

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I Großhadern  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. med. G. Steinbeck

Signifikante Assoziation zwischen der Prävalenz der Resistenz gegen aktiviertes  
Protein C infolge Faktor V Leiden und Myokardinfarkt:  
Studie mit 507 Myokardinfarktpatienten und Metaanalyse früherer  
Publikationen

**Dissertation**  
**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin**  
**an der Medizinischen Fakultät der**  
**Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

vorgelegt von  
Katharina Middendorf

aus  
München

2002

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

1. Berichterstatterin:	Prof. Dr. med. S. Nikol
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. C. von Schacky
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. B. Engelmann Prof. Dr. R. Lorenz Prof. Dr. Dr. H.-E. Wichmann
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	keinen
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung:	21.11.2002

# Inhaltsverzeichnis

<b>I. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1. Anatomie und Physiologie von Arterien .....	1
1.2. Atherosklerose, koronare Herzkrankheit, Myokardinfarkt.....	2
1.2.1. Definition der Atherosklerose.....	2
1.2.2. Ätiologie der Atherosklerose .....	3
1.2.3. Definition und Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit .....	4
1.2.4. Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit .....	5
1.2.5. Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit.....	6
1.2.6. Pathogenese der Atherosklerose bei koronarer Herzkrankheit.....	6
1.2.7. Myokardinfarkt .....	10
1.3. Physiologie des hämostatischen Systems .....	15
1.3.1. Primäre Hämostase.....	16
1.3.1.1. Vasokonstriktion.....	16
1.3.1.2. Thrombozyten.....	16
1.3.2. Sekundäre Hämostase.....	19
1.3.2.1. Intrinsisches System.....	20
1.3.2.2. Extrinsisches System .....	21
1.3.2.3. Gemeinsame Endstrecke beider Teilsysteme .....	21
1.3.2.4. Inhibitoren der plasmatischen Gerinnung .....	23
1.3.3. Fibrinolytisches System.....	25
1.3.3.1. Ablauf der Fibrinolyse .....	25
1.3.3.2. Inhibitoren der Fibrinolyse.....	26
1.3.4. Endothel.....	27
1.4. Thrombose, Hyperkoagulabilität und Thrombophilie .....	28
1.4.1. Definition der Thrombose .....	28
1.4.2. Pathogenese der Thrombose .....	28
1.4.2.1. Kausale Pathogenese.....	28
1.4.2.2. Formale Pathogenese .....	30
1.4.3. Hyperkoagulabilität und Thrombophilie .....	31
1.4.3.1. Antithrombinmangel .....	32
1.4.3.2. Protein C-Mangel.....	33
1.4.3.3. Protein S-Mangel .....	34
1.4.3.4. Hyperhomozysteinämie .....	34
1.4.3.5. Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom.....	35
1.4.3.6. Seltener, zur Thrombophilie führende Störungen.....	35
1.4.3.7. Resistenz gegen aktiviertes Protein C.....	36
1.5. Zielsetzung der Arbeit .....	43
<b>II. Patienten und Methoden</b> .....	<b>44</b>
2.1. Patientenkollektiv .....	44

2.2.	Kontrollkollektiv .....	45
2.3.	Methoden .....	46
2.3.1.	Globaltests der plasmatischen Gerinnung .....	46
2.3.1.1.	Thromboplastinzeit .....	46
2.3.1.2.	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit .....	47
2.3.2.	Spezialtests der Gerinnung .....	47
2.3.2.1.	Faktor I.....	47
2.3.2.2.	Faktor XII.....	48
2.3.2.3.	Antithrombin .....	48
2.3.2.4.	Protein C.....	48
2.3.2.5.	Protein S .....	49
2.3.2.6.	Resistenz gegen aktiviertes Protein C .....	50
2.3.3.	Molekulargenetischer Nachweis des Faktor V Leiden.....	51
2.3.3.1.	Isolierung genomischer Desoxyribonukleinsäuren.....	51
2.3.3.2.	Oligonukleotid-Primer .....	52
2.3.3.3.	Polymerasekettenreaktion .....	53
2.3.3.4.	Präzipitation der DNA mit Ethanol .....	54
2.3.3.5.	Hydrolytische Spaltung der DNA mit Restriktionsendonukleasen .....	54
2.3.3.6.	Agarosegelelektrophorese .....	55
2.3.4.	Metaanalyse .....	56
2.3.5.	Statistische Auswertung .....	57

### **III. Ergebnisse .....** **59**

3.1.	Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	59
3.1.1.	Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	59
3.1.2.	Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt.....	61
3.1.3.	Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt unter Berücksichtigung des Alters beim ersten Myokardinfarkt .....	65
3.1.4.	Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt unter Berücksichtigung des Geschlechts.....	65
3.1.5.	Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt unter Berücksichtigung der ethnischen Zugehörigkeit .....	66
3.2.	Weitere Gerinnungsparameter bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	68
3.2.1.	Faktor I bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	68
3.2.1.1.	Faktor I in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt .....	68
3.2.1.2.	Faktor I in Abhängigkeit von Faktor V Leiden .....	69
3.2.2.	Faktor XII bei Patienten mit Myokardinfarkt.....	70
3.2.2.1.	Faktor XII in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt.....	70
3.2.2.2.	Faktor XII in Abhängigkeit von Faktor V Leiden.....	71
3.2.3.	Antithrombin bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	72
3.2.3.1.	Antithrombin in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt.....	72
3.2.3.2.	Antithrombin in Abhängigkeit von Faktor V Leiden .....	73
3.2.4.	Protein C bei Patienten mit Myokardinfarkt.....	73
3.2.4.1.	Protein C in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt.....	74

3.2.4.2.	Protein C in Abhängigkeit von Faktor V Leiden.....	74
3.2.5.	Protein S bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	75
3.2.5.1.	Protein S in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt .....	75
3.2.5.2.	Protein S in Abhängigkeit von Faktor V Leiden .....	76
3.3.	Kardiovaskuläre Risikofaktoren bei Patienten mit Myokardinfarkt in Abhängigkeit von der Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden .....	77
3.3.1.	Hyperlipidämie bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	78
3.3.2.	Arterielle Hypertonie bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	78
3.3.3.	Nikotinabusus bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	79
3.3.4.	Positive Familienanamnese bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	79
3.4.	Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und weitere arterielle Thrombembolien in der vorliegenden Studie .....	80
3.5.	Metaanalyse publizierter Studien .....	83
3.5.1.	Publikationen zur Assoziation zwischen Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und Myokardinfarkt.....	83
3.5.1.1.	Publikationen ohne Nachweis einer Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt.....	83
3.5.1.2.	Publikationen mit Nachweis einer positiven Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt.....	89
3.5.2.	Charakteristika der in die Metaanalyse eingeschlossenen Studien.....	94
3.5.3.	Untersuchung der publizierten Studienergebnisse auf Heterogenität .....	98
3.5.4.	Forrest-Plot .....	98
3.5.5.	Funnel-Plot .....	98
3.6.	Publikationen zur Assoziation zwischen weiteren laborchemischen Parametern und Myokardinfarkt .....	99
3.7.	Publikationen zur Assoziation zwischen Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien .....	106
3.7.1.	Publikationen ohne Nachweis einer Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien .....	106
3.7.2.	Publikationen mit Nachweis einer positiven Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien .....	108
<b>IV. Diskussion .....</b>		<b>111</b>
4.1.	Positive Assoziation zwischen Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und Myokardinfarkt in der vorliegenden Studie im Vergleich zu bisherigen Publikationen.....	111
4.1.1.	Berücksichtigung von Phänotyp und Genotyp des Faktor V Leiden .....	114
4.1.2.	Berücksichtigung der Altersverteilung der Myokardinfarktpatienten .....	116
4.1.3.	Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung der Myokardinfarktpatienten ..	117
4.1.4.	Berücksichtigung der ethnischen Zugehörigkeit der Myokardinfarktpatienten .....	119

4.2.	Assoziation zwischen weiteren Gerinnungsparametern und Myokardinfarkt in der vorliegenden Studie .....	122
4.2.1.	Assoziation zwischen Faktor I und Myokardinfarkt .....	122
4.2.2.	Assoziation zwischen Faktor XII und Myokardinfarkt .....	123
4.2.3.	Assoziation zwischen Antithrombin und Myokardinfarkt .....	123
4.2.4.	Assoziation zwischen Protein C und Myokardinfarkt .....	124
4.2.5.	Assoziation zwischen Protein S und Myokardinfarkt .....	125
4.3.	Assoziation zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren bei Patienten mit Myokardinfarkt und der Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden .....	125
4.3.1.	Hyperlipidämie bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	126
4.3.2.	Arterielle Hypertonie bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	126
4.3.3.	Nikotinabusus bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	127
4.3.4.	Positive Familienanamnese bei Patienten mit Myokardinfarkt .....	128
4.4.	Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und weitere arterielle Thrombembolien in der vorliegenden Studie .....	128
4.5.	Schlußfolgerung .....	129
4.5.1.	Zusammenfassende Betrachtung .....	1329
4.5.2.	Klinische Konsequenzen .....	134
<b>V. Zusammenfassungen .....</b>		<b>136</b>
5.1.	Zusammenfassung deutsch .....	136
5.2.	Zusammenfassung englisch .....	137
<b>VI. Literaturverzeichnis .....</b>		<b>139</b>
<b>VII. Danksagung .....</b>		<b>147</b>
<b>VIII. Lebenslauf .....</b>		<b>148</b>

# **I. Einleitung**

Es wird allgemein angenommen, daß die Atherosklerose bei der koronaren Herzkrankheit vor allem auf den durch die *Framingham Heart Study* (Sytkowski et al., 1990) bekannten Risikofaktoren beruht. Mit zunehmender Kenntnis der Pathologie der Gerinnungskaskade wird jedoch vermehrt auch eine prädisponierende Rolle von Gerinnungsfaktoren diskutiert, insbesondere dann, wenn es komplizierend zu einem akuten Gefäßverschluß und dem hierdurch verursachten Myokardinfarkt kommt.

## **1.1. Anatomie und Physiologie von Arterien**

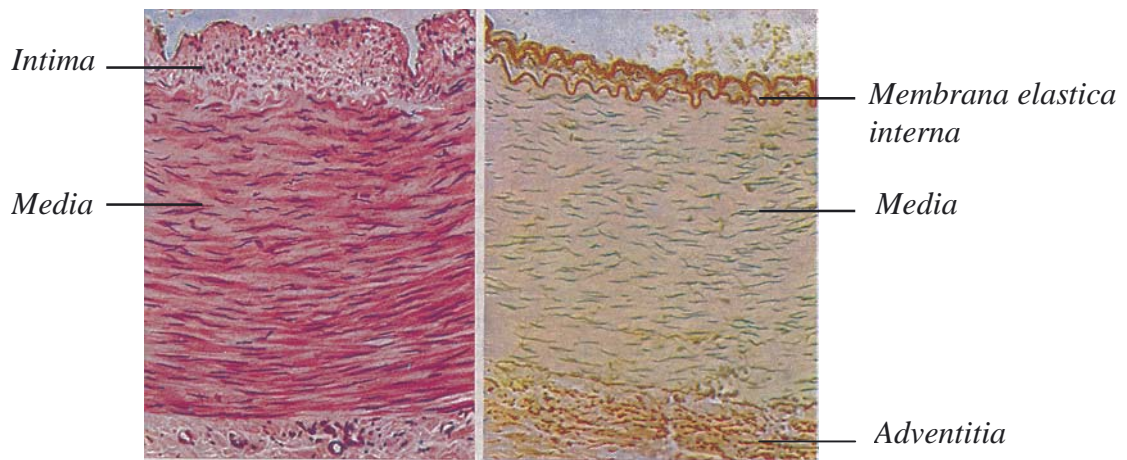
Die arterielle Gefäßwand ist aus drei Schichten aufgebaut ist (vgl.: Abbildung 1.1.; Leonhardt, 1990; Moll et al., 1995):

1. Tunica intima (syn.: Intima): Sie wird durch ein *monolayer* an Endothelzellen vom Blut (Libby, 1998) und durch die *Membrana elastica interna* von der anschließenden *Media* abgegrenzt. Die *Lamina propria intima* enthält in extrazelluläre Matrix eingebettete glatte Muskelzellen (Moll et al., 1995; Libby, 1998). Die *Intima* dient dem Stoff-, Flüssigkeits- und Gasaustausch durch die Gefäßwand (Leonhardt, 1990).

2. Tunica media (syn.: Media): Sie enthält ringförmig verlaufende Lagen glatter Muskelzellen, die von kollagen- und elastinreicher extrazellulärer Matrix umgeben sind (Moll et al., 1995; Libby, 1998). Elastische Arterien, wie beispielsweise die Aorta, enthalten konzentrische Lamellen von glatten Muskelzellen, die in dichte Elastinbänden eingebunden sind (Windkesselfunktion). Muskuläre Arterien zeigen dagegen eine lockerere Verteilung der glatten Muskelzellen in der extrazellulären Matrix (Moll et al., 1995). Die *Media* reguliert durch die vegetative Innervation ihrer Muskelschicht die Gefäßweite der Arterien und damit die Zirkulation des Blutes (Leonhardt, 1990; Moll et al., 1995).

3. Tunica adventitia (syn.: Adventitia): Sie wird durch die *Membrana elastica externa* von der anschließenden *Media* abgegrenzt (Moll et al., 1995). Die *Adventitia* enthält Nerven und Mastzellen, und ist der Ursprung der *Vasa vasorum* (Libby, 1998), die die äußeren zwei Drittel der *Media* mit Blut versorgen, während die inneren Abschnitte des Gefäßes über Diffusion

ernährt werden (Moll et al., 1995). Die *Adventitia* verbindet das Gefäß locker mit der Umgebung (Leonhardt, 1990; Moll et al., 1995).



**Abbildung 1.1.:** Histologischer Querschnitt einer muskulären Arterie. Links Hämalaun-Eosin-Färbung, rechts Hämalaun-Orzein-Färbung. 120fache Vergrößerung (aus Kühnel, 1995).

Die wesentlichen zellulären Komponenten der Gefäße sind somit glatte Muskelzellen (Myozyten) und Endothelzellen. Über die endotheliale Produktion von Faktoren, die die Myozyten der *Media* an der Proliferation hindern, sind beide Zellsysteme strukturell und metabolisch miteinander verkoppelt. In der normalen Gefäßwand liegen die Myozyten der *Media* in einer kontraktilen Form vor (sog. k-Phänotyp). Sie können sich zusammenziehen, eine mitotische Teilung ist jedoch aufgrund endothelialer Hemmstoffe nicht möglich (Riede et al., 1995).

## **1.2. Atherosklerose, koronare Herzkrankheit, Myokardinfarkt**

### **1.2.1. Definition der Atherosklerose**

Gemäß WHO definiert der Begriff Atherosklerose eine variable Kombination von *Intima*-Veränderungen, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Calciumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterien-*Media* (Riede et al., 1995). Die Atherosklerose zählt neben der Mönckebergschen verkalkenden Mediasklerose, der Arteriolosklerose und anderen Manifestationen, wie der hypertonen Vaskulopathie, zur Arteriosklerose. Diese ist ein Sammelbegriff für primär nicht-entzündliche Arterienerkrankungen, bei denen ein fibröser Umbau stattfindet, der zu einer Verdickung und Verhärtung und somit zu einem Elastizitätsverlust der Gefäßwand führt (Riede et al., 1995).



### **1.2.2. Ätiologie der Atherosklerose**

Bei der primären Form der Atherosklerose ist die Ätiologie unbekannt. Den sekundären Atherosklerosen gehen längerdauernde metabolische, entzündliche und physikalische Gefäßwandschäden voraus, die später in einen sklerosierenden Gefäßumbau übergehen (Sing et al., 1990; Riede et al., 1995).

Im folgenden werden die wesentlichen kausalpathogenetischen Risikofaktoren beschrieben:

1. Hyperlipidämie: Die wichtigste Rolle spielt hierbei die Hypercholesterinämie. Eine Erhöhung der LDL (*low density lipoprotein*)- und VLDL (*very low density lipoprotein*)-Werte, ein Anstieg der Lipoprotein (a)-Werte und eine Erniedrigung der HDL (*high density lipoprotein*)-Werte gehen mit einem erhöhten Atheroskleroserisiko einher. HDL wirkt als protektiver Faktor. Es unterdrückt die zelluläre LDL-Aufnahme, hemmt die Cholesterinanhäufung in den Zellen der Arterienwand durch Überführung des Cholesterinüberschusses in die Gallensäuresynthese der Leber und verhindert somit die Entstehung einer Atherosklerose. Eine Erhöhung des HDL-Spiegels wird bei körperlicher Aktivität, aber auch bei mäßigem Alkoholkonsum beobachtet. Adipositas führt, besonders bei gleichzeitigem Diabetes mellitus, ebenfalls zu einem erhöhten Atheroskleroserisiko (Riede et al., 1995).

2. Arterielle Hypertonie: Neben der hämodynamischen Komponente spielen auch die begleitenden genetischen Faktoren der arteriellen Hypertonie eine atherosklerosefördernde Rolle. Lymphozyten von Patienten mit arteriellem Hypertonus sind weniger resistent gegenüber DNA-schädigenden Einflüssen als Lymphozyten normotoner Personen, da sie mehr Mutagene binden, weniger DNA-Reparaturenzyme synthetisieren und mehr Chromosomenbrüche aufweisen (Riede et al., 1995).

3. Rauchen: Der Zigarettenrauch wirkt in mehrfacher Weise pathogen auf die Gefäßwand. Er beeinträchtigt den Blutcholesterinspiegel und führt durch seinen Kohlenmonoxidgehalt zu ischämischen Gewebsschädigungen. Außerdem enthält er ein Glykoprotein, das den Faktor XII des intrinsischen Systems der Blutgerinnung zu aktivieren vermag, sowie mutagene Substanzen, die in den Proliferationsstoffwechsel der Gefäßwandzellen eingreifen. Die gleichzeitige Einnahme oraler Kontrazeptiva führt bei zigarettenrauchenden Frauen zu einer zusätzlichen Erhöhung des Atheroskleroserisikos (Riede et al., 1995).

4. Geschlecht: Frauen weisen einen höheren HDL- und einen niedrigeren LDL-Spiegel als Männer auf. Aufgrund der protektiven Wirkung der natürlichen weiblichen Geschlechtshormone, hierbei besonders des Östrogens, haben fertile Frauen im Vergleich zu Männern ein geringeres Risiko, an Atherosklerose zu erkranken. Nach dem Klimakterium, aber auch bei Behandlung mit synthetischem Östrogen fällt dieser protektive Effekt weg (Riede et al., 1995).

5. Genetische Faktoren: Hyperlipoproteinämie Typ II und Typ IV, sowie Homozysteinurie und Gicht gehen mit einem besonders erhöhten Risiko für eine Atherosklerose einher. Die Prädisposition zur Ausbildung einer Atherosklerose ist ebenfalls genetisch determiniert (Riede et al., 1995). So stellt das Auftreten einer koronaren Herzkrankheit vor dem 55. Lebensjahr bei einem Verwandten ersten Grades einen wesentlichen Risikofaktor dar (Libby, 1998). Kontrovers wird die Rolle des ACE (*angiotensin converting enzyme*)-Polymorphismus in der Ätiologie der Atherosklerose diskutiert, bei dem eine homozygote Deletion mit Myokardinfarkt assoziiert sein soll (Libby, 1998).

### **1.2.3. Definition und Epidemiologie der koronaren Herzkrankheit**

Die koronare Herzkrankheit (KHK; syn. ischämische Herzkrankheit, Koronarinsuffizienz) wird definiert als auf der Grundlage einer Atherosklerose (vgl.: Kapitel 1.2.1.) entstehende stenosierende Veränderungen des kardialen Koronargefäßsystems, die zu einem Mißverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im abhängigen Myokardareal führen können. Die klinischen Symptome und der zeitliche Verlauf der koronaren Herzkrankheit sind sehr variabel. Sie reichen von asymptomatischen Verlaufsformen bis zum Auftreten akuter koronarer Syndrome, wie instabiler *Angina pectoris* und Myokardinfarkt (Breithardt et al., 1998).

Gemäß der *Framingham Heart Study* ist die koronare Herzkrankheit eine der Haupttodesursachen in den Industrienationen der westlichen Welt (Sytkowski et al., 1990). Die Prävalenz der koronaren Herzkrankheit liegt bei bis zu 20% der Männer im mittleren Lebensalter (Herold et al., 1999), bei Frauen nimmt die Häufigkeit erst nach der Menopause infolge des Östrogenmangels zu (Breithardt et al., 1998).

#### **1.2.4. Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit**

Die Risikofaktoren der Atherosklerose und damit auch die Risikofaktoren für die Entstehung der koronaren Herzkrankheit lassen sich in unbeeinflussbare und beeinflussbare Risikofaktoren unterteilen (Breithardt et al., 1998; Herold et al., 1999).

##### Unbeeinflussbare Risikofaktoren:

1. familiäre Disposition (positive Familienanamnese)
2. höheres Lebensalter
3. männliches Geschlecht

Die beeinflussbaren Risikofaktoren lassen sich in Risikofaktoren erster und zweiter Ordnung untergliedern. In Gegenwart von zwei Risikofaktoren erster Ordnung ist im Vergleich zu Normalpersonen das Myokardinfarktisiko vierfach erhöht, bei Vorliegen von drei Risikofaktoren erster Ordnung sogar verzehnfacht (Herold et al., 1999).

##### Risikofaktoren erster Ordnung:

1. Fettstoffwechselstörungen mit pathologischem Lipidprofil: Erhöhung von Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin, Erniedrigung von HDL-Cholesterin, Triglyceriderhöhung
2. arterieller Hypertonus
3. Diabetes mellitus
4. metabolisches Syndrom mit Stammfettsucht, Insulinresistenz und Hyperinsulinämie, sowie assoziierten Erkrankungen (Fettstoffwechselstörungen, arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus)
5. Nikotinabusus

##### Risikofaktoren zweiter Ordnung:

1. Erhöhung von Lipoprotein (a)
2. Hyperfibrinogenämie (>300mg/dl)
3. Hyperhomocysteinämie (>9µmol/l)
4. genetisch bedingte t-PA (*tissue-type plasminogen activator*)-Defekte
5. körperliche Inaktivität

## 6. Negativer Streß: Typ D-Persönlichkeit (*disstressed personality*), Typ A-Persönlichkeit (*aggressive personality*)

Als weiterer Auslöser für Arteriosklerose wird derzeit eine entzündlich-infektiöse Genese infolge einer persistierenden Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* diskutiert. Erhöhte Werte des C-reaktiven Proteins (CRP) bereits vor dem Myokardinfarkt, positive Antikörper-Titer und Therapiestudien mit Makroliden unterstützen diese Hypothese (Dahlén et al., 1995; Herold et al., 1999). Eine Kausalität konnte bisher jedoch noch nicht bewiesen werden.

### **1.2.5. Pathophysiologie der koronaren Herzkrankheit**

Pathogenetisch liegt der koronaren Herzkrankheit eine Atherosklerose der Koronargefäße des Herzens zugrunde, woraus eine Koronarstenose resultiert. Pathophysiologisch führt dies zur Reduktion des arteriellen Blutflusses und somit auch zur Verminderung der Sauerstoffzufuhr im entsprechenden Myokardareal (Breithardt et al., 1998). Entsprechend der Querschnittsverminderung werden vier Schweregrade der Koronarstenose unterschieden (Herold et al., 1999):

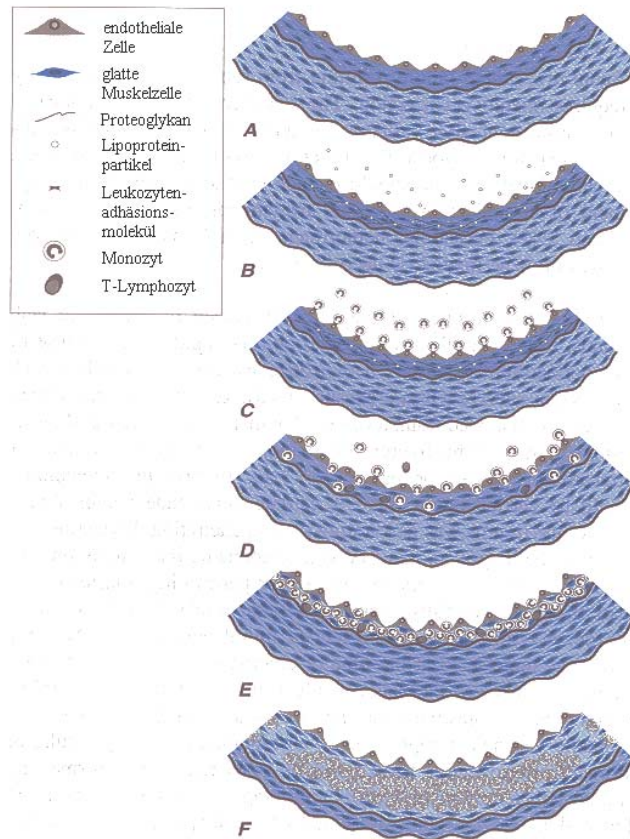
Grad I	bei 25 – 49 %iger Stenose
Grad II	bei 50 – 74 %iger Stenose
Grad III	bei 75 – 99 %iger Stenose (kritische Stenose)
Grad IV	bei 100 %iger Stenose (komplett okkludiert)

Unter Berücksichtigung des Ausmaßes an Kollateralgefäßen sind erst bei einer Einengung des Gefäßquerschnittes über 50% regionale Perfusionsstörungen des Myokards zu erwarten. Die Koronarreserve, die als Differenz zwischen Koronarperfusion in Ruhe und maximal möglicher Koronarperfusion definiert wird, ist erschöpft, wenn mehr als 75% des Gefäßlumens eingeengt sind und kompensatorisch wirkende Kollateralgefäße fehlen. Es resultiert eine belastungsabhängige *Angina pectoris* (Herold et al., 1999).

### **1.2.6. Pathogenese der Atherosklerose bei koronarer Herzkrankheit**

In einem gewissen Umfang ist die Entstehung einer Atherosklerose ein physiologischer Prozeß des Alterns, der bereits in der Adoleszenz beginnt (sog. Physiosklerose). Sowohl diese altersspezifische Sklerose als auch die pathologisch gesteigerte Form der Atherosklerose (sog. Pathosklerose) führen zu einer Verhärtung der Gefäßwand durch Ansammlung von kollagenen Fasern und Proteoglykanen, besonders in der *Intima* der Aorta und der großen Arterien des

Körpers, mit progredienter Kalksalzeinlagerung und Gefäßwandkalzinose (Riede et al., 1995). Die Pathogenese der Atherosklerose läßt sich formal in mehrere Teilschritte untergliedern (vgl. Abbildung 1.2.):



**Abbildung 1.2.:** Pathogenese der Atherosklerose (aus Libby, 1998).

A: Aufbau der normalen arteriellen Gefäßwand aus *Intima*, *Media* und *Adventitia*.

B: Akkumulation und Modifikation von Lipoproteinpartikeln in der *Intima* des Gefäßes.

C: Adhäsion von Leukozyten am luminalen Endothel.

D: Penetration von Leukozyten in die *Intima* des Gefäßes.

E: Akkumulation von Leukozyten unter Ausbildung von Schaumzellen.

F: Ausbildung einer fibrösen Kappe und eines Lipidkerns in der Gefäßwand.

1. Akkumulation und Modifikation von Lipoproteinpartikeln: Im Gefäßlumen und in der Gefäßwand verhalten sich die Konzentrationen von LDL und HDL weitgehend proportional. Somit führt ein anhaltender Konzentrationsanstieg des LDL im Blut infolge einer Hypercholesterinämie zu einer Zunahme dieses Lipoproteins in der Gefäßwand (Riede et al., 1995). Diese Ansammlung von LDL in der arteriellen *Intima* beruht nicht allein auf einer Permeabilitätszunahme oder Undichtigkeit des deckenden Endothels, sondern viel mehr auf einer Bindung von Lipoproteinen an Proteoglykane der extrazellulären Matrix, wobei eine relative Überexpression des Proteoglykans Heparansulfat im Vergleich zu den Proteoglykanen Keratan- und Chondroitinsulfat beobachtet wird (Libby, 1998). Sowohl durch diese Bindung

von LDL als auch durch seinen anhaltenden Konzentrationsanstieg und die arteriosklerotisch bedingte Kollagenfaser- und Proteoglykanvermehrung wird die Verweildauer dieses cholesterinreichen Lipoproteins im vaskulären Interstitium verlängert (Riede et al., 1995; Libby, 1998). Die Bindung von Lipoproteinen an Proteoglykane der extrazellulären Matrix führt zu einer chemischen Modifikation der Lipoproteine, da letztere durch das Eindringen in die *Intima* von den schützenden Antioxidantien des Plasmas getrennt werden. So kommt es zur Oxidation und nicht-enzymatischen Glykosilierung der Lipoproteine, was wiederum lokale Entzündungsreaktionen triggern kann, die zur Entwicklung atherosklerotischer Gefäßläsionen führen (Libby, 1998).

2. Adhäsion von Leukozyten: Eine Reihe von Adhäsionsmolekülen oder Rezeptoren für Leukozyten (Monozyten, Lymphozyten), die auf der Oberfläche arterieller Gefäßendothelzellen vermehrt exprimiert werden, sind bei der Rekrutierung von Leukozyten im Bereich entstehender Gefäßläsionen beteiligt. In diesem Zusammenhang wurde die Rolle der Adhäsionsmoleküle VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*) und P-Selektin besonders untersucht. Die Expression von Leukozyten-Adhäsionsmolekülen (v.a. VCAM-1) kann durch Lysophosphatidylcholin, einem Bestandteil von oxidativ modifiziertem LDL, vermehrt und durch laminare Scherkräfte, wie sie unter physiologischen Bedingungen in Arterien vorzufinden sind, unterdrückt werden. Laminare Scherkräfte fördern die endotheliale Synthese von NO (Stickstoffmonoxid). Dieses wirkt nicht nur vasodilatierend, sondern auch lokal antiinflammatorisch, beispielsweise zur Limitierung einer lokalen VCAM-1-Expression. Auf diese Weise kann das normale Endothel durch eine kontinuierliche Sekretion von NO eine Vasodilatation aufrechterhalten und damit einer Leukozytenadhäsion vorbeugen. Diese zellulären Mechanismen, die vor der Entstehung atherosklerotischer Läsionen schützen, werden möglicherweise durch lokale Turbulenzen hämodynamischer Kräfte beeinflusst, was die fokale Verteilung atherosklerotischer Läsionen erklären könnte (Libby, 1998).

Desweiteren spielen auch Cytokine, wie IL-1 (*interleukin 1*) und TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor  $\alpha$* ), eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung von Leukozyten, da sie die Expression von VCAM-1 und ICAM-1 auf der endothelialen Zelloberfläche induzieren können. Da modifizierte Lipoproteine zur Freisetzung von Cytokinen aus Gefäßwandzellen führen können, könnte es sich hierbei um eine zusätzliche Verbindung zwischen Lipoproteinakkumulation sowie -modifikation und Leukozytenrekrutierung handeln (Libby, 1998).



3. Penetration von Leukozyten: Nach der Adhäsion können Monozyten und Lymphozyten das Endothel durchdringen und sich in der *Intima* ablagern. Diese direkte Migration von Leukozyten beruht auf chemotaktisch aktiven Faktoren, einschließlich der Bestandteile oxidativ modifizierter Lipoproteine. Eine wichtige Rolle spielen aber auch Chemokine wie MCP-1 (*macrophage chemoattractant protein 1*), das von den Gefäßwandzellen als Reaktion auf die modifizierten Lipoproteine synthetisiert wird (Libby, 1998).

4. Akkumulation von Leukozyten: Nach Ablagerung in der *Intima* können sich mononukleäre Phagozyten in Makrophagen umwandeln. Sie besitzen die Fähigkeit, sich zu teilen, und zeigen eine verstärkte Expression des sog. *scavenger*-Rezeptors, über den via rezeptorvermittelte Endozytose vorzugsweise chemisch modifizierte Lipoproteine (v.a. oxidiertes LDL) aufgenommen werden können. Durch die Lipidaufnahme können Makrophagen zu Schaumzellen werden, deren Zytoplasma mit Lipidtröpfchen angefüllt ist (Libby, 1998). In den Lysosomen der Schaumzellen kann es zur sauren Hydrolyse von Lipoproteinen kommen, wobei die Spaltprodukte der Proteine und Triglyceride (Glycerin, Fettsäuren) weiter metabolisiert werden können (Riede et al., 1995). Durch die Lipidaufnahme kann die entstehende atherosklerotische Läsion von der Lipoproteinansammlung gereinigt werden, da Schaumzellen die Arterienwand wieder verlassen können. Werden jedoch mehr Lipide in die Arterienwand aufgenommen als über Schaumzellen abgegeben werden können, resultiert eine Lipidakkumulation und die Tendenz zur Atherombildung (Libby, 1998).

5. Ausbildung einer fibrösen Kappe und eines Lipidkerns: Wachstumsfaktoren (v.a. *platelet-derived growth factor*, *fibroblast growth factor*) und andere Zytokine (v.a. IL-1, TNF- $\alpha$ ) stimulieren die Proliferation glatter Muskelzellen und die Produktion extrazellulärer Matrix, die sich in atherosklerotischen Plaques ansammeln. Die fibröse Kappe, die aus extrazellulärer Matrix besteht und durch glatte Muskelzellen der *Intima* verstärkt wird, umschließt einen lipidreichen, makrophagengefüllten Kern (Libby, 1998). Das bei der Hydrolyse von Cholesterinestern freigesetzte Cholesterin wird durch die Enzyme der Makrophagen nicht beeinflusst. Kommt es nicht zu einem Abtransport durch HDL, kann das überschüssige Cholesterin auskristallisieren und dadurch die Lysosomen und sonstigen Membransysteme der Makrophagen zerstören. Somit bilden ältere Schaumzellareale einen Herd mit zentraler Nekrosezone und fettigem Detritus, der in noch vitale Schaumzellareale übergeht. Dieses Bild wird als Atherom bzw. stabile atherosklerotische Plaque bezeichnet (Riede et al., 1995).

Atherome zeigen die Eigenschaft, in abluminaler Richtung zu wachsen. Sie dringen damit nicht in das Gefäßlumen ein, so daß es durch Umbauprozesse zu einer kompensatorischen Ausweitung des Gefäßes kommen und angiographisch in diesem Stadium das Ausmaß der Atherosklerose leicht unterschätzt werden kann (Libby, 1998).

Die Atherosklerose führt zu einer morphologischen und funktionellen Veränderung der Arterienwand (Libby, 1998). Bei einer kontinuierlichen Schädigung des Gefäßendothels fällt die endotheliale Mitosehemmung der glatten Muskelzellen weg, und der Myozyt der *Media* wandelt sich aus der kontraktilen Form (sog. k-Phänotyp) in seine metabolisch aktive Form um (sog. m-Phänotyp). Diese ist für mitogene Reize sehr empfänglich und vermag große Mengen faserhaltiger Grundsubstanz zu bilden (Riede et al., 1995). Von normalerweise ruhenden subendothelialen Mesenchymzellen und/oder auch den oben beschriebenen Myozyten der *Media* lassen sich die sog. Myofibroblasten herleiten, die bei der Atherosklerose in der *Intima* nachzuweisen sind. Sie vereinen die Merkmale von glatten Muskelzellen und Fibroblasten, wobei die kontraktilen Eigenschaften zugunsten synthetisierender, metabolisierender Eigenschaften verschoben sind (sog. m-Phänotyp; Riede et al., 1995).

### **1.2.7. Myokardinfarkt**

Ein Myokardinfarkt, der pathologisch als Koagulationnekrose imponiert (Riede et al., 1995), kann eintreten, wenn es zu einem plötzlichen Abfall der koronaren Durchblutung infolge eines thrombotischen Verschlusses eines bereits atherosklerotisch verengten Gefäßes kommt. Dieser Thrombus bildet sich an der Stelle einer Gefäßverletzung aus, deren zugrundeliegendes Atherom durch Einwirkung der kardiovaskulären Risikofaktoren entstanden ist. In den meisten Fällen beruht ein Myokardinfarkt auf der Fissur, Ruptur oder Ulzeration einer atherosklerotischen Plaque bei gleichzeitigem - lokalen oder systemischen - thrombogenen Zustand mit der Folge, daß sich an der Stelle der Läsion ein wandständiger Thrombus ausbildet, der zum Verschuß des Koronargefäßes führt. Histologische Studien zeigten eine erhöhte Rupturgefahr für atherosklerotische Plaques mit lipidreichem Kern und dünner fibröser Kappe (Libby, 1998).

Nach Ausbildung eines *monolayers* aus Thrombozyten an der Läsionsstelle können die Agonisten Kollagen, ADP (Adenosindiphosphat), Epinephrine und Serotonin die Aktivierung dieser angelagerten Thrombozyten herbeiführen. Diese Aktivierung bedingt die Synthese und Freisetzung des Vasokonstriktors Thromboxan A<sub>2</sub>, eine weitere Thrombozytenaktivierung und



möglicherweise auch eine Resistenz gegenüber einer Thrombolyse. Außerdem resultiert eine thrombozytenvermittelte Konformationsänderung des Glykoprotein GPIIb/IIIa-Rezeptors. Die Folge ist eine hohe Affinität dieses Rezeptors zur Arginin-Glycin-Aspartat-Sequenz (sog. RGD-Sequenz) der  $\alpha$ -Kette und auch zu einer Dodecasequenz der  $\gamma$ -Kette des Fibrinogens. Da es sich bei Fibrinogen um ein multivalentes Molekül handelt, kann es zwei Thrombozyten gleichzeitig binden, was zur Thrombozytenverknüpfung und -aggregation führen kann.

Durch freiliegenden TF (*tissue factor*) aus zerstörten Zellen am Ort der Plaqueruptur wird die Gerinnungskaskade aktiviert. Über die Aktivierung von Prothrombin zu Thrombin kann es zur Fibrinbildung kommen. Somit kann das Koronargefäß durch Thrombozytenaggregate und Fibrinstränge verschlossen werden (Libby, 1998).

In 5% der Fälle beruht der zum Myokardinfarkt führende Verschuß des Koronargefäßes nicht auf atherosklerotischen Veränderungen des Gefäßes, sondern auf koronaren Vaskulitiden, Infektionskrankheiten, dem Kawasaki-Syndrom, metabolischen und metastasierenden Erkrankungen, Drogenabusus (Kokain; Waller et al., 1996), koronaren Emboli, kongenitalen Abnormalitäten und Koronarspasmen (Libby, 1998). Bei einem Myokardinfarkt infolge Embolisation sind im Gegensatz zu länger bestehenden Koronarstenosen noch keine Kollateralen ausgebildet, die eine Nekrose verhindern oder zumindest das nekrotische Areal verkleinern könnten. Deswegen ist ein Myokardinfarkt dieser Genese besonders verheerend.

Der Myokardinfarkt läßt sich formal in mehrere Teilschritte untergliedern (vgl.: Abbildung 1.3.), die sich an die pathogenetischen Teilschritte der Atherosklerose anschließen:

1. Fokale Inflammation: Durch modifizierte Lipoproteine werden die Makrophagen der atherosklerotischen Plaque zur Freisetzung proinflammatorische Zytokine (v.a. IL-1, TNF- $\alpha$ ) stimuliert. Diese Zytokine führen zur Ausschüttung von PAF (*platelet activating factor*) und PAI (*plasminogen activator inhibitor*) aus Endothelzellen und zur begleitenden Infiltration mit T-Lymphozyten. Auf diese Weise wird die antikoagulatorisch wirksame Endotheldecke über der atherosklerotischen Plaque, wenn sie nicht bereits eingerissen ist, in eine prokoagulatorisch wirksame Schicht umgewandelt (Riede et al., 1995). An diese hochthrombogene Matrix können sich thrombozytenreiche Mikrothromben anlagern, deren aktivierte Thrombozyten durch die Freisetzung zahlreicher Faktoren die fibrotische Antwort fördern. Neben PDGF (*platelet derived growth factor*) und TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ) können auch niedermolekulare Mediatoren, beispielsweise Serotonin, zur Veränderung der Funktion glatter

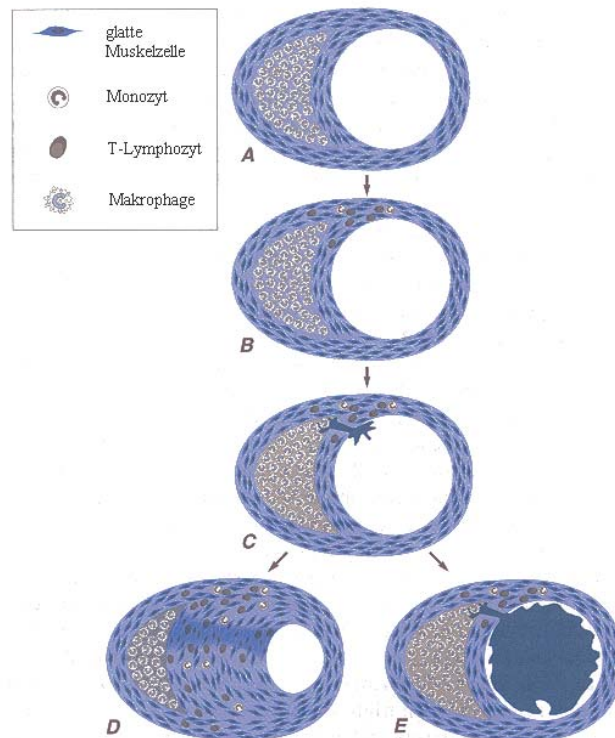
Muskelzellen führen. Makrophagen und T-Lymphozyten zeigen Merkmale der entzündlichen Aktivierung. Die Gegenwart des Histokompatibilitätsantigen HLA-DR spiegelt das Ausmaß der Entzündung wieder, da es in den ruhenden Zellen normaler Arterien kaum exprimiert und erst durch das T-lymphozytäre Zytokin Interferon  $\gamma$  freigesetzt wird. Die fokale Inflammation ist ein Charakteristikum einer instabilen atherosklerotischen Plaque mit einem hohen Risiko zu rupturieren. Weitere Charakteristika sind eine dünne fibröse Kappe, ein relativ großer Lipidkern und ein hoher Anteil an Makrophagen bei einem relativ geringen Anteil an glatten Muskelzellen (Libby, 1998).

2. Ruptur der fibrösen Kappe der Plaque: Das hochthrombogene, prokoagulatorische Protein *tissue factor* wird im lipidreichen Kern der Plaque von Schaumzellen exprimiert. Das Aufbrechen der fibrösen Kappe der Plaque (sog. Plaquefissur) kann zum Kontakt des *tissue factor* mit den Gerinnungsfaktoren des Blutes führen (sog. Unterbluten der atheromatösen Plaque; Riede et al., 1995; Libby, 1998). Durch Thrombozytenaggregation und Thrombinbildung kann sich ein wandständiges Gerinnsel ausbilden (sog. intrainimaler Thrombus), während der Sklerosierungsprozeß durch Freisetzung von Myofibroblasten-Mitogenen weiter aufrechterhalten wird. Heilt die Plaquefissur nicht aus, sondern reißt weiter ein, kann ein atherosklerotisches Ulkus resultieren, dessen Inhalt zu cholesterinhaltigen Mikroembolien führen kann (Riede et al., 1995). Dieses Ulkus kann als Nidus für das Aufpfropfen eines Thrombus dienen. Ragt der resultierende Thrombus ins Gefäßlumen hinein (sog. non-okklusiver intrainimal-intraluminaler Thrombus; Riede et al., 1995) oder ist er transient, kann dieses Aufbrechen der Plaque zu ischämischen Symptomen, wie instabile *Angina pectoris*, führen. Das Ereignis kann allerdings auch klinisch stumm verlaufen (Libby, 1998).

3a. Heilung des wandständigen Thrombus unter Lumeneinengung: Wird der Thrombus lysiert oder zu einem wandständigen Thrombus organisiert, ohne daß es zur Lumeneinengung des Gefäßes kommt, resultieren keine klinischen Symptome. Die nachfolgende thrombininduzierte Fibrosierung dient der Ausheilung der Läsion. Thrombin stimuliert allerdings auch die Proliferation glatter Muskelzellen, was zu weiteren fibrösen Läsionen führen kann. Da bei einem Plaquebefall von mehr als 40% des Umfangs der *Membrana elastica interna* der Thrombus sich endoluminal auszubreiten beginnt, fördert der vermeintliche Heilungsprozeß die Einengung des Gefäßlumens (Libby, 1998). Unterstützt wird dieser *Circulus vitiosus* durch

von Thrombozyten freigesetzte Proteine, einschließlich PDGF (*platelet derived growth factor*), TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ), Thromboxan A<sub>2</sub> und Serotonin (Breithardt et al., 1998), die die Kollagenproduktion durch glatte Muskelzellen fördern und deren Wachstum beeinflussen. Das Zusammenspiel dieser Faktoren kann ein instabiles Atherom, das mit seiner dünnen fibrösen Kappe bezüglich einer Ruptur sehr anfällig ist, auch wieder in eine stabilere, fibröse Plaque mit verstärkter Kappe umwandeln. Eine resultierende Gefäßstenose kann zu einer Flußverlangsamung innerhalb des Blutgefäßes führen, was sich klinisch in einer stabilen *Angina pectoris* äußern kann. Der zunehmend hypoxische Zustand kann die Bildung von Kollateralgefäßen im Myokard induzieren, was die Folgen einer akuten Okklusion der Herzkranzgefäße zu verringern vermag (Libby, 1998).

3b. Plaqueruptur mit okklusivem Thrombus: Bei Fortbestehen des Ungleichgewichts zwischen pro- und antithrombotischen Zustand zu Ungunsten der antithrombotischen oder thrombolytischen Moleküle, wie Thrombomodulin, Plasminogenaktivatoren vom Gewebs- und Urokinasetyp, das Proteoglykan Heparansulfat, Prostazyklin und NO, resultiert eine Ausdehnung des Thrombus (Libby, 1998). Verschließt dieser Thrombus das gesamte Gefäßlumen (sog. okklusiver intraluminaler Thrombus; Riede et al., 1995), sind die Folgen vom Ausmaß bereits bestehender Kollateralgefäßen abhängig. Bei Patienten mit einer chronischen, mehrere Gefäße betreffenden koronaren Herzkrankheit, führt ein Verschluß der gesamten Arterie meist zu keinem Myokardinfarkt, sondern zu einem moderaten bzw. *non-Q-wave*-Infarkt (früher: nicht-transmuraler Infarkt). Bei Patienten mit weniger vorangeschrittener Erkrankung, die keine wesentliche stenotische Läsion aufweisen, führt eine plötzliche Plaqueruptur mit arteriellem Verschluß gewöhnlich zu einem *Q-wave*-Infarkt (früher: transmuraler Infarkt). Einige atherosklerotische Plaques führen nicht zu flußlimitierenden Stenosen, sondern nur zu minimalen luminalen Unregelmäßigkeiten. Die Instabilität solcher atherosklerotischer Plaques könnte erklären, warum ein Myokardinfarkt ein Drittel aller Erstmanifestationen der koronaren Herzkrankheit darstellt, und diese Patienten keine früheren Symptome einer *Angina pectoris* angeben, die für eine flußlimitierende Stenose charakteristisch wären (Libby, 1998).



**Abbildung 1.3.:** Pathogenese des Myokardinfarkts mit Plaqueruptur, Thrombose und Ausheilung (aus Libby, 1998).

A: Arterielle Umbauprozesse während der Atherogenese mit kompensatorischer Gefäßerweiterung.

B: Fokale Inflammation als Zeichen der instabilen atherosklerotischen Plaque.

C: Ruptur der fibrösen Kappe der Plaque mit resultierender Thrombose. Abhängig von den vorherrschenden Mechanismen resultieren zwei mögliche Folgezustände.

D: Heilung des wandständigen Thrombus unter Fibrosierung und Einengung des Gefäßlumens.

E: Plaqueruptur mit gefäßokkludierendem Thrombus.

Wenn sich die atherosklerotische Läsion ausbreitet, kann es zur Aussprossung zahlreicher Mikrogefäße aus den *Vasa vasorum* kommen, was zu verschiedenen Problemen führen kann. Diese vaskulären Aussprossungen bieten eine große Oberfläche für Leukozyten und können als Eintritts- bzw. Austrittspforte zum entstandenen Atherom dienen. Sie können der Fokus für Einblutungen innerhalb der Plaque sein und zeigen durch ihre Brüchigkeit eine hohe Rupturtendenz. Durch solch ein Gefäßleck kann es zu einer Thrombose *in situ* und der Bildung von Thrombin aus Prothrombin kommen. Neben seiner Rolle in der Blutgerinnung kann Thrombin zahlreiche Funktionen der Gefäßzellen modulieren. Beschrieben wurden bisher die Stimulation der Proliferation glatter Muskelzellen und die Förderung deren Zytokinfreisetzung sowie die Stimulation der Synthese endothelialer Zellen und Wachstumsfaktoren, wie *platelet derived growth factor* (PDGF; Libby, 1998).

Fibrin und Hämosiderin in einer atherosklerotischen Plaque sprechen für Hämorrhagien innerhalb der Plaque. Auch die Gegenwart von Calcium, Osteocalcin, Osteopontin und

Proteinen des Knochens können auf eine Komplizierung der atherosklerotischen Plaque hinweisen (Libby, 1998).

### 1.3. Physiologie des hämostatischen Systems

Das System der Hämostase setzt sich im wesentlichen aus den folgenden Funktionseinheiten zusammen (vgl.:Abbildung 1.4.; Weiss et al., 1995):

1. primäre Hämostase, Blutstillung (Gefäßwand, Thrombozyten)
2. sekundäre Hämostase, Blutgerinnung (plasmatische Gerinnung)
3. fibrinolytisches System

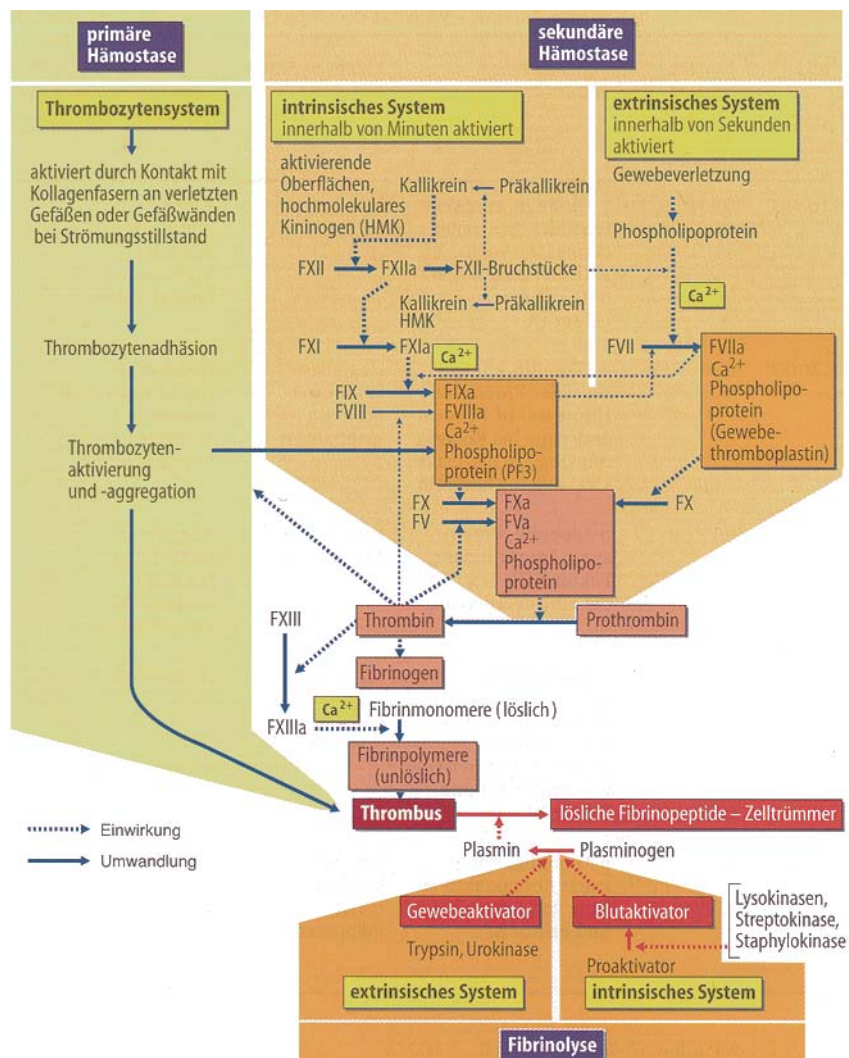


Abbildung 1.4.: Schematische Darstellung der Hämostase (aus Weiss et al., 1995). Blutstillung, Blutgerinnung und Fibrinolyse.



Die Komponenten der Hämostase sind für die Aufrechterhaltung, aber auch für die Wiederherstellung der Gefäßintegrität von Bedeutung. Hierbei wirken Gefäßwand, Thrombozyten und plasmatische Gerinnung auf der prokoagulatorischen Seite zusammen, während auf der antikoagulatorischen Seite das fibrinolytische System die Gerinnungsreaktion limitiert und die Ablagerung überschüssiger Fibringerinnsel und eine intravasale Gerinnung verhindert (Lang, 1987).

### **1.3.1. Primäre Hämostase**

#### **1.3.1.1. Vasokonstriktion**

Nach einer oberflächlichen Hautverletzung mit Eröffnung kleiner Blutgefäßen kommt die Blutung beim Gesunden nach ein bis zwei Minuten zum Stillstand. Hierfür verantwortlich ist eine sofortige reflektorische Vasokonstriktion. Diese wird durch das Prostaglandin Thromboxan A<sub>2</sub>, welches von den Thrombozyten an der Verletzungsstelle freigesetzt wird (Herold et al., 1999), und Endothelmediatoren, wie beispielsweise Endothelin, ausgelöst. Sie reduziert den Blutfluß im verletzten Gebiet und vermag somit, die Läsion in kleinen Gefäßen über einen Zeitraum von 15 bis 60 Sekunden abzudichten. Allerdings ist dieser lokale muskuläre Reflex der Vasokonstriktion nur in Arterien und Arteriolen möglich und nicht in muskelfreien Gefäßen, wie Kapillaren und bestimmten Venolen (Ostendorf, 1984; Hiller et al., 1998). Dort ist eine Blutflußverzögerung nur durch lokalen Gewebsdruck oder reduzierten intravasalen Druck und daraus resultierendem Kollaps des Gefäßes möglich.

#### **1.3.1.2. Thrombozyten**

Die Thrombozyten erfüllen bei der Blutstillung zwei wichtige Aufgaben (Hiller et al., 1998):

1. Verschuß der Gefäßwandverletzung durch Ausbildung eines hämostatisch wirksamen Thrombozytenpfropfes
2. Bereitstellung von für die plasmatische Gerinnung wesentlichen Phospholipiden

Die Ausbildung des initialen Plättchenpfropfes besteht aus getrennt bestimmbar, aber dennoch fließend ineinander übergehenden morphologischen und funktionellen Veränderungen der Thrombozyten, die folgendermaßen ablaufen (vgl.: Abbildung 1.5.):

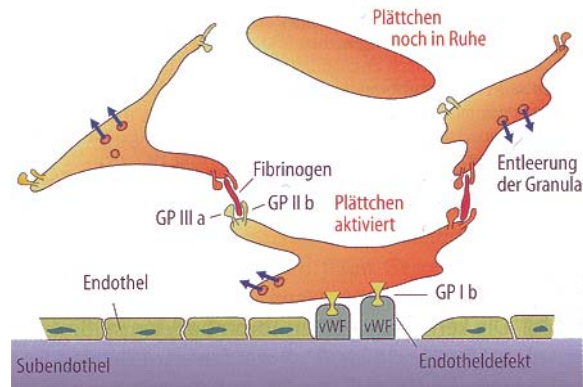
1. Thrombozytenadhäsion: Während am intakten Gefäßendothel Thrombozyten nur einige Sekunden adhären, binden sie nach Verletzung durch Kontakt mit den freiliegenden

subendothelialen Strukturen, wie beispielsweise Kollagen, vermehrt an der Läsionsstelle. Hierbei ermöglichen zur Familie der Integrine gehörige Glykoproteinrezeptoren die Thrombozytenadhäsion (Hiller et al., 1998). Das Glykoprotein GPIb (Davie et al., 1991), das den wichtigsten Adhäsionsrezeptor für den von-Willebrand-Faktor darstellt, und das nach Thrombozytenaktivierung freigesetzte Glykoprotein GPIIb/IIIa binden den von-Willebrand-Faktor. Dieser bildet dann eine Brücke zwischen den Thrombozyten und dem Subendothel aus (Davie et al., 1991; Hiller et al., 1998).

2. Formwandel (*shape change*) und Degranulation: Nach der Aktivierung durch Fremdoberflächen oder gewisse Agonisten, wie beispielsweise Kollagen, Thrombin, ADP (Adenosindiphosphat) und Adrenalin, geht die Scheibenform der Thrombozyten in eine sphärische Form mit Pseudopodien über (*shape change*; Hiller et al., 1998). Aus den dichten  $\delta$ -Granula der aktivierten Thrombozyten werden ADP und Serotonin freigesetzt, aus den  $\alpha$ -Granula desweiteren verschiedene Proteine, wie Plättchenfaktor 4,  $\beta$ -Thromboglobulin und PDGF (*platelet derived growth factor*; Hiller et al., 1998). Aus den Phospholipiden der Thrombozytenmembran wird Arachidonsäure abgespalten. Über Endoperoxide bilden sich die Antagonisten Thromboxan  $A_2$ , welches von der Arachidonsäure der Thrombozyten stammt und zu deren Aggregation und Vasokonstriktion führt, und Prostazyklin, das von Endothelzellen stammt und der Hemmung einer überschießenden Thrombozytenaggregation und der Vasodilatation dient (Herold et al., 1999). Synergistisch führen Thromboxan, ADP und Thrombin an der Stelle der Gefäßläsion zu weiterem Formwandel, Degranulation und Aggregation. Außerdem wird ein wesentlicher Schritt der plasmatischen Gerinnung, nämlich die Aktivierung von Faktor X, durch die stimulierte Thrombozyten-Phospholipoprotein-Oberfläche katalysiert (Hiller et al., 1998).

3. Thrombozytenaggregation: Durch ADP, Thrombin, Adrenalin, Serotonin und Kollagen wird die Zusammenlagerung der aktivierten Thrombozyten ausgelöst. Eine regelrechte Aggregation wird durch die Bindung von Fibrinogen an die thrombozytären Oberflächenrezeptoren Glykoprotein GPIIb/IIIa ermöglicht (Davie et al., 1991; Hiller et al., 1998). Zunächst ist die Aggregation reversibel. Bei Erreichen einer bestimmten Konzentration an Freisetzungserzeugnissen wird sie irreversibel, und es resultiert eine visköse Metamorphose mit Thrombozytenverschmelzung unter Membranverlust (Hiller et al., 1998). Dieser Zustand wird als weißer Plättchenthrombus bezeichnet (Herold et al., 1999). Hierbei führen vor allem die

über ADP stimulierten Thrombozyten, das Prostaglandin-Thromboxan-System und PAF (*platelet activating factor*) zur Verstärkung der initialen Aktivierung und somit zur irreversiblen Aggregation (Hiller et al., 1998).

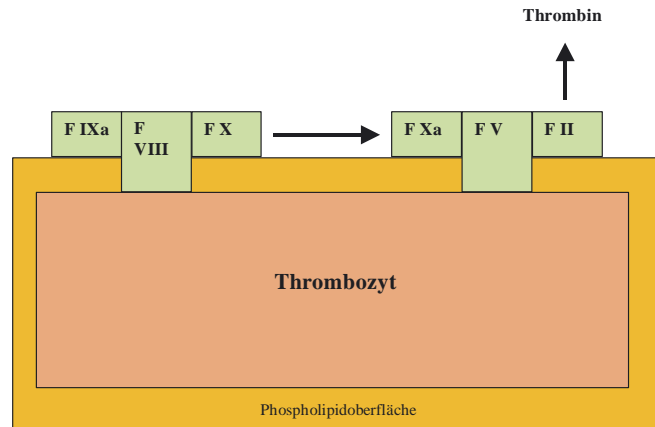


**Abbildung 1.5.:** Entstehung eines Thrombozytenpfropfes am Ort der Gefäßläsion (aus Weiss et al., 1995). Nach Aktivierung verformen sich die Thrombozyten, synthetisieren Glykoproteinrezeptoren (GP) und entleeren ihre Speichergranula. Durch den von-Willebrand-Faktor (vWF) werden die Thrombozyten über den Rezeptor GPIb an die Gefäßwand gebunden (sog. Thrombozytenadhäsion). Über die Rezeptoren GPIIb und GPIIIa wird u.a. Fibrinogen gebunden, das die Thrombozyten untereinander verknüpft. Es resultiert die sog. irreversible Thrombozytenaggregation.

Durch die Bereitstellung negativ geladener Phospholipide (Phosphatidylserine) an der Oberfläche aktivierter Thrombozyten oder zerstörte Zellmembranen stellen diese Veränderungen die Grundlage für die Gerinnungskaskade und die Fibrinbildung dar. Sie gewährleistet, daß sich der aktivierte Gerinnungsprozeß auf die Stelle des Gefäßschadens beschränkt und ansonsten im Blut unterdrückt bleibt (Davie et al., 1991).

Bei der Thrombozytenaktivierung werden negativ geladene Phospholipide (Phosphatidylinosithin) an der Außenseite der Plasmamembran exponiert. Sie entsprechen dem PF3 (*platelet factor 3*) und dienen als Bindungsoberfläche für Gerinnungsproteine der plasmatischen Gerinnung. PF3 stellt bei der Aktivierung von Faktor X und bei der Umwandlung von Prothrombin (Faktor II) in Thrombin die Phospholipidoberfläche bereit, auf der Faktor X und Prothrombin mit dem jeweiligen Enzym und Koenzym einen multimolekularen Komplex ausbilden können (vgl.: Abbildung 1.6.; Hiller et al., 1998).



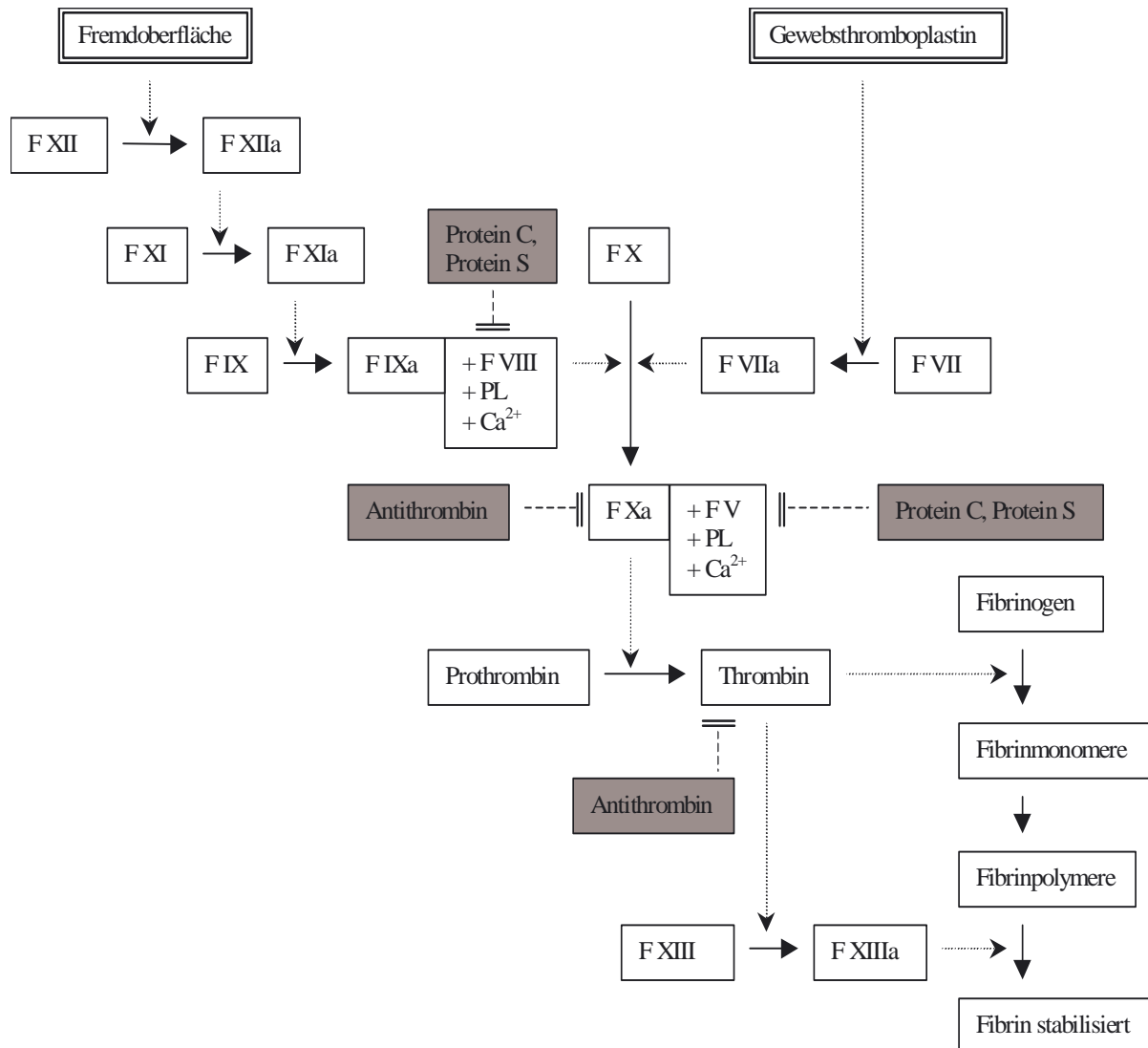


**Abbildung 1.6.:** Schema zur Darstellung des multimolekularen Komplexes auf der Phospholipidoberfläche des Plättchenfaktors 3 (PF3) (modifiziert nach Hiller et al., 1998). Bei der Aktivierung von Faktor X und bei der Umwandlung von Prothrombin (Faktor II) in Thrombin stellt PF3 die Phospholipidoberfläche bereit. Auf dieser können Faktor X und Prothrombin mit dem jeweiligen aktivierenden Enzym und membrangebundenen Koenzym einen multimolekularen Komplex ausbilden.

### 1.3.2. Sekundäre Hämostase

Die Gerinnungskaskade setzt sich aus komplexen Reaktionen von Plasmaproteinen zusammen. Bei den meisten handelt es sich um Serinproteasen mit der Aminosäure Serin im aktiven, katalytischen Zentrum: Faktor II, VII, IX, X, XI und XII. Sie liegen im Blut als inaktive Vorstufen (sog. Zymogene) vor und werden während des Gerinnungsvorgangs aktiviert, was mit dem Zusatz „a“ bezeichnet wird. Bei den Faktoren V und VIII handelt es sich nicht um Enzyme, sondern um Kofaktoren, die die Geschwindigkeit des Gerinnungsablaufs beeinflussen (Hiller et al., 1998).

Die plasmatische Gerinnung lässt sich formal in das intrinsische, endogene und das extrinsische, exogene System sowie die gemeinsame Endstrecke untergliedern (vgl.: Abbildung 1.7.). Diese Trennung ist bei der Ergebnisinterpretation von Globaltests der Gerinnung sehr hilfreich, *in vivo* sind die Übergänge allerdings fließend (Hiller et al., 1998). Dem langsameren intrinsischen Weg kommt eine wichtige Rolle beim Wachstum und der Aufrechterhaltung der Fibrinbildung zu, während der schnellere, für die Hämostase weniger bedeutsame extrinsische Weg für die Einleitung der Fibrinbildung wichtig ist (Davie et al., 1991; Hiller et al., 1998).



**Abbildung 1.7.:** Schema der plasmatischen Gerinnung (modifiziert nach Hiller et al., 1998). Ansatzpunkte der Gerinnungsinhibitoren Antithrombin, Protein C und Protein S.

### 1.3.2.1. Intrinsisches System

Die Reaktionen des intrinsischen Gerinnungssystems laufen an den Phospholipidoberfläche der aktivierten Thrombozyten ab. Die Kaskade beginnt mit der nicht-proteolytischen Aktivierung des Faktor XII (Hageman-Faktor) durch Kontaktaktivierung an einer Fremdoberfläche oder am Kollagen des verletzten Endothels. Faktor XIIa seinerseits aktiviert in einer calciumunabhängigen Reaktion Faktor XI (Plasma-Thromboplastin-Antezedent) zu Faktor XIa. Für alle weiteren Reaktionen jedoch ist die Gegenwart von Calcium notwendig. Nach Aktivierung von Faktor IX (Christmas-Faktor) durch Faktor XIa zu Faktor IXa bildet dieser mit dem reaktionsbeschleunigenden Kofaktor VIII (Antihämophiles Globulin A), Calciumionen und PF<sub>3</sub> (*platelet factor 3*) einen Komplex, der zur Aktivierung von Faktor X (Stuart-Prower-Faktor) zu Faktor Xa führt. Für die Rolle als Kofaktor muß Faktor VIII allerdings erst aus dem

Komplex mit dem von-Willebrand-Faktor gelöst werden. Dies geschieht durch Aktivierung und Spaltung des Faktor VIII mittels Thrombin (Hiller et al., 1998).

### 1.3.2.2. Extrinsisches System

Die Reaktionen des extrinsischen Systems laufen an den Phospholipiden des Gewebsthromboplastins ab. Bei einer Gefäßwandverletzung kommen Gewebsthromboplastin der *Adventitia* (aus Gewebszellen freigesetzte Lipoproteine, *tissue factor*) oder auch verletztes Endothel mit Blut in Kontakt (Hiller et al., 1998). Das freigesetzte Thromboplastin bildet mit Faktor VII (Prokonvertin) einen Komplex, was die calciumabhängige Aktivierung von Faktor VII durch im Blut zirkulierende Proteasen, wie Thrombin, Faktor Xa, VIIa und IXa, zu Faktor VIIa erleichtert (Davie et al., 1991). Der Faktor VIIa-Gewebsthromboplastin-Komplex vermag nun in Gegenwart von Calcium und Phospholipiden, Faktor X (Stuart-Prower-Faktor) in seine aktivierte Form umzuwandeln (Davie et al., 1991; Hiller et al., 1998). Außerdem kann unabhängig von Faktor XIa in Anwesenheit von Calcium dieser Faktor VIIa-Gewebsthromboplastin-Komplex Faktor IX durch Spaltung in seine aktive Form überführen (Hiller et al., 1998).

Der extrinsische Weg der Gerinnung ist durch die Anwesenheit von LACI (*lipoprotein-associated coagulation inhibitor*) oder EPI (*extrinsic pathway inhibitor*) im Blut deutlich kurzweiliger als der intrinsische. Dieses Protein führt bei der Aktivierung von Faktor X durch Bildung eines Faktor VIIa-Gewebsthromboplastin-Faktor Xa-Komplexes zur Inaktivierung des Faktor VIIa-Gewebsthromboplastin-Komplexes. LACI blockiert allerdings nicht die Aktivierung von Faktor IX durch den Faktor VIIa-Gewebsthromboplastin-Komplex, so daß die Aktivierung von Faktor X über Bildung von Faktor IXa auf dem intrinsischen Weg erfolgen kann (Davie et al., 1991).

### 1.3.2.3. Gemeinsame Endstrecke beider Teilsysteme

Faktor X (Stuart-Prower-Faktor) kann somit entweder durch einen calciumabhängigen Komplex aus Phospholipiden aktivierter Thrombozyten, Faktor IXa und VIII auf dem intrinsischen Weg oder durch einen Komplex aus Gewebsthromboplastin und Faktor VII auf dem extrinsischen Weg aktiviert werden. Auf der Phospholipidoberfläche der Thrombozyten bilden Faktor Xa und Faktor Va in Gegenwart von Calcium den sog. Prothrombinase-Komplex (Davie et al., 1991). Dieser wandelt unter Abspaltung der Prothrombinfragmente F<sub>1</sub> und F<sub>2</sub> Prothrombin (Faktor II) in Thrombin um (Hiller et al., 1998). Nach Lösen des Thrombins von

der Thrombozytenoberfläche spaltet es mittels limitierter Proteolyse die Fibrinopeptide A und B der A- $\alpha$ -Kette sowie der B- $\beta$ -Kette des Fibrinogens (Faktor I) ab, woraus das Fibrinmonomer resultiert. Durch End-zu-End- und Seit-zu-Seit-Polymerisation der Fibrinmonomere entstehen in Harnstoff lösliche Fibrinpolymere. Calciumabhängig wird anschließend Faktor XIII (Fibrin-stabilisierender Faktor) durch Thrombin zu Faktor XIIIa aktiviert. In Gegenwart von Calcium führt Faktor XIIIa zur kovalenten Verknüpfung der Fibrinketten durch intermolekulare Quervernetzung ( $\gamma$ -Glutamyl/ $\epsilon$ -Lysin) und zur Anbindung von Fibronektin und  $\alpha_2$ -Antiplasmin an Fibrin mit Einbau dieser beiden Plasmaproteine ins Fibringerinnsel (Davie et al., 1991; Hiller et al., 1998). Auf diese Weise entsteht ein in Harnstoff unlösliches Fibrinpolymer (Hiller et al., 1998). Dieser Zustand wird durch den Einschluß von Erythrozyten als roter Thrombus bezeichnet (Herold et al., 1999). Das Thrombozyten-Fibrin-Gerinnsel ist somit durch die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin und durch die von Thrombin weiterhin unterhaltene Thrombozytenaktivierung entstanden. Die Interaktion von Actin und anderen kontraktilen Proteinen des Zellskeletts führt zur Gerinnselretraktion. Während nach einigen Stunden die Thrombozyten der Autolyse unterliegen, nimmt der Fibrinanteil zu, so daß nach 24 bis 28 Stunden das Gerinnsel hauptsächlich aus Fibrin aufgebaut ist (Hiller et al., 1998).

Thrombin spielt neben der genannten Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin auch bei der Interaktion zwischen intrinsischem und extrinsischem System eine wesentliche Rolle (Hiller et al., 1998). Das neu gebildete Thrombin aktiviert in Gegenwart negativ geladener Oberflächen Faktor XI. Außerdem vermag es zusätzlich, den intrinsischen Weg durch Aktivierung von Faktor V und VIII mittels Proteolyse in Abwesenheit von Calcium und Phospholipiden zu aktivieren, was über positive Rückkopplung die weitere Generation von Thrombin bewirkt (Davie et al., 1991). Dies ist entscheidend, da nach Beginn der Gerinnung der Faktor VIIa-Gewebsthromboplastin-Komplex durch TFPI (*tissue-factor-pathway-inhibitor*) neutralisiert wird (Laffan, 1998). Thrombin dient desweiteren der Stimulation von Thrombozyten, die durch diese Aktivierung u.a. ADP freisetzen und aggregieren. Außerdem werden Endothelzellen aktiviert, sowie PGI<sub>2</sub> (Prostazyklin), t-PA (*tissue-type plasminogen activator*) und PAI-1 (*plasminogen-activator-inhibitor 1*) freigesetzt, was zu einer Vasodilatation führt (Hiller et al., 1998).

#### 1.3.2.4. Inhibitoren des plasmatischen Gerinnungssystems

Die wichtigsten Aufgaben dieses der Gerinnungskaskade antagonistischen Systems liegen in der Hemmung aktivierter Gerinnungsfaktoren, der Elimination aktivierter Gerinnungsfaktoren durch das retikuloendotheliale System und im proteolytischen Abbau von überschüssigem Fibrin durch das fibrinolytische System (Hiller et al., 1998). Die drei natürlichen antikoagulatorischen Systeme sind das Antithrombin-Heparin-System, das Protein C-Protein S-System und das TFPI (*tissue-factor-pathway-inhibitor*)-System (Laffan, 1998).

Das in der Leber synthetisierte Antithrombin (HWZ zwischen 48 und 60 Stunden) hemmt alle wichtigen Serinproteasen des Gerinnungssystems. Besonders hohe Affinität zeigt es gegenüber Thrombin und Faktor Xa, aber auch die Faktoren XIIa, XIa, IXa, VIIa, Plasmakallikrein und das fibrinolytisch wirkende Plasmin werden blockiert. Auf diese Weise kann Antithrombin auf jeder Ebene der Gerinnungskaskade regulierend eingreifen. Aktive Gerinnungsfaktoren werden durch die Bildung eines inaktiven Enzym-Inhibitor-Komplexes neutralisiert. Dabei bindet die OH-Gruppe des Serins im katalytischen Zentrum des jeweiligen Gerinnungsenzyms kovalent an die Carboxylgruppe eines Argininrestes im Antithrombin-Molekül. Dieser Vorgang verläuft langsam progressiv (Hiller et al., 1998), so daß es durchaus noch zur Fibrinbildung durch Serinproteasen kommt, bevor diese durch Neutralisation gehemmt werden. Bei Bindung von Heparin oder einem ähnlichen sulfatierten Glykosaminoglykan wird die Reaktion jedoch um ein Vielfaches beschleunigt und die Fibrinbildung komplett blockiert (Davie et al., 1991). Zum Schutz vor Thrombusausweitung oder Wegspülen freien Thrombins von der Läsionsstelle wird dieses durch Plasma-Antithrombin neutralisiert, welches zusätzlich an Thrombomodulin gebunden sein kann (Laffan, 1998). Thrombomodulin ist ein an der Oberfläche von Endothelzellen exprimiertes Glykoprotein, das bei Komplexbildung mit Thrombin in einer calcium- und phospholipidabhängigen Reaktion (Hiller et al., 1998) die Substratspezifität des Enzyms verändert. Dadurch aktiviert Thrombin in Verknüpfung mit Thrombomodulin Protein C, während es sowohl seine Fähigkeit zur Plättchenaktivierung verliert als auch seine Proteaseaktivität gegenüber anderen Substanzen, wie beispielsweise Fibrinogen oder Faktor V. Somit wird Thrombin durch die Interaktion mit Thrombomodulin vom Prokoagulans zum Antikoagulans (Davie et al., 1991).

Das Vitamin K-abhängig in der Leber synthetisierte Protein C (HWZ zwischen sechs und acht Stunden) muß als im Blut zirkulierendes Zymogen im Gegensatz zu Antithrombin und anderen

Proteaseinhibitoren zunächst aktiviert werden, um seine antikoagulatorischen und profibrinolytischen Eigenschaften entfalten zu können (Hiller et al., 1998). Der Aktivierungsvorgang durch Thrombin, dem einzigen physiologischen Protein C-Aktivator, kann im Plasma erfolgen, wo er sehr langsam abläuft, oder deutlich schneller über den Kofaktor Thrombomodulin, dem spezifischen Thrombinrezeptor des Endothels, an der Gefäßwand. Der letztere Aktivierungsweg scheint wegen der Volumen-Oberflächen-Verhältnisse besonders im Bereich der Mikrozirkulation von Bedeutung zu sein (Hiller et al., 1998). APC (aktiviertes Protein C) ist der wichtigste Inhibitor von Faktor Va und VIIIa (Davie et al., 1991; Hiller et al., 1998). Außerdem können *in vitro* profibrinolytische Effekte von APC aufgezeigt werden. Die Lyse von Blutgerinnseln, Plasma- oder Euglobulingerinnseln beruht zumindest teilweise auf der Komplexbildung zwischen APC und PAI-1 (*plasminogen-activator-inhibitor 1*) der Endothelzellen (Dahlbäck et al., 1993). Diese Inaktivierung von PAI-1 durch APC zieht den profibrinolytischen Effekt nach sich (Hiller et al., 1998).

Der in der Leber Vitamin K-abhängig synthetisierte Kofaktor Protein S (HWZ 60 Stunden) beschleunigt sowohl die Inaktivierung der Faktoren Va und VIIIa als auch die profibrinolytischen Effekte des APC (Hiller et al., 1998). Im Plasma befinden sich 60% des Protein S in einem bimolekularen Komplex mit der Komplementkomponente C4b-Bindungsprotein. Die restlichen 40% zirkulieren frei im Plasma, sind funktionell aktiv und weisen somit eine deutlich höhere APC-Kofaktoraktivität auf als der Protein S-C4b-Bindungsproteinkomplex (Bauer, 1994). In Gegenwart von Calcium und Phospholipidoberfläche inaktiviert APC unter Stimulation von Protein S mittels Proteolyse die Faktoren VA und VIIIa. Diese antikoagulatorische Aktivität des APC geht bei Entfernen von Protein S aus dem Plasma fast vollständig verloren (Bertina et al., 1985; Bauer, 1994). Durch den spezifischen APC-Inhibitor wird APC im Plasma gehemmt, eine Reaktion, die durch Heparin beschleunigt werden kann (Hiller et al., 1998).

Weitere Plasma-Serinprotease-Inhibitoren von untergeordneter Bedeutung sind  $\alpha_2$ -Makroglobulin,  $\alpha_2$ -Antitrypsin und C<sub>1</sub>-Inaktivator (Hiller et al., 1998), sowie Heparin-Kofaktor II, APC-Inhibitor, C<sub>1</sub>-Esterase-Inhibitor und  $\alpha_1$ -Antitrypsin. Das Einbinden von Thrombin in die Fibrinmatrix sowie das Entfernen und Verdünnen von aktivierten Gerinnungsfaktoren durch zirkulierendes Blut verzögert ebenfalls die Gerinnungskaskade (Davie et al., 1991).

### **1.3.3. Fibrinolytisches System**

Dem komplexen Prozeß der Blutstillung und Blutgerinnung steht ein ähnlich ablaufender Vorgang gegenüber, der zur Auflösung von Fibringerinnseln (sog. Fibrinolyse) führt (vgl. Abbildung 1.8.; Weiss et al., 1995). Auch im gesunden Organismus wird stets eine gewisse Menge Fibrinogen in Fibrin umgewandelt. Im physiologischen Gleichgewicht halten sich jedoch die Fibrinbildung und der ebenfalls ständig ablaufende Prozeß der Fibrinolyse die Waage. Erst durch Verletzung wird eine zusätzliche Aktivierung des Gerinnungssystems ausgelöst, was anfangs zum Überwiegen der Fibrinbildung am Ort der Läsion führt. Es resultiert eine lokal begrenzte, manifeste Gerinnung (Weiss et al., 1995).

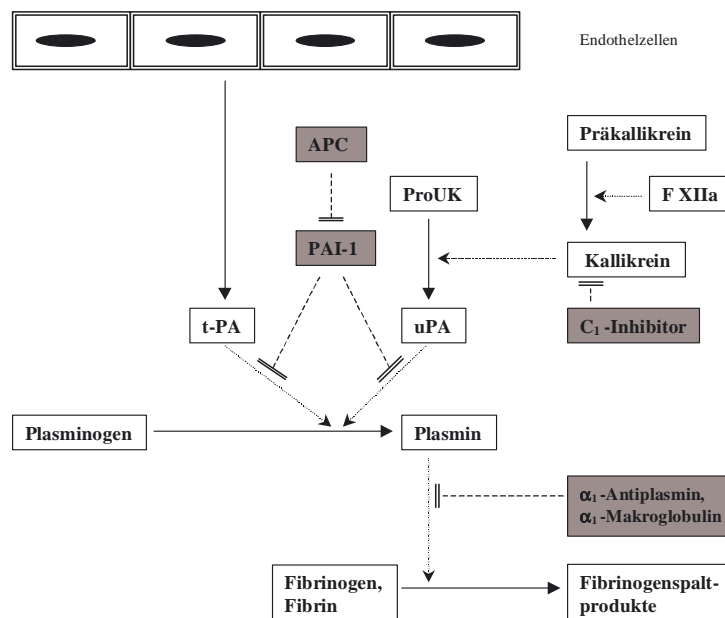
#### **1.3.3.1. Ablauf der Fibrinolyse**

Sobald Fibrin gebildet ist, setzt die Fibrinolyse ein, und das Gerinnsel beginnt innerhalb weniger Stunden mit seiner Auflösung. Während dieses langsamen Abbaus von Fibrin ist weiterhin der intrinsische Weg der Gerinnung zur Aufrechterhaltung des Gerinnsels aktiv (Davie et al., 1991). Die Inhibitoren der Gerinnungsfaktoren können nur vor der Gerinnselbildung regulierend eingreifen. Plasmin dagegen, die Serinprotease der Fibrinolyse, vermag sowohl Fibrinogen als auch das bereits synthetisierte Fibrin der Blutgerinnsel abzubauen. Es ist somit mit dem Thrombin der Gerinnung vergleichbar. Eine weitere Parallele ist - analog zum intrinsischen und extrinsischen System - die Aktivierung von Plasminogen (Profibrinolysin) zu Plasmin (Fibrinolysin) durch endogene Blut- und exogene Gewebefaktoren (Fibrinolysokinasen) mittels limitierte Proteolyse (Hiller et al., 1998).

Die endogenen, schwächeren Blutaktivatoren, zu denen Faktor XII, HMW (*high molecular weight*)-Kininogen und Präkallikrein zählen (Hiller et al., 1998), benötigen die Einwirkung von Proaktivatoren. Deren wichtigste Vertreter sind neben den Fremdlisokinasen Strepto- und Staphylokinase die Lysokinasen, die bei entzündlichen und traumatischen Gewebsschädigungen aus den Blutzellen freigesetzt werden (Weiss et al., 1995). Die exogenen, aus dem Gewebe stammenden Plasminogenaktivatoren, wie t-PA und *tissue-type plasminogen activator*, können Plasminogen direkt zu Plasmin aktivieren. Die Aktivität dieser Plasminogenaktivatoren ist im Endometrium des Uterus am höchsten (Weiss et al., 1995), sie sind aber auch in anderen Geweben, wie beispielsweise Niere und Endothel, vorhanden. U-PA (Urokinase) ist ein in der Niere gebildeter und im Urin ausgeschiedener Plasminogenaktivator, der zur therapeutischen Fibrinolyse eingesetzt wird. Die ebenfalls therapeutisch genutzte Streptokinase, die aus  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokkenkulturen gewonnenen wird, ist im Gegensatz zu u-PA keine



physiologische Substanz. In der physiologischen Fibrinolyse des Organismus ist t-PA, das zu therapeutischen Zwecken gentechnisch hergestellt wird, durch seine Nähe zum zirkulierenden Blut von besonderer Bedeutung. T-PA wird je nach Bedarf auf lokale oder systemische Stimuli hin freigesetzt, hat eine hohe Affinität zu Fibrin und kann so gerinnselgebundenes Plasminogen in Plasmin spalten. Plasmin, das unter physiologischen Bedingungen im Blut nicht nachweisbar ist (Hiller et al., 1998), zeigt eine besondere Affinität zu Fibrin. Aus diesem spaltet es hydrolytisch lösliche Peptide ab, die die Thrombinbildung und somit die weitere Synthese von Fibrin blockieren. Desweiteren spaltet Plasmin auch Fibrinogen, Prothrombin und die Gerinnungsfaktoren V, VIII, IX, XI und XII, weshalb es nicht nur die Auflösung von Blutgerinnseln, sondern auch eine Verringerung der Blutgerinnungsfähigkeit bewirkt (Weiss et al., 1995).



**Abbildung 1.8.:** Schema der Fibrinolyse mit Angriffspunkten der Inhibitoren (modifiziert nach Hiller et al., 1998). C<sub>1</sub>-Inhibitor, *plasminogen-activator-inhibitor 1* (PAI-1) mit aktiviertem Protein C (APC) sowie α<sub>1</sub>-Antiplasmin und α<sub>1</sub>-Makroglobulin. Nach Aktivierung der Prourokinase (ProUK) zu Urokinase (uPA) vermag dieses ebenso wie *tissue plasminogen activator* (t-PA) Plasminogen in Plasmin umzuwandeln. Dieses baut Fibrinogen und bereits gebildetes Fibrin zu Fibrinogenspaltprodukten ab.

### 1.3.3.2. Inhibitoren der Fibrinolyse

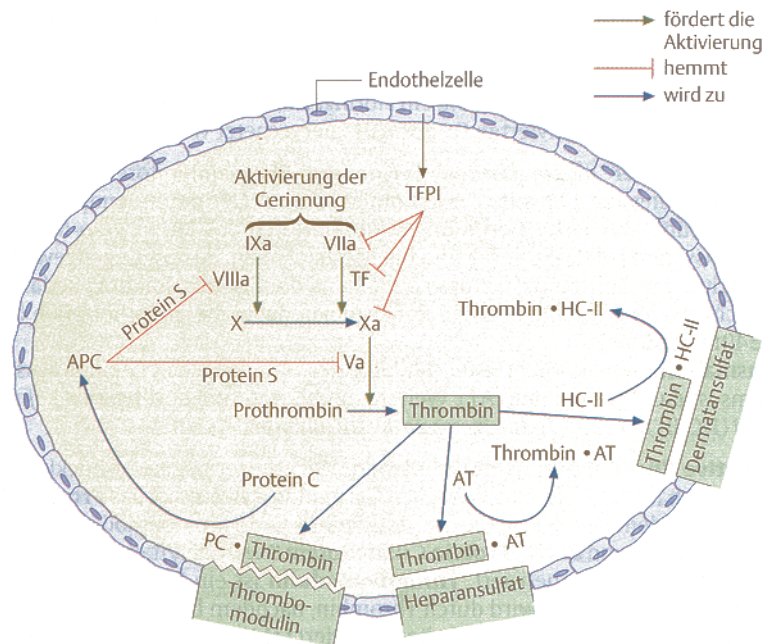
Kleine Mengen synthetisierten Plasmins im Plasma werden sofort von deutlich stärkeren Inhibitoren neutralisiert, die unter physiologischen Bedingungen die fibrinolytische Kapazität um das 20fache übertreffen. Der wichtigste Inhibitor ist das α<sub>2</sub>-Antiplasmin, das Plasmin in einer Sofortreaktion durch Komplexbildung hemmt. Außerdem blockiert es die Adsorption von



Plasminogen an Fibrin und vermag so, die für das Fibringerinnsel verfügbare Plasminogenkonzentration zu verringern (Hiller et al., 1998). Auf diese Weise kann Plasmin seine fibrinolytische Wirkung nur im Inneren von Blutgerinnseln entfalten. Dort ist die Plasminkonzentration infolge der Adsorption von Plasminogen an Fibrin hoch und die  $\alpha_2$ -Antiplasminkonzentration aufgrund dessen langsamer Diffusion aus dem zirkulierenden Blut ins Gerinnsel niedrig (Weiss et al., 1995). Ein weiterer physiologisch wichtiger Hemmstoff ist der PAI-1 (*plasminogen-activator-inhibitor 1*), der von Endothelzellen synthetisiert und ins Blut sezerniert wird, aber auch in Thrombozyten nachweisbar ist. Er inhibiert sehr rasch sowohl t-PA als auch Urokinase. Auch über das Protein C-System kann die Fibrinolyse beeinflusst werden, da APC durch Hemmung der PAI-1-Aktivität zur Stimulation der Fibrinolyse führt (Hiller et al., 1998). Weitere Inhibitoren von untergeordneter Bedeutung sind  $\alpha_2$ -Makroglobulin, Antithrombin und der C<sub>1</sub>-Inhibitor (Hiller et al., 1998).

#### **1.3.4. Endothel**

Endothelzellen besitzen die Eigenschaft der Thromboseresistenz. Diese äußert sich darin, daß unter physiologischen Bedingungen Thrombozyten nicht an der Gefäßwand haften und kein Fibrin an der Oberfläche der Endothelzellen entstehen kann (vgl.: Abbildung 1.9.; Müller-Berghaus, 1998). Diese Eigenschaft beruht auf der Beeinflussung des plasmatischen Gerinnungssystems durch die regulierte Synthese von Thrombomodulin, Heparansulfat und TFPI (*tissue-factor-pathway-inhibitor*), sowie auf der Beeinflussung des Fibrinolyse-Systems durch kontrollierte Bildung von t-PA (*tissue-type plasminogen activator*) und PAI-1 (*plasminogen-activator-inhibitor 1*). Aktivierte Thrombozyten synthetisieren die Substanzen ADP (Adenosindiphosphat), Serotonin und Thromboxan A<sub>2</sub>. Bei Kontakt mit normalem Gefäßendothel regen diese Substanzen das Endothel zur Sekretion von PGI<sub>2</sub> (Prostazyklin) und EDRF (*endothelial derived relaxing factor*, NO) an. Diese hemmen die Thrombozytenaggregation, unterstützen aber als potente Vasodilatoren auch die Vasomotorik. Bei einer Schädigung der Endothelzellen können ADP, Serotonin und Thromboxan A<sub>2</sub> aus dem Thrombozytenpfropf direkt auf die glatte Muskulatur des Gefäßes einwirken. Es resultiert eine Vasokonstriktion (Müller-Berghaus, 1998).



**Abbildung 1.9.:** Antikoagulatorische Eigenschaften der Endothelzelle (aus Müller-Berghaus, 1998). Die Hemmung von Serinproteasen durch Antithrombin (AT) wird durch das endotheliale Heparansulfat verstärkt, während die Inhibition durch den Heparin-Kofaktor II (HC-II) durch Dermatanansulfat gesteigert wird. Die spezifische Bindung von Thrombin an das endotheliale Thrombomodulin führt zur Hemmung von Thrombin und gleichzeitig zur Aktivierung von Protein C (APC). Die Endothelzellen sezernieren *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI), das die Gerinnungsfaktoren des extrinsischen Weges hemmen kann.

## 1.4. Thrombose und Hyperkoagulabilität

### 1.4.1. Definition der Thrombose

Eine Thrombose wird definiert als vollständiger oder teilweiser Verschluss eines Gefäßes (Arterien, Venen) oder einer Herzhöhle durch ein als Thrombus bezeichnetes, intravital entstandenes, fibrinhaltiges Thrombozytenaggregat und/oder Gerinnsel (Hildebrandt et al., 1998), wovon postmortal entstandene Blutkoagel (sog. *Cruor*, Speckhautgerinnsel) abzugrenzen sind (Riede et al., 1995). Somit kann die Thrombose als Blutstillung am falschen Ort aufgefaßt werden, die in ihrem Ablauf der physiologischen Blutstillung sehr ähnelt. Ausgehend von einer Gefäßläsion bildet sich auch bei der Thrombose zunächst ein Thrombozytenaggregat, das später in einen Gerinnungsthrampus übergeht (Riede et al., 1995).

### 1.4.2. Pathogenese der Thrombose

#### 1.4.2.1. Kausale Pathogenese

Die drei wesentlichen pathogenetischen Faktoren der Thrombose, die bereits im 19. Jahrhundert von Virchow beschrieben wurden (sog. Virchowsche Trias), besitzen auch heute noch ihre Gültigkeit (Riede et al., 1995):

1. Läsion der Gefäßwand (sog. Wandfaktor): Ein intaktes und funktionstüchtiges Endothel ist im wesentlichen für die vaskuläre Thromboseresistenz verantwortlich (Müller-Berghaus, 1998). Eine Schädigung des Gefäßendothels führt zum Wegfall gerinnungshemmender Substanzen und zur Freilegung des mikrofibrillären, subendothelialen Gewebes mit seinen thrombozytenadhäsiven und gerinnungsaktivierenden Eigenschaften. Sowohl Toxine, die über den Blutfluß an die Endothelien gelangen (u.a. Endotoxin, Ischämie, Entzündung), als auch der Übergriff einer Läsion von der vaskulären Umgebung auf das Endothel des Gefäßes (u.a. Trauma, Nekrose, Entzündung, Atherom) können zu der entsprechenden Schädigung des Gefäßendothels führen (Riede et al., 1995; Hildebrandt et al., 1998).

2. Störung der Hämodynamik (sog. Kreislauffaktor): Eine Veränderung der Blutflusses (Verlangsamung, Beschleunigung) und/oder eine Wirbelbildung innerhalb des Blutstroms begünstigen die Thromboseentstehung.

Die Verlangsamung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes mit Erythrozytenverklumpung und Thrombozytenaggregation begünstigt im venösen System die Entstehung eines Gerinnungsthrombus. Die reduzierte Strömungsgeschwindigkeit kann auf einer Vasodilatation, einer Erhöhung von Hämatokrit oder Viskosität des Blutes, sowie auf Immobilität und Gefäßkompression beruhen. Die Stase der Blutsäule führt zu hypoxiebedingten Endothelläsionen (Riede et al., 1995).

Eine Strömungsbeschleunigung des Blutes spielt bei der Thrombogenese im arteriellen System eine entscheidende Rolle. Abhängig von Flußgeschwindigkeit und Lumenweite des Gefäßes werden die Thrombozyten an die endotheliale Oberfläche gepreßt. Besteht eine zusätzliche endotheliale Schädigung, wodurch die thrombozytenaggregationshemmenden Eigenschaften nicht mehr gewährleistet sind, resultiert ein Abscheidungsthrombus aus Thrombozytenaggregaten. Turbulente Strömungen finden sich bei lokaler Gefäßerweiterung, bei Passagehindernissen und an Gefäßgabelungen. Die Wirbelbildung zerstört den physiologischen plasmatischen Randstrom in den Gefäßen, so daß die Thrombozyten mit dem Endothel in Kontakt kommen. Durch die entstehenden Scherkräfte werden die Endothelien von ihrer Unterlage weggerissen (Riede et al., 1995).

3. Hyperkoagulabilität (sog. Blutfaktor): Die Gerinnungsbereitschaft des Blutes wird durch quantitative Zunahme und/oder qualitative Veränderung der Thrombozyten und/oder zellulären plasmatischen Gerinnungsfaktoren erhöht. Eine Hyperkoagulabilität tritt auf beim

Einschwemmen von Gerinnungsfaktoren in die Blutbahn infolge einer Gewebsschädigung (postoperativ, Tumornekrose), bei Thrombozytose, bei rascher Inaktivierung von Inhibitoren der aktivierten Gerinnungsfaktoren, bei Unterbrechung des fibrinolytischen Systems, bei Blockade des retikulohistiozytären Systems mit fehlender Entfernung von Gerinnungsprodukten aus der Zirkulation, bei Hyperlipidämie und bei Schwangerschaft oder Einnahme oraler Kontrazeptiva (Riede et al., 1995).

#### **1.4.2.2. Formale Pathogenese**

Abhängig vom auslösenden Pathomechanismus werden verschiedene Thrombustypen unterschieden (Riede et al., 1995):

1. Abscheidungsthrombus (syn.: weißer Thrombus): Bei Kontakt einer Endothelläsion mit dem strömenden Blut scheiden sich an dieser Stelle Thrombozyten ab, aggregieren und gehen eine irreversible visköse Metamorphose ein (sog. weißer Plättchenthrombus). Die gleichzeitige Thrombozytorhexis führt zur Freisetzung von aktivierenden Faktoren der plasmatischen Gerinnung und damit zur Fibrinabscheidung auf dem primären Plättchenthrombus. In diesem Fibrinnetz verfangen sich Erythrozyten und Leukozyten, so daß sich der Thrombus unaufhaltsam vergrößert und in das Gefäßlumen hineinragt. Die daraus resultierenden Turbulenzen provozieren weitere Thrombozyten-, Fibrin- und Blutzellabscheidung, weshalb der Thrombus ständig an Volumen zunimmt. Es resultiert eine periodische Schichtung mit weißen (v.a. Thrombozytenaggregate) und roten Abschnitten (in den Fibrinmaschen verfangene Erythrozyten; Riede et al., 1995). Abscheidungsthromben beruhen somit auf einer primären Gefäßwandschädigung und haften deswegen fest am Endothel. Da sie sich nur in strömendem Blut entwickeln können, füllen sie nicht das gesamte Gefäßlumen aus (Herold et al., 1999).

2. Gerinnungsthrombus (syn.: roter Thrombus): Gerinnungsthromben bilden sich in einer stehenden Blutsäule. Die Stase des Blutes führt zu einer Hypoxidose, bei der aus den geschädigten Thrombozyten gerinnungsaktivierende Faktoren freigesetzt werden, so daß letztlich Fibrin ausfällt. Auf diese Weise gerinnt das Blut ohne starke lokale Anreicherung von Thrombozyten oder Fibrin (Riede et al., 1995). Der Thrombus flottiert frei im Gefäßlumen und kann, da er am Endothel nicht fest anhaftet, durch geringfügige Bewegungen abgerissen und

als Embolus mit dem Blutstrom fortgeschwemmt werden (Riede et al., 1995; Herold et al., 1999).

3. Gemischter Thrombus: Der gemischte Thrombus besteht aus einem weißen Kopf- und einem roten Schwanzteil (Herold et al., 1999). Es handelt sich um einen primären Abscheidungsthrombus, der das Gefäßlumen verschließt, so daß das Blut distal der Okklusion gerinnt. Dieser aufgelagerte Gerinnungsthrombus kann zunächst frei flottieren. Da aber die am Thrombus anliegende Gefäßwand durch die Ernährungsstörung und Mediatorfreisetzung entzündlich verändert ist, kommt es zu einer Organisation des Thrombus (Riede et al., 1995).

4. Hyaliner Thrombus: Hyaline Thromben finden sich als morphologisches Korrelat einer Verbrauchskoagulopathie als Mikrothromben in der Endstrombahn (Arteriole, Kapillare, Venole). Sie bestehen vorwiegend aus zerfallenen Thrombozyten und Fibrin (Riede et al., 1995).

#### **1.4.3. Hyperkoagulabilität und Thrombophilie**

Eine pathologisch vermehrte Gerinnbarkeit des Blutes wird als Hyperkoagulabilität bezeichnet (Hildebrandt et al., 1998). Dabei kann es zu einer Thrombophilie, d.h. einer vermehrten Thromboseneigung, kommen. Klinisch manifestiert sie sich im venösen und arteriellen System vorwiegend lokal als Thrombose oder Embolie. Sie kann aber auch systemisch zur disseminierten intravasalen Gerinnung führen. Die Pathogenese der Hyperkoagulabilität ist meist multifaktoriell, wobei angeborene und erworbene, endogene und exogene Faktoren zusammenspielen und die jeweilige Lokalisation im Gefäßsystem (arteriell oder venös) sowie die Ausdehnung bestimmen (Hiller et al., 1998):

#### **Exogene Ursachen der manifesten Hyperkoagulabilität:**

Extrakorporale Zirkulation des Blutes	Operative Eingriffe
Fehltransfusion von Blut	Schock
Fremdgewebs- oder Gefäßimplantat	Trauma
Infektionen	Verbrennungen
Intoxikationen	

Endogene Ursachen der manifesten Hyperkoagulabilität:

Diabetisches Koma	Leberfunktionsstörungen
Geburtshilfliche Komplikationen	Malignome
Hämolyse	Pankreatitis
Hämostasedefekte	Thrombotische Mikroangiopathie
Herzinsuffizienz	Transplantatabstoßung

Hämostasedefekte von Antithrombin, Protein C, Protein S, Faktor V Leiden, Hyperhomozysteinämie und Prothrombin-Dimorphismus führen zu hereditären Thrombophiliezuständen (Hiller et al., 1998).

**1.4.3.1. Antithrombinmangel**

Eine Erniedrigung der Antithrombinaktivität im Plasma führt zu einer verzögerten Hemmung prothrombotischer Serinproteasen, wie beispielsweise Thrombin und Faktor Xa, und damit zu einem hyperkoagulatorischen Zustand (Majerus, 1994; Müller-Berghaus, 1998). Der Antithrombinmangel läßt sich in angeborene und erworbene Formen untergliedern. Es werden zwei Formen des hereditären Antithrombinmangels (Inzidenz 1:2000, Prävalenz 0,2%) unterschieden. Deren molekularbiologische Grundlage reicht weitgefächert von Gendelektionen bis zu Punktmutationen (Hiller et al., 1998; Müller-Berghaus, 1998):

Typ I: quantitativer Antithrombinmangel;

Antithrombinantigen und Aktivitätserniedrigung

Typ II: qualitativer Antithrombinmangel;

normales Antithrombinantigen bei Erniedrigung der Antithrombinaktivität mit normaler oder gestörter Heparinbindung

Das Risiko für thromboembolische Komplikationen ist von der Form und Ausprägung des kongenitalen Antithrombinmangels abhängig. Die homozygote Form des angeborenen Antithrombinmangels vom Typ I ist letal. Die heterozygoten Formen werden mit unterschiedlicher Penetranz autosomal-dominant vererbt. Sie zeigen eine Antithrombinrestaktivität zwischen 25 und 50% der Norm, wobei 100% einer Antithrombinaktivität von 30mg/dl entspricht. Bei der heterozygoten Form des Antithrombinmangels Typ I steigt nach dem 15. Lebensjahr die Häufigkeit thromboembolischer Komplikationen. Insgesamt 75% dieser Patienten entwickeln im langfristigen Spontanverlauf Thrombembolien, die vorwiegend venös lokalisiert sind (Hiller et al., 1998). Für den



Antithrombinmangel Typ II Homozygote erleiden bereits in der Neonatalperiode thromboembolische Komplikationen. Außerdem werden bei diesen Patienten arterielle Thrombosen und Spontanaborte beobachtet (Müller-Berghaus, 1998). Klinisch bedeutsamer ist der erworbene Antithrombinmangel. Er beruht entweder auf einer hepatischen Synthesestörung des Antithrombins bei Lebererkrankungen oder auf gesteigertem Antithrombinverbrauch bei Verbrauchskoagulopathie oder Sepsis, bei nephrotischem Syndrom infolge renaler Eiweißverluste, postoperativ, bei Heparin- oder Östrogen Therapie durch Umsatzsteigerung sowie bei Asparaginasetherapie (Hiller et al., 1998).

#### 1.4.3.2. Protein C-Mangel

Das Protein C-System gilt als wesentlicher negativer Rückkopplungsmechanismus der plasmatischen Gerinnung. Bei Protein C-Mangel ist die Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa gehemmt, was zu einem hyperkoagulatorischen Zustand führt (Dahlbäck et al., 1993; Griffin et al., 1981; Marlar et al., 1989; Miletich et al., 1993; Pabinger et al., 1994; Müller-Berghaus, 1998). Der Protein C-Mangel läßt sich in angeborene und erworbene Formen unterteilen. Es existieren zwei Formen des hereditären Protein C-Mangels (Inzidenz 1:250, Prävalenz 0,2%), die molekularbiologisch vorwiegend auf Punktmutationen beruhen (Hiller et al., 1998; Müller-Berghaus, 1998):

- Typ I: quantitativer Protein C-Mangel;  
unzureichende Synthese des Protein C
- Typ II: qualitativer Protein C-Mangel;  
dysfunktionelles Protein C

Homozygote zeigen eine deutlich reduzierte Protein C-Restaktivität zwischen ein und 25% der Norm, wobei 100% einer Protein C-Aktivität von 0,4mg/dl entspricht. Diese verminderte Aktivität führt zu einer häufig letalen *Purpura fulminans* des Neugeborenen, die durch Mikrothromben in Haut- und subkutanen Gefäßen charakterisiert wird (Marciniak et al., 1985; Manco-Johnson et al., 1988; Hiller et al., 1998; Müller-Berghaus, 1998). Die Thrombophilie für Protein C-Mangel Heterozygoter ist vom ursächlichen Gendefekt abhängig, der in seiner Ausprägung familientypisch ist (Hiller et al., 1998). Erworbener Protein C-Mangel findet sich bei gestörter Synthese des Proteins infolge von Lebererkrankungen, Vitamin K-Mangel und Therapie mit Cumarinderivaten, aber auch bei gesteigertem Verbrauch aufgrund einer Verbrauchskoagulopathie oder postoperativ, sowie bei Asparaginasetherapie (Hiller et al., 1998).

### 1.4.3.3. Protein S-Mangel

Bei Protein S-Mangel ist die Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa gehemmt, was zu einem hyperkoagulatorischen Zustand führt (Dahlbäck et al., 1993; Pabinger et al., 1994; Müller-Berghaus, 1998). Der Protein S-Mangel läßt sich in angeborene und erworbene Formen unterteilen. Es wird zwischen zwei Formen des hereditären Protein S-Mangels (Inzidenz 1:300, Prävalenz 0,2%) differenziert (Hiller et al., 1998; Müller-Berghaus, 1998):

Typ I: quantitativer Protein S-Mangel;

Verminderung des Protein S-Gesamtantigens im Plasma und des freien Protein S-Antigens mit jeweils assoziierter Reduktion der Protein S-Aktivität

Typ II: qualitativer Protein S-Mangel;

dysfunktionelles Protein S

Bei Homozygotie für Protein S-Mangel kommt es zu einer häufig letalen *Purpura fulminans* des Neugeborenen, die durch Mikrothromben in Haut- und subkutanen Gefäßen charakterisiert wird (Mahasandana et al., 1990; Müller-Berghaus, 1998). Erworbener Protein S-Mangel beruht entweder auf einer gestörten Synthese des Proteins infolge von Lebererkrankungen, Vitamin K-Mangel und Therapie mit Cumarinderivaten oder auf gesteigertem Verbrauch aufgrund einer Verbrauchskoagulopathie oder postoperativ. Außerdem findet er sich bei Asparaginasetherapie, physiologischerweise in der Schwangerschaft und bei der Einnahme oraler Kontrazeptiva, sowie besonders als Reduktion des freien Protein S im Rahmen von Akut-Phase-Reaktionen (Bertina et al., 1985; Hiller et al., 1998).

### 1.4.3.4. Hyperhomozysteinämie

Bei Hyperhomozysteinämie führt die Aktivierung der Gefäßendothelzellen im Rahmen einer Entzündungsreaktion zur Thrombophilie (Müller-Berghaus, 1998). Die Hyperhomozysteinämie läßt sich in angeborene und erworbene Formen untergliedern. Die kongenitale Hyperhomozysteinämie (Inzidenz - abhängig von der Bestimmungsmethode - zwischen fünf und zehn Prozent) beruht auf einem Defekt der Cystathion- $\beta$ -Synthetasen und ist mit arteriellen Thrombosen assoziiert. Der häufigste in einer manifesten Thrombophilie resultierende Defekt betrifft homozygot die Methylentetrahydrofolatreduktase (Hiller et al., 1998). Die homozygote Form mit einem Plasmahomozystein  $>100\mu\text{mol/l}$  führt zu koronarer Herzkrankheit, Schlaganfall und peripherer arterieller Verschlusskrankheit, einschließlich Stenose der *Arteria carotis*. Die mildere heterozygote Form mit Plasmahomozystein zwischen 16 und  $25\mu\text{mol/l}$  ist neben der arteriellen auch mit einer venösen Thrombophilie verbunden



(Müller-Berghaus, 1998). Die erworbene Hyperhomozysteinämie beruht auf Störungen des Folsäure-, Vitamin B<sub>6</sub>- und Vitamin B<sub>12</sub>-Stoffwechsels (Hiller et al., 1998).

#### **1.4.3.5. Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom**

Dem Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom liegen Störungen der zellulären Hämostase, besonders der Interaktion von Thrombozyten und Endothel sowie des Protein C-Systems zugrunde. Es wird durch den Nachweis eines Lupusinbibitors (*Lupus Antikoagulans*) und/oder deutlich erhöhter Anti-Phospholipid-Antikörper (v.a. Anti-Cardiolipin-Antikörper) im Plasma charakterisiert. Die klinische Tendenz zu venösen und arteriellen Thrombosen, Spontanaborten und/oder Thrombozytopenie ist ein weiteres Charakteristikum. Lupusinhibitoren sind vorwiegend Antikörper der Klasse IgG, seltener auch der Klasse IgM. Sie richten sich gegen Phospholipide und können somit zu Störungen in phospholipidabhängigen Reaktionen des Hämostasesystems führen. Der laborchemische Nachweis eines Lupusinhibitors und/oder von Anti-Phospholipid-Antikörpern resultiert nicht zwingend in einer thrombophilen Diathese. So ist beispielsweise das passagere Auftreten von Lupusinhibitoren im Rahmen viraler Infekte klinisch nicht mit Thrombembolien verbunden (Hiller et al., 1998).

#### **1.4.3.7. Seltener, zur Thrombophilie führende Störungen**

Der Prothrombin-Dimorphismus (Inzidenz 1:50), bei dem auf Chromosom 11 an Position 20210 das Nukleotid Adenin durch Guanin ersetzt ist, führt zu einem Anstieg der Prothrombinwerte im Plasma und damit zu einem erhöhten Risiko für Thrombosen (Rosendaal et al., 1997b; Hiller et al., 1998). Desweiteren prädisponieren Dysfibrinogenämie, Heparin-Kofaktor II-Mangel, Plasminogenmangel, Hypo- bzw. Dysplasminogenämie, Faktor XII-Mangel, die vermehrte Synthese des histidinreichen Glykoproteins, Mutationen des endothelialen Thrombomodulins oder der thrombozytären Glykoproteine IIb/IIIa zur erhöhten Thrombembolieneigung. Auch die meist erworbenen Erhöhungen von Fibrinogen, von-Willebrand-Faktor oder Faktor VII sowie Störungen im Fibrinolysesystem, beispielsweise verminderte Freisetzung von Plasminogenaktivatoren und vermehrte Synthese von PAI-1 (*plasminogen-activator-inhibitor 1*) oder  $\alpha_2$ -Antiplasmin, bedingen eine erhöhte Neigung zu Thrombembolien (Hiller et al., 1998; Müller-Berghaus, 1998).

#### 1.4.3.7. Resistenz gegen aktiviertes Protein C

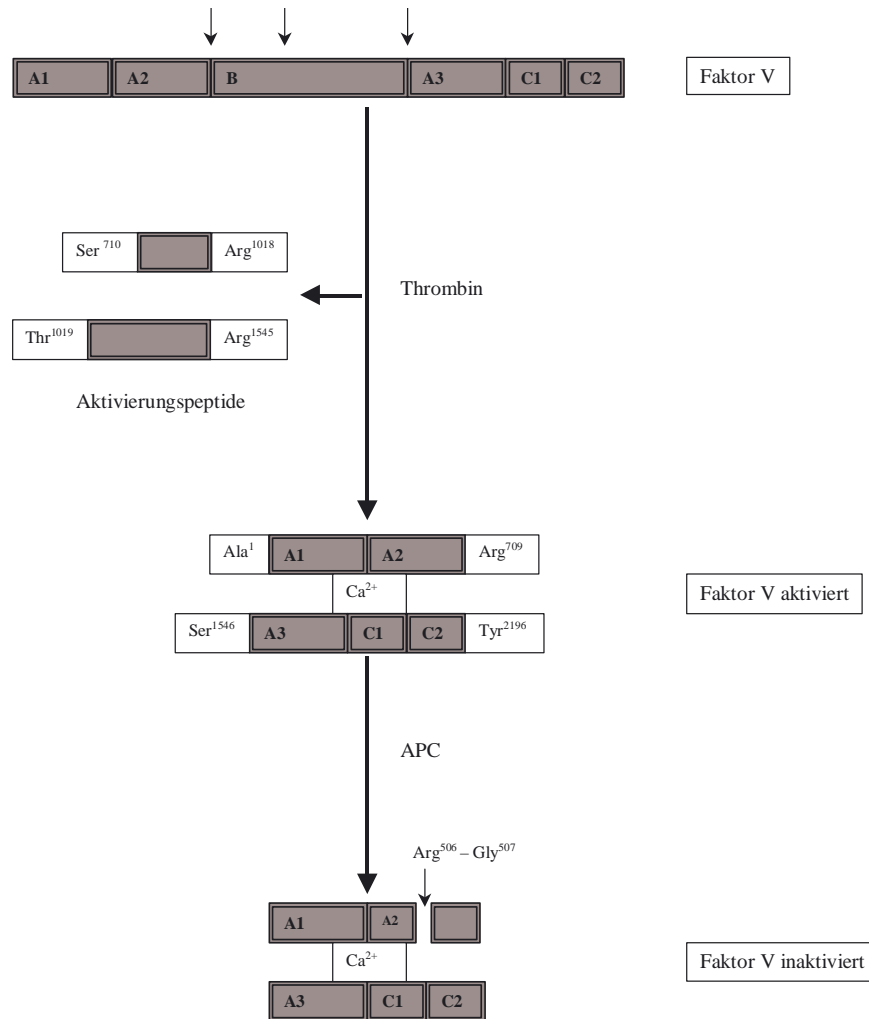
APC (aktiviertes Protein C) dient der Begrenzung der Koagelbildung durch proteolytische Inaktivierung von Faktor Va und VIIIa mit Hilfe des nicht-enzymatischen Kofaktors Protein S (Bertina et al., 1994). Diese Reaktion ist bei einer Resistenz gegen aktiviertes Protein C nicht mehr möglich. Abhängig von den Auswahlkriterien kann bei 20 bis 50% der Patienten mit idiopathischer tiefer Beinvenenthrombose *in vitro* eine APC-Resistenz nachgewiesen werden (Greengard et al., 1994). Die APC-Resistenz als Ursache einer hereditären Thrombophilie wurde zwar erst in jüngster Zeit aufgedeckt (Dahlbäck et al., 1993; Bertina et al., 1994), ist aber wegen ihrer hohen Prävalenz unter Kaukasiern (Inzidenz 1:20; Hiller et al., 1998) von entscheidender klinischer Bedeutung.

Nach Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit eines Patienten mit familiär gehäufte Thrombophilie ergab die nochmalige Messung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit nach Zugabe einer definierten Menge an gereinigtem Protein C zur Plasmaprobe des Patienten keine Verlängerung der Gerinnungszeit. Dieser Befund sprach für eine schlechte antikoagulatorische Antwort und wurde als APC-Resistenz bezeichnet. Er führte zu der Hypothese, daß die familiäre Thrombophilie jenes Patienten auf einem hereditären Mangel eines bisher unbekanntes Kofaktors von aktiviertem Protein C beruhe (Dahlbäck et al., 1993).

Bei Verwendung des Plasmas eines Patienten mit angeborener APC-Resistenz als Testplasma in einer biologischen Probe, welche die Aktivität des APC-Kofaktors während seiner Isolation aus normalem Plasma überwachte, resultierte nach Reinigung ein Protein, das mit dem Gerinnungsfaktor V identisch war. Dies bewies, daß es unmöglich ist, die APC-Kofaktoraktivität von Faktor V zu trennen. Auch unter Verwendung der Affinitätschromatographie mit monoklonalen Antikörpern gegen Gerinnungsfaktor V gelang diese Trennung nicht, da der affinitätsgereinigte Faktor V die schlechte antikoagulatorische Antwort von APC-resistentem Plasma auf APC dosisabhängig ausglich. Da Patienten mit APC-Resistenz eine normale prokoagulatorische Aktivität von Faktor V aufweisen, seien offensichtlich verschiedene Abschnitte des Faktor V-Moleküls für die pro- und antikoagulatorische Wirkung verantwortlich (Dahlbäck et al., 1994). Die Homo- bzw. Heterozygotie für eine Punktmutation im Faktor V-Gen (Bertina et al., 1994) auf Exon 10 (Williamson et al., 1998) ist mit dem Phänotyp der APC-Resistenz assoziiert. Bei dieser Mutation wird Guanin an Nukleotidposition 1691 durch Adenin ersetzt. Dies führt zur Synthese eines Faktor V-Moleküls, bei dem Arginin (Arg) an Position 506 durch Glutamin

(Gln) substituiert wird (sog. Faktor V Leiden). Da die Spaltung hinter Arg506 zur Inaktivierung von Faktor Va notwendig ist, verhindert das Einführen von Gln an Position 506 die Inaktivierung. Während der Koagulation wird Faktor V zunächst durch Faktor Xa und später durch Thrombin aktiviert. Dieser Ersatz von Arg506 durch Gln schützt Faktor Va vor APC-vermittelter Inaktivierung, wenn er nach Zugabe von Faktor Xa gebildet wurde. Dieser Austausch bewahrt Faktor Va jedoch nicht vor einer APC-vermittelten Inaktivierung nach Zugabe von Thrombin (Bertina et al., 1994).

Der Gerinnungsfaktor V zirkuliert zu 70 bis 75% im Plasma (Plasmakonzentration 7mg/l; Dahlbäck et al., 1993). Die übrigen 25 bis 30% befinden sich als Vorrat in den  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten, aus welchen Faktor V bei der Thrombozytenaktivierung freigesetzt wird. Faktor Va ist neben Faktor Xa, Prothrombin, Calcium und Phospholipiden Bestandteil des Prothrombinase-Komplexes und trägt als essentieller Proteinkofaktor zur Aktivierung von Prothrombin mittels Faktor Xa zu Thrombin bei (Cripe et al., 1992). Außerdem dient Faktor Va an der Oberfläche aktivierter Thrombozyten zusammen mit Protein S als Kofaktor bei der APC-vermittelten Inaktivierung von Faktor VIIIa. Er steigert die durch die spezifische Bindung von Thrombin an seinen endothelialen Rezeptor Thrombomodulin ausgelöste Aktivierung von Protein C zu APC (Hajjar, 1994). Faktor V wird vorwiegend von Hepatozyten und Megakaryozyten, aber auch von anderen Zellen, wie Monozyten, Endothelzellen, T-Lymphozyten und vaskulären glatten Muskelzellen, synthetisiert. Die Tatsache, daß der zellulären Oberfläche bei der Regulation der Blutgerinnung eine wesentliche Rolle zukommt, ist eine mögliche Erklärung für die Verbindung zwischen Faktor V und diesen Zellen (Cripe et al., 1992). Das reife Faktor V-Molekül ist ein einkettiges Glykoprotein mit hohem Molekulargewicht ( $M_r=330000$ ; Dahlbäck et al., 1993), das aus 2196 Aminosäuren besteht (vgl. Abbildung 1.10). Das hierfür kodierende Gen ist auf Chromosom 1q21-25 lokalisiert. Hierbei handelt es sich um eine Region mit 300 Kilobasen, die auch Gene für die Selektinfamilie von Leukozytenadhäsionsmolekülen umfaßt (Cripe et al., 1992).



**Abbildung 1.10.:** Struktur von Faktor V in verschiedenen Aktivitätszuständen (modifiziert nach Dahlbäck et al., 1993). Faktor V besteht aus drei A-Domänen, einer B- und zwei C-Domänen. Thrombin spaltet Faktor V an den drei Peptidbanden, die durch Pfeile gekennzeichnet sind. Nach Trennung der Aktivierungspeptide (Rest 710-1018 und Rest 1019-1545) bilden die schwere (Rest 1-709) und die leichte Kette (Rest 1546-2196) einen calciumabhängigen Komplex, den aktivierten Faktor V. Aktiviertes Protein C (APC) beginnt die Inaktivierung des Faktor Va durch Spaltung der schweren Kette an Position Arg506-Gly507, was durch den Pfeil dargestellt ist. Für die komplette Inaktivierung von Faktor Va werden noch weitere Banden durch APC gespalten (vgl.: Abbildung 1.11.).

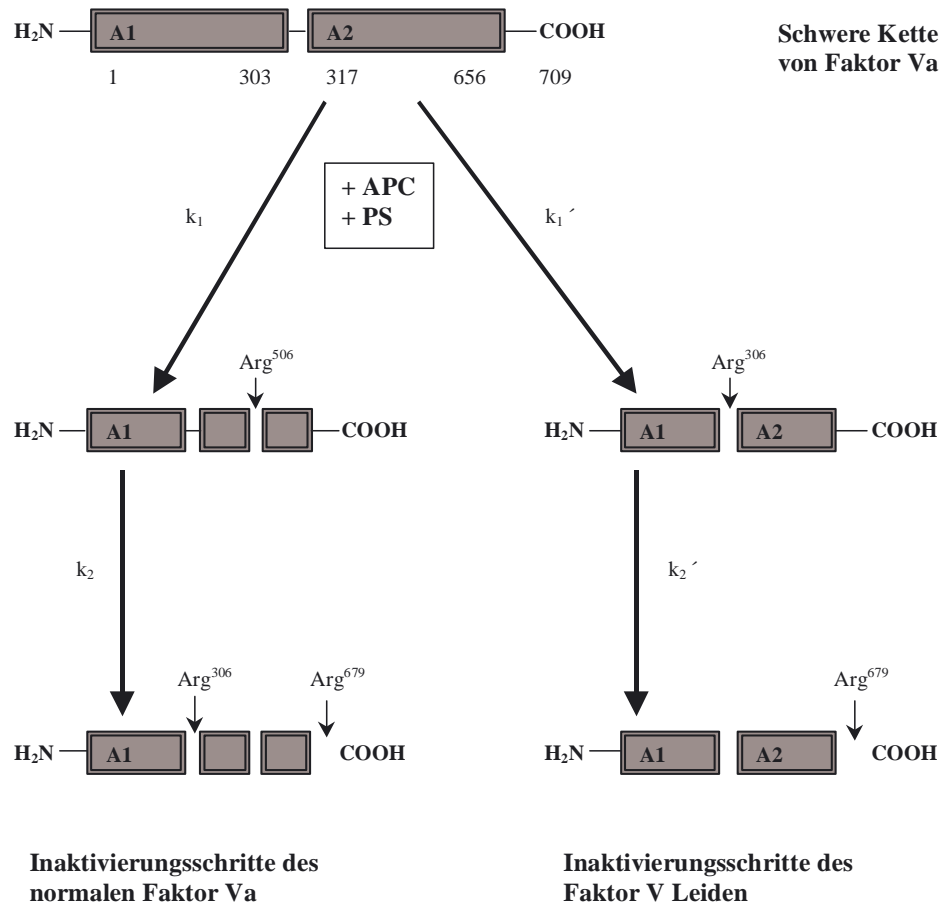
Die primäre Sequenz von humanem Faktor V ist zu 40% mit dem humanen Gerinnungsfaktor VIII identisch. Beide Moleküle weisen drei A- und zwei C-Domänen auf, lediglich in der B-Domäne finden sich keine Homologien. Die Exon-Intron-Abfolge des Gens für Faktor V und des Gens für Faktor VIII sind nahezu identisch. Das für Faktor V kodierende Gen enthält 25 Exons, das für Faktor VIII kodierende dagegen 26 Exons. Desweiteren ist die A-Domäne der beiden Gerinnungsfaktoren zu 30% identisch mit dem A-Domänentriplett des Proteins Ceruloplasmin, das Kupfer im Plasma zu binden vermag. Die C-Domäne der Faktoren V und VIII stimmt zu 40% mit der duplizierten C-Domäne des *murine breast epithelial cell protein* überein. Nicht nur strukturell, sondern auch funktionell lassen sich Parallelen zwischen den

Faktoren V und VIII aufzeigen. Die Rolle von Faktor VIIIa bei der Aktivierung von Faktor X ist der Rolle von Faktor Va bei der Prothrombinaktivierung analog. Außerdem zirkulieren beide als relativ inaktive Kofaktoren im Plasma, aus denen nach Aktivierung durch Thrombin calciumabhängige Heterodimere mit einer leichten (A1-A2-Domäne) und einer schweren Kette (A3-C1-C2-Domäne) resultieren. Beim Faktor V-Molekül enthält die B-Domäne die drei Thrombinspaltungsstellen. Beim Faktor VIII-Molekül sind nur zwei der drei Thrombinspaltungsstellen dort lokalisiert, die B-Domäne wird für die prokoagulatorische Aktivität nicht benötigt, enthält aber die Bindungsstelle für den von-Willebrand-Faktor (Cripe et al., 1992).

Um das Gleichgewicht zwischen Koagulation und Antikoagulation aufrechterhalten zu können, wird der Gerinnungsfaktor V nach Aktivierung durch Faktor Xa und/oder Thrombin rasch durch APC inaktiviert (Kalafatis et al., 1995). Faktor Xa und APC konkurrieren um die Bindungsstelle an der leichten Kette des Faktor Va-Moleküls. Somit ist die Bindung von Faktor Xa an Faktor Va mit dem Schutz vor der APC-vermittelten Inaktivierung verknüpft. Dieser protektive Effekt von Faktor Xa wird durch Protein S aufgehoben, da dessen Anwesenheit an der Phospholipidoberfläche die Affinität der APC-Bindung um das zehnfache erhöht (Dahlbäck et al., 1993). Durch selektive Förderung der langsamen Spaltung an Arg306 steigert Protein S die Inaktivierung von Faktor Va, während Faktor Xa über selektive Blockade der peptidgebundenen Spaltung an Arg506 Faktor Va vor Inaktivierung schützt (Chan et al., 1998). Da ein intaktes Faktor V-Molekül eine fünffach höhere Affinität von APC zur Membran aufweist, könnten sowohl Faktor Va als auch Faktor V mit APC interagieren (Dahlbäck et al., 1993).

Die Inaktivierung des membrangebundenen Faktor Va folgt einem geordneten, stufenartigen Ablauf (vgl.: Abbildung 1.11.; Kalafatis et al., 1995). Zu Beginn der peptidgebundenen Inaktivierung (Chan et al., 1998) wird das Faktor Va-Molekül an Arg506 der schweren Kette gespalten. Dieser Schritt allein hat allerdings noch keinen Einfluß auf die Kofaktoraktivität, dient aber der optimalen Darbietung der inaktivierenden Spaltungsstellen Arg306 und Arg679. Die folgende Spaltung an Arg306 des membrangebundenen Kofaktors führt zu einem Aktivitätsverlust von 70%. Die anschließende lipidunabhängige Spaltung an Arg679 ist für den Verlust der restlichen 30% der Kofaktoraktivität verantwortlich (Kalafatis et al., 1995). Die für die Spaltungsstellen kodierenden Sequenzen sind auf unterschiedlichen Exons des Faktor V-Gens lokalisiert. Auf Exon 7 liegt die für Arg306 kodierende Region, auf Exon 10 die für

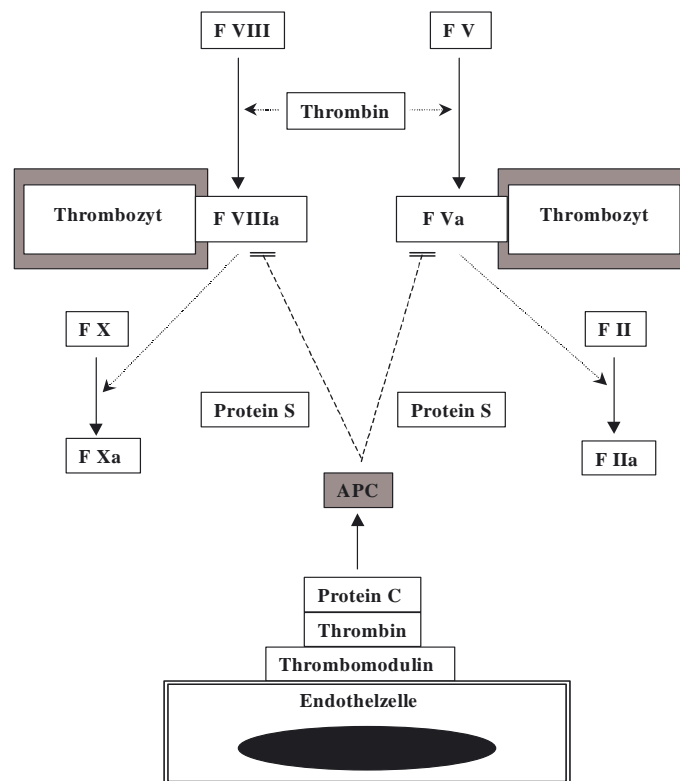
Arg506 und auf Exon 13 die für Arg679 kodierende Region des Faktor V-Gens (Chan et al., 1998).



**Abbildung 1.11.:** Schema der Spaltungsschritte der schweren Kette des Faktor Va während der Inaktivierung durch aktiviertes Protein C (APC) und Protein S (PS) (modifiziert nach Kalafatis et al., 1995). Die schwere Kette des Faktor Va besteht aus zwei A-Domänen, die über eine Bindungsregion (Aminosäure 304-316) miteinander verknüpft sind. Der normale Plasmfaktor Va wird durch drei Spaltungen rasch inaktiviert, wobei die Spaltung an Arg506 ( $k_1$ ) der optimalen Darbietung der inaktivierenden Spaltungsstellen an Arg306 und Arg679 ( $k_2$ ) dient. Das Fehlen der Spaltungsstelle an Arg506 bei Faktor V Leiden führt zu Spaltungen an Arg306 ( $k_1'$ ) und Arg679 ( $k_2'$ ). Diese inaktivierenden Spaltungen laufen deutlich langsamer ab als an Arg506 bereits vorgespaltene schweren Ketten:  $k_1 > k_2 > k_1' > k_2'$ .

Pathophysiologisch bedeutet die APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden eine Resistenz des aktivierten Faktor V gegen die Inaktivierung durch APC (vgl.: Abbildung 1.12.). Der membrangebundene Faktor Va dieser Patienten wird durch die Spaltung an Arg306 und Arg679 inaktiviert. Diese Reaktion erfolgt allerdings deutlich langsamer als unter physiologischen Bedingungen, da die reaktionsfördernde Spaltung an Arg506 durch die Substitution mit Glutamin (Gln) an dieser Position nicht möglich ist (Kalafatis et al., 1995). Bei Inkubation mit APC wird Faktor Va Arg506 innerhalb von fünf Minuten komplett inaktiviert, während Faktor Va Gln506 nach diesem Zeitraum noch nahezu 50% seiner anfänglichen

Aktivität aufweist (Williamson et al., 1998). Während die schnelle Inaktivierung des membrangebundenen Faktor Va die Spaltung an Arg506 vor den Spaltungen an Arg306 und Arg679 benötigt, bedarf der membrangebundene Faktor V zur Inaktivierung keiner vorherigen Spaltung an Arg506. Deshalb lassen sich bei letzterem keine Unterschiede zwischen Gesunden und Patienten mit Faktor V Leiden aufzeigen. Während der Inaktivierung des membrangebundenen Faktor V Leiden erfolgt die Spaltung an Arg306 und Arg679 nahezu simultan. Da nur die APC-vermittelte Spaltung von aktiviertem Faktor V Leiden verzögert ist, weshalb dessen Verweildauer bei Gefäßläsionen verlängert ist, und Personen mit dieser Mutation ein schlechtes Ansprechen auf APC zeigen, woraus ein höheres Thromboserisiko resultiert, ist wahrscheinlich Faktor Va und nicht Faktor V das primäre physiologische Substrat für APC (Kalafatis et al., 1995).



**Abbildung 1.12.:** Schema des antikoagulatorischen Weges von Protein C (modifiziert nach Bauer, 1994). Thrombin aktiviert Faktor VIII und Faktor V zu Faktor VIIIa und Faktor Va. Im Plasma zirkulierendes Thrombin wird über Thrombomodulin spezifisch an die Gefäßendothelzelle gebunden und rasch zu aktiviertem Protein C (APC) umgewandelt. APC inaktiviert die Kofaktoren VIIIa und Va mittels limitierter Proteolyse und kontrolliert somit sowohl die Umwandlung von Faktor X zu Xa durch Inaktivierung von Faktor VIIIa als auch die Umwandlung von Prothrombin (Faktor II) zu Thrombin (Faktor IIa) durch Inaktivierung von Faktor Va. Diese Inaktivierungsschritte erfolgen an der Phospholipidoberfläche der Thrombozyten mit Hilfe des beschleunigenden Kofaktors Protein S. Bei Faktor V Leiden ist der mutierte Faktor V resistent gegen die Inaktivierung durch APC, woraus ein prokoagulatorischer Zustand resultiert.



Als Zeichen der erhöhten Gerinnungsaktivität *in vivo* sind bei Patienten mit Faktor V Leiden die Werte der Prothrombinfragmente F1 und F2 im Plasma erhöht. Im Gegensatz zu Protein C- oder Protein S-Mangel ist bei Faktor V Leiden der Inaktivierungsmechanismus des Faktor VIIIa intakt (Greengard et al., 1994). Heterozygotie für Faktor V Leiden bedingt ein siebenfach erhöhtes Thromboserisiko, Homozygotie sogar ein 100fach erhöhtes Risiko, eine venöse Thrombose zu erleiden (Hiller et al., 1998). Zur Auslösung eines Thromboseereignisses ist meist die Gegenwart zusätzlicher Risikofaktoren notwendig (Chan et al., 1998). Dazu zählen Immobilität, Operationen, Dehydratation, Gravidität und Wochenbett sowie Östrogentherapie (Winkler, 1997).

Bei Fehlen einer Membranoberfläche kann keine Spaltung des Faktor Va-Moleküls an Arg306 erfolgen. Unter diesen Umständen wird Faktor Va zunächst an Arg506 und anschließend an Arg679 gespalten. Auf diese Weise verliert er lediglich 30% seiner Kofaktoraktivität (Kalafatis et al., 1995). Der Austausch des Nukleotids Guanin durch Cytosin auf Exon 7 führt zur Synthese eines Faktor V-Moleküls mit der Substitution von Arginin (Arg) an Position 306 durch Threonin (Thr; sog. Faktor V Cambridge). Dadurch fehlt bei diesem Protein die APC-Spaltungsstelle Arg306, weswegen der erste Inaktivierungsschritt des Faktor Va-Moleküls wegfällt. Bei Faktor V Cambridge handele es sich nicht um einen seltenen Polymorphismus, sondern um eine seltene Ursache der APC-Resistenz (Williamson et al., 1998).

Die Substitution von Adenin an Nukleotidposition 1090 durch Guanin auf Exon 7 führt zum Austausch von Arginin (Arg) an Position 306 durch Glycin (Gly). Dieser Austausch könnte möglicherweise die APC-vermittelte Spaltung an Arg306 des Faktor Va-Moleküls beeinflussen. Faktor Va würde dann nur an Arg506 und Arg679 gespalten und somit noch 60% seiner Kofaktoraktivität bewahren. Da diese Mutation sowohl bei Personen mit als auch ohne Thrombosen nachgewiesen wurde, ist die klinische Bedeutung dieses Polymorphismus noch unklar (Chan et al., 1998).

Der Ersatz von Guanin an Nukleotidposition 1628 durch Adenin auf Exon 10 führt zur Substitution von Arginin (Arg) an Position 485 durch Lysin (Lys). Diese Änderung der Peptidsequenz ist scheinbar ein bezüglich der prokoagulatorischen Aktivität oder der Empfänglichkeit für APC neutraler Polymorphismus mit sehr variabler Häufigkeit in den einzelnen ethnischen Gruppen. Diese These wird dadurch bestätigt, daß diese bei Hong Kong-Chinesen relativ häufig gefundene Mutation in gleicher Verteilung bei Personen mit bzw. ohne Thrombosen nachzuweisen ist (Chan et al., 1998).

90 bis 95% der Fälle von APC-Resistenz beruhen auf der Faktor V Leiden-Mutation, während die übrigen fünf bis zehn Prozent auf Gravidität, *Lupus Antikoagulans*-Aktivität oder hohen Faktor VIII-Spiegeln zurückzuführen sind (Williamson et al., 1998). Erworbene APC-Resistenz ist häufig. Sie findet sich besonders bei Akut-Phase-Reaktionen, wobei die klinische Bedeutung allerdings noch unklar ist (Hiller et al., 1998).

## **1.5. Zielsetzung der Arbeit**

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie sollten Patienten, die einen oder mehrere Myokardinfarkte überlebt haben, hinsichtlich des Vorliegens einer Thrombophilie untersucht werden. Der Schwerpunkt wurde hierbei auf die Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden-Mutation gelegt. Diese verursacht bis zu 50% der angeborenen Thrombophilien im venösen System. Hierbei sind allerdings weitere Faktoren, wie Schwangerschaft, Immobilität und Operationen, als Auslöser der Thrombosen notwendig. Die klinische Rolle der APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden bei Thromboseneigung im arteriellen Gefäßsystem wird kontrovers diskutiert. Während frühere Publikationen keine Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt nachweisen konnten, zeigt sich vorwiegend in neueren Publikationen durchaus eine mögliche Korrelation. Dies könnte auf dem Vorliegen verbesserter funktioneller Testverfahren beruhen. Außerdem waren teilweise die Patientenzahlen in den publizierten Studien zu gering, um unter Berücksichtigung der hohen regionalen Unterschiede in der Prävalenz des zugrundeliegenden genetischen Defekts (1-13%) präzise Aussagen treffen zu können.

Das Patientenkollektiv sollte nach strengen Kriterien in die vorliegende Studie eingeschlossen und unter Verwendung aussagekräftiger laborchemischer Testverfahren untersucht werden. Bei den Myokardinfarktpatienten sollte die Mutationsprävalenz bestimmt und adjustiert für Alter, Geschlecht und ethnischer Zugehörigkeit untersucht werden, inwiefern zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt eine Assoziation besteht. Um im Kontext die eigenen Ergebnisse sowie bisherige Publikationen besser beurteilen zu können, wurde zudem eine Metaanalyse durchgeführt. Schließlich sollte auf die Frage der klinischen Relevanz und der Konsequenzen des Faktor V Leiden bei Myokardinfarkt näher eingegangen werden.

## **II. Patienten und Methoden**

### **2.1. Patientenkollektiv**

Gemäß einer Fallzahlab schätzung durch Frau Dr. rer. nat. D. Nagel (Statistikerin im Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München) sollten mindestens 500 Myokardinfarktpatienten untersucht werden.

Das Patientenkollektiv dieser retrospektiven Fall-Kontroll-Studie umfaßte 507 Patienten, die sich alle zwischen September 1996 und März 2000 mit einem akuten oder bereits abgelaufenen, dokumentierten Myokardinfarkt im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität, München, vorstellten und die Einschlußkriterien für die Studie und der damit verbundenen Thrombophiliediagnostik erfüllten.

#### Einschlußkriterien:

1. dokumentierter Myokardinfarkt mit CK-Erhöhung mit CK-MB>10%  
oder Nachweis von Troponin I  
und infarkttypischer EKG-Veränderung  
und infarkttypischer klinischer Symptomatik
2. dokumentiertes Datum des ersten Myokardinfarkts
3. schriftliche Einwilligung des Patienten zur molekulargenetischen Untersuchung (seit März 1999 in Bayern erforderlich)

#### Ausschlußkriterien:

1. instabile oder stabile *Angina pectoris*
2. in der Koronarangiographie aufgedeckter alter Abbruch eines Herzkranzgefäßes ohne infarkttypische Klinik und infarkttypisches Labor (sog. stummer Myokardinfarkt) mit fehlender Dokumentation des Datums des ersten Myokardinfarkts
3. venöse Thrombembolien (tiefe Beinvenenthrombose, Lungenembolie) in der Anamnese
4. Einschluß des Patienten in eine andere Studie

Von den Patienten, die in diese Studie aufgenommen wurden, sollten folgende Daten erhoben werden:

1. allgemeine anamnestische Daten (Geschlecht, Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts, Anzahl der Myokardinfarkte, Lokalisation des Myokardinfarkts)
2. kardiovaskuläre Risikofaktoren (Hyperlipidämie, arterieller Hypertonus, Nikotinabusus, positive Familienanamnese)

3. Daten der Thrombophiliediagnostik (Thromboplastinzeit, aktivierte partielle Thromboplastinzeit, Faktor I, Faktor XII, Antithrombin, Protein C, Protein S, Resistenz gegen aktiviertes Protein C, ggf. Genotypisierung für Faktor V Leiden-Mutation bei pathologischem Funktionstest)
4. Lokalisation der zum Myokardinfarkt führenden Koronarstenose oder -okklusion mittels EKG bzw. Koronarangiographie

Das resultierende Patientenkollektiv setzte sich zusammen aus 77,5% (393/507) Männern und 22,5% (114/507) Frauen im Alter von 18 bis 86 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 56,1 Jahre. Von diesen Patienten erlitten 76,3% (387/507) einfache und 23,7% (120/507) multiple Myokardinfarkte. Bei den 507 Patienten wurden insgesamt 666 Myokardinfarkte beobachtet. Von diesen Ereignissen betrafen 36,5% (243/666) die Hinterwand des Herzens und 36,2% (241/666) die myokardiale Vorderwand. Bei 27,3% (182/666) der Myokardinfarkte konnte keine anatomische Region zugeordnet werden.

## **2.1. Kontrollkollektiv**

Die Kontrollgruppe umfaßte 404 Personen, bei welchen zwischen September 1996 und März 2000 im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität in München eine Thrombophiliediagnostik<sup>1</sup> durchgeführt wurde.

### Einschlußkriterien:

schriftliche Einwilligung des Patienten zur molekulargenetischen Untersuchung (seit März 1999 in Bayern erforderlich)

### Ausschlußkriterien:

1. dokumentierter Myokardinfarkt in der Anamnese
2. venöse Thrombembolien (tiefe Beinvenenthrombose, Lungenembolie) in der Anamnese
3. Einschluß des Patienten in eine andere Studie

Die resultierende Kontrollgruppe setzte sich zusammen aus 68,3% (276/404) Männern und 31,7% (128/404) Frauen im Alter von 12 bis 88 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 54,5 Jahre.

---

<sup>1</sup> Diskussion zur Frage der Selektion (vgl.: Seite 113)

## **2.3. Methoden**

### **2.3.1. Globaltests der plasmatischen Gerinnung**

#### **2.3.1.1. Thromboplastinzeit**

Die Thromboplastinzeit (syn.: Prothrombinzeit, *Quick-Test*) dient als Screeningtest auf Gerinnungsstörungen des extrinsischen Gerinnungssystems. Das sog. *Quick-Reagenz* enthält ein Gewebeextrakt (komplettes Thromboplastin) aus besonders thromboplastinreichen Geweben, wie Gehirn, Lunge oder Placenta, oder standardisiert ein rekombinantes Thromboplastin. Bei kommerziell erhältlichem Kit sind Thromboplastin und Calcium bereits zu Calciumthromboplastin vermengt. Im Testansatz wird dieses zum Patientenplasma gegeben, was eine Aktivierungskaskade auslöst: der somit aktivierte Faktor VII aktiviert Faktor X, der in Anwesenheit von Faktor V Prothrombin in Thrombin spaltet, was wiederum Fibrinogen in Fibrin umwandeln kann (Hiller et al., 1998). Die Thromboplastinzeit wird in Prozent der Gerinnungszeit eines Referenznormalplasmas als sog. *Quick-Wert* angegeben, wobei die Referenzwerte zwischen 70 und 100% liegen. Um Unterschieden verschiedener Thromboplastinreagenzien, die auf unterschiedlichen Herstellungsverfahren und unterschiedlichen dabei verwandten Tierspezies und Organen beruhen, gerecht zu werden, wird die Thromboplastinzeit auch als INR (*international normalized ratio*) angegeben. Diese beinhaltet den Korrekturfaktor ISI (*international sensitivity index*), der die Empfindlichkeit des verwandten Thromboplastins zu einem WHO-Referenz-Thromboplastin in Bezug setzt. Die INR findet besonders bei der oralen Antikoagulantientherapie Anwendung, bei der, je nach Grunderkrankung, eine INR zwischen 2 und 5 angestrebt wird (Hiller et al., 1998; Hildebrandt, 1998).

$$\text{INR} = \left( \frac{\text{Thromboplastinzeit des Patienten}}{\text{mittlere normale Thromboplastinzeit}} \right)^{\text{ISI}}$$

Eine Verlängerung der Thromboplastinzeit wird bei angeborenen und/oder erworbenen Mangelzuständen der Faktoren II, V, VII und X, bei der Behandlung mit Vitamin K-Antagonisten, hämorrhagischer Diathese Neugeborener, Störung der intestinalen Resorption, Leberinsuffizienz (Ikterus, Hepatitis, Leberzirrhose), Hyperfibrinolyse sowie Verbrauchskoagulopathie (disseminierte intravasale Gerinnung) beobachtet. Wegen ihrer Empfindlichkeit auf Konzentrationsschwankungen der Vitamin K-abhängigen Faktoren II, VII und X ist die Thromboplastinzeit zur Kontrolle der oralen Antikoagulantientherapie geeignet (Firmenschrift zu STA Neoplastin<sup>®</sup> Plus von Roche/Stago, 1998). Die Bestimmung der Thromboplastinzeit erfolgte durch Messung der Gerinnungszeit nach Zugabe von

Citratplasma zu Gewebethromboplastin aus Kaninchenhirn und Calciumionen. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma Roche/Stago (STA Neoplastin<sup>®</sup> Plus) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt.

### **2.3.1.2. Aktivierte partielle Thromboplastinzeit**

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT, PTT) erfasst Gerinnungsstörungen des intrinsischen Gerinnungssystems und der gemeinsamen Endstrecke mit dem extrinsischen System, ausgenommen Faktor VII. Im Testansatz werden ein Aktivator (z.B. Kaolin, Celit, Cephalin) und ein Phospholipid (partiell Thromboplastin) mit der Plasmaprobe des Patienten vermischt. Dabei dient Kaolin, Celit bzw. Cephalin der Aktivierung der Kontaktfaktoren XII und XI, während das Phospholipid die im Testansatz fehlenden Thrombozyten ersetzt und so die anschließenden Reaktionen beschleunigt. Nach Zugabe von Calciumchlorid wird die Zeit bis zur Gerinnung gemessen. Abhängig vom kommerziell erworbenen PTT-Reagenz liegt der Referenzbereich der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit zwischen 30 und 40 Sekunden (Hiller et al., 1998). Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit dient dem präoperativen Screening auf hämorrhagische Diathese, der Erfassung von Hämophilie A oder B, der Kontrolle einer Heparintherapie mit unfraktioniertem Heparin und der Überprüfung auf *Lupus Antikoagulans* (Firmenschrift zu STA APTT LT von Roche/Stago, 1998).

Die Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit erfolgte durch Messung der Gerinnungszeit nach Inkubation des Citratplasmas mit mikrokristallinem Silikaaktivator, Cephalin (Kaninchenhirn) als Quelle der Phospholipide und Calciumchlorid, durch welche die Reaktion gestartet wurde. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma Roche/Stago (STA APTT LT) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt.

## **2.3.2. Spezialtests der Gerinnung**

### **2.3.2.1. Faktor I**

Bei der Methode nach Clauss wird im Testansatz die Gerinnungszeit nach Zugabe einer Thrombinlösung zu verdünntem Citratplasma des Patienten (1:10) gemessen (Hiller et al., 1998). Da Thrombin im Testansatz in sehr hohen Konzentrationen vorliegt, ist die resultierende Gerinnungszeit direkt proportional zur Konzentration von Faktor I (syn.: Fibrinogen) im Plasma und weitgehend unabhängig von Fibrin- und Fibrinogenspaltprodukten oder einer Heparin-Therapie. Der Referenzbereich liegt zwischen

200 und 400mg/dl. Die Bestimmung des Fibrinogens erfolgte durch die Methode nach Clauss. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma Roche/Stago (STA Fibrinogen) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt.

#### **2.3.2.2. Faktor XII**

Zur Bestimmung wird Faktor XII-Mangelplasma benötigt, das durch Antikörperdeletion gewonnen wird und kommerziell erworben werden kann. Im Testansatz werden verdünntes Patientenplasma und Faktor XII-Mangelplasma vermengt und die partielle Thromboplastinzeit bestimmt. Das Ausmaß der Korrektur des bekannten Gerinnungsdefektes im Faktor XII-Mangelplasma durch das Patientenplasma wird mit dem Ausmaß der Korrektur durch Normalplasma verglichen. An einer Bezugskurve kann anschließend der Prozentwert des Patientenplasmas abgelesen werden (Hiller et al., 1998). Der Referenzbereich der Aktivität von Faktor XII (syn.: Hageman-Faktor) liegt zwischen 70 und 130%, allerdings werden erst Werte  $<52\%$  und  $>164\%$  als pathologisch definiert. Die Bestimmung der Faktor XII-Aktivität erfolgte nach Mischen von verdünntem Patientenplasma und Faktor XII-Mangelplasma durch Messung der partiellen Thromboplastinzeit. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firmen DADE Behring (Faktor XII-Mangelplasma) und Roche/Stago (aPTT-LT) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt.

#### **2.3.2.3. Antithrombin**

Die Antithrombin-Aktivität wird meist photometrisch (chromogene Substratmethode) bestimmt. Nach Zugabe einer definierten Menge Thrombin und Heparin im Überschuß zu Citratplasma des Patienten wird das Antithrombin des Patientenplasmas in einen Antithrombin-Heparin-Thrombin-Komplex überführt. Das restliche Thrombin vermag, ein chromogenes Substrat zu spalten. Die dadurch ausgelöste Extinktionsveränderung bei 405nm ist der Antithrombinaktivität indirekt proportional (Hiller et al., 1998). Der Referenzbereich liegt bei 80 bis 120%. Die Bestimmung der Antithrombinaktivität erfolgte durch die chromogene Substratmethode. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma Roche/Stago (STA Antithrombin III) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt.

#### **2.3.2.4. Protein C**

Protein C kann sowohl funktionell als auch immunologisch bestimmt werden, wobei letzteres



in der Klinik eine geringere Rolle spielt. Im funktionellen Testansatz wird Protein C in mit Protein C-Mangelplasma verdünntem Patientenplasma durch ein Schlangengift (Protac<sup>®</sup>) und das intrinsische Gerinnungssystem durch einen Cephalinoberflächenaktivator aktiviert. Das aktivierte Protein C des Patienten wird der bestimmende Faktor der zu messenden aktivierten partiellen Thromboplastinzeit: je mehr Protein C im Patientenplasma vorhanden ist, umso länger ist die Gerinnungszeit. Durch eine Verdünnungsreihe von Normalplasma mit Protein C-Mangelplasma läßt sich eine Standardkurve erstellen. Bei dieser koagulometrischen Methode definiert somit die Fibrinbildung den Endpunkt der Messung. Ein anderer funktioneller Testansatz beruht auf einer amidolytischen Analyse (chromogene Substratmethode). Das Protein C des Patientenplasmas wird durch ein Schlangengift (Protac<sup>®</sup>) zur aktiven Protease aktiviert, die anschließend ein künstliches Substrat zu spalten vermag, was durch einen Farbumschlag bei 405nm dargestellt werden kann. Hierbei ist die Extinktionszunahme der Protein C-Konzentration im Patientenplasma direkt proportional. Der Referenzbereich liegt bei 70 bis 140% der Norm. Immunologisch kann Protein C beispielsweise mittels eines *enzyme-linked immuno sorbent assay* (ELISA) bestimmt werden (Hiller et al., 1998). Die Bestimmung der Protein C-Aktivität erfolgte durch die chromogene Substratmethode. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma DADE Behring (Berichrom<sup>®</sup> Protein C) am BCS-Analyzer der Firma DADE Behring durchgeführt.

#### **2.3.2.5. Protein S**

60% des im Plasma vorhandenen Protein S sind mit dem C4b-bindendem Protein, einem Inhibitor des Komplementsystems, verknüpft, die restlichen 40% liegen als freies Protein S vor und sind funktionell aktiv (Bertina et al., 1985; Esmon, 1992; Bauer, 1994). Bei der funktionellen Protein S-Methode wird im Testansatz zur Bestimmung des freien, funktionell aktiven Protein S das Patientenplasma mit Protein S-Mangelplasma und einer definierten Menge aktivierten Protein C vermischt und anschließend die Gerinnung durch Zugabe von Faktor Xa und Calciumchlorid gestartet. Dabei ist die Verlängerung der Gerinnungszeit der Protein S-Aktivität proportional. Der Referenzbereich liegt für Männer bei 65 bis 145% und für Frauen bei 50 bis 120%. Bei einer anderen Methode kann nach immunologischer Bestimmung des gesamten Protein S durch Zugabe von Polyäthylenglykol (PEG) zu Patientenplasma der Komplex aus Protein S und C4b-bindendem Protein entfernt werden. Somit ist nur noch freies, funktionell aktives Protein S vorhanden, welches wiederum mittels eines *enzyme-linked immuno sorbent assay* (ELISA) quantitativ bestimmt werden kann (Hiller

et al., 1998). Die Bestimmung der Protein S-Aktivität erfolgte nach der funktionellen Protein S-Methode. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma Roche/Stago (STA Protein S Clotting) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt. In diesem Testsystem der Firma Roche/Stago führen Resistenz gegen aktiviertes Protein C bzw. Faktor V Leiden-Mutation nicht zu falsch niedrigen Protein S-Spiegeln.

#### 2.3.2.6. Resistenz gegen aktiviertes Protein C

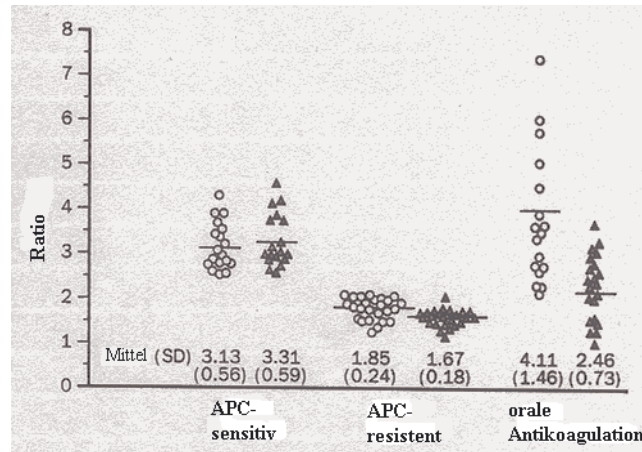
Im Testansatz wird die aktivierte partielle Thromboplastinzeit des Patienten mit und ohne Zugabe einer definierten Menge Protein C bestimmt. Hierbei ergibt sich eine APC-Ratio, deren laborabhängiger Referenzwert zwischen 2,0 und 2,5 liegt (Institut für klinische Chemie im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität zu München mit Referenzwert 2,1) und dessen Unterschreiten für das Vorhandensein einer APC-Resistenz spricht.

$$\text{APC-Ratio} = \frac{\text{Gerinnungszeit APC / CaCl}_2}{\text{Gerinnungszeit CaCl}_2}$$

Da nur 90% aller Fälle von APC-Resistenz (Dahlbäck et al., 1993; Svensson et al., 1994) durch die Faktor V Leiden-Mutation (Arg<sup>506</sup>→Gln) erklärbar sind und dieses APC-Resistenz-Screening nach Dahlbäck (Dahlbäck et al., 1993) auch die übrigen 10% der Fälle von APC-Resistenz einschließt, wurde eine modifizierte Methode mit Faktor V-Mangelplasma entwickelt. Durch die Vorverdünnung des Patientenplasmas mit Faktor V-Mangelplasma werden Sensitivität und Spezifität des auf den Grundlagen der aPTT-Messung basierenden APC-Resistenz-Tests für die Faktor V Leiden-Mutation auf annähernd 100% erhöht (Jorquera et al., 1994). Die Vorverdünnung ermöglicht außerdem die Testung von Patienten unter oraler Antikoagulation und Heparin-Therapie (vgl.: Abbildung 2.1.; Trossaërt et al., 1994; Firmenschrift zu COATEST<sup>®</sup> APC<sup>™</sup> Resistance V von Chromogenix).

Im Testansatz wird das Patientenplasma mit Faktor V-Mangelplasma vorverdünnt und anschließend über einen definierten Zeitraum mit aPTT-Reagenz inkubiert. Nach Zugabe von Calciumchlorid sowohl mit als auch ohne aktiviertes Protein C wird die Zeit bis zur Bildung eines Fibringerinnsels gemessen. Hierbei beschreibt ein Ratio >2,1 einen normalen Genotyp, ein Ratio zwischen 1,5 und 1,7 einen Heterozygoten und ein Ratio ≤1,2 einen Homozygoten für die Faktor V Leiden-Mutation. Während eindeutig bestimmt werden kann, ob ein normaler oder pathologischer Genotyp vorliegt, ist die Unterscheidung zwischen homozygot und heterozygot nicht immer möglich.

$$\text{APC-V-Ratio} = \frac{\text{Gerinnungszeit APC / CaCl}_2}{\text{Gerinnungszeit CaCl}_2}$$



**Abbildung 2.1.:** APC-Ratio von drei unterschiedlichen Personengruppen (aus Trossaert et al., 1994): Personen, die gegenüber APC-Applikation sensitiv reagiert haben, Personen, die eine APC-Resistenz aufwiesen, sowie Personen, die unter oraler Antikoagulation standen. Der modifizierte funktionelle Test mit 1:5 verdünntem Faktor V-Mangelplasma ( $\Delta$ ) ermöglichte im Vergleich zum APC-Screening-Test nach Dahlbäck (O) eine aussagekräftige Untersuchung von Personen unter oraler Antikoagulation auf Faktor V Leiden.

Die Bestimmung der APC-Resistenz erfolgte nach der modifizierten Methode mit Faktor V-Mangelplasma. Sie wurde gemäß den Herstellerempfehlungen mit Reagenzien der Firma Chromogenix (COATEST® APC™ Resistance V) am STA Gerinnungs-Analyzer der Firma Roche/Stago durchgeführt.

### **2.3.3. Molekulargenetischer Nachweis des Faktor V Leiden**

#### **2.3.3.1. Isolierung genomischer Desoxyribonukleinsäuren**

Die Extraktion der genomischen Desoxyribonukleinsäuren (syn.: DNS, DNA) wurde mit Hilfe des QIAamp DNA Blood Mini-Kits der Firma QIAGEN direkt aus 2ml Na<sub>2</sub>EDTA-Vollblut des Patienten vorgenommen. In einem 0,5ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß wurden 200µl Na<sub>2</sub>EDTA-Vollblut des Patienten mit 200µl Puffer AL versetzt, um die kernhaltigen Zellen (vorwiegend Leukozyten) zu lysieren. Für den anschließenden Proteinverdau wurden 25µl QIAGEN-Protease zugegeben und die Lösung zehn Minuten bei 70°C inkubiert. Nach Zugabe von 200µl 100%igen Alkohols wurde die Probe auf eine QIAamp-Säule aufgetragen und eine Minute bei 8000 Umdrehungen in der Eppendorf-Zentrifuge 5417 C zentrifugiert. Zur Beseitigung von Verunreinigungen (Proteine, Hemmstoffe der Polymerasekettenreaktion) wurden 500µl Puffer AW 1 auf die Säule pipettiert, eine Minute bei 8000 Umdrehungen

zentrifugiert und dieser Vorgang mit 500µl des Puffers AW 2 und drei Minuten Zentrifugieren bei 14000 Umdrehungen wiederholt. Um die Bindung der DNA an die Silikamembran der QIAamp-Säule zu lösen, wurden 200µl Puffer AE zugegeben und die Lösung nochmals eine Minute bei 8000 Umdrehungen zentrifugiert.

### 2.3.3.2. Oligonukleotid-Primer

Oligonukleotid-Primer sind der Sequenz des zu untersuchenden DNA-Abschnittes komplementäre genetische Sonden, die dessen schnelle und spezifische Amplifikation durch die Polymerasekettenreaktion (PCR) oder eine Sequenzierung erlauben. Es handelt sich bei den Primern um chemisch synthetisierte Fragmente von Einzelstrang-DNA mit einer Länge von zumeist 20 bis 30 Basen. Durch Veränderung einzelner Nukleotide im nicht-kodierenden Abschnitt des Enzyms können bestimmte künstliche Restriktionsendonuklease-Schnittstellen in die Oligonukleotidsequenz eingeführt werden, was beispielsweise die gerichtete Klonierung der amplifizierten PCR-Abschnitte in Plasmidvektoren ermöglicht. Für die Amplifikation des Abschnittes in Exon 10, der für eine APC-Spaltungsstelle im Faktor V-Molekül kodiert, wurden folgende zwei Oligonukleotid-Primer verwendet (Zöller et al., 1994):

APC-1: 5' GGA ACA ACA CCA TGA TCA GAG CA 3'

APC-2: 5' TAG CCA GGA GAC CTA ACA TGT TC 3'

Diese Oligonukleotid-Primer wurden mit Hilfe eines DNA-Synthesizers 381 A (Ein-Säulen-Gerät) der Firma Perkin Elmer Applied Biosystems synthetisiert. Anschließend wurden die an das Säulenmaterial gebundenen Oligonukleotide zur Abspaltung der Schutzgruppen acht Stunden bei 55°C in 3ml einer 29%igen Ammoniaklösung inkubiert und nach dem Lyophilisieren in 500µl TE-Puffer resuspendiert.

Zusammensetzung des TE-Puffers: 10mM Tris-HCl pH 7,5  
1mM EDTA

Die Entsalzung erfolgte durch Aufreinigung mittels Gelfiltration über Nap<sup>TM</sup>-5-Säulen der Firma Pharmacia. Nach Waschen dieser Säulen mit 10ml TE-Puffer wurden die in 500µl TE-Puffer gelösten Oligonukleotide aufgetragen und mit 1ml TE-Puffer eluiert. Durch Bestimmung der optischen Dichte bei einer Wellenlänge von 260nm konnte die Konzentration der Oligonukleotide photometrisch am UVIKON 810-Spektralphotometer der Firma Kontron ermittelt werden.

### 2.3.3.3. Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) dient der enzymatischen Anreicherung von DNA-Abschnitten, welche zwischen zwei bekannten Nukleotidsequenzen auf einer Matrize (sog. *template*, DNA oder cDNA) lokalisiert sind. Oligonukleotide, die den angrenzenden Sequenzen des zu amplifizierenden DNA-Abschnittes komplementär sind, dienen als gegenläufige Startermoleküle der Reaktion (sog. 5'- und 3'-*primer*). Die PCR setzt sich aus folgenden drei Teilschritten zusammen:

1. Spaltung der doppelsträngigen, nativen DNA in zwei komplementäre Einzelstränge mittels Hitzedenaturierung bei 94 bis 95°C
2. Hybridisierung der im molaren Überschuß vorhandenen Oligonukleotid-Primer mit den jeweils komplementären Einzelsträngen bei Temperaturen zwischen 50 und 60°C (sog. *annealing*)
3. DNA-Synthese durch das Enzym Taq-Polymerase (gereinigte thermostabile DNA-Polymerase des thermophilen Bakteriums *Thermus aquaticus*), ausgehend von den gebildeten Hybriden als Synthesestart, bei 72 bis 74°C, wobei die Taq-Polymerase die angelagerten Primer bei Desoxyribonukleosid-Triphosphat-Überschuß verlängert (sog. *extension*)

Durch mehrfaches Wiederholen (30-50mal) dieses Zyklus aus Denaturierung, Anlagern und DNA-Synthese kann mittels der PCR *in vitro* jede bekannte Nukleinsäure vervielfältigt und um das 10<sup>6</sup>-10<sup>9</sup>fache vermehrt werden (Müller et al., 1996; Bienz, 1998). Die PCR wird neben ihrer Anwendung in der klinischen Genetik und der Genisolierung beispielsweise auch beim Genomnachweis viraler RNA oder DNA (Bienz, 1998) und der Gewebetypisierung durch Sequenzierung amplifizierter Genabschnitte des MHC (*major histocompatibility complex*; Eger et al., 1998) eingesetzt. Der PCR-Testansatz wurde in ein 0,5ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert und setzte sich folgendermaßen zusammen: 10µl der aus EDTA-Vollblut des Patienten isolierten DNA (*template*), 5µl 10x Polymerase-Puffer der Firma Sigma, 5µl dNTP-Lösung (1,25mM dATP, dCTP, dGTP und dTTP), jeweils 0,5µl einer 20µmolaren Verdünnung der Primer APC-1 und APC-2, 0,25µl Taq-DNA-Polymerase der Firma Sigma und 28,75µl Wasser zum Auffüllen auf 50µl.

#### Zusammensetzung des 10x Polymerase-Puffers:

100mM Tris-HCl pH 8,3 bei 25°C  
500mM KCl  
15mM MgCl<sub>2</sub>  
0,01% Gelatine

Die PCR-Reaktionen wurden in einem Peltier-Thermocycler (PTC-225) der Firma MJ

Research durchgeführt. Die DNA-Denaturierungszeit betrug 30 Sekunden bei 95°C, die Anlagerungszeit für die Oligonukleotid-Primer 30 Sekunden bei 60°C und die Elongationszeit 30 Sekunden bei 72°C. Diese drei Teilschritte wurden 40 mal wiederholt.

#### **2.3.3.4. Präzipitation der DNA mit Ethanol**

In Gegenwart von Salzen können Nuklein- und Ribonukleinsäuren mit Ethanol ausgefällt werden. Durch Bindung positiv geladener Salzionen an die Phosphatgruppen der Nukleinsäuren und den anschließenden Wasserentzug durch Ethanol kommt es zur Präzipitation der DNA. 50µl der DNA-Lösung des Patienten wurden mit 4µl 4M NaCl versetzt. Zum Wasserentzug wurde das 2,5fache Volumen (125µl) -20°C kalten, 100%igen Ethanols der Firma Merck zugegeben und die DNA entweder 30 Minuten bei -80°C oder 5 Minuten in flüssigem Stickstoff ausgefällt. Nach anschließender 30minütiger Zentrifugation in der Hettich-Kühlzentrifuge bei 12000UpM und 4°C wurde der Überstand verworfen und das DNA-Präzipitat des Patienten in der Vakuumzentrifuge (Speed-Vac) der Firma Bachhofer getrocknet.

#### **2.3.3.5. Hydrolytische Spaltung der DNA mit Restriktionsendonukleasen**

Restriktionsendonukleasen sind DNA-abbauende Enzyme mit der Fähigkeit, innere Phosphodiesterbindungen der DNA zu spalten, so daß daraus ein DNA-Ende mit einer 5'-Phosphat- und ein DNA-Ende mit einer 3'-Hydroxy-Gruppe an der Desoxyribose resultiert. Natürlicherweise finden sich Restriktionsendonukleasen in Prokaryonten, wo sie einen Schutzmechanismus dieser Organismen gegenüber Bakteriophagen darstellen. Die Fremd-DNA, die durch Phagen in Bakterien eingeschleust werden kann, enthält mit definierter statistischer Wahrscheinlichkeit Erkennungssequenzen für die jeweiligen Restriktionsenzyme des befallenen Bakterienstammes und wird somit hydrolytisch gespalten. Die Bakterien-DNA enthält die gleichen kurzen Nukleotidsequenzen. Deshalb besitzt jedes Bakterium zum Selbstschutz bakterienspezifische DNA-Methylasen, die die eigenen entsprechenden Restriktionsendonuklease-Sequenzen methylieren und somit die Spaltung durch die eigenen Endonukleasen verhindern können. Wenn Phagen-DNA in ein Bakterium eindringt, setzt die Aktivität der Restriktionsnukleasen schneller ein als die Methylierung der Fremd-DNA. Die Erkennungssequenz der Restriktionsenzyme umfaßt meist 4 bis 6 Nukleotide. Die hydrolytische Spaltung der DNA, die entweder direkt an der Erkennungssequenz stattfindet oder erst nach Zurücklegen einer bestimmten Strecke auf der DNA, generiert, abhängig vom Enzym, glatte oder gestufte DNA-Enden mit 3'- oder 5'-Überhang. Im Testansatz für den



Restriktionsverdau wurden gemäß den Herstellerempfehlungen dem DNA-Präzipitat des Patienten 1µl des Enzyms Mnl 1 der Firma New England Biolabs, 1µl des Restriktionspuffers NEB 2, 1µl BSA (bovines Serumalbumin) und 7µl Wasser hinzugefügt und die Lösung über Nacht bei 37°C inkubiert.

### 2.3.3.6. Agarosegelelektrophorese

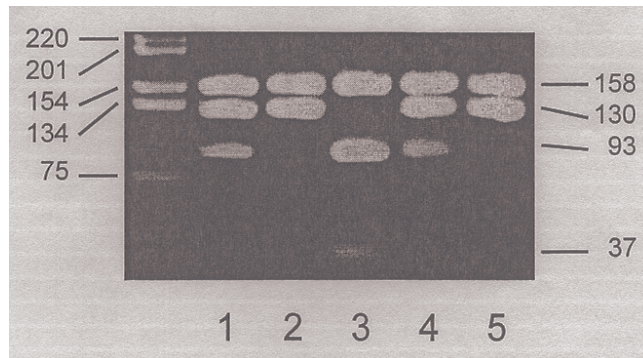
Die Elektrophorese in horizontalen Agarosegelen dient der Auftrennung und Isolierung von DNA-Fragmenten. Durch Anlegen des elektrischen Feldes wandert die negativ geladene DNA, von den Geltaschen ausgehend, auf den positiven Pol zu. Dabei ist die Wanderungsgeschwindigkeit der DNA-Fragmente von der angelegten Spannung, der Agarosekonzentration des Gels, der Zusammensetzung des Laufpuffers und der Größe und Konformation der DNA-Moleküle abhängig (Hildebrandt, 1998). Für die Analyse des Mnl I-Restriktionsverdau wurde 2%ige LMP (*low melting point*)-Agarose im Mikrowellenherd geschmolzen, in den Gelträger (GIBCO BRL Life Technologies) gegossen und ausgehärtet. Als Laufpuffer wurde 1x TBE-Marathon-Puffer und zum Laden der PCR-Produkte des Patienten Ficoll-Auftragepuffer verwendet.

<u>Zusammensetzung des 10x TBE-Marathon-Puffers:</u>	1,35M Tris 25mM EDTA 0,45M Borsäure
--	---

<u>Zusammensetzung des Ficoll-Auftragepuffers:</u>	15% Ficoll 0,25% Bromphenol 0,25% Xylencyanol
--	---

Der mit 3µl Ficoll-Auftragepuffer versetzte Restriktionsverdau wurde in die Geltaschen pipettiert und nach Anlegen der Spannung bei 40mA aufgetrennt. Nach Beendigung der Elektrophorese wurde das Agarosegel im Ethidiumbromidbad (0,5µg/ml) gefärbt und photographiert. Ethidiumbromid ist ein in die DNA interkalierender Farbstoff, durch den die DNA im Agarosegel bei langwelligem ultravioletten Licht (302nm) durch Fluoreszenz am Transilluminator IL 350M der Firma Bachhofer sichtbar gemacht werden kann (vgl.: Abbildung 2.2).





**Abbildung 2.2.:** Agarosegelelektrophorese zum Nachweis verschiedener Faktor V-Allele. Das PCR-Produkt des normalen Faktor V-Allels wird durch das Restriktionsenzym Mnl I in Fragmente von 37, 93 und 158 Basenpaaren aufgespalten (Bande 3). Im Gegensatz dazu wird das für Faktor V Leiden homozygot mutierte Allel in Fragmente von 130 und 158 Basenpaare getrennt (Bande 2 und 5). Das für Faktor V Leiden heterozygot mutierte Allel wird in Fragmente von 37, 93, 130 und 158 Basenpaare aufgetrennt (Bande 1 und 4).

### 2.3.4. Metaanalyse

Eine Recherche im Zeitraum von 1997 bis 1999 in der *Online*-Datenbank [www.medline.de](http://www.medline.de) mit den Schlagworten „factor V Leiden, resistance against activated protein C, myocardial infarction“ lieferte 200 Literaturstellen, die im Zeitraum von 1995 bis 1999 publiziert wurden. Dabei wurde als Synonym für „factor V Leiden“ automatisch auch unter „factor V“, „factor V G1691A“ sowie „FV Leiden“, für „resistance against activated protein C“ unter „protein C“ und für „myocardial infarction“ auch unter „heart attack“ gesucht. Eine Recherche zur selben Zeit in der Datenbank [www4.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed.com](http://www4.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed.com) mit den Schlagworten „factor V Leiden OR resistance against activated protein C AND myocardial infarction“ lieferte unter der zusätzlichen Einschränkung „human“ 41 Literaturstellen, die zwischen 1995 und 1999 publiziert wurden und sich teilweise mit den Publikationen der anderen Datenbank überschneiden. Mit der Frage der Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt beschäftigten sich 29 Studien, diese sind unter dem Kapitel 3.5.1. aufgeführt.

#### Einschlußkriterien:

1. dokumentierter Myokardinfarkt im Patientenkollektiv
2. Bestimmung der Prävalenz von Faktor V Leiden im Patientenkollektiv
3. Bestimmung der Prävalenz von Faktor V Leiden im Kontrollkollektiv

#### Ausschlußkriterien:

1. instabile oder stabile *Angina pectoris* im Patientenkollektiv
2. allgemeine Formulierung akutes Koronarsyndrom oder koronare Herzkrankheit im Patientenkollektiv

3. fehlende Kontrollgruppe derselben geographischen Region
4. fehlende Publikation von Absolutzahlen im Patientenkollektiv, die für Berechnungen im Rahmen der Metaanalyse notwendig wären
5. andere Zielsetzung

Unter Berücksichtigung dieser Kriterien konnten von den 29 im Kapitel 3.5.1. aufgeführten Publikationen 19 Studien in die weitere Metaanalyse eingeschlossen werden, drei davon waren nochmals in zwei bis vier Unterstudien untergliedert (vgl.: Tabelle 3.8.).

Ein Funnel-Plot wurde angefertigt, da anhand einer Asymmetrie der Punkteverteilung gewisse *bias* graphisch verdeutlicht werden können. Zu *selection bias* zählen *publication* und *location bias*. *Publication bias* beschreiben die Tatsache, daß Studien mit statistisch signifikanten Ergebnissen häufiger publiziert werden als solche mit nicht-signifikanten Ergebnissen. Unter *location bias* fallen beispielsweise *bias* infolge einer Publikation in englischer Sprache, wodurch Veröffentlichungen in anderen Sprachen nicht berücksichtigt werden. Eine Asymmetrie kann außerdem auf einer wahren Heterogenität der publizierten Studien infolge unterschiedlicher Studiengröße, auf Artefakten und auf Datenunregelmäßigkeiten beruhen (Egger et al., 1997a). Um eine mögliche Heterogenität der publizierten Ergebnisse und die Qualität der einzelnen Studien graphisch zu veranschaulichen (Egger et al., 1997b), wurde ein Forrest-Plot angefertigt. Außerdem wurde mit Hilfe eines  $\chi^2$ -Tests auf Homogenität (Fleiss, 1981) berechnet, ob zwischen den publizierten Studienergebnissen eine statistisch signifikante Heterogenität vorlag.

### **2.3.5. Statistische Auswertung**

Für die Erfassung und Auswertung der Daten wurde das Tabellenkalkulationsprogramm *Microsoft Excel* für *Windows* verwendet. Mit ihm wurden die jeweiligen statistischen Berechnungen durchgeführt, Grafiken entworfen und die Ergebnisse entsprechend ausgewertet.

Im Text werden die Untersuchungsergebnisse bei Vorliegen einer Normalverteilung als arithmetischer Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Zudem wird der jeweilige minimale und maximale Wert der Untersuchungsergebnisse genannt (Sachs, 1997).

Das primäre Ziel der Studie war der Vergleich der Prävalenz von Faktor V Leiden im Kollektiv der Myokardinfarktpatienten und der Kontrollpersonen:

- Nullhypothese  $H_0$ :  $\text{Prävalenz}_{\text{Patientenkollektiv}} = \text{Prävalenz}_{\text{Kontrollkollektiv}}$
- Alternativhypothese  $H_1$ :  $\text{Prävalenz}_{\text{Patientenkollektiv}} \neq \text{Prävalenz}_{\text{Kontrollkollektiv}}$

Die Signifikanz einer Hypothese wurde bei nicht-stetigen Merkmalen mit Hilfe des  $\chi^2$ -Tests auf einem lokalen  $\alpha$ -Niveau von 5% untersucht (Sachs, 1997). Die Assoziationsstärke zweier Merkmale wurde mittels *odds-ratio* (OR) bzw. *ln odds-ratio* (lnOR) und dazugehörigem Konfidenzintervall (CI95) quantifiziert (Sachs, 1997). Das *odds-ratio* für Faktor V Leiden wurde im Rahmen einer logistischen Regressionsanalyse für Alter, Geschlecht und Nationalität adjustiert (Sachs, 1997). Bei bekannter unterschiedlicher Prävalenz für Faktor V Leiden in den einzelnen ethnischen Gruppen wurde eine nachgeschaltete Subgruppenanalyse durchgeführt, hierbei diente ein deutscher Name (Vor- bzw. Nachname) als Proxy-Variable. Im Rahmen der Metaanalyse wurde aus den publizierten Fall- und Kontrollzahlen nur das rohe *odds-ratio* berechnet (Sachs, 1997). Eine Adjustierung war nicht möglich, da kardiovaskuläre Risikofaktoren nicht in allen Studien publiziert wurden.

Ein möglicher Zusammenhang stetiger Merkmale wurde unter Verwendung des Pearsonschen Korrelationskoeffizienten überprüft und eine mögliche Signifikanz mit einem adäquaten t-Test bestimmt (Sachs, 1997).

### **III. Ergebnisse**

Die Ergebnisse dieser Studie umfaßten 507 Personen, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten und bei denen die Thrombophiliediagnostik durchgeführt worden war.

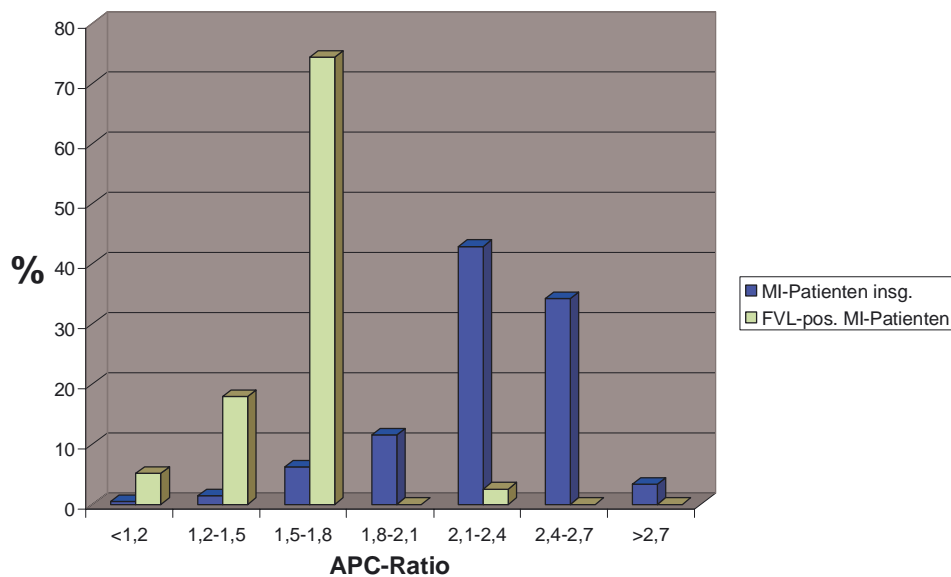
Das Patientenkollektiv wurde in Patienten unterteilt, die zum Zeitpunkt der Thrombophiliediagnostik akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten, und in Patienten, deren Myokardinfarkt bereits längere Zeit zurücklag. Hierbei wurde ein Zeitraum von vier Wochen als „akut“ definiert. Innerhalb dieser Zeitspanne normalisieren sich die Serumparameter, die infolge der bei Myokardinfarkt ausgelösten Akut-Phase-Reaktion mit physiologischer Spontanlyse sowie der eingeleiteten Lysetherapie beeinflußt worden waren. Zu diesen Parametern werden neben Fibrinogen auch Antithrombin, Protein C und Protein S gezählt. Nach dieser Definition hatten zum Zeitpunkt der Thrombophiliediagnostik 23,3% (118/507) der Patienten akut einen Myokardinfarkt erlitten, während bei 76,7% (389/507) dieses Ereignis bereits einen längeren Zeitraum zurücklag.

#### **3.1. Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Beim Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten konnten durch die große Fallzahl statistisch aussagekräftig arithmetischer Mittelwert und Standardabweichung bestimmt werden. Da das Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten kleiner ist, resultieren hierbei arithmetische Mittelwerte mit teilweise großer Standardabweichung.

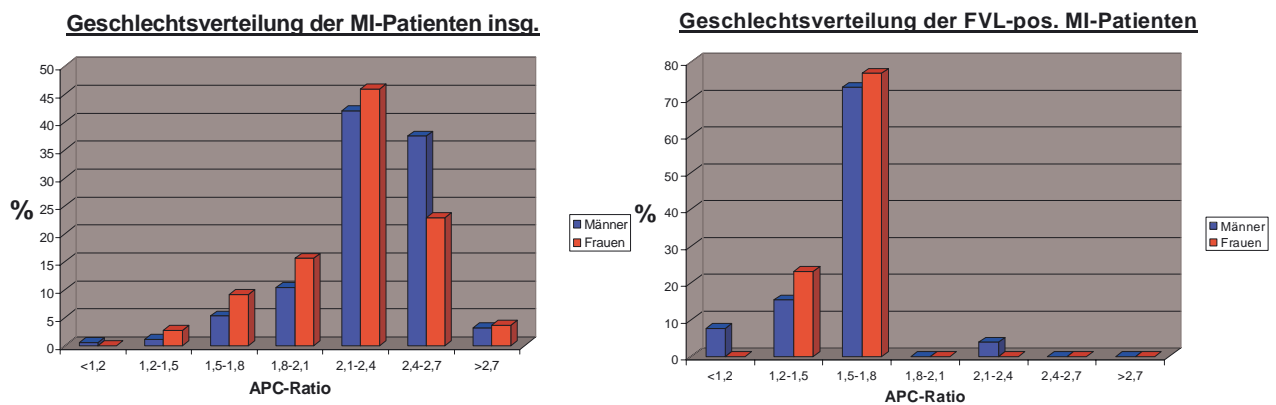
##### **3.1.1. Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Der Referenzbereich der APC-Ratio liegt laborabhängig zwischen 2,0 und 2,5 (Institut für klinische Chemie im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität zu München mit Referenzwert 2,1), dessen Unterschreiten spricht für die Gegenwart einer APC-Resistenz. Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten wurde bei 95,7% (485/507) der Patienten dieser funktionelle Test mit Faktor V-Mangelplasma durchgeführt (vgl.: Tabelle 3.1.), der Mittelwert betrug  $2,3 \pm 0,3$  (1,1-3,0). Bei den 88,6% (39/44) der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, bei denen der funktionelle Test mit Faktor V-Mangelplasma durchgeführt wurde, betrug der Mittelwert  $1,5 \pm 0,2$  (1,1-2,1). Die Abbildung 3.1. zeigt bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten ein im Vergleich zum Referenzwert niedrigeres APC-Ratio.



**Abbildung 3.1.:** Die prozentuale Verteilung der APC-Ratio für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

Die Abbildung 3.2. zeigt im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten eine Verlagerung der APC-Ratio bei Frauen zu niedrigeren Werten, im Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten jedoch bei den Männern.



**Abbildung 3.2.:** Die prozentuale Verteilung der APC-Ratio unter Berücksichtigung des Geschlechts für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

Die Genotypisierung für Faktor V Leiden wurde bei pathologischen Ergebnissen im funktionellen Test mit Faktor V-Mangelplasma durchgeführt. Bei 14,4% (73/507) der Patienten im Gesamtkollektiv und 100,0% (44/44) der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten wurde genotypisiert (vgl.: Tabelle 3.1.). Der pathologische Genotyp war stets mit pathologischen Werten im funktionellen Test verbunden. Bei 4,3% (22/507) der Patienten im Gesamtkollektiv und 11,4% (5/44) der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten wurde nur genotypisiert, da der funktionelle Test wegen mangelhaften Citratplasmas nicht durchgeführt werden konnte (vgl.: Tabelle 3.1.).

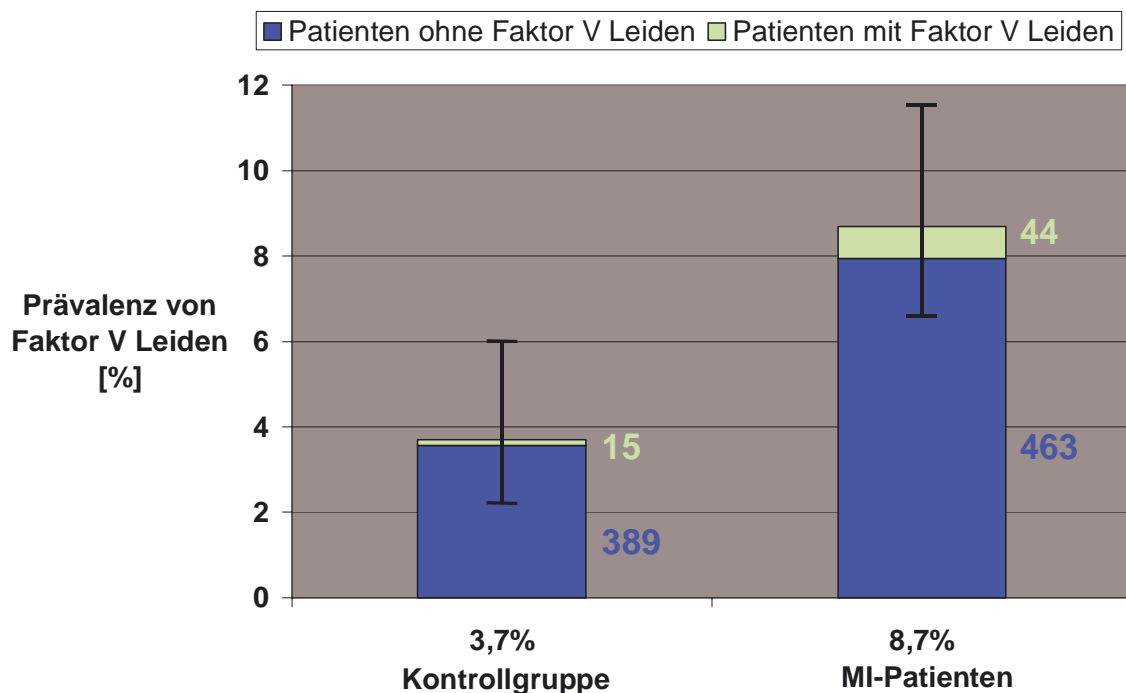
**Tabelle 3.1.:** Durchgeführte Testung auf Faktor V Leiden.

	507 Patienten mit Myokardinfarkt	44 Faktor V Leiden-positive Myokardinfarktpatienten
modifizierter funktioneller Test	95,7% (485/507)	88,6% (39/44)
Genotypisierung	14,4% (73/507)	100,0% (44/44)
nur Genotypisierung	4,3% (22/507)	11,4% (5/44)

### **3.1.2. Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Bei den untersuchten Myokardinfarktpatienten betrug die Prävalenz der Faktor V Leiden-Mutation 8,7% (44/507; CI95 0,06 bis 0,12). Von diesen Patienten waren 4,5% (2/44) homozygote und 95,5% (42/44) heterozygote Träger der Mutation. In der Kontrollgruppe betrug die Prävalenz für Faktor V Leiden 3,7% (15/404; CI95 0,02 bis 0,06). Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests bestand zwischen Faktor V Leiden und dem Auftreten eines Myokardinfarkts eine statistisch signifikante Assoziation ( $\chi_1^2 = 9,1530$ ;  $p = 0,0025$ ).

Die Abbildung 3.3. verdeutlicht die statistisch signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt in der vorliegenden Studie verglichen mit der Kontrollgruppe.



**Abbildung 3.3.:** Prävalenz des Faktor V Leiden bei den Myokardinfarktpatienten und der Kontrollgruppe der vorliegenden Studie.

Das rohe *odds-ratio* für Myokardinfarkt bei Faktor V Leiden betrug 2,4645 (CI95 1,35 bis 4,50). Unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Nationalität ergab sich ein

adjustiertes *odds-ratio* für Faktor V Leiden von 2,656 (CI95 1,45 bis 4,88) mit  $p = 0,0016$ , wie in Tabelle 3.2. dargestellt.

**Tabelle 3.2.:** Adjustiertes *Odds-ratio* und p-Wert für Faktor V Leiden bei Myokardinfarktpatienten.

	Adjustiertes <i>odds-ratio</i>		Wald- $\chi_1^2$ -Wert	p-Wert
	Punktschätzer	CI95		
Faktor V Leiden	2,656	1,446 bis 4,878	9,9117	0,0016
Alter	1,010	1,000 bis 1,020	3,6262	0,0569
Männliches Geschlecht	1,613	1,196 bis 2,176	9,8217	0,0017
Deutsche Nationalität	0,836	0,466 bis 1,501	0,3596	0,5487

Von diesen 44 Myokardinfarktpatienten, bei denen ein Faktor V Leiden vorlag, waren 68,2% (30/44) Männer und 31,8% (14/44) Frauen im Alter von 35 bis 84 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 54,5 Jahre, 16 Patienten waren 50 Jahre oder jünger. Von diesen Patienten erlitten 75,0% (33/44) einfache und 25,0% (11/44) multiple Myokardinfarkte. Bei den 44 Patienten wurden insgesamt 59 Myokardinfarktereignisse beobachtet. Von diesen Ereignissen betrafen 30,5% (18/59) die myokardiale Hinterwand und 42,4% (25/59) die Vorderwand des Herzens. Bei 27,1% (16/59) der Myokardinfarkte konnte keine anatomische Region zugeordnet werden. Bei 25,0% (11/44) der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag ein akuter Myokardinfarkt vor, bei 75,0% (33/44) lag dieses Ereignis zum Zeitpunkt der Thrombophiliediagnostik bereits länger als vier Wochen zurück.

Nähere Charakteristika zu den 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, einschließlich Geschlecht, APC-Ratio, Genotyp, Alter beim ersten Myokardinfarkt, Lokalisation des Infarktes, anderer arterieller Ereignisse sowie kardiovaskulärer Risikofaktoren, finden sich in der Tabelle 3.3. (vgl.: Seite 63f).



**Tabelle 3.3.:** Charakteristika der 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten und weiterer vier Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, die wegen zusätzlicher venöser Thrombembolien bei der Auswertung nicht berücksichtigt wurden.

Patientenkürzel	Geschlecht	Modifiziertes APC-Ratio	Genotyp des Faktor V Leiden	Alter beim ersten MI	Lokalisation des MI	Arterielle thrombembolische Ereignisse	Venöse Thrombembolien	Kardiovaskuläre Risikofaktoren
1	männlich	1,59	+/-	39	HWI	nein	nein	-
2	männlich	1,57	+/-	80	VWI	nein	nein	-
3	männlich	1,60	+/-	35	HWI	nein	nein	-
4	weiblich	1,62	+/-	56	VWI	nein	nein	-
5	männlich	1,14	+/+	71	2x VWI	Apoplex, A. carotis-Stenose	nein	-
6	weiblich	1,57	+/-	37	HWI	nein	nein	Hypertlipidämie, arterielle Hypertonie
7	männlich	-	+/-	84	VWI	nein	nein	Hypertlipidämie, arterielle Hypertonie
8	männlich	1,76	+/-	66	VWI, HWI	A. carotis-Stenose	nein	-
9	männlich	1,22	+/-	71	VWI	nein	nein	-
10	männlich	1,51	+/-	42	VWI, HWI	nein	nein	-
11	männlich	1,54	+/-	42	MI, HWI	3x TIA	nein	Nikotinabusus, positive Familienanamnese
12	männlich	1,60	+/-	53	VWI	nein	nein	Nikotinabusus
13	männlich	1,64	+/-	55	HWI	nein	nein	-
14	männlich	1,77	+/-	59	2x MI	nein	nein	-
15	männlich	1,28	+/-	43	HWI	nein	nein	-
16	männlich	1,53	+/-	55	VWI	nein	nein	Arterielle Hypertonie, Nikotinabusus
17	männlich	1,61	+/-	41	2x MI	nein	nein	-
18	weiblich	-	+/-	58	HWI	nein	nein	-
19	männlich	1,63	+/-	53	HWI	Apoplex	nein	-
20	weiblich	1,60	+/-	42	2x MI	nein	nein	-
21	männlich	1,70	+/-	60	MI	Apoplex	nein	arterielle Hypertonie
22	weiblich	1,53	+/-	54	VWI	nein	nein	Hypertlipidämie, arterielle Hypertonie, positive Familienanamnese
23	männlich	-	+/-	63	HWI	Apoplex	nein	-
24	männlich	2,18	+/-	53	3x HWI	nein	nein	-

25	männlich	-	+/-	60	VWI	nein	nein	Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie
26	weiblich	1,23	+/-	47	VWI	nein	nein	-
27	weiblich	1,67	+/-	74	VWI	nein	nein	-
28	männlich	1,62	+/-	35	VWI, HWI	nein	nein	-
29	männlich	1,62	+/-	55	VWI	nein	nein	Nikotinabusus
30	weiblich	1,23	+/-	73	VWI	nein	nein	-
31	weiblich	1,74	+/-	39	VWI, 2x HWI	TIA	nein	positive Familienanamnese
32	weiblich	1,63	+/-	49	MI	Apoplex	nein	-
33	weiblich	1,70	+/-	43	HWI	nein	nein	Nikotinabusus
34	männlich	1,60	+/-	58	VWI	nein	nein	Hyperlipidämie
35	männlich	-	+/-	44	MI	nein	nein	-
36	männlich	1,10	+/+	55	VWI	Synkope	nein	-
37	männlich	1,63	+/-	60	VWI	nein	nein	-
38	weiblich	1,70	+/-	64	VWI	nein	nein	-
39	männlich	1,29	+/-	42	VWI	nein	nein	-
40	weiblich	1,28	+/-	58	MI	Apoplex	nein	-
41	männlich	1,30	+/-	41	VWI, HWI, 2x MI	nein	nein	-
42	männlich	1,63	+/-	58	3x MI	nein	nein	Hyperlipidämie
43	männlich	1,60	+/-	70	MI	nein	nein	Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie
44	weiblich	1,60	+/-	61	VWI	nein	nein	-
1	männlich	1,30	+/-	66	HWI	nein	ja	-
2	weiblich	1,71	+/-	60	HWI	nein	ja	arterielle Hypertonie
3	weiblich	1,58	+/-	76	MI	nein	ja	Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie
4	weiblich	1,74	+/-	52	VWI, HWI	Eklampsie	ja	Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus, positive Familienanamnese

Legende:

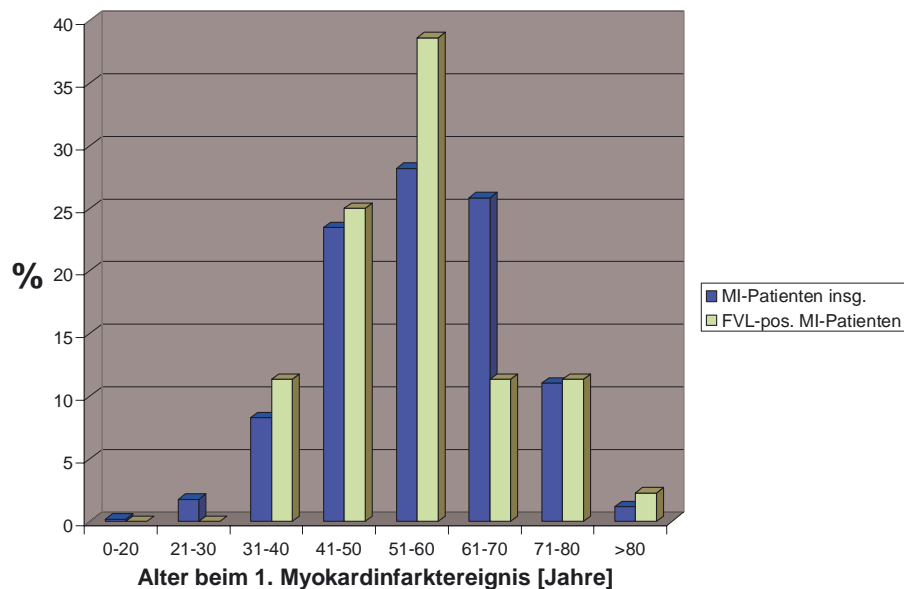
MI Myokardinfarkt  
HWI Hinterwandinfarkt  
VWI Vorderwandinfarkt

A. TIA  
-

Arteria  
transitorische ischämische Attacke  
keine Angaben

### **3.1.3. Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt unter Berücksichtigung des Alters beim ersten Myokardinfarkt**

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten 56,1 Jahre, bei den 44 Patienten mit der Faktor V Leiden-Mutation 54,5 Jahre. Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests bestand zwischen Faktor V Leiden und dem zeitlichen Auftreten eines Myokardinfarkts keine statistisch signifikante Assoziation ( $\chi^2 = 7,8031$ ;  $p = 0,3503$ ). In der Abbildung 3.4. ist das Alter beim ersten Myokardinfarkt bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten im Vergleich zum Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten leicht zu jüngeren Altersgruppen verschoben.



**Abbildung 3.4.:** Die prozentuale Altersverteilung für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

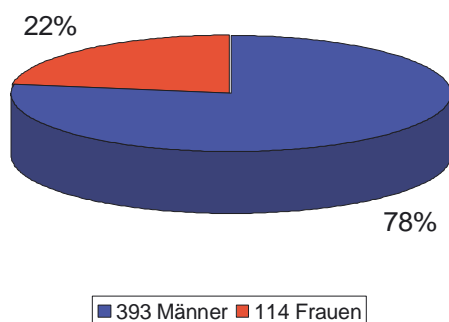
Unter Berücksichtigung von Faktor V Leiden, Geschlecht und Nationalität ergab sich ein adjustiertes *odds-ratio* für das Alter, d.h. ein Risikoanstieg für Myokardinfarkt pro Lebensjahr, von 1,010 (CI95 1,00 bis 1,02) mit  $p = 0,0569$ , wie in Tabelle 3.2. dargestellt.

### **3.1.4. Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt unter Berücksichtigung des Geschlechts**

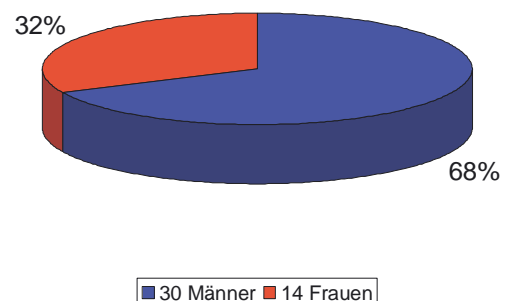
Im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten waren 77,5% (393/507; CI95 0,74 bis 0,81) Männer und 22,5% (114/507; CI95 0,19 bis 0,26) Frauen, bei den 44 Faktor V Leiden-positiven Patienten waren 68,2% (30/44; CI95 0,52 bis 0,81) Männer und 31,8% (14/44; CI95 0,19 bis 0,48) Frauen. Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests bestand zwischen Faktor V Leiden und

dem Geschlecht des Myokardinfarktpatienten keine statistisch signifikante Assoziation ( $\chi_1^2 = 2,4079$ ;  $p = 0,1207$ ). Allerdings ist die Fallzahl der Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden zu gering, um allgemein gültige Aussagen treffen zu können. Die Abbildung 3.5. unterstreicht die Beobachtung, daß im Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten Frauen mit einem Anteil von 31,8% tendenziell, jedoch nicht statistisch signifikant häufiger vertreten sind als im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten mit 22,5%.

**Geschlechtsverteilung der MI-Patienten insg.**



**Geschlechtsverteilung der FVL-pos. MI-Patienten**

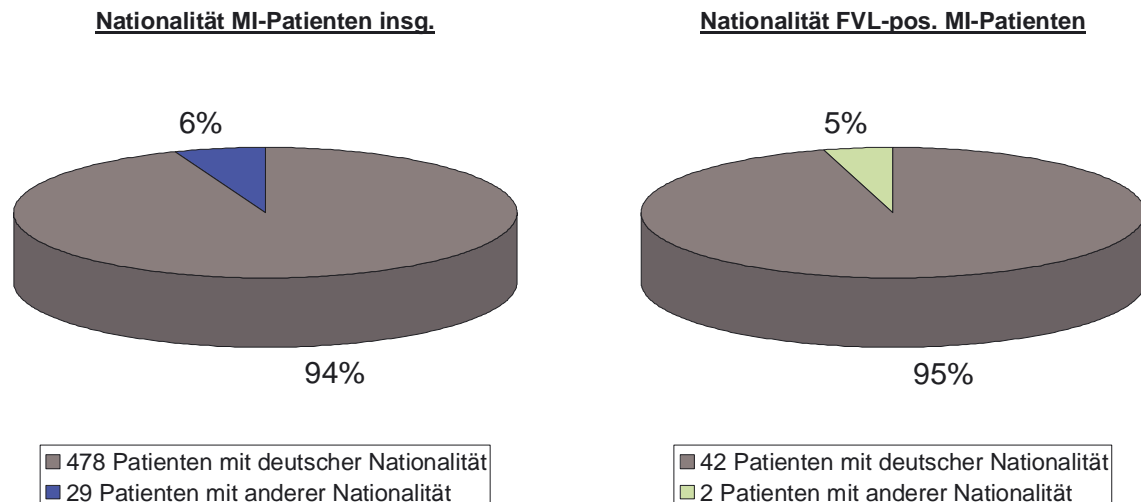


**Abbildung 3.5.:** Die prozentuale Aufteilung des Geschlechts für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

Unter Berücksichtigung von Faktor V Leiden, Alter und Nationalität ergab sich ein adjustiertes *odds-ratio* für das männliche Geschlecht von 1,613 (CI95 1,20 bis 2,18) mit  $p = 0,0017$ , wie in Tabelle 3.2. dargestellt.

### **3.1.5. Prävalenz des Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt unter Berücksichtigung der ethnischen Zugehörigkeit**

Bei bekannter unterschiedlicher Prävalenz für Faktor V Leiden in den einzelnen ethnischen Gruppen wurde eine nachgeschaltete Subgruppenanalyse durchgeführt, hierbei diente ein deutscher Name (Vor- bzw. Nachname) als Proxy-Variable für deutsche Nationalität. Wie in Abbildung 3.6. dargestellt hatten im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten 5,7% (29/507) und 4,5% (2/44) der 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten eine andere Nationalität. Im Kollektiv der 404 Kontrollpersonen hatten 5,4% (22/404) keine deutsche Nationalität, darunter kein Mutationsträger.



**Abbildung 3.6.:** Die prozentuale Aufteilung der Nationalität für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

Somit resultierte im deutschen Kollektiv der 478 Myokardinfarktpatienten eine Prävalenz für Faktor V Leiden von 8,8% (42/478; CI95 0,06 bis 0,12) verglichen mit der Prävalenz im Gesamtpatientenkollektiv von 8,7% (44/507; CI95 0,06 bis 0,12). Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests fand sich keine statistisch signifikant unterschiedliche Faktor V Leiden-Prävalenz im Gesamtpatientenkollektiv und im deutschen Kollektiv der Myokardinfarktpatienten ( $\chi_1^2 = 0,0036$ ;  $p = 0,9521$ ). Im deutschen Kollektiv der 382 Kontrollpersonen betrug die Mutationsprävalenz 3,9% (15/382; CI95 0,02 bis 0,06) verglichen mit der Prävalenz im Gesamtkontrollkollektiv von 3,7% (15/404; CI95 0,02 bis 0,06). Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests fand sich keine statistisch signifikant unterschiedliche Faktor V Leiden-Prävalenz im Gesamtkollektiv und im deutschen Kollektiv der Kontrollpersonen ( $\chi_1^2 = 0,0245$ ;  $p = 0,8757$ ). Zwischen Faktor V Leiden und dem Auftreten eines Myokardinfarkts bei einem deutschen Patienten bestand jedoch unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests eine statistisch signifikante Assoziation ( $\chi_1^2 = 8,1032$ ;  $p = 0,0044$ ).

Unter Berücksichtigung von Faktor V Leiden, Alter und Geschlecht ergab sich ein adjustiertes *odds-ratio* für die deutsche Nationalität von 0,836 (CI95 0,47 bis 1,50) mit  $p = 0,5487$ , wie in Tabelle 3.2. dargestellt.

## **3.2. Weitere Gerinnungsparameter bei Patienten mit Myokardinfarkt**

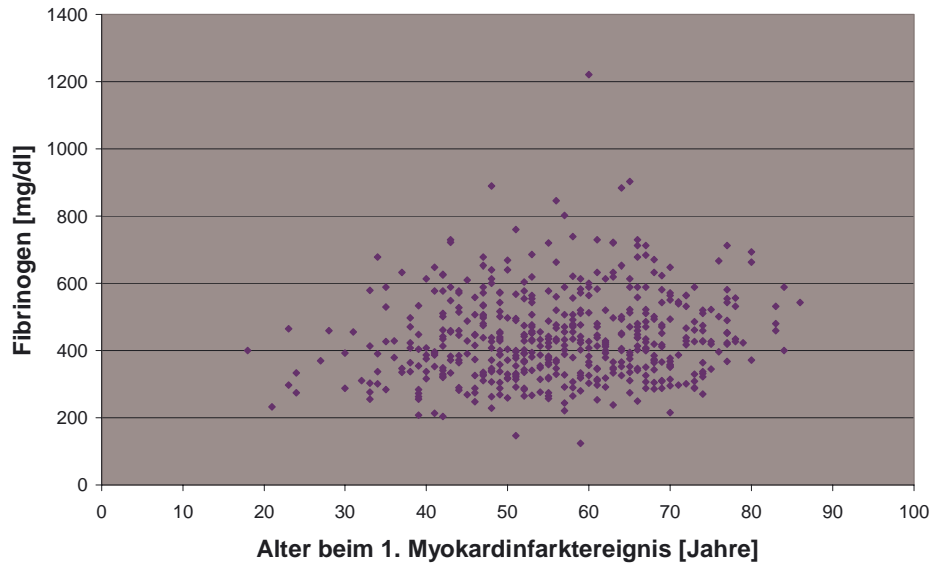
Beim Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten konnten durch die große Fallzahl statistisch aussagekräftig Mittelwert und Standardabweichung bestimmt werden. Da das Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten kleiner ist, resultieren hierbei arithmetische Mittelwerte mit teilweise großer Standardabweichung.

### **3.2.1. Faktor I bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Der Referenzbereich des Faktor I (syn.: Fibrinogen) liegt zwischen 200 und 400mg/dl. Der Mittelwert betrug im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten 439,5mg/dl  $\pm$  130,1mg/dl (123,0mg/dl – 1222,0mg/dl). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Fibrinogen betrug bei den 118 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten, 479,6mg/dl  $\pm$  136,0mg/dl (123,0mg/dl – 883,0mg/dl). Bei den 389 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag, betrug der Mittelwert 427,3mg/dl  $\pm$  126,1mg/dl (203,0mg/dl – 1222,0mg/dl). Da sich die jeweiligen Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen in den Kollektiven der Patienten mit frischem und alten Myokardinfarkt stark überschneiden, wurde im folgenden lediglich das Gesamtkollektiv berücksichtigt.

#### **3.2.1.1. Faktor I in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt**

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten 56,1 Jahre. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient betrug +0,13, unter Verwendung eines t-Tests zeigte sich eine kleine, jedoch statistisch signifikante Assoziation ( $p = 0,0034$ ) zwischen dem Fibrinogenwert und dem Alter beim ersten Myokardinfarktereignis, was auch durch Abbildung 3.7. bestätigt wird.



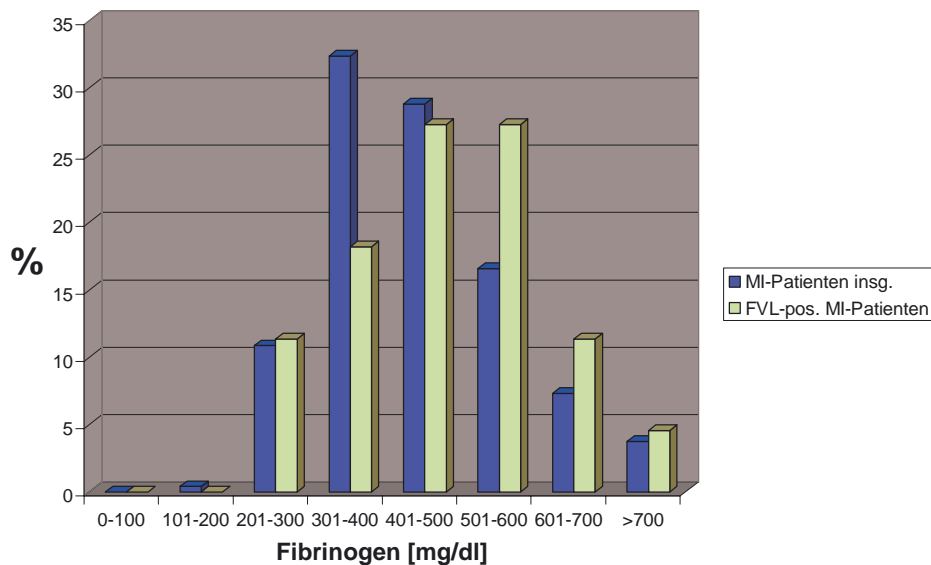
**Abbildung 3.7.:** Die Korrelation zwischen dem Alter beim ersten Myokardinfarkt und den Fibrinogenwerten.

### 3.2.1.2. Faktor I in Abhängigkeit von Faktor V Leiden

Der Mittelwert des Fibrinogens betrug bei den 44 Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden  $486,1\text{mg/dl} \pm 165,4\text{mg/dl}$  ( $237,0\text{mg/dl} - 1222,0\text{mg/dl}$ ). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Fibrinogen betrug bei den 11 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $463,3\text{mg/dl} \pm 111,4\text{mg/dl}$  ( $315,0\text{mg/dl} - 633,0\text{mg/dl}$ ) und bei den 33 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag,  $493,7\text{mg/dl} \pm 180,7\text{mg/dl}$  ( $237,0\text{mg/dl} - 1222,0\text{mg/dl}$ ).

Bei 70,5% (31/44) Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag eine Hyperfibrinogenämie vor. 54,6% (6/11) der Patienten mit frischem und 75,8% (25/33) der Patienten mit länger zurückliegendem Myokardinfarkt zeigten einen über die Norm erhöhten Fibrinogenspiegel. Die Abbildung 3.8. zeigt, daß die Fibrinogenwerte bei den Myokardinfarktpatienten im Vergleich zum Referenzwert höher liegen. Bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten ist diese Verlagerung zu höheren Fibrinogenwerten noch stärker ausgeprägt.





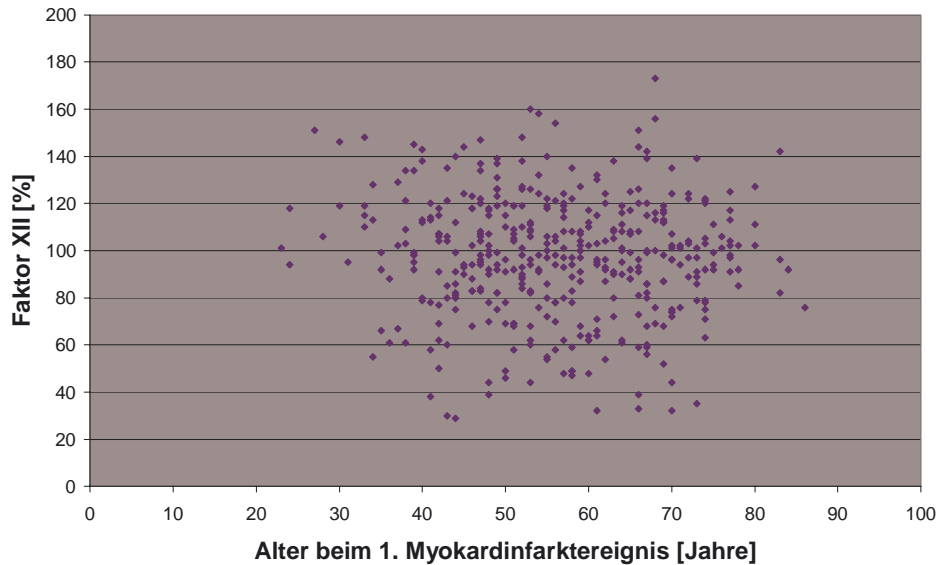
**Abbildung 3.8.:** Die prozentuale Verteilung der Fibrinogenwerte für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.2.2. Faktor XII bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Der Referenzbereich des Faktor XII (syn.: Hageman-Faktor) liegt zwischen 70 und 130%. Im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten wurde bei 423 Personen der Faktor XII untersucht. Der Mittelwert betrug  $97,8\% \pm 25,3\%$  (29,0% - 173,0%). Bei den 31 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, bei denen Faktor XII untersucht wurde, betrug der Mittelwert  $98,4\% \pm 26,9\%$  (29,0% - 145,0%).

#### **3.2.2.1. Faktor XII in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt**

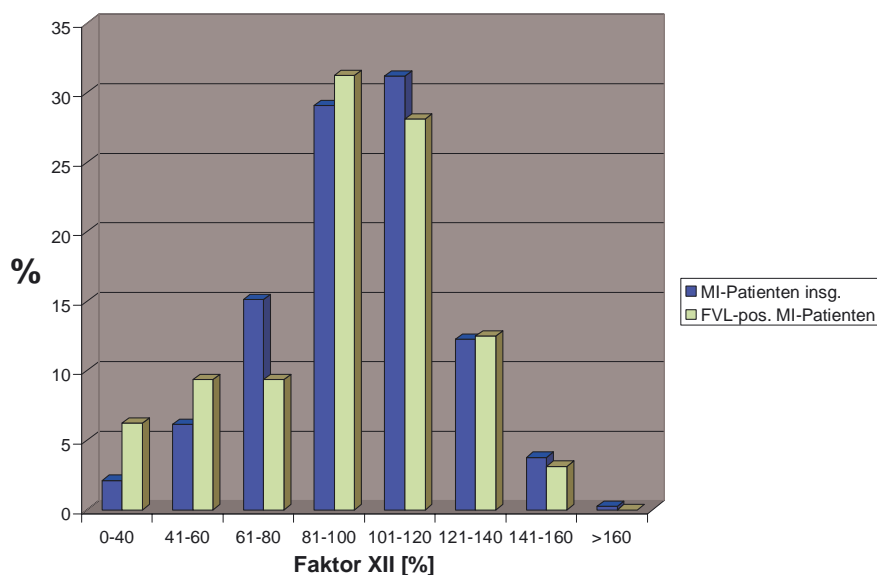
Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Kollektiv der 423 Myokardinfarktpatienten, bei denen Faktor XII untersucht wurde, 56,2 Jahre. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient betrug  $-0,07$ , unter Verwendung eines t-Tests zeigte sich keine statistisch signifikante Assoziation ( $p = 0,1507$ ) zwischen dem Faktor XII-Wert und dem Alter beim ersten Myokardinfarktereignis, was auch durch Abbildung 3.9. bestätigt wird.



**Abbildung 3.9.:** Die Korrelation zwischen dem Alter beim ersten Myokardinfarkt und den Faktor XII-Werten.

### 3.2.2.2. Faktor XII in Abhängigkeit von Faktor V Leiden

Bei 12,9% (4/31) der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lagen reduzierte Faktor XII-Werte vor. Bei drei Patienten fand sich eine als pathologisch definierte Verminderung der Faktor XII-Aktivität auf Werte <52%. Die Abbildung 3.10. zeigt Faktor XII-Werte, die bei den Myokardinfarktpatienten im Referenzbereich liegen. Bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten zeigt sich innerhalb des Referenzbereichs eine Verlagerung zu höheren Faktor XII-Werten.



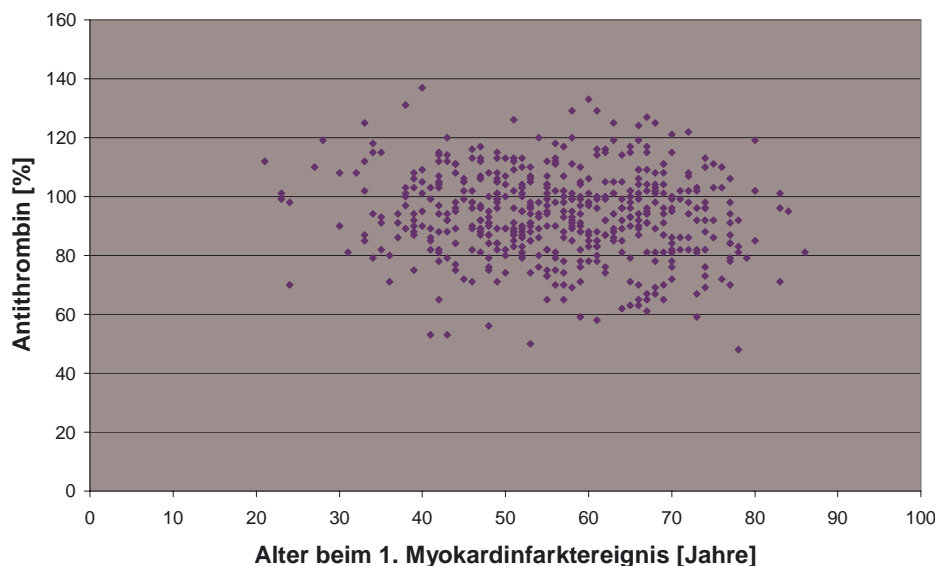
**Abbildung 3.10.:** Die prozentuale Verteilung der Faktor XII-Werte für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.2.3. Antithrombin bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Der Referenzbereich des Antithrombins liegt zwischen 80 und 120%. Im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten wurde bei 501 Personen Antithrombin untersucht. Der Mittelwert betrug  $94,0\% \pm 14,6\%$  ( $48,0\% - 137,0\%$ ). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Antithrombin betrug bei den 117 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $91,6\% \pm 15,6\%$  ( $48,0\% - 126,0\%$ ). Bei den 384 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag, betrug der Mittelwert  $94,7\% \pm 14,3\%$  ( $53,0\% - 137,0\%$ ). Da sich die jeweiligen Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen in den Kollektiven der Patienten mit frischem und alten Myokardinfarkt stark überschneiden, wurde im folgenden lediglich das Gesamtkollektiv berücksichtigt.

#### **3.2.3.1. Antithrombin in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt**

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Kollektiv der 501 Myokardinfarktpatienten, bei denen Antithrombin untersucht wurde, 56,1 Jahre. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient betrug  $-0,12$ , unter Verwendung eines t-Tests zeigte sich eine kleine, jedoch statistisch signifikante Assoziation ( $p = 0,0072$ ) zwischen dem Antithrombinwert und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ereignis, was auch durch Abbildung 3.11. bestätigt wird.

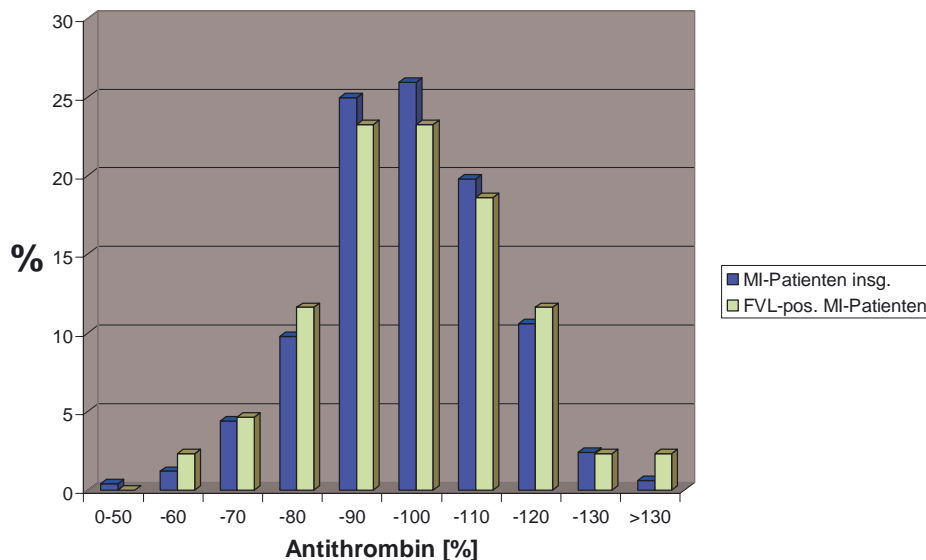


**Abbildung 3.11.:** Die Korrelation zwischen dem Alter beim ersten Myokardinfarkt und den Antithrombin-Werten.

### 3.2.3.2. Antithrombin in Abhängigkeit von Faktor V Leiden

Der Mittelwert betrug bei den 43 Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden, bei denen Antithrombin untersucht wurde,  $94,0\% \pm 10,7\%$  ( $53,0\% - 133,0\%$ ). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Antithrombin betrug bei den 10 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $92,5\% \pm 5,5\%$  ( $80,0\% - 101,0\%$ ). Bei den 33 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag, betrug der Mittelwert  $94,4\% \pm 18,9\%$  ( $53,0\% - 133,0\%$ ).

Bei 16,3% (7/43) Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag ein Antithrombin-Mangel vor. 0,0% (0/10) der Patienten mit frischem und 21,2% (7/33) der Patienten mit länger zurückliegendem Myokardinfarkt zeigten einen unter die Norm verminderten Antithrombin-Wert. Bei vier dieser Patienten führte jedoch nachweislich eine antikoagulatorische Therapie zu einem Antithrombin-Mangel. Die Abbildung 3.12. zeigt Antithrombin-Werte, die bei den Myokardinfarktpatienten im Referenzbereich liegen.



**Abbildung 3.12.:** Die prozentuale Verteilung der Antithrombin-Werte für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

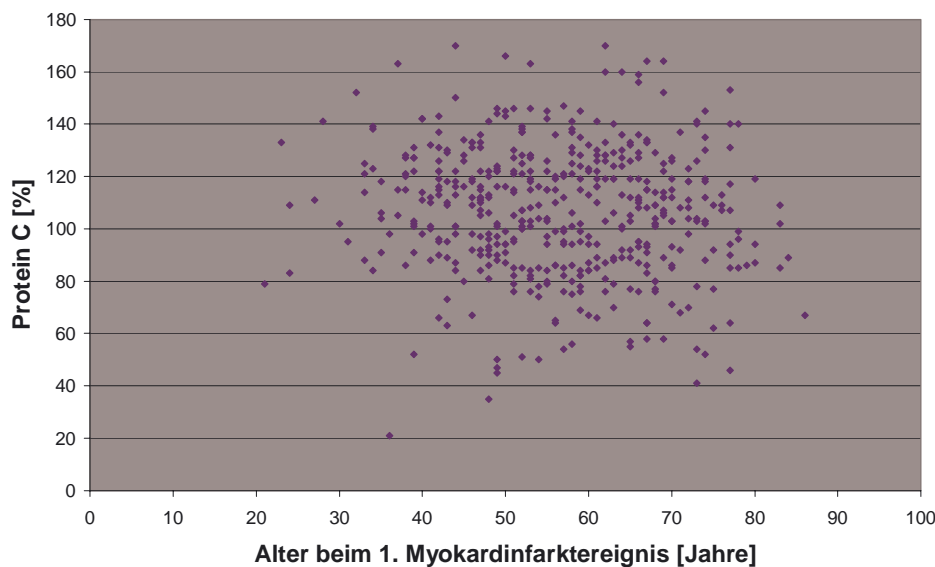
### 3.2.4. Protein C bei Patienten mit Myokardinfarkt

Der Referenzbereich des Protein C liegt zwischen 70 und 140%. Im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten wurde bei 476 Personen Protein C untersucht. Der Mittelwert betrug  $107,2\% \pm 24,4\%$  ( $21,0\% - 172,0\%$ ). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Protein C betrug bei den 117 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $109,5\% \pm 22,6\%$  ( $41,0\% - 170,0\%$ ). Bei den 359 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag, betrug der Mittelwert  $106,4\% \pm 24,9\%$  ( $21,0\% - 172,0\%$ ). Da sich die jeweiligen Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen in den Kollektiven der Patienten mit frischem und alten

Myokardinfarkt stark überschritten, wurde im folgenden lediglich das Gesamtkollektiv berücksichtigt.

### 3.2.4.1. Protein C in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Kollektiv der 476 Myokardinfarktpatienten, bei denen Protein C untersucht wurde, 56,3 Jahre. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient betrug  $-0,09$ , unter Verwendung eines t-Tests zeigte sich eine kleine, jedoch statistisch signifikante Assoziation ( $p = 0,0497$ ) zwischen dem Protein C-Wert und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ereignis, was auch durch Abbildung 3.13. bestätigt wird.



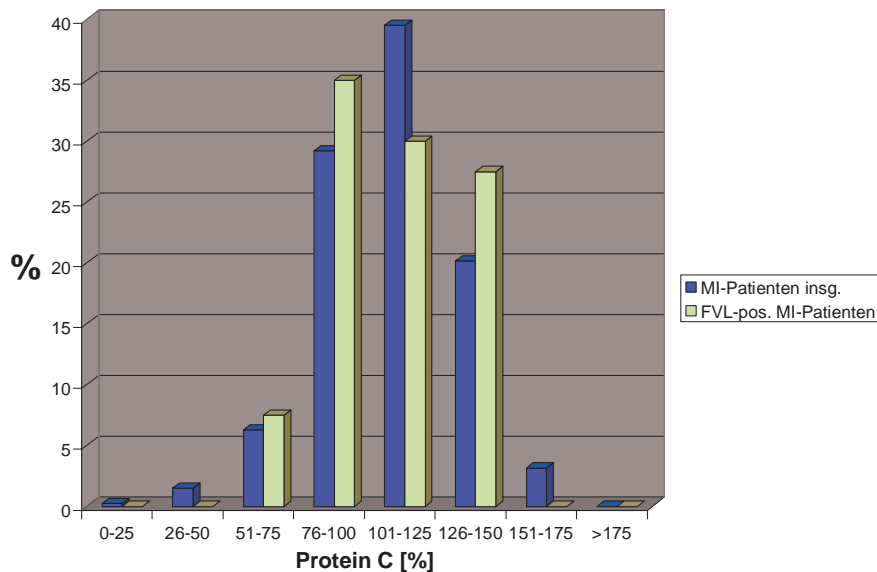
**Abbildung 3.13.:** Die Korrelation zwischen dem Alter beim ersten Myokardinfarkt und den Protein C-Werten.

### 3.2.4.2. Protein C in Abhängigkeit von Faktor V Leiden

Der Mittelwert betrug bei den 40 Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden, bei denen Protein C untersucht wurde,  $106,7\% \pm 22,3\%$  ( $65,0\% - 143,0\%$ ). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Protein C betrug bei den 10 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $106,7\% \pm 12,8\%$  ( $91,0\% - 127,0\%$ ) und bei den 30 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag,  $106,7\% \pm 24,8\%$  ( $65,0\% - 143,0\%$ ).

Bei 2,5% (1/40) Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag ein erniedrigter Wert für Protein C vor. 0,0% (0/10) der Patienten mit frischem und 3,3% (1/30) der Patienten mit länger zurückliegendem Myokardinfarkt zeigten einen unter die Norm verminderten Protein C-Wert. Bei diesem Patienten beruhte diese Erniedrigung nachweislich auf einer zur Zeit der Thrombophiliediagnostik durchgeführten Therapie mit oralen Antikoagulantien, so daß letztendlich bei keinem Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten ein Protein C-

Mangel vorlag. Die Abbildung 3.14. zeigt Protein C-Werte, die bei den Myokardinfarktpatienten im Referenzbereich liegen.



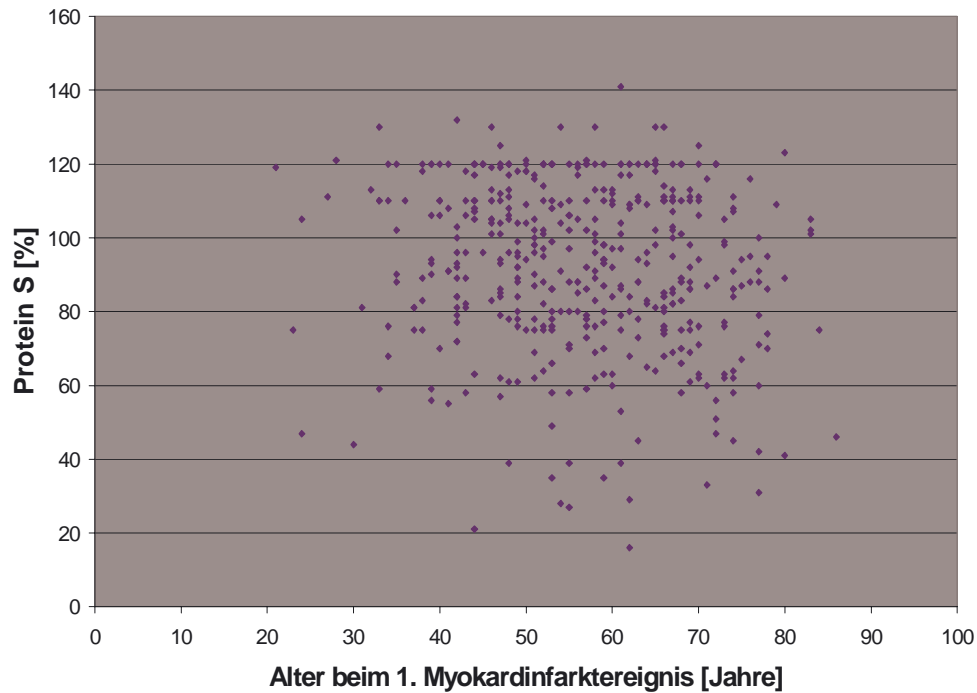
**Abbildung 3.14.:** Die prozentuale Verteilung der Protein C-Werte für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.2.5. Protein S bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Der Referenzbereich des Protein S liegt zwischen 50 und 120% für Frauen und zwischen 65 und 145% für Männer. Im Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten wurde bei 450 Personen Protein S untersucht. Der Mittelwert betrug  $92,9\% \pm 22,7\%$  (16,0% - 141,0%). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Protein S betrug bei den 115 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $92,9\% \pm 21,8\%$  (39,0% - 121,0%). Bei den 335 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag, betrug der Mittelwert  $92,9\% \pm 23,0\%$  (16,0% - 141,0%). Da sich die jeweiligen Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen in den Kollektiven der Patienten mit frischem und alten Myokardinfarkt stark überschneiden, wurde im folgenden lediglich das Gesamtkollektiv berücksichtigt.

#### **3.2.5.1. Protein S in Abhängigkeit vom Alter beim ersten Myokardinfarkt**

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Kollektiv der 450 Myokardinfarktpatienten, bei denen Protein S untersucht wurde, 56,3 Jahre. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient betrug  $-0,13$ , unter Verwendung eines t-Tests zeigte sich eine kleine, jedoch statistisch signifikante Assoziation ( $p = 0,0057$ ) zwischen dem Protein S-Wert und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ereignis, was auch durch Abbildung 3.15. bestätigt wird.



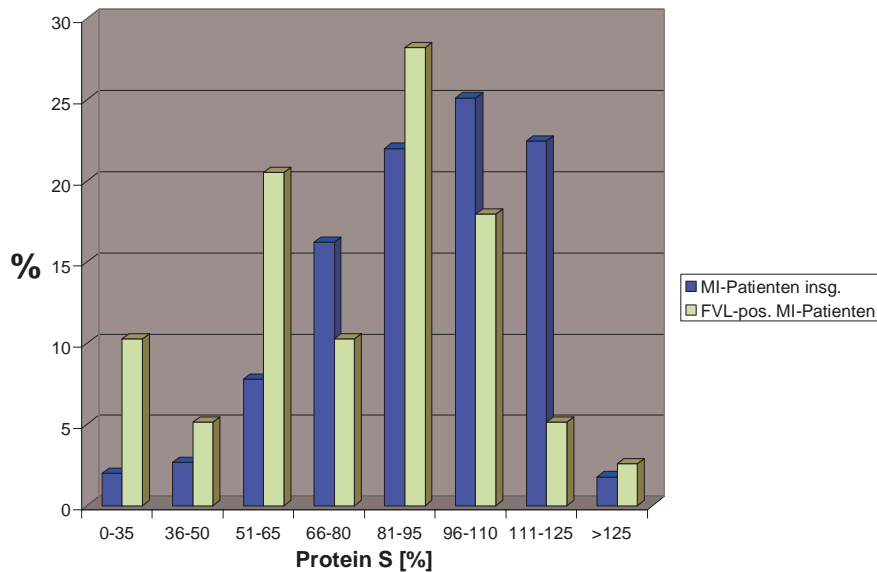
**Abbildung 3.15.:** Die Korrelation zwischen dem Alter beim ersten Myokardinfarkt und den Protein S-Werten.

### 3.2.5.2. Protein S in Abhängigkeit von Faktor V Leiden

Der Mittelwert betrug bei den 39 Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden, bei denen Protein S untersucht wurde,  $77,7\% \pm 26,5\%$  (27,0% - 132,0%). Der Mittelwert des Akut-Phase-Proteins Protein S betrug bei den 10 Patienten, die akut einen Myokardinfarkt erlitten hatten,  $78,4\% \pm 24,4\%$  (39,0% - 118,0%) und bei den 29 Patienten, deren Myokardinfarkt bereits länger zurücklag,  $77,4\% \pm 27,6\%$  (27,0% - 132,0%).

Bei 28,2% (11/39) Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag ein Protein S-Mangel vor. 33,3% (9/27) der Männer, davon drei mit frischem und sechs mit länger zurückliegendem Myokardinfarkt, zeigten einen unter die Norm verminderten Protein S-Wert, ebenso wie 16,7% (2/12) der Frauen, davon eine mit frischem und eine mit länger zurückliegendem Myokardinfarkt. Die Abbildung 3.16. zeigt Protein S-Werte, die bei den Myokardinfarktpatienten im Referenzbereich liegen. Eine Verlagerung zu niedrigeren Protein S-Werten ist bei etwa 30% der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten zu erkennen.





**Abbildung 3.16.:** Die prozentuale Verteilung der Protein S-Werte für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### 3.3. Kardiovaskuläre Risikofaktoren bei Patienten mit Myokardinfarkt in Abhängigkeit von der Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden

Bei 33,1% (168/507) der Myokardinfarktpatienten konnten kardiovaskuläre Risikofaktoren erfaßt werden, ebenso bei 31,8% (14/44) der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten (Tabelle 3.4.). Es bestand keine statistische Signifikanz zwischen der Prävalenz eines kardiovaskulären Risikofaktors im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten verglichen mit den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

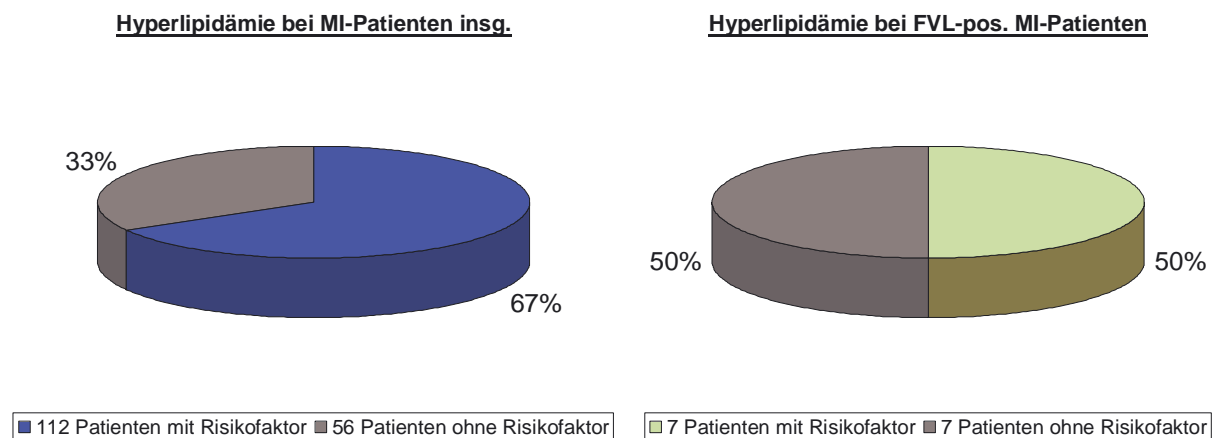
**Tabelle 3.4.:** Statistische Parameter zu kardiovaskulären Risikofaktoren im Gesamtkollektiv und bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

	168 Patienten mit Myokardinfarkt	14 Faktor V Leiden-positiven Patienten mit Myokardinfarkt	$\chi_1^2$ -Wert	p-Wert
Hyperlipidämie	66,7% (112/168)	50,0% (7/14)	1,9091	0,1671
Arterielle Hypertonie	61,9% (104/168)	50,0% (7/14)	0,9178	0,3380
Nikotinabusus	47,0% (79/168)	35,7% (5/14)	0,7842	0,3759
Positive Familienanamnese	29,8% (50/168)	21,4% (3/14)	0,5074	0,4763
Keine Risikofaktoren	3,0% (5/168)	0,0% (0/14)	0,4685	0,4937

Da das Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten zu klein ist, um statistische Aussagen treffen zu können, wurden hier im folgenden lediglich Tendenzen bezüglich der Häufigkeit der einzelnen Risikofaktoren aufgezeigt.

### **3.3.1. Hyperlipidämie bei Patienten mit Myokardinfarkt**

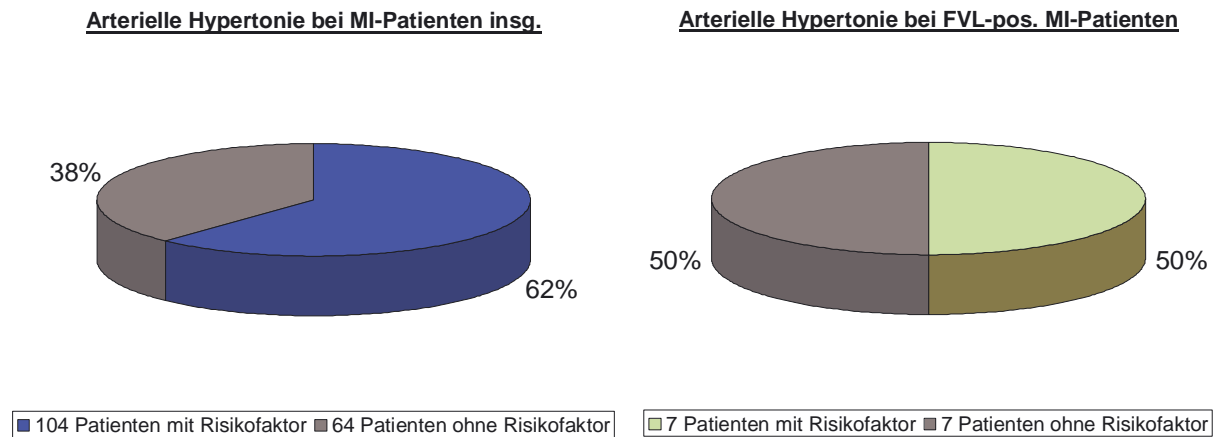
Bei 66,7% (112/168; CI95 0,59 bis 0,74) der Personen aus dem Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten, bei denen kardiovaskuläre Risikofaktoren erfaßt werden konnten, lag eine Hyperlipidämie vor. Diese war auch bei 50,0% (7/14; CI95 0,23 bis 0,77) der Personen der 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, bei denen die genannten Risikofaktoren erfaßt wurden, vorhanden. Die Abbildung 3.17. zeigt, daß im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten mit 66,7% tendenziell häufiger ein erhöhter Lipidspiegel vorhanden war als bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten mit 50,0%.



**Abbildung 3.17.:** Die prozentualer Häufigkeit einer Hyperlipidämie für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.3.2. Arterielle Hypertonie bei Patienten mit Myokardinfarkt**

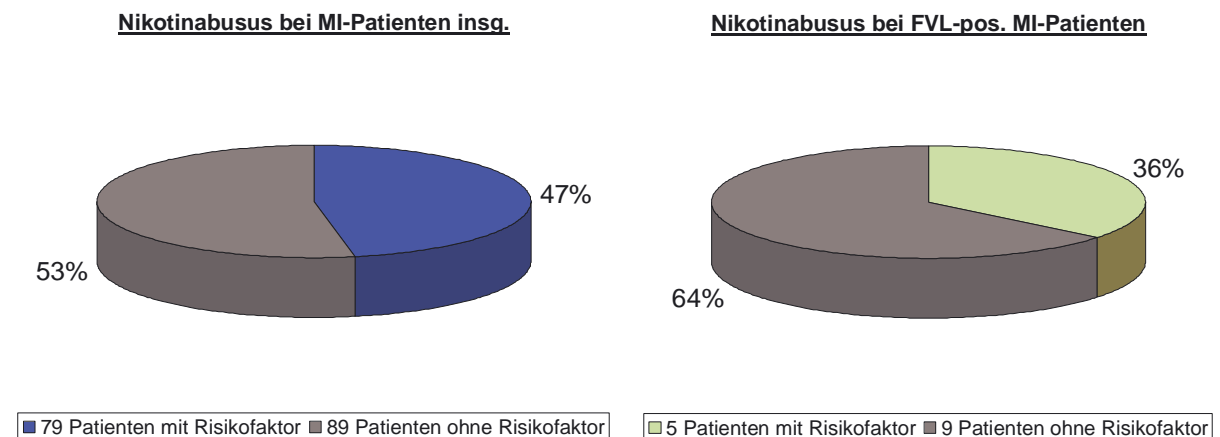
Bei 61,9% (104/168; CI95 0,54 bis 0,69) der Personen aus dem Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten, bei denen kardiovaskuläre Risikofaktoren erfaßt werden konnten, lag eine arterielle Hypertonie vor. Diese war auch bei 50,0% (7/14; CI95 0,23 bis 0,77) der Personen der 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, bei denen die genannten Risikofaktoren erfaßt wurden, vorhanden. Die Abbildung 3.18. zeigt, daß im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten mit 61,9% tendenziell häufiger ein erhöhter arterieller Blutdruck vorhanden war als bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten mit 50,0%.



**Abbildung 3.18.:** Die prozentualer Häufigkeit einer arteriellen Hypertonie für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.3.3. Nikotinabusus bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Bei 47,0% (79/168; CI95 0,39 bis 0,55) der Personen aus dem Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten, bei denen kardiovaskuläre Risikofaktoren erfaßt werden konnten, lag ein Nikotinabusus vor. Dieser war auch bei 35,7% (5/14; CI95 0,13 bis 0,65) der Personen der 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, bei denen die genannten Risikofaktoren erfaßt wurden, vorhanden. Die Abbildung 3.19. zeigt, daß im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten mit 47,0% tendenziell häufiger ein Nikotinabusus vorhanden war als bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten mit 35,7%.

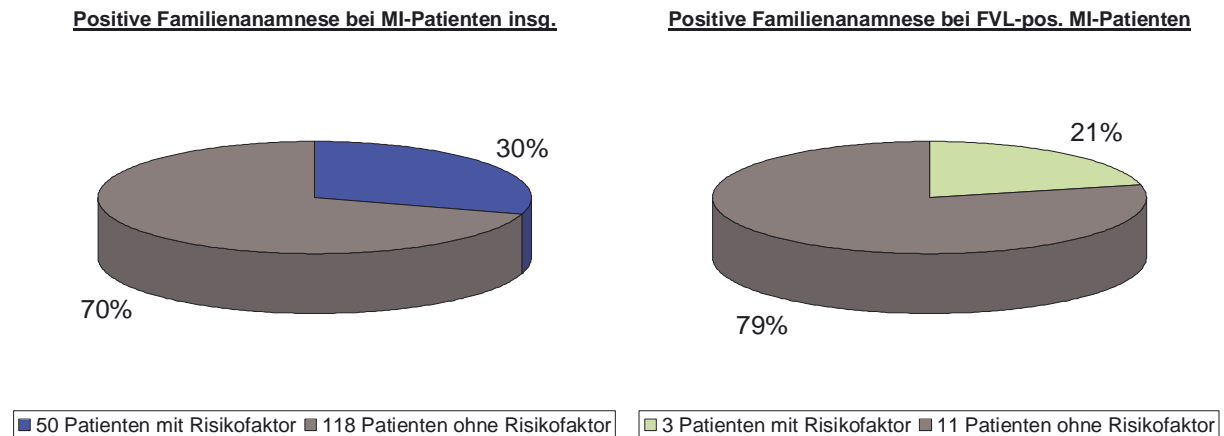


**Abbildung 3.19.:** Die prozentualer Häufigkeit eines Nikotinabusus für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.3.4. Positive Familienanamnese bei Patienten mit Myokardinfarkt**

Bei 29,8% (50/168; CI95 0,23 bis 0,37) der Personen aus dem Gesamtkollektiv der 507 Myokardinfarktpatienten, bei denen kardiovaskuläre Risikofaktoren erfaßt werden konnten, lag eine positive Familienanamnese vor. Diese war auch bei 21,4% (3/14; CI95 0,05 bis 0,51)

der Personen der 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten, bei denen die genannten Risikofaktoren erfaßt wurden, vorhanden. Die Abbildung 3.20. zeigt, daß im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten mit 29,8% tendenziell etwas häufiger eine positive Familienanamnese vorhanden war als bei den Faktor V Leiden- positiven Myokardinfarktpatienten mit 21,4%.



**Abbildung 3.20.:** Die prozentuale Häufigkeit einer positiven Familienanamnese für das Gesamtkollektiv und die Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten.

### **3.4. Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und weitere arterielle Thrombembolien in der vorliegenden Studie**

Transitorische ischämische Attacke, zerebrovaskulärer Insult und periphere arterielle Verschlusskrankheit zählen zu den arteriellen Thrombembolien, die neben Myokardinfarkt möglicherweise mit APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden assoziiert sind. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde das Augenmerk auf Myokardinfarkt gelegt. Es fanden sich jedoch auch 33 Mutationsträger mit anderen arteriellen Thrombembolien, die in Tabelle 3.5. (vgl.: Seite 81f) kurz charakterisiert wurden. Inwieweit die aufgetretenen Schlaganfälle auf thrombembolischen Ereignissen oder Massenblutungen beruhten, wurde allerdings nicht näher untersucht.

**Tabelle 3.5.:** Charakteristika der 33 Faktor V Leiden-positiven Patienten mit sonstigen arteriellen Ereignissen und zusätzlicher venöser Thrombophilie.

Patientenkürzel	Geschlecht	Modifiziertes APC-Ratio	Genotyp des Faktor V Leiden	Arterielle thrombotische Ereignisse	Venöse Thrombembolien	Kardiovaskuläre Risikofaktoren
1	männlich	1,66	+/-	<i>A. poplitea interna</i> -Okklusion	nein	-
2	weiblich	1,94	+/-	TIA mit <i>N. occulomotorius</i> -Störung	nein	-
3	weiblich	1,69	+/-	familiäre hemiplegische Migräne	nein	-
4	weiblich	1,60	+/-	rez. Apoplex	nein	arterielle Hypertonie
5	weiblich	-	+/-	TIA mit <i>N. occulomotorius</i> -Parese	nein	-
6	weiblich	1,84	+/-	Leber-, Milz-, Niereninfarkt	nein	-
7	männlich	1,70	+/-	Apoplex	nein	-
8	männlich	1,44	+/-	Apoplex, <i>A. carotis interna</i> -Stenose	nein	arterielle Hypertonie
9	weiblich	1,57	+/-	pAVK, <i>A. basilaris</i> -Stenose	nein	-
10	weiblich	-	+/-	Apoplex	nein	-
11	männlich	1,42	+/-	PRIND	nein	-
12	männlich	1,55	+/-	KHK	nein	arterielle Hypertonie
13	weiblich	1,58	+/-	Apoplex	nein	-
14	weiblich	-	+/-	Apoplex	nein	-
15	männlich	1,57	+/-	Infrarenaler Aortenverschluss, thrombotischer Aortenverschluss bis <i>Truncus coeliacus</i> , thrombotische Verlegung der Nierenarterien	nein	-
16	männlich	1,71	+/-	TIA, Apoplex, <i>A. vertebralis</i> -Okklusion	nein	nein
17	weiblich	1,53	+/-	Apoplex	nein	-
18	männlich	1,55	+/-	Apoplex, <i>A. basilaris</i> -Thrombose	nein	Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie
19	männlich	1,74	+/-	embolischer Apoplex	nein	-
20	männlich	1,61	+/-	Apoplex, <i>A. vertebralis</i> -Ruptur	nein	-
21	weiblich	1,52	+/-	<i>A. spinalis posterior</i> -Syndrom	nein	nein
22	männlich	1,53	+/-	ischämischer Apoplex	nein	-

23	männlich	1,59	+/-	TIA, <i>A. carotis interna</i> -Stenose	nein	-
24	männlich	1,60	+/-	Embolisation in eine Koronar- und eine Digitalarterie	nein	Hyperlipidämie
25	männlich	-	+/-	TIA	nein	-
26	weiblich	-	+/-	familiäre hemiplegische Migräne	nein	arterielle Hypertonie
27	männlich	1,60	+/-	<i>A. femoralis</i> -Stenose	ja	-
28	männlich	1,67	+/-	Apoplex	ja	-
29	weiblich	1,58	+/-	rez. TIA, Apoplex	ja	-
30	männlich	1,60	+/-	Apoplex	ja	-
31	männlich	1,64	+/-	KHK, organisierter Thrombus im linken Ventrikel	ja	Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus
32	männlich	1,26	+/-	Bauchaortenaneurysma	ja	-
33	weiblich	1,16	+/+	Purpura fulminans	ja	-

Legende:

*A.* Arteria

*N.* Nervus

TIA transitorische ischämische Attacke

PRIND prolongiertes reversibles ischämisches neurologisches Defizit

KHK

koronare Herzkrankheit

pAVK

periphere arterielle Verschlusskrankheit

rez.

rezidivierend

- keine Angaben

### **3.5. Metaanalyse publizierter Studien**

Eine Recherche im Zeitraum von 1997 bis 1999 in der *Online*-Datenbank *www.medline.de* mit den Schlagworten „factor V Leiden, resistance against activated protein C, myocardial infarction“ lieferte 200 Literaturstellen und in der Datenbank *www4.ncbi.nlm.nih.gov/Pub Med.com* mit den Schlagworten „factor V Leiden OR resistance against activated protein C AND myocardial infarction“ 41 Literaturstellen, die zwischen 1995 und 1999 publiziert wurden. Mit der Frage der Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt beschäftigten sich 29 Studien, diese sind unter dem Kapitel 3.5.1. aufgeführt. Unter Berücksichtigung strikter Ein- und Ausschlußkriterien konnten davon 19 bei der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden. Diese wurden hinsichtlich des Studiendesigns, der Untersuchung auf Faktor V Leiden, der Kollektive von Myokardinfarktpatienten und Kontrollpersonen sowie hinsichtlich der Erfassung kardiovaskulärer Risikofaktoren und des *odds-ratios* mit Konfidenzintervall in der Tabelle 3.8. (vgl.: Seite 95ff) näher charakterisiert.

#### **3.5.1. Publikationen zur Assoziation zwischen Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und Myokardinfarkt**

In der Literatur finden sich kontroverse Aussagen bezüglich der klinischen Relevanz der Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden bei Myokardinfarkt (vgl.: Tabelle 3.6. und 3.7.).

##### **3.5.1.1. Publikationen ohne Nachweis einer Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt**

Die Publikationen, in denen keine Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt nachgewiesen wurde, werden in Tabelle 3.6. (vgl.: Seite 84) gegenübergestellt.

Amowitz et al. untersuchten junge Frauen, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten, auf Faktor V Leiden (Amowitz et al., 1999). Weder im Vergleich zur regionalen Kontrollgruppe noch zur Gesamtpopulation dieses Landes fand sich bei den Myokardinfarktpatientinnen eine statistisch signifikant höhere Prävalenz dieser Mutation. Somit gebe es nach Ansicht der Autoren auch unter Berücksichtigung kardiovaskulärer Risikofaktoren keinen Anhalt dafür, daß Faktor V Leiden das Risiko für Myokardinfarkte erhöhe.



**Tabelle 3.6.:** Literaturstellen ohne Nachweis einer Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt.

Erstautor, Erscheinungsjahr	Zahl der Patienten mit Myokardinfarkt
Amowitz et al., 1999	36 Patienten mit Myokardinfarkt
Ardissino et al., 1996	100 Patienten mit Myokardinfarkt (junge Überlebende)
Van Bockxmeer et al., 1995	149 Patienten mit Myokardinfarkt
Van der Bom et al., 1996	115 Patienten mit Myokardinfarkt
Cushman et al., 1998	149 Patienten mit Myokardinfarkt, 140 Patienten mit <i>Angina pectoris</i>
Dacosta et al., 1998	75 Patienten mit Myokardinfarkt
Demarmels et al., 1995	134 Patienten mit Myokardinfarkt
Emmerich et al., 1995	643 Patienten mit Myokardinfarkt
Eritslund et al., 1995	281 Patienten mit Myokardinfarkt, Verschlußrate bei 546 Bypass-Patienten
Hansson et al., 1999	36 Patienten mit Myokardinfarkt
Inbal et al., 1999	112 Patienten mit Myokardinfarkt
Kontula et al., 1995	122 Patienten mit Myokardinfarkt
Lowe et al., 1999	281 Patienten mit koronarer Herzerkrankung
Prohaska et al., 1995	317 Patienten mit koronarer Herzerkrankung
Redondo et al., 1999	177 Patienten mit Myokardinfarkt
Ridker et al., 1995	374 Patienten mit Myokardinfarkt
Samani et al., 1994	60 Patienten mit Myokardinfarkt

Ardissino et al. untersuchten junge Überlebende eines Myokardinfarkts auf Faktor V Leiden (Ardissino et al., 1996). Es zeigte sich kein sicherer Zusammenhang zwischen dieser Mutation und dem Auftreten eines Myokardinfarkts. Laut Autoren könne allerdings nicht ausgeschlossen werden, daß die Patienten, die am akuten Myokardinfarkt verstarben, eine höhere Prävalenz für Faktor V Leiden gehabt hätten. Die häufige familiäre Belastung mit ischämischer Herzerkrankung bei jungen Myokardinfarktpatienten spräche für die Gegenwart einer genetischen Komponente in der Entstehung dieser Erkrankung und lasse genetische Faktoren vermuten.

Van Bockxmeer et al. untersuchten Patienten mit akuten Myokardinfarkt auf Faktor V Leiden (Bockxmeer et al., 1995). Thrombotische Koronarverschlüsse gingen gewöhnlich dem Myokardinfarkt voraus. Eine atheromatöse Plaque rupturiere oder disseziere nach Ansicht der Autoren aber häufig auch sekundär, obgleich es sich oft nur um eine zunächst mittelgradig verschließende weiche Plaque handele, die viele Aktivatoren von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren freisetze. Dies könne der Grund sein, weswegen die APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden nicht signifikant mit Myokardinfarkt assoziiert sei. Eine weitere Erklärung könne sein, daß diese Mutation bei der Koronargefäßthrombose weniger relevant sei. Die pathogenetische Rolle von Faktor V Leiden könne bei Langzeitüberlebenden eines

Myokardinfarkts aufgezeigt werden. Diese könnten eine höhere Prävalenz für die Mutation zeigen, wenn die Infarkte auf thrombotischer Koronarokklusion mit minimaler oder fehlender atheromatöser obstruierender Erkrankung beruhten. Nähere Angaben zur Alters- und Geschlechtsverteilung fehlen.

Van der Bom et al. untersuchten im Rahmen der *Rotterdam Study* Patienten mit Myokardinfarkt in Hinblick auf Faktor V Leiden (van der Bom et al., 1996). Weder die Resistenz gegen aktiviertes Protein C noch Faktor V Leiden waren mit dem Auftreten eines Myokardinfarkts assoziiert. Nähere Angaben zur Alters- und Geschlechtsverteilung fehlen.

Cushman et al. untersuchten im Rahmen der *Cardiovascular Health Study* Personen auf Faktor V Leiden (Cushman et al., 1998). Unter allen auf die Mutation untersuchten Personen waren 6,6% heterozygot, es gab keine Homozygoten. Es zeigte sich auch unter Berücksichtigung kardiovaskulärer Risikofaktoren kein statistisch signifikanter Unterschied in der Prävalenz der Mutation bei Personen, die während des *follow-up* einen Myokardinfarkt erlitten hatten, und den Kontrollpersonen. Somit bestünde nach Ansicht der Autoren Faktor V Leiden bei älteren Personen kein höheres Risiko, an einem Myokardinfarkt oder einer *Angina pectoris* zu erkranken.

Dacosta et al. untersuchten nicht-antikoagulierte Myokardinfarktpatienten auf Faktor V Leiden (Dacosta et al., 1998). Bei Untergliederung der Gruppe der Myokardinfarktpatienten in Patienten mit und ohne signifikante Koronarsklerose fand sich eine statistisch nicht-signifikant höhere Prävalenz des Faktor V Leiden bei Myokardinfarktpatienten ohne Koronarsklerose verglichen mit Myokardinfarktpatienten mit Koronarsklerose oder der Kontrollgruppe. Die Untergruppe der Myokardinfarktpatienten ohne Koronarsklerose unterschied sich von der anderen Untergruppe zudem durch ein jüngeres Alter beim Myokardinfarktereignis sowie durch mehr angeborene Thrombophilien, wie Protein C- und Faktor XII-Mangel.

Demarmels et al. untersuchten nicht-antikoagulierte Myokardinfarktpatienten auf eine Resistenz gegen APC (Demarmels et al., 1995). Da die Prävalenz der APC-Resistenz keine Unterschiede zwischen Myokardinfarktpatienten und Kontrollgruppe zeigte, sei diese kein Risikofaktor für Myokardinfarkt. Allerdings schließen diese Ergebnisse nach Ansicht der Autoren nicht aus, daß eine homozygote APC-Resistenz akute koronare Ereignisse

vorhersagen könnte. Zum Nachweis von Faktor V Leiden wurde weder der modifizierte Test mit Faktor V-Mangelplasma noch die Genotypisierung angewandt. Dadurch wurden auch die übrigen 10% der Fälle von APC-Resistenz eingeschlossen, die nicht auf Faktor V Leiden beruhen. Andererseits wird von „homozygoter APC-Resistenz“ gesprochen, was in dieser Formulierung genau genommen nicht korrekt ist, da Homozygotie den Genotyp und APC-Resistenz den Phänotyp beschreibt.

Emmerich et al. untersuchten Männer drei bis neun Monaten nach Myokardinfarkt in den MONICA (*multinational monitoring of trends and determinants in cardiovascular disease*)-Zentren Belfast, Lille, Strasbourg und Toulouse auf Faktor V Leiden (Emmerich et al., 1995). Genotyp und Allelhäufigkeit unterschieden sich innerhalb der Myokardinfarktpatienten und den Kontrollen der vier Populationen nicht signifikant. Nach Ansicht der Autoren sei Faktor V Leiden bei Heterozygotie kein Risikofaktor für Myokardinfarkt. Für Homozygotie und andere Gefäßläsionen ließen sich allerdings keine Rückschlüsse ziehen. Möglicherweise spiele die Gerinnung doch keine Hauptrolle bei der Entstehung von Thromben in geschädigten Koronararterien, sondern möglicherweise eher die Thrombozytenaktivierung. Während im Rahmen der MONICA-Studie auf kardiovaskuläre Risikofaktoren ausführlich eingegangen wurde, wurde deren Verteilung in der Publikation zu Faktor V Leiden leider nicht veröffentlicht.

Eritslund et al. untersuchten im Rahmen des *Shunt Occlusion Trial (SHOT)* Bypass-Patienten auf APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden (Eritslund et al., 1995). Es zeigte sich keine statistisch signifikante Assoziation zwischen den untersuchten Parametern. Somit spiele nach Meinung der Autoren die Resistenz gegen APC weder bei zurückliegendem Myokardinfarkt noch bei Bypass-Verschlüssen und somit bei der Genese der arteriellen Thrombose eine entscheidende Rolle. In dieser Studie wurde weder die Genotypisierung noch der funktioneller Test mit Faktor V-Mangelplasma durchgeführt und somit nur der Phänotyp APC-Resistenz bestimmt. Dadurch wurden auch die übrigen 10% der Fälle von APC-Resistenz eingeschlossen, die nicht auf Faktor V Leiden beruhen.

Hansson et al. untersuchten Männer mit Myokardinfarkt auf Resistenz gegen aktiviertes Protein C (Hansson et al., 1999). Unter den Patienten mit APC-Resistenz war die Prävalenz für Myokardinfarkte und Diabetes mellitus tendenziell höher als bei den übrigen Personen, der Unterschied war allerdings nicht signifikant. Dennoch bestehe nach Ansicht der Autoren

keine Korrelation zwischen arterieller Thrombose und Resistenz gegen aktiviertes Protein C. Da aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden.

Inbal et al. untersuchten junge Männer mit Myokardinfarkt auf Faktor V Leiden (Inbal et al., 1999). Die Heterozygotenprävalenz unterschied sich bei den Myokardinfarktpatienten nicht signifikant von der Kontrollgruppe. Ein Risikoanstieg zeigte sich jedoch bei der Kombination von Faktor V Leiden mit anderen prothrombotischen Polymorphismen, wie Heterozygotie für Prothrombin 20210 G→A oder Homozygotie für Methylentetrahydrofolatreduktase 677 C→T, oder mit kardiovaskulären Risikofaktoren. Unter Berücksichtigung von arterieller Hypertonie, Hypercholesterinämie oder Diabetes mellitus stieg das Risiko um das neunfache und unter Berücksichtigung eines bestehenden Nikotinabusus sogar um das 18fache an. Somit hätten nach Auffassung der Autoren prothrombotische Polymorphismen und kardiovaskuläre Risikofaktoren einen synergistischen Effekt bei der Genese eines Myokardinfarkts.

Kontula et al. untersuchten Myokardinfarktpatienten aus Helsinki sowie aus Nordkarelia, dem Gebiet der höchsten Rate an koronarer Herzerkrankung Finnlands, auf Faktor V Leiden (Kontula et al., 1995). In Helsinki ergab sich eine statistisch signifikant höhere Heterozygotenhäufigkeit bei den Myokardinfarktpatienten als in der Kontrollgruppe, in Nordkarelia dagegen war der Unterschied nicht signifikant. Nach Ansicht der Autoren zeige sich somit insgesamt ein leichter, statistisch nicht signifikanter Trend zu höherer Prävalenz von Faktor V Leiden bei Patienten mit kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen. Thromboembolische Ereignisse könnten neben der Atherosklerose als wesentlicher ätiologischer Faktor bei akuten Ischämie-manifestationen kritische Präzedenzfälle darstellen. Zu dieser Studie läßt sich vermerken, daß in der größeren Population Helsinkis durchaus eine positive Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt bestanden hat. Zudem lag bei diesen keine wesentliche Atherosklerose vor, was die pathogenetische Rolle thromboembolischer Ereignisse unterstreichen würde.

Lowe et al. untersuchten im Rahmen der MONICA (*multinational monitoring of trends and determinants in cardiovascular disease*)-Studie Personen, die an einer koronaren Herzerkrankung, einer peripherer arterieller Verschußkrankheit oder einem Schlaganfall erkrankt waren (Lowe et al., 1999). Nach Meinung der Autoren bestehe keine Assoziation zwischen der Faktor V Leiden-Mutation und den erwähnten arteriellen Erkrankungen. Da im

Patientenkollektiv nur allgemein auf die koronare Herzkrankheit und nicht auf Myokardinfarkt eingegangen und aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden.

Prohaska et al. untersuchten Patienten mit angiographisch nachgewiesener koronarer Herzerkrankung, die teilweise in der Vorgeschichte einen Myokardinfarkt erlitten hatten (Prohaska et al., 1995). Bei Personen mit koronarer Herzerkrankung sei nach Ansicht der Verfasser weder die Prävalenz für die Faktor V Leiden-Mutation erhöht noch bestünde bei Vorliegen dieser Mutation ein erhöhtes Risiko, koronare Atherome und in deren Folge einen Myokardinfarkt zu entwickeln.

Redondo et al. untersuchten Patienten mit Myokardinfarkt in den letzten beiden Monaten auf Faktor V Leiden (Redondo et al., 1999). Sowohl im funktionellen Test auf APC-Resistenz als auch bei der Genotypisierung fand sich keine statistisch signifikante Assoziation zwischen den beiden Parametern. Somit bestehe gemäß der Autoren keine Assoziation zwischen Faktor V Leiden und einem erhöhten Risiko für Myokardinfarkte. In dieser Studie wurden keine Angaben zur Altersverteilung der Patienten gemacht.

Ridker et al. untersuchten im Rahmen der *Physicians' Health Study* Männer auf Faktor V Leiden (Ridker et al., 1995). Es zeigte sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Prävalenz dieser Mutation bei Personen, die während des *follow-up* einen Myokardinfarkt erlitten, und Personen ohne kardiovaskuläre Erkrankungen. Nach Ansicht der Autoren bestünde bei Männern zwischen 40 und 60 Jahren auch unter Berücksichtigung kardiovaskulärer Risikofaktoren zwischen Faktor V Leiden und einem erhöhten Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, keine Assoziation. Es fand sich zwar keine Signifikanz bezüglich einer Assoziation von Faktor V Leiden und Myokardinfarkt unter Berücksichtigung der anderen Risikofaktoren einschließlich des Alters, jedoch ein Anstieg der Wahrscheinlichkeit und eine Verringerung des p-Wertes. Die in dieser Studie untersuchten Männer wurden größtenteils antikoagulatorisch therapiert, was das Auftreten von Myokardinfarkten während des *follow-up* vermindert haben könnte.

Samani et al. untersuchten Patienten mit akutem Myokardinfarkt auf Faktor V Leiden (Samani et al., 1994). Im Vergleich zur Mutationshäufigkeit in einzelnen Populationen von

zwei bis sieben Prozent zeige sich nach Ansicht der Verfasser keine erhöhte Prävalenz dieser Mutation bei Myokardinfarkt. Faktor V Leiden sei somit keine Prädisposition für einen vorzeitigen Myokardinfarkt. In dieser Studie wird auf die weltweite Prävalenz der Mutation verwiesen, obwohl bei unterschiedlicher Prävalenz in den einzelnen ethnischen Gruppen die regionale Prävalenz hätte berücksichtigt werden müssen. Da somit aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden. Nähere Angaben zur Geschlechtsverteilung fehlen.

### **3.5.1.2. Publikationen mit Nachweis einer positiven Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt**

Die Publikationen, in denen eine Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt nachgewiesen wurde, werden in Tabelle 3.7. gegenübergestellt.

**Tabelle 3.7.:** Literaturstellen mit Nachweis einer positiven Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt.

Erstautor, Erscheinungsjahr	Zahl der Patienten mit Myokardinfarkt
Baranovskaya et al., 1998	287 Patienten mit Myokardinfarkt (signifikante Assoziation bei Patienten über 65 Jahren)
Doggen et al., 1998	560 Patienten mit Myokardinfarkt
Eskandari et al., 1998	13 Patienten mit Myokardinfarkt (85,7% ohne signifikante Atherosklerose)
Hille et al., 1997	171 Eltern von Trägern des Faktor V Leiden (neunfach höheres Risiko, unter 45 Jahren an koronarer Herzkrankheit zu versterben)
Holm et al., 1994	2 junge Myokardinfarktpatientinnen (Homozygotie für Faktor V Leiden)
Holm et al., 1996	101 Patienten unter 50 Jahren mit akutem Myokardinfarkt
Holm et al., 1999	295 Patienten mit akutem koronaren Syndrom (Einfluß auf Mortalität und Lebensalter bei Myokardinfarkt sowie Infarktgröße)
Kiechl et al., 1999	77 Patienten mit koronarer Herzkrankheit (Vorhersage des Risikos kardiovaskulärer Erkrankungen durch Bestimmung der APC-Resistenz)
Kontula et al., 1995	71 Patienten mit Myokardinfarkt
März et al., 1995	224 Patienten mit koronarer Herzkrankheit
Rosendaal et al., 1997a	84 Patienten mit Myokardinfarkt (Synergie mit Nikotinabusus)
Walter et al., 1998	1 junger Patient mit Myokardinfarkt

Baranovskaya et al. untersuchten Patienten mit Myokardinfarkt auf Faktor V Leiden (Baranovskaya et al., 1998). Die Mutationshäufigkeit war bei den älteren Myokardinfarktpatienten 2,5fach höher als in der jungen und 7,5fach höher als in der älteren



Kontrollgruppe. Somit zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Verteilung des mutierten Allels zwischen dem jüngeren und dem älterem Kollektiv der Myokardinfarktpatienten sowie zwischen älteren Myokardinfarktpatienten und der älteren Kontrollgruppe. Nach Ansicht der Autoren korreliere deswegen der Einfluß verschiedener kardiovaskulärer Risikofaktoren mit dem Alter. Faktor V Leiden sei besonders bei älteren Personen, bei denen Atherosklerose die Hauptursache kardiovaskulärer Erkrankungen darstelle, ein wesentlicher Risikofaktor für Myokardinfarkt. In dieser Publikation wurden keine näheren Angaben zur Geschlechtsverteilung gemacht.

Doggen et al. untersuchten männliche Myokardinfarktpatienten auf Faktor V Leiden (Doggen et al., 1998). Es zeigte sich eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dieser Mutation und Myokardinfarkt. Durch diese Mutation sei das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, um das 40fache gesteigert. In Gegenwart zusätzlicher kardiovaskulärer Risikofaktoren stieg das Risiko zusätzlich an, Nikotinabusus bedeutete beispielsweise einen sechsfachen Risikoanstieg. Nach Ansicht der Autoren sei wegen der hohen Prävalenz dieser Mutation in der Bevölkerung und den weit verbreiteten kardiovaskulären Risikofaktoren die Prävention und Therapie dieser Risikofaktoren wesentlich.

Eskandari et al. untersuchten Personen, die eine heterozygote Faktor V Leiden-Mutation und arterielle Thrombembolien aufwiesen (Eskandari et al., 1998). Andere Abnormalitäten der Blutgerinnung wurden ausgeschlossen. Bei 85,7% der Myokardinfarktpatienten, bei denen ein Koronarangiogramm durchgeführt wurde, zeigte sich keine signifikante Koronarsklerose. Nach Ansicht der Verfasser seien bei für Faktor V Leiden Heterozygoten distale Thrombembolien möglicherweise verantwortlich für akute Myokardinfarkte bei sonst normaler Koronaranatomie und Fehlen sonstiger diagnostizierbarer Gerinnungsstörungen. Faktor V Leiden könne einen Hauptrisikofaktor für die Entstehung arterieller Thrombembolien bei sonst gesunden jungen Personen sein, die an ungeklärtem Schlaganfall, Myokardinfarkt und/oder Ischämie der Extremitäten leiden. Eine Stärke dieser Publikation ist die Erfassung objektiver radiologischer Daten. Da jedoch aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden.

Hille et al. untersuchten Mortalität und Todesursachen von Eltern, deren Kinder Träger der autosomal-dominant vererbten Faktor V Leiden-Mutation waren (Hille et al., 1997). Im



Vergleich zur Normalbevölkerung zeigten sich keine Unterschiede bezüglich der Gesamtmortalität dieser Eltern. Während die Sterblichkeit an malignen Neoplasien, Störungen der Blutzirkulation sowie zerebralen Erkrankungen gleich war, zeigte sich eine erhöhte Sterblichkeit an pulmonalen und ischämischen Herzerkrankungen. Das Risiko, an einer koronaren Herzerkrankung unter 45 Jahren zu versterben, war neunfach gesteigert. Dies lege nach Ansicht der Autoren die Vermutung nahe, daß Faktor V Leiden möglicherweise nur in homozygoter Ausprägung bei jüngeren Personen einen Risikofaktor für arterielle Thrombosen darstelle. Da in dieser Publikation auf die Mortalitätsursachen der Eltern von Trägern des Faktor V Leiden eingegangen wurde und somit diese Studie eine andere Zielsetzung verfolgte, konnte sie in der weiteren Metaanalyse nicht berücksichtigt werden.

Holm et al. beschrieben die Fälle zweier junger Frauen, die einen akuten Myokardinfarkt erlitten hatten (Holm et al., 1994). Beide Patientinnen wiesen normale Plasmawerte von Protein C, Protein S, Antithrombin, Fibrinogen, von-Willebrand-Faktor, Faktor VII-Aktivität, Cholesterin und Triglyceriden auf, sie waren jedoch homozygot für Faktor V Leiden. Eine der Patientinnen zeigte in der Koronarangiographie normale Koronararterien mit vorübergehenden Vasospasmen, was für eine mögliche Rolle der APC-Resistenz bei der endothelialen Dysfunktion spräche. Nach Ansicht der Verfasser könne die APC-Resistenz über die ausbleibende Spaltung und Hemmung des Gerinnungsfaktors Va zu einer unkontrollierten Gerinnung und Thrombusbildung führen. Da aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden.

Holm et al. untersuchten junge Patienten, die einen akuten Myokardinfarkt erlitten hatten, in Hinblick auf Faktor V Leiden (Holm et al., 1996). Bei den männlichen Myokardinfarktpatienten fand sich ein signifikanter Unterschied gegenüber den Männern der Kontrollgruppe bezüglich der Trägerrate und der Allelhäufigkeit. Außerdem ergab sich auch gegenüber der Kontrollgruppe als ganzes, einschließlich der Frauen, ein signifikanter Unterschied zu den männlichen Myokardinfarktpatienten bezüglich der Trägerrate und der Allelhäufigkeit. Die hohe Prävalenz des Faktor V Leiden bei männlichen Myokardinfarktpatienten impliziere gemäß der Autoren nicht unbedingt ein unvermeidliches, erhöhtes Risiko für diese Erkrankung bei männlichen Mutationsträgern. Die Prognose von Patienten, die in jungen Jahren einen Myokardinfarkt aufgrund eines thrombotischen Koronarverschlusses erlitten haben, während andere atheromatöse Obstruktionen fehlten oder

zu vernachlässigen waren, sei möglicherweise sogar besser, was sich an der hohen Mutationshäufigkeit bei Langzeitüberlebenden zeige.

Holm et al. untersuchten in einer weiteren Studie Patienten, die an einem akuten Koronarsyndrom litten (Holm et al., 1999). Raucher mit Faktor V Leiden hatten ein höheres Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden oder an der ischämischen Herzerkrankung innerhalb der ersten 30 Tage zu versterben, als Nichtraucher mit normalem Genotyp. Unter den Myokardinfarktpatienten wiesen die Träger der Mutation höhere Werte der myokardspezifischen Creatinkinase auf als Patienten mit normalem Genotyp, was für ein ausgedehnteres Infarktareal und eine höhere Mortalität in den folgenden zwei Jahren spricht. Faktor V Leiden benötige die Kombination mit anderen Risikofaktoren zur Förderung der Thrombenbildung. Unabhängig vom Geschlecht werde nach Ansicht der Autoren der negative Einfluß von Faktor V Leiden bei Rauchern mit akutem koronarem Syndrom bestätigt. Die Inaktivierung der Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa durch APC könne bei der Größenbegrenzung von Thromben eine wichtige Rolle spielen. Bei einer APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden fehle dieser vor Myokardinfarkt schützenden Effekt des APC.

Kiechl et al. untersuchten Einwohner der Stadt Bruneck auf Faktor V Leiden (Kiechl et al., 1999). Bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung stellte sich das APC-Ratio als risikovorhersagender Parameter dar. Bei Personen, die an dieser Erkrankung verstarben, war das APC-Ratio signifikant niedriger als bei Patienten, die an anderen Erkrankungen starben, oder lebenden Personen ohne manifeste vaskuläre Erkrankung. Desweiteren zeigte sich eine signifikant höhere Prävalenz für Faktor V Leiden bei den Personen, die an der genannten kardiovaskulären Erkrankung verstarben, im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen. Die widersprüchlichen Aussagen in der Literatur über eine Assoziation zwischen Resistenz gegen APC und arteriellen Ereignissen beruhten nach Meinung der Autoren darauf, daß funktionelle Tests zwar eine signifikant Assoziation aufzeigten, die Genotypisierung jedoch in der Aussage widersprüchlich gewesen sei. Außerdem habe eine Langzeittherapie mit Acetylsalicylsäure den prädiktiven Effekt niedriger APC-Ratios für fortgeschrittene Atherosklerose aufgehoben. Da aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden.

Kontula et al. untersuchten Patienten aus Helsinki, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten, auf Faktor V Leiden (Kontula et al., 1995). Bei den Myokardinfarktpatienten zeigte sich eine

statistisch signifikant höhere Heterozygotenhäufigkeit als in der Kontrollgruppe. Thromboembolische Ereignisse könnten nach Meinung der Verfasser bei akuten Ischämie-manifestationen neben der Atherosklerose als wesentlichen ätiologischen Faktor kritische Präzedenzfälle darstellen.

März et al. untersuchten Männer, die an einer koronaren Herzerkrankung litten, auf Faktor V Leiden (März et al., 1995). Personen mit venösen Thrombembolien wurden von der Studie ausgeschlossen. Es fand sich eine statistisch signifikante Assoziation zwischen ischämischer Herzerkrankung und Faktor V Leiden. Die Mutationshäufigkeit war bei Herzinfarktpatienten und Patienten mit ischämischer Herzerkrankung ohne dieses Ereignis nahezu gleich. Dies spräche nach Ansicht der Autoren dafür, daß Faktor V Leiden nicht nur ein Risikofaktor für Myokardinfarkte, sondern auch für die Entstehung koronarer Atherome sei. Der Mechanismus, durch den die APC-Resistenz die Atherosklerose beschleunige, könne mit einer gesteigerten Bildung von Faktor Xa und Thrombin verbunden sein. Diese seien beide als Faktoren der Blutgerinnung und effektive Agonisten der atherogenen Zellantwort, wie Thrombozytenaggregation, Chemotaxis und Proliferation, wirksam. Da im Patientenkollektiv Absolutzahlen, die für Berechnungen im Rahmen der Metaanalyse notwendig wären, nicht publiziert wurden, konnte diese Studie in der weiteren Metaanalyse nicht berücksichtigt werden.

Rosendaal et al. untersuchten junge Patientinnen mit Myokardinfarkt auf Faktor V Leiden (Rosendaal et al., 1997a). Trägerinnen des Faktor V Leiden wiesen ein 2,5fach höheres Risiko auf, einen Myokardinfarkt zu erleiden. Bei zusätzlicher Gegenwart von metabolischen Risikofaktoren, wie Adipositas, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie oder Diabetes mellitus, war das Risiko gegenüber Frauen ohne die Mutation und ohne die genannten Risikofaktoren um das 25fache erhöht (Rosendaal et al., 1997b). Rauchende Trägerinnen des Faktor V Leiden wiesen ein 32fach höheres Risiko auf, einen Myokardinfarkt zu erleiden, im Vergleich zu Nichtraucherinnen ohne die Mutation. Somit sei gemäß der Autoren ein Nikotinabusus die Voraussetzung für den Risikoanstieg bei Faktor V Leiden, da beide komplette oder zumindest partielle prothrombotische Faktoren darstellten. Es bestünden biochemische Unterschiede in der Ätiologie von Myokardinfarkten zwischen den Geschlechtern. Unabhängig von der Gegenwart von Faktor V Leiden steigere endogenes und exogenes Östrogen die APC-Resistenz bei Frauen und senke ferner die Inaktivierungsrate von Faktor Va durch APC. Die Risikoerhöhung bezüglich eines Myokardinfarkts bei Einnahme

oralen Kontrazeptiva sei durch zusätzlichen Nikotinabusus noch gesteigert. Somit bestünde die Möglichkeit, daß Faktor V Leiden vorwiegend für Frauen einen Risikofaktor für Myokardinfarkte darstelle (Rosendaal et al., 1997a).

Walter et al. untersuchten einen Mann, der im Alter von 29 Jahren ohne kardiovaskuläres Risikoprofil einen Myokardinfarkt erlitten hatte, auf Faktor V Leiden (Walter et al., 1998). Es fand sich eine Heterozygotie für diese Mutation, so daß bei Fehlen einer Koronarsklerose in der Koronarangiographie nach Ansicht der Autoren ein Thrombembolus zum Gefäßverschluß bei Myokardinfarkt geführt haben muß. Neben Faktor V Leiden fand sich bei diesem Patienten eine Erhöhung der *plasminogen activator inhibitor 1* (PAI-1)-Aktivität bei ansonsten normalen Werten der antikoagulatorischen und fibrinolytischen Proteine. Somit läge Faktor V Leiden nach Meinung der Verfasser möglicherweise gerade in jungen Jahren auch arteriellen Thrombosen zugrunde. Da aufgrund des Studiendesigns keine Kontrollgruppe untersucht wurde, konnte diese Publikation nicht in der weiteren Metaanalyse berücksichtigt werden.

### **3.5.2. Charakteristika der in die Metaanalyse eingeschlossenen Studien**

Von den 29 unter dem Kapitel 3.5.1. aufgeführten Studien konnten unter Berücksichtigung strikter Kriterien 19 in die weitere Metaanalyse eingeschlossen werden. Diese wurden hinsichtlich des Studiendesigns, der Untersuchung auf Faktor V Leiden, der Kollektive von Myokardinfarktpatienten und Kontrollpersonen sowie hinsichtlich der Erfassung kardiovaskulärer Risikofaktoren und des *odds-ratios* mit Konfidenzintervall in der Tabelle 3.8. (vgl.: Seite 95ff) näher charakterisiert.

Aus der Metaanalyse ausgeschlossen wurden Publikationen, bei denen keine Prävalenz von Faktor V Leiden in einer Kontrollgruppe derselben geographischen Region angegeben war (Eskandari et al., 1998; Hansson et al., 1999; Holm et al., 1994; Kiechl et al., 1999; Lowe et al., 1999; Samani et al., 1994) sowie Studien, bei denen Daten, die zur Berechnung des *odds-ratios* nötig gewesen wären, nicht publiziert wurden (März et al., 1995), oder die eine andere Zielsetzung verfolgten (Hille et al., 1997).

**Tabelle 3.8.:** Charakteristika publizierter Studien zur Frage der Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt. Drei dieser 19 in die Metaanalyse eingeschlossenen Studien beinhalteten zwei bis vier Unterstudien.

Erstautor, Erscheinungsjahr	Studien-design	Test für Faktor V Leiden	Charakteristika der Patienten mit Myokardinfarkt				Charakteristika der Personen in der Kontrollgruppe				kardiovaskuläre Risikofaktoren	OR mit CI95
			Anzahl	m : w	Alter (Jahre)	Prävalenz (%)	Anzahl	m : w	Alter (Jahre)	Prävalenz (%)		
Amowitz et al., 1999	Fall-Kontroll	Genotyp	36	nur w	Ø 39	2,8 (1/36)	36	nur w	-	8,3 (3/36)	ja	0,3143 0,03 - 3,17
Ardissino et al., 1996	Fall-Kontroll	Genotyp	100	96 : 4 96% : 4%	Ø 40,2 (<45)	1,0 (1/100)	100	-	Ø 41,6	2,0 (2/100)	ja	0,4949 0,04 - 5,55
Baranovskaya et al., 1998	Fall-Kontroll	Genotyp	287	-	Ø 60 (27-91)	3,1 (9/287)	483	-		2,9 (14/483)	nein	1,0845 0,46 - 2,54
			168/287		<65	0,6 (1/168)	373/483		Ø 11 (6-17)	3,5 (13/373)		0,1658 0,02 - 1,28
			119/287		≥65	6,7 (8/119)	110/483		Ø 80	0,9 (1/110)		7,8559 0,97 - 63,87
Van Bockxmeer et al., 1995	Fall-Kontroll	funktionell, Genotyp	149 <sup>1</sup>			4,7 (7/149)	126			4,0 (5/126)	ja	1,1930 0,37 - 3,86
Van der Bom et al., 1996	Fall-Kontroll	funktionell, Genotyp	114	-	>55	3,5 (4/114)	222	-	-	5,0 (11/222)	ja	0,6975 0,22 - 2,24
Cushman et al., 1998	prospektiv	Genotyp	149	92 : 57 62% : 38%	Ø 74,3 (>65)	3,4 (5/149)	482	178 : 304 37% : 63%	Ø 72,3	7,1 (34/482)	ja	0,4575 0,18 - 1,19
Dacosta et al., 1998	Fall-Kontroll	funktionell, Genotyp	75	66 : 9 88% : 12%	Ø 38,0 (<45)	5,3 (4/75)	53	46 : 7 87% : 13%	Ø 36,5	3,8 (2/53)	ja	1,4366 0,25 - 8,15
Demarmels Biasiutti et al., 1995	Fall-Kontroll	nicht modifiziert funktionell	134	115 : 19 86% : 14%	Ø 54,9 (32-72)	2,2 (3/134)	100	87 : 13 87% : 13%	Ø 54,9 (32-74)	2,0 (2/100)	ja	1,1221 0,18 - 6,84
Doggen et al., 1998	Fall-Kontroll	Genotyp	560	nur m	Ø 56,2	6,8 (38/560)	646	nur m	Ø 57,3	5,0 (32/646)	ja	1,3968 0,86 - 2,27
Emmerich et al., 1995	Fall-Kontroll	Genotyp	643	nur m	25-64	5,3 (34/643)	726	-	-	4,7 (34/726)	nein	1,1363 0,70 - 1,85
			197/643			2,5 (5/197)	178/726			5,6 (10/178)		0,4375 0,15 - 1,31

			96/643				4,2 (4/96)	148/726			0,7 (1/148)		6,3913 0,70- 58,07
			207/643				10,6 (22/207)	193/726			8,8 (17/193)		1,2312 0,63 - 2,40
			143/643				2,1 (3/143)	207/726			2,9 (6/207)		0,7179 0,18 - 2,92
Erisland et al., 1995	Fall-Kontroll	nicht modifiziert funktionell	281 <sup>II</sup>				1,8 (5/281)	265			2,6 (7/265)	nein	0,6677 0,21 - 2,13
Holm et al., 1996	Fall-Kontroll	funktionell, Genotyp	101	79 : 22 78% : 22%	Ø 44 (28-50)		17,8 (18/101)	101	-		10,9 (11/101)	nein	1,7743 0,79 - 3,40
Holm et al., 1999	Fall-Kontroll	Genotyp	23 <sup>III</sup>	nur w			30,4 (7/23)	423	nur w	fertiles Alter	10,2 (43/423)	ja	3,8663 1,51 - 9,92
Inbal et al., 1999	Fall-Kontroll	Genotyp	112	nur m	<52		6,3 (7/112)	187	nur m	-	6,4 (12/187)	ja	0,9722 0,37 - 2,55
Kontula et al., 1995	Fall-Kontroll	Genotyp	122	107 : 15 88% : 12%			5,7 (7/122)	137	95 : 42 69% : 31%		2,9 (4/137)	ja	2,0239 0,58 - 7,09
			51/122	49 : 2 96% : 4%	<45		2,0 (1/51)	50/137	42 : 8 84% : 16%	-	6,0 (3/50)		0,3133 0,03 - 3,12
			71/122	58 : 13 82% : 18%	<60		8,5 (6/71)	87/137	53 : 34 61% : 39%	-	1,1 (1/87)		7,9385 0,93- 67,57
Prohaska et al., 1995	Fall-Kontroll	funktionell, Genotyp	134 <sup>V</sup>				7,5 (10/134)	190	116 : 74 61% : 39%	Ø 34 (18-65)	9,5 (18/190)	nein	0,7706 0,34 - 1,73
Redondo et al., 1999	Fall-Kontroll	modifiziert funktionell, Genotyp	177 <sup>V</sup>		-		6,2 (11/177)	100 90	-		6,7 (6/90)	ja	0,9277 0,33 - 2,60
Ridker et al., 1995	prospektiv	Genotyp	374	nur m	40-84 (>40)		6,1 (23/374)	704	nur m		6,0 (42/704)	ja	1,0328 0,61 - 1,75
Rosendaal et al., 1997a	Fall-Kontroll	Genotyp	84	nur w	Ø 39,6 (23-44)		9,5 (8/84)	388	nur w	Ø 37,7 (19-44)	4,1 (16/388)	ja	2,4474 1,01 - 5,92

**Legende:**

funktionell

m : w

-

funktioneller Test für Resistenz gegen aktiviertes Protein C, der nicht spezifisch für Faktor V Leiden ist  
Verhältnis zwischen Männern und Frauen  
keine weiteren Angaben publiziert

- I. aus einem Gesamtkollektiv von 222 Patienten mit ischämischer Herzerkrankung, einschließlich 149 Patienten mit Myokardinfarkt, im Gesamtkollektiv waren 87% (193/222) Männer und 13% (29/222) Frauen unter 50 Jahren, die Kontrollgruppe bestand aus 126 Personen
- II. aus einem Gesamtkollektiv von 610 Patienten mit Bypass-Operation der Herzkranzgefäße, einschließlich 281 Patienten mit Myokardinfarkt, im Gesamtkollektiv waren 87% (531/610) Männer und 13% (79/610) Frauen mit einem Durchschnittsalter von 60 Jahren, die Kontrollgruppe bestand aus 265 Personen
- III. aus einem Gesamtkollektiv von 295 Patienten mit akutem Koronarsyndrom, einschließlich 86 Patienten mit Myokardinfarkt und 210 Patienten mit instabiler *Angina pectoris*, im Gesamtkollektiv waren 64% (190/295) Männer und 36% (105/295) Frauen im Alter zwischen 51 und 73 Jahren, 23 der Patienten mit Myokardinfarkt waren Frauen, die Kontrollgruppe bestand aus 423 fertilen Frauen
- IV. aus einem Gesamtkollektiv von 317 Patienten mit angiographisch diagnostizierter koronarer Herzerkrankung, einschließlich 134 Patienten mit Myokardinfarkt, im Gesamtkollektiv waren 85% (269/317) Männer und 15% (48/317) Frauen im Alter zwischen 28 und 85 Jahren (Durchschnittsalter von 58 Jahren)
- V. aus einem Gesamtkollektiv von 200 Patienten mit koronarer Herzerkrankung, einschließlich 177 auf Faktor V Leiden getesteten Patienten mit Myokardinfarkt, im Gesamtkollektiv waren 87% (174/200) Männer und 13% (26/200) Frauen, die Kontrollgruppe bestand aus 100 Personen, von denen 90 auf Faktor V Leiden getestet wurden



### 3.5.3. Untersuchung der publizierten Studienergebnisse auf Heterogenität

Da sich in der Literatur kontroverse Aussagen zur Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt finden (vgl.: Tabelle 3.8.), wurde untersucht, ob zwischen den Ergebnissen der 19 in die weitere Metaanalyse eingeschlossenen Studien eine statistisch signifikante Heterogenität besteht. Unter Verwendung des  $\chi^2$ -Tests auf Homogenität zeigte sich zwischen den Ergebnissen der 19 Publikationen keine statistisch signifikante Heterogenität ( $\chi_{18}^2 = 19,8840$ ;  $p = 0,3394$ ).

Das *odds-ratio*<sub>ges.</sub> der 19 in die weitere Metaanalyse eingeschlossenen Studien betrug 1,1767 (CI95 0,97 bis 1,43).

### 3.5.4. Forrest-Plot

Die Abbildung 3.21. zeigt einen Forrest-Plot der 19 in die Metaanalyse aufgenommenen Publikationen, einschließlich der eigenen Studie. Die Ergebnisse streuen im Rahmen des Zufallsbereichs und veranschaulichen graphisch mit kurzen oder langen Konfidenzintervalle die Aussagekraft der publizierten Studien. Die vorliegende Studie zeigt durch die große Fallzahl eines der kürzesten Konfidenzintervalle.

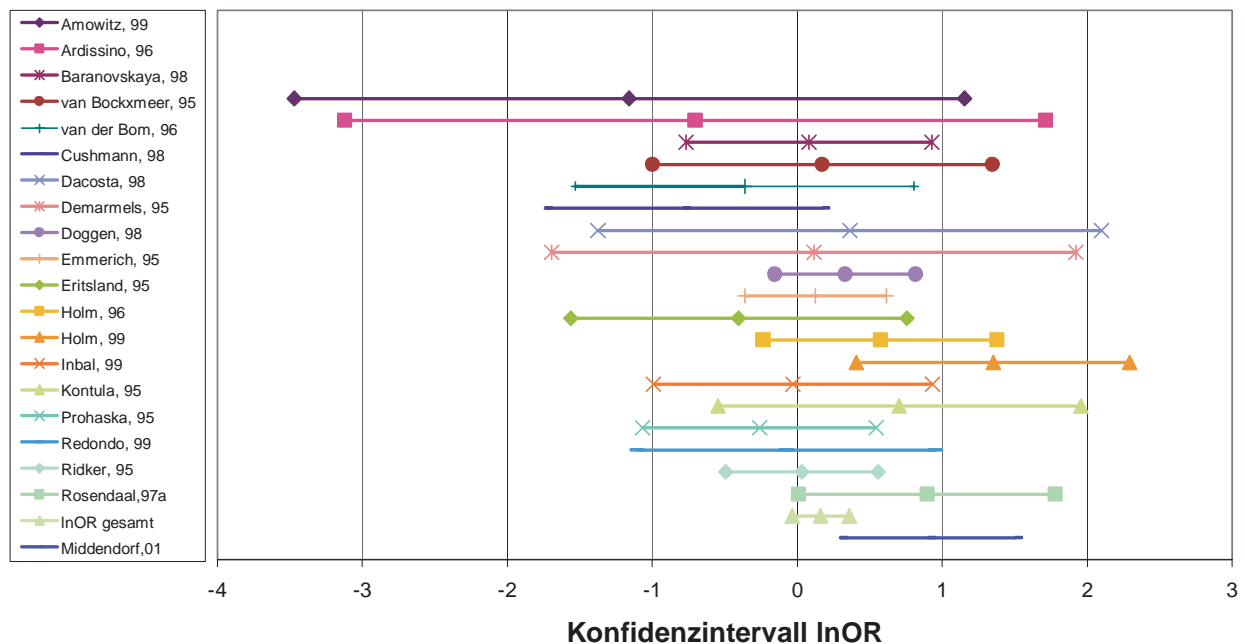
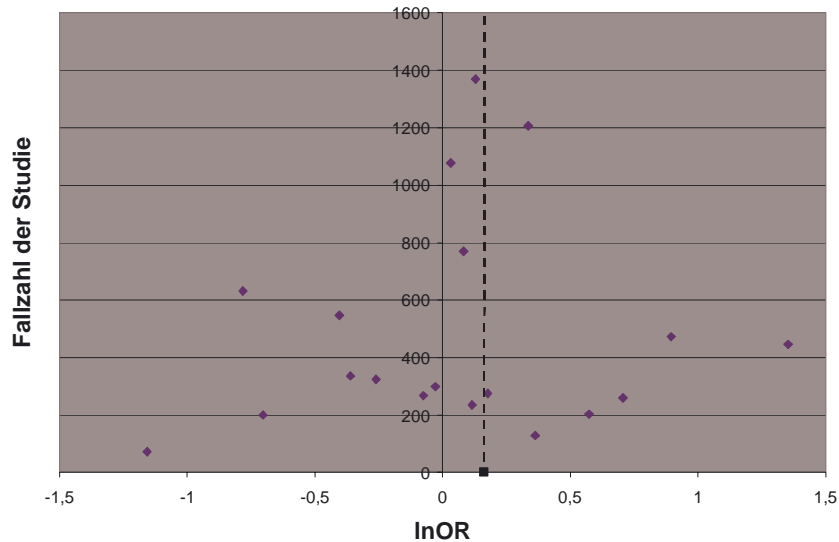


Abbildung 3.21.: Forrest-Plot aller in die Metaanalyse aufgenommenen Studien unter Berücksichtigung der eigenen Studie.

### 3.5.5. Funnel-Plot

Die Abbildung 3.22. zeigt einen Funnel-Plot der 19 Studien. Eine Spiegelung an der Achse des  $\ln OR_{ges.}$  würde ein gleichseitiges Dreieck mit Basis an der Abszisse ergeben. Durch die

weitgehend symmetrische Verteilung der jeweiligen Ergebnisse findet sich kein Hinweis auf relevante *bias* bei der Metaanalyse der Studien.



**Abbildung 3.22.:** Funnel-Plot der 19 Studien. Das  $\ln OR_{ges.}$  betrug 0,1627 (CI95  $-0,03$  bis  $0,36$ ) und wurde durch einen gestrichelten senkrechten Strich dargestellt.

### **3.6. Publikationen zur Assoziation zwischen weiteren laborchemischen Parametern und Myokardinfarkt**

Die Publikationen, in denen eine mögliche Assoziation zwischen weiteren laborchemischen Parametern und Myokardinfarkt untersucht wurde, werden in Tabelle 3.9. (vgl.: Seite 100) gegenübergestellt.

Assmann et al. untersuchten im Rahmen der *Münster Heart Study* (früher unter dem Namen PROCAM-Studie) Fibrinogen und Faktor VIIc bei gesunden Männern (Assmann et al., 1996). Es zeigte sich eine Assoziation zwischen den genannten Parametern und dem Auftreten kardialer Ereignisse während des *follow-up* in Form von plötzlichem Herztod, sowie letal und nicht-letal verlaufendem Myokardinfarkt. Es fand sich ein Zusammenhang zwischen erhöhtem Plasmafibrinogen und dem koronaren Risiko. Die Faktor VIIc-Aktivität sei nach Meinung der Autoren ein statistisch signifikanter Vorhersagewert für koronare Ereignisse. Die Fibrinogenerhöhung mit der damit verbundenen Zunahme der Blutviskosität und die vermehrte Faktor VIIc-Aktivität repräsentierten einen hyperkoagulatorischen Zustand, der die Entstehung einer Atherosklerose sowie koronarer Thromben fördere. Die Erhöhung der beiden Parameter könne jedoch auch auf einer Akut-Phase-Reaktion als Antwort auf die Entzündung im Rahmen der atherosklerotischen Gefäßerkrankung beruhen.

**Tabelle 3.9.:** Literaturstellen zur möglichen Assoziation zwischen weiteren laborchemischen Parametern und Myokardinfarkt.

Erstautor, Erscheinungsjahr	Laborchemische Parameter	Kardiale Ereignisse
Assmann et al., 1996	Fibrinogen, Faktor VIIc-Aktivität	Koronare Herzerkrankung
Demarmels et al., 1995	Fibrinogen, Faktor VIIc, Faktor Vc	Myokardinfarkt
Doggen et al., 1998	Prothrombinvariante 20210 G→A	Myokardinfarkt
Fowkes et al., 1993	Fibrinogen, D-Dimer	Koronare Herzerkrankung bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit
Haverkate et al., 1997	C-reaktives Protein	Koronare Ereignisse bei Patienten mit stabiler und instabiler <i>Angina pectoris</i>
Inbal et al., 1999	Prothrombinvariante 20210 G→A, Methylentetrahydrofolatreduktasevariante 677 C→T	Myokardinfarkt
Ireland et al., 1997	Thrombomodulin-Mutation	Myokardinfarkt
Meade et al., 1986	Faktor VII, Fibrinogen	Ischämische Herzerkrankungen
Montalescot et al., 1995	Fibrinogen, vWF	Restenose nach koronarer Angioplastie
Nordøy, 1993	Thrombozyten, Faktor VII, Faktor VIII, Fibrinogen, PAI-1	Koronare Herzerkrankung
Redondo et al., 1999	Faktor Vc und VIIc	Akuter Myokardinfarkt
Rosendaal et al., 1997 b	Prothrombinvariante 20210 G→A	Myokardinfarkt
Vaziri et al., 1992	Faktor XII-, Faktor XI-, Faktor IX-, Faktor VII-, Faktor V-, Faktor II-Aktivität, HMWK, Faktor IX, vWF, Fibrinogen, D-Dimer, t-PA, freies Protein S, Antithrombin-Aktivitäts-Konzentrations-Ratio, $\alpha_2$ -Makroglobulin-, Antiplasmin-Aktivität, $\alpha_1$ -Antitrypsin	Akuter Myokardinfarkt und instabile <i>Angina pectoris</i>
Yarnell et al., 1991	Fibrinogen, Plasmaviskosität, Leukozytenzahl	Ischämische Herzerkrankung

Legende:

VWF                    von-Willebrand-Faktor                    HMWK                    *high-molecular-weight kininogen*  
PAI-1                    *plasminogen-activator-inhibitor-1*                    t-PA                    *tissue plasminogen activator*

Demarmels et al. untersuchten bei nicht-antikoagulierten Myokardinfarktpatienten Fibrinogen, Faktor VIIc und Faktor Vc (Demarmels et al., 1995). Diese Gerinnungsparameter zeigten bei Myokardinfarktpatienten signifikant höhere Werte als in der Kontrollgruppe.

Doggen et al. untersuchten männliche Myokardinfarktpatienten auf die Prothrombinvariante G→A (Doggen et al., 1998). Es zeigte sich eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dieser Mutation und Myokardinfarkt. Durch diese Mutation sei das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, um das 50fache gesteigert. In Gegenwart zusätzlicher kardiovaskulärer Risikofaktoren stieg das Risiko zusätzlich an, Nikotinabusus bedeutete beispielsweise einen sechsfachen Risikoanstieg. Nach Ansicht der Autoren sei wegen der hohen Prävalenz dieser Mutation in der Bevölkerung und den weit verbreiteten kardiovaskulären Risikofaktoren die Prävention und Therapie dieser Risikofaktoren wesentlich.

Fowkes et al. untersuchten bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit Hämatokrit, Fibrinogen, Plasma- und Blutviskosität, vWF (von-Willebrand-Faktor), D-Dimer, Urofibrinopeptid A und Leukozytenelastase (Fowkes et al., 1993). Bei fatalen koronaren Ereignissen, die während des *follow-up* auftraten, bestand eine signifikante Assoziation mit Fibrinogen, D-Dimer und Urofibrinopeptid A. Alter und Fibrinogen waren unabhängige Vorhersagewerte für den Tod durch koronare Herzerkrankung. Die Fibrinogenkonzentration des Plasmas sei nach Auffassung der Verfasser somit nicht nur ein primärer, sondern auch ein sekundärer Risikofaktor für arterielle Erkrankungen. Die Plasmakonzentration der verknüpften Fibrinspaltprodukte, die durch das D-Dimer repräsentiert würden, diene außerdem der Vorhersage einer möglichen Progression der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. Dabei korreliere die Höhe der D-Dimer-Konzentration mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung.

Haverkate et al. untersuchten im Rahmen der *European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities (ECAT) Angina Pectoris Study* Patienten mit akuten koronaren Ereignissen auf die Entzündungsparameter CRP (C-reaktives Protein) und Serumamyloid A-Protein (Haverkate et al., 1997). Es zeigte sich eine positive Korrelation zwischen CRP und Alter, *body-mass index*, Triglyceriden, Ausmaß der Koronarstenose und insbesondere einer verminderten Ejektionsfraktion. Dagegen war das Serumamyloid A-Protein nicht mit einem höheren Risiko für koronare Ereignisse assoziiert. Die leicht erhöhte CRP-Bildung bei Patienten mit *Angina pectoris* war mit einem signifikant erhöhten Risiko für Myokardinfarkt und plötzlichen Herztod verbunden. Die CRP-Erhöhung beruhe nach Meinung der Autoren vermutlich nicht auf Myokardnekrose und Reperfusion nach Ischämie. Vielmehr reflektiere sie die intrinsische Entzündung und Gewebsschädigung in der arteriellen Läsion, mit

Atherombildung durch erhöhte CRP-Konzentrationen, was auch durch die positive Korrelation zwischen CRP und *body-mass index* sowie Triglyceriden bestätigt würde. Eine CRP-Erhöhung könne bei Patienten mit stabiler und instabiler *Angina pectoris* das Risiko für koronare Ereignisse vorhersagen.

Inbal et al. untersuchten bei Myokardinfarktpatienten die Prothrombinvariante 20210G→A sowie die Methylentetrahydrofolatreduktasevariante 677C→T (Inbal et al., 1999). Es zeigten sich keine Unterschiede in der Heterozygotenprävalenz des Prothrombinpolymorphismus zwischen den Patienten mit Myokardinfarkt und der Kontrollgruppe. Eine Homozygotie für die Methylentetrahydrofolatreduktasevariante 677C→T war bei den Myokardinfarktpatienten jedoch signifikant häufiger vertreten als bei den Kontrollpersonen. Ein Risikoanstieg zeigte sich auch bei der Kombination prothrombotischer Polymorphismen, wie Faktor V Leiden, Heterozygotie für Prothrombin 20210G→A oder Homozygotie für Methylentetrahydrofolatreduktase 677C→T, oder in Gegenwart kardiovaskulärer Risikofaktoren. Unter Berücksichtigung von arterieller Hypertonie, Hypercholesterinämie oder Diabetes mellitus stieg das Risiko um das neunfache und unter Berücksichtigung eines bestehenden Nikotinabusus sogar um das 18fache an. Somit hätten nach Auffassung der Autoren prothrombotische Polymorphismen und kardiovaskuläre Risikofaktoren einen synergistischen Effekt bei der Entstehung von Myokardinfarkten.

Ireland et al. untersuchten Patienten mit Myokardinfarkt auf Thrombomodulinmutationen (Ireland et al., 1997). Bei 4,8% der Myokardinfarktpatienten fanden sich Mutationen in der Promotorregion des Thrombomodulins. Nach Auffassung der Autoren sei eine Mutation am 5'-Ende des Thrombomodulingens mit einem etwa fünffach höheren Risiko für Myokardinfarkt verbunden. Diese Mutation beeinträchtige die antikoagulatorische Funktion des Protein C und führe zu einer vermehrten Thrombinbildung in der myokardialen Zirkulation.

Meade et al. untersuchten im Rahmen der *Northwick Park Heart Study* bei Männern, die eine ischämische Herzerkrankung entwickelten, die Gerinnungsfaktoren VII und Fibrinogen (Meade et al., 1986). Eine Erhöhung des Plasmafibrinogens war besonders bei jungen Personen mit einem erhöhten Risiko für ischämische Herzerkrankungen verbunden. Als Ursache wurde von den Verfassern die Viskositätszunahme des Blutes angesehen. Eine Erhöhung des Faktor VII bedeute ein höheres Risiko, innerhalb der nächsten fünf Jahre eine

koronare Herzerkrankung zu bekommen, nach diesem Zeitraum sei Cholesterin der wesentliche Risikofaktor. Die diätetische Fettaufnahme habe akuten Einfluß auf die Faktor VII-Aktivität und somit über die mit einer Thrombinproduktion einhergehenden Aktivierung von Faktor VII auf die Thrombo- und Atherogenese. Da thromboembolische Ereignisse unter oraler Antikoagulation auffallend zurückgingen, spiele die Koagulation somit bei der Pathogenese der ischämischen Herzerkrankung eine Rolle. Die biochemischen Störungen, die zu diesem Krankheitsbild führten, lägen mindestens so sehr im koagulatorischen System wie im Cholesterinmetabolismus.

Montalescot et al. untersuchten bei Patienten, bei denen eine Koronarangioplastie durchgeführt wurde, die Plasmawerte von t-PA (*tissue-type plasminogen activator*), PAI-1 (*plasminogen-activator-inhibitor-1*), vWF (von-Willebrand-Faktor) und Fibrinogen (Montalescot et al., 1995). Es zeigte sich eine unabhängige Korrelation zwischen dem vWF-Wert unmittelbar nach der Angioplastie, der die Thrombozytenadhäsion an der verletzten Gefäßwand repräsentiere, und der durch den Grad der intraluminalen Wiederverengung definierten Restenose. Da vWF von den Endothelzellen synthetisiert werde, spiegelte er gemäß der Autoren ernstere endotheliale Verletzungen durch den Angioplastieballon wieder, die im Verlauf zu einer verstärkten Proliferation führten. Erhöhte Fibrinogenwerte bei der Nachuntersuchung stellten einen starken biochemischen Vorhersagewert für die Restenose dar. Fibrinogen sei ein unabhängiger Marker der Restenose und möglicherweise auch ein allgemeiner Risikofaktor für spontane Koronarsklerose sowie für die Restenose nach Koronarangioplastie, die eine verschärfte Form der Atherosklerose repräsentiere. Weder t-PA noch PAI-1 spielten eine Rolle bei der Restenose.

Nordøy untersuchte potentiell thrombogene Faktoren bei Myokardinfarkt, wie Endothelzelldysfunktion, Thrombozytenhyperaktivität, Hyperkoagulabilität und Minderung der fibrinolytischen Aktivität (Nordøy, 1993). Das Auftreten von mehr als 50prozentigen Stenosen mindestens eines Koronarastes zeigte eine statistisch signifikante Assoziation mit erhöhten Werten von Fibrinogen, Plasminogen, PAI (*plasminogen-activator-inhibitor*) 1-Antigen und -Aktivität sowie t-PA (*tissue plasminogen activator*). Desweiteren bestand eine signifikante Korrelation mit Faktor VIII und Fibrinogenwerten. Bei 90% der Patienten, die an einem akuten Myokardinfarkt versterben, lägen okklusive Thromben vor. Außerdem habe das *United Kingdom Heart Disease Prevention Project* ergeben, daß nur 32% der

Myokardinfarkte durch die Hauptrisikofaktoren Hypertonus, Nikotinabusus und Hypercholesterinämie erklären ließen.

Redondo et al. untersuchten bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt die Gerinnungsfaktoren II, V, VII und X sowie die Prothrombinmutation 20210G→A (Redondo et al., 1999). Sowohl erhöhte Faktor Vc- als auch erhöhte VIIc-Werte waren unabhängige Risikofaktoren für Myokardinfarkt. Bei Kombination mit kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Rauchen oder arterieller Hypertonie, stieg das relative Risiko um das 50fache. Dies repräsentiere nach Auffassung der Autoren ein mehr als nur additives Risiko für Myokardinfarkt. Bei Faktor II und X sowie der Prothrombinmutation 20210G→A zeigte sich keine signifikante Assoziation mit Myokardinfarkt.

Rosendaal et al. untersuchten Frauen mit akutem Myokardinfarkt auf die Prothrombinmutation 20210G→A (Rosendaal et al., 1997b). Das Faktor II-Allel 20210A fand sich mit 5,1% häufiger bei den Myokardinfarktpatientinnen als bei den Frauen der Kontrollgruppe mit 1,6%. In Gegenwart kardiovaskulärer Risikofaktoren, wie beispielsweise Rauchen, stieg für Trägerinnen der Prothrombinmutation das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, um das 43fache im Vergleich zu Nichtraucherinnen ohne die Mutation an. Trägerinnen der Mutation, die gleichzeitig metabolische Risikofaktoren, wie Adipositas, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie oder Diabetes mellitus aufwiesen, zeigten ein 34fach höheres Risiko für Myokardinfarkt. Frauen mit denselben Risikofaktoren ohne die Mutation dagegen hatten nur ein 5,3fach erhöhtes Risiko. Bei jungen Frauen beruhe nach Auffassung der Autoren somit die Ursache myokardialer Ereignisse auf der Kombination atherogener und thrombotischer Faktoren.

Vaziri et al. untersuchten Blutgerinnungsfaktoren, fibrinolytische und inhibitorische Proteine bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt oder instabiler *Angina pectoris* (Vaziri et al., 1992). Bei den Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigte sich eine signifikante Reduktion der Faktor XII-Aktivität bei normaler Faktor XII-Konzentration, was mit einer Aktivierung des intrinsischen Systems vereinbar sei. Die verminderte Konzentration von HMWK (*human high-molecular-weight kininogen*) dieser Patienten, einem Substrat für aktivierten Faktor XII, unterstütze diese Theorie. Die Erhöhung der D-Dimer-Konzentration als Zeichen der Thrombinbildung und erhöhten Fibrinbildung sowie -abbau führten mit den zuvor genannten Aspekten zu einem prothrombotischen Zustand. Außerdem zeigte sich eine erhöhte



Plasmaaktivität von Faktor XI und IX sowie eine erhöhte Plasmakonzentration von Faktor IX bei signifikanter Reduktion verschiedener Gerinnungsfaktoren, wie beispielsweise Faktor VII, V und II, als mögliches Zeichen ihres Verbrauchs. Die Relation der Antithrombinaktivität zur -plasmakonzentration war vermindert, was für die Gegenwart eines funktionell inaktiven Antithrombin-Thrombin-Komplex spräche. Das biologisch aktive freie Protein S, der Kofaktor des antikoagulatorisch wirksamen Protein C, war vermindert, was den prothrombotischen Zustand weiter unterstütze. Nicht nur bei den Patienten mit akutem Myokardinfarkt sondern auch bei den Patienten mit instabiler *Angina pectoris* ergab sich eine erhöhte D-Dimer-Konzentration, was gemäß der Verfasser zeige, daß geringgradige Bildungs- und Abbauvorgänge des Fibrins auch bei Myokardischämie ohne nachweisbaren Myokardinfarkt vorlägen. Desweiteren zeigte sich ein signifikanter Anstieg des vWF (von-Willebrand-Faktor) bei diesen beiden Patientengruppen, was für das Vorliegen eines Gefäßschadens spräche. Allerdings könne vWF auch im Rahmen einer Akut-Phase-Reaktion erhöht sein. Das Akut-Phase-Protein Fibrinogen war ebenfalls erhöht, was dessen Rolle eines unabhängigen Risikofaktors für kardiovaskuläre ischämische Erkrankungen bestätige. Der relative Anstieg der t-PA (*tissue plasminogen activator*)-Konzentration sei als Indikator für die vaskuläre Streßreaktion und thrombininduzierte Freigabe dieses sich vom Endothel ableitenden fibrinolytischen Faktors zu deuten. Bei den Patienten mit instabiler *Angina pectoris* zeigte sich eine signifikant verminderte Antiplasminaktivität und erhöhte Werte für  $\alpha_2$ -Makroglobulin und  $\alpha_1$ -Antitrypsin, was für die Gegenwart zirkulierender Plasmin-Plasmininhibitor-Komplexe spräche. Diese Ergebnisse mit Pathologien in Koagulation, Fibrinolyse und den dazugehörigen Inhibitorsystemen bestätigten nach Meinung der Autoren den prokoagulatorischen Zustand bei Patienten mit akuter Myokardischämie bzw. -infarkt.

Yarnell et al. untersuchten im Rahmen der *Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Study* bei Männern, die während des *follow-up* eine ischämische Herzerkrankung entwickelten, Fibrinogen, Plasmaviskosität und Leukozytenzahl (Yarnell et al., 1991). Es zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Leukozytenzahl und dem Auftreten einer ischämischen Herzerkrankung. Dies sei nach Ansicht der Verfasser durch die Agglutination von Granulo- und Monozyten mit daraus resultierenden Leukozytenembolien zu erklären sowie durch die Rolle von Makrophagen und Monozyten bei der Entwicklung von *fatty streaks*. Desweiteren fanden sich erhöhte Werte für Fibrinogen und Plasmaviskosität bei den Myokardinfarktpatienten, die jedoch nicht voneinander unabhängig waren. Der Zusammenhang dieser drei Parameter mit ischämischen Herzerkrankungen war bei

Nichtrauchern, ehemaligen und derzeitigen Rauchern ähnlich. Deshalb sei zumindest ein Teileffekt des Rauchens bei der Entstehung einer koronaren Herzerkrankung durch Fibrinogen, Plasmaviskosität und Leukozytenzahl vermittelt. Aus diesen Ergebnissen lasse sich schließen, daß die Leukozytenzahl ein unabhängiger Risikofaktor für Myokardinfarkte darstelle ebenso wie Fibrinogen oder die Plasmaviskosität oder möglicherweise beide zusammen.

### **3.7. Publikationen zur Assoziation zwischen Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien**

#### **3.7.1. Publikationen ohne Nachweis einer Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien**

Die Publikationen, in denen keine Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien nachgewiesen wurde, werden in Tabelle 3.10. gegenübergestellt.

**Tabelle 3.10.:** Literaturstellen ohne Nachweis einer Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien.

Erstautor, Erscheinungsjahr	Arterielle Thrombophilie
Van der Bom et al., 1996	55 Patienten mit transitorischer ischämischer Attacke, 62 Patienten mit Schlaganfall
Cushman et al., 1994	44 Patienten mit vorzeitigen arteriellen Ereignissen
Cushman et al., 1998	57 Patienten mit transitorischer ischämischer Attacke, 159 Patienten mit Schlaganfall
Hansson et al., 1999	17 Patienten mit Schlaganfall
Kontula et al., 1995	236 Patienten mit transitorischer ischämischer Attacke oder zerebrovaskulärem Insult
Ridker et al., 1995	209 Patienten mit Schlaganfall

Van der Bom et al. untersuchten im Rahmen der *Rotterdam Study* Patienten mit transitorischer ischämischer Attacke und Schlaganfall auf Faktor V Leiden (van der Bom et al., 1996). Eine Resistenz gegen aktiviertes Protein C war mit einem erhöhten Risiko für zerebrovaskuläre Erkrankungen assoziiert, nicht jedoch Faktor V Leiden. Die zerebralen Arterien seien nach Meinung der Autoren empfindlicher gegenüber einem Ungleichgewicht des Protein C-Protein S-Systems als beispielsweise die Koronararterien. Thrombomodulin, ein endothelialer Kofaktor der thrombinvermittelten Aktivierung von Protein C, finde sich in allen menschlichen Geweben, nur nicht im Gehirn. Die APC-Resistenz könne der Abschätzung des zerebrovaskulären Risikos dienen.

Cushman et al. untersuchten junge Patienten mit arteriellen Thrombembolien (Cushman et al., 1994). Hierunter fanden sich periphere Gefäßerkrankungen, Schlaganfälle bzw. transitorische ischämische Attacken, Myokardinfarkte, eine *Amaurosis fugax*, ein Verschuß der *A. retinae* sowie eine Aortenthrombose. Von diesen Patienten wiesen 31,8% einen hämostatischen Defekt auf: eine verminderte fibrinolytische Aktivität, einen Protein C- oder Protein S-Mangel. Die Prävalenz des Faktor V Leiden zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied bei Patienten mit oder ohne diese hämostatischen Anomalien und war jeweils ähnlich zur Kontrollgruppe. Die APC-Resistenz stehe nach Meinung der Autoren somit in keinem Zusammenhang mit vorzeitigen arteriellen Erkrankungen. Allerdings wird der Fall eines Faktor V Leiden-positiven Mannes beschrieben, der im Alter von 28 Jahren einen Myokardinfarkt erlitten hatte.

Cushman et al. untersuchten im Rahmen der *Cardiovascular Health Study* Personen auf Faktor V Leiden (Cushman et al., 1998). Es zeigte sich auch unter Berücksichtigung kardiovaskulärer Risikofaktoren kein statistisch signifikanter Unterschied in der Prävalenz der Mutation bei Personen, die während des *follow-up* einen Schlaganfall oder eine transitorische ischämische Attacke erlitten hatten, und den Kontrollpersonen. Somit beinhaltet Faktor V Leiden nach Ansicht der Verfasser bei älteren Personen kein höheres Risiko, an einem Schlaganfall oder einer transitorischen ischämischen Attacke zu erkranken.

Hansson et al. untersuchten Männer auf APC-Resistenz (Hansson et al., 1999). In der Vorgeschichte hatten 4,5% einen Schlaganfall erlitten. Unter den Männern mit Resistenz gegen aktiviertes Protein C schien die Prävalenz für Schlaganfälle höher als bei den übrigen Männern, war allerdings nicht signifikant. Dennoch bestehe gemäß der Autoren keine Korrelation zwischen arterieller Thrombose und APC-Resistenz.

Kontula et al. untersuchten Patienten mit ischämischen Schlaganfällen und transitorischen ischämischen Attacken auf Faktor V Leiden (Kontula et al., 1995). Das Angiogramm zeigte einen statistisch nicht signifikanten Trend dahingehend, daß die durchschnittliche Länge und Dicke atherosklerotischer Läsionen sowie der durchschnittliche Stenosierungsgrad bei Mutationsträgern geringer ausgeprägt war als bei Personen ohne Faktor V Leiden. Patienten mit dieser Mutation litten statistisch signifikant häufiger an klassischer Migräne als Personen mit normalem Genotyp. Es zeige sich ein leichter, statistisch nicht signifikanter Trend zu höherer Prävalenz von Faktor V Leiden bei Patienten mit zerebrovaskulären Erkrankungen.

Thrombembolische Ereignisse könnten gemäß der Autoren bei akuten Ischämie-manifestationen neben der Atherosklerose als wesentlichem ätiologischem Faktor lediglich als kritische Präzedenzfälle angesehen werden.

Ridker et al. untersuchten im Rahmen der *Physicians' Health Study* Männer auf Faktor V Leiden (Ridker et al., 1995). Es zeigte sich keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Prävalenz dieser Mutation bei Personen, die während des *follow-up* einen Schlaganfall erlitten, und Personen ohne kardiovaskuläre Erkrankungen. Gemäß der Autoren bestünde auch unter Berücksichtigung kardiovaskulärer Risikofaktoren zwischen Faktor V Leiden und einem erhöhten Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden, keine Assoziation. Die in dieser Studie untersuchten Männer wurden größtenteils antikoagulatorisch therapiert, was das Auftreten von Schlaganfällen während des *follow-up* vermindert haben könnte.

### **3.7.2. Publikationen mit einer positiven Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien**

Die Publikationen, in denen eine Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien nachgewiesen wurde, werden in Tabelle 3.11. gegenübergestellt.

**Tabelle 3.11.:** Literaturstellen mit Nachweis einer positiven Assoziation zwischen Faktor V Leiden und sonstigen arteriellen Thrombophilien.

Erstautor, Erscheinungsjahr	Arterielle Thrombophilie
Eskandari et al., 1998	16 Patienten mit zerebrovaskulärem Insult, 3 Patienten mit thromboembolischen digitalen Ischämien
Ganesan et al., 1996	19 Kinder mit Schlaganfall
Kiechl et al., 1999	21 Patienten mit transitorischer ischämischer Attacke und Schlaganfall, 37 Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit
Lindblad et al., 1994	3 Patienten mit Verschlüssen peripherer arterieller Bypasses
Nowak-Göttl et al., 1996	18 Kinder mit arteriellen Thrombembolien

Eskandari et al. untersuchten Personen, die eine heterozygote Faktor V Leiden-Mutation und arterielle Thrombembolien aufwiesen (Eskandari et al., 1998). Andere Abnormalitäten der Blutgerinnung wurden ausgeschlossen. Mehr als die Hälfte der Heterozygoten hatten Schlaganfälle erlitten, 68,8% waren jünger als 50 Jahre. Nur bei 6,3% dieser Patienten konnten signifikante arteriosklerotische Veränderungen der *A. carotis* festgestellt werden. Arterielle Emboli oder distale Thrombosen seien nach Ansicht der Verfasser bei sonst normaler Anatomie der *A. carotis* bei heterozygoten Merkmalsträgern für Faktor V Leiden

verantwortlich für die Entstehung von Schlaganfällen bei jungen Menschen. Diese Mutation könne ein Hauptrisikofaktor für die Entstehung arterieller Thrombembolien bei sonst gesunden jungen Personen sein, die an ungeklärtem Schlaganfall, Myokardinfarkt und/oder Ischämie der Extremitäten leiden, sein.

Ganesan et al. untersuchten Kinder mit ischämiebedingtem Schlaganfall in Hinblick auf eine APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden (Ganesan et al., 1996). Bei 15,8% der Kinder lag diese Mutation vor, was die erwartete Prävalenz von 3,5% in der Bevölkerung Großbritanniens weit übertrifft. Es bestehe nach Auffassung der Autoren offenbar ein Zusammenhang zwischen APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden und dem Auftreten von Schlaganfällen im Kindesalter.

Kiechl et al. untersuchten Einwohner der Stadt Bruneck auf Faktor V Leiden (Kiechl et al., 1999). Das durchschnittliche APC-Ratio bei nicht-stenosierender Atherosklerose der *A. carotis* und *A. femoralis* unterschied sich nicht von demjenigen bei Fehlen atherosklerotischer Läsionen. Es ergab sich jedoch eine starke und unabhängige Assoziation zwischen dem APC-Ratio und dem Risiko für Stenosen >40% in *A. carotis* und *A. femoralis*. Diese Assoziation zwischen Phänotyp APC-Resistenz und fortgeschrittener Atherosklerose in diesen beiden Gefäßarealen sei vom Genotyp des Faktor V Leiden unabhängig. Unter Therapie mit Acetylsalicylsäure war die prädiktive Aussage eines niedrigen APC-Ratios für fortgeschrittene Atherosklerose weniger eindeutig als bei unbehandelten Personen. Bei Patienten mit transitorischer ischämischer Attacke und Schlaganfall sowie peripherer arterieller Verschlusskrankheit stellte sich das APC-Ratio als signifikanter risikovorhersagender Parameter dar. Bei Personen, die an diesen Erkrankungen verstarben, war das APC-Ratio signifikant niedriger als bei Patienten, die an anderen Erkrankungen starben, oder lebenden Personen ohne manifeste vaskuläre Erkrankung. Desweiteren zeigte sich eine signifikant höhere Prävalenz für Faktor V Leiden bei den Personen, die an den genannten kardiovaskulären Erkrankungen verstarben, im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen. Die widersprüchlichen Aussagen in der Literatur über eine Assoziation zwischen Resistenz gegen APC und arteriellen Ereignissen beruhten nach Meinung der Autoren darauf, daß funktionelle Tests zwar eine signifikant Assoziation aufzeigten, die Genotypisierung jedoch in der Aussage widersprüchlich gewesen sei. Außerdem habe eine Langzeittherapie mit Acetylsalicylsäure den prädiktiven Effekt niedriger APC-Ratios für fortgeschrittene Atherosklerose aufgehoben.

Lindblad et al. beschrieben die Gegenwart einer APC-Resistenz bei Patienten, deren periphere arterielle Bypasses okkludierten (Lindblad et al., 1994). Bei einem dieser Patienten handelte es sich um einen 32jährigen Mann, dessen Plasma normale Werte für Protein C und S sowie Antithrombin ergab. Das niedrige APC-Ratio von 1,6 und die APC-Resistenz beider Eltern sowie eines Bruders legten nach Auffassung der Autoren eine Heterozygotie des Betroffenen nahe.

Nowak-Göttl et al. untersuchten Kinder mit arteriellen Thrombembolien auf Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden (Nowak-Göttl et al., 1996). Bei den Kindern mit arteriellen Thrombembolien in Form von neonatalem Schlaganfall, ischämischem Schlaganfall jenseits des Säuglingsalters und Thrombose der *A. femoralis* fand sich eine statistisch signifikant höhere Prävalenz der Faktor V Leiden-Mutation als in der Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse führten nach Ansicht der Autoren zu dem Schluß, daß APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden nicht nur mit venösen, sondern auch mit arteriellen Thrombosen assoziiert sei.

## **IV. Diskussion**

Die klinische Relevanz der Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden bei arterieller Thrombophilie wird kontrovers diskutiert. Während frühere Publikationen keine Assoziation zwischen APC-Resistenz und Myokardinfarkt nachweisen konnten, zeigt sich vorwiegend in neueren Publikationen durchaus eine mögliche Korrelation. Um die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit ihren Stärken und Schwächen besser analysieren zu können, wird diese im folgenden zunächst mit den in die Metaanalyse eingeschlossenen Publikationen verglichen. Schließlich soll auf die Frage der klinischen Relevanz und der Konsequenzen des Faktor V Leiden bei Myokardinfarkt näher eingegangen werden.

### **4.1. Positive Assoziation zwischen Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und Myokardinfarkt in der vorliegenden Studie im Vergleich zu bisherigen Publikationen**

Trotz kontroverser Aussagen in der Literatur zur Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt fand sich zwischen den Ergebnissen der 19 in die weitere Metaanalyse eingeschlossenen Studien keine statistisch signifikante Heterogenität. Wie auch graphisch in einem Forrest-Plot veranschaulicht (vgl.: Abbildung 3.21.) streuen die Ergebnisse der 19 Studien im Rahmen des Zufallsbereichs um das gemeinsame  $odds-ratio_{ges.}$ . Dieses umschließt mit seinem durch die große Fallzahl engen Konfidenzintervall den nullhypothetischen Erwartungswert und spricht gegen einen Effekt von Faktor V Leiden bei Myokardinfarkt.

Insgesamt lassen die veröffentlichten Ergebnisse bisheriger Publikationen keine Heterogenität erkennen. Die gepoolten Ergebnisse zeigen ein allenfalls minimal und trotz der hohen Fallzahl statistisch nicht auffällig erhöhtes Risiko für Myokardinfarkt bei Faktor V Leiden. Das differierende Ergebnis der vorliegenden Studie kann verschiedene Ursachen haben und auf Fehlern in der Metaanalyse oder des Studiendesigns der vorliegenden Studie beruhen.

*Bias* stellen bei Metaanalysen ein bekanntes Problem dar, da sie deren Ergebnisse im Sinne eines systematischen Fehlers verzerren:

- *Publication bias*: Studien mit statistisch signifikanten Ergebnissen werden häufiger publiziert als solche mit nicht-signifikanten Ergebnissen.
- *Location bias*: Veröffentlichungen in anderen Sprachen werden in Metaanalysen seltener berücksichtigt als Publikationen in englischer Sprache.



Deswegen sollten mit einem Funnel-Plot relevante *selection bias* im Rahmen der Metaanalyse graphisch aufgezeigt werden (vgl.: Abbildung 3.22.). Dabei fand sich kein Hinweis auf relevante *bias*, sicher können diese jedoch bei einer Zahl von 19 in die weitere Metaanalyse eingeschlossenen Studien nicht ausgeschlossen werden.

Da sich das Ergebnis der vorliegenden Studie jedoch von anderen Publikationen unterscheidet, müssen auch *bias* beruhend auf dem Design der vorliegenden Studie kritisch beleuchtet werden:

- *Selection bias*: Die Auswahl der Personen im Patienten- und Kontrollkollektiv kann Ergebnisse verfälschen.
- *Information bias*: Bei der Datengewinnung, -dokumentation oder -auswertung kann es zu Fehlern kommen, die das Ergebnis verzerren.
- *Confounding*: Beispielsweise kann durch unterschiedliche ethnische Zusammensetzung der Vergleichsgruppen das Ergebnis verfälscht werden.

Im folgenden soll deswegen zunächst allgemein auf den Fall-Kontroll-Ansatz der vorliegenden Studie eingegangen werden. Anschließend werden die durchgeführte Diagnostik für Faktor V Leiden sowie die Alters-, Geschlechts- und ethnische Verteilung der Myokardinfarktpatienten näher beleuchtet.

Die Prävalenz der Faktor V Leiden-Mutation betrug bei den Myokardinfarktpatienten 8,7%, was verglichen mit der Mutationsprävalenz in der Kontrollgruppe von 3,7% eine statistisch signifikante Assoziation darstellt. Die Mutationsprävalenz in der Kontrollgruppe liegt in der gleichen Größenordnung wie in zwei anderen veröffentlichten Vergleichskollektiven Bayerns (Spannagl et al., 1998; Rees et al., 1995). In der *Bavarian thromboembolic risk study* (BATERS) wurde die Prävalenz des Faktor V Leiden in Bayern mit 5,5% (45/821) angegeben (Spannagl et al., 1998). Allerdings wurden in dieser Studie nur Frauen im Alter von 18 bis 49 Jahren untersucht, die orale Kontrazeptiva einnahmen. Da es sich bei Faktor V Leiden um eine autosomale und nicht um eine gonosomale Mutation handelt, und die Einnahme oraler Kontrazeptiva zwar bei bekannter Assoziation dieser Mutation mit venösen Thrombembolien die Inzidenz von venösen Ereignissen, nicht jedoch die Prävalenz von Faktor V Leiden beeinflusst, würde der Vergleich mit diesem aus Frauen bestehenden Kollektiv die eigenen Ergebnisse noch unterstützen. Die zweite Studie postulierte eine Prävalenz des Faktor V Leiden in der Bevölkerung Bayerns von 4,3% (2/47; Rees et al., 1995). Infolge der geringen Fallzahl ist es schwierig, allgemein gültige Aussagen treffen zu können. Sicherlich sind diese

beiden Publikationen (Spannagl et al., 1998; Rees et al., 1995) nicht für einen Fall-Kontroll-Ansatz mit den Myokardinfarktpatienten der vorliegenden Studie geeignet, sie würden aber die Beobachtung bestätigen, daß zwischen Faktor V Leiden und dem Auftreten von Myokardinfarkt eine Assoziation besteht.

Doch auch die eigene Kontrollgruppe muß kritisch betrachtet werden. Die Rekrutierung von Kontrollpersonen aus einem Patientengut im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität, bei dem ebenfalls die Thrombophiliediagnostik durchgeführt wurde, birgt die Gefahr einer hohen Selektion. Eine Erfassung von repräsentativen Kontrollpersonen über das Einwohnermeldeamt wäre ohne Zweifel optimaler gewesen, war jedoch aus ökonomischen Gründen nicht realisierbar. Bei bekannter Assoziation von Faktor V Leiden mit venösen Thrombembolien wurden als gangbarer Mittelweg sowohl im Patienten- wie auch im Kontrollkollektiv alle Personen mit venösen Ereignissen in der Anamnese (tiefe Beinvenenthrombose, Lungenembolie) von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Während die Altersverteilung mit einem Durchschnittsalter von 56,1 Jahren (18 bis 86 Jahre) im Patientenkollektiv und von 54,5 Jahren (12 bis 88 Jahre) in der Kontrollgruppe gut übereinstimmten, war dies bezogen auf die Geschlechtsverteilung leider nicht zu erzielen. Im Patientenkollektiv waren 77,5% Männern und 22,5%, in der Kontrollgruppe jedoch 68,3% Männern und 31,7% Frauen. Im Fall-Kontroll-Ansatz wäre eine stärkere Übereinstimmung der Geschlechtsverteilung sicherlich wünschenswert gewesen. Da bei Faktor V Leiden jedoch eine autosomale und nicht eine gonosomale Mutation vorliegt, und sich die Aussagen zur Geschlechtsverteilung in der vorliegenden Studie auf das Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten sowie auf Faktor V Leiden-positive Patienten beziehen, wurde dieses Kontrollkollektiv belassen.

Das rohe *odds-ratio* für Myokardinfarkt bei Faktor V Leiden betrug 2,4645. Unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Nationalität ergab sich ein adjustiertes *odds-ratio* für Faktor V Leiden von 2,656. Somit war das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, für Träger des Faktor V Leiden im Vergleich zu Personen ohne diese Mutation mehr als doppelt so hoch. Da die vorliegende Studie einen Fall-Kontroll-Ansatz hat und somit nur Patienten eingeschlossen wurden, die einen Myokardinfarkt überlebt haben, könnte dieses *odds-ratio* allerdings auch für einen protektiven Faktor sprechen. Etwa 30% aller Myokardinfarktpatienten versterben vor Erreichen des Krankenhauses (Herold et al., 1999). Wenn mehr Faktor V Leiden-positive als -negative Myokardinfarktpatienten die Klinik lebend erreichen würden, könnte die Mutation auch protektiv sein, was insgesamt allerdings

als eher unwahrscheinlich zu bewerten ist. Auskunft darüber könnte ein prospektiver Studienansatz bieten, was aus ökonomischen Gründen leider nicht praktikierbar war.

#### **4.1.1. Berücksichtigung von Phänotyp und Genotyp des Faktor V Leiden**

Der Phänotyp der Resistenz gegen aktiviertes Protein C wird durch den funktionellen Test nach Dahlbäck bestimmt (Dahlbäck et al., 1993). In diesem Testansatz läßt sich durch kontinuierliche Messung der Variablen das Ausmaß der APC-Resistenz gut abschätzen. Allerdings können die 90-95% der Fälle von APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden nicht von den übrigen 5-10% der Fälle infolge Lupus Antikoagulans-Aktivität, erhöhten Faktor VIII-Werten, Gravidität (Williamson et al., 1998) oder Effekten durch orale Kontrazeptiva abgegrenzt werden. Diese APC-Resistenz ohne Faktor V Leiden kann auch auf Mutationen an anderen Stellen des Faktor V-Moleküls oder an der APC-Spaltungsstelle des Faktor VIII-Moleküls zurückzuführen sein (Laffan, 1998). Deswegen ist heute der modifizierte funktionelle Test mit Faktor V-Mangelplasma gebräuchlicher (Jorquera et al., 1994; Trossa et al., 1994).

Der Genotyp der Faktor V Leiden-Mutation wird durch die Genotypisierung bestimmt (Zöller et al., 1994). Die Penetranz des Faktor V Leiden-Gens scheint jedoch in seltenen Fällen inkomplett zu sein. So wurde in der Literatur von zwei für die Mutation homozygoten Schwestern berichtet, die keinerlei Thrombosen aufwiesen und auch ansonsten klinisch vollkommen unauffällig waren (Greengard et al., 1994). Diese Beobachtung stehe im völligen Gegensatz zur klinisch fulminanten Situation bei homozygotem Mangel an Protein C, Protein S oder Antithrombin. Autosomal-dominant vererbte Gene könnten in Abhängigkeit vom Alter, von der Intensität, mit der nach dem Phänotyp gesucht werde, von Umwelteinflüssen oder Effekten anderer Gene eine inkomplette Penetranz aufweisen (Hajjar, 1994). In der Literatur zeigte sich bei Patienten mit Schlaganfall, allerdings nicht bei Patienten mit Myokardinfarkt, eine Assoziation mit APC-Resistenz als kontinuierlich gemessener Variablen, jedoch nicht mit Faktor V Leiden als solchem (van der Bom et al., 1996). Somit ist das Ausmaß an APC-Resistenz möglicherweise wichtiger und eventuell prädiktiver als die An- oder Abwesenheit eines Faktor V Leiden, was die Phrase „*It is your phenotype that kills you, not your genotype.*“ bestätigen würde.

In den Publikationen wurden Genotyp und Phänotyp des Faktor V Leiden unterschiedlich bestimmt. Beispielsweise wurden in den Studien von Amowitz et al. (1999), Ardissino et al. (1996), Baranovskaya et al. (1998), Cushman et al. (1998), Doggen et al. (1998), Emmerich et

al. (1995), Eskandari et al. (1998), Holm et al. (1999), Inbal et al. (1999), Kontula et al. (1995), März et al. (1995), Ridker et al. (1995), Rosendaal et al. (1997a) und Samani et al. (1994) lediglich die Genotypisierung zur Diagnostik der Mutation durchgeführt. Auf diese Weise wurden der Phänotyp und andere Ursachen für APC-Resistenz (5-10%) nicht berücksichtigt, obwohl mittels des Phänotyps der APC-Resistenz im Plasma eventuell prognostisch wichtigere Aussagen getroffen werden könnten. Andererseits wurden beispielsweise in den Studien von Demarmels et al. (1995) und Eritsland et al. (1995) zur Diagnostik der Mutation lediglich der funktionelle Test ohne Faktor V-Mangelplasma angewandt. Somit wurden neben APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden auch die übrigen Ursachen erfaßt. Somit waren Sensitivität und Spezifität für die Faktor V Leiden-Mutation bei diesem Testansatz nicht gewährleistet. In der Studie von Hansson et al. wurde zur Diagnostik der Mutation nur der funktionelle Test mit Faktor V-Mangelplasma angewandt (Hansson et al., 1999). Durch diese Modifikation des Testansatzes wurden Sensitivität und Spezifität auf nahezu 100% erhöht. Nach den Empfehlungen des Instituts für Klinische Chemie des Klinikums Großhadern ist dadurch jedoch eine eindeutige Unterscheidung zwischen Homo- und Heterozygotie nicht immer möglich, weswegen dort Patienten mit pathologischen Werten im modifizierten funktionellen Test zusätzlich genotypisiert werden.

In der vorliegenden Studie wurde zur Diagnostik des Faktor V Leiden bei den 507 Myokardinfarktpatienten sowie den 404 Personen der Kontrollgruppe der modifizierte funktionelle Test mit Faktor V-Mangelplasma durchgeführt, bei pathologischen Testergebnissen wurde zusätzlich genotypisiert. Bei 22 Patienten wurde nur genotypisiert, da der funktionelle Test wegen mangelhaften Citratplasmas nicht durchgeführt werden konnte. Mit diesen beiden Testansätzen sollten die jeweiligen methodischen Vorteile für die Studie genutzt werden. Durch den modifizierten funktionellen Test wurde zum einen das Ausmaß des Phänotyps APC-Resistenz bestimmt, welches möglicherweise prädiktiver als die Gegenwart des Faktor V Leiden sein könnte, zum anderen wurde bei auffälligen Werten die Indikation zur zusätzlichen Genotypisierung gestellt. Die Genotypisierung, die aus ökonomischen Gründen leider nicht bei allen Studienteilnehmern durchgeführt werden konnte, diente der eindeutigen Unterscheidung zwischen homo- und heterozygoter Mutation. Der funktionelle Test mit Faktor V-Mangelplasma ergab im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten eine Häufung im unteren Referenzbereich. Dies beruht vermutlich auf dem deutlich niedrigeren APC-Ratio bei den 44 Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten. Die Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung ergab im

Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten bei Frauen ein niedrigeres APC-Ratio als bei Männern. Dies wird durch die Beobachtungen von Kiechl et al. und Lowe et al. unterstützt, wonach Frauen im Vergleich zu Männern physiologischerweise einen leicht thrombogenen Zustand aufweisen (Kiechl et al., 1999; Lowe et al., 1999). Im Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten jedoch fand sich bei den Männern tendenziell ein niedrigeres APC-Ratio als bei den Frauen. Dies beruht möglicherweise darauf, daß das bei Frauen physiologisch geringere APC-Ratio durch andere Gerinnungsparameter ausgeglichen werden könnte, um thromboembolischen Ereignissen vorzubeugen. Bei zusätzlicher Gegenwart eines Faktor V Leiden könnten diese Parameter dann ein nochmaliges, weiteres Absinken des APC-Ratios verhindern.

Bei der Genotypisierung waren in der vorliegenden Studie Homo- und Heterozygotie für Faktor V Leiden stets mit pathologischen Werten im modifizierten funktionellen Test verbunden. Somit lag bei keinem der untersuchten Myokardinfarktpatienten eine inkomplette Penetranz dieser Mutation vor. Bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten waren 4,5% homozygote und 95,5% heterozygote Träger der Mutation.

#### **4.1.2. Berücksichtigung der Altersverteilung der Myokardinfarktpatienten**

Die Prävalenz der koronaren Herzerkrankung, deren maximale Ausprägung der akute Myokardinfarkt mit seinen Komplikationen darstellt, liegt bei bis zu 20% der Männer im mittleren Lebensalter (Herold et al., 1999), bei Frauen nimmt infolge des Östrogenmangels die Häufigkeit erst postmenopausal auf das bei Männern gegebene Risikoniveau zu (Breithardt et al., 1998). Dieses Risiko kann bei Frauen mittels einer konsequenten Östrogensubstitution um etwa 50% gesenkt werden (Taubert, 1998).

Die Altersverteilung stellt einen wichtigen, in Studien zu berücksichtigenden Faktor dar. Einerseits ist die Atherogenese als Grundlage einer koronaren Herzerkrankung ein langjähriger phasenhafter Prozeß (Riede et al., 1995; Libby, 1998), der sich abhängig von der Gegenwart einzelner kardiovaskulärer Risikofaktoren, wie Hyperlipidämie oder arterieller Hypertonie, in bestimmten Altersgruppen in unterschiedlichen Stadien befindet. Andererseits findet sich die zu thromboembolischen Ereignissen führende Hyperkoagulabilität gehäuft bei jungen Frauen unter dem Einfluß einer Gravidität oder oraler Kontrazeption. Zu einer Störung der Hämodynamik kommt es beispielsweise im Rahmen des vaskulären Alterungsprozesses. Gerade das APC-Ratio zeigt eine Altersabhängigkeit, indem es mit steigendem Lebensalter um 0,07 pro Dekade absinkt (Kiechl et al., 1999) und somit für einen mit dem Alter zunehmend thrombophileren Zustand spricht.

In den Publikationen wurden bei der Altersverteilung unterschiedliche Schwerpunkte gesetzt. Beispielsweise wurden in den Studien von Amowitz et al. (1999), Ardissino et al. (1996), van Bockxmeer et al. (1995), Dacosta et al. (1998), Inbal et al. (1999) und Rosendaal et al. (1997a) nur jüngere Patienten und in den Studien von van der Bom et al. (1996), Cushman et al. (1998) und Hansson et al. (1999) nur ältere Patienten untersucht. In der Studie von Redondo et al. wird die Altersverteilung nicht näher beschrieben (Redondo et al., 1999) und in der Studie von Ridker et al. auf die Altersgruppe zwischen 40 und 60 Jahre eingegrenzt (Ridker et al., 1995).

In die vorliegende Studie wurden die Myokardinfarktpatienten unabhängig vom jeweiligen Alter aufgenommen. Die Altersspanne erstreckte sich von 18 bis 86 Jahren beim ersten Myokardinfarkt ereignis. Dadurch wurden sowohl jüngere Patienten ohne wesentliche Atherosklerose, bei denen eventuell eine Thrombophilie in der Genese des Myokardinfarkts eine größere Rolle spielen könnte, berücksichtigt als auch ältere Patienten, bei denen Atherosklerose die Hauptursache kardiovaskulärer Erkrankungen darstellt.

Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts betrug im Gesamtkollektiv 56,1 Jahre, was verglichen mit dem Durchschnittsalter bei den Faktor V Leiden-positiven Patienten von 54,5 Jahren gegen eine statistisch signifikante Assoziation spricht. Die Tatsache, daß der Genotyp des Faktor V Leiden nicht zu vorzeitigen Myokardinfarkten führte, zeigt, daß zur Auslösung eines Myokardinfarkt ereignisses zusätzliche Trigger in Form kardiovaskulärer Risikofaktoren notwendig sind. Dies würde beispielsweise die von Rosendaal et al. beschriebene Synergie mit Nikotinabusus unterstreichen (Rosendaal et al., 1997b). Da jedoch im Fall-Kontroll-Ansatz nur Patienten untersucht wurden, die einen Myokardinfarkt überlebten, wäre es durchaus denkbar, daß letal endende Ereignisse, gerade auch in jungen Jahren, vermehrt mit Faktor V Leiden assoziiert sind. Unterstützt würde diese Theorie durch die Beobachtungen von Hille et al., wonach das Risiko, an einer koronaren Herzerkrankung unter 45 Jahren zu versterben, bei Eltern von Kindern mit Faktor V Leiden neunfach gesteigert war (Hille et al., 1997).

#### **4.1.3. Berücksichtigung der Geschlechtsverteilung der Myokardinfarktpatienten**

Als unbeeinflussbarer Risikofaktor der Atherosklerose und damit auch einer koronaren Herzerkrankung gilt das männliche Geschlecht. Bei der koronaren Herzerkrankung ergibt die Geschlechtsverteilung männlich zu weiblich das Verhältnis zwei bis drei zu eins (Herold et al., 1999). Die geringere Prävalenz der koronaren Herzerkrankung bei Frauen beruht auf dem



vasoprotektiven Effekt des Östrogens in der fertilen Phase. Über eine Senkung des LDL (*low density lipoprotein*) und eine Erhöhung des HDL (*high density lipoprotein*) im Plasma um je 10 bis 20% verhindert Östrogen die Entstehung einer Atherosklerose, die glatte Gefäßmuskulatur wird günstig beeinflusst und die thrombozytäre Thromboxan A<sub>2</sub>-Synthese wird verringert (Taubert, 1998). Die durchschnittliche APC-Aktivität bei Männern ist signifikant höher als bei Frauen. Außerdem zeigen prämenopausale Frauen ein niedrigeres APC-Ratio als postmenopausale, während einer Gravidität oder unter Östrogentherapie sinkt es weiter ab (Kiechl et al., 1999). Das niedrigere APC-Ratio von Frauen bei Einnahme oraler Kontrazeptiva könne durch eine verkürzte aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und damit verbundene erhöhte Faktor VIIIc- und IXc-Werte erklärt werden (Lowe et al., 1999). Somit resultiert physiologischerweise in der fertilen Phase einer Frau ein leicht thrombogener Zustand.

In den publizierten Studien wurden bei der Geschlechtsverteilung unterschiedliche Schwerpunkte gesetzt. Beispielsweise wurden in den Studien von Doggen et al. (1998), Emmerich et al. (1995), Hansson et al. (1999), Inbal et al. (1999), März et al. (1995) und Ridker et al. (1995) nur Männer und in den Studien von Ardissino et al. (1996), van Bockxmeer et al. (1995), Eritsland et al. (1995), Prohaska et al. (1995) und Redondo et al. (1999) größtenteils Männer untersucht. In den Studien von Amowitz et al. (1999) und Rosendaal et al. (1997a) wurden nur Frauen untersucht. In den Studien von Eskandari et al. (1998), Hille et al. (1997) und Lowe et al. (1999) wurden zu etwa gleichen Teilen Männer und Frauen untersucht. Somit wurde die epidemiologische Geschlechtsverteilung in der Prävalenz der koronaren Herzerkrankung häufig nicht berücksichtigt. In den Publikationen von Baranovskaya et al. (1998), van der Bom et al. (1996) und Samani et al. (1994) wird die Geschlechtsverteilung des Studienkollektivs nicht näher beschrieben.

In die vorliegende Studie wurden Myokardinfarktpatienten unabhängig vom jeweiligen Geschlecht aufgenommen. Das dabei sich ergebende Geschlechtsverhältnis mit 3:1 Männern zu Frauen stimmt mit epidemiologischen Beobachtungen überein.

Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten waren 77,5% Männer und 22,5% Frauen, was verglichen mit 68,2% Männern und 31,8% Frauen bei den Faktor V Leiden-positiven Patienten gegen eine signifikante Assoziation zwischen der Mutation und dem Geschlecht des Myokardinfarktpatienten spricht. Unter dem Vorbehalt, daß die Fallzahl der Myokardinfarktpatienten mit Mutation zu gering ist, um allgemein gültige Aussagen treffen



zu können, waren in der vorliegenden Studie im Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten Frauen mit 31,8% tendenziell häufiger vertreten als im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten mit 22,5%. Diese Häufung von Frauen könnte darauf beruhen, daß deren physiologische leichte Thrombogenität durch die Mutation zusätzlich gesteigert wird, was in Gegenwart bestimmter Trigger zu koronaren Verschlüssen führen könnte. Rosendaal et al. stellten die Hypothese auf, daß sich sowohl die Ätiologie als auch das Auftreten von Myokardinfarkten bei den beiden Geschlechtern unterschieden (Rosendaal et al., 1997a). Unabhängig von der Gegenwart von Faktor V Leiden steigere endogenes und exogenes Östrogen die APC-Resistenz bei Frauen und senke ferner die Inaktivierungsrate von Faktor Va durch APC. Zur Frage, inwiefern Faktor V Leiden bei Frauen einen wichtigeren prädisponierenden Risikofaktor darstellen könnte als bei Männern, würde sich eine prospektive Studie, die beide Geschlechter einschließt, anbieten, was aus ökonomischen Gründen leider nicht praktikierbar war.

#### **4.1.4. Berücksichtigung der ethnischen Zugehörigkeit der Myokardinfarktpatienten**

Wie aus Tabelle 4.1. ersichtlich (vgl.: Seite 120) zeigt die Prävalenz der Faktor V Leiden-Mutation weltweit eine regional sehr unterschiedliche Verteilung.

In Europa ist sie eine der häufigsten monogenetischen Erkrankungen, während sie in Afrika und Asien äußerst selten ist (Rees et al., 1995). Die Prävalenz variiert abhängig von geographischen Regionen und ethnischen Populationen weltweit von 0,0% bis 13,4%, mit einem deutlichen Nord-Süd-Gradienten der Prävalenz von Faktor V Leiden innerhalb Europas. Diese Punktmutation in einer umschriebenen Region beruhe vermutlich auf ererbter und nicht auf spontaner Mutation (Rees et al., 1995), was auch mit der hohen Prävalenz unter Kaukasiern vereinbar wäre. Durch Migration wurde sie offenbar verteilt. Die Mutation wurde über Generationen weitervererbt, da sie den heterozygoten Trägern in der Evolution einen Selektionsvorteil bot. In der „Zeit der Jäger und Sammler“ führte der prothrombotische Zustand zu einer verkürzten Blutungszeit und einer verminderten Sterberate bei Traumen, einer verminderten Menstruations- und postpartalen Blutung und damit auch zu einem geringeren Risiko eines Eisenmangels (Rees et al., 1995). Außerdem sei eine leichte thrombotische Tendenz vorteilhaft bei der fetalen Implantation (Majerus, 1994) und die Plazentafunktion könne dadurch möglicherweise verbessert werden (Hajjar, 1994). In Gegenwart zusätzlicher, zivilisationsbedingter Risikofaktoren und verbesserter medizinischer

Versorgung verliert dieser Selektionsvorteil seine Relevanz und ein thrombophiler Zustand wird sogar zum Nachteil.

**Tabelle 4.1.:** Weltweite Verteilung des Faktor V Leiden (modifiziert nach Rees et al., 1995).

Kontinent	Land	Prävalenz von Faktor V Leiden	
		Prozentzahl	Absolutzahl
Europa	Großbritannien (Weiße)	8,9	21/237
	Island	4,2	4/96
	Griechenland (Zypern)	13,4	25/187
	Italien	0,0	0/49
	Deutschland (Bayern)	4,1	2/49
	insgesamt	8,4	50/618
Afrika, mittlerer Osten	Kenia (Luo)	0,0	0/60
	Senegal (Mandenka)	0,0	0/96
	Sambia	0,0	0/95
	Saudiarabien	0,0	0/55
	insgesamt	0,0	0/306
Asien	Indonesien (Sumatra)	0,0	0/105
	Taiwan ( <i>Aboriginals</i> )	0,0	0/83
	Mongolei	0,0	0/36
	Hong Kong- Chinesen	0,0	0/48
	insgesamt	0,0	0/272
Australasien	Australien ( <i>Aboriginals</i> )	0,0	0/73
	Papua Neuguinea	0,0	0/95
	insgesamt	0,0	0/168
Kleinasien	Pakistan	0,0	0/36
	Indien	2,1	2/97
	Sri Lanka	0,0	0/47
	insgesamt	0,1	2/180
Amerika	Vancouver (Indianer)	0,0	0/36
	Peru (Indianer)	0,0	0/19
	Jamaica	0,0	0/91
	insgesamt	0,0	0/146

Gerade der Aspekt der ethnischen Homogenität ist in der heutigen Zeit der zunehmenden Mobilität sehr schwer zu realisieren. So konnte auch in einigen publizierten Studien nur näherungsweise auf die regionalen und ethnischen Unterschiede in der Prävalenz des Faktor V Leiden eingegangen werden. Beispielsweise wurde in der Studie von Ridker et al. angegeben, daß Weiße der Ostküst der USA untersucht wurden (Ridker et al., 1995). Da sich jedoch in den USA eine starke Durchmischung einzelner Bevölkerungsgruppen aus unterschiedlichsten europäischen Ursprungsländern findet, ist es unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Prävalenzen bereits innerhalb Europas (vgl.: Tabelle 4.1.) schwierig, ein ethnisch homogenes Kollektiv aufzustellen, um dessen Prävalenz zu bestimmen. Dabei ist die

wahrscheinliche Durchmischung mit anderen außereuropäischen Bevölkerungsgruppen noch außer acht gelassen. In der Studie von Samani et al. wurde die Prävalenz von Faktor V Leiden bei den Myokardinfarktpatienten allgemein mit der weltweiten Prävalenz der Mutation von zwei bis sieben Prozent verglichen (Samani et al., 1994). Bei unterschiedlicher Prävalenz in den einzelnen ethnischen Gruppen wäre jedoch eine Berücksichtigung der regionalen Mutationsprävalenz optimaler gewesen.

In der vorliegenden Studie wurde versucht, ein möglichst ethnisch homogenes Kollektiv zu untersuchen. Sowohl die 507 Myokardinfarktpatienten als auch die 404 Personen der Kontrollgruppe stammten vorwiegend aus Bayern.

In einer nachgeschalteten Subgruppenanalyse diente ein deutscher Name (Vor- bzw. Nachname) als Proxy-Variable für die deutsche Nationalität. Sicherlich wäre eine primäre Erfassung der Nationalität im Rahmen der Rekrutierung von Patienten und Kontrollpersonen optimaler gewesen. Allerdings wäre auch dieser Ansatz nicht frei von Verzerrungen. Bei der Betrachtung einer Mutationsprävalenz spielt die ethnische Herkunft eine entscheidende Rolle als die ausgewiesene Nationalität, die beispielsweise nach Einbürgerung den genetischen Ursprung einer Person nicht mehr nachvollziehen läßt. Deswegen wurde als gangbarer Mittelweg ein deutscher Name als Proxy-Variable gewählt.

Unter dieser Vorgabe wurden bei der Subgruppenanalyse wegen einer anderen Nationalität im Patientenkollektiv 5,7% und im Kontrollkollektiv 5,4% der Personen ausgeschlossen. Bei einer Prävalenz für Faktor V Leiden von 8,8% bei den deutschen Myokardinfarktpatienten und von 3,9% bei den deutschen Kontrollpersonen fand sich sowohl in der Patienten- wie auch in der Kontrollgruppe keine statistisch signifikant unterschiedliche Mutationsprävalenz im jeweiligen Gesamtkollektiv verglichen mit dem entsprechenden deutschen Kollektiv. Zwischen Faktor V Leiden und dem Auftreten eines Myokardinfarkts bei einem deutschen Patienten bestand jedoch weiterhin eine statistisch signifikante Assoziation, obwohl in der Subgruppenanalyse wegen anderer Nationalität zwei Faktor V Leiden-positive Myokardinfarktpatienten ausgeschlossen werden mußten.

Unter Berücksichtigung von Faktor V Leiden, Alter und Geschlecht ergab sich ein adjustiertes *odds-ratio* für die deutsche Nationalität von 0,836, was für einen kleinen, vor Myokardinfarkt schützenden Effekt bei deutscher Nationalität spräche. Da jedoch der deutsche Name als Proxy-Variable für die Nationalität sicherlich nicht der optimale Ansatz für die Frage nach der ethnischen Herkunft einer Person darstellt, sollte dieses Ergebnis nicht überbewertet werden.

## **4.2. Assoziation zwischen weiteren Gerinnungsparametern und Myokardinfarkt in der vorliegenden Studie**

In der Literatur wird ein Zusammenhang zwischen hämostatischen Variablen und dem Auftreten von Myokardinfarkten beschrieben (vgl.: Tabelle 3.9.). Auch in der vorliegenden Studie wurden neben APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden weitere Gerinnungsparameter untersucht. Da das primäre Ziel der Studie der Vergleich der Prävalenz von Faktor V Leiden im Kollektiv der Myokardinfarktpatienten und der Kontrollpersonen war, wurde leider nicht bei allen Patienten jeder weitere hämostatische Parameter bestimmt. Deswegen dient die Erfassung dieser Parameter mehr der weiteren Charakterisierung des Patientenkollektivs und ist weniger für die Fragestellung bestimmt, inwiefern die jeweilige Variable mit Myokardinfarkt assoziiert ist. Eine Untersuchung aller in die vorliegende Studie eingeschlossenen Myokardinfarktpatienten wäre sicher optimaler gewesen, war jedoch aus organisatorischen Gründen nicht möglich.

### **4.2.1. Assoziation zwischen Faktor I und Myokardinfarkt**

Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten lag mit einem Mittelwert von 439,5mg/dl im Vergleich zum Referenzbereich eine Hyperfibrinogenämie vor. In anderen Studien, beispielsweise von Assmann et al. (1996), Demarmels et al. (1995), Fowkes et al. (1993), Meade et al. (1986), Montalescot et al. (1995), Nordøy (1993), Vaziri et al. (1992) und Yarnell et al. (1991), wird eine Assoziation zwischen einer Fibrinogenerhöhung und dem Auftreten einer koronaren Herzerkrankung beschrieben.

Der Fibrinogenwert lag bei den Patienten mit akut erlittenem Myokardinfarkt im Mittel höher als bei denjenigen, deren Myokardinfarkt ereignis bereits länger zurücklag. Da Fibrinogen ein Akut-Phase-Protein ist, ließe sich ein Anstieg innerhalb des ersten Monats nach dem Myokardinfarkt ereignis durch den Entzündungsreiz erklären. Es zeigte sich eine statistisch signifikante, jedoch kleine Korrelation zwischen den Fibrinogenwerten und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ereignis. Neben dem APC-Ratio, das eine gewisse Altersabhängigkeit zeigt, indem es mit steigendem Lebensalter um 0,07 pro Dekade absinkt (Kiechl et al., 1999), könnte somit auch ein altersabhängiger Fibrinogenanstieg eine zunehmende Thrombophilie im Alter unterstützen und über eine Störung der Hämodynamik im Rahmen des vaskulären Alterungsprozesses die Inzidenz von koronarer Herzerkrankung begünstigen.

Der Mittelwert des Fibrinogens bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag mit 486,1mg/dl höher als im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten. Eine Hyperfibrinogenämie fand sich bei 70,5% der Mutationsträger mit Myokardinfarkt. Die

Resistenz des Faktor V Leiden gegen die Inaktivierung durch aktiviertes Protein C führt zu einem prothrombotischen Zustand, durch den sich die konsekutiv vermehrte Fibrinogenbildung erklären läßt. Ein über die Norm erhöhter Fibrinogenspiegel fand sich bei 54,6% der Patienten mit frischem und 75,8% der Patienten mit länger zurückliegendem Myokardinfarkt.

#### **4.2.2. Assoziation zwischen Faktor XII und Myokardinfarkt**

Der Mittelwert des Faktor XII (syn.: Hageman-Faktor) im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten betrug 97,8% und 98,4% bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten. Somit liegen die Werte der Faktor XII-Aktivität beider Gruppen im Referenzbereich. Dieses Ergebnis widerspricht demjenigen der Studie von Vaziri et al., in der Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine signifikante Reduktion der Faktor XII-Aktivität bei normaler Faktor XII-Konzentration zeigten, was mit einer Aktivierung des intrinsischen Systems erklärt wurde (Vaziri et al., 1992). Es zeigte sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Faktor XII-Werten und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ereignis.

Bei 12,9% der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten lag eine verminderte Aktivität des Faktor XII vor, bei drei Patienten zeigte sich eine als pathologisch definierte Minderung <52%. Durch die APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden und dem daraus resultierenden prothrombotischen Zustand können Koagel entstehen, die dann wiederum als Oberfläche für eine fortlaufende Aktivierung des intrinsischen Systems dienen könnten. Ein gleichzeitig vorhandener Mangel an Faktor XII, der über das Kontaktaktivierungssystem auch die Fibrinolysekaskade anstößt (Hiller et al., 1998), würde das Risiko für thrombotische Ereignisse sowie Gefäßverschlüsse noch verstärken. Allerdings ist die Fallzahl in diesem Kollektiv von 31 Betroffenen zu gering, um allgemein gültige Aussagen treffen zu können.

#### **4.2.3. Assoziation zwischen Antithrombin und Myokardinfarkt**

Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten lag mit einem Mittelwert von 94,0% die Antithrombin-Aktivität im Referenzbereich. Vaziri et al. beschreiben bei Myokardinfarktpatienten eine verminderte Relation der Antithrombin-Aktivität zur -Plasmakonzentration (Vaziri et al., 1992). Dies spräche für die Gegenwart eines funktionell inaktiven Antithrombin-Thrombin-Komplexes. Bei den Patienten mit akut erlittenem Myokardinfarkt lag Antithrombin im Mittel bei 91,6%, bei den Patienten, deren Myokardinfarkt ereignis bereits länger zurücklag, bei 94,7%. Obwohl es sich bei Antithrombin

um ein Akut-Phase-Protein handelt, zeigten sich also keine Unterschiede zwischen frischen und alten Myokardinfarktereignissen. Es zeigte sich eine statistisch signifikante, jedoch kleine Korrelation zwischen den Antithrombinwerten und dem Alter beim ersten Myokardinfarktereignis. Neben dem APC-Ratio, das eine gewisse Altersabhängigkeit zeigt, indem es mit steigendem Lebensalter um 0,07 pro Dekade absinkt (Kiechl et al., 1999), könnte somit auch ein altersabhängiger Antithrombinabfall eine zunehmende Thrombophilie im Alter unterstützen und über eine Störung der Hämodynamik im Rahmen des vaskulären Alterungsprozesses die Inzidenz von koronarer Herzerkrankung begünstigen.

Der Mittelwert des Antithrombins bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten betrug 94,0% und war somit ebenso hoch wie im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten. Ein Antithrombin-Mangel fand sich bei 16,3% der Mutationsträger mit Myokardinfarkt. Ein Antithrombin-Mangel fand sich bei keinem der Patienten mit frischem, jedoch bei 21,2% der Patienten mit altem Myokardinfarkt. Bei vier dieser Patienten führte jedoch nachweislich eine antikoagulatorische Therapie zu einem Antithrombin-Mangel.

#### **4.2.4. Assoziation zwischen Protein C und Myokardinfarkt**

Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten lag mit einem Mittelwert von 107,2% die Protein C-Aktivität im Referenzbereich. Bei den Patienten mit akut erlittenem Myokardinfarkt lag Protein C im Mittel bei 109,5%, bei den Patienten, deren Myokardinfarkt ereignis bereits länger zurücklag, bei 106,4%. Obwohl es sich bei Protein C um ein Akut-Phase-Protein handelt, fanden sich also keine Unterschiede zwischen frischen und alten Myokardinfarkt ereignissen. Es zeigte sich eine statistisch signifikante, jedoch sehr kleine Korrelation zwischen den Protein C-Werten und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ereignis. Neben dem APC-Ratio, das eine gewisse Altersabhängigkeit zeigt, indem es mit steigendem Lebensalter um 0,07 pro Dekade absinkt (Kiechl et al., 1999), könnte somit auch ein altersabhängiger Protein C-Abfall eine zunehmende Thrombophilie im Alter unterstützen und über eine Störung der Hämodynamik im Rahmen des vaskulären Alterungsprozesses die Inzidenz von koronarer Herzerkrankung begünstigen.

Der Mittelwert des Protein C bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten betrug 106,7% und war somit nahezu ebenso hoch wie im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten. Ein Protein C-Mangel fand sich bei 2,5% der Mutationsträger mit Myokardinfarkt. Ein Protein C-Mangel fand sich bei keinem der Patienten mit frischem, jedoch bei 3,3% der Patienten mit altem Myokardinfarkt.



#### **4.2.5. Assoziation zwischen Protein S und Myokardinfarkt**

Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten lag mit einem Mittelwert von 92,9% die Protein S-Aktivität im Referenzbereich. Bei den Patienten mit akut erlittenem Myokardinfarkt im Mittel bei 92,9%, bei den Patienten, deren Myokardinfarktereignis bereits länger zurücklag, bei 92,9%. Obwohl es sich bei Protein S um ein Akut-Phase-Protein handelt, zeigten sich also keine Unterschiede zwischen frischen und alten Myokardinfarktereignissen. Es fand sich eine statistisch signifikante, jedoch kleine Korrelation zwischen den Protein S-Werten und dem Alter beim ersten Myokardinfarktereignis. Neben dem APC-Ratio, das eine gewisse Altersabhängigkeit zeigt, indem es mit steigendem Lebensalter um 0,07 pro Dekade absinkt (Kiechl et al., 1999), könnte somit auch ein altersabhängiger Protein S-Abfall eine zunehmende Thrombophilie im Alter unterstützen und über eine Störung der Hämodynamik im Rahmen des vaskulären Alterungsprozesses die Inzidenz von koronarer Herzerkrankung begünstigen.

Der Mittelwert des Protein S bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten betrug 77,7% und war somit deutlich niedriger als im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten. Ein Protein S-Mangel fand sich bei 28,2% der Mutationsträger mit Myokardinfarkt. Ein Protein S-Mangel fand sich bei 33,3% der Männer, davon drei mit frischem und sechs mit länger zurückliegendem Infarktereignis, sowie bei 16,7% der Frauen, davon eine mit frischem und eine mit altem Myokardinfarkt. Dies unterstützt die von Vaziri et al. gemachte Beobachtung eines verminderten freien Protein S bei Myokardinfarktpatienten (Vaziri et al., 1992). Diese Minderung des Kofaktors des antikoagulatorisch wirksamen Protein C bestätige die Theorie des prothrombotischen Zustands bei Myokardinfarkt. Die Tatsache, daß sich tendenziell eine geminderte Protein S-Aktivität bei den Mutationsträgern fand, könnte darauf beruhen, daß sich diese unabhängig von einem Myokardereignis bereits in einem prothrombotischen Zustand befinden. Allerdings verbietet die geringe Fallzahl von 39 Betroffenen und die nochmalige Untergliederung in sehr kleine Untergruppen, allgemeine gültige Aussagen zu treffen.

#### **4.3. Assoziation zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren bei Patienten mit Myokardinfarkt und der Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden**

Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus und positive Familienanamnese zählen zu den hauptsächlichen kausalpathogenetischen Risikofaktoren einer Atherosklerose und



somit auch eines Myokardinfarkts. Teilweise wird in der Literatur auf einen Zusammenhang zwischen bestimmten kardiovaskulären Risikofaktoren und APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden bei Myokardinfarktpatienten hingewiesen (vgl.: Tabelle 3.8.).

In der vorliegenden Studie wurden bei 33,1% der Myokardinfarktpatienten des Gesamtkollektivs und bei 31,8% der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten diese Risikofaktoren bestimmt. Ohne Zweifel wäre die Erfassung kardiovaskulärer Risikofaktoren bei allen in die Studie eingeschlossenen Myokardinfarktpatienten optimaler gewesen. Aus organisatorischen Gründen war dies leider nicht möglich. Da von jeweils etwa einem Drittel der Patienten beider Kollektive diese Parameter bekannt waren, ließen sich die Ergebnisse zwar vergleichen, das Kollektiv der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten war jedoch zu klein, um allgemein gültige Aussagen treffen zu können. Deswegen können lediglich Trends aufgezeigt werden, die durch eine größere prospektive Studie eingehender untersucht werden müßten.

#### **4.3.1. Hyperlipidämie bei Patienten mit Myokardinfarkt und Faktor V Leiden**

Eine LDL (*low density lipoprotein*)-, VLDL (*very low density lipoprotein*)- und Lipoprotein (a)-Erhöhung sowie eine HDL (*high density lipoprotein*)-Erniedrigung gehen mit einem erhöhten Atheroskleroserisiko einher (Riede et al., 1995).

Eine Hyperlipidämie war mit 66,7% im Gesamtkollektiv tendenziell häufiger vertreten als mit 50,0% bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten. Dieses statistisch nicht signifikant seltenere Auftreten einer Hyperlipidämie bei Mutationsträgern könnte sich in einer geringeren Atherosklerose widerspiegeln. Dies unterstützt die von Eskandari et al. gemachte Beobachtung, daß bei mehr als 80% der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten im Koronarangiogramm keine signifikante Atherosklerose nachweisbar war (Eskandari et al., 1998). Bei diesen Patienten könnte somit die thromboembolische Komponente entscheidender sein als eine durch Atherosklerose veränderte Anatomie der Koronararterien.

#### **4.3.2. Arterielle Hypertonie bei Patienten mit Myokardinfarkt und Faktor V Leiden**

Bei arterieller Hypertonie erhöht vorwiegend die hämodynamische Komponente das Atheroskleroserisiko. Aber auch begleitende genetische Faktoren im Sinne einer verminderten Resistenz von Lymphozyten gegenüber DNA-schädigenden Einflüssen bei Patienten mit arteriellem Hypertonus spielen eine atherosklerosefördernde Rolle (Riede et al., 1995).

Eine arterielle Hypertonie war mit 61,9% im Gesamtkollektiv tendenziell häufiger vertreten als mit 50,0% bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten. Dieses statistisch

nicht signifikant seltenere Auftreten einer arteriellen Hypertonie bei Mutationsträgern könnte sich in einer geringeren Atherosklerose widerspiegeln. Dies unterstützt die von Eskandari et al. gemachte Beobachtung, daß bei mehr als 80% der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten im Koronarangiogramm keine signifikante Atherosklerose nachweisbar war (Eskandari et al. 1998). Bei diesen Patienten könnte somit die thromboembolische Komponente entscheidender sein als eine durch Atherosklerose veränderte Anatomie der Koronararterien.

#### **4.3.3. Nikotinabusus bei Patienten mit Myokardinfarkt und Faktor V Leiden**

Zigarettenrauch wirkt über eine Beeinträchtigung des Blutcholesterinspiegels pathogen auf die Gefäßwand. Der hohe Kohlenmonoxidgehalt, der zur ischämischen Gewebsschädigung führt, und im Rauch enthaltene mutagene Substanzen, die in den Proliferationsstoffwechsel der Gefäßwandzellen eingreifen, erhöhen zusätzlich das Atheroskleroserisiko (Riede et al., 1995).

Ein Nikotinabusus war mit 47,0% im Gesamtkollektiv tendenziell häufiger vertreten als mit 35,7% bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten. Diese statistisch nicht signifikant geringere Häufigkeit eines Nikotinabusus bei Mutationsträgern könnte sich in einer geringeren Atherosklerose widerspiegeln. Dies unterstützt die von Eskandari et al. gemachte Beobachtung, daß bei mehr als 80% der Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten im Koronarangiogramm keine signifikante Atherosklerose nachweisbar war (Eskandari et al., 1998). Bei diesen Patienten könnte somit die thromboembolische Komponente entscheidender sein als eine durch Atherosklerose veränderte Anatomie der Koronararterien. Eine weitere Erklärung könnte sein, daß rauchende Mutationsträger bereits in jüngeren Jahren, wenn die Prävalenz eines Myokardinfarkts noch gering ist, durch venöse Thrombembolien klinisch auffällig wurden, da Heterozygotie für Faktor V Leiden zu einem siebenfach und Homozygotie gar zu einem 100fach erhöhten Risiko einer venösen Thrombose führt (Hiller et al., 1998). Diesen Patienten könnte somit bereits vor dem Auftreten einer koronaren Herzerkrankung eine Aufgabe des Rauchens angeraten worden sein. Gemäß einer Studie von Rosendaal et al. wiesen Faktor V Leiden und Nikotinabusus synergistische Effekte auf die Entstehung eines Myokardinfarkts auf (Rosendaal et al., 1997b). Davon ausgehend, daß einige Mutationsträger vor längerer Zeit das Rauchen aufgegeben haben, wurde die Häufigkeit des sonst mit gewisser Wahrscheinlichkeit aufgetretenen Myokardinfarkts möglicherweise durch die relativ betrachtet größere Zahl an Nichtrauchern gesenkt. Der relativ betrachtet geringere Anteil an Rauchern im Kollektiv der

Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten könnte somit darauf beruhen, daß Mutationsträger durch ihr jetziges „Nichtrauchertum“ möglicherweise ihren relativ wahrscheinlich kommenden Myokardinfarkt nicht erlitten haben.

#### **4.3.4. Positive Familienanamnese bei Patienten mit Myokardinfarkt und Faktor V Leiden**

Zahlreiche genetische bedingte Erkrankungen, darunter Hyperlipoproteinämie Typ II und IV, Homozysteinurie und Gicht, gehen mit einem erhöhten atherosklerotischen Risiko einher. Aber auch die Prädisposition zur Ausbildung einer Atherosklerose ist genetisch determiniert (Riede et al., 1995), so stellt das Auftreten einer koronaren Herzkrankheit vor dem 55. Lebensjahr bei einem Verwandten ersten Grades einen wesentlichen Risikofaktor dar (Libby, 1998).

Eine positive Familienanamnese war mit 29,8% im Gesamtkollektiv tendenziell etwas häufiger vertreten als mit 21,4% bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten. Dieses statistisch nicht signifikant selteneren Auftreten einer positiven Familienanamnese bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten verglichen mit dem Gesamtkollektiv ist graduell etwas geringer ausgeprägt als bei den anderen kardiovaskulären Risikofaktoren. Dies könnte darauf beruhen, daß der Begriff „positive Familienanamnese“ zu einem großen Teil auf angeborenen Gegebenheiten beruht, worunter auch die autosomal-dominant vererbte Faktor V Leiden-Mutation fällt.

#### **4.4. Resistenz gegen aktiviertes Protein C infolge Faktor V Leiden und weitere arterielle Thrombembolien in der vorliegenden Studie**

Transitorische ischämische Attacke, zerebrovaskulärer Insult und periphere arterielle Verschlusskrankheit zählen zu den arterielle Thrombembolien, die neben Myokardinfarkt möglicherweise mit APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden assoziiert sind. In der Literatur wird diese Frage kontrovers diskutiert (vgl.: Tabelle 3.10. und 3.11.). Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde das Augenmerk auf Myokardinfarkt gelegt. Es fanden sich jedoch auch 33 Mutationsträger mit anderen arteriellen Thrombembolien, die in Tabelle 3.5. kurz beschrieben wurden. Ob die aufgetretenen Schlaganfälle auf thrombembolischen Ereignissen oder Massenblutungen beruhten, wurde allerdings nicht näher untersucht. Diese Ergebnisse lassen jedoch die Vermutung zu, daß APC-Resistenz infolge Faktor V Leiden auch bei

anderen arteriellen Thrombembolien eine Rolle spielen könnte. Zu diesem Thema sind noch weitere, möglichst prospektive Studien wünschenswert.

## **4.5. Schlußfolgerung**

### **4.5.1. Zusammenfassende Betrachtung**

Die in die weitere Metaanalyse eingeschlossenen, bisher publizierten Studien zeigten Unterschiede bezüglich der Patientenselektion und der verwendeten Tests zur Diagnostik von Faktor V Leiden. Nicht alle Studien berücksichtigten beide Geschlechter oder machten Angaben zum Alter beim ersten Myokardinfarktereignis oder zur ethnischen Zugehörigkeit der untersuchten Personen. Auch die Tests zur Diagnostik der Faktor V Leiden-Mutation variierten. In einigen Studien wurde lediglich der nicht-modifizierte funktionelle Test für APC-Resistenz verwendet, der nicht für Faktor V Leiden allein spezifisch ist. In anderen publizierten Studien wurde nur der modifizierte Test angewendet, so daß nicht mit Sicherheit zwischen homo- und heterozygotem Trägerstatus unterschieden werden konnte. In weiteren Studien wurde nur genotypisiert.

In der vorliegenden Studie fand sich eine signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und dem Auftreten von Myokardinfarkten. Im folgenden soll diese mit den Ergebnissen anderer Publikationen, bei denen eine große Fallzahl an Myokardinfarktpatienten untersucht wurde, verglichen werden.

Die größte retrospektive Fall-Kontroll-Studie, in die 643 Myokardinfarktpatienten und 726 Kontrollpersonen aus der ECTIM-Studie (*Etude Cas-Témoins de l'Infarctus du Myocarde*) eingeschlossen waren, zeigte keine erhöhte Heterozygotenprävalenz von Faktor V Leiden bei Myokardinfarkt (Emmerich et al., 1995). Das *odds-ratio* betrug 1,1363. Im folgenden sollen einige Aspekte zum Studiendesign näher beschrieben werden:

- Die Patienten stammten aus einem der vier MONICA (*monitoring of trends and determinants in cardiovascular disease*)-Zentren Belfast, Lille, Strasbourg und Toulouse. Jede dieser vier europäischen Städte repräsentierte eine Subgruppe. In einer dieser Untergruppen (Lille, Frankreich) zeigte sich eine statistisch signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt, was durch den starken Trend zu einer positiven Assoziation in einer anderen Subgruppe (Strasbourg, Frankreich) unterstützt wurde. In den anderen MONICA-Zentren Belfast (Nordirland) und Toulouse (Frankreich) fand sich keine Assoziation. Dies unterstützt die These möglicher regionaler Unterschiede in der Assoziation, was zu der Schlußfolgerung führen könnte, Ergebnisse seien nicht

statistisch signifikant, wenn die zugrundeliegende Patientenpopulation aus verschiedenen ethnischen Gruppen besteht. Sogar für Personen unterschiedlicher kaukasischer Abstammung, wie sie in einigen Regionen der USA zu finden sind, könnte dies Gültigkeit haben.

- Zur Diagnostik des Faktor V Leiden wurde die Genotypisierung angewandt. Somit waren der Phänotyp und andere Ursachen der APC-Resistenz sowie mögliche Fälle einer inkompletten Penetranz nicht eingeschlossen. Außerdem läßt die APC-Resistenz im Plasma möglicherweise prognostisch wichtigere Schlüsse zu.
- Das Einschlußalter in die Studie lag zwischen 25 und 64 Jahren, so daß sehr junge und sehr alte Myokardinfarktpatienten nicht erfaßt wurden.
- In der Studie wurden ausschließlich Männer untersucht, obwohl ein Einfluß des Geschlechts möglich ist.

Nach Ansicht der Autoren sei Faktor V Leiden bei Heterozygotie kein Risikofaktor für Myokardinfarkt, für Homozygotie und andere Gefäßläsionen ließen sich allerdings keine Rückschlüsse ziehen. In einer Untergruppen fand sich jedoch eine statistisch signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt, was durch den starken Trend zu einer positiven Assoziation in einer anderen Subgruppe unterstützt wurde.

Aus epidemiologischer Sicht sind prospektive Studien den retrospektiven Fall-Kontroll-Studien vorzuziehen. Die größte prospektive Studie, in die 374 Myokardinfarktpatienten und 704 Kontrollpersonen im Rahmen der *Physicians' Health Study* eingeschlossen waren, zeigte keine statistisch signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt (Ridker et al., 1995). Das *odds-ratio* betrug 1,0328. Im folgenden soll auf einige Aspekte zum Studiendesign näher eingegangen werden:

- Die Patienten in dieser Studie wurden randomisiert einer der folgenden vier Therapiegruppen zugewiesen: tägliche Gabe von 325 mg Aspirin<sup>®</sup>, Gabe von 50 mg Betacarotin, Gabe von beidem oder keine Therapie. Durch diese Behandlung könnte das Auftreten koronarer Ereignisse, wie auch von Myokardinfarkten, bei Trägern der Faktor V Leiden-Mutation beeinflusst worden sein. Gerade Acetylsalicylsäure, wie Aspirin<sup>®</sup>, ist jedoch ein etabliertes Therapeutikum zur Therapie und Prophylaxe von instabiler *Angina pectoris* und Myokardinfarkt.
- Die untersuchte Population war vermutlich ethnisch nicht homogen, obwohl ein ethnischer Einfluß auf APC-Resistenz und Atherosklerose gesichert ist. Bei den an der Ostküste der USA lebenden Weißen handelt es sich zwar vorwiegend um Kaukasier, diese stammen jedoch aus zahlreichen europäischen Ursprungsregionen, deren Prävalenz für

Faktor V Leiden zwischen 13,4% und 0,0% (Rees et al., 1995) variiert. Gerade der Aspekt der ethnischen Homogenität ist in der heutigen Zeit der zunehmenden Mobilität sehr schwer zu realisieren. Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Prävalenzen bereits innerhalb Europas ist es an der kosmopoliten Ostküste der USA nahezu unmöglich, ein ethnisch homogenes Kollektiv aufzustellen, um dessen Prävalenz zu bestimmen.

- Zur Diagnostik des Faktor V Leiden wurde lediglich die Genotypisierung angewandt. Somit waren der Phänotyp und andere Ursachen der APC-Resistenz sowie mögliche Fälle einer inkompletten Penetranz nicht eingeschlossen. Außerdem läßt die APC-Resistenz im Plasma möglicherweise prognostisch wichtigere Schlüsse zu.
- Das Einschlußalter in die Studie lag zwischen 40 und 60 Jahren, so daß junge Myokardinfarktpatienten nicht erfaßt wurden.
- In der Studie wurden ausschließlich Männer untersucht, obwohl ein Einfluß des Geschlechts möglich ist.

Unter Berücksichtigung kardiovaskulärer Risikofaktoren einschließlich des Alters zeigte sich in dieser Studie zwar keine signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt, es fand sich jedoch ein Anstieg der Wahrscheinlichkeit und eine Verminderung des p-Wertes.

In der vorliegenden Studie wurde ein großes Kollektiv von 507 Myokardinfarktpatienten untersucht. Die Prävalenz von Faktor V Leiden betrug bei den Myokardinfarktpatienten 8,7%, was verglichen mit der Mutationsprävalenz in der Kontrollgruppe von 3,7% eine statistisch signifikante Assoziation darstellt. Das rohe *odds-ratio* für Myokardinfarkt bei Faktor V Leiden betrug 2,4645. Unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Nationalität ergab sich ein adjustiertes *odds-ratio* für die Mutation von 2,656. Somit war in der vorliegenden Studie das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, für Träger des Faktor V Leiden im Vergleich zu Personen ohne diese Mutation mehr als doppelt so hoch. Da allerdings nur Überlebende eines Myokardinfarkts untersucht wurden, könnte dieses *odds-ratio* auch für einen protektiven Faktor sprechen, was insgesamt allerdings eher unwahrscheinlich ist.

Bei bekannter unterschiedlicher Prävalenz für Faktor V Leiden in den einzelnen ethnischen Gruppen wurde die vorliegende Studie auf Bayern begrenzt und eine nachgeschaltete Subgruppenanalyse durchgeführt. Obwohl dabei wegen anderer Nationalität zwei Faktor V Leiden-positive Myokardinfarktpatienten ausgeschlossen werden mußten, bestand zwischen der Mutation und dem Auftreten eines Myokardinfarkts bei einem deutschen Patienten jedoch weiterhin eine statistisch signifikante Assoziation.



Sowohl im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten als auch bei den Faktor V Leiden-positiven hatten etwa 75% der Patienten einfache und etwa 25 % multiple Myokardinfarkte erlitten. Die Mutation führt offensichtlich nicht zu einem vermehrten Auftreten rezidivierender Myokardinfarkte. Da die vorliegende Studie einen retrospektiven Fall-Kontroll-Ansatz hat und somit nur Patienten eingeschlossen wurden, die einen Myokardinfarkt überlebt haben, wäre es durchaus denkbar, daß letal endende Ereignisse, gerade auch in Form von Rezidiven, vermehrt mit Faktor V Leiden assoziiert sind. Auskunft darüber könnte ein prospektiver Studienansatz bieten, was aus ökonomischen Gründen leider nicht praktikierbar war.

In die vorliegende Studie wurden Patienten jeder Altersgruppe und beider Geschlechter eingeschlossen. Es ergab sich keine statistisch signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und dem durchschnittlichen Alter zum Zeitpunkt des ersten Myokardinfarkts. Somit sind zur Auslösung eines Myokardinfarktereignisses vermutlich zusätzliche Trigger in Form kardiovaskulärer Risikofaktoren notwendig. Im Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten waren 77,5% Männer und 22,5% Frauen, was verglichen mit 68,2% Männern und 31,8% Frauen bei den Faktor V Leiden-positiven Patienten gegen eine signifikante Assoziation zwischen der Mutation und dem Geschlecht des Myokardinfarktpatienten spricht.

In der vorliegenden Studie wurden bei den Myokardinfarktpatienten weitere Gerinnungsparameter funktionell getestet, um die untersuchte Patientenpopulation näher charakterisieren zu können. Bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten zeigten die Akut-Phase-Proteine Veränderungen im Sinne einer Hyperfibrinogenämie sowie teilweise eines Antithrombin-, Protein C- und Protein S-Mangels. Diese Veränderungen waren abhängig vom Zeitintervall zwischen Myokardinfarkt und Thrombophiliediagnostik, insbesondere infolge Fibrinolyse oder Heparintherapie. Eine Hyperfibrinogenämie bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom wurde bereits bei Assmann et al. (Assmann et al., 1996), Fowkes et al. (Fowkes et al., 1993), Meade et al. (Meade et al., 1986), Nordøy (Nordøy, 1993), Vaziri et al. (Vaziri et al., 1992) und Yarnell et al. (Yarnell et al., 1991) beschrieben. Die Gegenwart einer Hyperfibrinogenämie bei diesen Patienten läßt vermuten, daß die Veränderungen der übrigen Gerinnungsparameter eher auf der Akut-Phase-Reaktion bei Myokardinfarkt als auf zugrundeliegenden Gendefekten beruhen. Die Prävalenz eines angeborenen Antithrombin-, Protein C- oder Protein S-Mangels liegt in der Normalbevölkerung mit jeweils 0,2% (Müller-Berghaus, 1998) deutlich niedriger als bei den Myokardinfarktpatienten in der vorliegenden Studie, außerdem wurde eine angeborene



Hyperfibrinogenämie bisher nicht beschrieben. Auch die Prävalenz eines Faktor XII-Mangels war bei den Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten im Vergleich zur Normalpopulation erhöht. Sie beträgt in Österreich, also einem Land, das direkt an Bayern grenzt, 2,3% (Hiller et al., 1998). Diese Beobachtung wird von der Vaziri et al. unterstützt, wonach sich bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine signifikante Reduktion der Faktor XII-Aktivität bei normaler Faktor XII-Konzentration zeigte (Vaziri et al., 1992). Dies sei mit einer Aktivierung des intrinsischen Systems vereinbar. In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob zwischen dem jeweiligen Gerinnungsparameter und dem Alter beim ersten Myokardinfarkt ein Zusammenhang besteht. Hierbei fand sich eine kleine, jedoch statistisch signifikante positive Korrelation mit dem Fibrinogenwert sowie negative Korrelationen mit den Antithrombin-, Protein C- und Protein S-Werten. Diese Zunahme des prokoagulatorisch wirkenden Fibrinogens und die Abnahme der antikoagulatorisch wirkenden Parameter Antithrombin, Protein C und S sprechen für einen zunehmend thrombogenen Zustand im Alter bei Myokardinfarktpatienten. Neben dem APC-Ratio, das eine gewisse Altersabhängigkeit zeigt, indem es mit steigendem Lebensalter um 0,07 pro Dekade absinkt (Kiechl et al., 1999), könnten somit auch diese altersabhängigen Veränderungen eine zunehmende Thrombophilie im Alter unterstützen und über eine Störung der Hämodynamik im Rahmen des vaskulären Alterungsprozesses die Inzidenz von koronarer Herzerkrankung begünstigen.

In der vorliegenden Studie wurden bei einem Drittel der Patienten die kardiovaskulären Risikofaktoren bestimmt, um zu untersuchen, ob diese sich bei Faktor V Leiden-positiven Myokardinfarktpatienten im Vergleich zu den Patienten ohne diese Mutation unterschieden. Die Gegenwart einer positiven Familienanamnese zeigte eine weitgehend gleiche Häufigkeit bei den Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden und den Patienten des Gesamtkollektivs. Die Fragestellung einer vererbten Prädisposition eines Myokardinfarkts ist komplex. Sie beinhaltet zahlreiche Faktoren, möglicherweise auch die autosomal-dominant vererbte Faktor V Leiden-Mutation. Bei den übrigen kardiovaskulären Risikofaktoren Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie sowie Nikotinabusus fand sich ein statistisch nicht signifikanter Trend zu einer geringeren Prävalenz bei Myokardinfarktpatienten mit Faktor V Leiden im Vergleich zu den Patienten des Gesamtkollektivs. Der Trend zu seltenerem Auftreten dieser traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren bei Mutationsträgern könnte sich in einer geringeren Atherosklerose widerspiegeln. Unterstützt würde diese These durch Beobachtungen von Eskandari et al., wonach bei mehr als 80% der Faktor V Leiden-positiven

Myokardinfarktpatienten im Koronarangiogramm keine signifikante Atherosklerose nachweisbar war (Eskandari et al., 1998). Somit könnte möglicherweise bei Mutationsträgern die thromboembolische Komponente entscheidender sein als eine durch Atherosklerose veränderte Koronaranatomie.

Zusammenfassend läßt sich vermerken, daß in der vorliegenden Studie versucht wurde, die Quellen möglicher *bias* zu kontrollieren:

- *Bias* beruhend auf den regionalen Unterschieden in der Prävalenz von Faktor V Leiden wurden dadurch reduziert, daß die Studie auf Bayern begrenzt war. Dort findet sich eine ethnisch homogenere Population als in Regionen mit einer langen Vorgeschichte an Immigration, wie sie beispielsweise an der Ostküste der USA gegeben ist. Da der Münchener Raum innerhalb Deutschlands eine sehr kosmopolite Region darstellt, wurde zudem eine nachgeschaltete Subgruppenanalyse durchgeführt.
- Myokardinfarktpatienten beider Geschlechter und jeden Alters wurden in die Studie aufgenommen.
- Ein hochsensitiver und hochspezifischer modifizierter funktioneller Test mit zusätzlicher Genotypisierung wurde zur Diagnostik des Faktor V Leiden eingesetzt, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden.

Unter Berücksichtigung dieser Maßnahmen fand sich in der vorliegenden Studie eine signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt. Es zeigte sich jedoch kein Unterschied im Alter beim Auftreten des ersten Myokardinfarktereignisses bei den Trägern der Mutation verglichen mit dem Gesamtkollektiv der Myokardinfarktpatienten. Somit war in der vorliegenden Studie ein Faktor V Leiden allein nicht ausreichend, um in einem Myokardinfarkt zu resultieren, was mit Beobachtungen im venösen System vergleichbar ist. In diesen Fällen eines Phänotyps für APC-Resistenz sind offenbar zusätzliche Risikofaktoren notwendig, um bei nur minimaler Atherosklerose zu einem Myokardinfarkt zu führen.

#### **4.5.2. Klinische Konsequenzen**

Bei positivem Nachweis eines Einflusses von Mutationen hämostatischer Faktoren auf die Prävalenz eines Myokardinfarkts sollten spätestens bei Auftreten von thromboembolischen Ereignissen antikoagulatorische Maßnahmen erwogen werden. Der pathologische Genotyp Faktor V Leiden allein rechtfertigt jedoch nicht präventive Maßnahmen im Sinne einer systemischen Antikoagulation. Patienten mit diesem Genotyp haben aber vermutlich in

bestimmten Situationen ein höheres Risiko für lokale Koronarthrombosen als Patienten ohne APC-Resistenz. Dazu zählen beispielsweise Situationen nach Thrombolysetherapie oder nach diagnostischen sowie therapeutischen Interventionen. Wahrscheinlich sind der Phänotyp APC-Resistenz und stattgehabte Myokardinfarkt ereignisse getriggert durch zusätzliche Risikofaktoren entscheidend für den Einsatz präventiver Maßnahmen, jedoch nicht der Genotyp alleine. Um diese Patienten, bei denen eine Prävention erwogen und andere Risikofaktoren äußerst gezielt behandelt werden sollten, näher eingrenzen zu können, sind weitere Studien nötig. Klinische Studien werden zeigen, ob eine konsequente thrombozytenaggregationshemmende Therapie ausreicht oder ob orale Antikoagulantien erforderlich sind. Weitere Untersuchungen zur prädisponierenden Rolle von Faktor V Leiden in zerebrovaskulären sowie viszeralen und peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten könnten die Rolle dieser Mutation bei anderen arteriellen Thrombembolien näher beleuchten.

## **V. Zusammenfassungen**

### **5.1. Zusammenfassung deutsch**

**Einleitung.** Eine spezifische Punktmutation innerhalb des für den Gerinnungsfaktor V kodierenden Gens wurde als Ursache für eine Resistenz gegen aktiviertes Protein C identifiziert (Faktor V Leiden). Es zeigte sich, daß Faktor V Leiden für nahezu 50% der angeborenen Defekte, die zu venösen Thrombembolien führen, verantwortlich ist. Im arteriellen System dagegen wird die Beziehung zwischen Faktor V Leiden und thromboembolischen Erkrankungen, insbesondere dem Myokardinfarkt, kontrovers diskutiert. In der vorliegenden klinischen Studie wird über den Faktor V Leiden-Status bei Patienten mit Myokardinfarkt berichtet, die nach strikten Kriterien eingeschlossen und mit den derzeit sensitivsten und spezifischsten Tests für Faktor V Leiden untersucht wurden. Die Studie wurde in Bayern durchgeführt, einer Region im Süden Deutschlands, mit einer relativ homogenen Bevölkerung. Weiterhin wurde eine Metaanalyse früherer Publikationen mit ähnlichen Patientenkollektiven durchgeführt.

**Patienten und Methoden.** Die Patientenpopulation umfaßte 507 Patienten mit dokumentiertem Myokardinfarkt; 77,5% (393/507) waren Männer und 22,5% (114/507) Frauen. Das Alter betrug im Mittel 56,1 Jahre (18 bis 86 Jahre). Der Nachweis des Faktor V Leiden erfolgte mittels eines sensitiven funktionellen Tests und zusätzlicher Genotypisierung bei allen Patienten mit pathologischen Resultaten im funktionellen Test.

**Ergebnisse.** Die Prävalenz von Faktor V Leiden bei Patienten mit Myokardinfarkt betrug 8,7% (44/507) mit zwei homozygoten und 42 heterozygoten Patienten, was im Vergleich zur Kontrollgruppe eine statistisch signifikante Assoziation zwischen Faktor V Leiden und Myokardinfarkt darstellte (8,7% versus 3,7%;  $p = 0,0025$ ). Das *odds-ratio* betrug 2,4645 (CI95 1,35 bis 4,50). Der Anteil der Frauen mit Myokardinfarkt und Faktor V Leiden war mit 31,8% tendenziell, jedoch nicht statistisch signifikant höher als der Anteil von Frauen mit Myokardinfarkt ohne Faktor V Leiden mit 22,5%. Das *odds-ratio*<sub>ges.</sub> der 19 in die Metaanalyse eingeschlossenen Publikationen betrug 1,1767 (CI95 0,97 bis 1,43).

**Diskussion.** Unter Anwendung strikter Kriterien bei der Patientenauswahl sowie der derzeit sensitivsten und spezifischsten Analysemethoden für Faktor V Leiden fand sich eine signifikant höhere Prävalenz von Faktor V Leiden bei Patienten mit dokumentiertem Myokardinfarkt verglichen mit der Normalbevölkerung. In der vorliegenden Studie war das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, für Träger des Faktor V Leiden im Vergleich zu Personen ohne diese Mutation mehr als doppelt so hoch. Träger des Faktor V Leiden scheinen somit auch eine Prädisposition für arterielle Thrombosen zu haben, wie hier im

Zusammenhang mit dem Auftreten von Myokardinfarkten gezeigt. Das relativ hohe Alter der betroffenen Patienten zum Zeitpunkt des Myokardinfarkts läßt vermuten, daß zusätzliche auslösende Faktoren bei der Entwicklung arterieller Thrombosen eine Rolle spielen, ähnlich wie bei venösen Thrombosen.

Um die Ergebnisse der vorliegenden Studie besser interpretieren zu können, wurde eine Metaanalyse bisheriger Publikationen mit ähnlicher Fragestellung durchgeführt. Das *odds-ratio*<sub>ges.</sub> sprach gegen einen Effekt von Faktor V Leiden bei Myokardinfarkt. Die Studienergebnisse der bisherigen Publikationen waren kontrovers. Es fanden sich Unterschiede in der Patientenselektion (Alter beim ersten Myokardinfarktereignis, Geschlecht, ethnische Zugehörigkeit) und den Testverfahren (modifizierter oder nicht-modifizierter funktioneller Test, Genotypisierung).

## **5.2. Zusammenfassung englisch**

**Background.** A specific point mutation in the gene encoding the coagulation factor V is a cause of resistance against activated protein C (factor V Leiden). The presence of factor V Leiden is linked to almost 50% of congenital defects causing venous thromboembolism. The relationship of factor V Leiden to arterial thrombosis, particularly to myocardial infarction, is not well-defined. Therefore, a study of the factor V Leiden status in patients with myocardial infarction was performed, using sensitive and specific tests for factor V Leiden. The study was carried out in Bavaria, a region in the south of Germany with a relatively homogeneous population. Also, a meta-analysis of previous publications with similar patient populations was carried out.

**Patients and methods.** The patient population comprised 507 patients with documented myocardial infarction; 77.5% (393/507) men and 22.5% (114/507) women, with a mean age of 56.1 years (range 18 to 86 years). A sensitive functional test was used and all patients with pathological test results were genotyped.

**Results.** The prevalence of factor V Leiden in patients with myocardial infarction was 8.7% (44/507), with two homozygous and 42 heterozygous patients, representing a significant increase in the prevalence of this mutation compared with the normal population represented by the control group (8.7% versus 3.7%;  $p = 0.0025$ ). The odds ratio was 2.4645 (CI95 1.35 to 4.50). There was a statistically non-significant increase of female patients with myocardial infarction and factor V Leiden (31.8%) compared with those with myocardial infarction and no factor V Leiden (22.5%). The odds ratio<sub>total</sub> of the 19 publications included in meta-analysis was 1.1767 (CI95 0.97 bis 1.43).

**Conclusions.** A significant increased prevalence of factor V Leiden in patients with documented myocardial infarction was seen when strict criteria for patient selection and highly sensitive and specific tests for factor V Leiden were used. The risk for myocardial infarction was more than twofold increased for persons with factor V Leiden than for those without. Patients with this mutation appear to have a predisposition for arterial thrombosis, as shown by the occurrence of myocardial infarction. The age of the patients at myocardial infarction suggests that additional initiating factors are likely to play a role in the development of arterial thrombosis, similar to in venous thromboembolism.

To put the own results into context a meta-analysis of previous publications with similar patient populations was carried out. According to the odds ratio<sub>total</sub> factor V Leiden seems not to influence the incidence of myocardial infarction. Published results were controversial. There were differences in patient selection (age at first myocardial infarction, gender, membership of ethnic group) and in the tests used for biochemical analyses (unmodified or modified functional test, genotyping).

## **VI. Literaturverzeichnis**

Amowitz LL, Komaroff AL, Miletich JP, Ridker PM. Factor V Leiden is not a risk factor for myocardial infarction among young women. *Blood*. 1999; 93: 1432-1433.

Ardissino D, Peyvandi F, Merlini PA, Colombi E, Mannucci PM. Factor V (Arg<sup>506</sup> → Gln) mutation in young survivors of myocardial infarction. *Thrombosis and Haemostasis*. 1996; 75: 701-702.

Assmann G, Cullen P, Heinrich J, Schulte H. Hemostatic variables in the prediction of coronary risk: results of the 8 year follow-up of healthy men in the Münster Heart Study (PROCAM). *Israel Journal of Medical Sciences*. 1996; 32: 364-370.

Baranovskaya S, Kudinov S, Fomicheva E, Vasina V, Solovieva D, Khavinson V, Schwartz E. Age as a risk factor for myocardial infarction in Leiden mutation carriers. *Molecular Genetics and Metabolism*. 1998; 63: 155-157.

Bauer KA. Hypercoagulability - a new cofactor in the protein C anticoagulant pathway. *The New England Journal of Medicine*. 1994; 333 (8): 566-567.

Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994; 369: 64-47.

Bertina RM, van Wijngaarden A, Reinalda-Poot J, Poort SR, Bom VJJ. Determination of plasma protein S - the protein cofactor of activated protein C. *Thrombosis and Haemostasis*. 1985; 268-272.

Bienz KA. Allgemeine Virologie. In: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM (Hrsg.). *Medizinische Mikrobiologie*. 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1998.

Van Bockxmeer FM, Baker RI, Taylor RR. Premature ischaemic heart disease and the gene for coagulation factor V. *Nature Medicine*. 1995; 1:185.

Van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, Slagboom E, Meijer P, de Jong PTVM, Hofman A, Grobbee DE, Kluft C. Reduced response to activated protein C is associated with increased risk for cerebrovascular disease. *Annals of Internal Medicine*. 1996; 125: 265-269.

Breithardt G, Borggreffe M, Budde T, Schwammenthal E, Wichter T. Herz. In: Schettler G, Greten H (Hrsg.). *Innere Medizin*. 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1998.

Chan WP, Lee CK, Kwong YL, Lam CK, Liang R. A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood*. 1998; 91 (4): 1135-1139.

Cripe LD, Moore KD, Kane WH. Structure of the gene for human coagulation factor V. *Biochemistry*. 1992; 31: 3777-3785.

Cushman M, Bhushan F, Bovill E, Tracy R. Plasma resistance to activated protein C in venous and arterial thrombosis. *Thrombosis and Haemostasis*. 1994; 72: 647.



- Cushman M, Rosendaal FR, Psaty BM, Cook EF, Valliere J, Kuller LW, Tracy RP. Factor V Leiden is not a risk factor for arterial vascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study. *Thrombosis and Haemostasis*. 1998; 79: 912-915.
- Dacosta A, Tardy-Poncet B, Isaaz K, Cerisier A, Mismetti P, Simitsidis S, Reynaud J, Tardy B, Piot M, Decousus H, Guyotat D. Prevalence of factor V Leiden (APCR) and other inherited thrombophilias in young patients with myocardial infarction and normal coronary arteries. *Heart*. 1998; 80: 338-340.
- Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993; 90: 1004-1008.
- Dahlbäck B, Hildebrand B. Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994; 91: 1396-1400.
- Dahlbäck B, Stenflo J. The protein C anticoagulant system. In: *Stamatoyannopoulos, Nienhuis, Majerus, Varmus (Hrsg.). The molecular basis of blood diseases. 2<sup>nd</sup> edition, W.B. Saunders, Philadelphia – Orlando 1993.*
- Dahlén GH, Boman J, Birgander LS, Lindblom B. Lp(a) lipoprotein, IgG, IgA, and IgM antibodies to *Chlamydia pneumoniae* and HLA class II genotype in early coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1995; 114: 165-174.
- Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry*. 1991; 30 (43): 10363-10370.
- Demarmels BF, Merlo C, Furlan M, Sulzer L, Binder R, Lämmle B. No association of APC resistance with myocardial infarction. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 1995; 6 (5): 456-459.
- Doggen CJM, Cats VM, Bertina RM, Rosendaal FR. Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors – increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or prothrombin 20210A. *Circulation*. 1998; 97: 1037-1041.
- Eger G, Kalden J. Immunologie internistischer Erkrankungen. In: Schettler G, Greten H (Hrsg.). *Innere Medizin. 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1998.*
- Egger M, Smith GD, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *British Medical Journal*. 1997a; 315: 629-634.
- Egger M, Smith GD, Phillips AN. Meta-analysis – Principles and procedures. *British Medical Journal*. 1997b; 315:1533-1537.
- Emmerich J, Poirier O, Evans A, Marques-Vidal P, Arveiler D, Luc G, Aiach M, Cambien F. Myocardial infarction, Arg 506 to Gln factor V mutation, and activated protein C resistance. *The Lancet*. 1995; 345: 321.

- Eritsland J, Gjønnnes G, Sandset PM, Seljeflot I, Arnesen H. Activated protein C resistance and graft occlusion after coronary artery bypass surgery. *Thrombosis Research*. 1995; 79: 223-226.
- Eskandari MK, Bontempo FA, Hassett AC, Faruki H, Makaroun MS. Arterial thromboembolic events in patients with the factor V Leiden mutation. *American Journal of Surgery*. 1998; 176 (2): 122-125.
- Esmon CT. The protein C anticoagulant pathway. *Arteriosclerosis and Thrombosis*. 1992; 12 (2): 135-145.
- Firmenschrift zu COATEST® APC™ Resistance V von Chromogenix.
- Firmenschrift zu STA APTT LT von Roche/Stago.1998.
- Firmenschrift zu STA Neoplastin® Plus von Roche/Stago.1998.
- Fleiss JL. Combining evidence from fourfold tables. In: Fleiss JL (Hrsg.). *Statistical methods for weights and proportions*. 2<sup>nd</sup> edition, John Wiley and sons, New York – Brisbane – Toronto – Singapore 1981.
- Fowkes FGR, Lowe GDO, Housley E, Rattray A, Rumley A, Elton RA, MacGregor IR, Dawes J. Cross-linked fibrin degradation products, progression of peripheral arterial disease, and risk of coronary heart disease. *The Lancet*. 1993; 342: 84-86.
- Ganesan V, Kelsey H, Cookson J, Osborn A, Kirkham FJ. Activated protein C resistance in childhood stroke. *The Lancet*. 1996; 347: 260.
- Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *Journal of Clinical Investigation*. 1981; 68: 1370-1373.
- Greengard JS, Eichinger S, Griffin JH, Bauer KA. Variability of thrombosis among homozygous siblings with resistance to activated protein C due to an Arg → Gln mutation in the gene for factor V. *The New England Journal of Medicine*. 1994; 331 (23): 1559-1562.
- Hajjar K. Factor V Leiden - an unselfish gene? *The New England Journal of Medicine*. 1994; 331 (23): 1585-1587.
- Hansson PO, Eriksson E, Welin L, Eriksson H. Prevalence of APC resistance and its relationship to arterial and venous thromboembolism in a general population sample of elderly Swedish men: the study of men born in 1913. *Journal of Internal Medicine*. 1999; 245: 593-600.
- Haverkate F, Thompson SG, Pyke SDM, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. *The Lancet*. 1997; 349: 462-466.
- Herold G. *Innere Medizin*. Eigenverlag, Köln 1999.
- Hildebrandt H. *Psyhyrembel - Klinisches Wörterbuch*. 258. Auflage, Walter de Gruyter Verlag, Berlin - New York, 1998.

- Hille ETM, Westendorp RGJ, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Mortality and causes of death in families with the factor V Leiden mutation (resistance to activated protein C). *Blood*. 1997; 89: 1963-1967.
- Hiller E, Riess H. Hämorrhagische Diathese und Thrombose. 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1998.
- Holm J, Zöller B, Svensson PJ, Berntorp E, Erhardt L, Dahlbäck B. Myocardial infarction associated with homozygous resistance to activated protein C. *The Lancet*. 1994; 344: 952-953.
- Holm J, Zöller B, Berntorp E, Erhardt L, Dahlbäck B. Prevalence of factor V gene mutation amongst myocardial infarction patients and healthy controls is higher in Sweden than in other countries. *Journal of Internal Medicine*. 1996; 239: 221-226.
- Holm J, Hillarp A, Zöller B, Erhardt L, Berntorp E. Factor V Q<sup>506</sup> (resistance to activated protein C) and prognosis after acute coronary syndrome. *Thrombosis and Haemostasis*. 1999; 81: 857-860.
- Inbal A, Freimark D, Modan B, Chetrit A, Matetzky S, Rosenberg N, Dardik R, Baron Z, Seligsohn U. Synergistic effects of prothrombotic polymorphisms and atherogenic factors on the risk of myocardial infarction in young males. *Blood*. 1999; 93 (7): 2186-2190.
- Ireland H, Kunz G, Kyriakoulis K, Stubbs PJ, Lane DA. Thrombomodulin gene mutations associated with myocardial infarction. *Circulation*. 1997; 96: 15-18.
- Jorquera JI, Montoro JM, Fernandez MA, Aznar JA, Aznar J. Modified test for activated protein C resistance. *The Lancet*. 1994; 344: 1162-3.
- Kalafatis M, Bertina RM, Rand MD, Mann KG. Characterization of the molecular defect in factor V R506Q. *The Journal of Biological Chemistry*. 1995; 270 (8): 4053-4057.
- Kaplan K. Prophylactic anticoagulation following acute myocardial infarction. *Archives of Internal Medicine*. 1986; 146 (3): 593-597.
- Kiechl S, Muigg A, Santer P, Mitterer M, Egger G, Oberhollenzer M, Oberhollenzer F, Mayr A, Gasperi A, Poewe W, Willeit J. Poor response to activated protein C as a prominent risk predictor of advanced atherosclerosis and arterial disease. *Circulation*. 1999; 99: 614-619.
- Kontula K, Ylikorkala A, Miettinen H, Vuorio A, Kauppinen-Mäkelin R, Hämäläinen L, Palomäki H, Kaste M. Arg506Gln mutation (factor V Leiden) in patients with ischaemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thrombosis and Haemostasis*. 1995; 73 (4): 558-560.
- Kühnel W. Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie. 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1995.
- Laffan MA. Activated protein C resistance and myocardial infarction. *Heart*. 1998; 80 (4): 319-321.

- Lang F. Blut. In: Lang F (Hrsg.). Pathophysiologie, Pathobiochemie. 4. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart 1990.
- Leonhardt H. Kreislauforgane. In: Leonhardt H (Hrsg.). Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. 8. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1990.
- Libby P. Atherosclerosis. In: Fauci, Braunwalder, Isselbacher, Wilson, Martin, Kasper, Hauser, Longo (Hrsg.). Harrison's principles of internal medicine. 14<sup>th</sup> edition, Mc Graw-Hill Health Professions Division, New York – St. Louis – San Francisco – Auckland – Bogotá – Caracas – Lisbon – London – Madrid – Mexico City – Milan – Montreal – New Delhi – San Juan – Singapore – Sydney – Tokyo – Toronto 1998.
- Lindblad B, Svensson PJ, Dahlbäck B. Arterial and venous thromboembolism with fatal outcome and resistance to activated protein C. *The Lancet*. 1994; 343: 917.
- Lowe GDO, Rumley A, Woodward M, Reid E, Rumley J. Activated protein C resistance and the FV:R<sup>506</sup> Q mutation in a random population sample – Associations with cardiovascular risk factors and coagulation variables. *Thrombosis and Haemostasis*. 1999; 81: 918-924.
- März W, Seydewitz H, Winkelmann B, Chen M, Nauck M, Witt I. Mutation in coagulation factor V associated with resistance to activated protein C in patients with coronary artery disease. *The Lancet*. 1995; 345: 526-527.
- Mahasandana C, Suvatte V, Marlar RA, Manco-Johnson MJ, Jacobson LJ, Hathaway WE. Neonatal purpura fulminans associated with homozygous protein S deficiency. *The Lancet*. 1990; 335: 61-62.
- Majerus PW. Bad blood by mutation. *Nature*. 1994; 369: 14-15.
- Manco-Johnson MJ, Marlar RA, Jacobson LJ, Hays T, Warady BA. Severe protein C deficiency in newborn infants. *The Journal of Pediatrics*. 1988; 113: 359-363.
- Marciniak E, Wilson HD, Marlar RA. Neonatal purpura fulminans: a genetic disorder related to the absence of protein C in blood. *Blood*. 1985; 65: 15-20.
- Marlar RA, Montgomery RR, Broekmans AW. Diagnosis and treatment of homozygous protein C deficiency. *The Journal of Pediatrics*. 1989; 114: 528-534.
- Meade TW, Brozovic M, Chakrabarti RR, Haines AP, Imeson JD, Mellows S, Miller GJ, North WRS, Stirling Y, Thompson SG. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *The Lancet*. 1986; 533-537.
- Miletich JP, Prescott SM, White R, Majerus PW, Bovill EG. Inherited predisposition to thrombosis. *Cell*. 1993; 72: 477-480.
- Moll KJ, Moll M. Allgemeine Anatomie und Histologie. In: Moll KJ, Moll M (Hrsg.). Anatomie. 14. Auflage, Jungjohann Verlagsgesellschaft, Neckarsulm - Lübeck - Ulm 1995.
- Montalescot G, Ankri A, Vicaud E, Drobinski G, Grosgeat Y, Thomas D. Fibrinogen after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis. *Circulation*. 1995; 92: 31-38.

- Müller K, Müller S. Nukleinsäuren, Nukleotide und Metabolite. In: Müller K, Müller M (Hrsg.). *Klinische Chemie*. 11. Auflage, Chapman & Hall Verlag, Weinheim 1996.
- Müller-Berghaus G. Grundlagen der Hämostaseologie. In: Schettler G, Greten H (Hrsg.). *Innere Medizin*. 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1998.
- Nordøy A. Haemostatic factors in coronary heart disease. *Journal of Internal Medicine*. 1993; 233: 377-383.
- Nowak-Göttl U, Koch HG, Aschka I, Kohlhasse B, Vielhaber H, Kurlemann G, Oleszcuk-Raschke K, Kehl HG, Jürgens H, Schneppenheim R. Resistance to activated protein C (APCR) in children with venous or arterial thromboembolism. *British Journal of Haematology*. 1996; 92: 992-998.
- Ostendorf P. Hämorrhagische Diathesen. In: Siegenthaler W, Kaufmann W, Hornbostel H, Waller HD (Hrsg.). *Lehrbuch der Inneren Medizin*. 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1991.
- Pabinger I, Kyrle PA, Heistinger M, Eichinger S, Mittmann E, Lechner K. The risk of thromboembolism in asymptomatic patients with protein C and protein S deficiency: a prospective cohort study. *Thrombosis and Haemostasis*. 1994; 71 (4): 441-445.
- Prohaska W, Mannebach H, Schmidt M, Gleichmann U, Kleesiek K. Evidence against heterozygous coagulation factor V 1619 G → A mutation with resistance to activated protein C being a risk factor for coronary artery disease and myocardial infarction. *Journal of Molecular Medicine*. 1995; 73: 521-524.
- Redondo M, Watzke HH, Stucki B, Sulzer I, Demarmels-Biasiutti F, Binder BR, Furlan M, Lämmle B, Willemin WA. Coagulation factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210G→A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease – high factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1999; 19: 1020-1025.
- Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *The Lancet*. 1995; 346: 113-1134.
- Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. *New England Journal of Medicine*. 1995; 332 (14): 912-917.
- Riede UN, Schaefer HE. *Allgemeine und spezielle Pathologie*. 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1995.
- Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Beverly RK, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood*. 1997a; 89 (8): 2817-2821.

- Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood*. 1997b; 90 (5): 1747-1750.
- Sachs L. *Angewandte Statistik – Anwendung statistischer Methoden*. 8.Auflage, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1997.
- Samani NJ, Lodwick D, Martin D, Kimber P. Resistance to activated protein C and risk of premature myocardial infarction. *The Lancet*. 1994; 344: 1709-1710.
- Sing CF, Moll PP. Genetics of atherosclerosis. *Annual Revue of Genetics*. 1990; 24: 171-187.
- Smith P. Long-term anticoagulant treatment after acute myocardial infarction. The Warfarin Re-Infarction Study. *Annals of Epidemiology*. 1992; 2 (4): 549-552.
- Spannagl M, Dick A, Assmann A, Heinemann L, Schramm W. Resistance to activated protein C in women using oral contraceptives. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 1998; 24: 423-430.
- Svensson PJ, Dahlbäck B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. *The New England Journal of Medicine*. 1994; 330 (8): 517-522.
- Sytkowski PA, Kannel WB, D'Agostino RB. Changes in risk factors and the decline in mortality from cardiovascular disease - The Framingham Heart Study. *The New England Journal of Medicine*. 1990; 322: 1635-1641.
- Taubert HD. Geschlechtsspezifische Entwicklung der Frau und ihre Störungen. In: Schmidt-Matthiesen H, Hepp H (Hrsg.). *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 9. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart - New York 1998.
- Trossaert M, Conard J, Horellou MH, Samama MM, Ireland H, Bayston TA, Lane DA. Modified APC resistance assay for patients on oral anticoagulants. *The Lancet*. 1994; 344: 1709.
- Vaziri ND, Kennedy SC, Kennedy D, Gonzales E. Coagulation, fibrinolytic, and inhibitory proteins in acute myocardial infarction and angina pectoris. *The American Journal of Medicine*. 1992; 93: 651-657.
- Waller BF, Fry ETA, Hermiller JB, Peters T, Slack JD. Nonatherosclerotic causes of coronary artery narrowing. *Clinical Cardiology*. 1996; 19:656-661.
- Walter M, Reinecke H, Breithardt G, Assmann G, Heinrich J. Factor V Leiden and thromboembolism. *Circulation*. 1998; 97 (14): 1426-1427.
- Weiss CH, Jelkmann W. Funktionen des Blutes. In: Schmidt RF, Thews G (Hrsg.). *Physiologie des Menschen*. 26. Auflage, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1995.
- Williamson D, Brown K, Luddington R, Baglin C, Baglin T. Factor V Cambridge: a new mutation (Arg306 → Thr) associated with resistance to activated protein C. *Blood*. 1998; 91 (4): 1140-1144.

Winkler UH. Thrombophilie und antithrombotische Prävention in Gynäkologie und Geburtshilfe. *Der Internist*. 1997; 38: 650-657.

Yarnell JWG, Baker IA, Sweetnam PM, Bainton D, O'Brien JR, Whitehead PJ, Elwood PC. Fibrinogen, viscosity, and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease. *Circulation*. 1991; 83: 836-844.

Zöller B, Svensson PJ, He X, Dahlbäck B. Identification of the same factor V gene mutation in 47 out of 50 thrombosis-prone families with inherited resistance to activated protein C. *Journal of Clinical Investigation*. 1994; 94: 2521-2524.



## **VII. Danksagung**

Primär gilt mein Dank Frau Professor Dr. med. Sigrid Nikol für die Überlassung des Dissertationsthemas, Ihre stete Förderung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit sowie Ihre kontinuierliche Betreuung mit wertvollen Hinweisen und Anregungen.

Weiterhin danke ich den Ärztinnen und Ärzten der Medizinischen Klinik I sowie der Abteilung für Klinische Chemie des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität, München, für die Unterstützung, insbesondere Herrn Dr. med. Peter Göhring für die Durchführung der funktionellen Thrombophiliediagnostik, Herrn Privatdozent Dr. med. Peter Lohse für die molekulargenetischen Untersuchungen und Frau Dr. rer. nat. Dorothea Nagel für die Unterstützung bei statistischen Fragestellungen. Außerdem gilt mein Dank Herrn Dr. med. Alexander Crispin vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität, München, für die biostatistische Beratung.

Schließlich möchte ich mich auch im privaten Bereich bei meinem Mann Peter für seine Unterstützung und sein Verständnis bedanken.

## VIII. Lebenslauf

### **Persönliche Daten:**

Name	Middendorf, geb. Bauer
Vorname	Katharina
Geburtsdatum	16. Oktober 1975
Geburtsort	München, Deutschland
Eltern	Dr. med. Hanns-Jörg Bauer (Arzt für innere Medizin) Dr. med. Edeltraud Bauer (Ärztin für Labormedizin)
Familienstand	verheiratet mit Dr. ing. Peter Middendorf (Diplomingenieur)

### **Schulbildung:**

09/1982 - 07/1986	Grundschule am Hedernfeld, München
09/1986 - 07/1995	Ludwigsgymnasium, München Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

### **Hochschulbildung:**

10/1995 – 11/2001	Ludwig-Maximilians-Universität, München Studium der Humanmedizin
09/1997	ärztliche Vorprüfung
08/1998	erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
09/2000	zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
16.10.2000 - 04.02.2001	1. Tertial des praktischen Jahres: Medizinischen Klinik und Poliklinik I, Klinikum Großhadern, Ludwig- Maximilians-Universität, München
05.02.2001 – 27.05.2001	2. Tertial des praktischen Jahres: Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München
28.05.2001 – 16.09.2001	3. Tertial des praktischen Jahres: Chirurgische Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern, Ludwig- Maximilians-Universität, München
11/2001	dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

### **Famulaturen:**

02.03.1998 - 24.04.1998	Medizinische Klinik und Poliklinik I, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München
28.09.1998 - 27.10.1998	Chirurgische Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München
08.03.1999 - 26.03.1999	<i>St. Elizabeth's Medical Center, Tufts University School of Medicine, Boston, USA</i>
14.04.1999 - 30.04.1999	Dermatologische Gemeinschaftspraxis Dr. med. D. Selzle und Dr. med. H.-J. Karge, München
02.08.1999 - 27.08.1999	Internistische Praxisgemeinschaft Dr. med. H.-J. Bauer und Dr. med. H. Gorbach

### **Tätigkeit als Ärztin im Praktikum:**

seit 12/2001	Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum Großhadern, Ludwig- Maximilians-Universität, München
--------------	---