

Journal für
Kardiologie

Austrian Journal of Cardiology

Österreichische Zeitschrift für Herz-Kreislaufkrankungen

**Einfluss von DNA-Variationen auf
die koronare Herzerkrankung**

Drexel H, Mündlein A, Winder T

Loacker S

Journal für Kardiologie - Austrian

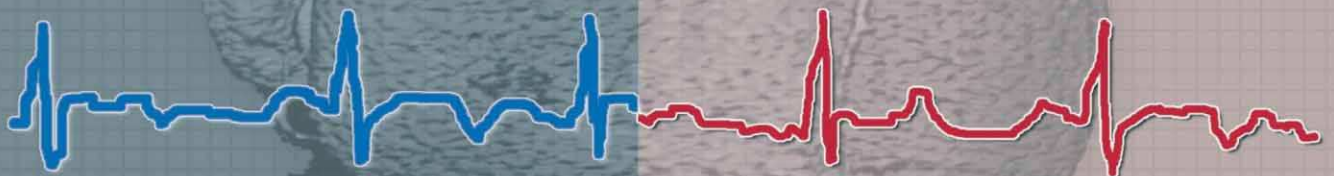
Journal of Cardiology 2008; 15

(11-12), 342-346

Homepage:

www.kup.at/kardiologie

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**



Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/SCOPUS

www.kup.at/kardiologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P.b.b. 02Z031105M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Einfluss von DNA-Variationen auf die koronare Herzerkrankung

A. Mündlein, T. Winder, S. Loacker, H. Drexel

Kurzfassung: Erkenntnisse aus Familien- oder Zwillingsstudien lassen auf einen hohen genetischen Hintergrund der koronaren Herzerkrankung (KHK) schließen. Seit einiger Zeit versucht man mittels intensiver Forschung, die genetischen Faktoren, welche das kardiovaskuläre Risiko beeinflussen, zu identifizieren. Aufgrund der hohen Frequenz der KHK in der Bevölkerung spielen hierbei Mendel'sche Erkrankungen, wie die familiäre Hypercholesterinämie, nur eine untergeordnete Rolle. Anhand der Ergebnisse aus Kopplungs- und Assoziationsstudien sind bisher zahlreiche DNA-Polymorphismen in Kandidatengenomen als potenzielle genetische Risikofaktoren für die KHK vorgeschlagen worden. Die möglichen Auswirkungen dieser Polymorphismen auf das Erkrankungsrisiko werden in der Literatur allerdings meist kontrovers diskutiert. Metaanalysen haben gezeigt, dass DNA-Polymorphismen der Gene für Apolipoprotein E, Cholesteryl Ester Transfer-Protein, Faktor V, Prothrombin und Adiponektin einen signifikanten Zusammenhang mit der KHK aufweisen. Die jüngste Entwicklung von technischen Verfahren für die Hochdurchsatzgenotypisierung sowie die wachsende Kenntnis um die Strukturierung des Genoms in Haplotypen eröffnete der Forschung neue Möglichkeiten für die Ermittlung des genetischen Einflusses

auf die KHK. Infolgedessen konnten mehrere unabhängig durchgeführte genomweite Assoziationsstudien den chromosomalen Abschnitt 9p21 erstmalig als genetischen Modulator für die KHK identifizieren. Die genaue Wirkweise dieser in der Region 9p21 lokalisierten DNA-Variationen auf die Entstehung der KHK ist bis dato allerdings unbekannt. Zukünftige technologische Entwicklungen, wie das „next generation sequencing“, werden innerhalb absehbarer Zeit die Forschung über den Zusammenhang zwischen genetischer Variabilität und der KHK weiter maßgeblich beeinflussen. Durch dieses Wissen wird es uns gelingen, das KHK-Risiko besser abschätzen zu können und neue Therapien auf Personen mit hohem Risiko zu fokussieren.

Abstract: Influence of DNA-Polymorphisms on Coronary Heart Disease. As shown by family and twin studies, development of coronary heart disease (CHD) has a strong genetic background. Strong efforts have been undertaken to identify genetic variations that are responsible for the genetic disposition for cardiovascular diseases. Mendelian disorders, such as familial hypercholesterolemia, are relatively rare and can not explain the high frequency of

CHD in the general population. On the basis of linkage and associations studies numerous DNA polymorphisms in candidate genes have been proposed to be involved in the development of CHD. However, reported associations between genetic variations and disease in many instances could not be replicated. In particular, meta-analyses showed that DNA polymorphisms of genes coding for apolipoprotein E, cholesteryl ester transfer protein, factor V, prothrombin and adiponektin shows significant associations with CHD. Recently, research has been significantly stimulated by the development of high-throughput genotyping technologies and the growing knowledge about the organisation of the human genome into haplotypes. Thereby, the chromosomal locus 9p21 was recently identified as a susceptibility locus for cardiovascular diseases. The underlying molecular mechanisms that are induced by variants located within locus 9p21 are still unknown. Development of new technologies such as "next generation sequencing" will significantly improve our understanding of the influence of genetic variations on the development of CHD. Such knowledge allows us to better evaluate CHD risk and facilitate the targeting of new therapies to high-risk individuals. **J Kardiol 2008; 15: 342–6.**

■ Einleitung

Die koronare Herzerkrankung (KHK) ist mit ihrer schwersten Komplikation, dem Myokardinfarkt, die führende Todesursache in den westlich industrialisierten Ländern [1]. Die KHK ist eine multifaktorielle Erkrankung, für deren Entstehung Lebensstil und Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle spielen [2]. Darüber hinaus kann anhand von Familien- oder Zwillingsstudien auf einen starken genetischen Hintergrund dieser Erkrankung geschlossen werden [3–6]. Das höchste Erkrankungsrisiko besitzen hierbei monozygote Zwillingspartner von KHK-Patienten. Dies ist bei Männern um das 8-Fache und bei Frauen um das 15-Fache erhöht, wenn einer der beiden Zwillinge an den Folgen einer KHK bereits vor dem 55. bzw. 65. Lebensjahr verstorben ist [6].

Bereits seit einiger Zeit versucht man, die genetische Basis für die Entstehung der KHK zu ergründen. Durch die Sequenzierung des humanen Genoms wurde es möglich, genetische Variationen und genomische Regionen, welche die Suszeptibilität kardiovaskulärer Erkrankungen potenziell beeinflus-

sen, zu identifizieren. Die Kenntnis von genetischen Risikofaktoren ist für die Entwicklung neuer Methoden in Prävention, Diagnose und Therapie dieser komplexen Erkrankung von enormer Wichtigkeit.

■ Einfluss Mendel'scher Erkrankungen auf die koronare Herzerkrankung

Generell gilt die KHK als polygenetische Erkrankung. Darüber hinaus kann aber auch der pathogene Einfluss von Mutationen in einem einzelnen Gen an deren Entstehung beteiligt sein. Diese so genannten Mendel'schen Erkrankungen sind selten und gehen allgemein mit einem schweren Krankheitsbild einher. Hierzu zählt beispielsweise die familiäre Hypercholesterinämie, eine autosomal-dominant vererbte Fettstoffwechselstörung. Diese kann entweder durch Mutationen in den Genen des LDL-Rezeptors (LDLR), des Apolipoproteins B (APOB) oder des *Proprotein convertase subtilisin kexin type 9* (PCSK9) ausgelöst werden. Im LDLR-Gen wurden bislang über 700 Mutationen nachgewiesen, welche zu einer gestörten Funktion oder zu einer verminderten Expression des LDLR führen können [7]. Die Häufigkeit der familiären Hypercholesterinämie bei Europäern ist gering und wird in ihrer heterozygoten Ausprägung mit einer Frequenz von 1:500 angegeben. In Anbetracht der hohen Frequenz der KHK in der Bevölkerung lässt sich der hereditäre Anteil nur zu einem geringen Maß auf Mendel'sche Erkrankungen zurück-

Eingelangt am 25. Jänner 2008; angenommen am 14. März 2008.

Aus dem Vorarlberger Institut für vaskuläre Forschung (VIVIT)

Korrespondenzadresse: o. Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h. c. Heinz Drexel, Vorarlberger Institut für vaskuläre Forschung (VIVIT), A-6807 Feldkirch, Carinagasse 47; E-Mail: vivit@ikhf.at

führen. An der Identifizierung von Kandidatengen, die für die genetische Prädisposition einer koronaren Herzerkrankung verantwortlich sind, wird intensiv geforscht.

■ Kopplungsstudien

Eine Möglichkeit für die Ermittlung von genetischen Determinanten für die KHK ist die Durchführung von Kopplungsstudien („Linkage“-Studien). Kopplungsstudien untersuchen bei Familien mit entsprechender Krankheitsgeschichte die gemeinsame Vererbung von chromosomalen Abschnitten und Erkrankungen. Als Marker chromosomaler Abschnitte dienen hierbei meist Sets an Mikrosatelliten, die über das gesamte Genom verteilt vorliegen. Durch diese genomweiten Scans, gefolgt von einem weiteren „fine-mapping“ mit einer dichteren Markerverteilung, besteht das Potenzial, Kandidatengene zu ermitteln, welche auf der Basis eines *a priori*-Wissens des Erkrankungsmechanismus nicht mit dieser in Verbindung gebracht werden würden.

Mehrere genomweite Kopplungsstudien sind bereits in Bezug auf die KHK durchgeführt worden [8–11]. Eine der größten Studien, die „British Heart Foundation Family Heart Study“, berichtet von einem Zusammenhang zwischen Abschnitten des Chromosoms 2 und der KHK, der allerdings nicht signifikant war [8]. Eine Metaanalyse von vier Kopplungsstudien assoziierte chromosomale Abschnitte von Chromosom 3 mit der KHK [9]. Farall et al. gelang es erstmals, einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem Abschnitt des Chromosoms 17 und Myokardinfarkt nachzuweisen und diesen in einer weiteren Studie auch zu replizieren [10]. Die chromosomalen Abschnitte, welche in den publizierten Studien mit der KHK korreliert wurden, sind jedoch meist nicht überlappend. Anhand von Kopplungsstudien gelang es nur eingeschränkt, relevante Kandidatengene für die KHK nachzuweisen. Eine isländische Kopplungsstudie identifizierte das Gen für das *5-Lipoxygenase activating protein* (ALOX5AP) als ein Kandidatengen für Myokardinfarkt [11]. Assoziationen zwischen Haplotypen dieses Gens und dem Myokardinfarktrisiko konnten jedoch in einer weiteren Studie nicht nachvollzogen werden [12]. Zusammenfassend konnte bisher anhand von Kopplungsanalysen kein sicherer Beweis über den Zusammenhang chromosomaler Abschnitte oder eines identifizierten Kandidatengens mit der KHK erbracht werden.

■ Assoziationsstudien mittels DNA-Polymorphismen in Kandidatengen

Gene, die mit der Entstehung der klassischen Risikofaktoren einer KHK (wie z. B. Dyslipidämie, Hypertonie oder einer gestörten Hämostase) assoziiert sind, gelten häufig als Kandidatengene für die KHK. Um den Einfluss von Kandidatengen auf Erkrankungen zu untersuchen, werden in der Regel darin besonders häufig auftretende DNA-Variationen, meist in Form von Einzelnukleotid-Polymorphismen („single nucleotide polymorphisms“, SNPs), in Assoziationsstudien analysiert. Durch Variationen in der DNA-Sequenz wird eine Veränderung der Genexpression bzw. der Proteinaktivität und somit eine physiologische Auswirkung mit pathogenen Folgen erwartet. Hierbei fokussierte sich die Forschung häufiger auf die Analyse bestimmter DNA-Polymorphismen, wodurch zu-

nehmend eher von Kandidaten-Polymorphismen als von Kandidatengen gesprochen werden muss.

Zahlreiche DNA-Polymorphismen in Kandidatengen sind bisher als potenzielle genetische Risikofaktoren für die KHK vorgeschlagen worden. Die möglichen Auswirkungen dieser Polymorphismen auf das Erkrankungsrisiko werden in der Literatur allerdings kontrovers diskutiert [13]. Durch das Zusammenfassen publizierter Daten zu Metaanalysen soll ein fundierter Beweis für genetische Zusammenhänge erhalten werden. Tabelle 1 zeigt eine Übersicht von rezenten Metaanalysen gängiger DNA-Polymorphismen mit potenziellem Zusammenhang zur KHK. Im Allgemeinen sind die Auswirkungen der dargestellten DNA-Polymorphismen auf das koronare Erkrankungsrisiko gering bzw. nicht vorhanden. Häufig wird zudem in Metaanalysen auf das Vorliegen eines bestimmten „publication bias“ hingewiesen [18–20, 22, 25, 27], der vornehmlich für kleineren Studien zutrifft und folglich auch die Aussagekraft von Metaanalysen einschränkt. Um die Datenvalidität von Metaanalysen zu erhöhen, wird deswegen zunehmend versucht, kleinere Studien vorweg auszuschließen und nur mehr größere Studien (in der Regel über 500 Patienten) in eine Metaanalyse zu inkludieren [14, 16, 20]. So zeigte eine Metaanalyse von Xu et al. [20] einen signifikanten Einfluss des Angiotensinogen Met236Thr SNPs auf das koronare Erkrankungsrisiko. Dieser ging jedoch durch eine Limitation der Metaanalyse auf deren vier größte Studien verloren. Weiters konnte eine rezente Metaanalyse von Bennet et al. [16] zeigen, dass der zuvor von Song et al. [15] publizierte signifikante Effekt des APOE ϵ 4-Allels auf das koronare Erkrankungsrisiko seine Signifikanz verlor, wenn nur die größeren Studien in der Metaanalyse berücksichtigt wurden. Umgekehrt wies in der Analyse von Bennet et al. das APOE ϵ 2-Allel einen signifikant protektiven Effekt auf das KHK-Risiko auf, der bei Song et al. nicht erkennbar war. Auch Boeckholdt et al. limitierten ihre Metaanalyse über den Einfluss des Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) Taq1B SNPs auf das KHK-Risiko nur auf die größten vorliegenden Studien und konnten so einen signifikanten Einfluss dieses Polymorphismus auf das Erkrankungsrisiko nachweisen [14]. Ye et al. zeigten in einer Metaanalyse, dass vor allem die in eine gestörte Hämostase involvierten Polymorphismen, Faktor V Arg506Gln („Leiden“) und Prothrombin G20210A, einen signifikanten, wenn auch mäßigen Einfluss auf das koronare Erkrankungsrisiko aufweisen [18]. Spezielle Aufmerksamkeit als potenzieller Modulator des KHK-Risikos gilt dem erst 1995 entdeckten Molekül Adiponektin, einem in Fettzellen produzierten Peptidhormon mit antiinflammatorischen und antiatherogenen Eigenschaften [28, 29]. Mehrere Studien konnten zeigen, dass DNA-Polymorphismen (C-11377G, G276T) des Adiponektingens einen signifikanten Einfluss sowohl auf Adiponektinspiegel als auch auf das KHK-Risiko besitzen [28, 30].

Die Einflussnahme einzelner DNA-Polymorphismen auf die KHK ist moderat und deren Auftreten stellt ein geringes Risiko für den Patienten dar. Deswegen wird in einigen Studien versucht, mehrere DNA-Polymorphismen zu kombinieren, um somit den polygenetischen Einfluss auf das KHK-Risiko untersuchen zu können [31–33]. Eine rezente Studie hat beispielsweise gezeigt, dass SNPs in den Genen APOE, CETP

Tabelle 1: Assoziationen von DNA-Polymorphismen in Kandidatengenomen mit der KHK bzw. MI: Ergebnisse aus Metaanalysen

Genprodukt	Gen-symbol	Polymorphismus		Studien (Anzahl Fälle/Kontrollen)	Risiko-modell	OR/RR (95 %-CI)	Metaanalyse
		Trivialname	NCBI Referenz ID				
Lipidmetabolismus							
Cholesteryl Ester Transfer Protein	CETP	TaqIB	rs708272	7 (2857/8815)	Vergleich der homozygoten Genotypen	OR = 0,78 (0,66–0,93)	Boekholdt et al., 2005 [14]
Apolipoprotein E	APOE	Cys112Arg (ε4-Allel)	rs429358	48 (15.492/21.965)	Dominant	OR = 1,42 (1,26–1,61)	Song et al., 2004 [15]
		Arg158Cys (ε2-Allel)	rs7412	17 (21.331/4.7467)	Dominant	OR = 1,06 (0,99–1,13)	Bennet et al., 2007 [16]
		Asn291Ser	rs268	48 (15.492/21.965)	Dominant	OR = 0,98 (0,66–1,46)	Song et al., 2004 [15]
		Ser447Ter	rs328	17 (21.331/4.7467)	Dominant	OR = 0,80 (0,70–0,90)	Bennet et al., 2007 [16]
				4 (10.736/2379)	Dominant	OR = 1,2 (0,9–1,5)	Wittrup et al., 1999 [17]
				5 (2226/1841)	Dominant	OR = 0,8 (0,7–1,0)	Wittrup et al., 1999 [17]
Hämostase							
Prothrombin	F2	G20210A	rs1799963	40 (11.625/14.462)	Additiv	RR = 1,31 (1,12–1,52)	Ye et al., 2006 [18]
Faktor V	F5	Arg506Gln („Leiden“)	rs6025	60 (15.704/26.686)	Additiv	RR = 1,17 (1,08–1,28)	Ye et al., 2006 [18]
Faktor XIII	F13	Val34Leu	rs5985	16 (5346/7053)	Dominant	OR = 0,81 (0,70–0,92)	Voko et al., 2007 [19]
Plasminogen Activator Inhibitor-1	PAI1	-675 5G/4G	rs1799889	37 (11.763/13.905)	Additiv	RR = 1,06 (1,02–1,10)	Ye et al., 2006 [18]
Integrin alpha 2	ITGA2	C807T	rs1126643	15 (6414/7732)	Additiv	RR = 1,02 (0,97–1,08)	Ye et al., 2006 [18]
Integrin beta 3	ITGB3	Leu33Pro	rs5918	43 (16.984/22.893)	Additiv	RR = 1,03 (0,98–1,07)	Ye et al., 2006 [18]
Renin-Angiotensin-System							
Angiotensinogen	AGT	Met235Thr	rs699	43 (13.478/17.024)	Additiv	OR = 1,11 (1,03–1,19)	Xu et al., 2007 [20]
Angiotensin-I-Converting-Enzyme	ACE	Intron 16 I/D	rs1799752	43 (18.536/35.400)	Rezessiv	OR = 1,22 (1,11–1,35)	Morgan et al., 2003 [21]
Homozysteinstoffwechsel							
5,10-Methylenetetrahydrofolate Reduktase	MTHFR	C677T	rs1801133	80 (26.000/31.183)	Vergleich der homozygoten Genotypen	OR = 1,14 (1,05–1,24)	Lewis et al., 2005 [22]
Entzündungsfaktoren							
Interleukin 6	IL6	G-174C	rs1800795	8 (6927/12.871)	Dominant	RR = 1,12 (0,97–1,29)	Sie et al., 2006 [23]
Lymphotoxin alpha	LTA	G250A, C804A	rs909253, rs1041981	7 (10.966/7329)	Rezessiv	OR = 1,07 (0,98–1,17)	Clarke et al., 2006 [24]
Atherogenese							
Paraoxonase	PON1	Gln192Arg	rs662	39 (10.738/17.068)	Dominant	OR = 1,14 (1,08–1,20)	Lawlor et al., 2004 [25]
Matrix-Metalloproteinase 3	MMP3	-1171 6A/5A	rs3025058	8 (3655/5135)	Dominant	OR = 1,26 (1,1–1,4)	Abilleira et al., 2006 [26]
Nitric-Oxide Synthase 3	NOS3	Glu298Asp	rs1799983	42 (13.876/13.042)	Additiv	OR = 1,17 (1,07–1,28)	Casas et al., 2006 [27]
		T-786C	rs2070744	22 (11.256/13.562)	Additiv	OR = 1,17 (1,07–1,28)	Casas et al., 2006 [27]
		Intron 4 27-bp repeat	-	31 (9925/9407)	Additiv	OR = 1,12 (1,01–1,24)	Casas et al., 2006 [27]
Adiponektin	ADIPOQ	G276T	rs1501299	4 (827/1887)	Rezessiv	OR = 0,55 (0,4–0,8)	Menzaghi et al., 2007 [28]

KHK = koronare Herzerkrankung; MI = Myokardinfarkt; OR = Odds-Ratio; RR = Relatives Risiko

und APOC3, welche im Lipidmetabolismus involviert sind, einen starken synergistischen Effekt auf die KHK aufweisen [31]. Die Kombination der SNPs dieser interagierenden Gene übertraf den Effekt der individuellen SNPs auf das KHK-Risiko. Aufgrund der noch limitierten Datenlage müssen jedoch weitere Studien durchgeführt werden, um den polygenetischen Einfluss auf das KHK-Risiko besser einschätzen zu können.

■ Genomweite Assoziationsstudien

Bei der Suche nach neuen Kandidatengen gewinnen genomweite Assoziationsstudien zunehmend an Bedeutung. Dies wurde vor allem durch den Einsatz moderner Technologien für die Hochdurchsatz-Genotypisierung von SNPs ermöglicht [34]. Weiters gelingt es durch die wachsende Kenntnis der Strukturierung des Genoms in Haplotypen, den nötigen Aufwand an Genotypisierungen zu reduzieren [35]. Für die Eingrenzung eines Haplotyps werden nur bestimmte Marker-SNPs („tag“ SNPs), die mit dem Auftreten weiterer SNPs in einer genomischen Region korrelieren, untersucht. Somit lässt sich beispielsweise durch die Bestimmung von 250.000 „tag“ SNPs 85 % des menschlichen Genoms abdecken [36].

Die erste genomweite Assoziationsstudie wurde von Ozaki et al. durchgeführt [37]. Dieser schlug das pro-inflammatorische Lymphotoxin-alpha (LTA) als Kandidatengen für Myokardinfarkt vor. Nachfolgende Studien konnten allerdings keinen Zusammenhang zwischen DNA-Polymorphismen des LTA-Gens und dem Myokardinfarktrisiko feststellen [24].

Von besonderer Bedeutung war die fast zeitgleiche Identifizierung des chromosomalen Abschnittes 9p21 als genetischer Modulator für die KHK durch mehrere unabhängig durchgeführte genomweite Assoziationsstudien [38–41]. Mehrere SNPs dieser Region konnten auch in nachfolgenden Assoziationsstudien mit Atherosklerose und Myokardinfarkt in Verbindung gebracht werden [42, 43]. Dies macht den chromosomalen Abschnitt 9p21 zu dem bislang am besten reproduzierten genetischen Locus für kardiovaskuläre Erkrankungen. Die genaue Wirkweise dieser in der Region 9p21 lokalisierten SNPs auf die Entstehung der KHK ist allerdings völlig unbekannt. Die SNPs liegen zwar im gleichen „Linkage disequilibrium“-Block wie die in den Zellzyklus regulierend eingreifenden Tumor-Suppressor-Gene CDKN2A und CDKN2B, die Re-Sequenzierung von regulatorischen und kodierenden Regionen dieser Gene bei KHK-Patienten erbrachte jedoch keine Identifizierung neuer funktioneller DNA-Variationen [38, 40]. Die Ermittlung des molekularen Mechanismus, wie Variationen dieser chromosomalen Region die Pathogenese der KHK beeinflussen, muss in nachfolgenden Studien weiter untersucht werden.

■ Verbesserung der Studienplanung

Aufgrund der Schwierigkeit, Ergebnisse aus genetischen Studien in anderen Studien zu replizieren, wird verstärkt eine Verbesserung der Studienplanung gefordert [44, 45].

Wegen der geringen Auswirkung einzelner genetischer Marker auf das KHK-Risiko ist der Einschluss vieler Probanden

notwendig, um eine ausreichend hohe Fallzahl zu erlangen. Somit können echte Assoziationen besser erkannt und Null-Resultate statistisch verifiziert werden. Dadurch können Studien unabhängig von deren Ergebnis leichter publiziert und somit der „publication bias“ eingeschränkt werden. Die verschiedenen Phänotypen einer KHK machen eine einheitliche Definition und Charakterisierung erforderlich. Patienten und Kontrollen müssen bezüglich Alter, Geschlecht und Herkunft vergleichbar sein. Weitere das KHK-Risiko beeinflussende Faktoren wie Rauchen, Ernährungsgewohnheiten oder körperliche Aktivität müssen miterfasst und in die Auswertung einbezogen werden. Mitbestimmend für den Erhalt von „wahren“ Assoziationen ist die Wahl von Kandidatengen bzw. -Polymorphismen mit biologisch plausiblen Assoziationen oder funktionellen Effekten. Neben statistischen Kriterien gilt die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen in anderen Studiengruppen als bester Beweis für deren Richtigkeit. Dies konnte eindrucksvoll anhand der genomweiten Assoziationsstudien gezeigt werden, welche DNA-Variationen in dem chromosomalen Abschnitt 9p21 mit der KHK in Verbindung brachten und dies in Folgestudien reproduzierten [38, 40, 41]. Eine Einbindung von Vergleichsstudiengruppen zur Bestätigung der erhaltenen Ergebnisse in die Studienplanung wird deswegen immer mehr gefordert.

Zusammenfassend gelten für die Zukunft der Forschung zwei Grundsätze:

1. Die Studienpopulationen müssen groß genug sein, um einen hochsignifikanten Zusammenhang eines SNPs mit der KHK nachweisen zu können.
2. Der Zusammenhang eines SNPs mit der KHK muss in mindestens zwei Populationen gezeigt werden („ein Befund ist kein Befund“).

■ Neue Verfahren für die Identifizierung genetischer Risikofaktoren

Die jüngste Entwicklung von technischen Verfahren für die Hochdurchsatz-Genotypisierung von DNA-Variationen eröffnete der Forschung neue Chancen für die Identifizierung genetischer Risikofaktoren. Hierbei lässt der Einsatz spezieller DNA-Chips (der so genannten „high density microarrays“) die gleichzeitige Analyse 100.000er von SNPs zu und ermöglicht dadurch die Durchführung genomweiter Studien [34]. Mit dieser Methodik konnten DNA-Variationen, die aufgrund ihrer Lage im Genom bislang nicht untersucht wurden, mit der KHK assoziiert werden [38–41].

Zunehmend wieder an Bedeutung gewinnt die Re-Sequenzierung von Kandidatengen und genomischen Regionen in Assoziations- und Kopplungsstudien. Dies erlaubt die Identifizierung von neuen, vor allem weniger häufigen DNA-Variationen, die im Zusammenhang mit dem Erkrankungsrisiko stehen. So konnten Cohen et al. bereits durch eine Re-Sequenzierung von Kandidatengen des HDL-Metabolismus einen signifikanten Einfluss mehrerer bislang unbekannter und seltener DNA-Variationen auf erniedrigte HDL-Spiegel in der generellen Bevölkerung zeigen [46]. Bislang gilt die DNA-Sequenzierung allgemein als arbeitsaufwendig und kostspielig. Zukünftig allerdings werden neue Technologien im Bereich der DNA-Sequenzierung, welche unter dem Sammel-

begriff „next generation sequencing“ geführt werden, die Suche nach genetischen Markern für Erkrankungen maßgeblich beeinflussen [47]. Ziel ist es, das gesamte menschliche Genom innerhalb von wenigen Tagen und mit verhältnismäßig geringen Kosten (ca. US\$ 1000,- pro Genom) zu entschlüsseln. Zahlreiche Firmen arbeiten fieberhaft an dessen Umsetzung. Innerhalb absehbarer Zeit wird diese neue Ära der DNA-Sequenzierung die Forschung über den Zusammenhang zwischen genetischer Variabilität und komplexen Erkrankungen, wie die der KHK, revolutionieren.

■ Schlussfolgerung

Trotz intensiver Forschung ist es bisher nur eingeschränkt gelungen, DNA-Variationen, welche das KHK-Risiko maßgeblich beeinflussen, zu identifizieren. Obwohl bereits zahlreiche DNA-Polymorphismen als potenzielle Risikofaktoren für die KHK vorgeschlagen wurden, gelang es nur schwer, die beschriebenen Assoziationen in Folgestudien zu bestätigen. Deswegen gilt immer noch eine entsprechende Familienanamnese als sicherster Beweis für eine genetische Risikoveranlagung. Jüngste Studien zeigten jedoch, dass durch eine verbesserte Studienplanung und den Einsatz neuer Technologien ein sicherer Nachweis über den Einfluss von DNA-Variationen auf das KHK-Risiko erbracht werden kann. Durch eine Fortführung solcher Studien und durch die rasant fortschreitende technologische Weiterentwicklung auf dem Gebiet der Genotypisierung lassen sich in absehbarer Zeit verstärkt neue Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen genetischer Variabilität und der KHK erwarten.

Literatur:

- Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 2006; 367: 1747–57.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937–52.
- Williams RR, Hunt SC, Heiss G, Province MA, Bensen JT, Higgins M, Chamberlain RM, Ware J, Hopkins PN. Usefulness of cardiovascular family history data for population-based preventive medicine and medical research (the Health Family Tree Study and the NHLBI Family Heart Study). *Am J Cardiol* 2001; 87: 129–35.
- Murabito JM, Pencina MJ, Nam BH, D'Agostino RB Sr, Wang TJ, Lloyd-Jones D, Wilson PW, O'Donnell CJ. Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *JAMA* 2005; 294: 3117–23.
- Scheuner MT. Genetic evaluation for coronary artery disease. *Genet Med* 2003; 5: 269–85.
- Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994; 330: 1041–6.
- Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Frequent causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 407–20.
- Samani NJ, Burton P, Mangino M, Ball SG, Balmforth AJ, Barrett J, Bishop T, Hall A. A genome-wide linkage study of 1,933 families affected by premature coronary artery disease: The British Heart Foundation (BHF) Family Heart Study. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 1011–20.
- Chiodini BD, Lewis CM. Meta-analysis of 4 coronary heart disease genome-wide linkage studies confirms a susceptibility locus on chromosome 3q. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1863–8.
- Farrall M, Green FR, Peden JF, Olsson PG, Clarke R, Hellenius ML, Rust S, Lagercrantz J, Franzosi MG, Schulte H, Carey A, Olsson G, Assmann G, Tognoni G, Collins R, Hamsten A, Watkins H. Genome-wide mapping of susceptibility to coronary artery disease identifies a novel replicated locus on chromosome 17. *PLoS Genet* 2006; 2: e72.
- Helgadottir A, Manolescu A, Thorleifsson G, Gretarsdottir S, Jonsdottir H, Thorsteinsdottir U, Samani NJ, Gudmundsson G, Grant SF, Thorgeirsson G, Sveinbjornsdottir S, Valdimarsson EM, Matthiasson SE, Johannsson H, Gudmundsdottir O, Gurney ME, Sainz J, Thorhallsdottir M, Andresdottir M, Frigge ML, Topol EJ, Kong A, Gudnason V, Hakonarson H, Gulcher JR, Stefansson K. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat Genet* 2004; 36: 233–9.
- Girelli D, Martinelli N, Trabetti E, Olivieri O, Cavallari U, Malerba G, Busti F, Friso S, Pizzolo F, Pignatti PF, Corrocher R. ALOX5AP gene variants and risk of coronary artery disease: an angiography-based study. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 959–66.
- Morgan TM, Krumholz HM, Lifton RP, Spertus JA. Nonvalidation of reported genetic risk factors for acute coronary syndrome in a large-scale replication study. *JAMA* 2007; 297: 1551–61.
- Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, Shepherd J, Freeman DJ, McMahon AD, Cambien F, Nicaud V, de Grooth GJ, Talmud PJ, Humphries SE, Miller GJ, Eiriksdottir G, Gudnason V, Kauma H, Kakko S, Savolainen MJ, Arca M, Montali A, Liu S, Lanz HJ, Zwiderman AH, Kuivenhoven JA, Kastelein JJ. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment: individual patient meta-analysis of 13,677 subjects. *Circulation* 2005; 111: 278–87.
- Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for

coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004; 141: 137–47.

- Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, Keavney B, Collins R, Wiman B, de Faire U, Danesh J. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA* 2007; 298: 1300–11.
- Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis. *Circulation* 1999; 99: 2901–7.
- Ye Z, Liu EH, Higgins JP, Keavney BD, Lowe GD, Collins R, Danesh J. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006; 367: 651–8.
- Voko Z, Berezcky Z, Katona E, Adany R, Muszbek L. Factor XIII Val34Leu variant protects against coronary artery disease. A meta-analysis. *Thromb Haemost* 2007; 97: 458–63.
- Xu MQ, Ye Z, Hu FB, He L. Quantitative assessment of the effect of angiotensinogen gene polymorphisms on the risk of coronary heart disease. *Circulation* 2007; 116: 1356–66.
- Morgan TM, Coffey CS, Krumholz HM. Overestimation of genetic risks owing to small sample sizes in cardiovascular studies. *Clin Genet* 2003; 64: 7–17.
- Lewis SJ, Ebrahim S, Davey SG. Meta-analysis of MTHFR 677C>T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? *Br Med J* 2005; 331: 1053.
- Sie MP, Sayed-Tabatabaei FA, Oei HH, Uitterlinden AG, Pols HA, Hofman A, van Duijn CM, Witteman JC. Interleukin 6 – 174 g/c promoter polymorphism and risk of coronary heart disease: results from the Rotterdam study and a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 212–7.
- Clarke R, Xu P, Bennett D, Lewington S, Zondervan K, Parish S, Palmer A, Clark S, Cardon L, Peto R, Lathrop M, Collins R. Lymphotoxin-alpha gene and risk of myocardial infarction in 6,928 cases and 2,712 controls in the ISIS case-control study. *PLoS Genet* 2006; 2: e107.
- Lawlor DA, Day IN, Gaunt TR, Hinks LJ, Briggs PJ, Kiessling M, Timpon S, Smith GD, Ebrahim S. The association of the PON1 Q192R polymorphism with coronary heart disease: findings from the British Women's Heart and Health cohort study and a meta-analysis. *BMC Genet* 2004; 5: 17.
- Abilleira S, Bevan S, Markus HS. The role of genetic variants of matrix metalloproteinases in coronary and carotid atherosclerosis. *J Med Genet* 2006; 43: 897–901.
- Casas JP, Cavallieri GL, Bautista LE, Smeeth L, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006; 164: 921–35.
- Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes* 2007; 56: 1198–209.
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; 270: 26746–9.
- Hoefle G, Muendlein A, Saely CH, Risch L, Rein P, Koch L, Schmid F, Aczel S, Marte T, Langer P, Drexel H. The –11377 C>G promoter variant of the adiponectin gene, prevalence of coronary atherosclerosis, and incidence of vascular events in men. *Thromb Haemost* 2007; 97: 451–7.
- Muendlein A, Saely CH., Marte T, Schmid F, Koch L, Rein P, Langer P, Aczel S, Drexel H. Synergistic effects of the apolipoprotein E ε3/ε2/ε4, the cholesteryl ester transfer protein TaqIB, and the apolipoprotein C3–482 C>T polymorphisms on their association with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2008; 199: 179–86.
- Nassar BA, Rockwood K, Kirkland SA, Ranson TP, Davesesh S, MacPherson K, Johnstone DE, O'Neill BJ, Bata IR, Andreou P, Jeffery JS, Cox JL, Title LM. Improved prediction of early-onset coronary artery disease using APOE epsilon4, BChE-K, PPARgamma2 Pro12 and ENOS T-786C in a polygenic model. *Clin Biochem* 2006; 39: 109–14.
- Yamasaki Y, Katakami N, Sakamoto K, Kaneto H, Matsuhisa M, Sato H, Hori M, Haneda M, Kashiwagi A, Tanaka Y, Kawamori R, Kuno S. Combination of multiple genetic risk factors is synergistically associated with carotid atherosclerosis in Japanese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2445–51.
- Fan JB, Chee MS, Gunderson KL. Highly parallel genomic assays. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 632–44.
- The International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature* 2003; 426: 789–96.
- International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005; 437: 1299–320.
- Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T, Sato H, Sato H, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002; 32: 650–4.
- Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdottir S, Blondal T, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Sigurdsson A, Baker A, Palsson A, Masson G, Gudbjartsson DF, Magnusson KP, Andersen K, Levey AI, Backman VM, Matthiassdottir S, Jonsdottir T, Palsson S, Einarsson T, Gunnarsdottir S, Gylfason A, Vaccarino V, Hooper WC, Reilly MP, Granger CB, Austin H, Rader DJ, Shah SH, Quyyumi AA, Gudvarsson G, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* 2007; 316: 1491–3.
- Larson MG, Atwood LD, Benjamin EJ, Cupples LA, D'Agostino RB Sr, Fox CS, Govindaraju DR, Guo CY, Heard-Costa NL, Hwang SJ, Murabito JM, Newton-Cheh C, O'Donnell CJ, Seshadri S, Vasan RS, Wang TJ, Wolf PA, Levy D. Framingham Heart Study 100K project: genome-wide associations for cardiovascular disease outcomes. *BMC Med Genet* 2007; 8 (Suppl 1): S5.
- McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, Cox DR, Hinds DA, Pennacchio LA, Tybjaerg-Hansen A, Folsom AR, Boerwinkle E, Hobbs HH, Cohen JC. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007; 316: 1488–91.
- Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, Dixon RJ, Meisinger T, Braund P, Wichmann HE, Barrett TH, Kong IR, Stevens SE, Szyczak S, Trogout DA, Iles MM, Pahlke F, Polzella H, Lieb W, Cambien F, Fischer M, Ouwehand W, Blankenbregt S, Balmforth AJ, Baessler A, Ball SG, Strom TM, Braenne I, Gieger C, Deloukas P, Tobin MD, Ziegler A, Thompson JR, Schunkert H. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 443–53.
- Shen QG, Rao S, Martinelli N, Li L, Olivieri O, Corrocher R, Abdullah KG, Hazen SL, Smith J, Barnard J, Plow EF, Girelli D, Wang QK. Association between four SNPs on chromosome 9p21 and myocardial infarction is replicated in an Italian population. *J Hum Genet* 2008; 53: 144–50.
- Shen QG, Li L, Rao S, Abdullah KG, Ban JM, Lee BS, Park JE, Wang QK. Four SNPs on Chromosome 9p21 in a South Korean Population Implicate a Genetic Locus That Confers High Cross-Race Risk for Development of Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 360–5.
- Dahlman I, Eaves IA, Kosoy R, Morrison VA, Howard J, Gough SC, Allahabadi A, Franklyn JA, Tuomilehto J, Tuomilehto-Wolf E, Cucca F, Guja C, Ionescu-Tirgoviste C, Stevens H, Carr P, Nutland S, McKinney P, Shield JP, Wang W, Cordell HJ, Walker N, Todd JA, Concannon P. Parameters for reliable results in genetic association studies in common disease. *Nat Genet* 2002; 30: 149–50.
- Cohloun HM, McKeigue PM, Davey SG. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003; 361: 865–72.
- Cohen JC, Kiss RS, Pertsemlidis A, Marcel YL, McPherson R, Hobbs HW. Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol. *Science* 2004; 305: 869–72.
- Schuster SC. Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nat Methods* 2008; 5: 16–8.

ANTWORTFAX

JOURNAL FÜR KARDIOLOGIE

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement
(mindestens 6 Ausgaben) zum
Preis von € 60,- (Stand 1.1.2010)
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,
Postfach 21, A-3003 Gablitz, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

Bücher & CDs
Homepage: www.kup.at/buch_cd.htm
