Genotypen des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus



3.14 Akute und subakute thrombotische Ereignisse nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

Die Inzidenzen thrombotischer Ereignisse sind in [Tabelle 23](#) aufgeführt. Subakute Thrombosen traten bei 1.5% der Patienten mit AA Allelfrequenz, 0.9% der Patienten mit AC Allelfrequenz und bei 1% der Patienten mit CC Allelfrequenz auf, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zu beobachten war (P=0.84). Die Mortalität in den ersten 30 Tagen unterschied sich kaum innerhalb der Gruppen (0.8% bei den AA Patienten vs. 0.9 % bei den AC Patienten vs. 1.0% bei den CC Patienten; P=0.97). Der Vergleich der kombinierten Rate von Tod oder MI zeigte innerhalb der Gruppen AA, AC und CC keine signifikanten Unterschiede (2.2% vs. 1.2% vs. 2.1%; P=0.60). Die Raten der dringlichen Revaskularisierung waren annähernd gleich verteilt, ohne erreichen einer Signifikanz (96.2% AA vs. 97.0% AC vs. 95.9% CC; P = 0.79).

[Tabelle 23](#) Klinische Ereignisse innerhalb der ersten 30 Tage nach Stentimplantation in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

	1298AA (n=369)	1298AC (n=334)	1298CC (n=97)	P
Subakute Stentthrombose (%)	5 (1.5)	3 (0.9)	1 (1.0)	0.84
Tod (%)	3 (0.8)	3 (0.9)	1 (1.0)	0.97
Tod oder MI (%)	8 (2.2)	4 (1.2)	2 (2.1)	0.60
Dringliche Revaskularisierung (%)	355 (96.2)	324 (97.0)	93 (95.9)	0.79

Daten sind als Zahl der Patienten und in Klammern als Anteile in Prozent angegeben

3.15 Langfristiger klinischer Verlauf (1 Jahr) nach Stentimplantation in Bezug auf den MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

Die Mortalität innerhalb eines Jahres nach Stentimplantation war innerhalb der verschiedenen Patientengruppen nicht stark verschieden (1.9% AA vs. 2.7% AC vs. 2.1% CC; P=0.77). Einen Myokardinfarkt erlitten 2.4% der AA Allelträger, 1.8% der AC Allelträger und 1.0% der CC Allelträger, P-Wert 0.44. Die kombinierte Inzidenz von Tod oder Myokardinfarkt ließ keine Signifikanz erkennen (3.5 % AA vs. 3.9 % AC vs. 2.1 % CC; P= 0.71 Cox model). Der 1298CC Genotyp war im Vergleich zum 1298AA Genotyp mit einer Hazard Ratio von 0.59 (95% CI 0.13 bis 2.59) assoziiert.

Tabelle 24 Klinische Ereignisse innerhalb eines Jahres nach koronarer Stentimplantation in Abhängigkeit von den Genotypen des MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus

	1298AA (n=369)	1298AC (n=334)	1298CC (n=97)	P
Tod (%)	7 (1.9)	9 (2.7)	2 (2.1)	0.77
Myokardinfarkt (%)	9 (2.4)	6 (1.8)	1 (1.0)	0.44
Tod oder MI (%)	13 (3.5)	13 (3.9)	2 (2.1)	0.69

Daten sind als Zahl der Patienten und in Klammern als Anteile in Prozent angegeben

4 Diskussion

4.1 Die Ziele und Ergebnisse dieser Arbeit im Überblick

Ziel dieser retrospektiven Studie ist es, anhand einer umfassenden Patientenpopulation ($n = 800$), einen möglichen Zusammenhang zwischen Homocysteinwerten bzw. 677C/T- und 1298A/C Polymorphismen und dem Auftreten einer angiographischen und/oder klinisch definierten Restenose nach koronarer Stentimplantation zu untersuchen.

Desweiteren wurde zum einen untersucht, in wieweit die Homocysteinwerte und die beiden Polymorphismen (677C/T und 1298A/C) Einfluss auf die klinischen Ereignisse (subakute Stentthrombose, Tod, Myokardinfarkt) im Frühverlauf (30 Tage) nach koronarer Stentimplantation haben. Zum anderen untersuchte diese Arbeit, ob eine Assoziation zwischen Homocysteinwerten und den beiden Polymorphismen (677C/T und 1298A/C) in Bezug auf die thrombotischen Ereignisse (Tod und MI) während eines längeren Beobachtungszeitraumes (12 Monate) nach koronarer Stentimplantation besteht.

Zusätzlich evaluiert diese Studie die Abhängigkeit der Folat-, Vitamin B12- und Kreatininspiegel von der Homocysteinkonzentration.

Zu den wichtigsten Befunden zählt, dass es keinen Zusammenhang zwischen erhöhten Homocysteinwerten bzw. den 677C/T und 1298A/C Polymorphismen, in Bezug auf die angiographische und/oder klinische Restenoserate nach koronarer Stentimplantation gibt.

Darüberhinaus prädisponieren weder die Homocysteinwerte, noch die beiden Polymorphismen (677C/T und 1298A/C) für das Auftreten thrombotischer Früh- (innerhalb der ersten 30 Tage) oder Spätkomplikationen (12 Monate nach Stentimplantation).

Desweiteren beschreibt diese Arbeit einen signifikant höheren Homocysteinwert beim MTHFR 677TT Genotyp im Vergleich mit den MTHFR 677CT und 677CC Genotypen.

Diese Studie zeigt begleitend, dass in der Patientengruppe mit erhöhtem Homocystein signifikant niedrigere Folat- und Vitamin B12-Spiegel sowie signifikant erhöhte Kreatininspiegel, im Vergleich zu der Gruppe mit niedrigem Homocystein, auftreten. Diese Ergebnisse sind übereinstimmend mit Arbeiten von Kang et al., Lindenbaum et al., Stabler et al. und Blom et al. (Kang et al. 1987; Lindenbaum et al. 1988; Stabler et al. 1988; Blom et al. 2002).

4.2 Thrombotische Frühkomplikationen in Bezug auf Homocysteinwerte und MTHFR-Genpolymorphismen

Im Frühverlauf nach Stentimplantation ist eine häufige Komplikation die Entstehung thrombotischer Ereignisse. Hierbei wird der Thrombozytenaktivierung eine wichtige Rolle zugeschrieben. Ein chronisch erhöhtes Homocystein steht im Verdacht, die Atherothrombose auf verschiedene Art und Weise zu fördern (siehe 1.5). So beschreiben Nappo et al. eine positive Korrelation bezüglich erhöhtem Homocystein und gestörter endothelialer Funktion (Nappo et al., 1999).

In dieser Arbeit konnte kein signifikanter Einfluss auf die klinischen Ereignisse der ersten 30 Tage, weder in Bezug auf die Homocysteinkonzentration, noch in Bezug auf einen der beiden Polymorphismen 677C/T oder 1298A/C, festgestellt werden.

Ein möglicher Grund ist, dass die Rate an Frühkomplikationen bei dem untersuchten Patientenkollektiv relativ niedrig war (stets unter 2%). Dies lässt sich auf den systemischen Einsatz antithrombozytärer Medikamente zurückführen. In zahlreichen klinischen Studien (Schömig et al., 1996; Lefkowitz und Topol, 1997; The EPISTENT Investigators, 1998) wurde gezeigt, dass das Auftreten früher thrombotischer Ereignisse erheblich gesenkt werden kann, indem man eine kombinierte antithrombozytäre Therapie verfolgt (Acetylsalicylsäure und Ticlopidin ggf. ergänzt durch einen GP IIb/IIIa- Antagonisten wie Reopro), die die Thrombozytenfunktion nach Stentimplantation stark beeinflusst (Gawaz et al. 1998). Durch die konsequente antithrombozytäre Therapie und die daraus folgende niedrige Rate an thrombotischen Frühkomplikationen ist es denkbar, dass sich ein möglicherweise relativ schwach ausgeprägter Einfluss des Homocysteins auf die thrombotischen Ereignisse der ersten 30 Tage nicht erkennen lässt.

4.3 Homocysteinwerte und Restenose nach Koronarintervention

Experimentelle und klinische Versuche zeigen eine mögliche Verbindung zwischen hohen Homocysteinwerten und Restenose nach Koronarintervention (Refsum et al., 1998; Welch et al. 1998; Eikelboom et al., 1999; Thambyrajah et al. 2000; Schnyder et al., 2002; Schnyder und Roffi, 2002; The Homocysteine Studies Collaboration, 2002).

Für die Ausbildung einer Restenose nach koronarer Stentimplantation konnten prozedurale (u.a. die Implantation zweier oder mehrerer Stents, die Länge des mit einem Stent behandelten Gefäßabschnitts) und klinische Prädiktoren (Auftreten von Diabetes mellitus bei den Patienten) identifiziert werden (Kastrati et al., 1997). Die traditionellen Risikofaktoren, wie z.B. das Rauchen oder die Serumlipide, scheinen in der Restenoseentwicklung aber nicht von Bedeutung zu sein (Kotamaki et al., 1996; Johansson et al., 1991).

Die pathogenen Mechanismen für die Restenosierung sind die neu gebildete Intima (Neointima) mit der Bildung glatter Gefäßmuskelzellen. (Grewe et al., 1997; Kearney et al., 1997; Farb et al., 1999 ;).

Es konnte belegt werden, dass Homocystein einen fördernden Einfluss auf die Neointima-bildung im Restenoseprozess, einschließlich Entzündungsreaktion und Proliferation glatter Muskelzellen, hat (Welch et al., 1998; Thambyrajah et al., 2000).

In dieser Studie konnte weder ein signifikanter Zusammenhang zwischen Homocysteinkonzentration und angiographischer Restenoserate noch zwischen klinischer Restenoserate festgestellt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Homocysteinwerte in der Patientengruppe mit angiographischer Restenose nicht signifikant unterschiedlich waren im Vergleich mit der Patientengruppe ohne angiographische Restenose ($12.1 \pm 3.7 \mu\text{mol/l}$ vs. $12.7 \pm 4.9 \mu\text{mol/l}$, $P=0.19$). Desweiteren lag die Notwendigkeit für eine Reintervention auf Grund einer Restenose innerhalb des ersten Jahres nach Stentimplantation bei 18.8% in der Patientengruppe mit niedrigem Homocystein und bei 19.0% in der Patientengruppe mit hohem Homocystein ($P=0.93$).

Zu einem ähnlichen Ergebnis kam eine österreichische Arbeitsgruppe, die in ihre prospektive Studie mit Stents behandelte Patienten miteinbezog. Genser et al. konnten zeigen, dass weder die Univarianz- noch die Multivarianzanalyse signifikante Unterschiede zwischen den Patienten mit oder ohne Restenose in Bezug auf Homocystein aufweist (Genser et al., 2002). Ebenso fand eine Studie aus Israel mit 55 Patienten, bei der 42% nur mit PTCA und 58% mit PTCA und Stent behandelt wurden, keine positive Korrelation zwischen Homocystein und Restenose (Hodish et al., 2002).

Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich bei der Multivarianzanalyse, die alle basalen- und läsionbezogenen Charakteristika der Patienten miteinbezieht, keine unabhängige Assoziation für Homocystein und Restenose ($P=0.15$).

In der Arbeit von Morita et al. in der eine positive Korrelation zwischen Homocystein und der Restenoserate gefunden werden konnte (Morita et al., 2000), wurde die Plasma Homocystein Konzentration erst beim follow up Angiogramm bestimmt. Da nun aber die Homocysteinwerte nach einem koronaren Event steigen (Egerton et al., 1996) ist es möglich, dass die Homocysteinwerte in der Restenosegruppe erhöht waren, ohne dass dies in direktem Zusammenhang mit dem Restenoseprozess stand. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb kurz vor der Intervention der Homocysteinwert bei den Patienten bestimmt.

In der Patientenpopulation von Morita et al. waren nur Männer eingeschlossen. In der vorliegenden Studie lag der Frauenanteil bei einem Viertel. Es muss berücksichtigt werden, dass gesunde Männer im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Frauen einen um 21% höheren Homocysteinwert aufweisen (Lussier-Cacan et al., 1996; Lien et al., 1997). Aus diesem Grund könnte das Restenoserisiko in Arbeiten mit großem Männeranteil oder ausschließlich männlicher Population von vornerein erhöht sein. Mehilli et al. fanden heraus, dass die Gefahr für die Ausbildung einer Restenose nach Stentimplantation bei Frauen wesentlich geringer ist als bei Männern (Mehilli et al., 2003). Dieses Ergebnis von Mehilli et al. könnte darauf hindeuten, dass man möglicherweise Studien in Bezug auf Homocystein und Restenose für Männer und Frauen getrennt durchführen sollte.

In dieser Arbeit konnte kein Zusammenhang zwischen Homocystein und angiographischer/klinischer Restenose gefunden werden. Ein möglicher Grund hierfür wäre, dass sich der Einfluss erhöhter Homocysteinsspiegel erst nach dem Zeitraum von mehr als 12 Monaten auf den Restenose-

prozess ausübt. Bei mehreren etablierten Risikofaktoren für atherosklerotische Läsionen, wie z.B. Hypertonus (Bach et al., 1994; Buffon et al., 1999), Rauchen (Violaris et al., 2000), oder Serum Lipide (Jorgensen et al., 1999), macht sich der Einfluss auf die Restenose erst nach einem Zeitraum von mindestens 6 Monaten bemerkbar.

4.4 MTHFR-Genpolymorphismen und Restenose nach Kronarintervention

Der MTHFR-Gen 677C/T Polymorphismus kodiert für das Enzym MTHFR, welches eine reduzierte Enzymaktivität besitzt (Frosst et al. 1995). Wie in Studien über den MTHFR 677C/T Polymorphismus gezeigt werden konnte, steht dieser in einem Zusammenhang mit erhöhten Homocysteinwerten (Brattström et al., 1998; Kölling et al., 2004). Wohingegen der 1298 A/C keinen Einfluss auf die Homocysteinwerte im Blutplasma hat (Kölling et al., 2004).

Erhöhte Homocysteinwerte tragen über verschiedene pathogene Wirkungsmechanismen zur Koronarsklerose bei (siehe Tab. 2). Frosst et al. stellten fest, dass der 677C/T Polymorphismus ein Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen ist (Frosst et al., 1995). Dieses Ergebnis wurde von einigen Studien unterstützt (Kluijtmans et al., 1996; Gallagher et al., 1996; de Franchis et al., 1996), andere Studien konnten dies nicht bestätigen und fanden keinen Zusammenhang zwischen 677C/T Polymorphismus und kardiovaskulären Erkrankungen (Ma et al., 1996; Schmitz et al., 1996; Adams et al., 1996; Wilcken et al., 1996; Deloughery et al., 1996). Eine Studie von Kölling et al. mit einer Studienpopulation von 2121 Patienten konnte zeigen, dass weder der 677C/T noch der 1298A/C Polymorphismus mit angiographisch bewiesener koronarer Herzerkrankung im Zusammenhang steht. Die beiden Polymorphismen stellen somit keine unabhängigen Risikofaktoren dar (Kölling et al., 2004).

In der speziellen Frage, ob der 677C/T Polymorphismus für die Restenose nach Stentimplantation prädisponiert, konnte in der vorliegenden Arbeit keine Assoziation gefunden werden.

In einer prospektiven Studie aus Canada, die 156 Patienten mit PTCA (31% mit Stent behandelt) einschloss, wird über eine fehlende Assoziation des 677C/T SNP's mit Restenose berichtet (Miner et al., 2000). Ebenso konnte in einer Studie mit 197 australischen Patienten kein Zusammenhang zwischen Restenose und 677C/T Polymorphismus nach Ballonangioplastie gefunden werden (van Bockxmeer et al., 1997). Obwohl diese Studie unsere Ergebnisse widerspiegelt, muß man sie doch differenziert betrachten, da nach Ballonangioplastie andere Mechanismen zur Restenose führen, als bei der Implantation von Stents (Hoffmann et al., 1996; Mintz et al., 1996).

In Bezug auf den 1298A/C Polymorphismus und Restenose besteht weder bei den angiographischen, noch bei den klinischen Restenoserraten eine signifikante Assoziation. Soweit bekannt ist, wurde der Einfluss des 1298A/C Polymorphismus auf die Restenose bisher weder nach Ballonangioplastie, noch nach Stentimplantation untersucht.

Auch in der Multivarianzanalyse, die alle basalen-und läsionbezogenen Charakteristika der

Patienten miteinbezieht, zeigt sich keine unabhängige Assoziation für die beiden Polymorphismen und Restenose (677C/T, $P=0.75$; 1298A/C, $P=0.98$).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass weder der 677C/T noch der 1298A/C Polymorphismus allein noch die Kombination aus beiden mit einer Restenose nach Stentimplantation assoziiert ist. Jedoch ist die Pathogenese nach koronarer Stentimplantation in Bezug auf die untersuchten Polymorphismen sehr komplex und nicht alle daran beteiligten Faktoren sind bisher verstanden.

4.5 Beziehung zwischen MTHFR-Genpolymorphismen und Plasmahomocystein- und Plasmafolatkonzentrationen

In dieser Studie kann gezeigt werden, dass der MTHFR-Gen 677TT Polymorphismus mit signifikant höheren Plasmahomocysteinwerten einhergeht (677CC $12.0 \pm 3.9 \mu\text{mol/l}$; 677CT $12.5 \pm 4.5 \mu\text{mol/l}$; 677TT $14.4 \pm 6.5 \mu\text{mol/l}$; $P < 0.001$). Invers verhalten sich dazu die Folsäurewerte (677CC $10.0 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$; 677CT $9.3 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$; 677TT $9.0 \pm 3.6 \text{ ng/ml}$; $P = 0.003$). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen mit einer Arbeit von Deloughery et al. überein, der bei Patienten welche homozygot für die 677C/T Mutation sind, ebenfalls erhöhte Homocysteinwerte mit niedrigen Folatwerten fand (Deloughery et al., 1996).

In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass Patienten mit dem 677TT Genotyp signifikant höhere Homocysteinwerte hatten, als Patienten mit dem 677CC oder 677CT Genotyp (Frosst et al. 1995, Jacques et al. 1996, Klerk et al. 2002). In einer großen prospektiven Studie, die 1412 Patienten mit angiographisch definierter KHK einschloss, konnte ein Zusammenhang zwischen MTHFR 677TT Genotyp und Plasmahomocysteinwerten erkannt werden (Anderson et al., 2000). Eine Metaanalyse von Brattstrom et al. zeigte, dass bei Trägern des 677TT Genotyps die Homocysteinwerte im Schnitt um 25% höher lagen, als bei den Trägern des 677CC Genotyps, jedoch war das kardiovaskuläre Risiko nicht erhöht (Brattstrom et al., 1998).

Andere fanden, dass das Homocystein bei denjenigen 677TT Genotyp Patienten ansteigt, die unter Folsäuremangel leiden (van der Put et al., 1995; Harmon et al., 1996; Ma et al., 1996; Jacques et al., 1996).

Beim MTHFR 677TT Genotyp ist die Folsäurebereitstellung durch die MTHFR im Körper behindert und es kommt als Folge davon zu erhöhten Homocysteinwerten, was wiederum zu den atherosklerotischen Veränderungen im Gefäß führt. Eine Metaanalyse konnte zeigen, dass der MTHFR 677TT Genotyp mit höherem Risiko für koronare Herzerkrankung verbunden ist, besonders bei niedrigen Folsäurewerten (Klerk et al., 2002).

In einer Studie mit 90 Patienten mit KHK konnte eine tägliche Folsäuredosis von 5 mg die Homocysteinkonzentration senken, zusätzlich wurde ein Trend hin zu verbesserter endothelialer Funktion beobachtet (Thambyrajah et al., 2001). Jacques et al. konnten in einer Studie zeigen, dass der mittlere Homocysteinwert und das Vorkommen von Homocysteinspitzen signifikant gesenkt wurde,

indem die Patienten mit Folsäure angereicherte Getreideprodukte zu sich nahmen (Jacques et al., 1999). Auch eine norwegische Arbeit konnte zeigen, dass eine Folatsubstitution erhöhte Homocysteinkonzentrationen deutlich senkt oder gar normalisiert (Guttormsen et al., 1996). Girelli et al. fanden beim MTHFR 677C/T Genotyp, zusammen mit Plasmafolatkonzentrationen unter 11,5 nmol/l, erhöhte Homocysteinwerte (Girelli et al., 1998). Sie bestätigen damit Ergebnisse von Guttormsen et al., der bei Plasmafolatwerten unter 3.7 nmol/l auch bei den heterozygoten Patienten erhöhte Homocysteinwerte fand (Guttormsen et al., 1996).

Bei keinem der MTHFR 1298A/C Genotypen wurden signifikant höhere Homocysteinwerte gefunden. In einer niederländischen Studie über Neuralrohrdefekte prädisponierte weder der homozygote noch der heterozygote MTHFR 1298A/C Polymorphismus für signifikant höhere Homocystein-konzentrationen oder signifikant niedrigeres Plasmafolat (van der Put et al., 1998). Gleiches stellte eine Arbeit aus Polen fest (Szczeklik et al., 2001).

4.6 Thrombotische Spätkomplikationen (Einjahresergebnis)

Die gefährlichste Komplikation nach koronarer Stentimplantation ist das Auftreten eines thrombotischen Stentverschlusses. Das Risiko hierfür ist innerhalb der ersten 30 Tage am größten (Farb et al. 1999). Auch nach dem Absetzen der antithrombozytären Medikation kann es noch zu thrombotischen Spätkomplikationen kommen. Schwartz et al. konnten zeigen, dass es auch 10 Monate nach der Intervention zu einer Thrombose im Stentbereich kommen kann (Schwartz, 1998). Untersuchungen deuten darauf hin, dass das neue Endothel, welches sich im Stentbereich gebildet hat nicht in der Lage ist seine normale Funktion zu erfüllen (Radomski et al. 1987).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Mortalität und das kombinierte Auftreten von Tod und Myokardinfarkt während des ersten Jahres nach Stentimplantation als thrombotische Spätkomplikation gewertet und als sekundärer Endpunkt analysiert. Natürlich ist es möglich, dass diese Ereignisse auch auf thrombotischen Vorgängen in anderen Koronararterien, außerhalb der behandelten Läsion beruhen.

Diese Arbeit zeigt, dass weder erhöhte Homocysteinwerte noch einer der beiden Polymorphismen (677C/T oder 1298A/C), noch deren Kombination im Zusammenhang mit Tod oder Myokardinfarkt während des ersten Jahres nach Stentimplantation stehen.

4.7 Stellenwert der Ergebnisse

Es ist verfrüht, aus den erhobenen Daten eine endgültige Aussage über die negative Korrelation zwischen Homocysteinwerten bzw. MTHFR-Gen 677C/T und 1298A/C Polymorphismen und dem klinischen Verlauf nach Stentimplantation, abzuleiten. Hierzu sind weiterführende klinische und experimentelle Untersuchungen notwendig. Interessant in diesem Zusammenhang wäre sicherlich den Beobachtungszeitraum auf mehr als ein Jahr auszudehnen. Möglicherweise haben chronisch erhöhte Homocysteinwerte Auswirkungen auf den Restenoseprozess und dieser verlagert sich nur auf einen späteren Zeitpunkt, als den in dieser Arbeit untersuchten.

In die vorliegende Studie wurden 800 Kaukasier eingeschlossen. Auf Grund der Tatsache, dass der 677 C/T und der 1298 A/C Polymorphismus zwischen verschiedenen Volksgruppen variieren kann, lassen sich die Ergebnisse dieser Studie nicht auf andere ethnische Gruppen (mit abweichender Genotypenverteilung) übertragen. In einer Studie von Esfahani et al., die hauptsächlich weibliche Patienten einschloss, wurden die Prävalenzen des 677TT Genotyps an vier verschiedenen ethnischen Gruppen untersucht. Die Prävalenz für den 677TT Genotyp lag bei mexikanischen Frauen bei 18.1%, bei Frauen der weissen Rasse bei 7.2%, bei asiatischen Frauen bei 3.8% und bei Frauen afrikanischen Ursprungs kam der 677TT Genotyp nicht vor (Esfahani et al., 2003).

Zusätzlich muß darauf hingewiesen werden, dass eine Kontrollangiographie nur bei 75% der ursprünglich eingeschlossenen 800 Patienten durchgeführt werden konnte. Hierdurch könnte die Analyse, bezüglich der angiographischen Restenose, eingeschränkt werden. Jedoch war die Homocysteinkonzentration bzw. die Polymorphismenverteilung in der Patientengruppe mit Kontrollangiographie nicht unterschiedlich zu der Gruppe ohne Kontrollangiographie, was einen Fehler dieser Art eher unwahrscheinlich macht.

Diese Arbeit beinhaltet leider keine eigenen Untersuchungen über den Pathomechanismus des Homocysteins, bezüglich Artherosklerose bzw. Restenose. Hierbei bezieht sich diese Arbeit auf vorhandene Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen, die eine Reihe von Hinweisen liefern, dass Homocystein ein atherosklerotischer Faktor ist (Boushey et al., 1995; Arnesen et al., 1995).

5 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des Homocysteins bzw. des MTHFR-Gen 677C/T und des 1298A/C Polymorphismus auf die Restenoserate nach Stentimplantation untersucht. An dem gut charakterisierten Kollektiv dieser Studie von 800 Patienten, mit angiographisch gesicherter KHK, wurden umfangreiche klinische sowie angiographische Daten und Laborwerte vor, während und über einen langen Zeitraum (bis zu einem Jahr) nach der Intervention, erhoben.

Die koronare Stentimplantation ist das am häufigsten verwendete interventionelle Therapieverfahren bei der Behandlung der koronaren Herzkrankheit. Es gibt aber Faktoren, die das Verfahren der Stentimplantation limitieren. Dazu zählen das Auftreten von thrombotischen Ereignissen im Anschluss an die Intervention und die durch eine überschießende Proliferation und Matrixbildung glatter Gefäßmuskelzellen bedingte Restenose.

Diese Studie untersuchte den Einfluss der Homocysteinkonzentration und der beiden Polymorphismen 677C/T und 1298A/C auf den angiographischen und klinischen Verlauf nach koronarer Stentimplantation. 800 Patienten mit symptomatischer KHK, bei denen eine Koronarstentimplantation erfolgte, wurden auf Homocysteinwert und MTHFR-Gen 677C/T und 1298A/C Polymorphismus untersucht.

Die klinischen Ereignisse (Tod, Myokardinfarkt und Revaskularisierung des Zielgefäßes) wurden dokumentiert. Eine Kontrollangiographie 6 Monate nach Stentimplantation, wurde bei 76,5% der Patienten mit niedrigem Homocysteinstatus ($\leq 11.6 \mu\text{mol/l}$) und bei 73.8% der Patienten mit hohem Homocysteinstatus ($\geq 11.6 \mu\text{mol/l}$) durchgeführt. Die Kontrollangiographierate lag bei dem 677CC Genotyp bei 75.3%, bei dem 677CT Genotyp bei 75.1% und bei dem 677TT bei 74.4% ($P=1$). Ähnlich verteilt war die Angiographierate bei dem 1298A/C Polymorphismus: 1298AA 74.5%, 1298AC 75.1% und bei dem 1298CC 77.3% ($P=0.98$).

Als primärer Endpunkt galt das Auftreten einer Restenose. Sekundäre Endpunkte waren die Mortalität während der ersten 12 Monate und die kombinierte Inzidenz von Tod und Myokardinfarkt während der ersten 12 Monate.

Zusammenfassend ergibt sich aus der Studie, dass ein erhöhtes Plasmahomocystein nicht für ein größeres Risiko der Restenose prädisponiert.

Die Studie zeigt, dass weder der MTHFR-Gen 677C/T noch der MTHFR-Gen 1298A/C Polymorphismus mit der Restenose nach Stentimplantation im Zusammenhang steht. Auch die Kombination aus beiden in der Multivarianzanalyse brachte keine Signifikanz.

Die angiographische Restenoserate war beim Vergleich der Patientengruppen mit niedrigem bzw. hohem Homocystein nicht signifikant verschieden ($P=0.62$). Auch die klinische Restenoserate war weder in der Gruppe der Patienten mit hohem noch mit niedrigem Homocystein signifikant erhöht ($P=0.93$). Folat war in der Patientengruppe mit Homocystein $>11.6 \mu\text{mol/l}$ im Vergleich zur Patientengruppe mit Homocystein $\leq 11.6 \mu\text{mol/l}$ signifikant niedriger ($8.4 \pm 2.9 \text{ ng/ml}$ vs. $10.6 \pm 3.0 \text{ ng/ml}$; $P<0.001$).

Auch bei den beiden MTHFR-Gen 677C/T und 1298A/C Polymorphismen konnte weder in Bezug auf die angiographische ($P=0.75$ vs. $P=0.90$) noch auf klinische Restenoserate ($P=0.37$ vs. $P=0.27$)

eine Signifikanz festgestellt werden. Die Studie zeigt, dass die 677TT Patienten den höchsten Homocysteinwert im Vergleich zu den 677CC bzw. 677CT Patienten hatten ($14.4 \pm 6.5 \mu\text{mol/l}$ vs. $12.0 \pm 3.9 \mu\text{mol/l}$ vs. $12.5 \pm 4.5 \mu\text{mol/l}$; $P < 0.001$), die Plasmafolatkonzentrationen korrelierten negativ (677CC $10.0 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$ vs. 677CT $9.3 \pm 3.1 \text{ ng/ml}$ vs. 677TT $9.0 \pm 3.6 \text{ ng/ml}$; $P = 0.003$).

In Bezug auf die klinischen Ereignisse (dringliche Revaskularisierung, Tod, Myokardinfarkt) im Frühverlauf (30 Tage) nach koronarer Stentimplantation konnte weder in der Gruppe mit niedrigem Homocystein, noch in der Gruppe mit hohem Homocystein signifikante Unterschiede gefunden werden ($P \geq 0.43$). Gleichzeitig konnten keine Zusammenhänge zwischen klinischen Ereignissen (innerhalb der ersten 30 Tage) bei den unterschiedlichen Genotypgruppen des 677C/T ($P \geq 0.29$) und des 1298A/C ($P \geq 0.07$) Polymorphismus gefunden werden.

Die kombinierte Inzidenz von Tod und Myokardinfarkt war 2.5% in der Gruppe mit niedrigem Homocystein und 4.5% in der Gruppe mit hohem Homocystein ($P = 0.14$ Cox Model). Tod oder Myokardinfarkt trat bei 3.2% der 677CC Genotypen, bei 3.0% der 677CT Genotypen und bei 6.7% der 677TT Genotypen auf ($P = 0.24$ Cox Model). Auch bei den MTHFR-Gen 1298 Polymorphismen zeigte sich keine Signifikanz bezüglich der Raten von Tod oder Myokardinfarkt (1298AA 3.5%; 1298AC 3.9%; 1298CC 2.1%; $P = 0.71$ Cox Model)

Desweiteren konnten folgende Befunde erhoben werden: Vitamin B12 war in der Patientengruppe mit Homocystein $>11.6 \mu\text{mol/l}$ im Vergleich zur Patientengruppe mit Homocystein $\leq 11.6 \mu\text{mol/l}$ signifikant niedriger ($361 \pm 236 \text{ pg/ml}$ vs. $447 \pm 296 \text{ pg/ml}$; $P < 0.001$). Ebenfalls konnte diese Arbeit eine Signifikanz bezüglich Kreatinin beim Vergleich der beiden Patientengruppen mit hohem oder niedrigen Homocystein zeigen ($1.22 \pm 0.36 \text{ mg/dl}$ vs. $1.07 \pm 0.19 \text{ mg/dl}$; $P < 0.001$).

Weder erhöhte Plasmahomocysteinwerte noch die beiden Polymorphismen (MTHFR 677C/T und MTHFR 1298A/C) prädisponieren für ein erhöhtes Risiko der Restenose nach Stentimplantation in einem Kollektiv von 800 Patienten. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich der Restenoseprozess auf einen späteren Zeitpunkt als den in dieser Arbeit untersuchten, verschiebt. Der Pathomechanismus von Homocystein in Bezug auf Atherosklerose wird in der Literatur kontrovers diskutiert und ist noch nicht vollends geklärt. Daher sind weiterführende experimentelle und klinische Studien zum Thema Homocystein und Restenose notwendig, bevor sichere Aussagen zu diesem Thema gemacht werden können.

6 Literaturverzeichnis

Adams, M., Smith, P.D., Martin, D.

Genetic analysis of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for myocardial infarction. *Q.J. Med.* 89 (1996) 437-44.

Agema, W.R., Jukema, J.W., Pimstone, S.N., Kastelein, J.J.

Genetic Aspects of restenosis after percutaneous coronary interventions: towards more tailored therapy. *Eur Heart J.* 22(22) (2001) 2058-2074.

Akar, N., Akar, E., Akcay, R., Avcu, F., Yalcin, A., Cin, S.

Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T, 1298 A-C, and 1317 T-C on factor V 1691 mutation in Turkish deep vein thrombosis patients. *Thromb Res.* 97 (2000) 163-167.

Allen, R.H., Lindenbaum, J., Stabler, S.P.

High prevalence of cobalamin deficiency in the elderly. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 107 (1995) 37-45.

Anderson, H.V.

Restenosis after coronary angioplasty. *Dis Month.* 93 (1993) 613-70.

Anderson, J.L., Muhlstein, J.B., Horne, B.D., Carlquist, J.F., Bair, T.L., Madsen, T.E., Pearson, R.R.

Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation.* 102 (2000) 1227-1232.

Ardissino, D., Mannuci, P.M., Merlini, P.A., Duca, F., Fetichev, R., Tagliabue, L., Tubaro, M., Galvani, M., Ottani, F., Ferrario, M., Corral, J., Margaglione, M.

Prothrombotic genetic risk factors in young survivors of myocardial infarction. *Blood.* 94 (1999) 46-51.

Arnesen, E., Refsum, H., Bonna, K.H., Ueland, P.M., Forde, O.H., Nordrehaug, J.E.

Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol.* 24 (1995) 704-709.

Arruda, V.R., Von Zuben, P.M., Chiapirini, L.C., Annichino-Bizzachi, J.M., Costa, F.F.

The mutation ala-677-val in the methylenetetrahydrofolate reductase gene as a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 77 (1997) 818-21.

Bach, R., Jung, F., Kohsiek, I., Ozbek, C., Spitzer, S., Scheller, B., Dyckmans, J., Schieffer, H.

Factors affecting the restenosis rate after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Thromb Res.* 74 (1994) 55-67.

Bauters, C.T., Isner, J.M.

The biology of restenosis. *Prog Cardiovasc Dis.* 40 (1997) 107-116.

Bauters, C., Hubert, E., Prat, A., Bougrimi, K., Van Belle, E., McFadden, E.P.

Predictors of restenosis after coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol.* 31 (6) (1998) 1291-1298.

- Blom, H.J., De Vriese, A.S.
Why are Homocysteine levels increased in kidney failure? A metabolic approach.
J Lab Clin Med. 139 (2002) 262-268.
- Blundell, G., Jones, B.G., Rose, F.A., Tudball, N.
Homocysteine mediated endothelial cell toxicity and its amelioration.
Atherosclerosis. 122 (1996) 163-172.
- Boers, G.H.J., Fowler, B., Smals, A.G.H., Trijbels, F.J.M., Leermakers, A.I., Kleijer, W.J., Kloppenborg, P.W.C.
Improved identification of heterozygotes for homocystinuria due to cystathionine synthase deficiency by the combination of methionine loading and enzyme determination in cultured fibroblasts.
Hum Genet. 69 (1985) 164-169.
- Bostom, A.G., Culleton, B.F.
Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease.
J Am Soc Nephrol. 10 (1999) 891-900.
- Botto, L., Yang, Q.
5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review.
Am J Epidemiol. 151 (2000) 862-877.
- Boushey, C.J., Beresford, S.A.A., Omenn, G.S., Motulsky, A.G.
A quantitative assessment of plasma Homocysteine as a risk factor for vascular disease: Probable benefits of increasing folic acid intakes.
JAMA. 274 (1995) 1049-57.
- Brattstrom, L., Wilcken, D.E., Ohrvik, J., Brudin, L.
Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis.
Circulation. 98 (1998) 2520-2526.
- Buffon, A., Liuzzo, G., Biasucci, L.M., Pasqualetti, P., Ramazotti, V., Rebuzzi, A.G., Crea, F., Maser, A.
Preprocedural serum levels of C-reactive protein predict early complications and late restenosis after coronary angioplasty.
J Am Coll Cardiol. 34 (1999) 1512-1521.
- Casscells, W.
Migration of smooth muscle and endothelial cells: critical events in restenosis.
Circulation. 86 (1992) 723-9.
- Casterella, P.J., Teirstein, P.S.
Prevention of coronary restenosis.
Cardiol Rev. 7 (1999) 219-231.
- Chandrasekar, B., Tanguay, J.F.
Platelets and Restenosis.
J Am Coll Cardiol. 35 (2000) 555-562.
- Chiang, P.K., Gordon, R.K., Tal, J., Zeng, G.C., Doctor, B.P., Pardhasaradhi, K., McCann, P.P.
S-Adenosylmethionin and methylation.
FASEB J. 10 (1996) 471-80.
- Christen, W.G., Ajani, U.A., Glynn R.J., Hennekens, C.H.
Blood Levels of Homocysteine and Increased Risks of Cardiovascular Disease. Causal or casual?
Arch Intern Med. 160 (2000) 422-434.

- Clarke, R., Armitage, J.
Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of the homocysteine-lowering vitamin supplements.
Semin Thromb haemost. 26 (2000) 341-348.
- Cutlip, D.E., Chauhan, M.S., Baim, D.S., Ho, K.K., Pompa, J.J., Carozza, J.P.
Clinical restenosis after coronary stenting: perspectives from multicenter clinical trials.
J Am Coll Cardiol. 40 (12) (2002) 2082-9.
- De Franchis, R., Mancini, F.P., D'Angelo, A. Sebastio, G., Fermo, I., de Stefano, V., Margaglione, M., Mazzola, G., di Minno, G., Andria, G.
Elevated total plasma homocysteine and 677 C/T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene in thrombotic vascular disease.
Am J Hum Genet. 59 (1996) 262-64.
- Deloughery, TG., Evans, A., Sadeghi, A. McWilliams, J., Henner, W.D., Taylor, L.M., Press, R.D.
Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase: correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease.
Circulation. 94 (1996) 3074-78.
- Di Minno, G., Davi, G., Margaglione, M. Cirillo, F., Grandone, E., Ciabattini, G., Catalano, I., Strisciuglio, P. Andria, G., Patrono, C.
Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and probucol-sensitive mechanism.
J Clin Invest. 92 (1993) 1400-1406.
- Dudman, N.P., Temple, S.E., Guo, X.W., Fu, W., Perry, M.A.
Homocysteine enhances neutrophil-endothelial interactions in both cultured human cells and rats in vivo.
Circ Res. 84 (1999) 409-416.
- Edelmann, E.R., Rogers, C.
Pathobiologic responses to stenting.
Am J Cardiol. 81 (1998) 4E-6E.
- Egerton, W., Silberberg, J., Crooks, R., Ray, C., Xie, L., Dudman, N.
Serial measures of plasma homocysteine after acute myocardial infarction.
Am J Cardiol. 77 (1996) 759-761.
- Eikelboom, J.W., Lonn, E., Genest, J. Jr., Hankey, G., Yusuf, S.
Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of epidemiological evidence.
Ann Intern Med. 131 (1999) 363-375.
- Esfahani, S.T., Cogger E. A., Caudill, M.A.
Heterogeneity in the prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in women of different ethnic groups.
J Am Diet Assoc. 103 (2003) 200-207.
- Evans, R.W., Shaten, B.J., Hempel, J.D., Cutler, J.A., Kuller, L.H.
Homocysteine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 17 (1997) 1947-1953.
- Farb, A., Sangiorgi, G., Carter, A.J., Walley, V.M., Edwards, W.D., Schwartz, R.S., Virmani, R.
Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans.
Circulation. 99 (1999) 44-52.

Fattori, R., Piva, T.
Drug-eluting stents in vascular intervention.
Lancet. 361 (9353) (2003) 247-249.

Ferns, G.A., Raines, E.W., Sprugel, K.H., Motani, A.S., Reidy, M.A., Ross, R.
Inhibition of neointimal smooth muscle accumulation after angioplasty by an antibody to PDGF.
Science. 253 (1991) 1129-32.

Ferns, G.A., Avades, T.Y.
The mechanisms of coronary restenosis: insights from experimental models.
Int J Exp Pathol. 81 (2000) 63-88.

Fischmann, D.L., Leon, M.B., Baim, D.S., Schatz, R.A., Savage, M.P., Penn, I., Detre, K., Veltri, L., Ricci, D., Nobuyoshi, M.
A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators [see comments].
N Engl J Med. 331 (1994) 496-501.

Folsom, A.R., Nieto, F.J., McGovern, P.G., Tsai, M.Y., Malinow, M.R., Eckfeld, J.H., Hess, D.L., Davis, C.E.
Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study.
Circulation. 98 (1998) 204-210.

Franco, R.E., Morelli, V., Lourenco, D., Maffei, F.H., Tavella, M.H., Piccinato, C.E., Thomazini, I.A., Zago, M.A.
A second mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of venous thrombotic disease.
Br J Haematol. 105 (1999) 556-559.

Frederick, G.P.
Inflammation and Restenosis in the Stent Era.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 22 (2002) 1769-1776.

Friedman, G., Goldschmidt, N., Friedlander, Y., Ben-Yehuda, A., Selhub, J., Babaey, S., Mendel, M., Kidron, M., Bar-On, H.
A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: Association with plasma total homocysteine and folate concentrations.
J Nutr. 129 (1999) 1656-1661.

Friedman, N.
The kidney and homocysteine metabolism.
J of the American Society of Nephrology. 12 (2001) 2181-2189.

Frishman, W.H.
Biologic markers as predictors of cardiovascular disease.
Am J Med. 104 (1998) 18-27.

Frosst, P., Blom, H.J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C.A., Matthews, R.G., Boers, G.J., den Heijer, M., Kluitmans, L.A., van den Heuvel, L.P., Rozen, R.
A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase.
Nat Genet. 10 (1995) 111-113.

- Fryer, R.H., Wilson, B.D., Gubler, D.B., Fitzgerald, L.A., Rodgers, G.M.
Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells.
Arterioscler and Thrombosis. 13 (1993) 1327-1333.
- Gallagher, P.M., Meleady, R., Shields D.C., Tan, K.S., McMaster, D., Rozen, R., Evans, A., Graham, I.M., Whitehead, A.S.
Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation.
Circulation. 94 (1996) 2154-58.
- Gawaz, M., Neumann, F.J., Ott, I., May, A., Schömig, A.
Platelet activation and coronary stent implantation: Effect of antithrombotic therapy.
Circulation. 94 (1996) 279-85.
- Gawaz, M., Neumann, F.J., Ott, I., Schiessler, A., Schömig A.
Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty.
Circulation. 93 (1996) 229-37.
- Gawaz, M., Ruf, A., Neumann, F.J., Pogatsa- Murray, G., Dickfeld, T., Zohlnhofer, D., Schömig, A.
Effect of glycoprotein IIb-IIIa receptor antagonism on platelet membrane glycoproteins after coronary stent placement.
Thromb Haemost. 80 (1998) 994-1001.
- Genser, D., Prachar, H., Hauer, R., Halbmayer, W-M., Mlczoch, J., Elmadfa, I.
Relation of homocysteine, vitamin B12, and folate to coronary in-stent restenosis.
Am J Cardiol. 89 (2002) 495-499.
- Gerstein, H.C., Mann, J.F., Yi, Q., Zinman, B., Dinneen, S.F., Hoogwerf, B., Halle, J.P., Young, J., Rashkow, A., Joyce, C., Nawaz, S., Yusuf, S.
HOPE Study Investigators. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals.
JAMA. 286 (2001) 421-426.
- Girelli, D., Friso, S., Trabetti, E., Olivieri, O., Russo, C., Pessotto, R., Faccini, G., Pignatti, P.F., Mazzucco, A., Corrocher, R.
Methylenetetrahydrofolate Reductase C 677 T Mutation, Plasma Homocysteine and Folate in Subjects From Northern Italy With or Without Angiographically Documented Severe Coronary Atherosclerotic Disease: Evidence for an important Genetic-Environmental Interaction.
Blood. 91 (1998) 4158-4163.
- Glenn, G., Duell, P.
Homocysteine and atherosclerosis.
Curr Opin Lipidol. 10 (1999) 417-428.
- Grewe, P.H., Machraoui, A., Deneke, T., Barmeyer, J., Muller, K.M.
Structural analysis of 16 different coronary stent systems.
Z Kardiol. 86 (1997) 990-9.
- Grewe, P.H., Deneke, T., Machraoui, A., Barmeyer, J., Muller, K.M.
Acute and chronic tissue response to coronary stent implantation: pathologic findings in human specimen.
J Am Coll Cardiol. 35 (2000) 157-163.

- Grewe, P.H., Deneke, T., Müller, K.M.
Stent induced changes of coronary morphology- pathologic-anatomic and experimental findings after balloon expansion.
Z. Kardiol. 90 (2001) 630-6.
- Gruntzig, A.R.
Percutaneous transluminal coronary angioplasty.
Semin Roentgenol. 16 (1981) 152-153.
- Guenther, BD., Sheppard, CA., Tran, P., Rozen, R., Matthews, RG., Ludwig, ML.
The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from escherichia coli suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia.
Nat Struct Biol. 6 (1999) 359-365.
- Guidelines Subcommittee, 1999
World Health Organisation-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension.
J Hypertens. 17 (1999) 151-83.
- Guttormsen, A., Ueland, P., Nesthus, I., Nygard, O., Schneede, J., Vollset, S.E., Refsum, H.
Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia ($\geq 40 \mu\text{mol/l}$). The Hordaland Homocysteine Study.
J Clin Invest. 98 (1996) 2174-83.
- Hajjar, K.A.
Homocysteine-induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor.
J Clin Invest. 91 (1993) 2873-2879
- Harmon, DL., Woodside, JV., Yarnell, JWG., Mc Master, D., Young, I.S., Mc Crum, E.E., Gey, K.F., Whitehead, A.S., Evans, A.E.
The common 'thermolabile' variant of methylene tetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinaemia.
Q J Med. 89 (1996) 571-77.
- Harpel, P.C., Zhang, X., Borth, W.
Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis.
J Nutr. 126 (1996) 1285-1289.
- Hasin, Y., Eisenberg, S., Friedlander, J., Lewis, BS., Gotsman, MS.
Relationship between extent of coronary artery disease and correlative risk factors.
Am Heart J. 98 (1979) 555-561.
- Haviv, YS., Shpichinetsky, V., Goldschmidt, N., Abou Atta, I., Ben-Yehuda, A., Friedman, G.
The common mutations C677T and A1298C in the Human methylenetetrahydrofolatreduktase gene are associated with Hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease in hemodialysis patients.
Nephron. 92 (2002) 92 120-126.
- Hayashi, T., Honda, G., Suzuki, K.
An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cells.
Blood. 79 (1992) 2930-2936.
- Henk, J., Blom, de Vriese, S.
Why are Homocysteine levels increased in kidney failure? A metabolic approach.
J Lab Clin Med. 139 (2002) 262-268.

- Herrmann, R.A., Rybnikar, A., Resch, A., Märkl, B., Alt, E., Schömig, A.
Thrombogenicity of stainless steel coronary stents with completely gold coated surface (abstract).
J Am Coll Cardiol. 31 (Suppl. A) (1998) 413 A.
- Herrmann, W.
Die Bedeutung der Hyperhomocysteinämie als Risikofaktoren für degenerative Erkrankungen: ein Überblick.
J Ernährungsmed. 4 (1) (2002) 7-14.
- Hodish, I., Matetzky, S., Selah B.A., Guetta, V., Goldenberg, I., Doolman, R., Freimark, D., Hod, H.
Effect of elevated homocysteine levels on clinical restenosis following percutaneous coronary intervention.
Cardiology. 97 (2002) 214-217.
- Hoffman, R., Mintz, G.S., Dussailant, G.R., Pompa, J.J., Pichard, A.D., Satler, L.F., Kent, K.M., Griffin, J., Leon, M.B.
Patterns and mechanisms of in-stent restenosis: a serial intravascular ultrasound study.
Circulation. 94 (1996) 1247-1254.
- Inoue, T., Sohma, R., Miyazaki, T., Iwasaki, Y., Yaguchi, I., Morooka, S.
Comparison of activation process of platelets and neutrophils after coronary stent implantation versus balloon angioplasty for stable angina pectoris.
Am J Cardiol. 86 (2000) 1057-1062.
- Jacques, P.F., Bostom, A.G., Williams, R.R., Ellison, R.C., Eckfeld, J.H., Rosenberg, I.H., Selhub, J., Rozen, R.
Relation between folate status a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations.
Circulation. 93 (1996) 7-9.
- Jacques, P.F., Selhub, J., Bostom, A.G., Wilson, P.W., Rosenberg, I.H.
The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations.
N Engl J Med. 340 (1999) 1449-1454.
- Jacques, P.F., Bostom, A.G., Wilson, P.W., Rich, S., Rosenberg, I.H., Selhub, J.
Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort.
Am J Clin Nutr. 73 (2001) 613-621.
- Johansson, S.R., Wirklund, O., Karlsson, T., Hjalmarson, A., Emanuelsson, H.
Serum lipids and lipoproteins in relation to restenosis after coronary angioplasty.
Eur Heart J. 12 (1991) 1020-8.
- Jorgensen, B., Simonsen, S., Endresen, K., Forfang, K., Egeland, T., Hostmark, A.T., Thaulow, E.
Luminal loss and restenosis after coronary angioplasty. The role of lipoproteins and lipids.
Eur Heart J. 20 (1999) 1407-1414.
- Kang, S., Wong, P.W.K., Norusis, M.
Homocysteinemia due to folate deficiency.
Metabolism. 36 (1987) 458-462.
- Kang, S., Wong, P.W.K., Susmano, A., Sora, J., Norusis, M., Ruggie, N.
Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease.
Am J Hum Genet. 48 (1991) 536-545.
- Kang, S., Wong, P.W.K., Malinow, M.R.
Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease.
Ann Rev Nutr. 12 (1992) 279-298.

- Kannel, W.B., Castelli, W.B., Gordon, T.
Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease: new perspectives based on the Frammingham study.
Ann Intern Med. 90 (1979) 85-91.
- Kannel, W.B., McGee, D.
Diabetes and cardiovascular risk factors. The Framingham study.
Circulation. 59 (1979) 8-13.
- Kannel, W.B., McGee, D.
Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study.
JAMA. 241 (1979) 2035-2038.
- Kastrati, A., Schömig, A., Elezi, S., Schühlen, H., Dirschinger, J., Hadamitzky, M., Wehinger, A., Hausleiter, J., Walter, H., Neumann, F.J.
Predictive factors of restenosis after coronary stent placement.
J Am Coll Cardiol. 30 (1997) 1428-36.
- Kastrati, A., Dirschinger, J., Schömig, A.
Genetic risk factors and restenosis after percutaneous coronary intervention.
Herz. 25 (1) (2000) 34-64.
- Kastrati, A., Dirschinger, J., Boekstegers, P., Elezi, S., Schühlen, H., Pache, J., Steinbeck, G., Schmitt, C., Ulm, K., Neumann, F.J., Schömig, A.
Influence of stent design on 1-year outcome after coronary Stent placement : a randomized comparison of five stent types in 1147 unselected patients [see comments].
Catheter Cardiovasc Interv. 50 (3) (2000) 290-297.
- Kastrati, A., Schömig, A., Dirschinger, J., Mehilli, J., von Welser, N., Pache, J., Schühlen, H., Schilling, T., Schmitt, C., Neumann, F.J.
Increased risk of restenosis after placement of gold coated stents: results of an randomized trial comparing gold coated with uncoated steel stents in patients with coronary artery disease.
Circulation. 101 (21) (2000), 2478-2483.
- Kearney, M., Pieczek, A., Haley, L., Losordo, D.W., Andres, V., Schainfeld, R., Rosenfield, K., Isner, J.M.
Histopathology of in-stent restenosis in patients with peripheral artery disease.
Circulation. 95 (1997) 1998-2002.
- Klerk, M., Verhoef, P., Clarke, R., Blom, H.J., Kok, F.J., Schouten, E.G., and the MTHFR Studies Collaboration Group.
MTHFR 677C-T polymorphism and risk of coronary heart disease.
JAMA. 288 (2002) 2023-2031.
- Kluijtmans, L.A.J., van den Heuvel, L.P.W., Boers, G.H.J.
Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease.
Am J Hum Genet. 58 (1996) 35-41.
- Knekt, P., Reunanen, A., Alfthan, G., Heliovaara, M., Rissanen, H., Marniemi, J., Aromaa, A.
Hyperhomocysteinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease?
Arch Intern Med. 161 (2001) 1589-1594.
- Kotamaki, M., Laustiola, K., Syvanne, M., Heikkila, J.
Influence of continued smoking and some biological risk factors on restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty.
J Intern Med. 240 (1996) 293-301.

- Kölling, K., Ndrepepa, G., Koch, W., Braun, S., Mehilli, J., Schömig, A., Kastrati, A.
Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine folate and vitamin B12 levels and the extend of coronary artery disease.
Am J Cardiol. 93 (2004) 1201-1206.
- Kuusisto, J., Lempäinen, P., Mykkänen, L., Laakso, M.
Insulin resistance syndrome predicts coronary heart disease events in elderly type 2 diabetic men.
Diabetes Care. 24 (2001) 1629-1633.
- Lefkovits, J., Topol, E.
Pharmacological approaches for the prevention of restenosis after percutaneous coronary intervention.
Prog Cardiovasc Dis. 40 (1997) 141-58.
- Legnani, C., Palareti, G.
Hyperhomocysteinemia and a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation in patients with inherited thrombophilic coagulation defects.
Artrioscler Throm Vasc Biol. 17 (1997) 2924-9.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M.
Prinzipien der Biochemie.
2. Auflage ; Heidelberg; Berlin; Oxford; Spektrum Akademischer Verlag 1994.
- Lentz, S.R., Sadler, J.E.
Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine .
J Clin Invest. 88 (1991) 1906-1914.
- Lentz, S.R., Sobey, C.G., Piegors, D.J.
Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocysteinemia.
J Clin Invest. 98 (1996) 24-29.
- Leon, M.B., Baim, D.S., Popa, P.C., Cutlip, D.E., Ho, K.K.L., Giambartolomei, A., Diver, D.J., Lasorda, D.M., Williams, D.O., Pocock, S.J., Kuntz, R.E.
A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary stenting.
N Engl J Med. 339 (1998), 1665-1671.
- Libby, P., Schwartz, D., Brogi, E., Tanaka, H., Clinton, S.
A cascade model for restenosis.
Circulation. 86 (suppl III) (1992) III-47-III-52.
- Lien, E.A., Anker, G., Looning, P.E., Refsum, H., Ueland, P.M.
Effects of hormones on the plasma levels of the atherogenic amino acid homocysteine.
Biochem Soc Trans. 25 (1997) 33-35.
- Lindenbaum, J., Healton, E.B., Savage, D.G.
Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis.
N Engl J Med. 318 (1988) 1720-1728.
- Livak, K.J.
Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay.
Genet Anal. 14 (1999) 142-9.
- Lussier-Cacan, S., Xhingnesse, M., Piolot, A., Selhub, J., Davignon, J., Genest, J.Jr.
Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits.
Am J Clin Nutr. 64 (1996) 587-593.

Ma, J., Stampfer, M.J., Hennekens, C.H.

Methylenetetrahydrofolat reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians.
Circulation. 94 (1996) 2410-16.

Malinow, M.R.

The effects of folic acid supplementation on plasma total homocysteine are modulated by multivitamin use and methylenetetrahydrofolate reductase genotypes.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 17 (1997) 1157-1162.

Mangoni, A.A., Jackson, S.H.

Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects.
Am J Med. 112 (2002) 556-565.

Matinez, M., Cuskelly, G.J., Williamson, J., Toth, J.P., Gregory, J.F.

Vitamin B6 deficiency in rats reduces hepatic serine hydroxymethyltransferase and cystathionine beta-synthase activities and rates of in vivo protein turnover, homocysteine remethylation and transsulfuration.
J Nutr. 130 (2000) 1115-23.

Mayer, E.L., Jacobsen, D., Robinson, K.

Homocysteine and coronary atherosclerosis.
J Am Coll Cardiol. 27 (1996) 517-527

McCully K.S.

Vascular pathology of homocysteinaemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis.
Am J Pathol. 56 (1969) 111-128.

McCully, K.S.

Homocysteine and vascular disease.
Nat Med J. 2 (1996) 386-389

McKay, D.L., Perrone, G., Rasmussen, H.

Multivitamin/mineral supplementation improves plasma B-vitamin status and homocysteine concentration in healthy older adults consuming a folate-fortified diet.
J Nutr. 130 (2000) 3090-3096.

McKinley, M.C., McNulty, H., McPartlin, J.

Low dose vitamin B6 effectively lowers fasting plasma homocysteine in healthy elderly persons who are folate and riboflavin replete.
Am J Clin Nutr. 73 (2001) 759-764.

Mehilli, J., Kastrati, A., Bollwein, H., Dibra, A., Schühlen, H., Dirschinger, J., Schömig, A.

Gender and Restenosis after coronary artery stenting.
Eur Heart J. 24 (2003) 1523-1530.

Meigs, J.B., Mittleman, M.A., Nathan, D.M., Tofler, G.H., Singer, D.E., Murphy-Sheehy, P.M., Lipinska, I., D'Agostino, R.B., Wilson, P.W.

Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study.
JAMA. 283 (2000) 221-228.

Mercado, N., Boersma, E., Wijns, W., Gersh, B.J., Morillo, C.A.

Clinical and quantitative coronary angiographic predictors of coronary restenosis: a comparative analysis from the balloon- to- stent era.
J Am Coll Cardiol. 38 (3) (2001) 645-52.

Miner, S.E.S., Hegele, R.A., Sparkes, J.

Homocysteine, lipoprotein (a), and restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: a prospective study.
Am Heart J. 140 (2000) 272-278.

- Mintz, G.S., Pompa, J.J., Pichard, A.D.
Arterial remodeling after coronary angioplasty: a serial intravascular ultrasound study.
Circulation. 94 (1996) 35-43.
- Moreno, P.R., Bernardi, V.H., Lopez-Cuellar, J., Newell, J.B., McMellon, C., Gold, H.K., Palacios, I.F., Fuster, V., Fallon, J.T.
Macrophage infiltration predicts restenosis after coronary intervention in patients with unstable angina.
Circulation. 94 (1996) 3098-3102.
- Morice, M.C., Serruys, P. W., Sousa, J. E., Fajadet, J., Ban, H.E., Perin, M., Colombo, A., Schuler, G., Barragan, P., Guagliumi, G., Molnar, F., Falotico, R.
A randomized comparison of sirolimus-eluting stents with a standard stent for coronary revascularization.
N. Engl J Med. 346 (23) (2002), 1773-1780.
- Morita, H., Kurihara, H., Kuwaki, T., Hamada, C., Kitaoka, M., Suzuki, S., Yazaki, Y., Nagai, R.
Homocysteine as a risk factor for restenosis after coronary angioplasty.
Thromb Haemost. 84 (2000) 27-31.
- Murad, F., Arnold, W.P., Mittal, C.K., Braughler, J.M.
Properties and regulation of guanylat cyclase and some proposed functions for cyclic GMP.
Advances in Cyclic Nucleotid Research. 11 (1979) 175-204.
- Murphy-Chutorian, D.R., Wexmann, M.P., Grieco, A.J., Heininger, J.A., Glassman, E., Gaull, GE.
Methionine intolerance: a possible risk factor for coronary artery disease.
J Am Coll Cardiol. 6 (1985) 725-730.
- Myers, R.H., Kiely, D.K., Cupples, L.A., Kannel, W.B.
Parental history is an independent risk factor for coronary artery disease: the Framingham Study.
Am Heart J. 120 (1990) 963-9.
- Nappo, F., De Rosa, N., Marfella, R.
Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinaemia and reversal by antioxidant vitamins.
JAMA. 281 (1999) 2113-2118.
- Nikfardiam, M., Graf, S., Hornykewycz, S., Zorn, G., Huber-Beckmann, R., Wojta, J., Huber, K.
Homocysteine plasma levels in young patients with coronary artery disease. Relation to history of acute myocardial infarction and anatomical extent of disease.
Thrombosis Research. 103 (2001) 35-39.
- Nishinaga, M., Ozawa, T., Shimada, K.
Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparin sulphate expression in cultured porcine aortic endothelial cells.
J Clin Invest. 92 (1993) 1381-1386.
- Nurk, E., Tell, G.S., Vollset, S.E., Nygard, O., Refsum, H., Ueland, P.M.
Plasma total homocysteine and hospitalizations for cardiovascular disease: the Hordaland Homocysteine Study.
Arch Intern Med. 162 (2002) 1374-1381.
- Nygard, O., Vollset, S.E., Refsum, H., Stensvold, I., Tverdal, A., Nordrehaug, J.E., Ueland, M., Kvale, G.
Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study.
JAMA. 274 (1995) 1526-1533.
- Nygard, O., Nordrehaug, J.E., Refsum, H., Ueland, P.M., Farstad, M., Vollset, S.E.
Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease.
N Engl J Med. 337 (1997) 230-236.

- Nygaard, O., Vollset, S.E., Refsum, H., Brattström, L., Ueland, P.M.
Total Homocysteine and cardiovascular disease.
J Intern Med. 246 (1999) 425-454.
- Pajunen, P., Syvanne, M., Nieminen, M.S., Kareinen, A., Viitanen, L., Lehto, S., Laakso, M.
Serum Homocysteine, creatinine, and glucose as predictors of the severity and extent of coronary artery disease in asymptomatic members of high-risk families.
Eur J Clin Invest. 32 (2002) 472-478.
- Palareti, G., Salardi, S., Piazzzi, S.
Blood coagulation changes in homocystinuria: effects of pyridoxine and other specific therapy.
J Pediatr. 109 (1986) 1001-1006.
- Perna, A F.
Homocysteine and chronic renal failure.
Miner Elektrolyte Metab. 25 (1999) 279-285.
- Poddar, R., Sivasubramaniam, N., Robinson, K., Jacobsen, DW.
Homocysteine modulates the expression of a specific cytokine (Monocyte chemoattractant protein-1) in human aortic endothelial cells.
Circulation. 96 (1997) 286.
- Post, M.J., deSmet, B.J.G.L., van der Helm, Y., Borst, C., Kuntz, R.E.
Arterial remodeling after balloon angioplasty or stenting in an atherosclerotic experimental model.
Circulation. 96 (1997) 996-1003.
- Radonski, M.W., Palmer, R.M., Moncada, S.
Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium
Lancet.2 (19787) 1057-1058
- Refsum, H, Wesenberg, F, Ueland P.M.
Plasma Homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemia: changes during a chemotherapeutic regimen including methotrexate.
Cancer Res. 51 (1991) 828-835.
- Refsum, H., Guttormsen, A.B., Fiskerstrand, T., Ueland, P.M.
Hyperhomocysteinemia in terms of steady-state kinetics.
Eur J Pediatr. 157 (1998) 45-49.
- Refsum, H., Ueland, P.M., Nygaard, O., Vollset, S.E.
Homocysteine and cardiovascular disease.
Annu Rev Med. 49 (1998) 31-62.
- Robinson, K., Arheart, K., Refsum, H., Brattstrom, L., Boers, G., Ueland, P., Rubba, P., Palma-Reis, R., Meleady, R., Daly, L., Witteman, J., Graham, I.
Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European Comac Group.
Circulation. 97 (1998) 437-43.
- Robinson, K.
Homocysteine and vascular disease.
Cluver Academic Publishers (2000) 15-39.
- Rodgers, G.M., Kane W.H.
Activation of endogenous factor V by a homocysteine induced vascular endothelial cell activator.
J Clin Invest. 77 (1986) 1909-1916.

- Rodgers, G.M.
Homeostatic properties of normal and perturbed vascular cells.
FASEB J. 2 (1988) 116-123.
- Rodgers, G.M., Kane, W.H.
Homocysteine, and atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells.
Blood. 75 (1990) 895-901.
- Rogers, C., Welt, F.G.P., Karnovsky, M.J., Edelman, E.R.
Monocyte recruitment and neointimal hyperplasia in rabbits: coupled inhibitory effects of heparin.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 16 (1996) 1312-1318.
- Rollins, B.J.
Monocyte chemoattractant protein 1: A potential regulator of monocyte recruitment in inflammatory disease.
Mol Med Today. 2 (1996) 198-204.
- Rothenbacher, D., Fischer, H.G., Hoffmeister, A.
Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase genotype: association with risk of coronary heart disease and relation to inflammatory hemostatic and lipid parameters.
Atherosclerosis. 162 (2002) 193-200.
- Ruiz-Arguelles, G.J., Graces- Eisele, J., Reyes- Nunez, V., Ramirez- Cisneros, F.J.
Primary thrombophilia in Mexico. II. Factor V G1691A (Leiden), prothrombin GG20210A and methylenetetrahydrofolate reductase 677 C/T polymorphism in thrombophilic Mexican mestizos.
Am J Hematol. 66 (2001) 28-31.
- Ryan, T.J., Faxon, D.P., Gunnar, R.M., Kennedy, J.W., King, S.B., III., Loop, F.D., Peterson, K.L., Reeves, T.J., Williams, D.O., Winters, W.L., Jr.
Guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty: Areport of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures (Subcommittee on percutaneous Transluminal Coronary angioplasty).
J Am Coll Cardiol. 12 (1988) 529-45.
- Rydlewicz, A., Simpson, J.A., Taylor, R.J.
The effect of folic acid supplementation on plasma homocysteine in an elderly population.
QJM. 95 (2002) 27-35.
- Safian, R.D., Gelbfish, J.S., Erny, R.E., Schnitt, S.J., Schmidt, D.A., Baim, D.S.
Coronary atherectomy: clinical, angiographic, and histological findings and observations regarding potential mechanisms.
Circulation. 82 (1990), 69-79.
- Schmitz, C., Lindpaintner, K., Verhoef, P.
Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case control study.
Circulation. 94 (1996) 1812-14.
- Schnyder, G., Flammer, Y., Roffi, M., Pin, R., Hess, O.M.
Plasma homocysteine levels and late outcome after coronary angioplasty.
J Am Coll Cardiol. 40 (2002) 1769-1776.
- Schnyder, G., Roffi.
Association of plasma homocysteine with restenosis after percutaneous coronary angioplasty.
Eur Heart J. 23 (2002) 726-733.

- Schömig, A., Neumann, F.J., Kastrati, A., Schühlen, H., Blasini, R., Hadamitzki, M., Walter, H., Zitzmann- Roth, E., Richard, G., Alt, E., Schmitt, C., Ulm, K.
A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary artery stents.
N Engl J Med. 334 (1996) 1084-1089.
- Schömig, A., Kastrati, A., Elezi, S., Schühlen, H., Dirschinger, J., Danegger, F., Wilhelm, M., Ulm, K.
Bimodal distribution of angiographic measures of restenosis six month after coronary stent placement.
Circulation. 96 (1997) 3880-3887
- Schwartz, R.S.
Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia, and /or remodeling.
Am J Cardiol. 81 (1998) 14E-17E.
- Selhub J.
Homocysteine metabolism.
Annu Rev Nutr. 19 (1999) 217-46.
- Selhub, J., Jacques, P.F., Rosenberg, I.H., Rogers, G., Bowman, B.A., Gunter, E.W., Wright, J.D., Johnson, C.L.
Serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations.
Ann intern Med. 131 (1999) 331-339.
- Serruys, P.W., de Jaegere ,P., Kiemeneij, F.
A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group [see comments].
N Engl J Med. 331 (1994) 489-495.
- Serruys, P.W., Abizaid, A., de Feyter, P., Pompa, J., Degertekin, M., Staiko, R., Pinto, I., Wuelfert, E., Sousa, A., Sousa, J.E.
Sirolimus- eluting stents abolish neointimal hyperplasia in patients with in stent restenosis: late angiographic and intravascular ultrasound results.
J Am Coll. 39 (5) Supplement A (2002), 37A (Abstact).
- Song, C., Xing, D., Tan, W., Wei, Q., Lin, D.
Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increases risk of esophageal squamous cell carcinoma in a chinese population.
Cancer Res. 61 (2001) 3272-3275.
- Sousa, J.E., Costa, M.A., Abizaid, A.C., Rensing, B.J., Abizaid, A.S., Tanajura, L.F., Kozuma, K., Van Langenhove, G., Sousa, A.G., Falotico, R., Jaeger, J., Pompa, JJ., Serruys, P.W.
Sustained suppression of neointimal proliferation by sirolimus-eluting stents: one year angiographic and intravascular ultrasound follow up.
Circulation. 104 (17) (2001) 2007-2011.
- Spallarossa, P., Cordera, R., Adraghetti, G., Bertero, G., Brunelli, C., Caponnetto, S.
Association between plasma insulin and angiographically documented significant coronaryartery disease.
Am J Cardiol. 74 (1994) 177-179.
- Spieker, L.E., Lüscher, T.F., Noll, G.
Beyond traditional risk Factors: Homocysteine and Artherosklerosis.
Heart Drug. 1 (2001) 160-168.

- Stabler, S.P., Lindenbaum, J.
Elevation of total Homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry.
J Clin Invest. 81 (1988) 466-474.
- Stabler, S.P., Lindenbaum, J., Allen, R.H.
Vitamin B12 deficiency in the elderly: current dilemmas.
Am J Clin Nutr. 66 (1997) 741-9.
- Sydow, K., Böger, R.H.
Homocystein endotheliale Dysfunktion und kardiovaskuläres Risiko.
Z Kardiol. 90 (2001) 1-11.
- Szczeklik, A., Sanak, M., Jankowski, M.
Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase : risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia.
Am J Med Genet. 101 (2001) 36-39.
- Tejada, C., Strong, J.P., Montenegro, M.R., Restrepo, C., Solberg, L.A.
Distribution of coronary and aortic atherosclerosis by geographic location, race, and sex.
Lab Invest. 18 (1968) 509-26.
- Thambyrajah, J., Townend, J.N.
Homocysteine and atherothrombosis: mechanisms for injury.
Eur Heart J. 21 (2000) 967-974.
- Thambyrajah, J., Landray, M.J., Jones, H.J., McGlynn, F.J., Wheeler, D.C., Townend, J.N.
A randomized double blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease.
J Am Coll Cardiol. 37 (2001) 1858-1863.
- The EPISTENT Investigators.
A randomized placebo-controlled and balloon-angioplasty-controlled trial to assess safety of coronary stenting with use of platelet glycoprotein- IIb/IIIa blockade.
Lancet. 352 (1998) 87-92.
- The Homocysteine Studies Collaboration.
Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis.
JAMA. 288 (2002) 2015-2022.
- Togni, M., Balmer, F., Pfiffner, D., Maier, W., Zeiler, A.M., Meier, B.
Percutaneous coronary interventions in Europe 1992-2001.
Europ Heart J. 25 (2004) 1208-1213.
- Topol, E.J., Mark, D.B., Lincoff, A.M., Cohen, E., Burton, J., Kleiman, N., Talley, D., Sapp, S., Booth, J., Cabot, C.F., Anderson, K.M., Califf, R.M.
Outcomes at 1 year and economic implications of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade in patients undergoing coronary stenting: results from a multicentre randomised trial. EPISTENT Investigators. Evaluation of Platelet IIb/IIIa Inhibitor for Stenting.
Lancet. 354 (1999), 2019-2024.
- Trembath, D., Sherbondy, A.L., Vandyke, D.C.
Analysis of select folate pathway genes Pax 3 and human T in a midwestern neural tube defect population.
Teratology. 59 (1999) 331-341.
- Tsai, J.C., Perrella, M.A., Yoshizumi, M.
Promotion of Vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis.
Proc Natl Acad Sci USA. 91 (1994) 6369-6373.

- Tsai, J.C., Wang, H., Perrella, M.A.
Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells.
J Clin Invest. 97 (1996) 146-153.
- Tyagi, S.C.
Homocysteine redox receptor and regulation of extracellular matrix components in vascular cells.
Am J Physiol. 274 (2Pt1) (1998) C396-405.
- Ubbink, J.B., van der Merwe, A., Delport, R., Allen, R.H., Stabler, S.P., Riezler, R., Vermaak, W.J.H.
The effect of a subnormal vitamin B6 status on homocysteine metabolism.
J Clin Invest. 98 (1996) 177-184.
- Ueland, P.M., Refsum, H., Stabler, S.P.
Total homocysteine in plasma or Serum: methods and clinical applications.
Clin Chem. 39 (1993) 1764-1779.
- Upchurch, G.R., Jr., Welch, G.N., Loscalzo, J.
Homocysteine EDRF, and endothelial funktion.
J Nutr. 126 (4 Suppl) (1996) 1290S-1294S.
- Upchurch, G.R., Jr., Welch, G.N., Fabian, A.J., Freedman, J.E., Johnson, J.L., Keaney, J.F. Jr., Loscalzo, J.
Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase.
J Biol Chem. 272 (1997) 17012- 17017.
- Urban, P., Macaya, C., Rupprecht, H.J., Kiemeneij, F., Emanuelsson, H., Fontanelli, A., Pieper, M., Wesseling, T., Sagnard, L.
Randomized evaluation of anticoagulation versus antiplatelet therapy after coronary stent implantation in high risk patients: the multicenter aspirin and ticlopidine trial after coronary stenting (MATTIS).
Circulation. 98 (1998) 2126-2132.
- Van Bockxmeer, F.M., Mamotte, C.D.S., Vsikaran, S.D., Taylor, R.R.
Methylenetetrahydrofolate reductase gene and coronary artery disease.
Circulation. 95 (1997) 21-23.
- Van der Put, N.M.J., Steegers-Theunissen, R.P.M., Frosst, P.
Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida.
Lancet. 346 (1995) 1070-71.
- Van der Put, N.M., Gabreels, F., Stevens, E.M., Smeitink, J.A., Trijbels, F.J., Eskes, T.K., van den Heuvel, L.P., Blom, H.J.
A second common mutation in the methylenetetrahydrofolat reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?
Am J Hum Genet. 62 (1998) 1044-1051.
- Van Guldener, C., Stam, F., Stehouwer, C.D.
Homocysteine metabolism in renal failure.
Kidney Int Suppl. 78 (2001) 234-237.
- Violaris, A.G., Thury, A., Regar, E., Melkert, R., Serrys, P.W.
Influence of history of smoking on short term (six month) clinical and angiographic outcome after successful coronary angioplasty.
Heart. 84 (2000) 299-306.
- Vom Dahl, J., Haager, P.K., Grube, E., Gross, M., Beythien, C., Kromer, E.P., Cattelaens N., Hamm, C.W., Hoffmann, R., Reinke, T., Klues, H.G.
Effekts of gold coating of coronary stents on neointimal proliferation following stent implantation.
Am J Cardiol. 89 (7) (2002), 801-805.
- Walker, L.N., Bowen- Pope, D.F., Ross, R., Reidy, M.A.
Produktion of platelett- like growth faktor-like molecules by cultured arterial smooth muscle cells accompanies proliferation after arterial injury .
Proc Natl Acad Sci USA. 83 (1986) 7311-5.

- Wall, R.T., Harlan, J.M., Harker, L.A., Striker, G.E.
Homocysteine induced endothelial cell injury in vitro : a model for the study of vascular injury.
Thromb Res. 18 (1980) 113-121.
- Waller, B.F.
Pathology of transluminal balloon angioplasty used in the treatment of coronary heart disease.
Hum Pathol. 18 (1987) 476-484.
- Weintraub, WS., Kosinski, AS., Brown III, CL., King III, SB.
Can restenosis after coronary angioplasty be predicted from clinical variables?
J Am Coll Cardiol. 21 (1) (1993) 6-14.
- Weisberg, I., Tan, P., Christensen, B., Sibani, S., Roten, R.
A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decrease enzyme activity.
Mol Genet Metab. 64 (1998) 169-172.
- Welch, G.N., Loscalzo J.
Homocysteine and atherothrombosis.
N Engl J Med. 338 (1998) 1042-1050.
- Wilcken, D.E.L., Wang, X.L., Sim, A.S.
Distribution in healthy and coronary populations of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 16 (1996) 878-82.
- Wilson, P.W., Kannel, W.B., Silbershatz, H., D'Agostino, R.B.
Clustering of metabolic factors and coronary heart disease.
Arch Intern Med. 159 (1999) 1104-1109.
- World Health Organisation Study Group.
Diabetes mellitus.
WHO Tech Rep Ser. 727 (1985) 1-104.
- Yamada, K., Chen, Z., Rozen, R., Matthews, R.G.
Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase.
Proc Natl Acad Sci USA. 98 (2001) 14853-14858.

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Dr. Werner Koch, der mit seiner Hilfe und großen Geduld wesentlich zum Gelingen der Dissertation beigetragen hat.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. Adnan Kastrati für die Überlassung des Themas der Arbeit und für seine freundliche Hilfe in jeder Hinsicht.

Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. Klaus Kölling und Herrn Dr. Sigmund Braun sei für die Betreuung und ihren Einsatz gedankt.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinem Freund und Mitdoktorand Harald Lengnick bedanken, der mich durch alle Höhen und Tiefen des Medizinstudiums von Anfang an begleitet hat.

Dank auch an meinen Freund Sebastian Fittko für seine kompetente Hilfe bei dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt meiner Mutter und meiner Schwester Nathalie, die mich stets unterstützt haben.