

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III
(Direktor: Prof. Dr. K. Werdan) und dem
Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie
(Direktor: Prof. Dr. I. Hansmann)
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg



**Untersuchungen zum Stellenwert von
polymorphen genetischen Markern bei
der arteriellen Hypertonie**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Antje Nordwig
geboren am 09.05.1974 in Dessau

Gutachter:

1. Prof. em. Dr. Teichmann
2. PD Dr. Riemann
3. Prof. Dr. Strödter (Gießen)

Eröffnungsdatum: 08.04.2003

Verteidigungsdatum: 13.10.2003

urn:nbn:de:gbv:3-000005655

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000005655>]

In Liebe
meinen Eltern
gewidmet

Referat

Zielstellung: Die essentielle arterielle Hypertonie ist ein komplexes, heterogenes Krankheitsbild, dessen Schwere und Manifestationszeitpunkt durch polygene Faktoren und Umwelteinflüsse determiniert werden. In der vorliegenden Dissertation wurde die Assoziation des GNB3-(C825T)-, AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus zur arteriellen Hypertonie in einer mitteldeutschen Bevölkerungsstichprobe untersucht.

Material und Methoden: Die kaukasische Studienpopulation setzte sich aus 80 Patienten (Alter: $48,7 \pm 7,0$ Jahre; 78,8% männlich) mit arterieller Hypertonie und einer Vergleichsgruppe aus 200 gesunden Langzeitblutspendern (Alter $47,5 \pm 7,7$ Jahre; 79,0% männlich) zusammen. Für die Patientengruppe waren ein vor dem 55. Lebensjahr mindestens 5 Jahre bestehender arterieller Hypertonus ($\geq 160/\geq 95$ mmHg) oder hypertensive Organveränderungen im Stadium III nach WHO die Einschlusskriterien. Nach einer klinischen und paraklinischen Charakterisierung wurde die genomische DNA-Typisierung aus Leukozyten mit Hilfe von PCR- und RFLP-Techniken durchgeführt.

Ergebnisse und Schlussfolgerungen: Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem GNB3-(C825T)-Polymorphismus und der arteriellen Hypertonie in der Gesamtgruppe nachgewiesen. Unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells bestand eine signifikante Assoziation des homozygoten T-Allels zur arteriellen Hypertonie ($p=0,042$; OR=3,0) – insbesondere in der männlichen Subgruppe ($p=0,015$; OR=4,7) sowie bei den Patienten mit einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre ($p=0,013$; OR=9,52). Diese Ergebnisse könnten auf proliferative Auswirkungen des Polymorphismus hinweisen. Auch für den AGT-(C659T)-Polymorphismus fand sich in der Gesamtgruppe keine signifikante Assoziation zur arteriellen Hypertonie. In Subgruppenanalysen zeigte sich eine signifikante Bedeutung des mutanten T-Allels bei den Patienten mit einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre ($p=0,002$; OR=4,4). Signifikant höhere Faktor VII-Plasmaspiegel wurden bei Hypertonikern mit dem AGT-(C659T)-T-Allel nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie dokumentiert ($p=0,049$). Dies könnte einerseits durch eine erhöhte Transportkapazität von Phyllochinon und andererseits durch eine reduzierte Aktivität der Antiproteasen bedingt sein. Zwischen dem *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus und der arteriellen Hypertonie stellte sich in der Gesamtgruppe kein signifikanter Zusammenhang dar. Bei den Hypertonikern, die Träger des mutanten T-Allels waren, wurde signifikant häufiger eine koronarchirurgische Intervention durchgeführt ($p=0,034$; OR=3,7). Diese mögliche prognostische Assoziation sollte in prospektiven „Follow-up“ Studien überprüft werden. Die Plasmakonzentration des PAI-1 war bei *p22-phox*-(C242T)-T-Allel-Trägern signifikant niedriger ($p=0,048$). Diese verminderte PAI-1-Expression könnte ein protektiver Faktor in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie sein. Weitere Studien sind zur Validisierung der vorliegenden Ergebnisse erforderlich.

Nordwig, Antje: Untersuchungen zum Stellenwert von polymorphen genetischen Markern bei der arteriellen Hypertonie. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2003

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. G-Protein- β_3 -Untereinheit	2
1.2. Angiotensinogen	5
1.3. <i>p22-phox</i>	7
2. Fragestellung	10
3. Material und Methoden	11
3.1. Studienkollektive	11
3.2. Erhebung der Patientendaten	11
3.3. Strukturierung der Patientenbefragung	12
3.4. Biochemische Labordiagnostik	13
3.5. Molekulargenetische Analyse	14
3.5.1. Der C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins	15
3.5.2. Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens	16
3.5.3. Der C242T-Polymorphismus des <i>p22-phox</i>	16
3.6. Statistische Methoden	17
4. Ergebnisse	19
4.1. Klinische und laborchemische Charakterisierung der Patientengruppe	19
4.2. Molekulargenetische Charakterisierung der Untersuchungsgruppen	25
4.2.1. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	25
4.2.2. Der C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins	25
4.2.3. Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens	31
4.2.4. Der C242T-Polymorphismus des <i>p22-phox</i>	37
4.2.5. Potenzielle Interaktionen zwischen den untersuchten Genpolymorphismen	41

5.	Diskussion	42
5.1.	Der C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins	42
5.2.	Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens	49
5.3.	Der C242T-Polymorphismus des <i>p22-phox</i>	55
5.4.	Potenzielle Interaktionen zwischen den untersuchten Gen-polymorphismen	61
5.5.	Potenzielle Fehlerquellen bei der Durchführung von Fall-Kontroll-Studien	63
5.6.	Klinische Anwendung und Perspektiven	64
6.	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	66
7.	Literaturverzeichnis	68
8.	Thesen	78

Verzeichnis der Tabellen

		Seite
Tabelle 1	Untersuchte Laborparameter mit Referenzbereich und Bestimmungsmethode	13
Tabelle 2	<i>Primerdesign</i> für den GNB3-(C825T)-, AGT-(C659T)- und <i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus	15
Tabelle 3	Genotypisierungsbedingungen	15
Tabelle 4	Ausgewählte kardiovaskulär wichtige Laborparameter	24
Tabelle 5	GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells für das T-Allel	25
Tabelle 6	GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei männlichen Patienten mit arterieller Hypertonie und männlichen Blutspendern unter Annahme eines kodominanten genetischen Modells	26
Tabelle 7	GNB3-(C825T)-Polymorphismus: Triglyzeridkonzentrationen im Serum in Abhängigkeit vom Genotyp	30
Tabelle 8	AGT-(C659T)-Polymorphismus: β - und Prä- β -Cholesterol-Fraktion der Lipidelektrophorese und Triglyzerid-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Genotyp unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	36
Tabelle 9	<i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus: PAI-1-Plasmaspiegel nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulanzen-therapie unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	41

Verzeichnis der Abbildungen

		Seite
Abbildung 1	Schematische Darstellung des G-Protein-Aktivierungszyklus	3
Abbildung 2	Schematische Darstellung der Strukturen von $G\beta_3$ und $G\beta_3-s$	4
Abbildung 3	Schematische Darstellung des Renin-Angiotensin-Systems	6
Abbildung 4	Aktivierter NAD(P)H-Oxidasekomplex in Mediamyozyten	8
Abbildung 5	RFLP-Analyse zur Bestimmung des GNB3-(C825T)-Polymorphismus mittels Restriktionsendonuklease <i>Bsa</i> II	16
Abbildung 6	RFLP-Analyse zur Genotypisierung des AGT-(C659T)-Polymorphismus mit dem Enzym <i>Nco</i> I	16
Abbildung 7	Fragmentmuster der RFLP-Analyse zur Genotypisierung des <i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus mit Hilfe des Restriktionsenzym <i>Rsa</i> I	17
Abbildung 8	Erkrankungsdauer der Patienten mit arterieller Hypertonie	19
Abbildung 9	Typische familiäre Konstellation in den Familien zweier Patienten mit arterieller Hypertonie	20
Abbildung 10	Verteilung des BMI in der Patientengruppe	21
Abbildung 11	GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei männlichen Patienten mit arterieller Hypertonie und der männlichen Vergleichsgruppe unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells für das T-Allel	26

Abbildung 12	GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei Patienten mit einem Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie ≥ 40 Jahre und dem Teil der Vergleichsgruppe ≥ 45 Jahre unter Annahme eines kodominanten genetischen Modells	27
Abbildung 13	GNB3-(C825T)-Polymorphismus: Vergleich des BMI bei den einzelnen Genotypen	28
Abbildung 14	GNB3-(C825T)-Polymorphismus: Natriumkonzentration im Serum in Abhängigkeit vom Genotyp	30
Abbildung 15	AGT-(C659T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	31
Abbildung 16	AGT-(C659T)-Polymorphismus bei Patienten mit einem Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie ≥ 40 Jahre und dem Teil der Vergleichsgruppe ≥ 45 Jahre unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	33
Abbildung 17	AGT-(C659T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und einem Manifestationsalter < 40 gegenüber ≥ 40 Jahre unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	34
Abbildung 18	AGT-(C659T)-Polymorphismus: Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	34
Abbildung 19	AGT-(C659T)-Polymorphismus: Faktor VII-Plasmaspiegel nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie in Abhängigkeit vom Genotyp unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	36

Abbildung 20	<i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines kodominanten genetischen Modells	37
Abbildung 21	<i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	38
Abbildung 22	<i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie mit Z.n. akutem Myokardinfarkt gegenüber den Patienten ohne diese Komplikation unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	39
Abbildung 23	<i>p22-phox</i> -(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und KHK mit und ohne der Notwendigkeit einer ACVB/IMAB unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel	40
Abbildung 24	Gencluster aus GNB3-(C825T): CT+TT, AGT-(C659T): CC, <i>p22-phox</i> -(C242T): CT+TT im Vergleich mit allen anderen Genvariationen bei Patienten mit arterieller Hypertonie und gesunden Blutspendern	41
Abbildung 25	Potenzielle Interaktionen des Angiotensinogens, der β_3 -Untereinheit des G-Proteins und der <i>p22-phox</i> enthaltenden NAD(P)H-Oxidase in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie	62

Verzeichnis der Abkürzungen

A	Adenin
Abb.	Abbildung
AC	Adenylatzyklase
ACE	„ <i>Angiotensin converting enzym</i> “
ACTH	„ <i>adrenocorticotropes Hormon</i> “
ACVB	aortokoronarer Venenbypass
AGCE1	„ <i>AGT gene core promoter element 1</i> “
AGCF1	„ <i>AGT gene core promoter element binding factor 1</i> “
AGT	Angiotensinogen
ALAT	Alaninaminotransferase
AMI	Akuter Myokardinfarkt
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
Apo A1	Apolipoprotein A1
Apo B	Apolipoprotein B
ASAT	Aspartataminotransferase
AT ₁ /AT ₂ -Rezeptor	Angiotensin II-Rezeptor Typ I und Typ II
AT III	Antithrombin III
ATPase	Adenosintriphosphatase
BMI	„ <i>body mass index</i> “
bp	Basenpaar
C	Cytosin
Ca ²⁺	Kalziumionen
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cDNA	„ <i>coding desoxyribonucleic acid</i> “
CI	95%-Konfidenzintervall
CRP	C-reaktives Protein
DNA	„ <i>desoxyribonucleic acid</i> “
DPI	„ <i>Diphenylen iodonium</i> “
EDTA	Ethylendiamintetraazetat
et al.	et alias
FAD	„ <i>flavin adenine dinucleotide</i> “
G	Guanin

$G\alpha_{i2}$, $G\alpha_{i3}$, $G\beta_1$, $G\beta_2$	Untereinheiten der G-Proteine
$G\beta_3$	Protein des Wildtyps der β_3 -Untereinheit des G-Proteins
$G\beta_{3-s}$	Protein der Spleißvariante der β_3 -Untereinheit des G-Proteins
GDP	Guanindiphosphat
γ -GT	γ -Glutamyltranspeptidase
Gi	inhibitorisches G-Protein
GNB3	G-Protein β_3 -Untereinheit
<i>gp</i>	„ <i>glycosylated protein</i> “
G-Protein	„ <i>guanine nucleotide binding regulatory protein</i> “
GTP	Guanintriphosphat
„ <i>GT-Repeat</i> “	Wiederholungssequenz der Nukleasen G und T
H	Hormon
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HDL	„ <i>high density lipoprotein</i> “
HDLC	HDL-Cholesterol
HELLP-Syndrom	„ <i>hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count</i> “
HSR	Hälftespielraum
IMAB	„ <i>internal mammary artery bypass</i> “
IP ₃	Inositoltriphosphat
K ⁺	Kaliumionen
kb	Kilobasen
kD	Kilodalton
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	„ <i>low density lipoprotein</i> “
LDLC	LDL-Cholesterol
Lp(a)	Lipoprotein (a)
m	männlich
M	Methionin
MLU	Martin-Luther-Universität
<i>mox</i>	„ <i>mitogenic oxidase</i> “
mRNA	„ <i>messenger ribonucleic acid</i> “
n	Anzahl
N	beliebige Base der Restriktionsendonuklease <i>Bsa</i> II
Na ⁺	Natriumionen

Na ⁺ /H ⁺ -Austauscher	Natrium-/Wasserstoffionen-Austauscher
NAD ⁺ , NADH	Nikotinsäureamiddinukleotid, reduziertes NAD
NADP ⁺ , NADPH	Nikotinsäureamiddinukleotidphosphat, reduziertes NADP
•NO	Stickstoffmonoxidradikal
NYHA	„ <i>New York Heart Association</i> “
•O ₂ ⁻	Superoxidradikal
OR	„ <i>odds ratio</i> “
OR _{adjustiert}	„ <i>odds ratio</i> “ nach Durchführung einer logistischen Regressionsanalyse
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
<i>p</i>	„ <i>protein</i> “
p _{adjustiert}	Irrtumswahrscheinlichkeit nach Durchführung einer logistischen Regressionsanalyse
PAF	„ <i>platelet activating factor</i> “
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-Komplex 1
PCR	„ <i>polymerase chain reaction</i> “
PDGF	„ <i>platelet derived growth factor</i> “
p _{exact}	Irrtumswahrscheinlichkeit nach Durchführung von „ <i>Fisher's exact test</i> “
<i>phox</i>	„ <i>phagocyte oxidase</i> “
PLC	Phospholipase C
PTCA	Perkutane transluminale Koronarangiographie
PTT	Partielle Thrombinzeit
PTX	Pertussistoxin
Q	Quartil
<i>Rac1 + 2</i>	Regulatorproteine aus der Gruppe der G-Proteine
<i>Rap1A</i>	Regulatorprotein aus der Gruppe der G-Proteine
RAS	Renin-Angiotensin-System
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RNA	„ <i>ribonucleic acid</i> “
s	Standardabweichung
[³⁵ S]GTPγS	radioaktiv markiertes GTP

T	Threonin (als Aminosäure, nur im Zusammenhang mit dem AGT T174M- und dem M235T-Polymorphismus entsprechend der international gebräuchlichen Literatur)
T	Thymin (als Nukleobase)
Tab.	Tabelle
TC	Total-Cholesterol
TZ	Thrombinzeit
UTR	„ <i>untranslated region</i> “
vs.	versus
w	weiblich
„ <i>WD-Repeat</i> “	<i>Repeat</i> von W-Tryptophan und D-Asparaginsäure
Z	Median
Z.n.	Zustand nach

1. Einleitung

In der Pathogenese atherosklerotischer Gefäßerkrankungen, wie der koronaren Herzkrankheit und der arteriellen Verschlusskrankheit, spielt die arterielle Hypertonie eine zentrale Rolle [53]. Sie ist ein komplexes, heterogenes Krankheitsbild, dessen Schwere und Manifestationszeitpunkt durch polygene Faktoren sowie Umwelteinflüsse determiniert werden [1]. Neben der arteriellen Hypertonie bestimmen eine Vielzahl von Risikofaktoren das kardiovaskuläre Gesamtrisiko. Einen wichtigen Einfluss haben eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen, ein höheres Lebensalter, das männliche Geschlecht, vorbestehende Organschäden wie Herz- und Nierenerkrankungen mit Mikroalbuminurie, Diabetes mellitus, Hyperinsulinämie und Hyperglykämie, Adipositas, Hypercholesterolämie mit erhöhtem LDL- und erniedrigtem HDL-Cholesterol, Hyperfibrinogenämie sowie die exogenen Faktoren Rauchen, hoher Alkoholkonsum, körperliche Inaktivität, niedriger sozioökonomischer Status und die Zugehörigkeit zu bestimmten Ethnien, z.B. australische Aborigines [53]. Differenzen im absoluten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen zwischen den Patienten mit arterieller Hypertonie werden in der Regel durch andere Einflüsse als die Blutdruckhöhe determiniert [53]. Aus diesem Grund müssen neben einer Behandlung der arteriellen Hypertonie immer die begleitenden Risikofaktoren berücksichtigt und in die therapeutischen Maßnahmen mit einbezogen werden, um eine bestmögliche Prävention der sekundären Organschäden, wie linksventrikuläre Hypertrophie, vaskuläre Atherosklerose mit Veränderungen im Gehirn, an der Retina, an den Nieren und Koronarien [53], zu erreichen.

Die Ursachen der essentiellen oder primären arteriellen Hypertonie, die bei über 90% der Patienten mit arterieller Hypertonie vorliegt, sind noch ungenügend bekannt. Eine genetische Basis der Erkrankung ist bei 20 – 40% der Patienten anzunehmen [18]. Allerdings sind monogene Erkrankungen, die einem klassischen Mendelschen Erbgang unterliegen, wie z.B. der „*Glucocorticoid-remediable aldosteronism*“ und das Liddle-Syndrom, sehr selten [81]. Die grundlegende hämodynamische Abnormalität bei der arteriellen Hypertonie ist die Erhöhung des peripheren Widerstandes, wozu Modifikationen der vaskulären Struktur und Funktion beitragen [135]. In variierendem Maße führen Veränderungen der Volumenregulation, eine erhöhte Vasokonstriktion und das „*Remodelling*“ der Arterienwand durch Hypertrophie und Hyperplasie der Mediamyozyten mit abnehmendem Durchmesser des Lumens sowie einer erhöhten Resistenz der Gefäße zur Entwicklung der arteriellen Hypertonie [1]. Eine Vielzahl interagierender humoraler und mechanischer Faktoren sowie oxidativer Stress stimulieren komplexe Signalwege, die die Kontraktion und das Wachstum von glatten Gefäßmuskelzellen beeinflussen und ein gemeinsames Merkmal in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie und der Atherosklerose darstellen [1], [135]. Dazu gehören Veränderungen der Konzentrationen

und Flüsse von Elektrolyten – insbesondere Natrium, Wasserstoff und Kalzium – [1], die Aktivität des sympathischen Nervensystems [82], des Renin-Angiotensin-Systems [40] und die Inaktivierung von Stickstoffmonoxidradikalen ($\bullet\text{NO}$) durch Superoxidanionen ($\bullet\text{O}_2^-$) mit einer Beeinträchtigung der endothelabhängigen Vasodilatation [73]. Intaktes Endothel hat im Gegensatz zu dysfunktionellem Endothel inhibitorische Effekte auf die Proliferation von Mediamyozyten [1].

Über eine Vielzahl von Mutationen und Polymorphismen von Genen, deren Proteine potenziell mit der Blutdruckregulation und damit der Pathogenese der arteriellen Hypertonie assoziiert sind, wurde in der Literatur berichtet. Beispiele hierfür sind allelische Varianten des ACE-, α -Adducin- und β_2 -Rezeptor-Gens [81]. Derzeit wird intensiv nach genetischen Markern, die Teilaspekte der Entstehung einer essentiellen arteriellen Hypertonie erklären, gesucht. Unter der Annahme, dass insbesondere bei jüngeren Patienten (< 55 Jahre) mit arterieller Hypertonie ein besonders großer genetischer Einfluss zu erwarten ist, wurde die vorliegende Studie durchgeführt. Die Bedeutung des G-Protein- β_3 -Untereinheit-(C825T)-, Angiotensinogen-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus bei der primären arteriellen Hypertonie sollte innerhalb einer mitteldeutschen Population von europäischen Kaukasiern analysiert werden.

1.1. G-Protein- β_3 -Untereinheit

G-Proteine („*guanine nucleotide binding regulatory protein*“) werden in allen Zellen des menschlichen Körpers an der zytoplasmatischen Seite der Zellmembran exprimiert. Sie sind transmembranäre Vermittler chemisch und physikalisch kodierter Informationen zwischen extrazellulären Rezeptoren und intrazellulären Effektoren. G-Proteine setzen sich aus der GTPase besitzenden α -Untereinheit und aus den – ein funktionelles Monomer bildenden – β - und γ -Untereinheiten, die nur durch Denaturierung dissoziieren, zusammen [44]. Eine Rezeptorstimulierung hat eine abnehmende Affinität des an die α -Untereinheit gebundenen GDPs zur Folge. Bei hoher zytoplasmatischer GTP-Konzentration wird GDP durch GTP ersetzt. Nach dieser Aktivierung der α -Untereinheit dissoziieren die α - und $\beta\gamma$ -Untereinheiten und modulieren die Aktivität vielfältiger intrazellulärer Effektorsysteme z.B. Ionenkanäle, die Adenylatzyklase (AC) und die Phospholipase C (PLC). Nach Hydrolyse des GTP zu GDP durch die intrinsische Aktivität der α -Untereinheit reassoziieren die $\alpha\beta\gamma$ -Untereinheiten zu einem inaktiven Heterotrimer [92], [122]. Abb. 1 demonstriert den G-Protein-Aktivierungszyklus.

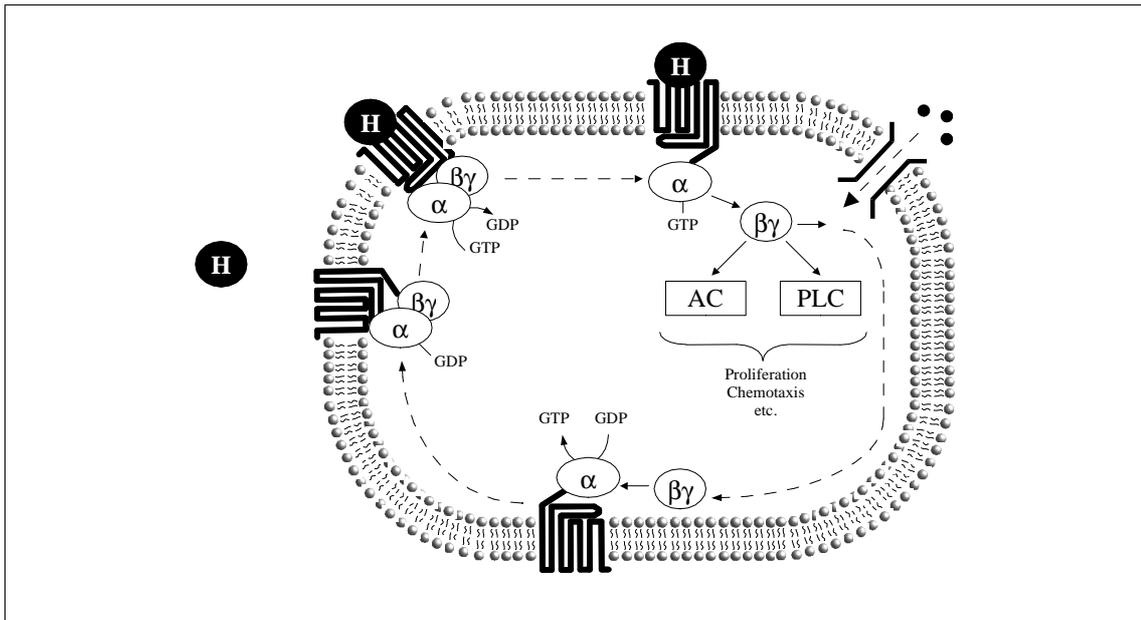


Abb. 1: Schematische Darstellung des G-Protein-Aktivierungszyklus, modifiziert nach Siffert et al. [122]

Es existieren zahlreiche verschiedene α -, 5 β - und 13 γ -Untereinheiten, die von unterschiedlichen Genen kodiert und gewebespezifisch exprimiert werden [122]. Nach Studien von Pietruck et al. zeigten die Nukleotidsequenzen der in PTX-sensitiven G-Proteinen vorkommenden Untereinheiten $G\alpha_{i2}$, $G\alpha_{i3}$, β_1 und β_2 keine Mutation oder Überexpression [98]. Siffert et al. entdeckten jedoch in allen Zelllinien von Patienten mit arterieller Hypertonie und einer erhöhten G-Protein-Aktivität einen Basenaustausch Cytosin nach Thymin an Position 825 der cDNA der β_3 -Untereinheit [128].

Das kodierende Gen der β_3 -Untereinheit des G-Proteins (GNB3) wurde 1990 aus der menschlichen Retina isoliert [78] und auf dem Chromosom 12p13 lokalisiert [2]. Es hat eine Länge von 7,5 kb und umfasst 11 Exons und 10 Introns. Die Größe der Exons reicht von 39 bis 601 bp und die der Introns von 78 bis 1607 bp. Die Exons 1 und 2 und die ersten 30 Basenpaare des Exons 3 kodieren die 5'-UTR des menschlichen Transkripts der β_3 -Untereinheit. Die komplette 3'-UTR wird durch den größten Teil des Exons 11 kodiert [107]. Das kodierte Peptid besteht aus 340 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 36 kD [78].

Die β -Untereinheiten heterotrimerer G-Proteine gehören zur Superfamilie der „WD-Repeat-Proteine“, die eine propellerähnliche Struktur bilden [92]. Sie setzen sich aus hoch konservierten, sich wiederholenden Einheiten zusammen, die gewöhnlich auf W-Tryptophan und D-Asparaginsäure enden („WD-Repeat“). Die N-terminale α -Helix der β -Untereinheit bildet eine parallele „Coiled-Coil-Region“ mit der γ -Untereinheit. Die sieben „WD Repeats“ des C-terminalen Endes formen die siebenblättrige β -Propellerstruktur [122].

Bei Vorhandensein des T-Allels an der Position 825 der cDNA der β_3 -Untereinheit wird ein 123 bp kleineres PCR-Produkt zusätzlich beobachtet. Alternatives Spleißen im Exon 9 (kryptische Spleißakzeptorstelle: Nukleotide 619-620) führt zu einer „*in-frame*“-Deletion der Nukleotide 498-620. Das als Spleißvariante $G\beta_{3-s}$ bezeichnete Protein ist funktionell aktiv und wird in heterotrimere G-Proteine eingebaut. $G\beta_{3-s}$ ist 41 Aminosäuren kleiner als $G\beta_3$. Es kommt zum Verlust der letzten 4 Aminosäuren des dritten „*WD-Repeat*“ sowie bis auf die letzten 5 Aminosäuren des gesamten vierten „*WD-Repeat*“ und damit eines „Propellerblattes“. Die cDNA des $G\beta_{3-s}$ leitet sich immer vom T-Allel ab, gemeinsam mit einer Reduktion der Wildtyp cDNA [126], [128]. In der Abb. 2 sind die typischen Propellerstrukturen $G\beta_3$ mit sieben „Propellerblättern“ und die Spleißvariante $G\beta_{3-s}$ mit nur sechs „Propellerblättern“ dargestellt.

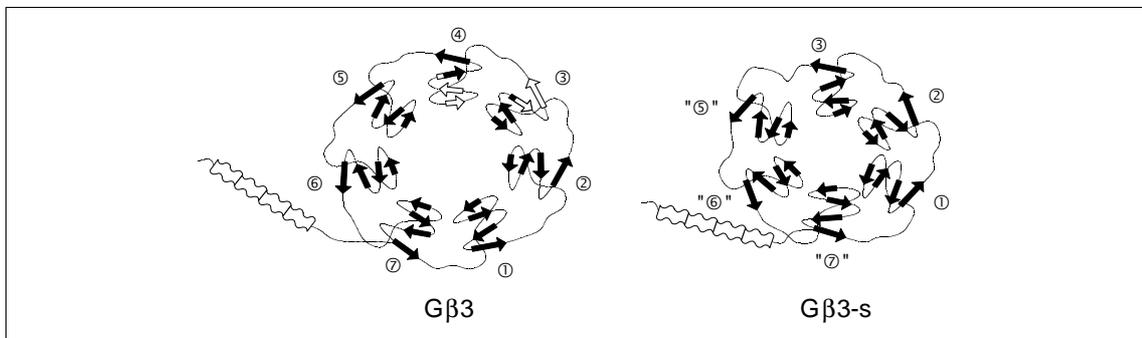


Abb. 2: Schematische Darstellung der Strukturen von $G\beta_3$ und $G\beta_{3-s}$, modifiziert nach Siffert et al. [128]

Bisherige Untersuchungen ethnischer Gruppen erbrachten erhebliche Differenzen in der Häufigkeit des T-Allels der β_3 -Untereinheit des G-Proteins. Die T-Allel-Frequenz ist bei gesunden jungen Männern kaukasischer Herkunft mit 21 – 38% am niedrigsten und bei schwarzen Afrikanern und Amerikanern mit 74 – 91% am höchsten. In der asiatischen Bevölkerung beträgt sie 42 – 52%. Eine sehr hohe Frequenz des 825 T-Allels (66 – 72%) ist in „alten“ Ethnien z.B. bei Buschmännern, Pygmäen, australischen Aborigines und Ureinwohnern von Papua-Neuguinea zu finden. Bei Primaten – Schimpansen, Orang-Utan, Rhesusaffen und Gorilla – ist das T-Allel nicht nachweisbar [124].

Roskopf et al. identifizierten im Rahmen weiterer Analysen der Genstruktur der β_3 -Untereinheit des G-Proteins zusätzliche Polymorphismen. Diese befinden sich in der Promotorregion (A(-350)G-Polymorphismus) ohne Veränderung der Promotoraktivität, im Exon 9 (A657T-Polymorphismus) ohne Veränderung der Aminosäurezusammensetzung, im Exon 10 (G814A-Polymorphismus) mit Austausch der Aminosäure Glycin durch Serin und in der 3'-UTR-Region (C1429T-Polymorphismus). Die pathophysiologische Bedeutung dieser Sequenzvarianten muss durch funktionelle Studien geklärt werden [107].

1.2. Angiotensinogen

Das Renin-Angiotensin-System (RAS) ist einer der Hauptregulatoren des arteriellen Blutdrucks und der Wasser- und Elektrolythomöostase [40]. Daher ist jede Komponente dieses physiologischen Systems ein potenzieller Kandidat in der Ätiologie der arteriellen Hypertonie [67]. Das Schlüsselsubstrat ist Angiotensinogen (AGT) [18], welches zum größten Teil in der perizentralen Zone der Leberläppchen [48] sowie in kleinen Mengen in Niere, Gehirn, Rückenmark, Aorta, Mesenterium, Vorhof, Lunge, Nebenniere, Dickdarm, Magen, Milz und Fettgewebe gebildet [17], [136] und in die Zirkulation freigesetzt wird [20]. Die hepatische Biosynthese wird durch Glukokortikoide, Östrogene, Schilddrüsenhormone, Angiotensin II (Ang II), Insulin und inflammatorische Zytokine (Interleukin 1 und Tumor Nekrose Faktor) erhöht [14], [23], [48], [83].

Eine verminderte Nierenperfusion, eine abnehmende Chloridkonzentration an der *Macula densa* und eine β -adrenerge Stimulation des sympathischen Nervensystems führen zu einer vermehrten Freisetzung der Aspartylprotease Renin aus den juxtaglomerulären, granulären Zellen der *Vasa afferentia* der Niere [105]. Das Enzym spaltet N-terminal eine Leuzin-Valin-Bindung des glykosylierten α_2 -Plasmaglobulins Angiotensinogen, wodurch das Dekapeptid Angiotensin I (Ang I) entsteht. Diese Reaktion ist bei der Aktivierung des RAS geschwindigkeitsbestimmend [40], [83]. Die an der luminalen Oberfläche des gesamten Gefäßendothels lokalisierte Dipeptidylcarboxypeptidase „*Angiotensin converting enzym*“ (ACE) spaltet Ang I in das biologisch aktive Oktapeptid Ang II und inaktiviert das vasodilatative Bradykinin [48], [105]. Durch die Interaktionen des Ang II mit seinen Rezeptoren werden die Vasokonstriktion, die Freisetzung von Aldosteron und Katecholaminen, die Sekretion von Prolaktin und ACTH, die Glykogenolyse sowie die Proliferation glatter Muskelzellen mediiert [48]. Die Signaltransduktion erfolgt über G-Proteine. Als „*second messenger*“ dienen die Phospholipase C und D sowie cAMP [48]. Die Halbwertszeit des Ang II beträgt weniger als eine Minute [105]. In der Abb. 3 wird die Aktivierung des RAS schematisch demonstriert.

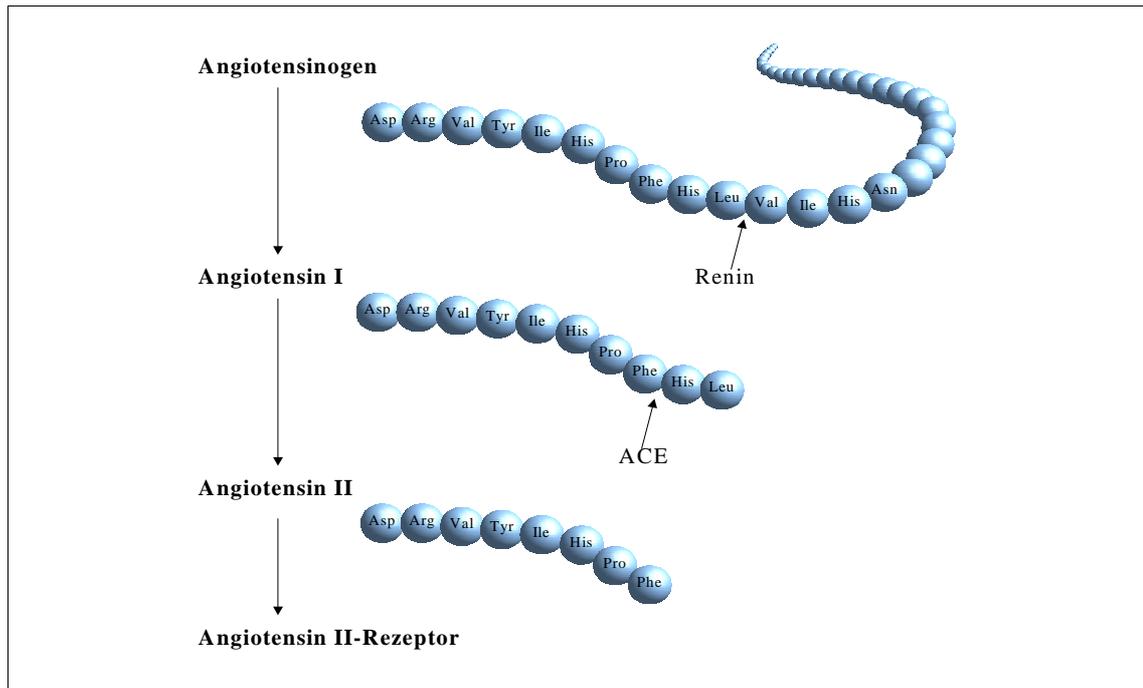


Abb. 3: Schematische Darstellung des Renin-Angiotensin-Systems, modifiziert nach Griendling et al. [48]

Das Gen des Angiotensinogens ist auf dem Chromosom 1q42-43 lokalisiert [18] und hat eine Größe von 13,4 kb [40]. In der Region des 5'-Endes befinden sich neben Promotorsequenzen „*cis-acting*“-Regulatorelemente mit Bindungsstrukturen für Glukokortikoide, Östrogene, Schilddrüsenhormone und Akute-Phase-Proteine, die die Initiation und Promotion der Transkription beeinflussen [14], [40], [48], [152]. Das AGT-Gen setzt sich aus 5 Exons und 4 Introns mit unterschiedlichen Längen zusammen [40]. Die mRNA umfasst 2099 Basenpaare. Die 5'- bzw. 3'-UTR des menschlichen Transkripts werden durch das Exon 1 und den größten Teil des Exons 5 kodiert. Die Exons 2, 3, 4 und der kleinere Teil des Exon 5 kodieren das Signalpeptid (33 Aminosäuren) und das aus 452 Aminosäuren bestehende Protein des Angiotensinogens [40]. Die molare Masse des globoiden Glykoproteins beträgt abhängig vom Glykosylierungsgrad (durchschnittlich 13 – 14%) 55 – 65 kD [23], [48].

Basierend auf Ähnlichkeiten der Aminosäure- und der cDNA-Sequenz gehören Angiotensinogen, AT III, α_1 -Antitrypsin und Ovalbumin zur gleichen Superfamilie der Serinproteaseinhibitoren (Serpine) [40].

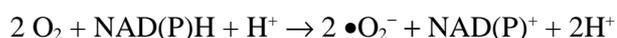
Jeunemaitre et al. beobachteten eine signifikante genetische Kopplung zwischen der arteriellen Hypertonie und dem Angiotensinogenlocus. Dies weist darauf hin, dass molekulare Varianten des Gens mit der Pathogenese der Erkrankung kausal verknüpft sind [67]. Bisher wurden 20 verschiedene Polymorphismen detektiert, von denen 10 in der 5'-Region, 9 in den Exons und einer im Intron 3 des AGT-Gens lokalisiert sind [67], [66]. Keine dieser Varianten befindet sich in der N-terminalen Region des Exons 2 – der Angriffsstelle des Renins. Sowohl der T174M

(C659T)- als auch der M235T (T842C)-Polymorphismus zeigten eine signifikante Assoziation zu arteriellen Hypertonie [67].

In der vorliegenden Arbeit wurde der Proteinp polymorphismus T174M untersucht. An der Position 174 des Angiotensinogenpeptids wird die Aminosäure Threonin (T) durch Methionin (M) ersetzt. Die Ursache ist ein Basenaustausch von Cytosin (C) durch Thymin (T) an der cDNA-Position 659 im Exon 2 des AGT-Gens [67]. Da in der untersuchten mitteldeutschen Population eine Genanalyse durchgeführt wurde, wird in den weiteren Ausführungen anstelle des T174M- bzw. M235T- nur noch der C659T- bzw. T842C-Terminus Anwendung finden.

1.3. *p22-phox*

Die NAD(P)H-Oxidasen sind an Plasmamembranen gebundene Elektronentransfersysteme, die ursprünglich bei phagozytierenden Zellen wie Makrophagen und neutrophilen Granulozyten beschrieben und charakterisiert wurden [96]. Ihre pathophysiologische Bedeutung liegt in der Erzeugung von Superoxidradikalen, die zu einer oxidativen Schädigung organischer Membranen führen [30]. Mutationen von Komponenten der NAD(P)H-Oxidase, die die Radikalproduktion beeinträchtigen, resultieren in chronisch granulomatösen Erkrankungen mit schweren invasiven Bakterien- und Pilzinfektionen [5], [30], [31], [96]. Die Superoxidradikale werden durch Reduktion von Sauerstoff gebildet. NAD(P)H dient als Elektronendonator nach der Reaktionsgleichung:



Die NAD(P)H-Oxidase ist in ruhenden neutrophilen Granulozyten aus dem membranassoziierten Zytochrom b 558 – einem denaturierbaren Heterodimer, das aus den Glykoproteinen *gp91-phox* und *p22-phox* besteht – und den zytosolischen Komponenten *p40-phox*, *p47-phox* und *p67-phox* sowie den G-Proteinen *Rac2* und *Rap1A* aufgebaut [5], [30]. Das Zytochrom b 558 umfasst ein FAD und zwei Häm als prosthetische Gruppen [5]. Nach Stimulation der phagozytierenden Zelle wird der zytosolische Komplex mit dem Flavohämprotein Zytochrom b 558 und den G-Proteinen an der Plasmamembran zur aktiven Oxidase assoziiert [5]. Innerhalb von Sekunden beginnt die Erzeugung von Sauerstoffradikalen [51].

Das kardiovaskuläre System ist ebenfalls Ursprung von Sauerstoffradikalen, die hauptsächlich durch NAD(P)H-Oxidasen generiert werden [50]. Strukturen und Funktion dieses Oxidasekomplexes wurden in Endothelzellen [8], [7], [68], Mediamyozyten [26], [47], [140], Adventitiafibroblasten [95] und renalen Mesangiumzellen [101] dokumentiert. Die Aktivierung führt zu einer verzögerten, lang andauernden Superoxidproduktion, wobei überwiegend NADH als Substrat genutzt wird [47], [51]. Anstelle von *gp91-phox* der Phagozyten wurde mit einer

56%igen Identität in Mediamyozyten das Homologon *mox-1* mit allen funktionellen Domänen für ein Flavohämprotein nachgewiesen [131]. Abb. 4 zeigt einen aktivierten NAD(P)H-Oxidasekomplex in Mediamyozyten.

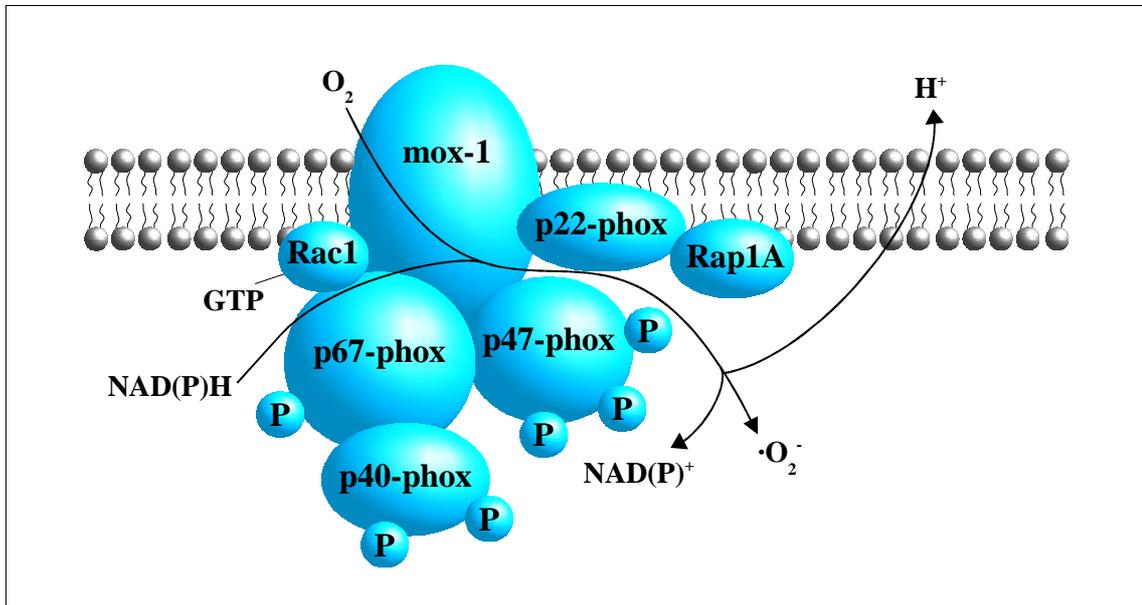


Abb. 4: Aktivierter NAD(P)H-Oxidasekomplex in Mediamyozyten, modifiziert nach Babior [5] und Griendling et al. [50], [51].

Die Aktivität der kardiovaskulären NAD(P)H-Oxidase und die Erzeugung von $\bullet\text{O}_2^-$ werden durch Hormone wie Ang II [38], [47], [104], Gerinnungsfaktoren wie Thrombin [97], Wachstumsfaktoren wie PDGF [45], Zytokine wie TNF- α [26], lokale metabolische Veränderungen wie eine Laktaterhöhung [85] und hämodynamischen Stress [50] gesteigert. Über die „second messenger“-Wirkung des $\bullet\text{O}_2^-$ und des durch die Superoxiddismutase erzeugten stabileren Metaboliten H_2O_2 wird eine erhöhte Transkription der α -Kette des Zytochrom b 558 (*p22-phox*) in Mediamyozyten verursacht [26], [38], [49]. Vielfältige biologische Reaktionen wie die Inaktivierung von $\bullet\text{NO}$ mit Bildung von Peroxynitrit und die Beeinträchtigung der endothelabhängigen Vasodilatation [73], die LDL-Oxydierung [3], eine erhöhte Expression von Adhäsionsmolekülen mit einer Migration von Monozyten, „Remodelling“ der extrazellulären Matrix [103], Wachstumsinduktion von Mediamyozyten [140] und Fibroblasten sowie die Apoptose resultieren aus einer pathologischen Zunahme von Sauerstoffradikalen in der Gefäßwand [50]. Eine Beteiligung der vaskulären NAD(P)H-Oxidase an der Pathogenese der Atherosklerose, der arteriellen Hypertonie und des Diabetes mellitus ist Gegenstand intensiver Forschungen.

Eine vermehrte Aktivität der NAD(P)H-Oxidase bei Überexpression von *p22-phox* [38] bzw. eine deutliche Reduktion der $\bullet\text{O}_2^-$ -Produktion bei Fehlen der leichten Untereinheit des Zytochrom b 558 [140] weisen auf die Bedeutung der α -Kette für die Funktion der vaskulären

NAD(P)H-Oxidase hin. Das *p22-phox*-Gen ist auf dem Chromosom 16q24 lokalisiert und hat eine Größe von mehr als 8,5 kb [30]. Das Gen setzt sich aus 6 Exons und 5 Introns zusammen [30]. Die Exons 1 bis 5 kodieren die relativ hydrophobe N-terminale Region, während das Exon 6 die hydrophilen, prolinreichen (25%) C-terminalen 72 Aminosäuren und die 3'-UTR der α -Kette kodiert [30]. Die mRNA besteht aus 687 Nukleotiden [96]. Das primäre Translationsprodukt umfasst 195 Aminosäuren und ist 22 kD schwer [96].

An der Nukleotidposition 242 der cDNA im Exon 4 wurde die in der vorliegenden Arbeit untersuchte C→T Substitution detektiert, die zum Austausch von Histidin durch Tyrosin an der Aminosäureposition 72 führt [30]. Histidin ist die potenzielle Koordinationsstelle für eine der beiden prosthetischen Hämgruppen [30], so dass sich der *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus an einer zentralen Stelle des Proteins befindet und funktionelle Auswirkungen zu vermuten sind. Der Verlust einer Bindungsstelle des Häm bei Trägern des mutanten T-Allels könnte mit einer niedrigeren Aktivität der NAD(P)H-Oxidase assoziiert sein und so einen protektiven Effekt auf die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie zur Folge haben.

2. Fragestellung

Die Aufgabe der vorliegenden Dissertation war die Analyse des Stellenwertes des G-Protein- β_3 -Untereinheit-(C825T)-, des Angiotensinogen-(C659T)- und des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit einer arteriellen Hypertonie. Eine Stichprobe von langjährigen (≥ 5 Jahre) Patienten mit arterieller Hypertonie aus der Region Mitteldeutschland wurde im Rahmen einer klinischen Fall-Kontroll-Studie untersucht. Die Vergleichsgruppe bildeten gesunde Langzeitblutspender der mitteldeutschen Population. Dabei sollten folgende Schwerpunkte untersucht werden:

1. Wie ist das Studienkollektiv klinisch und demographisch zu beschreiben?
2. Sind beim Vergleich der Allel- und Genotypfrequenzen Unterschiede zwischen den Patienten mit arterieller Hypertonie und der gesunden Vergleichsgruppe vorhanden?
3. Haben die untersuchten Polymorphismen Auswirkungen auf die Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie bei den Patienten mit arterieller Hypertonie?
4. Besteht eine Beziehung der analysierten Genmutationen zu Risikofaktoren der Atherosklerose und pathologischen Laborparametern?
5. Lassen sich Assoziationen zwischen klinisch definierten Subgruppen innerhalb der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie und dem G-Protein- β_3 -Untereinheit-(C825T)-, Angiotensinogen-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus nachweisen?
6. Haben genetische Cluster eine potenzielle Bedeutung bei der Ausbildung einer arteriellen Hypertonie?
7. Welche Fehlerquellen sind bei der Auswertung zu berücksichtigen?
8. Welche Schlussfolgerungen ergeben sich hinsichtlich weiterführender wissenschaftlicher Studien?

3. Material und Methoden

3.1. Studienkollektive

Die kaukasische Studienpopulation aus dem mitteldeutschen Raum (Halle, Merseburg, Bitterfeld, Wittenberg, Dessau) setzte sich aus 80 Patienten der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der Martin-Luther-Universität (MLU) Halle-Wittenberg (Prof. Dr. Teichmann, Prof. Dr. Werdan), die von Januar 1997 bis Juni 1998 konsekutiv rekrutiert wurden, und einer Vergleichsgruppe von 200 gesunden Langzeitblutspendern der Universitätsblutspendenzentrale zusammen. Für die Patientengruppe waren ein vor Beendigung des 55. Lebensjahres mindestens 5 Jahre bestehender essentieller arterieller Hypertonus (≥ 160 mmHg systolisch / ≥ 95 mmHg diastolisch entsprechend den Kriterien der WHO) beziehungsweise hypertensive Organveränderungen im Stadium III nach WHO die Einschlusskriterien. Als Manifestationsalter der Hypertonie wurde das Lebensalter angegeben, zu dem entweder mindestens zweimal Blutdruckwerte über 160/95 mmHg durch den Hausarzt gemessen wurden oder eine Dauermedikation mit Antihypertensiva begann. Ausschlusskriterium stellten sekundäre Hypertonieformen dar.

Die durch Zufallsstichprobe gewonnene Vergleichsgruppe der Blutspender erfüllte auch 4 Jahre nach Aufnahme in die Studie folgende Voraussetzungen: subjektives Wohlbefinden, Blutdruckwerte unter 140 mmHg systolisch und unter 90 mmHg diastolisch, keine *Angina pectoris*, kein Diabetes mellitus oder andere schwerwiegende Erkrankungen. Das durchschnittliche Alter der Vergleichsgruppe betrug zu diesem Zeitpunkt $47,5 \pm 7,7$ Jahre. Unter den Langzeitblutspendern befanden sich 158 (79,0%) Männer und 42 (21,0%) Frauen. Bezüglich der Alters- und Geschlechtsverteilung bestanden, verglichen mit den Patienten mit arterieller Hypertonie, keine signifikanten Unterschiede ($p=0,22$ für Alter; $p=0,54$ für Geschlecht).

3.2. Erhebung der Patientendaten

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte im Rahmen eines stationären Aufenthaltes auf den kardiologischen Stationen der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der MLU Halle-Wittenberg. Alle Patienten befanden sich in einem klinisch stabilen Zustand und wurden ausführlich mündlich und schriftlich über das Ziel, den Ablauf und die Konsequenzen der Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme.

Für die Durchführung der vorliegenden Studie lag die Zustimmung der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der MLU Halle-Wittenberg vor.

Die Anamnese der Patienten wurde anhand eines halbstandardisierten Fragebogens aufgenommen. Das Ziel war eine möglichst umfassende anamnestische, klinische und labor-

chemische Erfassung relevanter Risikofaktoren der essentiellen arteriellen Hypertonie und assoziierter Erkrankungen.

3.3. Strukturierung der Patientenbefragung

Die Datenerhebung beinhaltete Lebensalter, Geschlecht, Geburtsort, Familienstand und Bildungsgrad. Für die Berechnung des „*body mass index*“ [Gewicht(kg)/Körperlänge(m)²] wurden das aktuelle Gewicht und die Körpergröße bestimmt. In einem freien Gespräch schilderten die Patienten ihre Ernährungsgewohnheiten, ihren Alkohol-, Kaffee- und Teekonsum sowie die Rauchgewohnheiten sowohl zum aktuellen Zeitpunkt als auch retrospektiv. Zur Beurteilung der Lebenszeitbelastung wurde die Anzahl der „*pack years*“ (Päckchen pro Tag × Raucherjahre) berechnet. Des Weiteren wurden Informationen über die körperliche Aktivität in Beruf und Freizeit sowie den psychosozialen Stress, wie Verantwortung, Leistungsdruck, Sorge um den Arbeitsplatz, Schichtdienst, Überstunden, Konflikte in Partnerschaft und Familie, psychische Belastung durch die Erkrankung oder Arbeitslosigkeit und finanzielle Probleme erfragt.

Neben der Erfassung der Blutdruckwerte bei Krankenhausaufnahme wurde der aktuelle Blutdruck am Ende der Befragung erneut gemessen. Der Zeitpunkt des erstmaligen Auftretens erhöhter Blutdruckwerte sowie deren Behandlung wurden detailliert erhoben. Sowohl durch die Befragung der Patienten als auch durch das Studium der Patientenakten erfolgte die Erfassung von Stoffwechselerkrankungen, wie Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und Schilddrüsenfunktionsstörungen, von Erkrankungen der Leber, des Pankreas oder der Nieren. Insbesondere Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wie die koronare Herzkrankheit (enzymatisch oder elektrokardiographisch gesicherter Myokardinfarkt, angiographisch gesicherte Koronarstenose $\geq 75\%$, Z.n. revaskularisierender Operation an den Koronargefäßen), die arterielle Verschlusskrankheit, Herzklappenfehler, Herzinsuffizienz (NYHA-Stadium, ventrikulographische linksventrikuläre Ejektionsfraktion), Thrombosen und Embolien wurden eruiert.

Die aktuelle Medikation sowie relevante Ergebnisse medizintechnischer Untersuchungen insbesondere zum Ausschluss einer sekundären arteriellen Hypertonie wurden der Patientenakte entnommen. Bei 42 Patienten führten Kardiologen der Klinik für Innere Medizin III der MLU Halle-Wittenberg eine Echokardiographie durch. Eine diastolische interventrikuläre Septumdicke ≥ 12 mm wurde als linksventrikuläre Hypertrophie klassifiziert. Eine ausführliche Familienanamnese über 3 Generationen hinsichtlich eines arteriellen Hypertonus sowie anderer – insbesondere kardiovaskulärer – Erkrankungen wurde bei jedem Patienten erhoben. Als genetisch prädisponiert für eine arterielle Hypertonie wurden Patienten gewertet, wenn bei mindestens einem betroffenen Familienmitglied ersten Grades oder zwei betroffenen Verwandten zweiten Grades ebenfalls eine arterielle Hypertonie vorlag.

3.4. Biochemische Labordiagnostik

Die Entnahme der Blutproben erfolgte am Tag nach dem ausführlichen Patientengespräch morgens zwischen 7.00 und 9.00 Uhr nach mindestens 8 Stunden Nachtruhe am liegenden, in physischer Ruhe befindlichen und nüchternen (mindestens 12 Stunden Nahrungskarenz) Patienten. Die Punktion der *Vena cubitalis* wurde nach schonender Stauung am Oberarm und die Blutabnahme frei fließend durchgeführt.

Das Blut zur Bestimmung der Laborparameter wurde in standardisierten Serum-, EDTA- und Citratmonovetten gesammelt. Die zusätzliche Abnahme einer Heparin- (7,5ml) und einer EDTA- (9,0ml) Monovette erfolgte für die genetischen Analysen.

Das Zentrallabor des Universitätsklinikums Kröllwitz bestimmte alle Routineparameter und analysierte spezielle Gerinnungs- und Lipidwerte. In Tab. 1 sind die analysierten Laborparameter, die entsprechenden Referenzbereiche sowie die genutzten Bestimmungsmethoden aufgeführt.

Tab. 1: Untersuchte Laborparameter mit Referenzbereich und Bestimmungsmethode

Laborparameter	Referenzbereich	Bestimmungsmethode
<i>Routineparameter</i>		
Hämoglobin	m:8,7-11,2;w:7,3-9,9 mmol/l	Photometrie
Hämatokrit	m:0,42-0,52;w:0,37-0,47	Widerstandsmessung
Leukozyten	3,8-9,8 Gpt/l	Widerstandsmessung
Thrombozyten	140-440 Gpt/l	Widerstandsmessung
Glukose	3,9-5,9 mmol/l	Glukoseoxidase
Quick	>70%	Koagulometrie
PTT	24-36 s	Koagulometrie
TZ	14-21s	Koagulometrie
Fibrinogen	1,5-4,0 g/l	Modifiz. Methode nach Class
Natrium	134-148 mmol/l	Ionenselektive Elektrode
Kalium	3,6-5,5 mmol/l	Ionenselektive Elektrode
Kalzium	2,25-2,75 mmol/l	Arsenazo III
Harnsäure	m:200-420 mmol/l w:140-340 mmol/l	Enzymatischer Farbstest
ASAT	m:<700; w:<580 nkat	Methode nach Henry
ALAT	m:<670; w:<510 nkat	Methode nach Henry
γ-GT	m:<820; w:<530 nkat	SZASZ
Bilirubin	<17 mmol/l	Jendrassik/Graf
CRP	<5 mg/l	Immunturbidimetrie

Tab. 1: Fortsetzung

Laborparameter	Referenzbereich	Bestimmungsmethode
<i>Lipidparameter</i>		
Triglyzeride	<2,3 mmol/l	Enzymatischer Farbstest
Total-Cholesterol	<40J<5,7; >40J<6,2 mmol/l	Enzymatischer Farbstest
LDL-Cholesterol	<3,9 mmol/l	Friedewaldformel
HDL-Cholesterol	>1,5 mmol/l	Enzymatischer homogener Test
Lipoprotein (a)	<0,20 g/l	Immunnephelometrie
Apo A1	m:0,8-1,75;w:0,9-1,90 g/l	Immunnephelometrie
Apo B	0,8-1,4 g/l	Immunnephelometrie
Chylomikronen	0%	Lipidelektrophorese
β -Cholesterol	49,0-60,0%	Lipidelektrophorese
Prä- β -Cholesterol	14,0-24,0%	Lipidelektrophorese
α -Cholesterol	21,0-32,0%	Lipidelektrophorese
<i>Spezielle Gerinnungsparameter</i>		
D-Dimere	<0,5 mg/l	Durchflussenzymimmunoessay
Protein C	>70%	Kinetischer Test
Protein S (aktiviert)	65-140%	Koagulometrie
Faktor VII	>70%	Modifizierter Quick-Test mit F VII-Mangelplasma
PAI-1	0,3-3,5 E/ml	Kinetischer Test
AT III	>80%	Kinetischer Test
α_2 -Makroglobulin	1,3-3,0 g/l	Immunnephelometrie

3.5. Molekulargenetische Analyse

Die Präparation der genomischen DNA und die molekulargenetischen Untersuchungen wurden im Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie der MLU Halle-Wittenberg – Arbeitsgruppe Herz-Kreislauf-Forschung (Dr. Gläser) – durchgeführt.

Für die Präparation der DNA aus den Leukozyten einer EDTA-Blutprobe von 2,7 ml wurde das „ready to use“- Kit „QIAamp DNA Blood Maxi Kit“ (Qiagen, Hilden) entsprechend des Herstellerprotokolls eingesetzt. Die Qualität der gewonnenen DNA wurde sowohl visuell durch Auftrennung in einem 1,2%igem Ethidiumbromid-haltigen Agarosegel (0,5 μ g/ml Ethidiumbromid) unter UV-Anregung (254 nm) als auch spektrometrisch (Absorptionsmessung bei 260 nm) überprüft.

Die Amplifikation der spezifischen Fragmente erfolgte unter Verwendung der in Tab. 2 aufgeführten *Primer* mit Hilfe eines Thermocycler „Eppendorf Gradient“. Durch Auftrennung der PCR-Produkte im Ethidiumbromid-haltigen Agarosegel verbunden mit einer Längenanalyse der Fragmente in Relation zu einer 100-Basenpaar-Leiter wurde die Effizienz der durchgeführten PCR-Reaktionen geprüft.

Tab. 2: *Primerdesign* für den GNB3-(C825T)-, AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus [55], [116]

Polymorphismus	<i>Primer 5' → 3'</i>	
	„sense“	„antisense“
GNB3-(C825T)	TCT GCA CGG GCT CGG ATG AC	GGA TGC CCA CAC GCT CAG ACT T
AGT-(C659T)	TCG CTG CAA AAC TTG ACA CC	GAG CAG CCA GTC TTC CAT CC
<i>p22-phox</i> -(C242T)	GTG CAG CTG TGA CTC ATG GC	CAG AGC CAG GGA CCC GAA TT

Die polymorphen Eigenschaften wurden durch enzymatische Spaltung der PCR-Produkte und nachfolgende Fragmentanalyse in Agarosegel (Ethidiumbromidmarkierung) dargestellt. Tab. 3 gibt eine Übersicht über die PCR-Bedingungen und Restriktionsspaltungen.

Tab. 3: Genotypisierungsbedingungen

Gen	Annealingtemp./ Zyklenzahl	Größe des PCR- Produktes	Restriktions- endonuklease	Agarosegel- konzentration
GNB3-(C825T)- Polymorphismus	62°C/ 30 Zyklen	201 bp	<i>Bsa</i> II	2,0%
AGT-(C659T)- Polymorphismus	53°C/ 32 Zyklen	526 bp	<i>Nco</i> I	1,2%
<i>p22-phox</i> -(C242T)- Polymorphismus	52°C/ 35 Zyklen	886 bp	<i>Rsa</i> I	2,0%

3.5.1. Der C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins

Die Genotypanalyse wurde nach der Methode von Siffert et al. [128] durchgeführt. Das 201 bp große PCR-Produkt enthält ein Erkennungsmotiv für die Restriktionsendonuklease *Bsa* II (5'-C/CNNGG-3'), wodurch nach Spaltung zwei Fragmente von 103 bp und 98 bp entstehen. Durch den Basenaustausch C→T wird dieses Motiv zerstört. Abb. 5 gibt eine Übersicht über die möglichen Spaltprodukte.

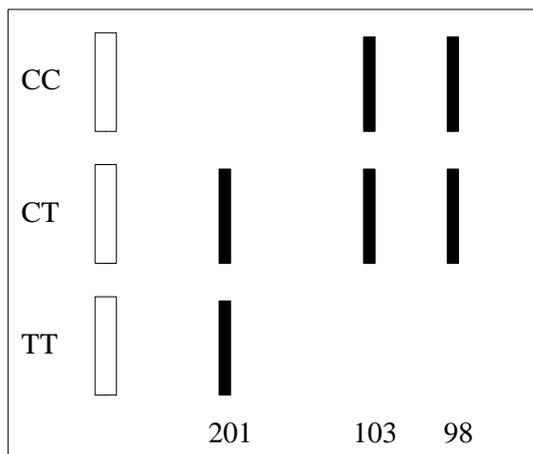


Abb.5: RFLP-Analyse zur Bestimmung des GNB3-(C825T)-Polymorphismus mittels Restriktionsendonuklease *Bsa* II

PCR-Produkt: 201 bp

Wildtyp (CC): 103bp und 98bp

Heterozygoter Genträger (CT): 201bp, 103bp und 98bp

Homozygoter Genträger (TT): 201bp

3.5.2. Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens

Die Genotypisierung erfolgte nach der Methode von Jeunemaitre et al. [67]. Durch die Basensubstitution C→T entsteht eine zusätzliche Erkennungssequenz für die Restriktionsendonuklease *Nco* I (5'-C/CATGG-3') im 526 bp großen PCR-Produkt. Damit werden zwei zusätzliche Fragmente (233 bp und 180 bp) nach der enzymatischen Digestion nachgewiesen (Abb. 6).

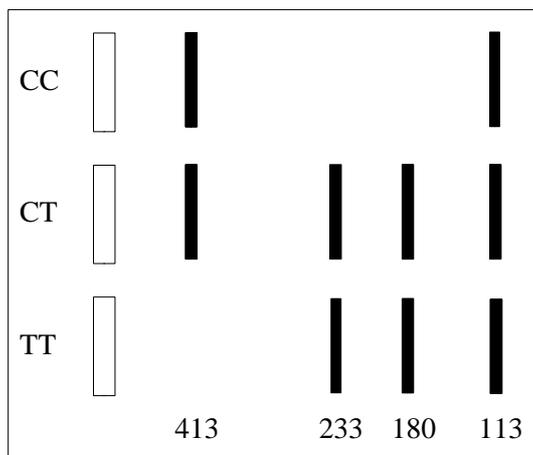


Abb. 6: RFLP-Analyse zur Genotypisierung des AGT-(C659T)-Polymorphismus mit dem Enzym *Nco* I

PCR-Produkt: 526 bp

Wildtyp (CC): 413bp und 113 bp

Heterozygoter Genträger (CT): 413 bp, 233 bp, 180 bp und 113 bp

Homozygoter Genträger (TT): 233 bp, 180 bp und 113 bp

3.5.3. Der C242T-Polymorphismus des *p22-phox*

Die RFLP-Analyse erfolgte nach der Methode von Schulz [116]. Mit Hilfe des Restriktionsenzym *Rsa* I (Erkennungssequenz 5'-GT/AC-3') wurde das 886bp große PCR-Produkt fragmentiert und im Agarosegel analysiert. Durch den Basenaustausch C→T entsteht eine zweite Erkennungssequenz für *Rsa* I, was zu den in Abb. 7 dargestellten charakteristischen Bandenmustern führt.

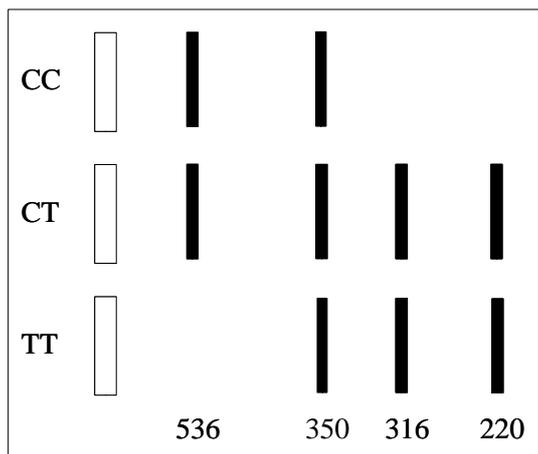


Abb. 7: Fragmentmuster der RFLP-Analyse zur Genotypisierung des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus mit Hilfe des Restriktionsenzym *Rsa* I

PCR-Produkt: 886 bp

Wildtyp (CC): 536bp und 350 bp

Heterozygoter Genträger (CT): 536bp, 350bp, 316bp und 220bp

Homozygoter Genträger (TT): 350bp, 316bp und 220bp

3.6. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der anonymisierten Daten wurde mit Hilfe des Programmes SPSS 10.0 für Windows™ durchgeführt. Die deskriptive Statistik berücksichtigte für normalverteilte metrische Merkmale Mittelwert und Standardabweichung (s) und für nicht normalverteilte Merkmale Median (Z) und Hälfte spielraum (HSR). Die graphischen Darstellung durch „Box-plots“ schloss Extremwerte außerhalb des 1,5-fachen HSR zur Verbesserung der Übersichtlichkeit nicht ein.

Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest wurde die Normalverteilung geprüft. Der Student-T-Test stellte Mittelwerte stetiger normalverteilter Merkmale unter Angabe des 95%-Konfidenzintervalles (CI) gegenüber. Die einfaktorische Varianzanalyse nach Kruskal-Wallis wurde bei nicht normalverteilten stetigen Variablen durchgeführt. Die Prüfung kategorialer Merkmale auf Unabhängigkeit erfolgte mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes. Der „Fisher's exact test“ half bei der Analyse von geringen Fallzahlen in den einzelnen Untergruppen (p_{exact}). Ergebnisse mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 5% ($p < 0,05$) wurden als statistisch signifikant gewertet. Die Assoziation zwischen einem genetischen Risikomarker und der arteriellen Hypertonie beschrieb der „odds ratio“ (OR).

Die mehrfaktorische logistische Regression erlaubte in ausgewählten Fällen eine Einschätzung der Bedeutung von Einflussfaktoren auf den Effekt der Genpolymorphismen. Für statistische Gegenüberstellungen zwischen den Patienten mit arterieller Hypertonie und den gesunden Blutspendern wurden hierbei die Variablen Alter bei Aufnahme in die vorliegende Studie bzw. nach vierjähriger Beobachtung als Kontrolle, Geschlecht sowie alle untersuchten Genpolymorphismen einbezogen ($p_{adjustiert}$ / $OR_{adjustiert}$).

Für die analysierten GNB3-(C825T)-, AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismen wurde die statistische Überprüfung kodominanter, dominanter und rezessiver genetischer Modelle durchgeführt.

Bei der Vermutung eines kodominanten Einflusses der GNB3-(C825T)-Varianten mit den Genotypen CC, CT und TT erfolgte der Vergleich CC vs. CT vs. TT, im Rahmen eines dominanten Rechenmodells für das T-Allel CT+TT vs. CC sowie unter der Annahme einer rezessiven Wirkung des T-Allels TT vs. CT+CC. Ein übereinstimmendes Vorgehen wurde unter gleichen Voraussetzungen beim AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus gewählt.

4. Ergebnisse

4.1. Klinische und laborchemische Charakterisierung der Patientengruppe

Alle 80 Patienten litten zum Zeitpunkt ihrer Aufnahme in diese Studie (Aufnahmealter $48,7 \pm 7,0$ Jahre) seit mindestens 5 Jahren an einer essentiellen arteriellen Hypertonie oder befanden sich im Stadium III der hypertensiven Organveränderungen (nach WHO). 63 (78,8%) der Patienten waren männlichen und 17 (21,3%) weiblichen Geschlechtes. Das Manifestationsalter der Erkrankung betrug $33,0 \pm 10,6$ Jahre. Die Erkrankungsdauer wurde in 4 Gruppen unterteilt und ist aus Abb. 8 ersichtlich.

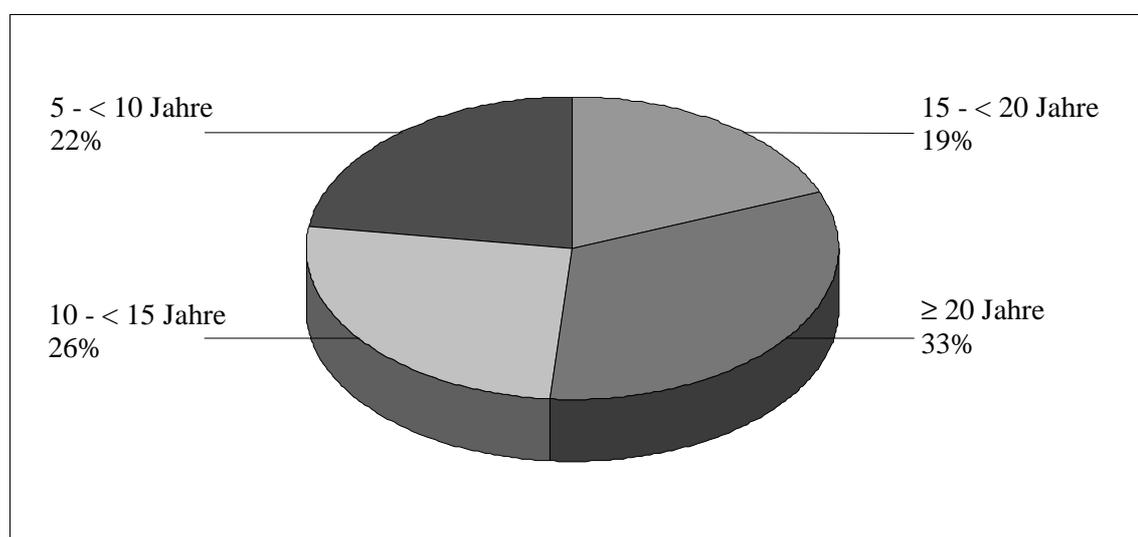


Abb. 8: Erkrankungsdauer der Patienten mit arterieller Hypertonie

Die zum Zeitpunkt der Befragung gemessenen Blutdruckwerte betragen durchschnittlich 130 ± 26 mmHg systolisch und 80 ± 16 mmHg diastolisch. Bei Krankenhausaufnahme lagen die Blutdruckwerte bei 144 ± 30 mmHg / 87 ± 18 mmHg. Diese Messergebnisse wurden größtenteils unter medikamentöser Kombinationstherapie erfasst. Bei 47 (58,8%) der Patienten bestand eine familiäre Häufung hinsichtlich einer hypertensiven Erkrankung. Diese wurde als gegeben erachtet, wenn anamnestisch mindestens ein Verwandter ersten Grades (Eltern, Geschwister, Kinder) bzw. zwei Verwandte zweiten Grades (Großeltern, Enkel) ebenfalls an einer essentiellen arteriellen Hypertonie erkrankt waren. Abb. 9 zeigt zwei typische Stammbäume betroffener Familien.

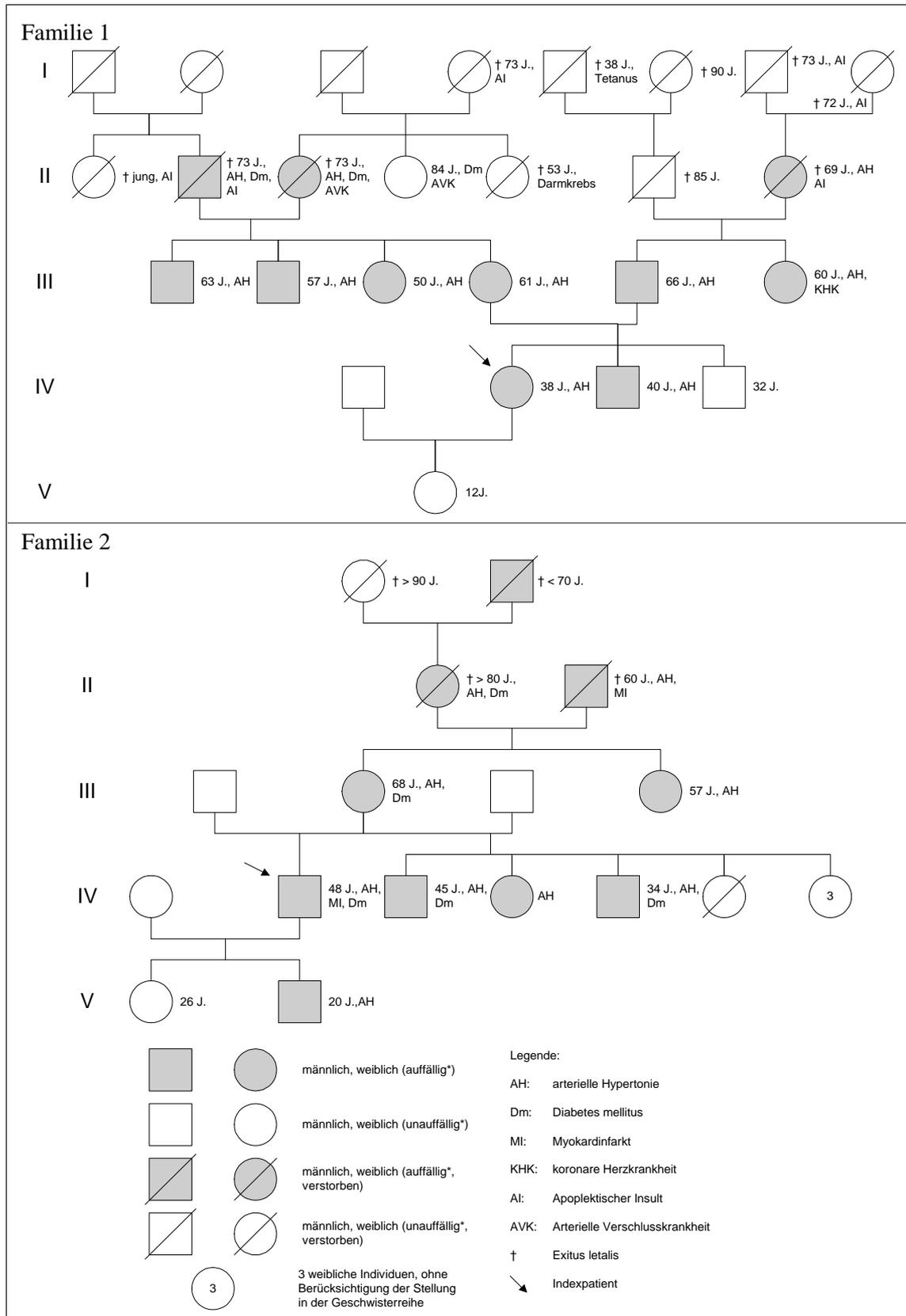


Abb. 9: Typische familiäre Konstellation in den Familien zweier Patienten mit arterieller Hypertonie (aus 80 Patienten)

*) die Kriterien von auffällig und unauffällig beziehen sich ausschließlich auf die klinische Manifestation einer arteriellen Hypertonie

Der „*body mass index*“ (BMI) betrug durchschnittlich $28,6 \pm 5,2 \text{ kg/m}^2$ mit einem Minimum von $19,4 \text{ kg/m}^2$ und einem Maximum $47,3 \text{ kg/m}^2$. Bei 2 Patienten wurde wegen Beinamputationen auf die Bestimmung des BMI verzichtet. Alle Patienten mit einem BMI unter 25 kg/m^2 wurden als normalgewichtig, mit einem BMI zwischen 25 und unter 30 kg/m^2 als übergewichtig und ab einem BMI von 30 kg/m^2 als adipös klassifiziert. Abb. 10 zeigt die Verteilung des BMI in der Patientengruppe.

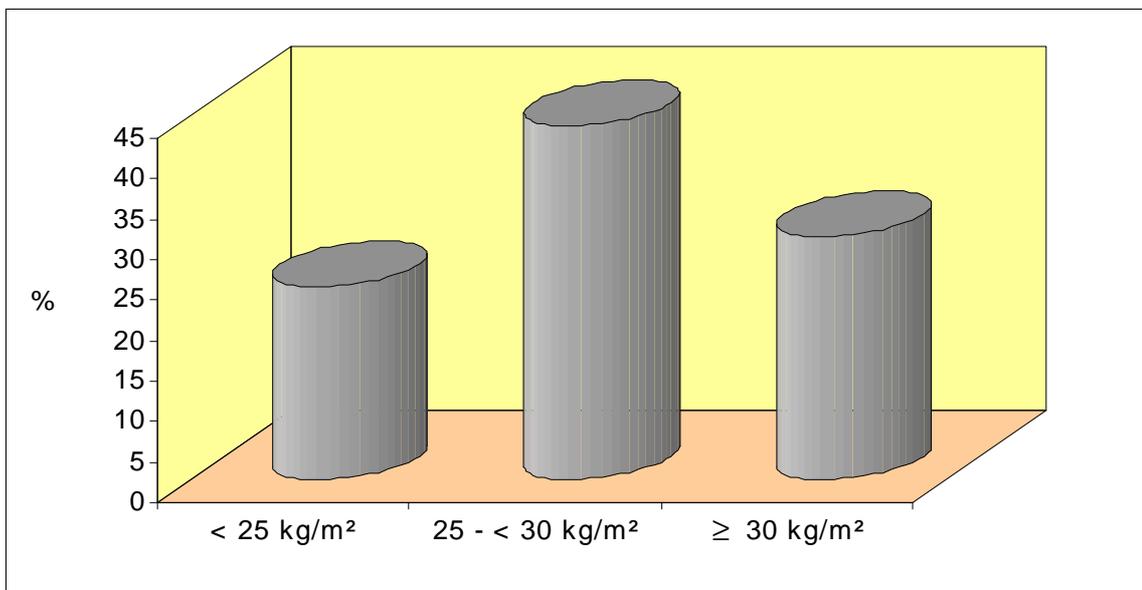


Abb. 10: Verteilung des BMI in der Patientengruppe (Klassifikation nach WHO)

50 (81,9%) Männer wurden der übergewichtigen bzw. adipösen Gruppe zugeordnet, während das nur für 9 (52,9%) Frauen zutraf.

Die lebenslangen Rauchgewohnheiten der Patienten wurden in „*pack years*“ (Päckchen pro Tag \times Raucherjahre) zusammengefasst. Es wurden durchschnittlich $18,8 \pm 16,2$ „*pack years*“ geraucht. Dabei hatten 9 (11,3%) Patienten nie, 11 (13,8%) passiv und 11 (13,8%) bis zu 10 Zigaretten pro Tag konsumiert. Der größte Teil – insgesamt 32 (40,0%) Patienten – rauchten stark (11-20 Zigaretten / Tag) bzw. 17 (21,3%) sehr stark (über 20 Zigaretten / Tag).

Die Ernährungsgewohnheiten von 13 (16,3%) Patienten wurden als gesundheitsorientiert (Ernährung mit viel Obst, Gemüse, Vollkornbrot, Fisch und wenig Fleisch) eingestuft. 40 (50,0%) verpflegten sich mit einer durchschnittlichen Mischkost, die sowohl Fleisch, Butter und Zucker aber auch Obst und Gemüse umfasste. Immerhin 27 (33,8%) ernährten sich einseitig mit viel fettem Fleisch und Wurst, Butter, reichlich Zucker und Salz.

46 (57,5%) Patienten konsumierten keinen oder nur gelegentlich (bis zweimal in der Woche) Alkohol. Regelmäßig kleinere Mengen (<30 ml $\hat{=}$ 1 Flasche Bier oder 1 Glas Wein) tranken 7 (8,8%) Patienten. 27 (33,8%) gaben einen täglichen Alkoholkonsum von größeren Mengen (> 30 ml $\hat{=}$ 2 Flaschen Bier und mehr) an.

Deutliche Unterschiede zeigten sich im Bildungsstand. 16 (20,0%) der Patienten hatten ein Hochschulstudium und 62 (77,5%) eine Lehre abgeschlossen. Lediglich 2 (2,5%) besaßen keine Ausbildung. 64 (80,0%) Patienten waren verheiratet, 9 (11,3%) geschieden, 6 (7,5%) ledig. Ein Patient war (1,3%) verwitwet.

Bezüglich ihrer körperlichen Aktivität gaben 13 (16,3%) Patienten weder im Beruf noch in der Freizeit eine physische Belastung an. 41 (51,3%) konnten der Gruppe mit leichten Anstrengungen zugeordnet werden, das heißt sie führten zum Teil stehende Arbeiten durch und unternahmen in ihrer Freizeit Spaziergänge oder kleinere Radtouren. Dem Kreis mit mittelschwerer körperlicher Aktivität wurden 24 (30,0%) Patienten zugeordnet, die überwiegend stehende und gehende Tätigkeiten inne hatten und außerdem ein leichtes körperliches Ausdauertraining wie Laufen, Schwimmen oder Skifahren mindestens zweimal wöchentlich durchführten. Lediglich 2 (2,5%) gaben eine körperlich anstrengende Arbeit (z.B. Maurer) oder ein regelmäßiges Sporttraining an.

66 (82,5%) Patienten berichteten über eine stärkere psychische Belastung wie Arbeitslosigkeit, Verantwortung, Leistungsdruck oder Konflikte in Partnerschaft und Familie sowie erhebliche Sorgen bezüglich ihrer bestehenden Erkrankung. Nur 14 (17,5%) fühlten sich seelisch ausgeglichen.

Mittels Befragung und durch Einsicht der Krankenakten wurden aktuelle und zurückliegende Erkrankungen der aufgenommenen Patienten erhoben. Insgesamt 59 (73,7%) Patienten mit arterieller Hypertonie mussten wegen einer koronaren Herzkrankheit behandelt werden.

Es überlebten 42 (52,5%) einen, 3 (3,8%) zwei und ein Patient (1,3%) vier akute Myokardinfarkte. Die interventionelle Versorgung der Patienten mit der koronaren Herzkrankheit erfolgte bei 19 (23,8%) durch PTCA, bei 8 (10,0%) durch PTCA und ACVB/IMAB und bei 19 (23,8%) durch alleinige ACVB/IMAB.

Nach den Herzinsuffizienzstadien der NYHA befanden sich 62 Patienten (77,5%) im Stadium I, 11 (13,8%) im Stadium II, 4 (5,0%) im Stadium III und 3 (3,8%) im Stadium IV. Die lävokardiographisch geschätzte Ejektionsfraktion von 65 angiographisch untersuchten Patienten betrug $62 \pm 20\%$, mit einem Minimum von 11% und einem Maximum von 90%.

Als Maß für eine Herzhypertrophie wurde die diastolische Dicke des interventrikulären Septums echokardiographisch bestimmt. Eine diastolische Dicke von ≥ 12 mm wurde als linksventrikuläre Hypertrophie definiert. 21 Patienten (26,3%) erfüllten mit einer Septumdicke von $14,0 \pm 1,22$ mm dieses Kriterium. Bei 21 (26,3%) der Patienten wurde eine Herzhypertrophie ausgeschlossen.

30 (37,5%) der Hypertoniker klagten über Herzrhythmusstörungen. Bei 10 (12,5%) Patienten war eine arterielle Verschlusskrankheit und bei 5 (6,3%) eine duplexsonographisch signifikante Stenose der *Arteria carotis* diagnostiziert worden. Weiterhin hatten 5 (6,3%) bereits einen *Apoplexia cerebri* erlitten. 5 (6,3%) Patienten machten anamnestische Angaben über eine stattgehabte Phlebothrombose.

Ein Diabetes mellitus musste bei 18 (22,5%) Hypertonikern therapiert [1 (1,3%) Typ I; 17 (21,3%) Typ II-Diabetes] werden. An einer Niereninsuffizienz ab dem Stadium der kompensierten Retention (\geq II°) litten 4 (5,0%) Patienten, von denen 3 gleichzeitig an einem Diabetes mellitus erkrankt waren. 58 (72,5%) der Patienten hatten aktuell erhöhte Cholesterolvere (55,0%) und/oder Triglyzeridwerte (33,8%), wurden deshalb medikamentös behandelt oder berichteten anamnestisch über eine Lipiderhöhung. Unter einer Hyperthyreose litten 4 (5,0%) der Probanden.

Mit folgenden kardiovaskulär relevanten Medikamenten wurden die Patienten zum Zeitpunkt ihrer Aufnahme in diese Studie therapiert: 22 (27,5%) nahmen Lipidsenker, 28 (35,0%) Diuretika, 59 (73,8%) β -Blocker, 21 (26,3%) Kalziumantagonisten, 46 (57,5%) Nitrate bzw. Molsidomin, 51 (63,8%) ACE-Hemmer bzw. AT₁-Rezeptor-Antagonisten, 3 (3,8%) Klasse I oder III Antiarrhythmika und 8 (10,0%) Digitalisglykoside ein. Diese Angaben wurden den aktuellen Patientenakten entnommen. Lediglich ein Patient erhielt keinerlei blutdrucksenkende Medikamente zum Zeitpunkt des Eintritts in die vorliegende Studie. Insgesamt 59 (73,8%) Patienten bekamen Thrombozytenaggregationshemmer und 22 (27,5%) wurden mit Antikoagulanzen wie Heparin und Vitamin-K-Antagonisten behandelt. Von den 18 Diabetikern erhielten 8 (10,0%) orale Antidiabetika und 9 (11,3%) spritzten Insulin.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden eine Auswahl relevanter kardiovaskulärer Laborparameter bestimmt (Tab. 4). Auffallend pathologische Ergebnisse – mit einem bereits außerhalb des Referenzbereiches liegendem Mittelwert – wurden beim PAI-1, Total-Cholesterolvere, HDLC, Lp(a), der Prä-Beta-Fraktion in der Lipidelektrophorese und bei den Männern nach Berechnung der Quotienten TC/HDLC und LDLC/HDLC gefunden.

Tab. 4: Ausgewählte kardiovaskulär wichtige Laborparameter

Laborparameter	arithmetischer Mittelwert \pm s	Referenzbereich
Gerinnungsparameter		
Fibrinogen	3,97 \pm 1,33	1,50 - 4,00 g/l
PAI-1	3,92 \pm 3,12	0,30 - 3,50 E/ml
α_2 -Makroglobulin	1,68 \pm 0,54	1,30 - 3,00 g/l
Protein C	119 \pm 20	> 70%
Protein S - Aktivität	101 \pm 32	65 - 140%
Faktor VII	110 \pm 24	> 70%
Serumlipide		
Triglyzeride	1,98 \pm 0,85	< 2,30 mmol/l
Total-Cholesterol	5,45 \pm 1,15	< 5,20 mmol/l ¹
LDL-Cholesterol	3,36 \pm 1,02	< 3,90 mmol/l
HDL-Cholesterol	1,16 \pm 0,40 (männl.)	> 1,5 mmol/l
	1,32 \pm 0,35 (weibl.)	> 1,5 mmol/l
TC/HDL	5,05 \pm 1,42 (männl.)	\leq 4,40 ²
	4,26 \pm 1,03 (weibl.)	
LDLC/HDL	3,17 \pm 1,17 (männl.)	\leq 3,00 ²
	2,67 \pm 0,93 (weibl.)	
Lipoprotein (a)	0,32 \pm 0,38	< 0,20 g/l
Apo A1	1,27 \pm 0,25 (männl.)	0,80 - 1,75 g/l
	1,37 \pm 0,22 (weibl.)	0,90 - 1,90 g/l
Apo B	1,22 \pm 0,31	0,80 - 1,40 g/l
Lipidelektrophorese		
Chylomikronen	0,5 \pm 0,9	0%
β-Cholesterol	47,4 \pm 8,4	49,0 - 60,0%
Prä-β-Cholesterol	28,0 \pm 8,6	14,0 - 24,0%
α -Cholesterol	24,3 \pm 6,3	21,0 - 32,0%
Sonstige Laborwerte		
Glukose	5,9 \pm 2,37	3,90 - 5,90 mmol/l
CRP	13,9 \pm 29,5	< 5,0 mg/l
Harnsäure	399 \pm 100 (männl.)	200 - 420 mmol/l
	319 \pm 104 (weibl.)	140 - 340 mmol/l

1) Dieser Wert wird von mehreren Autoren empfohlen [88].

2) Oberhalb dieser Werte steigt das koronare Risiko über 1,0 an [88].

4.2. Molekulargenetische Charakterisierung der Untersuchungsgruppen

4.2.1. Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Alle drei untersuchten Genpolymorphismen wurden auf Gleichverteilung sowohl in der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie als auch in der gesunden Vergleichsgruppe untersucht. Das Patientenkollektiv zeigte bei keinem der untersuchten Polymorphismen eine signifikante Abweichung von Hardy-Weinberg-Gleichgewicht [GNB3-(C825T): $p=0,946$; AGT-(C659T): $p=1,000$; *p22-phox*-(C242T): $p=0,077$]. Gleiches galt für die Blutspendergruppe [GNB3-(C825T): $p=0,463$; AGT-(C659T): $p=0,939$; *p22-phox*-(C242T): $p=0,876$].

4.2.2. Der C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins

Die Genotypen des GNB3-Polymorphismus zeigten bei den mitteldeutschen Patienten mit arterieller Hypertonie folgende Verteilung: CC 51,3% (n=41); CT 38,7% (n=31) und TT 10,0% (n=8). Gegenüber der Vergleichsgruppe: CC 55,1% (n=108); CT 41,3% (n=81); TT 3,6% (n=7) war eine tendenzielle Häufung des TT-Genotyps auffällig ($p_{\text{exact}}=0,114$). Die T-Allel-Frequenz betrug in der Hypertonikergruppe 29,4% und in der Vergleichsgruppe 24,2% ($p=0,238$; OR=1,3). Eine logistische Regression zur Prüfung der Unabhängigkeit der Ergebnisse von Alter, Geschlecht und den anderen untersuchten Genpolymorphismen war aufgrund einer zu geringen erwarteten Fallzahl in der Gruppe der TT-Genotypen nicht möglich. Unter der Annahme eines dominanten genetischen Modells für das mutante T-Allel (CT+TT vs. CC) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zur Vergleichsgruppe ($p=0,596$; OR=1,16). Eine statistisch signifikant erhöhte Frequenz homozygoter Mutationsträger des GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie wurde bei Annahme einer Rezessivität des T-Allels (TT vs. CT+CC) sichtbar ($p_{\text{exact}}=0,042$; OR=3,0). Tab. 5. zeigt diese Ergebnisse.

Tab. 5: GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells für das T-Allel

Gen	Genotyp	Hypertoniker		Blutspender		p_{exact}	OR
		n	%	n	%		
GNB3- (C825T)	¹⁾ CC+CT	72	90,0	189	96,4	²⁾ vs. 1)	3,0
	²⁾ TT	8	10,0	7	3,6	0,042	

Bei Betrachtung der männlichen Studienteilnehmer ergaben sich mit 31,7% tendenziell höhere T-Allel-Frequenzen in der Patienten- gegenüber 23,2% in der Vergleichsgruppe ($p=0,07$; OR=1,54). Es zeigte sich eine signifikante Assoziation des TT-Genotyps zu den Patienten mit arterieller Hypertonie ($p_{\text{exact}}=0,035$), was in Tab. 6 demonstriert wird.

Tab. 6: GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei männlichen Patienten mit arterieller Hypertonie und männlichen Blutspendern unter Annahme eines kodominanten genetischen Modells

Gen	Genotyp	Hypertoniker		Blutspender		p_{exact}
		n	%	n	%	
GNB3-(C825T)	¹⁾ CC	30	47,6	87	56,1	1) vs. 2) vs. 3) 0,035
	²⁾ CT	26	41,3	64	41,3	
	³⁾ TT	7	11,1	4	2,6	

Unter Annahme eines dominanten Modells (CT+TT vs. CC) für das mutante T-Allel fanden sich keine signifikanten Unterschiede bei Untersuchung der männlichen Teilgruppen ($p=0,295$; OR=1,4). Eine statistisch signifikante Assoziation der homozygoten Mutationsträger unter den männlichen Patienten gegenüber der männlichen Vergleichsgruppe ergab sich unter Annahme einer rezessiven Wirkung des T-Allels (TT vs. CT+CC; $p_{exact}=0,015$; OR=4,7). Diese Resultate sind in Abb. 11 aufgeführt.

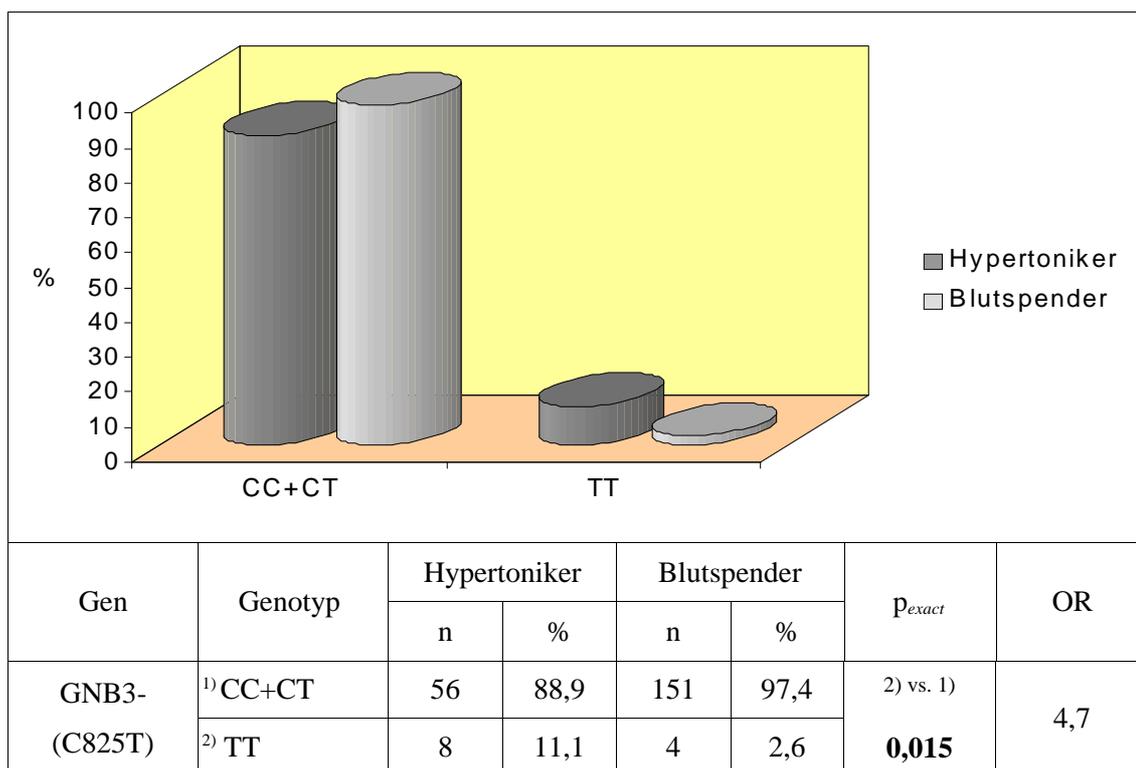


Abb.11: GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei männlichen Patienten mit arterieller Hypertonie und der männlichen Vergleichsgruppe unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells für das T-Allel

Bei den weiblichen Patienten mit arterieller Hypertonie betrug die T-Allel-Frequenz nur 20,6% gegenüber 28,0% in der weiblichen Vergleichsgruppe ($p=0,489$; OR=0,67).

Das Erkrankungsalter der Patienten variierte zwischen den Genotypen nur gering. Die arterielle Hypertonie manifestierte sich bei den Trägern des CC-Genotyps mit $33,6 \pm 10,1$ Jahren, bei den heterozygoten T-Allel-Trägern mit $31,6 \pm 11,8$ Jahren und bei den homozygoten Trägern des T-Allels mit $35,4 \pm 7,7$ Jahren. Zur Beantwortung der Frage, ob insbesondere junge Patienten (Erkrankungsalter < 40 Jahre) mit arterieller Hypertonie Träger des mutanten GNB3-(C825T)-T-Allels waren, wurden sie mit entsprechenden Blutspendern verglichen. Das Höchstalter der gesunden Vergleichsgruppe musste auf < 45 Jahre festgesetzt werden, weil die Aufnahme eines Patienten in die vorliegende Studie eine Erkrankungsdauer von mindestens 5 Jahren als Einschlusskriterium verlangte. Die Patienten konnten somit zum Zeitpunkt der durchgeführten Untersuchung ebenfalls ein Alter von < 45 Jahren erreichen. Eine Assoziation zwischen diesen jungen Subgruppen ließ sich nicht nachweisen ($p_{exact} = 0,714$). Die Gegenüberstellung der Untergruppe von Patienten ($n=29$) mit einem späteren Erkrankungsbeginn (≥ 40 Jahre) und dem Teil der Vergleichsgruppe ($n=123$), der auch im Alter von ≥ 45 Jahren gesund war, ergab eine signifikante Assoziation der homozygoten Mutationsvariante zu den Patienten mit arterieller Hypertonie ($p_{exact}=0,021$). Es existierten keine signifikanten Unterschiede in der Alters- ($p=0,116$) und Geschlechtsverteilung ($p=0,621$). Die Abb. 12 veranschaulicht diese Beziehung graphisch.

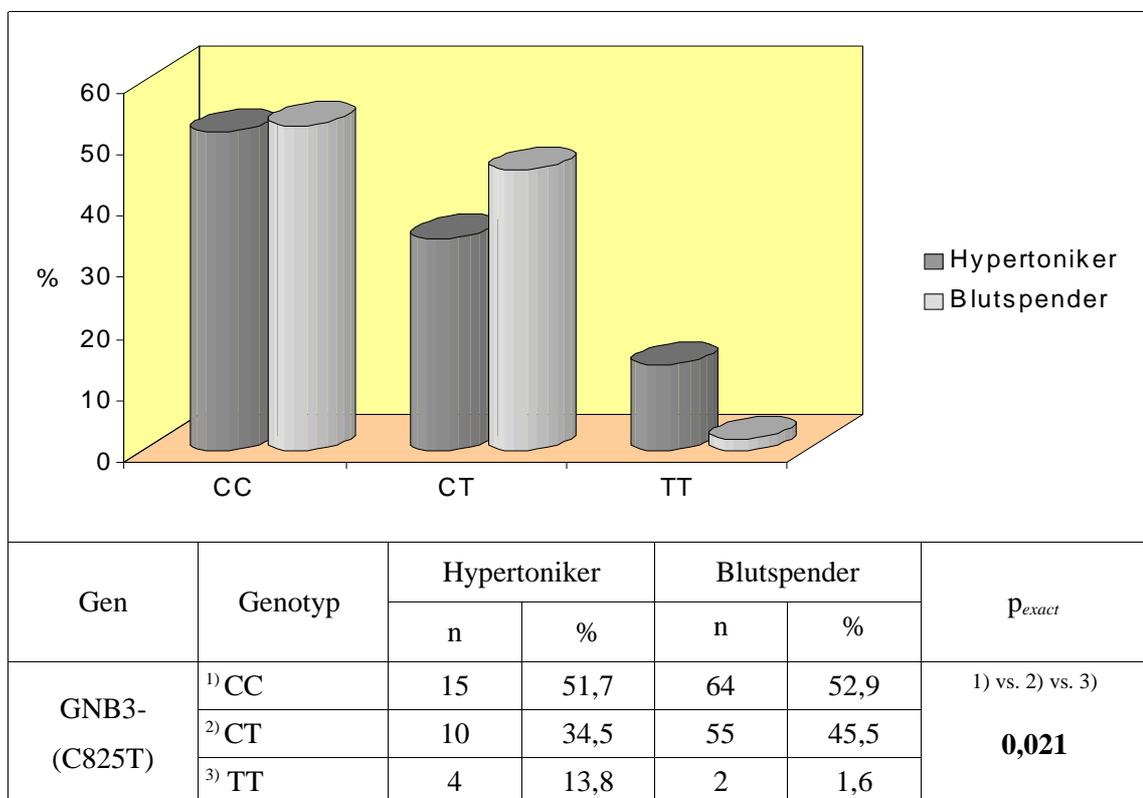


Abb.12: GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei Patienten mit einem Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie ≥ 40 Jahre und dem Teil der Vergleichsgruppe ≥ 45 Jahre unter Annahme eines kodominanten genetischen Modells

Unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells für das T-Allel (TT vs. CT+CC) bestätigte sich der signifikante Zusammenhang zwischen der homozygoten Mutante und der arteriellen Hypertonie bei einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre ($p_{\text{exact}}=0,013$; OR=9,52). Für die Gesamtheit der GNB3-(C825T)-T-Allel-Träger zeigte sich diese Assoziation in einem dominanten genetischen Ansatz (CT+TT vs. CC) nicht ($p=1$).

Bezüglich einer familiären Belastung durch arterielle Hypertonie konnten innerhalb der Patientengruppe nur geringfügige Differenzen zwischen den Genotypen der betroffenen Patienten (CC 48,9% vs. CT 38,3% vs. TT 12,8%) und den nicht prädisponierten Patienten (CC 54,5% vs. CT 39,4% vs. TT 6,1%; $p_{\text{exact}}=0,679$) gefunden werden. Auffallend war jedoch das doppelt so häufige Vorkommen einer positiven Familienanamnese bei den Trägern der homozygoten TT-Variante.

Die Höhe des BMI zwischen den Genotypen des GNB3-(C825T)-Polymorphismus unterschied sich nur geringfügig: CC $28,8 \pm 5,6$ kg/m² vs. CT $28,1 \pm 4,7$ kg/m² vs. TT $29,5 \pm 5,4$ kg/m². Die Ergebnisse sind mittels „Boxplots“ in Abb. 13 veranschaulicht.

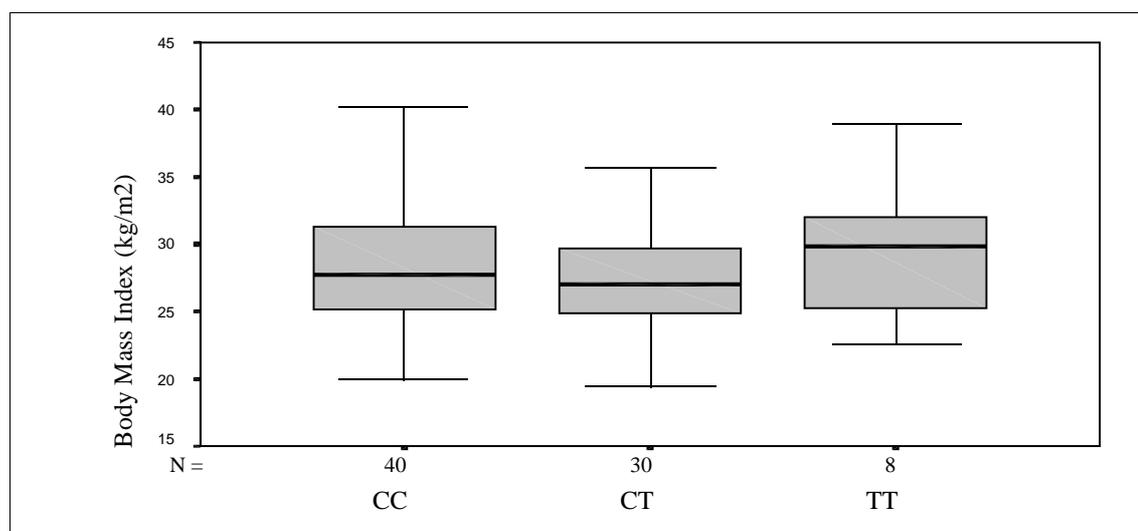


Abb. 13: GNB3-(C825T)-Polymorphismus: Vergleich des BMI bei den einzelnen Genotypen

Eine getrennte Untersuchung von männlichen und weiblichen Patienten wies keine Abhängigkeit zwischen der Höhe des BMI und den Genotypen auf.

Bei 42 Patienten war die interventrikuläre Septumdicke als Maß für eine linksventrikuläre Hypertrophie echokardiographisch untersucht worden. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen: CC $11,2 \pm 2,9$ mm vs. CT $12,3 \pm 2,7$ mm vs. TT $10,8 \pm 1,7$ mm. Lediglich Patienten mit dem CT-Genotyp zeigten eine Tendenz zur Herz-

hypertrophie ($p_{exact}=0,348$) mit einer Ventrikelseptumdicke von mindestens 12 mm. Wurde ein dominantes genetisches Modell (CT+TT vs. CC) zugrunde gelegt, so war das T-Allel tendenziell häufiger bei Patienten mit einer linksventrikulären Hypertrophie vorhanden [CT+TT 61,9% (n=13) vs. CC 38,1% (n=8)] verglichen mit denen ohne diese Komplikation [CT+TT 47,6% (n=10) vs. CC 52,4% (n=11); $p=0,536$; OR=1,79].

Der aktuelle systolische Blutdruck am Tag der Aufnahme in die Studie war bei den Trägern des GNB3-(C825T)-T-Allels (CT+TT) signifikant niedriger (123 ± 21 mmHg) als bei den Patienten mit dem CC-Genotyp (137 ± 30 mmHg; $p=0,047$; CI = 0,15 - 26,23). Diese Assoziation verschärfte sich bei alleiniger Betrachtung der männlichen Patienten (CT+TT 122 ± 19 mmHg vs. CC 142 ± 31 mmHg; $p=0,011$; CI = 4,53 - 3,83). Bezüglich des aktuellen diastolischen Blutdruckes zeigten sich bei den Patienten mit dem mutanten T-Allel ebenfalls tendenziell niedrigere Werte (CT+TT 78 ± 15 mmHg vs. CC 82 ± 18 mmHg; $p=0,338$; CI = -4,32 - 12,39). Die gleiche Tendenz ergab sich bei alleiniger Untersuchung der Männer (CT+TT 77 ± 13 mmHg vs. CC 85 ± 18 mmHg; $p=0,095$; CI= -1,38 - 16,48).

Die von einer koronaren Herzkrankheit betroffene Untergruppe der Hypertoniker (n=59) zeigte eine tendenzielle Häufung der T-Allel-Träger (CT+TT) des GNB3-(C825T)-Polymorphismus ($p=0,314$; OR=1,8). Der Anteil der Mutationsträger war noch höher in der Gruppe, die einen akuten Myokardinfarkt überlebt hatten ($p=0,119$; OR=2,26). Im koronaren Befallsmuster ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Genotypen ($p=0,965$). Die 27 Patienten aus der Gesamtgruppe, die sich einer PTCA unterziehen mussten, waren tendenziell häufiger Träger des mutanten T-Allels (63% CT+TT vs. 37% CC; $p=0,098$; OR=2,4). Bezüglich der Notwendigkeit einer ACVB/IMAB waren nur geringe Unterschiede zwischen den Genotypen festzustellen ($p=0,641$).

Alle in Tab. 1 aufgeführten Laborparameter wurden auf Assoziationen zum C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins untersucht. Bei den Natriumserumspiegeln ergaben sich signifikant niedrigere Werte bei Patienten mit einem T-Allel. Abb. 14 gibt eine Übersicht dieser Ergebnisse. Mit Hilfe einer logistischen Regressionsanalyse konnte ein möglicher Einfluss von Medikamenteneinnahmen auf die Höhe des Natriumserumspiegels innerhalb der Patientengruppe ausgeschlossen werden.

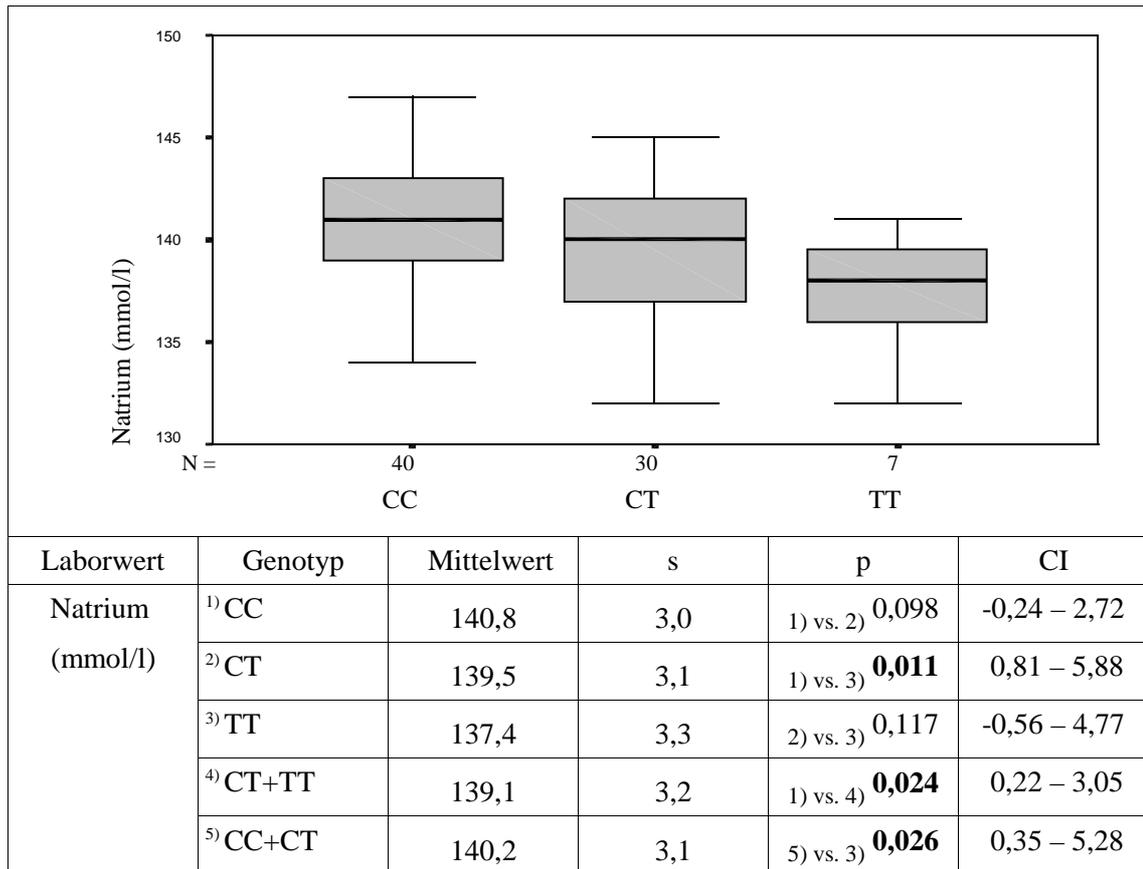


Abb.14: GNB3-(C825T)-Polymorphismus: Natriumkonzentration im Serum in Abhängigkeit vom Genotyp

Die Serumspiegel des Kaliums zeigten gegensätzliche Tendenzen. Die Patienten mit dem homozygoten Mutationsgenotyp wiesen mit $4,43 \pm 0,34$ mmol/l die höchsten und diejenigen mit dem homozygoten Wildtyp mit $4,33 \pm 0,48$ mmol/l die niedrigsten Serumkonzentrationen auf. Deutliche Unterschiede waren in der Höhe der Triglyzeride im Serum zu finden. Die Patienten mit dem T-Allel zeigten signifikant höhere Werte. Diese Ergebnisse sind in Tab. 7 aufgeführt.

Tab. 7: GNB3-(C825T)-Polymorphismus: Triglyzeridkonzentrationen im Serum in Abhängigkeit vom Genotyp

Laborwert	Genotyp	Mittelwert	s	p	CI
Triglyzeride (mmol/l)	¹⁾ CC	1,78	0,72	1) vs. 2) 0,018	-0,86 – (-0,086)
	²⁾ CT	2,25	0,91	1) vs. 3) 0,514	-0,86 – 0,43
	³⁾ TT	1,99	1,10	2) vs. 3) 0,510	-0,54 – 1,07
	⁴⁾ CT+TT	2,20	0,93	1) vs. 4) 0,028	-0,80 – (-0,047)

Ähnliche Tendenzen wiesen die Serumspiegel des Total-Cholesterols, allerdings ohne das Signifikanzniveau zu erreichen, auf.

4.2.3. Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens

In der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie wurde bei 69,7% (n=53) der CC-, bei 27,6% (n=21) der CT- und bei 2,6% (n=2) der TT-Genotyp des AGT-(C659T)-Polymorphismus detektiert. Gegenüber der Vergleichsgruppe: CC 76,6% (n=151); CT 22,3% (n=44); TT 1,0% (n=2) war eine tendenzielle Häufung der Genotypen mit dem mutanten T-Allel auffällig ($p_{\text{exact}}=0,286$). Die T-Allel-Frequenz betrug in der Hypertonikergruppe 16,4% und in der Vergleichsgruppe 12,2% ($p=0,207$; OR=1,42). Aufgrund einer zu geringen Fallzahl in der Gruppe der TT-Genotypen war eine logistische Regression zur Prüfung der Unabhängigkeit der Ergebnisse von Alter, Geschlecht und den anderen untersuchten Genpolymorphismen nicht möglich. Unter der Annahme einer Dominanz des T-Allels (CT+TT vs. CC) ergab sich eine tendenzielle Häufung der T-Allel-Träger in der Patientengruppe gegenüber der Vergleichsgruppe ($p=0,277$; OR=1,42). Diese Ergebnisse sind in Abb. 15 dargestellt. Auf Untersuchungen zur rezessiven Wirkung des T-Allels (TT vs. CT+CC) wurde aufgrund der Seltenheit dieses homozygoten Genotyps in der Patienten- und Vergleichsgruppe verzichtet. Alle weiteren statistischen Berechnungen zum AGT-(C659T)-Polymorphismus basieren auf der Annahme eines dominanten genetischen Ansatzes (CT+TT vs. CC).

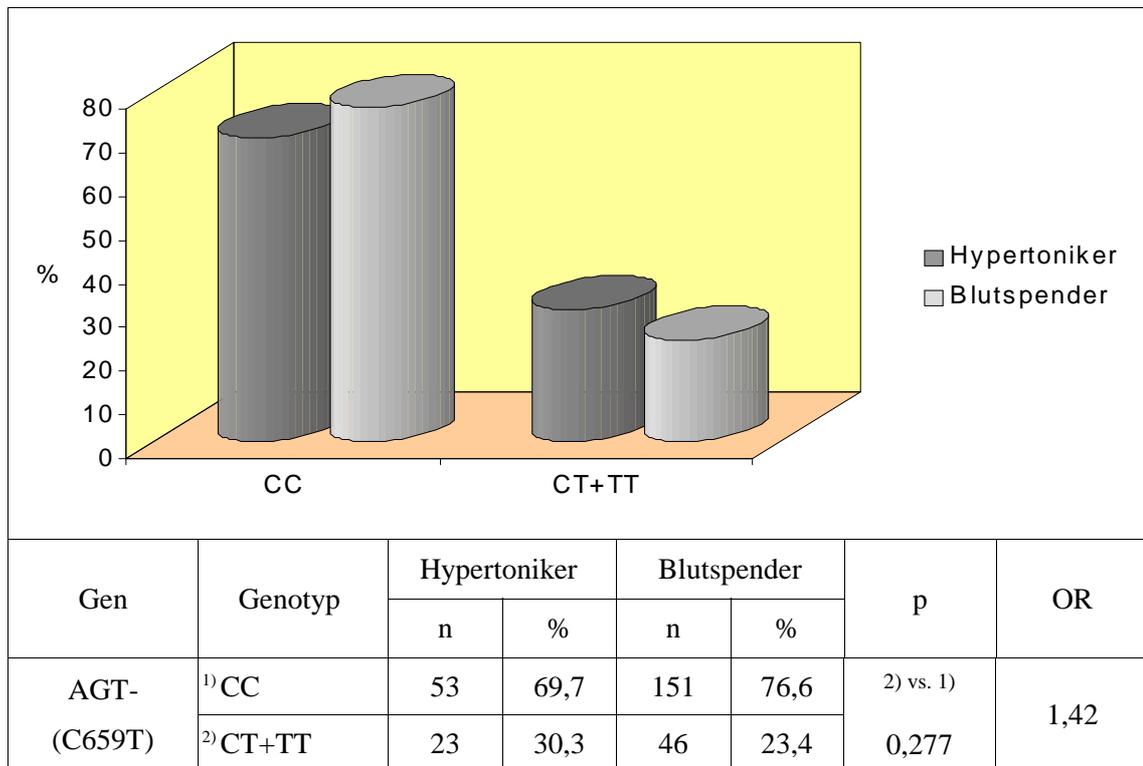


Abb. 15: AGT-(C659T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Die Untersuchung der männlichen Subgruppe ergab mit 17,5% eine tendenziell höhere Frequenz des mutanten T-Allels in der Patienten- gegenüber 14,1% in der Vergleichsgruppe ($p=0,371$; $OR=1,29$). Die T-Allel-Frequenz der weiblichen Patienten mit arterieller Hypertonie war mit 12,5% gegenüber 4,9% in der weiblichen Vergleichsgruppe ebenfalls tendenziell erhöht ($p_{exact}=0,217$; $OR=2,79$). Die weiblichen Patienten zeigten eine tendenziell ($p=0,600$; $OR=1,5$) und die Gruppe der gesunden weiblichen Blutspender eine statistisch signifikant ($p_{exact}=0,022$; $OR=3,2$) niedrigere Frequenz des mutanten T-Allels gegenüber beiden männlichen Untergruppen.

Im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen wurden verschiedene Altersgruppen analysiert. Dabei zeigte sich eine signifikante Assoziation des AGT-(C659T)-T-Allels zu der Subgruppe der Patienten ($n=29$) mit einem späteren Erkrankungsbeginn (≥ 40 Jahre) gegenüber der ≥ 45 -jährigen Vergleichsgruppe ($n=123$; $p_{exact}=0,003$). Das höhere Alter der gesunden Blutspender begründet sich aus der Mindesterkrankungsdauer von 5 Jahren bei den Patienten mit arterieller Hypertonie. Die Alters- und Geschlechtsverteilung zwischen beiden Gruppen zeigte keine signifikanten Unterschiede. Die Assoziation des AGT-(C659T)-T-Allels zu den Patienten mit einem Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie ≥ 40 Jahre bestätigte sich unter der Annahme eines dominanten genetischen Ansatzes ($p=0,002$; $OR=4,4$). In Abb. 16 sind diese Resultate graphisch aufbereitet. Der Vergleich der Patienten mit einem Erkrankungsalter < 40 Jahre mit den gesunden Blutspendern < 45 Jahre zeigte keine Unterschiede in der Verteilung der Genotypen des AGT-(C659T)-Polymorphismus ($p=0,156$; $OR=0,52$).

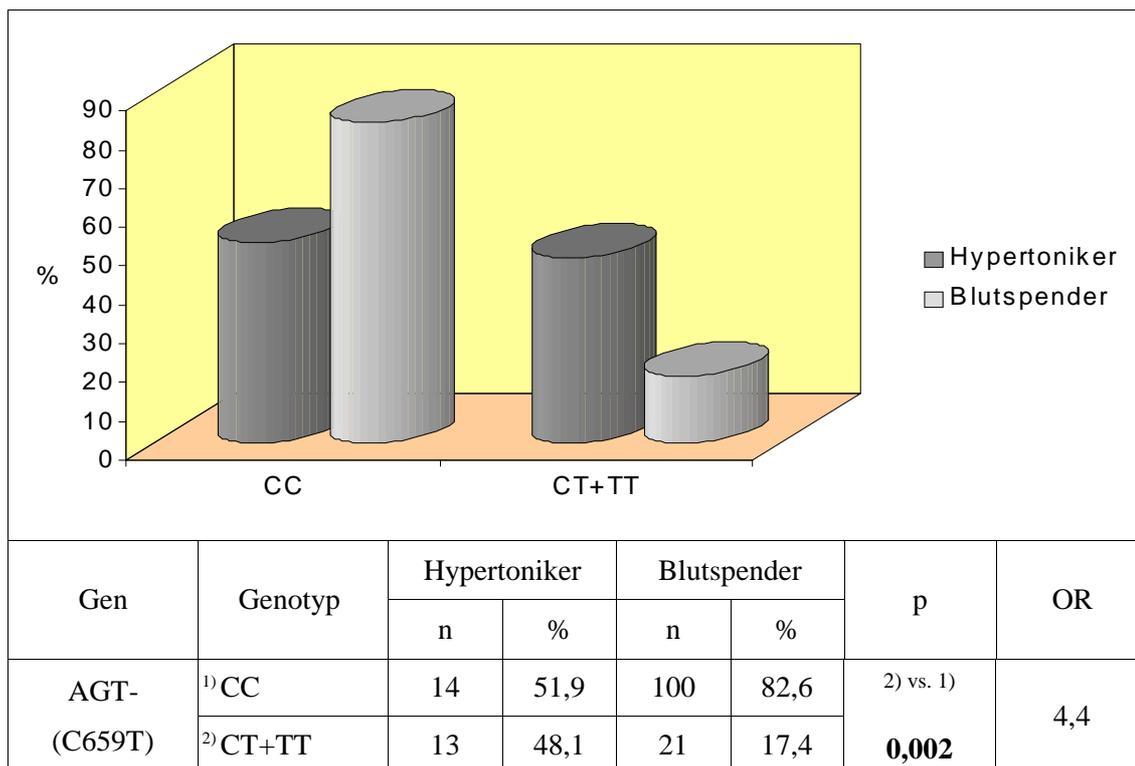


Abb. 16: AGT-(C659T)-Polymorphismus bei Patienten mit einem Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie ≥ 40 Jahre und dem Teil der Vergleichsgruppe ≥ 45 Jahre unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Eine Prüfung innerhalb der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie ergab eine signifikante Assoziation des mutanten AGT-(C659T)-T-Allels zu den im höheren Lebensalter erkrankten Patienten (≥ 40 Jahre) gegenüber den Patienten mit einem sehr frühen Manifestationsalter (< 40 Jahre; $p=0,018$; $OR=3,6$). Diese Ergebnisse sind in Abb. 17 dargestellt.

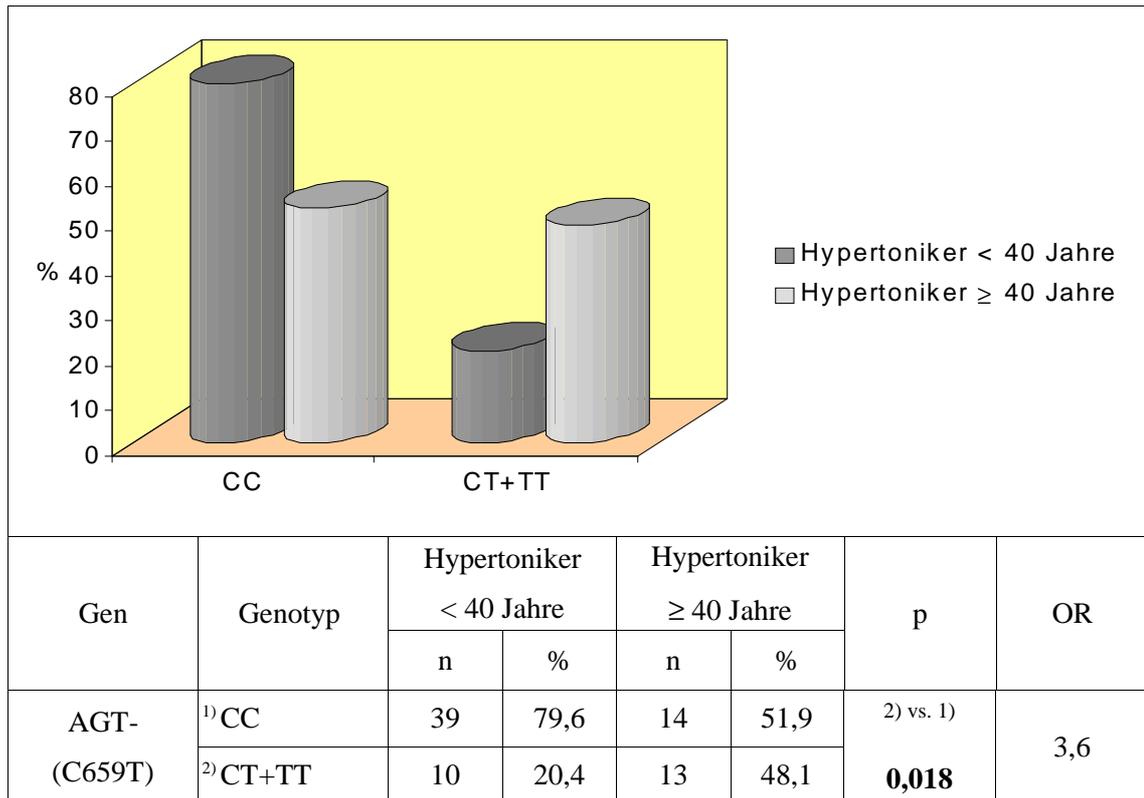


Abb.17: AGT-(C659T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und einem Manifestationsalter < 40 gegenüber ≥ 40 Jahre unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Das durchschnittliche Erkrankungsalter der 53 Patienten mit der Wildtypkonstellation CC des AGT-(C659T)-Polymorphismus betrug $31,2 \pm 9,8$ Jahre, während die 23 T-Allel-Träger signifikant später ($36,5 \pm 11,6$ Jahre) erkrankten ($p=0,046$). Dieses Ergebnis ist in Abb. 18 demonstriert.

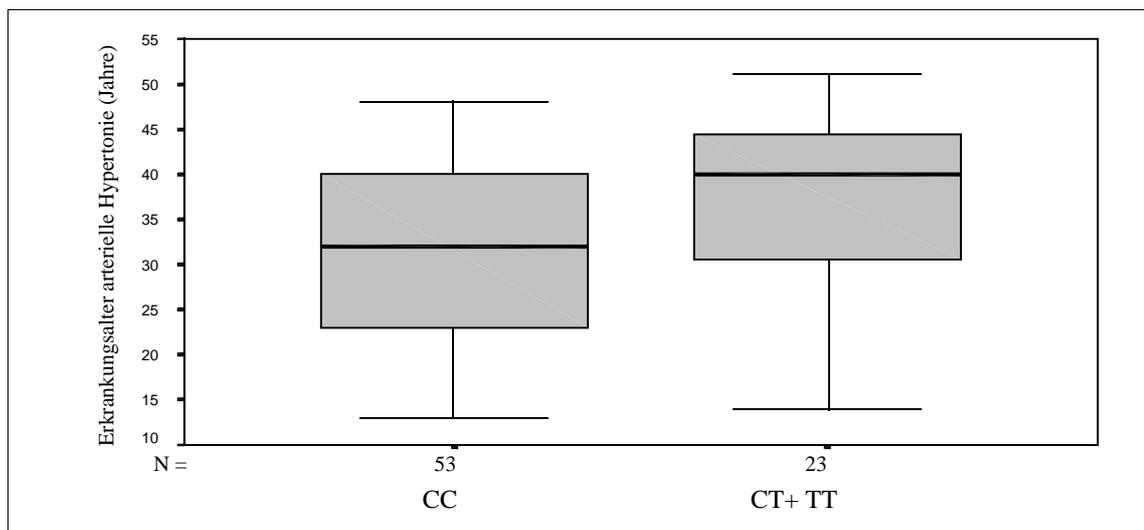


Abb. 18: AGT-(C659T)-Polymorphismus: Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Bei Vorliegen einer familiären Hypertoniebelastung (n=47) war das Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie allerdings unabhängig vom AGT-(C659T)-Polymorphismus. Das durchschnittliche Erkrankungsalter betrug in dieser Gruppe bei den Patienten mit dem CC-Genotyp $31,9 \pm 8,5$ Jahre und bei den T-Allel-Trägern $31,6 \pm 13,0$ Jahre ($p=0,943$).

Patienten mit einer arteriellen Hypertonie und einer positiven Familienanamnese zeigten eine Tendenz zum homozygoten CC-Genotyp (CT+TT 23,3% vs. CC 76,7%) gegenüber den Patienten ohne eine familiäre Belastung (CT+TT 39,4% vs. CC 60,6%; $p=0,141$; OR=2,15).

Der BMI unterschied sich zwischen den homozygoten C-Allel- und allen T-Allel-Trägern nur geringfügig: CT+TT $27,9 \pm 4,0$ kg/m² vs. CC $28,8 \pm 5,6$ kg/m² ($p=0,532$). Auch in einer geschlechtsgetrennten Untersuchung fanden sich keine Assoziationen zwischen der Höhe des BMI und den Genotypen.

Bezüglich der diastolischen interventrikulären Septumdicke ergaben sich keine genotypabhängigen Unterschiede (CT+TT $11,7 \pm 3,2$ mm vs. CC $11,7 \pm 2,5$ mm; $p=0,924$).

Der Vergleich der 59 Hypertoniker mit einer KHK mit den gesunden Blutspendern zeigte eine tendenzielle Häufung des T-Allels in der Koronargruppe ($p=0,165$; OR=1,6). Innerhalb der Patientengruppe ergab sich nur eine minimale Tendenz des T-Allels zur koronaren Herzkrankheit ($p=0,580$; OR=1,6). Bei den 12 Patienten mit arterieller Hypertonie, die gleichzeitig an einer hämodynamisch wirksamen Stenose der *Arteria carotis* und/oder an einer arteriellen Verschlusskrankheit litten, fiel eine Tendenz zum mutanten T-Allel auf, die das Signifikanzniveau aber nicht erreichte ($p_{exact}=0,058$; OR=4,3).

Eine Analyse der medikamentösen Behandlung in Beziehung zum AGT-(C659T)-Polymorphismus ergab eine signifikant häufigere Einnahme von lipidsenkenden Präparaten bei den Patienten mit dem mutanten T-Allel ($p=0,001$; OR=6,14). Eine Hypercholesterolemie ($p=0,116$; OR=2,58) und eine Hypertriglyzeridämie ($p=0,072$; OR=3,69) bestanden anamnestisch und zum Aufnahmezeitpunkt in die vorliegende Studie tendenziell häufiger bei den T-Allel-Trägern. Die Lipidparameter TC und Lp(a) – in beiden Gruppen oberhalb des Referenzbereiches –, HDLC und LDLC, die α -Cholesterolfraktion in der Lipidelektrophorese sowie Apo A1 und B zeigten bei der genotypspezifischen Untersuchung keine signifikanten Unterschiede. Die Patienten mit dem mutanten T-Allel wiesen in der Lipidelektrophorese eine tendenziell höhere Prä- β -Cholesterolfraktion und eine signifikant niedrigere β -Cholesterolfraktion sowie tendenziell höhere Triglyzeride auf. Diese Resultate sind in Tab. 8 aufgeführt. Die Höhe der Lipidparameter war unabhängig von der Lipidsenkereinnahme.

Tab. 8: AGT-(C659T)-Polymorphismus: β - und Prä- β -Cholesterolfraktion der Lipidelektrophorese und Triglyzerid-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Genotyp unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Laborwert	Genotyp	Mittelwert	s	p	CI
β -Cholesterol (%)	¹⁾ CC	48,4	8,1	²⁾ vs. 1) 0,027	0,56 – 9,00
	²⁾ CT+TT	43,7	8,0		
Prä- β -Cholesterol (%)	¹⁾ CC	26,7	8,2	²⁾ vs. 1) 0,066	-8,62 – 0,29
	²⁾ CT+TT	30,9	9,3		
Triglyzeride (mmol/l)	¹⁾ CC	1,88	0,88	²⁾ vs. 1) 0,120	-0,77 – 0,09
	²⁾ CT+TT	2,22	0,77		

In der speziellen Gerinnungsanalyse fanden sich nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie (Heparin- und Cumarinderivate) signifikant erhöhte Faktor VII-Plasmaspiegel bei den AGT-(C659T)-T-Allel-Trägern ($p=0,049$). Des weiteren zeigten die Träger des mutanten T-Allels tendenziell höhere Plasmaspiegel für α_2 -Makroglobulin ($p=0,071$). Für Fibrinogen, PAI-1, Protein C, Protein S-Aktivität und insbesondere AT III ergaben sich keine Unterschiede. Die Verteilung des Faktors VII zwischen den Genotypen ist mittels „Boxplots“ in Abb. 19 veranschaulicht. Der Faktor VII ist kein normal verteiltes Merkmal. Aus diesem Grund wurde kein 95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert angegeben.

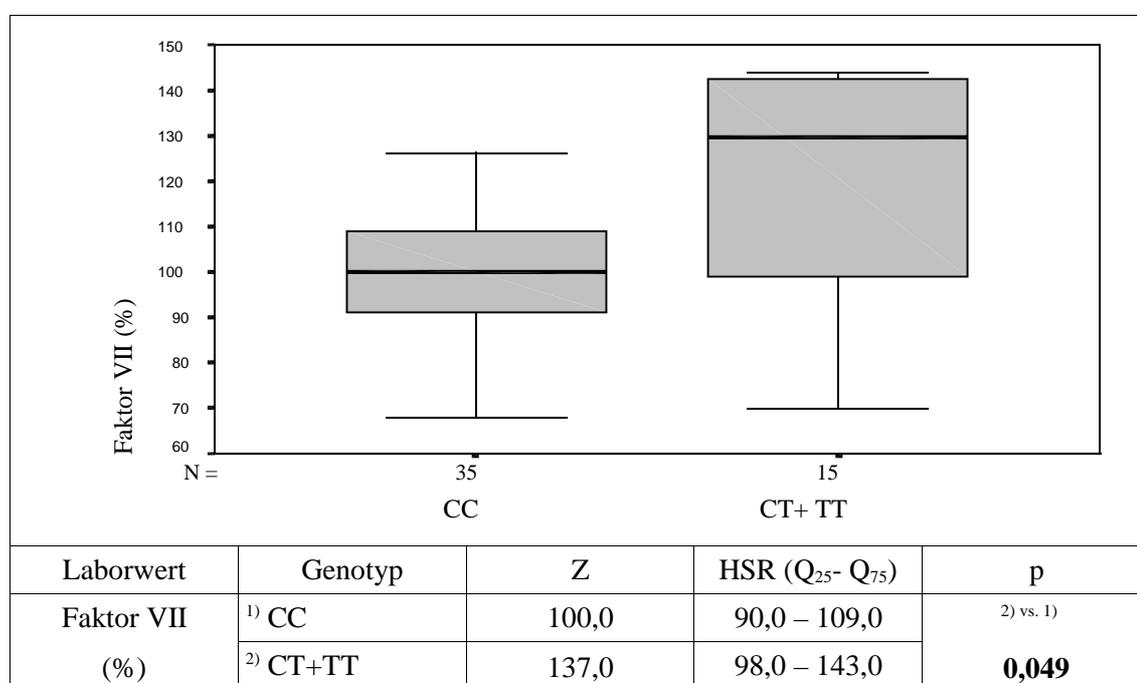


Abb.19: AGT-(C659T)-Polymorphismus: Faktor VII-Plasmaspiegel nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie in Abhängigkeit vom Genotyp unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

4.2.4. Der C242T-Polymorphismus des *p22-phox*

Die Genotypen des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus zeigten in der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie verglichen mit den gesunden Blutspendern eine tendenzielle Häufung des CT-Genotyps. Diese Ergebnisse waren in der logistischen Regressionsanalyse unabhängig von Alter, Geschlecht und den anderen untersuchten Genpolymorphismen ($p_{\text{adjustiert}}$ / $OR_{\text{adjustiert}}$) und werden in Abb. 20 dargestellt.

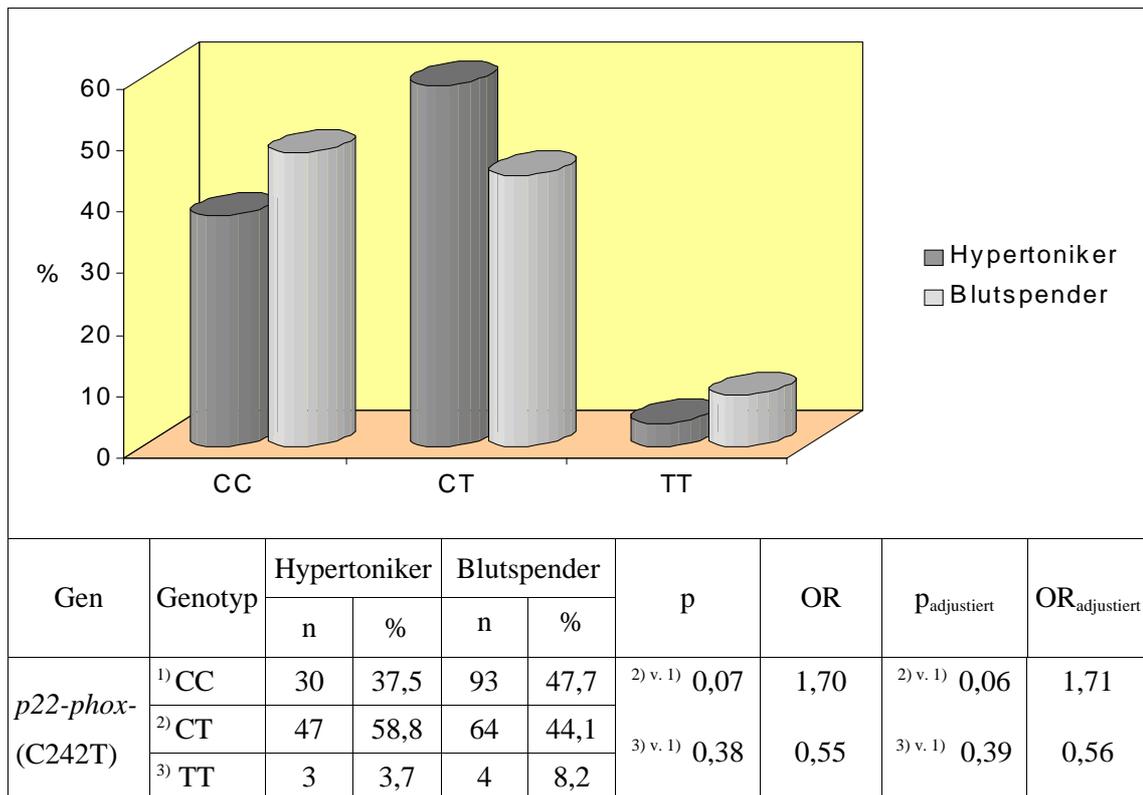


Abb. 20: *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines kodominanten genetischen Modells

Bei den Patienten mit arterieller Hypertonie war die T-Allel-Frequenz mit 33,1% geringfügig höher als in der Vergleichsgruppe mit 30,3% ($p=0,543$; $OR=1,14$). Unter der Annahme einer dominanten Wirkung des T-Allels (CT+TT vs. CC) fand sich eine Häufung der Mutationsträger in der Patientengruppe ($p=0,142$; $OR=1,52$). In Abb. 21 ist dieser Zusammenhang veranschaulicht.

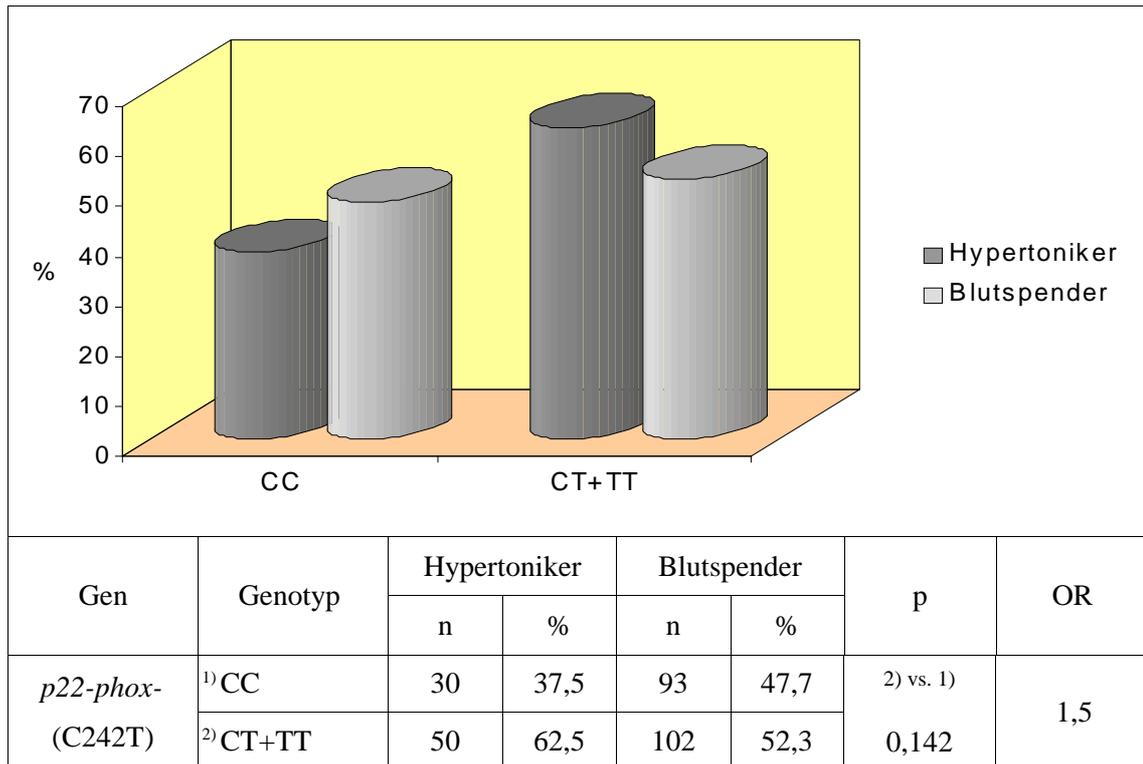


Abb. 21: *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und der Vergleichsgruppe unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Eine geschlechtsabhängige Untersuchung der Genotypenverteilung bestätigte die Tendenz des mutanten T-Allels im dominanten genetischen Modell (CT+TT vs. CC) zur arteriellen Hypertonie bei Männern ($p=0,291$; $OR=1,43$) und Frauen ($p=0,385$; $OR=1,93$). Sowohl in der Patienten- (29,4% gegenüber 34,1%) als auch in der Vergleichsgruppe (25% gegenüber 31,6%) wiesen die weiblichen Subgruppen tendenziell niedrigere T-Allel-Frequenzen als die männlichen Untergruppen auf. Homozygote Träger des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels (TT vs. CT+CC) waren hingegen seltener bei den Hypertonikern anzutreffen ($p=0,294$; $OR=0,44$).

Das Erkrankungsalter der Patienten mit arterieller Hypertonie unterschied sich zwischen den Genotypen nur unerheblich (CC $33,0 \pm 10,6$ Jahre vs. CT $33,0 \pm 11,0$ Jahre vs. TT $34,3 \pm 5,5$ Jahre). Bezüglich einer familiären Prädisposition für eine arterielle Hypertonie ließen sich nur geringe Differenzen zwischen den Genotypen feststellen ($p=0,640$; $OR=1,36$). Aufgrund der Seltenheit der homozygoten Mutationsträger wurde für alle weiteren statistischen Berechnungen ein dominantes genetisches Modell (CT+TT vs. CC) verwendet.

Hinsichtlich beeinflussbarer Risikofaktoren für eine frühzeitige Atherosklerose wiesen die Träger des T-Allels ($16,0 \pm 14,0$ „pack years“) unter den Patienten mit einer arteriellen Hypertonie eine signifikant geringere lebenslange Rauchbelastung als die Patienten mit dem

CC-Genotyp ($23,5 \pm 18,6$ „pack years“) auf ($p=0,043$). Der BMI unterschied sich in der Gesamtgruppe nur wenig (CT+TT $28,1 \pm 4,5$ kg/m² vs. CC $29,4 \pm 6,2$ kg/m²; $p=0,273$). Allerdings hatten die weiblichen Patienten mit dem T-Allel einen tendenziell niedrigeren BMI als diejenigen mit dem CC-Genotyp (CT+TT $24,5 \pm 3,2$ kg/m² vs. CC $30,5 \pm 8,0$ kg/m²; $p=0,051$).

Die diastolische interventrikuläre Septumdicke als Maß für eine Herzhypertrophie zeigte zwischen den *p22-phox*-(C242T)-Genotypen nur geringe Differenzen (CT+TT $11,5 \pm 2,8$ mm vs. CC $11,9 \pm 2,7$ mm; $p=0,648$).

Unterschiede in der Verteilung der Genotypen zwischen den Patienten mit arterieller Hypertonie und KHK ($p=0,552$; OR=1,2) bzw. nach Überleben eines akuten Myokardinfarktes ($p=0,870$; OR=1,1) und der gesunden Vergleichsgruppe fanden sich nicht. Die Untersuchung innerhalb der Patientengruppe ergab eine tendenzielle Verminderung des mutanten T-Allels bei Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit ($p=0,190$; OR=0,43) sowie nach Überleben eines akuten Myokardinfarktes ($p=0,104$; OR=0,43) gegenüber den Patienten ohne diese Komplikationen (siehe Abb. 22). Diese Resultate waren unabhängig vom Aufnahmealter der Patienten mit arterieller Hypertonie.

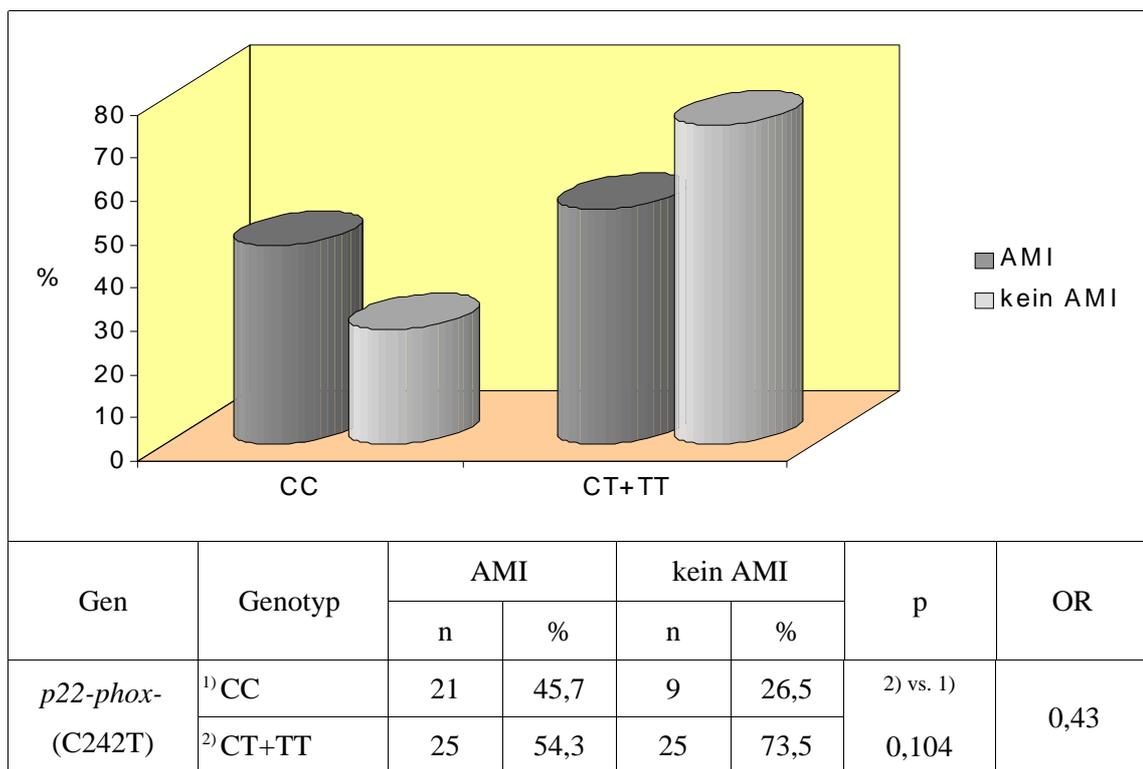


Abb. 22: *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie mit Z.n. akutem Myokardinfarkt gegenüber den Patienten ohne diese Komplikation unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Koronare Mehrgefäßerkrankungen waren bei den Patienten mit arterieller Hypertonie und KHK tendenziell häufiger mit dem mutanten *p22-phox*-(C242T)-T-Allel assoziiert ($p_{\text{exact}}=0,252$;

OR=2,8). Entsprechend wurde signifikant häufiger bei den Trägern des T-Allels ein koronar-chirurgischer Eingriff (ACVB/IMAB) durchgeführt, verglichen mit den Patienten mit dem homozygoten Wildtyp ($p=0,034$; OR=3,7). Abb. 23 demonstriert diese Resultate graphisch. Das Ergebnis war unabhängig vom Manifestationsalter der arteriellen Hypertonie, vom Geschlecht und den anderen untersuchten Genpolymorphismen. Allerdings wiesen die Patienten, die sich bereits einer chirurgischen Intervention unterziehen mussten, ein signifikant höheres Alter bei der Aufnahme in die vorliegende Studie auf (ACVB/IMAB $52,8 \pm 6,0$ Jahre vs. keine ACVB/IMAB $47,2 \pm 6,0$ Jahre; $p<0,001$). Bezüglich der Durchführung einer PTCA fanden sich zwischen den Genotypen bei den Patienten mit arterieller Hypertonie und KHK keine Unterschiede ($p=0,797$; OR=0,86).

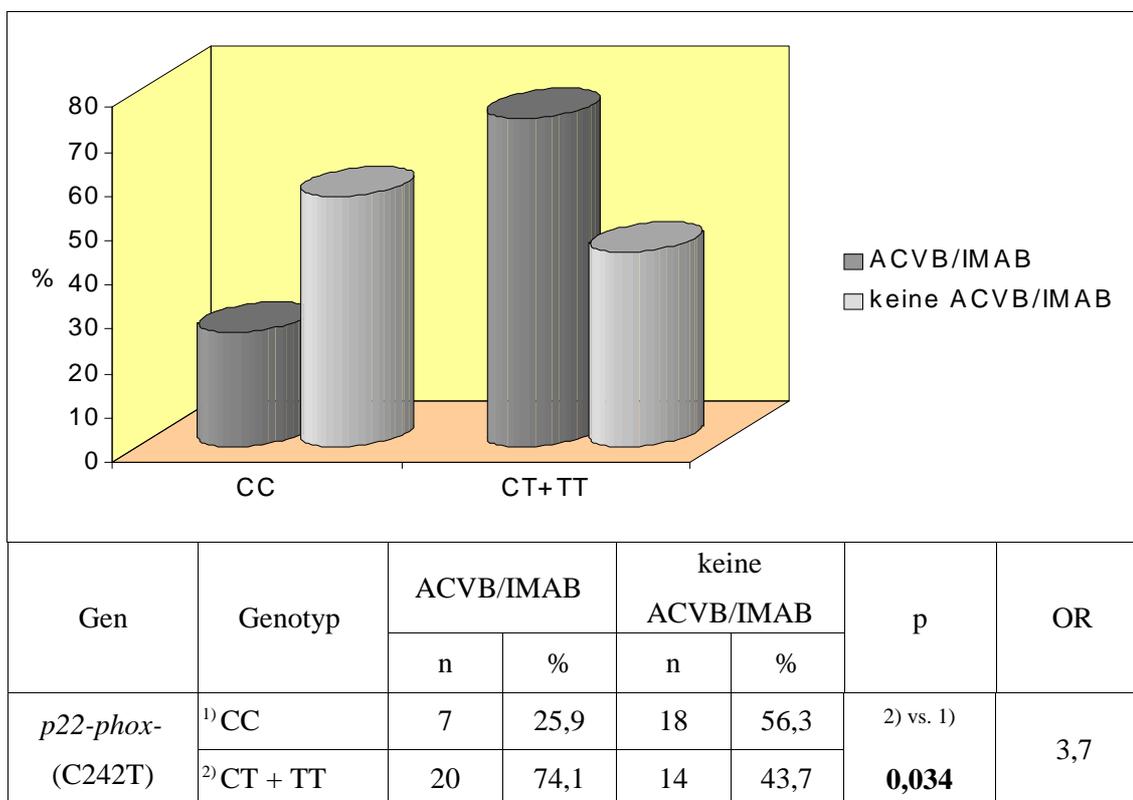


Abb.23: *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus bei Patienten mit arterieller Hypertonie und KHK mit und ohne der Notwendigkeit einer ACVB/IMAB unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Auf Assoziationen zum *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus wurden alle in Tab. 1 aufgeführten Laborparameter geprüft. Insbesondere bezüglich aller Lipidwerte konnten keine Unterschiede zwischen den Genotypen festgestellt werden. Die Untersuchung spezieller Gerinnungsparameter nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie (Cumarin- und Heparinderivate) zeigte signifikant niedrigere Plasmakonzentrationen des PAI-1 bei den Trägern des mutanten T-Allels ($p=0,048$). Tab. 9 gibt darüber eine Übersicht. Alle weiteren Gerinnungsparameter wiesen keine Differenzen zwischen den Genotypen auf.

Tab. 9: *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus: PAI-1-Plasmaspiegel nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulanzen unter Annahme eines dominanten genetischen Modells für das T-Allel

Laborwert	Genotyp	Mittelwert	s	p	CI
PAI-1 (E/ml)	¹⁾ CC	4,96	4,21	^{2) vs. 1)} 0,048	0,01 – 3,53
	²⁾ CT+TT	3,19	1,97		

4.2.5. Potenzielle Interaktionen zwischen den untersuchten Genpolymorphismen

Durch Bildung von Genclustern wurde eine mögliche Beeinflussung der analysierten Genpolymorphismen untereinander untersucht. Ein gemeinsames Vorliegen des mutanten T-Allels des *GNB3*-(C825T)- und des *p22-phox*-(C242T)- zusammen mit der homozygoten Wildtypvariante des *AGT*-(C659T)-Polymorphismus zeigt eine tendenzielle Häufung bei den Patienten mit arterieller Hypertonie ($p=0,097$; OR=1,8). Dieser Zusammenhang ist in Abb. 24 dargestellt.

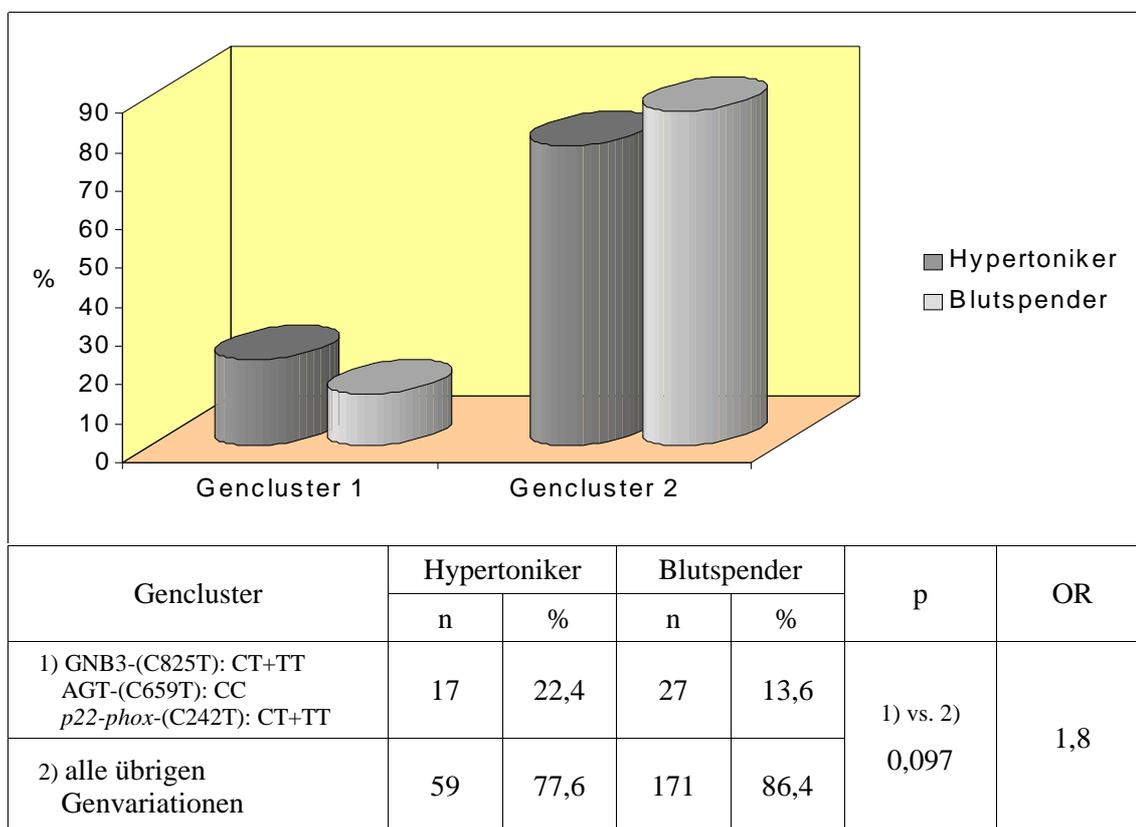


Abb.24: Gencluster aus *GNB3*-(C825T): CT+TT, *AGT*-(C659T): CC, *p22-phox*-(C242T): CT+TT im Vergleich mit allen anderen Genvariationen bei Patienten mit arterieller Hypertonie und gesunden Blutspendern

Die gemeinsame Existenz des T-Allels des *GNB3*-(C825T)- in Verbindung mit dem jeweiligen CC-Genotyp des *AGT*-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus scheint eine Schutzwirkung vor einer arteriellen Hypertonie auszuüben. Diese Kombination war signifikant seltener in der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie zu finden ($p=0,032$; OR=0,35).

5. Diskussion

5.1. Der C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins

Der GNB3-(C825T)-Polymorphismus wurde durch eine systematische Untersuchung der Mechanismen entdeckt, die einer erhöhten Aktivität der in allen Zellen exprimierten Isoform 1 des Na^+/H^+ -Austauschers unterliegen, welche bei 30 – 50% der Patienten mit essentieller Hypertonie gefunden wurde [29], [123]. Transgene Mäuse mit einer Überexpression des Na^+/H^+ -Austauschers entwickelten eine salzsensitive arterielle Hypertonie mit verminderter Natrium- und Urinausscheidung sowie erniedrigten Plasmanin- und Aldosteronspiegeln [75]. In Zellkulturen mit durch Epstein-Barr-Viren immortalisierten Lymphoblasten von Patienten mit arterieller Hypertonie persistierte die erhöhte Aktivität des Na^+/H^+ -Austauschers nach Serumstimulation [108]. Eine Mutation sowie eine Überexpression der mRNA des Transportproteins konnten ausgeschlossen werden [108]. Immortalisierte Lymphoblasten von Hypertonikern mit einer erhöhten Na^+/H^+ -Austauscher-Aktivität zeigten nach Stimulation mit „*platelet activating factor*“ (PAF) und Somatostatin einen erhöhten intrazellulären Kalziumanstieg sowie eine vermehrte Inositoltriphosphatbildung (IP_3 -Bildung), verglichen mit den normotensiven Kontrollen mit einer normalen Na^+/H^+ -Austauscher-Aktivität [52], [110], [127]. Ein PAF-Stimulation führte bei den Zellen mit einer erhöhten Na^+/H^+ -Austauscher-Aktivität weiterhin zu einer vermehrten Proliferation, erhöhten DNA-Synthese und schnelleren Passage des Zellzyklus sowie „*in vitro*“ zu einer vermehrten Immunglobulinbildung [109], [121].

Alle erhobenen intrazellulären Befunde konnten nicht allein mit einer erhöhten Na^+/H^+ -Austauscher-Aktivität erklärt werden. Insbesondere gingen die Unterschiede zwischen normotensiven und hypertensiven Zelllinien nach Behandlung mit Pertussistoxin (PTX) verloren, was auf eine Signaltransduktion über den Gi -Typ der G-Proteine, welcher von PAF-Rezeptoren genutzt wird, hinwies [127]. Untersuchungen an Hautfibroblasten mit Lysophosphatäure und Sphingosin-1-Phosphat als Agonisten PTX-sensitiver Gi -Proteine führten zu einem signifikant erhöhtem intrazellulären Kalziumanstieg, einer vermehrten IP_3 -Bildung sowie einer Erhöhung der DNA-Synthese bei den Zelllinien der Hypertoniker im Vergleich zu denen der Normotoniker [98]. Dieser Effekt war nach PTX-Vorbehandlung vollständig aufgehoben [98].

Eine Mutation oder Überexpression der in den menschlichen Hautfibroblasten und Lymphoblasten exprimierten $\text{G}\alpha_2$ -, $\text{G}\alpha_3$ -, $\text{G}\beta_1$ - und $\text{G}\beta_2$ -Untereinheiten konnte ausgeschlossen werden [98].

Siffert et al. identifizierten eine C→T Substitution an der Nukleotidposition 825 der cDNA der ubiquitär exprimierten β_3 -Untereinheit der Gi -Proteine von Hypertonikerzelllinien, die bei Zelllinien der Normotoniker nicht nachgewiesen werden konnte [128]. Die PAF stimulierte

Bindung von [³⁵S]GTPγS – als Marker der G-Protein-Aktivität – war bei Vorliegen der CT- und TT-Genotypen signifikant erhöht gegenüber dem CC-Genotyp [128].

Es zeigte sich eine statistisch signifikante Assoziation des GNB3-(C825T)-T-Allels mit der arteriellen Hypertonie [9], [10], [32], [128]. Die Beziehung war abhängig von der Zusammensetzung der Studiengruppen und den Rechenmodellen. Siffert et al. fanden in einer Gruppe von 426 Hypertonikern und 427 Normotonikern, bei denen die Geschlechtsverteilung nicht übereinstimmte, bei Vorliegen des TT-Genotyps gegenüber dem CC-Genotyp das Risiko für eine Hypertonie etwa verdoppelt ($p=0,03$; $OR=1,79$) [128]. Beige et al. beschrieben eine etwas niedrigere Höhe dieser Assoziation (TT vs. CC: $OR=1,5$) [9]. Unter Annahme eines dominanten genetischen Modells (CT+TT vs. CC) betrug der OR 1,44 [128]. Auch in der genetisch prädisponierten Gruppe von Benjafield et al. wurde eine signifikante Assoziation zum GNB3-(C825T)-T-Allel beschrieben ($p=0,000016$; $OR=2,3$) [10].

Die vermehrte Aktivität der mit der Spleißvariante Gβ₃-s in Verbindung stehenden Gi-Proteine könnte durch eine Störung der Interaktion der α- und βγ- Untereinheiten bedingt sein [128]. Ableitend von den zellulären Mechanismen einer erhöhten Aktivität der Gi-Proteine ist eine langsame Entwicklung einer arteriellen Hypertonie durch erhöhte Proliferation der Media- und der Kardiomyozyten mit Entwicklung einer Gefäß- und Myokardhypertrophie am wahrscheinlichsten.

In der vorliegenden Studie einer mitteldeutschen Population betrug die Frequenz des mutanten T-Allels der β₃-Untereinheit des G-Proteins bei den Patienten mit arterieller Hypertonie 29,4% und in der Vergleichsgruppe 24,3%. Die T-Allel-Frequenz der Normotoniker wurde durch Untersuchungen an Populationen gleicher ethnischer Zusammensetzung und ähnlichem Alter bestätigt [10], [9], [128]. Bei Untersuchung jüngerer gesunder Individuen fanden sich höhere T-Allel-Frequenzen [124]. Allerdings beinhalteten diese Gruppen wahrscheinlich auch potenzielle Patienten mit arterieller Hypertonie im späteren Lebensalter.

Eine signifikante Assoziation des GNB3-(C825T)-T-Allels zur Gesamtgruppe der mitteldeutschen Patienten mit arterieller Hypertonie konnte in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden ($p=0,238$; $OR= 1,3$). Ähnliche Ergebnisse ergaben sich in Untersuchungen von Snapir et al. und Brand et al. [12], [129].

Es zeigte sich aber eine statistisch signifikant erhöhte Frequenz homozygoter Mutationsträger des GNB3-(C825T)-Polymorphismus bei unseren mitteldeutschen Patienten mit arterieller Hypertonie ($p_{exacr}=0,042$; $OR=3,0$). Hengstenberg et al. beschrieben in einer Bevölkerungsuntersuchung von 2052 Personen die höchste Prävalenz der arteriellen Hypertonie bei Patienten mit dem homozygoten TT-Genotyp (41,8%), verglichen mit den heterozygoten T-Allel-Trägern (36,6%) und den Patienten mit dem CC-Genotyp (32,7%) [59]. Diese Assoziation wurde insbesondere bei Männern gefunden [59]. In der vorliegenden mitteldeutschen Untersuchung kam

das GNB3-(C825T)-T-Allel wie bei Turner et al. in der männlichen Patientengruppe (31,7%) deutlich häufiger vor als bei den weiblichen Patienten (20,6%) mit essentieller Hypertonie [137]. In der männlichen Untergruppe unserer mitteldeutschen Population lag unter Annahme eines rezessiven genetischen Modells eine signifikante Assoziation der Hypertoniker zum homozygoten TT-Genotyp vor ($p_{\text{exact}}=0,015$; OR=4,7). Die Existenz eines 825T-Allels ist nach zellulären „*in vitro*“-Studien ausreichend, um durch alternatives Spleißen G β_3 -s und damit den Phänotyp der erhöhten G-Protein-Aktivität zu erzeugen [128]. Entsprechend der vorliegenden klinischen Fall-Kontroll-Studie mit mitteldeutschen Patienten und gesunden Blutspendern scheinen neben der C→T Substitution beider Allele an der cDNA-Position 825 des GNB3 geschlechtsspezifische Kofaktoren für die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie notwendig zu sein.

Die Vermutung, dass eine erhöhte Aktivität des PTX-sensitiven Gi-Proteins bei Vorliegen des mutanten T-Allels des GNB3-(C825T)-Polymorphismus [128] zu einer sehr frühzeitigen Manifestation der arteriellen Hypertonie beiträgt, bestätigte sich in unserer mitteldeutschen Untersuchungsgruppe nicht. Das Gegenteil war der Fall. Eine ausschließliche Betrachtung der Patienten mit einem späteren Manifestationsalter (≥ 40 Jahre) gegenüber der älteren Vergleichsgruppe (≥ 45 Jahre), entsprechend dem Mindestalter, das zum Einschluss in die Patientengruppe dieser Studie genügt hätte, ergab eine signifikante Assoziation der homozygoten Mutationsvariante zu den Patienten mit arterieller Hypertonie ($p_{\text{exact}}=0,021$). Dies weist darauf hin, dass die GNB3 C→T Substitution an Position 825 vielmehr mit einer sich im mittleren Lebensalter manifestierenden arteriellen Hypertonie assoziiert ist [9]. Dies unterstreicht die Vermutung, dass der untersuchte Polymorphismus proliferative Mechanismen beeinflusst, die zur Entwicklung einer arteriellen Hypertonie beitragen können.

Die T-Allel-Frequenzen zeigen erhebliche Unterschiede zwischen einzelnen Bevölkerungsgruppen. Schwarzafrikaner weisen mit 74 – 91% die höchsten T-Allel-Frequenzen auf [124]. Dong et al. bestätigten mit 79,2% die T-Allel-Häufigkeit und fanden eine geschlechtsunabhängige signifikante Assoziation des T-Allels (OR=3,71) zur arteriellen Hypertonie in dieser Bevölkerungsgruppe [32]. Ebenfalls hohe Frequenzen (66 – 72%) fanden sich bei „alten“ Ethnien, z.B. Buschmännern, Pygmäen, australischen Aborigines und Ureinwohnern von Papua-Neuguinea [124] sowie jungen kanadischen *Oji-Cree* (50%) [58]. Mittlere T-Allel-Frequenzen von 42 – 52% ergaben sich in der asiatischen Bevölkerung bzw. von 45 – 56% im Mittleren Osten und Nordafrika [124]. Assoziationen zwischen dem T-Allel und der arteriellen Hypertonie konnten in der japanischen Bevölkerung nicht nachgewiesen werden [63], [70]. In der kaukasischen Bevölkerung ergaben sich T-Allel-Frequenzen von 21 – 38% [124]. Bei Menschenaffen wie Gorilla, Orang-Utan und Schimpansen ist das T-Allel nicht nachweisbar [124]. Daraus kann gefolgert werden, dass der Austausch C gegen T an der Position 825 im Zeitraum

von vor 2,5 Millionen bis 150.000 Jahren stattgefunden haben muss [124]. Der GNB3-(C825T)-Polymorphismus unterstützt die 1962 beschriebene "*thrifty genotype hypothesis*". Das heißt, dass Gene, die die Salzretention und Fettakkumulation erhöhen können, einen entscheidenden Überlebensvorteil bei unseren Jäger- und Sammlervorfahren hatten, aber zum Nachteil in der westlichen Zivilisation mit einer zeitigen Entwicklung von Adipositas, Hypertonie und Diabetes mellitus werden [91].

Innerhalb der gesamten mitteldeutschen Patientengruppe konnten bezüglich einer familiären Prädisposition zwischen den Genotypen des GNB3-(C825T)-Polymorphismus nur geringfügige Unterschiede gefunden werden. Benjafield et al. untersuchten eine kaukasische Patientengruppe mit einer hohen genetischen Belastung (beide Eltern an arterieller Hypertonie erkrankt) gegenüber einer gesunden Vergleichsgruppe und fanden eine signifikant erhöhte T-Allel-Frequenz (43%) in der Hypertonikergruppe ($p=0,000016$; $OR=2,3$) [10]. Interessanterweise waren die T-Allel-Frequenzen bei den männlichen (46%) und den älteren (47%) Patienten mit familiärer Veranlagung am höchsten [10].

Nur geringfügige Unterschiede in der Höhe des BMI zwischen den Genotypen des GNB3-(C825T)-Polymorphismus zeigten sich bei unseren mitteldeutschen Patienten mit arterieller Hypertonie. Bei adipösen Normo- und Hypertonikern wurde eine signifikant erhöhte Aktivität des Na^+/H^+ -Austauschers festgestellt [28]. Su et al. beschrieben eine Lipidakkumulation und adipogenetische Konversion bei Überexpression des $G\alpha_i2$ -Typ der G-Proteine an Stammzellen von Mausembryonen [130]. Transgene Mäuse mit einem $G\alpha_i2$ -Mangel waren schlank [125]. Bei gemeinsamem Vorkommen der Untereinheiten $G\alpha_i2$ und $G\beta_{3-s}$ in PTX-sensitiven G-Proteinen lag eine erhöhte Signaltransduktion vor [128].

Junge normotensive kaukasische Männer zeigten bei bestehender Adipositas ($BMI > 27 \text{ kg/m}^2$) höhere GNB3-(C825T)-T-Allel-Frequenzen (47,7%) als normalgewichtige ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) Männer (29,5%) [124]. Diese Tendenz adipöser junger normotensiver Männer zum T-Allel bestand auch bei einer chinesischen und einer afrikanischen Gruppe. Auffallend war, dass die ländliche afrikanische Bevölkerung ein signifikant niedrigeres Körpergewicht als die städtische Bevölkerung aufwies [124]. Dies weist auf die Bedeutung der Interaktion von Umweltfaktoren und genetischer Prädisposition hin. Die beschriebenen zellulären und epidemiologischen Beobachtungen könnten auf eine Assoziation des T-Allels zur Adipositas mit einer sich im Verlauf entwickelnden arteriellen Hypertonie hindeuten.

Bei Patienten mit einer arteriellen Hypertonie fanden sich ebenfalls signifikant höhere GNB3-(C825T)-T-Allel-Frequenzen (40,0%) bei Vorliegen einer Adipositas ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) als bei schlanken Patienten ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$; 23,8%; $p=0,015$) [125]. Bei Vorliegen des TT-Genotyps wurden die höchsten BMI beobachtet [124], [125]. Auch Poch et al. zeigten einen

signifikant höheren BMI bei Vorhandensein des T-Allels bei Patienten mit arterieller Hypertonie. Die T-Allel-Träger wiesen unabhängig vom BMI im Serum signifikant höhere Nüchterninsulinspiegel, im oralen Glukosetoleranztest höhere Werte nach 120 Minuten und ein höheres glykosyliertes Hämoglobin verglichen mit den Patienten ohne T-Allel auf [100]. Diese Ergebnisse lassen auf eine gesteigerte Insulinresistenz unabhängig vom BMI bei Patienten mit einer arteriellen Hypertonie und dem GNB3-(C825T)-T-Allel schließen [100]. Dzida et al. entdeckten signifikant (OR=1,6) höhere T-Allel-Frequenzen in einer Patientengruppe mit Diabetes mellitus Typ II als in der gesunden Vergleichsgruppe [33]. Die mutante T-Variante kam aber bei den hypertensiven Diabetikern signifikant häufiger vor (OR=2,94), was auf eine Assoziation des T-Allels allein zur arteriellen Hypertonie hinweist [33].

Andere Studien ergaben jedoch keine Unterschiede in den Genotypen- und Allelfrequenzen bei Hypertonikern mit und ohne Adipositas [10], [12], [117], [129] und kein Risiko für die Entwicklung eines Diabetes mellitus [9].

Der pathogenetische Mechanismus der linksventrikulären Hypertrophie ist multifaktoriell. Er involviert hämodynamische und nichthämodynamische Faktoren wie das sympathische Nervensystem und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System [100]. Die linksventrikuläre Hypertrophie ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Morbidität und Mortalität von kardiovaskulären Erkrankungen. Der Echokardiographie kommt dabei eine prognostische Bedeutung zu [79]. De la Sierra et al. beschrieben eine erhöhte Na^+/H^+ -Austauscher-Aktivität in Erythrozyten bei Patienten mit einer die essentielle Hypertonie begleitenden linksventrikulären Hypertrophie [27]. In Hautfibroblasten mit ähnlichem Rezeptorenbesatz wie Kardiomyozyten wurde bei Zelllinien von Hypertonikern eine deutlich vermehrte Zellproliferation dokumentiert [98].

In einer Untersuchung von 86 Patienten mit arterieller Hypertonie sahen Poch et al. bei Patienten mit dem CT- und TT-Genotyp signifikant größere linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser, eine höhere posteriore Wanddicke sowie einen höheren linksventrikulären Massenindex (OR=3,0) [99]. Die interventrikuläre Septumdicke war beim Vergleich der Genotypen nicht signifikant unterschiedlich [99]. Zwei weitere Studien fanden keine Assoziation zwischen dem GNB3-(C825T)-Polymorphismus und der linksventrikulären Struktur und Funktion bei Patienten mit arterieller Hypertonie [118], [120]. In unserer mitteldeutschen Population zeigten sich bei der Analyse der verschiedenen Genotypen bezüglich der interventrikulären Septumdicke keine Unterschiede. Es fiel aber eine tendenzielle Häufung des T-Allels bei den Patienten mit einer linksventrikulären Hypertrophie verglichen mit denen ohne diese pathologische Veränderung auf ($p=0,536$; OR=1,79).

Der am Tag der Aufnahme der Patienten in diese Studie gemessene systolische arterielle Blutdruck war bei den Patienten ($p=0,047$) – hier insbesondere bei den Männern ($p=0,011$) – mit

dem T-Allel des C825T-Polymorphismus des GNB3 signifikant niedriger. Der diastolische Blutdruck zeigte eine ähnliche Tendenz ($p=0,338$). Die Anzahl der antihypertensiven Medikamente ergab zwischen den Genotypen keinen signifikanten Unterschied ($p=0,813$). Allerdings kann eine unterschiedliche Aggressivität der medikamentösen Behandlung bei den verschiedenen Genotypen sowie ein eventuell besseres Ansprechen auf bestimmte Medikamente bei Patienten mit dem T-Allel nicht ausgeschlossen werden. Interessanterweise wurden tendenziell weniger Diuretika bei den Patienten mit dem GNB3-(C825T)-T-Allel eingesetzt. Turner et al. berichteten bei der Behandlung von Patienten mit arterieller Hypertonie mit Thiaziddiuretika von einer mit der Anzahl der T-Allele statistisch signifikant zunehmenden Blutdrucksenkung unabhängig von Geschlecht und Rassenzugehörigkeit [137].

Die Höhe des systolischen und diastolischen Blutdruckes war in einer Vielzahl von Studien zwischen den Genotypen identisch [9], [12], [99], [124], [129]. Nur Schunkert et al. fanden bei Patienten mit dem mutanten T-Allel signifikant erhöhte diastolische Blutdruckwerte, die durch das Vorliegen einer vaskulären Hypertrophie erklärt werden könnten [117].

Naber et al. wiesen bei Patienten mit KHK ($n=585$) eine signifikant höhere Frequenz des potenziell pathogenen T-Allels in der Gruppe mit überlebtem AMI nach [89]. Andere Studien konnten keine Assoziation der KHK und des AMI zum GNB3-(C825T)-Polymorphismus beschreiben [12], [59]. Baumgart et al. beobachteten bei der intrakoronaren Gabe eines selektiven α_2 -Agonisten, dessen Signaltransduktion über PTX-sensitive G-Proteine erfolgt, eine signifikant größere Reduktion des koronaren Blutflusses bei Vorhandensein des mutanten T-Allels. Die koronare Blutflußreduktion war signifikant größer bei Patienten mit einer KHK verglichen mit den Patienten ohne KHK [6]. Des Weiteren wurde eine erhöhte chemotaktische Aktivität der neutrophilen Granulozyten bei Existenz der Spleißvariante G β_3 -s nachgewiesen, was bei Einrissen atherosklerotischer Plaques von Bedeutung sein könnte [143]. Es kann postuliert werden, dass insbesondere Patienten mit einem geschädigten Gefäßendothel und einer durch das T-Allel veränderten Signaltransduktion der Gi-Proteine auf hormonelle Faktoren verstärkt reagieren und damit für ein koronares Akutereignis prädisponiert sind.

Die vorliegende mitteldeutsche Studie konnte eine Tendenz des T-Allels zur koronaren Herzkrankheit ($p=0,314$; OR=1,8) und zum akuten Myokardinfarkt ($p=0,119$; OR=2,26) bei Patienten mit arterieller Hypertonie demonstrieren. Unterschiede im koronaren Befallsmuster fanden sich nicht ($p=0,965$). Patienten, die sich einer PTCA unterzogen hatten, waren tendenziell häufiger T-Allel-Träger ($p=0,098$; OR=2,4). Daraus könnte man schließen, dass diese Patienten häufiger einer perkutanen Intervention zugängliche Stenosen aufweisen. Operative Korrekturen an den Koronargefäßen waren nicht seltener nötig ($p=0,641$).

Morrison et al. zeigten bei einer kaukasischen Bevölkerungsgruppe eine signifikante Assoziation des T-Allels zu klinischen ischämischen Hirninfarkten [87].

Bei den Patienten mit dem mutanten GNB3-(C825T)-T-Allel fanden sich in unserer mitteldeutschen Population signifikant niedrigere Natriumserumspiegel. Insbesondere die homozygoten T-Allel-Träger wiesen ein signifikant verringertes Natrium auf ($p=0,011$). Die erhöhte Aktivität des an der apikalen Seite des Nierentubulus befindlichen Na^+/H^+ -Austauschers wird durch den Na^+ -Gradienten angetrieben, der durch die basolaterale Na^+/K^+ -ATPase erzeugt wird, und für eine vermehrte Na^+ -Reabsorption verantwortlich ist [29], [75]. Die aktive Natriumretention wird von einer passiven Wasserrückresorption begleitet, die mit einem verminderten Urinvolumen sowie einem vermehrten Blutvolumen einhergeht und die Ursache für die Entstehung eines Volumenhochdruckes sein könnte. Da der Na^+/H^+ -Austauscher ubiquitär exprimiert wird und in jeder Körperzelle für die pH-Homöostase verantwortlich ist, kommt es bei erhöhter Austauscheraktivität zu einer intrazellulären Natriumakkumulation. Beide Mechanismen könnten die signifikant erniedrigten Natriumserumspiegel bei den homozygoten T-Allel-Trägern mit einer erhöhten Gi-Protein-Aktivität erklären, da die postulierte Überaktivität des Na^+/H^+ -Austauschers zu einer Natriumverarmung des Extrazellulärspaces und einer Natriumüberladung des Intrazellulärspaces führen würde. Allerdings kann bei der vorliegenden medikamentösen Kombinationstherapie der Patientengruppe mit ihren zum Teil unbekanntem pathophysiologischen Wirkungen ein diesbezüglicher Einfluss nicht ausgeschlossen werden, zumal die Patienten mit dem T-Allel leicht erhöhte Kaliumserumspiegel zeigten. Letzteres Ergebnis fand sich auch in einer japanischen Gruppe von Patienten mit arterieller Hypertonie [63]. Bei einer erhöhten Aktivität auch der Na^+/K^+ -ATPase im Nierentubulus wäre ein vermindertes Kalium im Serum erklärbar. Dies wurde von Delva et al. beschrieben [28].

Patienten mit dem T-Allel wiesen in der mitteldeutschen Untersuchungsgruppe signifikant höhere Triglyzerid- und tendenziell höhere Cholesterolverte auf. Die Ergebnisse in der Literatur sind widersprüchlich. Benjafeld et al. konnten in einer kaukasischen Gruppe von genetisch prädisponierten Patienten mit arterieller Hypertonie keine Unterschiede zwischen den Genotypen für Cholesterole, Triglyzeride, HDLC und LDLC finden [10]. In einer japanischen Studie wurde hingegen ein signifikant erhöhtes Cholesterole bei den T-Allel-Trägern beschrieben [63]. Die Unterschiede könnten durch die Untersuchung in genetisch verschiedenen Populationen begründet sein.

Bezüglich des C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins wurden in allen Teilaspekten widersprüchliche Studienergebnisse in der Literatur präsentiert. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass eine erhöhte G-Protein-Aktivität, bedingt durch das GNB3-(C825T)-T-Allel, nur bei einer bestimmten Gruppe von Patienten mit einer arteriellen Hypertonie eine Relevanz hat. Diese Gruppe konnte noch nicht eindeutig identifiziert werden. Doch legen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nahe, dass das T-Allel bei hypertensiven Männern und in der Altersgruppe zwischen 40 und 55 Jahren eine pathogenetische Bedeutung besitzt.

5.2. Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens

Die pathologische Bedeutung des lebenswichtigen, physiologischen Renin-Angiotensin-Systems für die arterielle Hypertonie, die Restenose nach Angioplastie, die kardiale Hypertrophie und das ventrikuläre „*Remodelling*“ nach Myokardinfarkt liegt spätestens seit dem erfolgreichen Einsatz der ACE-Hemmer und Angiotensin II-Rezeptor-Antagonisten bei diesen Erkrankungen nahe [48]. Durch Komponenten des RAS können 15 – 20% der Blutdruckveränderungen begründet werden [144].

Kimura et al. sahen bei transgenen Mäusen mit einer Überexpression von Ratten-AGT einen signifikant erhöhten Blutdruck [72]. Eine signifikant positive Korrelation zwischen der Plasmakonzentration des Angiotensinogens und dem diastolischen Blutdruck beschrieben Walker et al. [144]. Kim et al. wiesen bei Mäusen einen progressiven Anstieg der Plasma-AGT-Spiegel mit zunehmender Anzahl der AGT-Gen-Kopien nach. Auch hier war zwischen dem arteriellen Blutdruck und dem Angiotensinogen eine positive Korrelation nachweisbar [71]. In tierexperimentellen Studien führten AGT-Antikörper zu einer Senkung und eine Infusion von Angiotensinogen zu einer Erhöhung des arteriellen Blutdruckes [43], [84]. Des Weiteren wurden erhöhte AGT-Plasmakonzentrationen bei hypertensiven Nachkommen von Eltern mit arterieller Hypertonie beobachtet [147].

Hypertensive Geschwisterpaare – insbesondere mit schwerer arterieller Hypertonie – zeigten in genetischen Kopplungsanalysen signifikant häufiger die gleiche Frequenz von „*GT-Repeats*“ für einen hoch polymorphen Mikrosatelliten am 3'-Ende des AGT-Gens, als dies zu erwarten gewesen wäre [18], [19], [67]. Diese Ergebnisse weisen auf einen bedeutenden Zusammenhang zwischen dem AGT-Gen und der essentiellen Hypertonie hin. Eine europäische Studie mit Geschwisterpaaren aus 350 Familien und eine chinesische Untersuchung mit 310 Geschwisterpaaren konnten das Ergebnis der oben beschriebenen Kopplungsanalysen nicht bestätigen [11], [93]. Mögliche Gründe für diese Differenzen sind unterschiedliche Gruppenzusammensetzungen bezüglich Erkrankungsschwere, genetischer Belastung und Manifestationsalter sowie die Zugehörigkeit zu unterschiedlichen ethnischen Gruppen.

Jeunemaitre et al. wiesen eine signifikante Assoziation des AGT-(T842C)-Polymorphismus und der in der vorliegenden Arbeit untersuchten C→T Substitution an der Position 659 des AGT-Gens zur arteriellen Hypertonie bei genetisch prädisponierten Geschwisterpaaren nach [67]. Die beiden Marker unterlagen einem kompletten Kopplungsungleichgewicht [67]. In einer weiteren Kopplungsanalyse fand sich kein Beweis, dass einer der Polymorphismen signifikant mit der arteriellen Hypertonie assoziiert ist [18].

In der vorliegenden Untersuchung einer mitteldeutschen Population zeigte sich mit 16,4% eine tendenziell höhere Frequenz des mutanten T-Allels des AGT-(C659T)-Polymorphismus in der

Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie gegenüber der Vergleichsgruppe mit 12,2% ($p=0,207$; $OR=1,42$). Die T-Allel-Frequenzen der Gruppe der gesunden Blutspender und der kaukasischen Vergleichsgruppen vorangegangener Studien waren vergleichbar [18], [42], [67], [134]. In den ethnischen Gruppierungen der Kaukasier, der Asiaten aus Japan und China sowie der Schwarzafrikaner ergaben sich ähnliche Häufigkeiten des mutanten T-Allels (zwischen 6 und 18%), wobei die höchste Frequenz bei einer genetisch isolierten nordamerikanischen Sekte (*Hutterite Brethren*) auftrat [18], [57], [64], [67], [112], [119]. Bezüglich der Assoziation des AGT-(C659T)-Polymorphismus zur essentiellen arteriellen Hypertonie wiesen die bisherigen Studien widersprüchliche Ergebnisse auf. Neben Jeunemaitre et al. konnten Hegele et al. bei den nordamerikanischen *Hutterite Brethren* eine signifikante Assoziation des T-Allels zur arteriellen Hypertonie und zur Höhe des systolischen Blutdruckes bei Männern dokumentieren [58], [67]. In japanischen Bevölkerungsgruppen zeigten Morise et al. in der Gesamtgruppe und Iso et al. in der Gesamtgruppe, bei den Frauen und bei einem Erkrankungsalter < 55 Jahre eine signifikante Assoziation der Patienten mit arterieller Hypertonie zum mutanten T-Allel [64], [86]. In einer Vielzahl von Untersuchungen in der kaukasischen, chinesischen, arabischen und schwarzafrikanischen Bevölkerung konnte kein Zusammenhang zwischen dem AGT-(C659T)-Polymorphismus und der arteriellen Hypertonie gefunden werden [18], [34], [36], [66], [94], [112], [134], [141], [145].

Eine geschlechtsspezifische Analyse in unserer mitteldeutschen Studienpopulation ergab eine tendenzielle Häufung des AGT-(C659T)-T-Allels insbesondere in der weiblichen Untergruppe ($p_{exact}=0,217$; $OR=2,79$) – weniger in der männlichen Subgruppe ($p=0,371$; $OR=1,29$) – bei den Patienten mit arterieller Hypertonie gegenüber der Vergleichsgruppe. Die Frequenz des mutanten T-Allels war bei den weiblichen Patienten tendenziell ($p=0,600$; $OR=1,5$) und bei den weiblichen Blutspendern signifikant ($p_{exact}=0,022$; $OR=3,2$) niedriger als in den männlichen Untergruppen. Auch in der chinesischen Studie von Iso et al. fand sich in der normotonen weiblichen Vergleichsgruppe mit 6% eine geringere T-Allel-Frequenz als in der männlichen Subgruppe (9%; $OR=1,4$) [64]. Frauen zeigten höhere AGT-Plasmakonzentrationen als Männer [67], [111], was auf eine physiologische Östrogen-induzierte Synthese zurückgeführt werden könnte. Östrogene reduzieren den renalen Blutfluss [83]. Dies hat eine verminderte Nierenperfusion mit einer vermehrten Freisetzung von Renin zur Folge [105]. Eine Abhängigkeit der AGT-Plasmakonzentration von C659T-Polymorphismus wurde bisher nicht nachgewiesen [67], [111]. Unter der Voraussetzung einer pathogenetischen Bedeutung des AGT-(C659T)-Polymorphismus für die essentielle Hypertonie könnte das Fehlen des T-Allels bei Frauen ein Selektionsvorteil sein. Hinweise darauf sind die niedrigeren T-Allel-Frequenzen bei Frauen sowohl in der Patienten- als auch in der Vergleichsgruppe der mitteldeutschen Population.

In unserer mitteldeutschen Population zeigte sich eine signifikante Assoziation des AGT-(C659T)-T-Allels zu dem Teil der Hypertoniker mit einem späteren Erkrankungsbeginn (≥ 40 Jahre) gegenüber der ≥ 45 jährigen Vergleichsgruppe ($p=0,002$; $OR=4,4$). Das Mindestalter der gesunden Blutspender musste auf 45 Jahre festgelegt werden, weil die Aufnahme eines Patienten in die vorliegende Studie eine Erkrankungsdauer von mindestens 5 Jahren als Einschlusskriterium verlangte. So hatten auch die Patienten bei Durchführung der Untersuchung mindestens ein Alter von 45 Jahren erreicht. Innerhalb der Patientengruppe fand sich eine signifikante Assoziation des mutanten T-Allels zu den im höheren Lebensalter erkrankten Patienten (≥ 40 Jahre; $p=0,018$; $OR=3,6$). Iso et al. wiesen bei einer hypertensiven Patientengruppe mit einem Erkrankungsalter < 55 Jahre eine signifikante Assoziation zum T-Allel nach ($p<0,05$; $OR=2,5$), was bei einem Manifestationsalter ≥ 55 Jahre nicht gezeigt werden konnte ($OR=1,5$) [64]. Gleichzeitig wurde ein höherer Salzkonsum in der jungen Patientengruppe beobachtet. Dies war Anlass zu der Hypothese, dass sich bei hoher Salzzufuhr und genetisch bedingt aktiviertem RAS eine Hypertonie im jungen Alter manifestiert [64]. Ein Zusammenhang des AGT-(C659T)-Polymorphismus mit einem Erkrankungsalter < 40 Jahre konnte in einer spanischen Untersuchung nicht dokumentiert werden [34]. Weitere Arbeiten mit Patienten, bei denen sich die arterielle Hypertonie in sehr jungem Lebensalter manifestierte, sind nicht vorhanden. Ausgehend von den Ergebnissen der vorliegenden mitteldeutschen Studie könnte der C659T-Polymorphismus des AGT-Gens bei einer Subgruppe von Patienten zwischen 40 und 55 Jahren Bedeutung haben.

Entsprechend den bereits beschriebenen Resultaten in unserer mitteldeutschen Patientengruppe zeigte sich ein signifikant höheres Erkrankungsalter bei den T-Allel-Trägern ($p=0,046$). Bei isolierter Betrachtung der Patienten ($n=47$) mit familiärer genetischer Prädisposition war das Manifestationsalter unabhängig vom Genotyp des AGT-(C659T)-Polymorphismus ($p=0,943$). Dies weist darauf hin, dass die Wirkung der C \rightarrow T Substitution an Position 659 in dieser stark betroffenen Patientengruppe gering ist.

Der funktionelle Einfluss des AGT-(C659T)-Polymorphismus auf die Aktivität des RAS ist unklar [18]. Die untersuchte Variante befindet sich in einiger Distanz zur Angriffsstelle des Renins und der Promotorregion [18]. Am ehesten scheint es möglich, dass die C \rightarrow T Substitution an Position 659 des AGT-Gens durch ein Kopplungsungleichgewicht mit Varianten der Promotorregion die Plasmakonzentration des AGT beeinflussen kann [20].

In der 5'-Region und im AGT-Gen sind etwa 20 Polymorphismen bekannt. Die Assoziation des T842C-Polymorphismus im Exon 2 (Proteinpolymorphismus M235T) zur arteriellen Hypertonie ist am besten untersucht. Ein Teil der Untersuchungen kaukasischer, japanischer und afrikanischer Populationen wies eine signifikante Assoziation des mutanten T-Allels zur arteriellen Hypertonie nach [67], [66], [69], [114], [145]. Andere Studien fanden keinen Zusam-

menhang [18], [35], [64], [94], [112], [133], [141]. Die Plasmakonzentration des Angiotensinogens war bei den homozygoten T-Allel-Trägern signifikant am höchsten [67], [111]. Gegen das mutante T-Allel des T842C-Polymorphismus als Risikofaktor für eine arterielle Hypertonie spricht die hohe T-Allel-Frequenz (Japan 76 – 78%) in Populationen mit einer niedrigen Prävalenz und das seltenere Vorkommen (Kaukasier 36 – 38%) in Bevölkerungen mit einer hohen Prävalenz der essentiellen Hypertonie [94]. In Haplotypenanalysen wiesen die Varianten C659T und T842C ein absolutes Kopplungsungleichgewicht auf. Der Haplotyp AGT-659T-842C ergab hierbei eine signifikante Assoziation zur arteriellen Hypertonie [64], [67].

Eine Vielzahl der Polymorphismen des AGT-Gens befindet sich in der 5'-Region. Eine bedeutende Rolle in der Regulation der Expression der AGT-mRNA spielt eine „*cis-acting*“-Sequenz zwischen TATA-Box und Initiationsstelle der Transkription an Position -25 - (-1) – das sogenannte „*AGT gene core promoter element 1*“ (AGCE1) [149]. Sie ist Bindungsstelle des Transkriptionsfaktors AGCF1 („*AGT gene core promoter element binding factor 1*“) [149]. Jeunemaitre et al. wiesen mit einer > 97%igen Konkordanz das gemeinsame Vorkommen der Mutanten G-6A und T842C nach [66]. Zwei weitere Studien bestätigten das absolute Kopplungsungleichgewicht [141], [145]. „*In vitro*“-Analysen demonstrierten, dass die G→A Substitution an Position -6 die basale Transkriptionsrate des AGT-Gens erhöht [60]. Klinische Untersuchungen mit kaukasischen und japanischen Patienten zeigten eine signifikante Assoziation zwischen dem G-6A-Polymorphismus und der arteriellen Hypertonie [66], [145]. Die beschriebene Mutation könnte aufgrund der G-6A/T842C-Kopplung die kausale Ursache der Assoziation des T842C-Polymorphismus mit erhöhten AGT-Plasmakonzentrationen und der essentiellen Hypertonie sein. Ishigami et al. beschrieben eine signifikante Korrelation zwischen der A→C Substitution an Position -20 und der arteriellen Hypertonie sowie erhöhten Plasmakonzentrationen des AGT [62]. Andere Studien zeigten kontroverse Ergebnisse [114], [133]. Ein signifikantes absolutes Kopplungsungleichgewicht wiesen Sato et al. für die Haplotypen T842C/A-20C und T842C/C-18T – aber nicht für A-20T/C-18T – nach [114]. Für die Polymorphismen C-18T (T protektiv), C-776T und G-793A wurde eine Assoziation mit der arteriellen Hypertonie beschrieben. Insbesondere für die beiden letztgenannten Polymorphismen erscheint eine Bedeutung unwahrscheinlich, da eine Deletion der Nukleotide -1222 - (-33) die Promotoraktivität des menschlichen AGT-Gens nicht signifikant verändert [60], [66], [114].

Die Regulation des AGT-Gens ist komplex. Eine Interaktion der bekannten Polymorphismen im Exon 2 (C659T und T842C) und dem regulatorischen AGCE1 ist nach den beschriebenen Haplotypenanalysen wahrscheinlich. Die Auswirkungen auf das Renin-Angiotensin-System mit einer veränderten Expression von Angiotensinogen und die Pathogenese einer sich zeitig manifestierenden arteriellen Hypertonie müssen in weiterführenden Assoziationsstudien untersucht werden.

Neben dem anhand der Plasmakonzentration des Angiotensinogens messbaren zirkulierenden RAS, das insbesondere für die Regulation kurzfristiger kardionerale Störungen verantwortlich zu sein scheint, gibt es in vielen Geweben ein lokales gewebeständiges RAS. Dieses ist an langfristigen trophischen Effekten wie der Proliferation von Media- und Kardiomyozyten sowie der Induktion von Transkriptionsfaktoren beteiligt, die zur Pathogenese der arteriellen Hypertonie und anderen kardiovaskulären Störungen wie Herzhypertrophie und KHK beitragen können [13], [62]. Das RAS wird gewebespezifisch reguliert [17]. Dies hat zur Folge, dass bei der Beurteilung der Relevanz des untersuchten Polymorphismus lokale Auswirkungen im Bereich der Gefäße als Zielorgane der Blutdruckregulation berücksichtigt und in weitere Untersuchungen mit einbezogen werden müssen.

Adipöse Männer wiesen eine zweifach erhöhte AGT-mRNA-Expression im Fettgewebe auf [142]. Ein Einfluss des RAS auf die Entwicklung einer Adipositas erscheint daher möglich. In unserer mitteldeutschen Patientengruppe ergaben sich nur geringe Unterschiede zwischen dem BMI und den Allelfrequenzen des AGT-(C659T)-Polymorphismus ($p=0,532$). Vašků et al. fanden bei den Patienten mit arterieller Hypertonie und einem BMI $> 25 \text{ kg/m}^2$ eine signifikant höhere C-Allel-Frequenz als in der Vergleichsgruppe [141], während bei Turet et al. die Träger des potenziell pathogenen AGT-(C659T)-T-Allels mit einem BMI $< 26 \text{ kg/m}^2$ eine höhere Prävalenz der arteriellen Hypertonie als die homozygoten C-Allel-Träger aufwiesen [134].

Bei hypertensiven Ratten waren die Spiegel kardialer AGT-mRNA signifikant erhöht [132]. Sowohl in unserer mitteldeutschen Patientengruppe ($p=0,924$) als auch in einer vergleichbaren Studie fanden sich bei den Hypertonikern keine Differenzen in der Genotypenverteilung des AGT-(C659T)-Polymorphismus zwischen Patienten mit und ohne linksventrikuläre Hypertrophie [34].

Ein Hauptrisikofaktor für die Morbidität und Mortalität der KHK ist die arterielle Hypertonie. Die Häufigkeit des AGT-(C659T)-T-Allels in der mitteldeutschen Population unterschied sich zwischen den Patienten mit einer arterieller Hypertonie, die an einer KHK ($n=59$) erkrankt waren, und solchen ohne diese Komplikation nur wenig ($p=0,580$; OR=1,6). Verschiedene Studien mit kaukasischen und asiatischen Bevölkerungsgruppen konnten keine Assoziation des AGT-(C659T)-Polymorphismus zur koronaren Herzerkrankung und dem nicht-letalen Myokardinfarkt nachweisen [24], [36], [42], [74], [134]. Christiakov et al. zeigten hingegen eine Beziehung des T-Allels zur Manifestation eines Myokardinfarktes und zur linksventrikulären Hypertrophie [22].

In unserer Untersuchung mitteldeutscher Patienten mit arterieller Hypertonie fiel eine tendenzielle Häufung des AGT-(C659T)-T-Allels bei den Hypertonikern mit einer hämodynamisch

wirksamen Stenose der *Arteria carotis* und/oder einer arteriellen Verschlusskrankheit auf. Dieses Ergebnis erreichte das Signifikanzniveau jedoch nicht ($p_{\text{exact}}=0,058$; OR=4,3). Eine Assoziation des AGT-(C659T)-Polymorphismus mit cerebralen und peripheren atherosklerotischen Manifestationen wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben. Die Mechanismen der Förderung der Atherosklerose durch Angiotensinogen sind durch die Wirkungen des Ang II erklärbar. Wie berichtet, führt der AGT-(C659T)-Polymorphismus nicht zu einer Erhöhung der Plasmakonzentration des Angiotensinogens [67]. Möglicherweise ist das lokale gefäßständige RAS mit unbekanntem Regulationsmechanismen für die Ang II-Wirkungen – hauptsächlich über den AT₁-Rezeptor – wie Induktion von Zellmigration, Mitose der glatten Gefäßmuskelzellen, erhöhte Synthese von Kollagen Typ I und III in Fibroblasten mit der Folge der Gefäßwandverdickung und Fibrose verantwortlich [39]. Ang II-Rezeptor-Inhibitoren können diese pathologischen Prozesse aufhalten.

In unserer mitteldeutschen Population fielen bei der Analyse spezieller Gerinnungsparameter der Hypertoniker nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie (Heparin- und Cumarinderivate) signifikant höhere Faktor VII-Plasmaspiegel bei den Trägern des potenziell pathogenen AGT-(C659T)-T-Allels auf ($p=0,049$). Diese Assoziation wurde noch strenger, wenn Patienten mit Antikoagulantientherapie einbezogen wurden ($p=0,006$). Die bekannte Pathophysiologie erklärt diesen Zusammenhang nicht. In Abhängigkeit von Phyllochinon (Vitamin K1) wird der Faktor VII in der Leber gebildet. Unter der Behandlung mit Vitamin K-Antagonisten kommt es zur Verminderung der Faktor VII-Aktivität. Phyllochinon wird als lipophiles Molekül vor allem in Triglyzerid-reichen Lipoproteinen transportiert [76]. In der vorliegenden Arbeit wiesen die AGT-(C659T)-T-Allel-Träger tendenziell höhere Triglyzeridspiegel auf. Eine möglicherweise erhöhte Transportkapazität für Phyllochinon könnte zu einer effektiveren γ -Carboxylierung des Faktors VII führen. Gegen diese Annahme spricht jedoch, dass die weiteren Phyllochinon-abhängigen Gerinnungsfaktoren wie Protein C und die Protein S-Aktivität keine Korrelation zum AGT-(C659T)-Polymorphismus zeigten.

Angiotensinogen gehört zur Superfamilie der Serinproteaseinhibitoren, die sich aus hepatischen Antiproteasen und Plasmatransportproteinen zusammensetzen [40]. Das zu dieser Gruppe gehörende AT III zeigte keine Beziehung zum AGT-(C659T)-Polymorphismus bei unseren mitteldeutschen Patienten mit arterieller Hypertonie. Von dem aus 452 Aminosäuren bestehenden Angiotensinogen-Glykoprotein wird für die Aktivierung des RAS lediglich ein Dekapeptid des N-terminalen Endes benötigt [48]. Die Funktion des Restmoleküls ist bisher unklar, eine physiologische Wirkung erscheint möglich. Bei den Trägern des mutanten T-Allels des AGT-(C659T)-Polymorphismus könnte z.B. eine reduzierte Antiproteasenaktivität vorliegen, die zu erhöhten Faktor VII-Plasmakonzentrationen führt [148].

Die Mechanismen der Regulation der AGT-Transkription sind nach wie vor unklar. Inwieweit sich diese auf die Entwicklung der arteriellen Hypertonie auswirken und welche Rolle dabei der AGT-(C659T)-Polymorphismus spielt, muss durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden. Entsprechend den kontroversen Studienergebnissen bleibt die C→T Substitution an Position 659 möglicherweise ohne funktionelle Auswirkungen. Das genaue Zusammenspiel mit den Polymorphismen in der ACE1-Region muss überprüft werden.

5.3. Der C242T-Polymorphismus des *p22-phox*

Eine Verminderung der vom Endothel abhängigen Vasodilatation durch Inaktivierung von •NO ist ein Charakteristikum zeitiger Stadien der Atherosklerose [146]. •NO vermindert die Adhäsion von Monozyten und neutrophilen Granulozyten an das Endothel, die Plättchenadhäsion und Aggregation, inhibiert die Proliferation der Mediamyozyten sowie die Migration und die oxidative Modifikation des LDL [150]. Superoxidradikale inaktivieren •NO sehr schnell und reduzieren damit seine Effektivität als Vasodilatator [68]. Durch eine erhöhte Produktion von •O₂⁻ wird die Bioverfügbarkeit von •NO vermindert. Daraus resultiert eine „endotheliale Dysfunktion“, die bei der arteriellen Hypertonie, der Atherosklerose, der Hypercholesterolämie, dem Diabetes mellitus und bei Rauchern zu beobachten ist [73].

Bei Kaninchen mit Hypercholesterolämie kam es neben einer vermehrten AT₁-Rezeptor-Expression zu einer signifikant erhöhten NADH-Oxidaseaktivität im Endothel der Aorta sowie einer vermehrten Superoxiderzeugung. Diese Effekte waren aber nach Endothelentfernung oder Behandlung mit dem Flavoproteininhibitor DPI aufgehoben [146]. Die Inhibition der AT₁-Rezeptoren führte sowohl zu einer reduzierten •O₂⁻-Produktion als auch zu einer verbesserten endothelabhängigen Vasodilatation [146].

Die arterielle Hypertonie kann durch die Erzeugung und Unterhaltung von vaskulärem oxidativem Stress ein Risikofaktor für die frühzeitige Entwicklung einer Atherosklerose sein [1]. Hämodynamische Kräfte und lokale metabolische Veränderungen stimulieren wie Hormone, Wachstumsfaktoren und Zytokine die Aktivität der kardiovaskulären NAD(P)H-Oxidasen [50], die bei einer Vielzahl pathophysiologischer Prozesse im Gefäßsystem eine Rolle zu spielen scheinen. Die membrangebundene NAD(P)H-Oxidase ist der Hauptort der vaskulären •O₂⁻-Produktion [104]. Die Xanthinoxidase und die mitochondrialen Oxidasen besitzen eine geringe Bedeutung [50]. Eine Behandlung glatter Gefäßmuskelzellen mit Ang II führte über AT₁-Rezeptoren nach einer Latenzzeit zu einer vermehrten *p22-phox*-Transkription, einem Aktivitätsanstieg der NAD(P)H-Oxidasen und einer länger anhaltenden •O₂⁻-Produktion [38], [47]. Neben einer systolischen Blutdruckerhöhung resultierte daraus eine Hypertrophie der Mediamyozyten [37], [47]. Die Behandlung mit dem AT₁-Rezeptor-Antagonisten

Losartan, der Superoxiddismutase, dem Flavoproteininhibitor DPI und dem Vasodilatator Hydralazin führten zu einer Inhibition dieser Effekte [38], [47], [77], [140]. Der Wirkungsmechanismus von Hydralazin ist unklar. Neben der direkten Blockade der NAD(P)H-Oxidase werden antioxidative Effekte diskutiert [38]. Antioxidanzien hemmen die intra- und interzelluläre „*second messenger*“-Wirkung der hochreaktiven Superoxidradikale und somit auch die Effekte von Ang II und TNF- α [50]. Interessanterweise führte eine durch Norepinephrin induzierte Blutdruckerhöhung nicht zu einer Aktivierung der vaskulären NAD(P)H-Oxidasen [77], [104]. Ushio-Fukai et al. wiesen in *p22-phox* defizienten Gefäßmuskelzellen eine signifikant reduzierte Ang II-stimulierte NAD(P)H-abhängige $\bullet\text{O}_2^-$ - und H_2O_2 -Bildung sowie eine verminderte Hypertrophie nach [140]. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass *p22-phox* eine entscheidende Komponente der vaskulären NAD(P)H-Oxidase ist.

Die AT_1 -Rezeptoren, die NAD(P)H-Oxidase und die Inhibition des $\bullet\text{NO}$ durch vermehrt produzierte Superoxide spielen eine zentrale Rolle bei der Entwicklung der arteriellen Hypertonie in diesem pathophysiologischen Modell. Wenn eine erhöhte *p22-phox*-Expression und NAD(P)H-Oxidaseaktivität die Folge des erhöhten Blutdruckes sind, erklärt eine übermäßige Erzeugung von Superoxiden das erhöhte Risiko einer Atherosklerose bei arterieller Hypertonie [38].

Die untersuchte C \rightarrow T Substitution des *p22-phox*-Nukleotids 242 führt zum Austausch von Histidin durch Tyrosin an der Aminosäureposition 72 [30]. Koordinationsstellen für die prosthetischen Hämgruppen sind Histidinreste an den Aminosäurepositionen 72 und 94 im *p22-phox*-Protein [96]. Der Polymorphismus ist an einer vermutlich funktionell bedeutenden Stelle des Proteins lokalisiert, so dass Auswirkungen auf die Aktivität zu vermuten sind. Untersuchungen der *Vena saphena magna* und der *Arteria thoracica interna* wiesen bei den Trägern des mutanten T-Allels – verglichen mit dem homozygoten Wildtyp – eine um 30% reduzierte basale und maximale NAD(P)H-abhängige Superoxidproduktion nach. Dieses Ergebnis war unabhängig vom Vorliegen eines Diabetes mellitus und einer Hypercholesterolemie [54]. Nach $\bullet\text{NO}$ -Behandlung zeigten Koronararterien von Patienten mit dem *p22-phox*-(C242T)-T-Allel eine signifikant gesteigerte Vasodilatation [115]. Bei Ratten mit arterieller Hypertonie wurden eine signifikant erhöhte *p22-phox*-mRNA-Expression, eine gesteigerte NAD(P)H-abhängige $\bullet\text{O}_2^-$ -Bildung, eine größere Mediadicke sowie nach Acetylcholininfusion eine beeinträchtigte Vasodilatation demonstriert [151]. Bei einem Defekt der superoxidbildenden NAD(P)H-Oxidase durch Verlust einer Hämbindungsstelle im *p22-phox* könnte ein protektiver Effekt des mutanten T-Allels auf die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie und atherosklerotischer Folgeerkrankungen vermutet werden.

In der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie einer mitteldeutschen Population wurde deshalb der Zusammenhang zwischen dem C242T-Polymorphismus des *p22-phox* bei Patienten mit arterieller Hypertonie und einer gesunden Vergleichsgruppe geprüft.

Die Frequenz des mutanten *p22-phox*-(C242T)-T-Allels war bei den Patienten mit arterieller Hypertonie mit 33,1% geringfügig höher als in der Gruppe der gesunden Blutspender mit 30,3% ($p=0,543$; $OR=1,14$). Eine gesunde kaukasische Vergleichsgruppe wies bei Gardemann et al. mit 32% eine ähnliche T-Allel-Frequenz auf [41]. In der gesunden chinesischen Bevölkerung ist die Häufigkeit der mutierten Genvariante mit 9% wesentlich geringer, während sie bei Indern 38% beträgt [113]. Diese Ergebnisse sprechen für erhebliche ethnische Differenzen.

Unter der Annahme eines kodominanten genetischen Modells zeigte sich in unserer mitteldeutschen Population eine tendenzielle Häufung des heterozygoten *p22-phox*-(C242T)-CT-Genotyps bei den Patienten mit arterieller Hypertonie verglichen mit den gesunden Blutspendern ($p_{\text{adjustiert}}=0,06$; $OR_{\text{adjustiert}}=1,71$). Auffallend war in der erkrankten Gruppe die Seltenheit der homozygoten TT-Variante ($n=3$; 3,8%). In Studien an kaukasischen Patienten mit koronarer Herzkrankheit betrug die Frequenz des homozygoten Mutationstyps 11 – 18% [16], [41], [80]. Im dominanten genetischen Modell (CT+TT vs. CC) ließ sich dennoch geschlechtsunabhängig die Tendenz der mutanten Genvariante zur arteriellen Hypertonie bei unseren mitteldeutschen Patienten nachweisen ($p=0,142$; $R=1,5$). Der erwartete protektive Effekt des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels bei Patienten mit arterieller Hypertonie wurde in der vorliegenden Untersuchung nicht beobachtet. Ebenso konnte in einer anderen Studie keine Assoziation des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus zur schwangerschaftsinduzierten Präeklampsie bzw. dem HELLP-Syndrom nachgewiesen werden [102].

Bei diesen fehlenden Zusammenhängen zwischen dem *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus und der arteriellen Hypertonie – trotz der offensichtlich zentralen Bedeutung der α -Untereinheit des Zytochrom b 558 für die Funktion der NAD(P)H-Oxidase und die frühzeitige Atherosklerose – sind Interaktionen auf mehreren Ebenen zu bedenken. Eine Vielzahl von aktivierenden und inhibitorischen Komponenten sind an der erhöhten Superoxidproduktion durch die vaskuläre NAD(P)H-Oxidase beteiligt. Genpolymorphismen im Renin-Angiotensin-System mit dem AT₁-Rezeptor sowie Polymorphismen der Superoxiddismutase und anderer aktivierender Faktoren (TNF- α , Thrombin, PDGF) sind in die Überlegungen einzubeziehen, da unter anderem die Superoxiddismutase die mRNA-Expression des *p22-phox* vermindert [38].

Die arterielle Hypertonie ist ein Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit. Der Zusammenhang des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus mit der KHK wurde mit konträren Ergebnissen in einigen Studien untersucht. Inoue et al. fanden bei japanischen KHK-Patienten einen signifikanten koronarprotektiven Effekt des mutanten T-Allels [61]. Eine Studie mit chinesischen und indischen Patienten mit KHK bestätigte dieses Ergebnis jedoch

nicht [113]. Eine US-amerikanische Bevölkerungsstichprobe und eine Analyse von 2205 männlichen Kaukasiern konnte ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen einer KHK und dem *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus detektieren [41], [80]. Cai et al. entdeckten ein erhöhtes Risiko für eine koronare Herzkrankheit bei Trägern des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels bei jungen (≤ 45 Jahre) kaukasischen Australiern [16]. Die Vergleichsgruppen in den Untersuchungen von Cai et al., Gardemann et al., Inoue et al. und Li et al. setzten sich aus Patienten zusammen, die zum Teil an einer arteriellen Hypertonie, einem Diabetes mellitus und einer Hypercholesterolämie litten [16], [41], [61], [80]. Jede einzelne dieser Erkrankungen könnte mit dem *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus assoziiert sein und die Aussagefähigkeit der Studienergebnisse durch mögliche Gruppeninhomogenitäten einschränken.

Bei unseren 59 mitteldeutschen Patienten mit arterieller Hypertonie und KHK konnten keine Unterschiede in der Genotypenverteilung des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus gegenüber den gesunden Blutspendern nachgewiesen werden ($p=0,552$; OR=1,2). Eine Assoziation zum Überleben nach akutem Myokardinfarkt wurde nicht demonstriert ($p=0,870$; OR=1,1). Aus der Analyse innerhalb der Patientengruppe ergab sich eine tendenzielle Verminderung des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels bei den Patienten mit koronarer Herzkrankheit ($p=0,190$; OR=0,43) bzw. nach Überleben eines akuten Myokardinfarktes ($p=0,104$; OR=0,43). Diese Ergebnisse weisen auf eine protektive Wirkung des mutanten T-Allels bei der Entwicklung einer KHK und eines AMI bei Patienten mit arterieller Hypertonie hin. Mehrgefäßerkrankungen traten hingegen tendenziell häufiger bei den mitteldeutschen Patienten mit mutierter Genvariante auf ($p=0,252$; OR=2,8). Statistisch signifikant häufiger mussten sich Träger des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels einer koronarchirurgischen Intervention (ACVB/IMAB) unterziehen ($p=0,034$; OR=3,7). Die Bedeutung dieses Ergebnisses muss durch das signifikant höhere Alter der ACVB/IMAB-Patienten kritisch betrachtet werden ($p<0,001$). Cahilly et al. beschrieben auch eine signifikant stärkere Progression einer koronaren Herzkrankheit bei Patienten mit dem *p22-phox*-(C242T)-T-Allel [15].

Die Resultate der vorliegenden Arbeit weisen darauf hin, dass das mutante T-Allel einen protektiven Effekt auf die Entstehung einer KHK bei Vorliegen von Risikofaktoren (arterielle Hypertonie, Hypercholesterolämie, Rauchen) ausübt. Manifestiert sich jedoch durch den Einfluss anderer genetischer Risiko- oder Umweltfaktoren eine KHK, ist bei den Trägern des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels mit Mehrgefäßerkrankungen und einer stärkeren Progression der Erkrankung zu rechnen. Insbesondere sollte berücksichtigt werden, dass in allen Wand-schichten atherosklerotischer Koronargefäße eine hohe Expression von *p22-phox*-Untereinheiten und somit eine höhere relative NAD(P)H-Oxidaseaktivität besteht. Gesunde Koronarien wiesen dagegen nur eine geringe *p22-phox*-Bildung auf [4].

Die hier vorliegenden Ergebnisse wurden lediglich in einer kleinen mitteldeutschen Patientengruppe demonstriert. Zur weiteren Klärung dieser prognostischen Fragestellung ist die Durchführung weiterer Untersuchungen – insbesondere prospektiver „*Follow-up*“-Studien – nötig.

Freie Sauerstoffradikale tragen als Komplikation der arteriellen Hypertonie zur Pathogenese ischämisch cerebrovaskulärer Erkrankungen bei [21]. Die Reperfusion ischämischer Gehirnareale hat eine massive Freisetzung von Superoxidradikalen zur Folge. Diese zusätzlich entstehende Schädigung kann durch Antioxidanzien reduziert werden [21]. In einer Untersuchung von Ito et al. bei japanischen Patienten war das mutante T-Allel des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer ischämisch cerebrovaskulären Erkrankung [65]. Die Träger des T-Allels erlitten am häufigsten atherothrombotische Infarkte [65]. Bei den 5 Patienten der mitteldeutschen Population, die als Komplikation der arteriellen Hypertonie einen apoplektischen Insult durchgemacht hatten, war keine Assoziation zum *p22-phox*-(C242T)-T-Allel nachzuweisen ($p=0,358$; OR=0,38).

Bezüglich einer arteriellen Verschlusskrankheit konnten Renner et al. keine Beziehung zum *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus belegen [106]. Dieses Ergebnis wurde in der vorliegenden Arbeit bestätigt ($p=0,351$; OR=0,54). Interessanterweise wiesen die homozygoten Wildtypallelträger eine signifikant höhere lebenslange Rauchbelastung auf ($p=0,043$). Rauchen ist als zusätzlicher – die „endotheliale Dysfunktion“ beeinflussender – Faktor anzusehen [73].

Die Analyse spezieller Gerinnungsparameter bei den mitteldeutschen Hypertonikern ergab nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulanzen Therapie eine statistisch signifikant niedrigere Konzentration des PAI-1 bei den Trägern des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels ($p=0,048$). Die Patienten mit dem CC-Genotyp – im Gegensatz zu denen mit dem T-Allel – verfügten mit $4,96 \pm 4,21$ E/ml über einen Mittelwert, der deutlich oberhalb des Referenzbereiches lag. Erhöhte Spiegel des PAI-1 können die Effektivität des fibrinolytischen Systems beeinträchtigen [90]. Ang II induziert über den AT₁-Rezeptor eine erhöhte PAI-1-mRNA-Expression in vielen Geweben [90]. Durch Inhibition des AT₁-Rezeptors – aber nicht durch Hydralazin – kann die Wirkung des Ang II auf die gesteigerte PAI-1-mRNA-Expression reduziert werden [90]. Gorlach et al. wiesen nach antioxidativer Behandlung von Mediamyozyten sowie nach *p22-phox*-Blockade eine verminderte durch Thrombin induzierte PAI-1-Expression nach [46]. Dieses Ergebnis demonstriert eine Beteiligung der vaskulären NAD(P)H-abhängigen Superoxidbildung an der Regulation des PAI-1. Unter der Annahme einer eingeschränkten Funktion des *p22-phox* bei Vorliegen einer C→T Substitution an der Position 242 könnte das T-Allel hinsichtlich einer verminderten PAI-1-Expression ein protektiver Faktor bei der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie sein. Der oberhalb des Referenzbereiches befindliche PAI-1-Plasmaspiegel bei den Patienten mit dem homozygoten *p22-phox*-(C242T)-CC-Genotyp läßt auf eine gesteigerte

PAI-1-Produktion in dieser Subgruppe schließen. Die Mechanismen der Induktion einer arteriellen Hypertonie bzw. PAI-1-Erhöhung durch Angiotensin II scheinen zwar über den AT₁-Rezeptor und eine vaskuläre NAD(P)H-abhängige •O₂⁻-Produktion zu verlaufen, aber der Vasodilatator Hydralazin kann – im Gegensatz zu AT₁-Rezeptorblockern – die PAI-1-Expression nicht vermindern [90]. Eine Assoziation des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus zu veränderten Serumspiegeln des PAI-1 innerhalb einer Patientengruppe mit arterieller Hypertonie konnte in der vorliegenden Arbeit erstmalig beschrieben werden.

Neben dem untersuchten Polymorphismus wurden in der Literatur drei weitere Polymorphismen in den kodierenden Sequenzen des *p22-phox* beschrieben. Alle Genveränderungen wurden auf der Suche nach Ursachen der seltenen autosomal rezessiven Formen der chronisch granulomatösen Erkrankungen entdeckt. Eine G→A Substitution an Position 508 verändert die Aminosäuresequenz nicht [25]. Der *p22-phox*-(C549T)-Polymorphismus führt zu einem Ersatz von Alanin durch Valin an der Stelle 174 der Polypeptidkette [30]. In der 3'-UTR des *p22-phox*-Gens befindet sich die A→G Substitution an der Nukleotidposition 640 [25]. Eine Assoziation des A640G-Polymorphismus zur koronaren Herzkrankheit konnte in einer japanischen Untersuchung nicht gefunden werden [61]. Die pathophysiologische Bedeutung dieser Polymorphismen für die Funktion des vaskulären Zytochrom b 558 und die arterielle Hypertonie bleiben abzuwarten.

Eine allgemeingültige Assoziation zwischen der arteriellen Hypertonie und dem *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus konnte in unserer mitteldeutschen Population nicht dargestellt werden. Insbesondere war die tendenzielle Häufung des mutanten und wahrscheinlich protektiven T-Allels in der Gruppe der Patienten mit einer arteriellen Hypertonie nicht zu erwarten gewesen, da eine verminderte Aktivität der NAD(P)H-Oxidase mit einer verminderten Sauerstoffradikalbildung einhergeht [140]. Dies müsste die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie verhindern. Möglicherweise spielen Superoxidradikale bei der arteriellen Hypertonie in einer Untergruppe von Patienten mit erhöhten lokalen und/oder systemischen Ang II-Spiegeln eine große Rolle [51].

5.4. Potenzielle Interaktionen zwischen den untersuchten Genpolymorphismen

Die essentielle arterielle Hypertonie ist eine multifaktorielle Erkrankung. Für eine Manifestation ist das Zusammenwirken multipler Risikofaktoren nötig, die in ihren Einzelwirkungen nur zu latenten Effekten führen. Auch bei Trägern potenziell pathogener Genpolymorphismen muss es bei optimaler Lebensführung nicht zum Ausbruch der Erkrankung kommen. Allerdings könnte eine ungünstige Kombination verschiedener polymorpher genetischer Marker zum Überschreiten einer bisher unbekanntenen Schwelle und zur Entwicklung einer arteriellen Hypertonie beitragen.

Das Schlüsselsubstrat des RAS ist das Angiotensinogen [18]. Nach der enzymatischen Aktivierung zu Ang II kommt es zur Interaktion mit G-Protein-gekoppelten Ang II-Rezeptoren [48]. Die AT₁-Rezeptoren wirken über PTX-insensitive G-Proteine [139]. Die AT₂-Rezeptoren aktivieren Gi-Proteine [56]. Eine direkte Beeinflussung des C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins durch den AGT-(C659T)-Polymorphismus über Ang II-Rezeptoren scheint zunächst nicht vorzuliegen. Allerdings gibt es eine riesige Vielfalt unterschiedlich zusammengesetzter G-Protein-Heterotrimeren, die in häufig noch unbekannter Weise mit unterschiedlichen Rezeptoren interagieren. Die Rezeptor-Effektor-Spezifität wird durch die Zusammensetzung der G-Proteine bestimmt [126]. So sind die Untersuchungen, welche Untereinheiten der G-Proteine an die Ang II-Rezeptoren koppeln, nicht abgeschlossen. Durch eine intrazelluläre „second messenger“-Wirkung von Kalzium und Lipoxygenasemetaboliten der Arachnoidonsäure kommt es über die Ang II-Rezeptoren in kardiovaskulären Zellen zur Aktivierung der NAD(P)H-Oxidase [50]. Bestandteile der vaskulären NAD(P)H-Oxidase sind neben dem *p22-phox* auch die G-Proteine *Rac1* und *Rap1A* aus den Familien *Rho* bzw. *Ras* [5]. Im Zusammenhang mit *Rac* koppelt der Lysophosphatsäurerezeptor in Fibroblasten an ein PTX-sensitives Gi-Protein [138]. Ob das *Rac* der NAD(P)H-Oxidase in Beziehung mit der in der mitteldeutschen Population untersuchten ubiquitären β_3 -Untereinheit des G-Proteins steht, bleibt abzuwarten. Als essentieller Bestandteil der vaskulären NAD(P)H-Oxidase ist das *p22-phox* eng mit den Folgen der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems assoziiert. So führt Ang II nicht nur zur Vasokonstriktion, Freisetzung von Aldosteron und Katecholaminen sowie zur Proliferation von glatten Muskelzellen, sondern über das Superoxidanion auch zur Inaktivierung von •NO mit einer Beeinträchtigung der endothelabhängigen Vasodilatation, zur LDL-Oxidierung, Adhäsion und Migration von Monozyten, „Remodelling“, Apoptose und Wachstumsinduktion der Mediamyozyten [48], [50]. Diese Interaktionen können durch Polymorphismen, die die Proteinfunktion ändern, zur frühzeitigen Entwicklung einer arteriellen Hypertonie beitragen (Abb. 25).

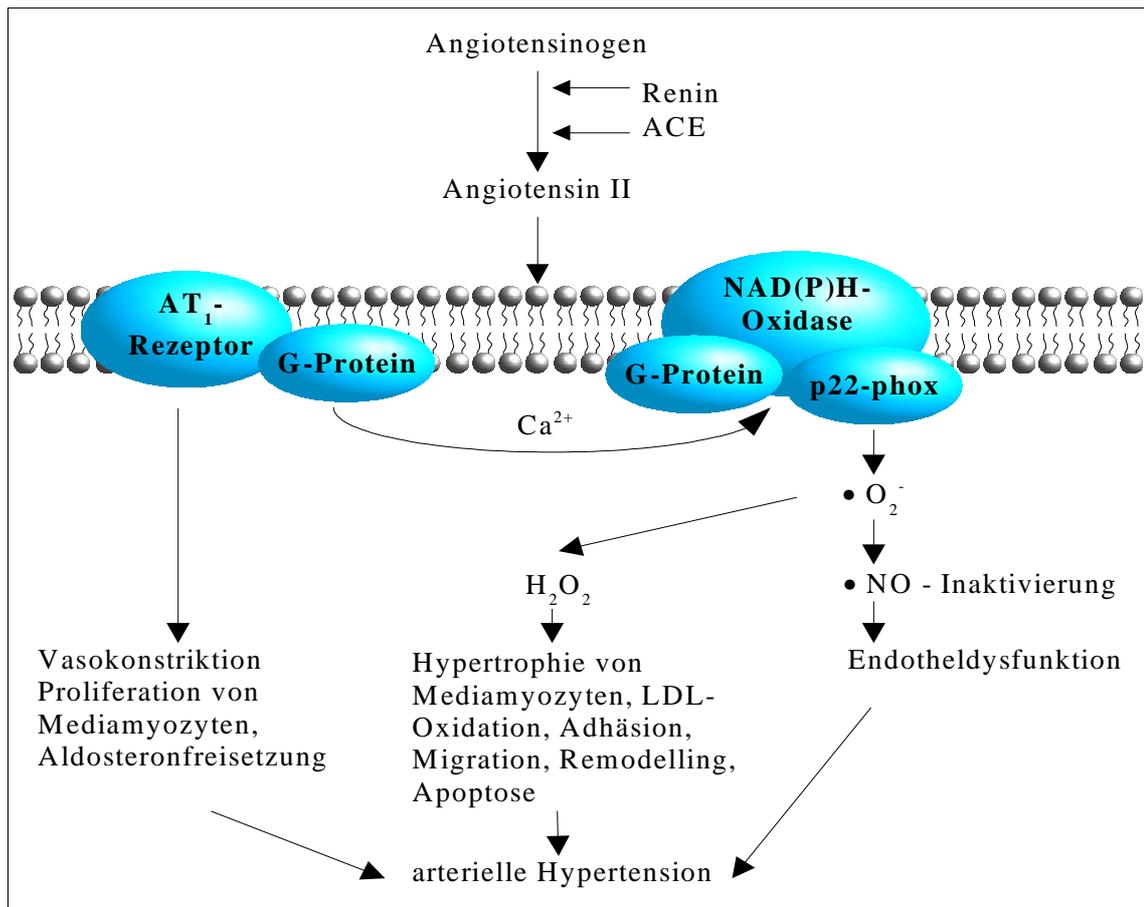


Abb. 25: Potenzielle Interaktionen des Angiotensinogens, der β_3 -Untereinheit des G-Proteins und der *p22-phox* enthaltenden NAD(P)H-Oxidase in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie, modifiziert nach Griendling et al. [48], [47], [50] und Yokoyama et al. [150]

Bei der Untersuchung von Genclustern in unserer mitteldeutschen Population war das gemeinsame Vorkommen des GNB3-(C825T)-T-Allels und eine Wildtypomozgotie für den AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus signifikant seltener in der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie nachzuweisen ($p=0,032$; $OR=0,35$). Ein protektiver Effekt dieser Kombination erscheint möglich. Andererseits kam bei den Patienten mit arterieller Hypertonie das gemeinsame Vorliegen des mutanten T-Allels des GNB3-(C825T)- und des *p22-phox*-(C242T)- zusammen mit dem CC-Genotyp des AGT-(C659T)-Polymorphismus tendenziell häufiger vor ($p=0,097$; $OR=1,8$). Die Interaktionen der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Polymorphismen könnten sowohl zur Protektion als auch zur Progression der arteriellen Hypertonie beitragen. Es besteht jedoch bei Vorliegen dieser großen Zahl allelischer Kombinationsmöglichkeiten und der relativ kleinen Patientengruppe die Gefahr, dass zufällige Signifikanzen entstehen. Weiterführende Untersuchungen sind deshalb nötig.

Bei der Familie 1 des in Abb. 9 dargestellten Stammbaumes konnte neben der Untersuchung der Indexpatientin, die mit 23 Jahren an einer arteriellen Hypertonie erkrankte, auch die genetische Untersuchung der Eltern, des gesunden Ehemannes und des Kindes vorgenommen werden. Beide Eltern der Indexpatientin litten ebenfalls an einer arteriellen Hypertonie, die sich bei der Mutter mit 41 Jahren und beim Vater mit 48 Jahren manifestierte. Für den C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins ergab sich bei der Indexpatientin der CT-Genotyp und für ihre Eltern der CC- und der CT-Genotyp. Bezüglich des AGT-(C659T)- bzw. des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus wurden in der Familie der CC-Genotyp bzw. der CT-Genotyp detektiert. Bei der Indexpatientin und ihrem Vater wurde so das mit einem erhöhten Risiko für eine arterielle Hypertonie einhergehende Gencluster nachgewiesen: T-Allel des GNB3-(C825T)- und *p22-phox*-(C242T)- sowie homozygotes C-Allel des AGT-(C659T)-Polymorphismus. Der Ehemann und die Tochter wiesen dieses Risikocluster nicht auf.

5.5. Potenzielle Fehlerquellen bei der Durchführung von Fall-Kontroll-Studien

Die Ergebnisse der vorliegenden Fall-Kontroll-Studie in einer mitteldeutschen Population bei Patienten mit arterieller Hypertonie weichen zum Teil von den in der Literatur beschriebenen ab. Verschiedene Einschlusskriterien in die Untersuchungsgruppen und daraus resultierende Strukturungleichheit können als Ursache angesehen werden. Zur Bestätigung, dass eine polymorphe Genvariante eines die Pathogenese der Erkrankung beeinflussenden Proteins ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie ist, sind Analysen ethnisch homogener, gut definierter Patientengruppen im Vergleich zu einer gut charakterisierten, alters-, geschlechts- und ethnisch ähnlichen gesunden Population nötig.

Die vorliegende Studie einer mitteldeutschen Population ist mit 80 hypertensiven Patienten und 200 gesunden alters- und geschlechtsentsprechenden Blutspendern relativ klein. Trotz einer guten klinischen Charakterisierung der Patienten mit arterieller Hypertonie (Mindestdauer der arteriellen Hypertonie bei Aufnahme in diese Studie 5 Jahre, Erkrankungsalter ≤ 50 Jahre) und geographischer sowie ethnischer Begrenzung ist die Gruppe dennoch heterogen. Insbesondere das Erkrankungsalter zeigte erhebliche Unterschiede. Das Einschlusskriterium erfüllten sowohl Patienten, die bereits im Kindesalter erkrankten, aber auch solche, bei denen sich die arterielle Hypertonie erst im 50. Lebensjahr manifestierte. Erhebliche Inhomogenitäten der mitteldeutschen Patienten waren bezüglich weiterer Risikofaktoren, z.B. einem hohen Anteil sekundärer kardiovaskulärer Komplikationen, der genetischen Belastung, der Hyperlipidämie und der lebenslangen Rauchexposition zu verzeichnen. Allerdings wurden in vergleichbare Studien sowohl Patienten mit einer hohen genetischen Belastung für eine arterielle Hypertonie und jungem Erkrankungsalter [10] als auch Patienten nach zweimaliger Messung eines Blutdruckes

≥ 160 und/oder ≥ 95 mmHg [70] in die Untersuchungsgruppe eingeschlossen. Geschlechtsunterschiede sind besonders zu berücksichtigen. Das GNB3-(C825T)-T-Allel wies in unserer mitteleuropäischen Population eine signifikante Assoziation zu den männlichen Patienten mit arterieller Hypertonie unter der Annahme eines kodominanten genetischen Modells auf ($p_{exact}=0,035$). Die weiblichen gesunden Blutspender hatten eine signifikant niedrigere Frequenz des AGT-(C659T)-T-Allels als die männliche Vergleichsgruppe in der durchgeführten Untersuchung ($p_{exact}=0,022$; OR=3,2). Eine Studie von Iso et al. zeigte ein ähnliches Ergebnis [64].

Auch unter den gesunden mitteleuropäischen Langzeitblutspendern, bei denen 4 Jahre nach Aufnahme in diese Studie keine Anzeichen einer arteriellen Hypertonie belegbar waren, sind Träger potenziell pathologischer Genmutationen. Der „junge“ Anteil der Vergleichsgruppe könnte im weiteren Verlauf des Lebens ebenfalls an einer arteriellen Hypertonie erkranken. Die Gefahr einer Missklassifikation der normotensiven Kontrollen ist in der vorliegenden Studie gering, kann aber in anderen Untersuchungen nicht ausgeschlossen werden. In die Kontrollgruppe ordneten z.B. Brand et al. alle Personen mit einem diastolischen Blutdruck < 95 mmHg ein [12]. Dies bezieht Patienten mit einer Grenzwerthypertonie ein und führt zur Heterogenität der Vergleichsgruppen.

Zusammenfassend ist sinngemäß wie bei Brand et al. festzustellen, dass die unterschiedlichen Resultate zwischen der hier vorliegenden Untersuchung und vorangegangener Studien durch eine nicht einheitliche Definition von Hypertonie und Normotonie, eine ethnisch inhomogene Zusammensetzung der Studienpopulationen, eine fehlende Übereinstimmung von Fall- und Kontrollgruppe bezüglich Alter, Gewicht und anderer Faktoren, eine unterschiedliche Berücksichtigung des Schweregrades der arteriellen Hypertonie, eine unterschiedliche familiäre Prädisposition sowie die ungenaue Information über den Erkrankungsbeginn bedingt sein könnten [13].

5.6. Klinische Anwendung und Perspektiven

Die Ursachen der essentiellen arteriellen Hypertonie, die bei über 90% der Patienten mit einer arteriellen Hypertonie vorliegt, sind noch ungenügend bekannt. Bei 20 – 40% dieser Patienten ist eine genetische Basis der Erkrankung anzunehmen [18]. Ein monogener Zusammenhang ist sehr selten, hauptsächlich ist von einer polygenen Erkrankung – beeinflusst durch Umweltfaktoren – auszugehen [81]. Gegenstand intensiver Forschungen ist die Identifikation möglicher Kandidatengene der arteriellen Hypertonie, die zu einer sich im frühen Lebensalter manifestierenden Erkrankung beitragen. Die Hoffnung liegt in der Entwicklung neuer pharmakologischer Ansätze und möglicherweise einer individuell angepassten antihypertensiven Therapie [13].

Eine optimale medikamentöse Behandlung unter Einbeziehung auch des genetischen Risikoprofils des Patienten (Pharmakogenetik) könnte zu einer individuell effizienteren, kostensparenden Behandlung und zur Prävention kardiovaskulärer Komplikationen führen.

Für die Behandlung der essentiellen arteriellen Hypertonie stehen mit den β -Blockern, ACE-Hemmern, AT_1 -Rezeptor-Antagonisten, verschiedenen Diuretika, Kalziumantagonisten und α -Blockern verschiedene Therapieoptionen zur Verfügung. Auffallend ist das unterschiedliche Ansprechen der Patienten auf den gleichen Wirkstoff. Genetische Untersuchungen – insbesondere in klinischen Grenzsituationen – sind möglicherweise in der Zukunft die Grundlage für die Auswahl einer bestimmter Behandlung. Ziel ist ein hoher therapeutischer Profit, um die Morbidität und Mortalität kardiovaskulärer Komplikationen zu reduzieren. Abhängig vom Genotyp des C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins wiesen bei der mitteldeutschen Population die Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Serum Unterschiede auf. Ein erniedrigter Natriumspiegel könnte z.B. zu einer eingeschränkten Wirksamkeit der Schleifendiuretika beitragen. Der AGT-(C659T)-Polymorphismus könnte den Effekt der ACE-Hemmer und AT_1 -Rezeptor-Antagonisten beeinflussen. Allerdings geht der beschriebene Polymorphismus nicht mit einer Veränderung des Plasmaspiegels des Angiotensinogens einher [67]. Die Bedeutung der allelischen Varianten für das lokale RAS und das Gerinnungssystem (Faktor VII, AT III) bleibt abzuwarten. Gegenstand intensiver Forschungen ist die Wirkung von Antioxidanzien auf das Gefäßsystem und die arterielle Hypertonie. Der C242T-Polymorphismus des *p22-phox* könnte somit Auswirkungen auf diese Therapieoption und – durch veränderte Plasmakonzentrationen von PAI-1 – das fibrinolytische System besitzen. Darüber hinaus wies das *p22-phox*-(C242T)-T-Allel eine signifikante Assoziation zu einer notwendigen koronarchirurgischen Intervention auf, was erhebliche therapeutische Konsequenzen haben könnte. Neben einer weiterführenden molekulargenetischen Grundlagenforschung sind ergänzende klinische, gut definierte prospektive Kohortenstudien bei Patienten mit arterieller Hypertonie zur Bestätigung dieser Assoziationen erforderlich.

Unabdingbar bei der Durchführung molekulargenetischer Untersuchungen ist die Beachtung ethischer Grundsätze. Das Wissen, Träger eines Risikogens zu sein, könnte trotz optimierter Behandlungsmöglichkeiten zu einer erheblichen psychischen Belastung des Betroffenen und der gesamten Familie führen. Deshalb sollten derartige Untersuchungsergebnisse den Betroffenen im Rahmen eines humangenetischen Beratungsgespräches mitgeteilt werden.

6. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer mitteldeutschen Population europäischer Kaukasier die Bedeutung genetischer Einflüsse auf die Entwicklung einer essentiellen arteriellen Hypertonie untersucht. Diese Erkrankung repräsentiert ein komplexes, heterogenes Krankheitsbild, dessen Ursachen bisher nur unvollständig aufgeklärt sind.

Die kaukasische Studienpopulation bestand aus 80 Patienten mit arterieller Hypertonie und einer durch Zufallsstichprobe gewonnenen Vergleichsgruppe aus 200 gesunden Langzeitblutspendern. Das Einschlusskriterium für die Patientengruppe war eine vor dem 55. Lebensjahr mindestens 5 Jahre bestehende arterielle Hypertonie ($\geq 160/\geq 95$ mmHg) bzw. hypertensive Organveränderungen im Stadium III nach WHO. Der klinischen und paraklinischen Patientencharakterisierung folgte die genomische DNA-Typisierung aus Leukozyten mit Hilfe von PCR- und RFLP-Techniken.

Ein signifikanter Zusammenhang des C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins mit der arteriellen Hypertonie konnte in der Gesamtgruppe der mitteldeutschen Patienten nicht nachgewiesen werden. Unter der Annahme einer Rezessivität des GNB3-(C825T)-T-Allels fand sich jedoch eine statistisch signifikant erhöhte Frequenz homozygoter Mutationsträger bei den Patienten mit arterieller Hypertonie, in der männlichen Subgruppe und bei Patienten mit einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre. Insbesondere letzteres Ergebnis begründet die Vermutung, dass der untersuchte Polymorphismus proliferative Mechanismen beeinflussen könnte, die zur Entwicklung einer arteriellen Hypertonie beitragen. Träger der polymorphen Variante wiesen signifikant niedrigere Natrium- und tendenziell höhere Kaliumserumspiegel sowie signifikant höhere Triglyzeridkonzentrationen im Serum auf. Studienergebnisse der Literatur lieferten allerdings in allen Teilaspekten widersprüchliche Ergebnisse. Daraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass eine erhöhte G-Protein-Aktivität – bedingt durch das GNB3-(C825T)-T-Allel – nur in einer bisher nicht definierten Untergruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie relevant sein könnte.

Der C659T-Polymorphismus des Angiotensinogens war in der Gesamtgruppe der mitteldeutschen Patienten nicht signifikant mit der arteriellen Hypertonie assoziiert. Patienten mit einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre wiesen jedoch eine signifikante Assoziation zum AGT-(C659T)-T-Allel gegenüber den gesunden Blutspendern ≥ 45 Jahre und den Patienten mit einem Manifestationsalter < 40 Jahre auf. Diese Ergebnisse könnten im Kontext der Literatur auf eine Bedeutung des C659T-Polymorphismus des AGT-Gens bei einer Subgruppe von Patienten mit einem Erkrankungsalter zwischen 40 und 55 Jahren hinweisen. Hypertoniker mit dem AGT-(C659T)-T-Allel – nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulantientherapie – zeigten

signifikant höhere Plasmaspiegel für den Faktor VII. Einerseits könnte eine erhöhte Transportkapazität für Phyllochinon – bei tendenzieller Erhöhung der Triglyzeride – eine vermehrte γ -Carboxylierung des Faktors VII induzieren. Andererseits könnte eine reduzierte Aktivität von Antiproteasen erhöhte Faktor VII-Plasmakonzentrationen verursachen.

In der mitteldeutschen Patientengruppe gelang kein Nachweis einer signifikanten Assoziation des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus zur arteriellen Hypertonie. Es zeigte sich lediglich eine tendenzielle Häufung des CT-Genotyps in der Gruppe der Patienten mit arterieller Hypertonie. Der erwartete protektive Effekt der mutanten Genvariante bestätigte sich nicht. Träger des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels mit einer arteriellen Hypertonie und einer koronaren Herzkrankheit mussten sich signifikant häufiger einer koronarchirurgischen Intervention unterziehen, was auf eine stärkere Progression der KHK schließen lässt. Dieser mögliche prognostische Zusammenhang sollte in prospektiven „*Follow-up*“-Studien überprüft werden. Bei der Aufnahme in die vorliegende Studie wiesen die Patienten, die bereits eine ACVB/IMAB überlebt hatten, allerdings ein signifikant höheres Alter auf. Patienten mit dem mutanten *p22-phox*-(C242T)-T-Allel, die keine Antikoagulanzen Therapie erhielten, zeigten signifikant niedrigere Plasmakonzentrationen des PAI-1. Die experimentelle Vermutung, dass die Superoxide der vaskulären NAD(P)H-Oxidase an der Regulation des PAI-1 beteiligt sind, wurde bestätigt und im Rahmen der vorliegenden Arbeit bei Patienten mit arterieller Hypertonie erstmalig beschrieben.

Die in ihrer Funktion veränderten Proteine der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Genpolymorphismen der β_3 -Untereinheit des G-Proteins, des Angiotensinogens und des *p22-phox* könnten in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie interagieren. Es wurden Gencluster der polymorphen Allele mit einem signifikant protektiven Effekt und einem tendenziell erhöhten Risiko für die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie in der mitteldeutschen Population beschrieben. Bei einer relativ kleinen Patientenzahl und einer hohen Zahl allelischer Kombinationsmöglichkeiten sind zur Bestätigung dieser Ergebnisse jedoch weitere Untersuchungen nötig.

Das Verständnis der genetischen Grundlagen der essentiellen arteriellen Hypertonie und anderer kardiovaskulärer Risikofaktoren könnte zu der Entwicklung neuer pharmakologischer Modelle sowie möglicherweise zu einer individuell angepassten antihypertensiven Therapie beitragen. Neben einer weiterführenden molekulargenetischen Basisforschung sind klinisch gut definierte, prospektive Kohortenstudien bei Patienten mit arterieller Hypertonie zur Prüfung der Relevanz des GNB3-(C825T)-, AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus im Kontext anderer kardiovaskulärer Risikofaktoren unentbehrlich.

7. Literaturverzeichnis

- 1 Alexander RW: Theodore Cooper Memorial Lecture: Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension* 25(2) (1995) 155-61
- 2 Ansari-Lari MA, Muzny DM, Lu J, Lu F, Lilley CE, Spanos S, Malley T, Gibbs RA: A gene-rich cluster between the CD4 and triosephosphate isomerase genes at human chromosome 12p13. *Genome Res* 6(4) (1996) 314-26
- 3 Aviram M, Rosenblat M, Etzioni A, Levy R: Activation of NADPH oxidase required for macrophage-mediated oxidation of low-density lipoprotein. *Metabolism* 45(9) (1996) 1069-79
- 4 Azumi H, Inoue N, Takeshita S, Rikitake Y, Kawashima S, Hayashi Y, Itoh H, Yokoyama M: Expression of NADH/NADPH oxidase p22phox in human coronary arteries. *Circulation* 100(14) (1999) 1494-8
- 5 Babior BM: NADPH oxidase: an update. *Blood* 93(5) (1999) 1464-76
- 6 Baumgart D, Naber C, Haude M, Oldenburg O, Erbel R, Heusch G, Siffert W: G protein beta3 subunit 825T allele and enhanced coronary vasoconstriction on alpha(2)-adrenoceptor activation. *Circ Res* 85(10) (1999) 965-9
- 7 Bayraktutan U, Blayney L, Shah AM: Molecular characterization and localization of the NAD(P)H oxidase components gp91-phox and p22-phox in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20(8) (2000) 1903-11
- 8 Bayraktutan U, Draper N, Lang D, Shah AM: Expression of functional neutrophil-type NADPH oxidase in cultured rat coronary microvascular endothelial cells. *Cardiovasc Res* 38(1) (1998) 256-62
- 9 Beige J, Hohenbleicher H, Distler A, Sharma AM: G-Protein beta3 subunit C825T variant and ambulatory blood pressure in essential hypertension. *Hypertension* 33(4) (1999) 1049-51
- 10 Benjafield AV, Jeyasingam CL, Nyholt DR, Griffiths LR, Morris BJ: G-protein beta3 subunit gene (GNB3) variant in causation of essential hypertension. *Hypertension* 32(6) (1998) 1094-7
- 11 Brand E, Chatelain N, Keavney B, Caulfield M, Citterio L, Connell J, Grobbee D, Schmidt S, Schunkert H, Schuster H, Sharma AM, Soubrier F: Evaluation of the angiotensinogen locus in human essential hypertension - a European study. *Hypertension* 31(3) (1998) 725-9
- 12 Brand E, Herrmann SM, Nicaud V, Ruidavets JB, Evans A, Arveiler D, Luc G, Plouin PF, Tiret L, Cambien F: The 825C/T polymorphism of the G-protein subunit beta3 is not related to hypertension. *Hypertension* 33(5) (1999) 1175-8
- 13 Brand E, Ringel J, Sharma AM: Role of the angiotensinogen gene for essential hypertension. *Herz* 25(1) (2000) 15-25
- 14 Brasier AR, Li J, Copland A: Transcription factors modulating angiotensinogen gene expression in hepatocytes. *Kidney Int* 46(6) (1994) 1564-6
- 15 Cahilly C, Ballantyne CM, Lim DS, Gotto A, Marian AJ: A variant of p22(phox), involved in generation of reactive oxygen species in the vessel wall, is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Circ Res* 86(4) (2000) 391-5
- 16 Cai H, Duarte N, Wilcken DE, Wang XL: NADH/NADPH oxidase p22phox C242T polymorphism and coronary artery disease in the Australian population. *Eur J Clin Invest* 29(9) (1999) 744-8

- 17 Campbell DJ, Habener JF: Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest* 78(1) (1986) 31-9
- 18 Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P, Clark AJ: Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. *N Engl J Med* 330(23) (1994) 1629-33
- 19 Caulfield M, Lavender P, Newell-Price J, Farrall M, Kamdar S, Daniel H, Lawson M, De Freitas P, Fogarty P, Clark AJ: Linkage of the angiotensinogen gene locus to human essential hypertension in African Caribbeans. *J Clin Invest* 96(2) (1995) 687-92
- 20 Caulfield M, Lavender P, Newell-Price J, Kamdar S, Farrall M, Clark AJ: Angiotensinogen in human essential hypertension. *Hypertension* 28(6) (1996) 1123-5
- 21 Chan PH: Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 27(6) (1996) 1124-9
- 22 Chistiakov DA, Turakulov RI, Moiseev VS, Nosikov VV: Polymorphism of angiotensinogen T174M gene and cardiovascular diseases in the Moscow population. *Genetika* 35(8) (1999) 1160-4
- 23 Clauser E, Gaillard I, Wei L, Corvol P: Regulation of angiotensinogen gene. *Am J Hypertens* 2(5 Pt 1) (1989) 403-10
- 24 Cong ND, Hamaguchi K, Saikawa T, Hara M, Sakata T: A polymorphism of angiotensinogen gene codon 174 and coronary artery disease in Japanese subjects. *Am J Med Sci* 316(5) (1998) 339-44
- 25 de Boer M, de Klein A, Hossle JP, Seger R, Corbeel L, Weening RS, Roos D: Cytochrome b558-negative, autosomal recessive chronic granulomatous disease: two new mutations in the cytochrome b558 light chain of the NADPH oxidase (p22-phox). *Am J Hum Genet* 51(5) (1992) 1127-35
- 26 De Keulenaer GW, Alexander RW, Ushio-Fukai M, Ishizaka N, Griendling KK: Tumour necrosis factor alpha activates a p22phox-based NADH oxidase in vascular smooth muscle. *Biochem J* 329(Pt 3) (1998) 653-7
- 27 de la Sierra A, Coca A, Pare JC, Sanchez M, Valls V, Urbano-Marquez A: Erythrocyte ion fluxes in essential hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *Circulation* 88(4 Pt 1) (1993) 1628-33
- 28 Delva P, Pastori C, Provoli E, Degan M, Arosio E, Montesi G, Steele A, Lechi A: Erythrocyte Na(+)-H+ exchange activity in essential hypertensive and obese patients: role of excess body weight. *J Hypertens* 11(8) (1993) 823-30
- 29 Diez J, Alonso A, Garcandia A, Lopez R, Gomez-Alamillo C, Arrazola A, Fortuno A: Association of increased erythrocyte Na+/H+ exchanger with renal Na+ retention in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 8(2) (1995) 124-32
- 30 Dinauer MC, Pierce EA, Bruns GA, Curnutte JT, Orkin SH: Human neutrophil cytochrome b light chain (p22phox). Gene structure, chromosomal location, and mutations in cytochrome-negative autosomal recessive chronic granulomatous disease. *J Clin Invest* 86(5) (1990) 1729-37
- 31 Dinauer MC, Pierce EA, Erickson RW, Muhlebach TJ, Messner H, Orkin SH, Seger RA, Curnutte JT: Point mutation in the cytoplasmic domain of the neutrophil p22-phox cytochrome b subunit is associated with a nonfunctional NADPH oxidase and chronic granulomatous disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(24) (1991) 11231-5
- 32 Dong Y, Zhu H, Sagnella GA, Carter ND, Cook DG, Cappuccio FP: Association between the C825T polymorphism of the G protein beta3-subunit gene and hypertension in blacks. *Hypertension* 34(6) (1999) 1193-6

- 33 Dzida G, Golon-Siekierska P, Puzniak A, Sobstyl J, Bilan A, Mosiewicz J, Hanzlik J: G-protein beta3 subunit gene C825T polymorphism is associated with arterial hypertension in Polish patients with type 2 diabetes mellitus. *Med Sci Monit* 8(8) (2002) CR597-602
- 34 Fernandez-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Rivera F, Revert L: Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms in essential hypertension: relation with target organ damage. *Am J Hypertens* 11(4 Pt 1) (1998) 439-44
- 35 Fornage M, Turner ST, Sing CF, Boerwinkle E: Variation at the M235T locus of the angiotensinogen gene and essential hypertension: a population-based case-control study from Rochester, Minnesota. *Hum Genet* 96(3) (1995) 295-300
- 36 Frossard PM, Hill SH, Elshahat YI, Obineche EN, Bokhari AM, Lestringant GG, John A, Abdulle AM: Associations of angiotensinogen gene mutations with hypertension and myocardial infarction in a gulf population. *Clin Genet* 54(4) (1998) 285-93
- 37 Fukai T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Griendling KK, Harrison DG: Modulation of extracellular superoxide dismutase expression by angiotensin II and hypertension. *Circ Res* 85(1) (1999) 23-8
- 38 Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S, Laursen JB, Capers Q 4th, Taylor WR, Harrison DG, de Leon H, Wilcox JN, Griendling KK: p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ Res* 80(1) (1997) 45-51
- 39 Fyhrquist F, Metsarinne K, Tikkanen I: Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. *J Hum Hypertens* 9 Suppl 5 (1995) S19-24
- 40 Gaillard I, Clauser E, Corvol P: Structure of human angiotensinogen gene. *DNA* 8(2) (1989) 87-99
- 41 Gardemann A, Mages P, Katz N, Tillmanns H, Haberbosch W: The p22phox A640G gene polymorphism but not the C242T gene variation is associated with coronary heart disease in younger individuals. *Atherosclerosis* 145(2) (1999) 315-23
- 42 Gardemann A, Stricker J, Humme J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W: Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 145(2) (1999) 309-14
- 43 Gardes J, Bouhnik J, Clauser E, Corvol P, Menard J: Role of angiotensinogen in blood pressure homeostasis. *Hypertension* 4(2) (1982) 185-9
- 44 Gilman AG: G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annu Rev Biochem* 56 (1987) 615-49
- 45 Gorlach A, Brandes RP, Bassus S, Kronemann N, Kirchmaier CM, Busse R, Schini-Kerth VB: Oxidative stress and expression of p22phox are involved in the up-regulation of tissue factor in vascular smooth muscle cells in response to activated platelets. *FASEB J* 14(11) (2000) 1518-28
- 46 Gorlach A, Diebold I, Schini-Kerth VB, Berchner-Pfannschmidt U, Roth U, Brandes RP, Kietzmann T, Busse R: Thrombin activates the hypoxia-inducible factor-1 signaling pathway in vascular smooth muscle cells: Role of the p22(phox)-containing NADPH oxidase. *Circ Res* 89(1) (2001) 47-54
- 47 Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 74(6) (1994) 1141-8
- 48 Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW: Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation* 87(6) (1993) 1816-28

- 49 Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M: Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20(10) (2000) 2175-83
- 50 Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M: NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 86(5) (2000) 494-501
- 51 Griendling KK, Ushio-Fukai M: Redox control of vascular smooth muscle proliferation. *J Lab Clin Med* 132(1) (1998) 9-15
- 52 Gruska S, Ihrke R, Stolper S, Kraatz G, Siffert W: Prevalence of increased intracellular signal transduction in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension and normotensive subjects. *J Hypertens* 15(1) (1997) 29-33
- 53 Guidelines Subcommittee: 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines of the Management of Hypertension. *J Hypertens* 17(2) (1999) 151-183
- 54 Guzik TJ, West NE, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM: Functional effect of the C242T polymorphism in the NAD(P)H oxidase p22phox gene on vascular superoxide production in atherosclerosis. *Circulation* 102(15) (2000) 1744-7
- 55 Handschug K: Molekularbiologische Untersuchungen zur genetischen Risikokonstellation atherosklerotischer Gefäßerkrankungen bei Patienten mit Koronarsklerose. Diss. Univ. Halle. 1998
- 56 Hansen JL, Servant G, Baranski TJ, Fujita T, Iiri T, Sheikh SP: Functional reconstitution of the angiotensin II type 2 receptor and G(i) activation. *Circ Res* 87(9) (2000) 753-9
- 57 Hegele RA, Brunt JH, Connelly PW: A polymorphism of the angiotensinogen gene associated with variation in blood pressure in a genetic isolate. *Circulation* 90(5) (1994) 2207-12
- 58 Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Cao H, Zinman B: G protein beta3 subunit gene variant and blood pressure variation in Canadian Oji-Cree. *Hypertension* 32(4) (1998) 688-92
- 59 Hengstenberg C, Schunkert H, Mayer B, Doring A, Lowel H, Hense HW, Fischer M, Riegger GA, Holmer SR: Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene (GNB3) with arterial hypertension but not with myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 49(4) (2001) 820-7
- 60 Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, Cheng T, Ludwig EH, Sharma AM, Hata A, Jeunemaitre X, Lalouel JM: A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 99(7) (1997) 1786-97
- 61 Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M: Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 97(2) (1998) 135-7
- 62 Ishigami T, Umemura S, Tamura K, Hibi K, Nyui N, Kihara M, Yabana M, Watanabe Y, Sumida Y, Nagahara T, Ochiai H, Ishii M: Essential hypertension and 5'upstream core promoter region of human angiotensinogen gene. *Hypertension* 30(6) (1997) 1325-30
- 63 Ishikawa K, Imai Y, Katsuya T, Ohkubo T, Tsuji I, Nagai K, Takami S, Nakata Y, Satoh H, Hisamichi S, Higaki J, Ogihara T: Human G-protein beta3 subunit variant is associated with serum potassium and total cholesterol levels but not with blood pressure. *Am J Hypertens* 13(2) (2000) 140-5

- 64 Iso H, Harada S, Shimamoto T, Sato S, Kitamura A, Sankai T, Tanigawa T, Iida M, Komachi Y: Angiotensinogen T174M and M235T variants, sodium intake and hypertension among non-drinking, lean Japanese men and women. *J Hypertens* 18(9) (2000) 1197-206
- 65 Ito D, Murata M, Watanabe K, Yoshida T, Saito I, Tanahashi N, Fukuuchi Y: C242T polymorphism of NADPH oxidase p22 PHOX gene and ischemic cerebrovascular disease in the Japanese population. *Stroke* 31(4) (2000) 936-9
- 66 Jeunemaitre X, Inoue I, Williams C, Charru A, Tichet J, Powers M, Sharma AM, Gimenez-Roqueplo AP, Hata A, Corvol P, Lalouel JM: Haplotypes of angiotensinogen in essential hypertension. *Am J Hum Genet* 60(6) (1997) 1448-60
- 67 Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel JM, Corvol P: Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 71(1) (1992) 169-80
- 68 Jones SA, O'Donnell VB, Wood JD, Broughton JP, Hughes EJ, Jones OT: Expression of phagocyte NADPH oxidase components in human endothelial cells. *Am J Physiol* 271(4 Pt 2) (1996) H1626-34
- 69 Kamitani A, Rakugi H, Higaki J, Yi Z, Mikami H, Miki T, Ogihara T: Association analysis of a polymorphism of the angiotensinogen gene with essential hypertension in Japanese. *J Hum Hypertens* 8(7) (1994) 521-4
- 70 Kato N, Sugiyama T, Morita H, Kurihara H, Yamori Y, Yazaki Y: G protein beta3 subunit variant and essential hypertension in Japanese. *Hypertension* 32(5) (1998) 935-8
- 71 Kim HS, Krege JH, Kluckman KD, Hagaman JR, Hodgins JB, Best CF, Jennette JC, Coffman TM, Maeda N, Smithies O: Genetic control of blood pressure and the angiotensinogen locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(7) (1995) 2735-9
- 72 Kimura S, Mullins JJ, Bunnemann B, Metzger R, Hilgenfeldt U, Zimmermann F, Jacob H, Fuxe K, Ganten D, Kaling M: High blood pressure in transgenic mice carrying the rat angiotensinogen gene. *EMBO J* 11(3) (1992) 821-7
- 73 Kojda G, Harrison D: Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res* 43(3) (1999) 562-71
- 74 Ko YL, Ko YS, Wang SM, Chu PH, Teng MS, Cheng NJ, Chen WJ, Hsu TS, Kuo CT, Chiang CW, Lee YS: Angiotensinogen and angiotensin-I converting enzyme gene polymorphisms and the risk of coronary artery disease in Chinese. *Hum Genet* 100(2) (1997) 210-4
- 75 Kuro-o M, Hanaoka K, Hiroi Y, Noguchi T, Fujimori Y, Takewaki S, Hayasaka M, Katoh H, Miyagishi A, Nagai R, Yazaki Y, Nabeshima Y: Salt-sensitive hypertension in transgenic mice overexpressing Na(+)-proton exchanger. *Circ Res* 76(1) (1995) 148-53
- 76 Lamon-Fava S, Sadowski JA, Davidson KW, O'Brien ME, McNamara JR, Schaefer EJ: Plasma lipoproteins as carriers of phyloquinone (vitamin K1) in humans. *Am J Clin Nutr* 67(6) (1998) 1226-31
- 77 Laursen JB, Rajagopalan S, Galis Z, Tarpey M, Freeman BA, Harrison DG: Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation* 95(3) (1997) 588-93
- 78 Levine MA, Smallwood PM, Moen PT Jr, Helman LJ, Ahn TG: Molecular cloning of beta 3 subunit, a third form of the G protein beta-subunit polypeptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(6) (1990) 2329-33

- 79 Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP: Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 322(22) (1990) 1561-6
- 80 Li A, Prasad A, Mincemoyer R, Satorius C, Epstein N, Finkel T, Quyyumi AA: Relationship of the C242T p22phox gene polymorphism to angiographic coronary artery disease and endothelial function. *Am J Med Genet* 86(1) (1999) 57-61
- 81 Luft FC: Molecular genetics of human hypertension. *J Hypertens* 16(12 Pt 2) (1998) 1871-8
- 82 Mancina G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G: Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension* 34(4 Pt 2) (1999) 724-8
- 83 Menard J, Bouhnik J, Clauser E, Richoux JP, Corvol P: Biochemistry and regulation of angiotensinogen. *Clin Exp Hypertens A* 5(7-8) (1983) 1005-19
- 84 Menard J, el Amrani AI, Savoie F, Bouhnik J: Angiotensinogen: an attractive and underrated participant in hypertension and inflammation. *Hypertension* 18(4) (1991) 705-7
- 85 Mohazzab-H KM, Kaminski PM, Wolin MS: Lactate and PO₂ modulate superoxide anion production in bovine cardiac myocytes: potential role of NADH oxidase. *Circulation* 96(2) (1997) 614-20
- 86 Morise T, Takeuchi Y, Takeda R: Rapid detection and prevalence of the variants of the angiotensinogen gene in patients with essential hypertension. *J Intern Med* 237(2) (1995) 175-80
- 87 Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E: G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke* 32(4) (2001) 822-9
- 88 Müller G: *Klinisch-chemische Diagnostik*. Gustav Fischer Verlag, Jena – Stuttgart, 1993
- 89 Naber CK, Husing J, Wolfhard U, Erbel R, Siffert W: Interaction of the ACE D allele and the GNB3 825T allele in myocardial infarction. *Hypertension* 36(6) (2000) 986-9
- 90 Nakamura S, Nakamura I, Ma L, Vaughan DE, Fogo AB: Plasminogen activator inhibitor-1 expression is regulated by the angiotensin type 1 receptor in vivo. *Kidney Int* 58(1) (2000) 251-9
- 91 Neel JV: Diabetes mellitus: a "thrifty" genotyp rendered detrimental by "progress". *Am J Hum Genet* 14 (1962) 353-62
- 92 Neer EJ: Heterotrimeric G Proteins: organizers of transmembrane signals. *Cell* 80(2) (1995) 249-57
- 93 Niu T, Xu X, Rogus J, Zhou Y, Chen C, Yang J, Fang Z, Schmitz C, Zhao J, Rao VS, Lindpaintner K: Angiotensinogen gene and hypertension in Chinese. *J Clin Invest* 101(1) (1998) 188-94
- 94 Niu T, Yang J, Wang B, Chen W, Wang Z, Laird N, Wei E, Fang Z, Lindpaintner K, Rogus JJ, Xu X: Angiotensinogen gene polymorphisms M235T/T174M: no excess transmission to hypertensive Chinese. *Hypertension* 33(2) (1999) 698-702
- 95 Pagano PJ, Clark JK, Cifuentes-Pagano ME, Clark SM, Callis GM, Quinn MT: Localization of a constitutively active, phagocyte-like NADPH oxidase in rabbit aortic adventitia: enhancement by angiotensin II. *Proc Natl Acad Sci USA* 94(26) (1997) 14483-8
- 96 Parkos CA, Dinauer MC, Walker LE, Allen RA, Jesaitis AJ, Orkin SH: Primary structure and unique expression of the 22-kilodalton light chain of human neutrophil cytochrome b. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(10) (1988) 3319-23

- 97 Patterson C, Ruef J, Madamanchi NR, Barry-Lane P, Hu Z, Horaist C, Ballinger CA, Brasier AR, Bode C, Runge MS: Stimulation of a vascular smooth muscle cell NAD(P)H oxidase by thrombin. Evidence that p47(phox) may participate in forming this oxidase in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 274(28) (1999) 19814-22
- 98 Pietruck F, Moritz A, Montemurro M, Sell A, Busch S, Rosskopf D, Virchow S, Esche H, Brockmeyer N, Jakobs KH, Siffert W: Selectively enhanced cellular signaling by Gi proteins in essential hypertension. G alpha i2, G alpha i3, G beta 1 und G beta 2 are not mutated. *Circ Res* 79(5) (1996) 974-83
- 99 Poch E, Giner V, Gonzalez-Nunez D, Coll E, Oriola J, de la Sierra A: Association of the G protein beta3 subunit T allele with insulin resistance in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 24(5) (2002) 345-53
- 100 Poch E, Gonzalez D, Gomez-Angelats E, Enjuto M, Pare JC, Rivera F, de La Sierra A: G-Protein beta(3) subunit gene variant and left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *Hypertension* 35 (1 Pt 2) (2000) 214-8
- 101 Radeke HH, Cross AR, Hancock JT, Jones OT, Nakamura M, Kaefer V, Resch K: Functional expression of NADPH oxidase components (alpha- and beta-subunits of cytochrome b558 and 45-kDa flavoprotein) by intrinsic human glomerular mesangial cells. *J Biol Chem* 266(31) (1991) 21025-9
- 102 Raijmakers MT, Roes EM, Steegers EA, Peters WH: The C242T-polymorphism of the NADPH/NADH oxidase gene p22phox subunit is not associated with pre-eclampsia. *J Hum Hypertens* 16(6) (2002) 423-5
- 103 Rajagopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS: Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest* 98(11) (1996) 2572-9
- 104 Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK, Harrison DG: Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 97(8) (1996) 1916-23
- 105 Reid IA: The renin-angiotensin system: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Advances in physiology education* 20 (1998) 236-45
- 106 Renner W, Schallmoser K, Gallippi P, Krauss C, Toplak H, Wascher TC, Pilger E: C242T polymorphism of the p22 phox gene is not associated with peripheral arterial occlusive disease. *Atherosclerosis* 152(1) (2000) 175-9
- 107 Rosskopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W: G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms. *Hypertension* 36(1) (2000) 33-41
- 108 Rosskopf D, Fromter E, Siffert W: Hypertensive sodium-proton exchanger phenotype persists in immortalized lymphoblasts from essential hypertensive patients. A cell culture model for human hypertension.. *J Clin Invest* 92(5) (1993) 2553-9
- 109 Rosskopf D, Hartung K, Hense J, Siffert W: Enhanced immunoglobulin formation of immortalized B cells from hypertensive patients. *Hypertension* 26(3) (1995) 432-5
- 110 Rosskopf D, Schroder KJ, Siffert W: Role of sodium-hydrogen exchange in the proliferation of immortalised lymphoblasts from patients with essential hypertension and normotensive subjects. *Cardiovasc Res* 29(2) (1995) 254-9
- 111 Rotimi C, Cooper R, Ogunbiyi O, Morrison L, Ladipo M, Tewksbury D, Ward R: Hypertension, serum angiotensinogen, and molecular variants of the angiotensinogen gene among Nigerians. *Circulation* 95(10) (1997) 2348-50

- 112 Rotimi C, Morrison L, Cooper R, Oyejide C, Effiong E, Ladipo M, Osotemihen B, Ward R: Angiotensinogen gene in human hypertension. Lack of an association of the 235T allele among African Americans. *Hypertension* 24(5) (1994) 591-4
- 113 Saha N, Sanghera DK, Kamboh MI: The p22 phox polymorphism C242T is not associated with CHD risk in Asian Indians and Chinese. *Eur J Clin Invest* 29(12) (1999) 999-1002
- 114 Sato N, Katsuya T, Rakugi H, Takami S, Nakata S, Miki T, Higaki J, Ogihara T: Association of variants in critical core promoter element of angiotensinogen gene with increased risk of essential hypertension in Japanese. *Hypertension* 30(3 Pt 1) (1997) 321-5
- 115 Schachinger V, Britten MB, Dimmeler S, Zeiher AM: NADH/NADPH oxidase p22 phox gene polymorphism is associated with improved coronary endothelial vasodilator function. *Eur Heart J* 22(1) (2001) 96-101
- 116 Schulz S: Proteinbiochemie und molekulargenetische Untersuchungen zu metabolischen Risikofaktoren bei Myokardinfarkt. Diss. Univ. Halle. 2001
- 117 Schunkert H, Hense HW, Doring A, Riegger G, Siffert W: Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension* 32(3) (1998) 510-13
- 118 Sedlacek K, Fischer M, Erdmann J, Hengstenberg C, Holmer S, Kurzinger S, Muscholl M, Luchner A, Riegger GA, Hense HW, Schunkert H: Relation of the G protein beta3-subunit polymorphism with left ventricle structure and function. *Hypertension* 40(2) (2002) 162-7
- 119 Sheu WH, Lee WJ, Jeng CY, Young MS, Ding YA, Chen YT: Angiotensinogen gene polymorphism is associated with insulin resistance in nondiabetic men with or without heart disease. *Am Heart J* 136(1) (1998) 125-31
- 120 Shlyakhto EV, Shwartz EI, Nefedova YB, Zukova AV, Vinnic TA, Konrady AO: Lack of association of G-protein subunit gene C825T polymorphism with left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *Med Sci Monit* 8(5) (2002) CR337-40
- 121 Siffert W: G proteins and hypertension: an alternative candidate gene approach. *Kidney Int* 53(6) (1998) 1466-70
- 122 Siffert W: G protein beta 3 subunit 825T allele, hypertension, obesity, and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 15(9) (2000) 1298-306
- 123 Siffert W, Dusing R: Sodium-proton exchange and primary hypertension. An update. *Hypertension* 26(4) (1995) 649-55
- 124 Siffert W, Forster P, Jockel KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, Crookes R, Du P Heyns A, Epplen JT, Fridey J, Freedman BI, Muller N, Stolke D, Sharma AM, Al Moutaery K, Grosse-Wilde H, Buerbaum B, Ehrlich T, Ahmad HR, Horsthemke B, Du Toit ED, Tiilikainen A, Ge J, Wang Y, Roszkopf D, et al.: Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol* 10(9) (1999) 1921-30
- 125 Siffert W, Naber C, Walla M, Ritz E: G protein beta3 subunit allele and its potential association with obesity in hypertensive individuals. *J Hypertens* 17(8) (1999) 1095-8
- 126 Siffert W, Roszkopf D, Erbel R: Genetic polymorphism of the G-protein beta3 subunit, obesity and essential hypertension. *Herz* 25(1) (2000) 26-33
- 127 Siffert W, Roszkopf D, Moritz A, Wieland T, Kaldenberg-Stasch S, Kettler N, Hartung K, Beckmann S, Jakobs KH: Enhanced G protein activation in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension. *J Clin Invest* 96(2) (1995) 759-66

- 128 Siffert W, Roszkopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann HE, Jakobs KH, Horsthemke B: Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 18(1) (1998) 45-8
- 129 Snapir A, Heinonen P, Tuomainen TP, Lakka TA, Kauhanen J, Salonen JT, Scheinin M: G-protein beta3 subunit C825T polymorphism: no association with risk for hypertension and obesity. *J Hypertens* 19(12) (2001) 2149-55
- 130 Su HL, Malbon CC, Wang HY: Increased expression of Gi alpha 2 in mouse embryo stem cells promotes terminal differentiation to adipocytes. *Am J Physiol* 265(6 Pt 1) (1993) C1729-35
- 131 Suh YA, Arnold RS, Lassegue B, Shi J, Xu X, Sorescu D, Chung AB, Griendling KK, Lambeth JD: Cell transformation by the superoxide-generating oxidase Mox1. *Nature* 401(6748) (1999) 79-82
- 132 Tamura K, Umemura S, Nyui N, Hibi K, Watanabe Y, Kobayashi I, Sumida Y, Ishigami T, Kihara M, Yabana M, Takagi N, Ishii M: Regulation of cardiac angiotensinogen mRNA in vivo and in vitro. *Heart Vessels Suppl* 12 (1997) 205-8
- 133 Tiago AD, Samani NJ, Candy GP, Brooksbank R, Libhaber EN, Sareli P, Woodiwiss AJ, Norton GR: Angiotensinogen gene promoter region variant modifies body size-ambulatory blood pressure relations in hypertension. *Circulation* 106(12) (2002) 1483-7
- 134 Tiret L, Ricard S, Poirier O, Arveiler D, Cambou JP, Luc G, Evans A, Nicaud V, Cambien F: Genetic variation at the angiotensinogen locus in relation to high blood pressure and myocardial infarction: the ECTIM study. *J Hypertens* 13(3) (1995) 311-7
- 135 Touyz RM: Molecular and cellular mechanisms regulating vascular function and structure--implications in the pathogenesis of hypertension. *Can J Cardiol* 16(9) (2000) 1137-46
- 136 Trayhurn P, Beattie JH: Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc* 60(3) (2001) 329-39
- 137 Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E: C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension* 37(2 Part 2) (2001) 739-43
- 138 Ueda H, Morishita R, Yamauchi J, Itoh H, Kato K, Asano T: Regulation of Rac and Cdc42 pathways by G(i) during lysophosphatidic acid-induced cell spreading. *J Biol Chem* 276(9) (2001) 6846-52
- 139 Ushio-Fukai M, Alexander RW, Akers M, Lyons PR, Lassegue B, Griendling KK: Angiotensin II receptor coupling to phospholipase D is mediated by the betagamma subunits of heterotrimeric G proteins in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol* 55(1) (1999) 142-9
- 140 Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T, Ishizaka N, Griendling KK: p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 271(38) (1996) 23317-21
- 141 Vasku A, Soucek M, Tschoplova S, Stejskalova A: An association of BMI with A(-6)G, M235T and T174M polymorphisms in angiotensinogen gene in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 16(6) (2002) 427-30
- 142 Van Harmelen V, Ariapart P, Hoffstedt J, Lundkvist I, Bringman S, Arner P: Increased adipose angiotensinogen gene expression in human obesity. *Obes Res* 8(4) (2000) 337-41
- 143 Virchow S, Ansoerge N, Roszkopf D, Rubben H, Siffert W: The G protein beta3 subunit splice variant Gbeta3-s causes enhanced chemotaxis of human neutrophils in response to interleukin-8. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 360(1) (1999) 27-32

- 144 Walker WG, Whelton PK, Saito H, Russell RP, Hermann JS: Relation between blood pressure and renin, renin substrate, angiotensin II, aldosteron und urinary sodium and potassium in ambulatory subjects. *Hypertenison* 1(3) (1979) 287-91
- 145 Wang JH, Lin CM, Wang LS, Lai NS, Chen DY, Cherng JM: Association between molecular variants of the angiotensinogen gene and hypertension in Amis tribes of eastern Taiwan. *J Formos Med Assoc* 101(3) (2002) 183-8
- 146 Warnholtz A, Nickenig G, Schulz E, Macharzina R, Brasen JH, Skatchkov M, Heitzer T, Stasch JP, Griendling KK, Harrison DG, Bohm M, Meinertz T, Munzel T: Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation* 99(15) (1999) 2027-33
- 147 Watt GC, Harrap SB, Foy CJ, Holton DW, Edwards HV, Davidson HR, Connor JM, Lever AF, Fraser R: Abnormalities of glucocorticoid metabolism and the renin-angiotensin system: a four-corners approach to the identification of genetic determinants of blood pressure. *J Hypertens* 10(5) (1992) 473-82
- 148 Weidhase L: Untersuchungen zum Stellenwert von polymorphen genetischen Markern bei koronarer Atherosklerose unter Berücksichtigung einer Restenosierung nach PTCA. Diss. Univ. Halle. 2002
- 149 Yanai K, Nibu Y, Murakami K, Fukamizu A: A cis-acting DNA element located between TATA box and transcription initiation site is critical in response to regulatory sequences in human angiotensinogen gene. *J Biol Chem* 271(27) (1996) 15981-6
- 150 Yokoyama M, Inoue N, Kawashima S: Role of the vascular NADH/NADPH oxidase system in atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 902 (2000) 241-8
- 151 Zalba G, Beaumont FJ, San Jose G, Fortuno A, Fortuno MA, Etayo JC, Diez J: Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 35(5) (2000) 1055-61
- 152 Zhao YY, Gu W, Siddiqui MA, Kumar A: Identification of cis-acting DNA elements involved in the regulation of angiotensinogen gene expression. *Cell Mol Biol* 38(1) (1992) 71-80

8. Thesen

1. Die „essentielle“ arterielle Hypertonie ist ein komplexes, heterogenes Krankheitsbild, dessen Schwere und Manifestationszeitpunkt durch polygene Faktoren sowie eine Reihe von Umwelteinflüssen determiniert werden.
2. Bei Patienten mit einer primären arteriellen Hypertonie sind die Ursachen bisher nur ungenügend geklärt. Abnormalitäten der Volumenregulation, eine erhöhte Vasokonstriktion und das „*Remodelling*“ der Gefäßwand tragen im Zusammenspiel mit endogenen und exogenen kardiovaskulären Risikofaktoren durch einen abnehmenden Durchmesser des Lumens und eine erhöhte Resistenz der Gefäße zur Pathogenese einer arteriellen Hypertonie bei.
3. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchte mitteldeutsche Studienpopulation europäischer Kaukasier setzte sich aus 80 Patienten (Alter: $48,7 \pm 7,0$ Jahre; 78,8% männlich) mit arterieller Hypertonie und einer Vergleichsgruppe aus 200 gesunden Langzeitblutspendern (Alter $47,5 \pm 7,7$ Jahre; 79,0% männlich) zusammen. Die Einschlusskriterien für die Patientengruppe waren eine vor dem 55. Lebensjahr mindestens 5 Jahre bestehende arterielle Hypertonie ($\geq 160/\geq 95$ mmHg) oder hypertensive Organveränderungen im Stadium III nach WHO.
4. In den pathophysiologischen Prozess der arteriellen Hypertonie sind die Proteine der β_3 -Untereinheit des G-Proteins, des Angiotensinogens und des *p22-phox* involviert. Damit sind sie mögliche Kandidatengene für die Entstehung einer arteriellen Hypertonie. Verschiedene Polymorphismen für das GNB3-, AGT- und *p22-phox*-Gen sind publiziert worden.
5. G-Proteine sind transmembranäre Vermittler chemisch und physikalisch kodierter Informationen zwischen extrazellulären Rezeptoren und vielfältigen intrazellulären Effektorsystemen. Eine Beeinflussung der Aktivität dieser Proteine durch strukturelle und funktionelle Veränderungen kann pathophysiologischen Konsequenzen nach sich ziehen.

6. Ein signifikanter Zusammenhang des C825T-Polymorphismus der β_3 -Untereinheit des G-Proteins mit der arteriellen Hypertonie konnte in der Gesamtgruppe der mitteldeutschen Patienten nicht nachgewiesen werden. Unter der Annahme einer Rezessivität des GNB3-(C825T)-T-Allels bestand jedoch eine signifikante Assoziation dieses Polymorphismus zur arteriellen Hypertonie in der männlichen Subgruppe und bei den Patienten mit einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre. Für diese Untergruppen könnte der GNB3-(C825T)-Polymorphismus ein Risikofaktor sein.
7. Mutationsträger (CT+TT) des GNB3-(C825T)-Polymorphismus wiesen signifikant niedrigere Natriumserumspiegel und tendenziell höhere Serumkonzentrationen für Kalium auf. Für die Wahl von Diuretika als Therapieoption könnte dieses Ergebnis Bedeutung haben.
8. Das Renin-Angiotensin-System ist einer der Hauptregulatoren des arteriellen Blutdruckes. Jede Komponente des RAS – insbesondere das Schlüsselsubstrat Angiotensinogen – ist ein potenzieller Kandidat in der Ätiologie der arteriellen Hypertonie.
9. Der AGT-(C659T)-Polymorphismus zeigte in der Gesamtpatientengruppe der vorliegenden Studie keine signifikante Assoziation zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer arteriellen Hypertonie. Jedoch bei Patienten mit einem Erkrankungsalter ≥ 40 Jahre wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem AGT-(C659T)-T-Allel und der arteriellen Hypertonie dokumentiert. Das Ergebnis könnte auf eine Relevanz dieses Polymorphismus bei Patienten mit einem Erkrankungsalter zwischen 40 und 55 Jahren hinweisen.
10. Patienten ohne Antikoagulanzen-therapie, die Träger des AGT-(C659T)-T-Allels waren, wiesen statistisch signifikant höhere Plasmaspiegel für den Faktor VII auf. Einerseits könnte eine erhöhte Transportkapazität für Phyllochinon – bei tendenzieller Erhöhung der Triglyzeride – eine vermehrte γ -Carboxylierung des Faktors VII induzieren. Andererseits könnte eine reduzierte Aktivität von Antiproteasen erhöhte Faktor VII-Plasmakonzentrationen verursachen.
11. Das Protein *p22-phox* der NAD(P)H-Oxidase ist im kardiovaskulären System in die Produktion toxischer Sauerstoffradikale involviert, die an der Pathogenese der Atherosklerose und der arteriellen Hypertonie beteiligt sind. Die C \rightarrow T Substitution an der Nukleotidposition 242 könnte durch Beeinflussung von Histidin als Koordinationsstelle der prosthetischen Hämgruppe des *p22-phox* zu einer Funktionsverminderung des Proteins und einem protektiven Effekt bei der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie führen.

12. In der mitteldeutschen Population konnte keine signifikante Assoziation des *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus zur arteriellen Hypertonie nachgewiesen werden, so dass eine alleinige Wirkung als Risikofaktor bei der arteriellen Hypertonie als eher unwahrscheinlich anzusehen ist.
13. Bei den Trägern des *p22-phox*-(C242T)-T-Allels, die an einer arteriellen Hypertonie und einer KHK erkrankt waren, wurde signifikant häufiger ein koronarchirurgischer Eingriff durchgeführt. Die Patienten nach chirurgischer Intervention hatten allerdings ein signifikant höheres Alter bei der Aufnahme in die vorliegende Studie.
14. Nach Ausschluss der Patienten mit Antikoagulanzen Therapie zeigte sich bei den *p22-phox*-(C242T)-T-Allel-Trägern der Patienten mit arterieller Hypertonie eine signifikant niedrigere Plasmakonzentration für PAI-1. Eine verminderte PAI-1-Expression könnte ein protektiver Faktor bei der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie sein.
15. Die Proteine GNB3, AGT und *p22-phox* können bei der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie interagieren. Durch Bildung von Clustern des GNB3-(C825T)-, AGT-(C659T)- und *p22-phox*-(C242T)-Polymorphismus in Relation zu einem erhöhten bzw. erniedrigten Risiko für eine arterielle Hypertonie wurde dieser mögliche Zusammenhang aufgezeigt.
16. Für zahlreiche in die Pathogenese der arteriellen Hypertonie involvierte Proteine wurden polymorphe genetische Varianten detektiert. Um solche Varianten als unabhängige kausale Risikofaktoren zu charakterisieren, ist die Analyse in ethnisch homogenen, gut definierten Populationen erforderlich. Das den Patienten gegenübergestellte Referenzkollektiv sollte eine gut charakterisierte, alters- und geschlechtsähnliche, gesunde Normalbevölkerung repräsentieren.
17. Das Verständnis der genetischen Grundlagen der essentiellen arteriellen Hypertonie könnte zur Entwicklung neuer pharmakologischer Ansätze und möglicherweise zu einer individuell angepassten antihypertensiven Therapie beitragen. Dafür ist die Durchführung weiterführender klinischer, prospektiver Untersuchungen unausweichlich.

Verzeichnis der Publikationen

Nordwig A, Schulz S, Weidhase L, Schnürer C, Archoukieh E, Greiser P, Schagdarsurengin U, Werdan K, Teichmann W, Taute BM, Podhaisky H, Glaeser C: Importance of the C242T polymorphism of the p22phox gene for essential hypertension. *Circulation* 100, No 18 (Suppl), I-411 (1999)

Schulz S, Schagdarsurengin U, Schnürer C, Archoukieh E, Greiser P, Weidhase L, **Nordwig A**, Werdan K, Glaeser C: A novel polymorphism in the promoter region of the LDL receptor related protein (LRP) and its importance as a risk factor for myocardial infarction. *medgen* 12, 140 (2000)

Weidhase L, Schulz S, Handschug K, Schagdarsurengin U, Greiser P, **Nordwig A**, Schnürer C, Archoukieh E, Werdan K, Glaeser C: Novel C+241T-polymorphism and G+19A-, G+97C-mutations in exon 1 of FGF2 in patients with coronary atherosclerosis. *European J Hum Genet* 8 (Suppl 1), 116 (2000)

Schulz S, Schnürer C, Schagdarsurengin U, Greiser P, Archoukieh E, Weidhase L, **Nordwig A**, Taute BM, Werdan K, Glaeser C: Der C242T Polymorphismus des p22phox-Gens und der ACE-I/D-Polymorphismus als Risikomarker bei Myokardinfarkt. *German J Cardiology* 89, Suppl 5, 194 (2000)

Archoukieh E, Greiser P, Schulz S, Schagdarsurengin U, Weidhase L, **Nordwig A**, Rehfeld D, Schnürer C, Kabisch A, Werdan K, Glaeser C: Basic fibroblast growth factor (FGF2) and its genetic variants in patients with coronary obstruction. *J Mol Med* 78(3), B11 (2000)

Schulz S, Schagdarsurengin U, Schnürer C, Archoukieh E, Greiser P, Weidhase L, **Nordwig A**, Kabisch A, Rehfeld D, Werdan K, Glaeser C: Importance of a novel genomic variant, a creation of an additional SP1 binding-site in the promoter of the LDL receptor-related protein (LRP) gene, for myocardial infarction. *J Mol Med* 78(3), B16 (2000)

Schagdarsurengin U, Schulz S, Schnürer C, Greiser P, Mueller-Werdan U, Kabisch A, Weidhase L, **Nordwig A**, Suess T, Archoukieh E, Werdan K, Glaeser C: Investigation of genetic variants of the tumor necrosis factor and their importance in the risk profile of CAD. *Circulation* 102, No 18 (Suppl), 354 (2000)

Greiser P, Schagdarsurengin U, Schulz S, Müller-Werdan U, Schnürer C, Suess T, Rehfeld D, **Nordwig A**, Weidhase L, Werdan K, Glaeser C: Investigation of the relation between gene expression and genetic variants of FGF2 in patients with coronary artery disease (CAD). *European J of Human Genetics* 9 (Suppl 1), 178 (2001)

Schagdarsurengin U, Greiser P, Schulz S, Müller-Werdan U, Kabisch A, Rehfeld D, Schnürer C, Suess T, Weidhase L, **Nordwig A**, Werdan K, Glaeser C: Investigation of genetic variants of the tumor necrosis factor alpha and their importance in the risk profile of CAD. *European J of Human Genetics* 9 (Suppl 1), 368 (2001)

Schulz S, Schagdarsurengin U, Greiser P, Birkenmeier G, Weidhase L, **Nordwig A**, Kabisch A, Werdan K, Hansmann I, Glaeser C: Inverse regulation of LDL receptor-related protein (LRP) on transcriptional and translational level in patients with CAD. *The American Journal of Human Genetics* 69 (Suppl), 553 (2001)

Rauchhaus M, Gross M, Schulz S, Francis DP, Greiser P, **Nordwig A**, Weidhase L, Coats AJ, Dietz R, Anker SD, Glaeser C: The E-selectin SER128ARG gene polymorphism and restenosis after successful coronary angioplasty. *Intern J Cardiol* 83, 249-57 (2002)

Suess T, Schulz S, Schagdarsurengin U, Greiser P, Rehfeld D, **Nordwig A**, Kabisch A, Müller-Werdan U, Werdan K, Glaeser C: Power of genomic variants of TNF α and TNF β as major risk factors for coronary macroangiopathies. *Europ J of Hum Genet* 10 (Suppl 1), 75 (2002)

Schulz S, Birkenmeier G, Greiser P, Suess T, Rehfeld D, **Nordwig A**, Schagdarsurengin U, Werdan K, Glaeser C: LDL receptor-related protein (LRP) expression pattern in male coronary patients: Inverse regulation on transcriptional and translational level. *Europ J of Hum Genet* 10 (Suppl 1), 74 (2002)

Greiser P, Schulz S, Schagdarsurengin U, Suess T, Rehfeld D, **Nordwig A**, Kabisch A, Müller-Werdan U, Werdan K, Glaeser C: Genetic background of the protein regulation of FGF2 ex vivo. *Europ J of Hum Genet* 10 (Suppl 1), 166 (2002)

Tabellarischer Lebenslauf

von Antje Nordwig

1. Persönliche Daten

Geburtsdatum: 09.05.1974

Geburtsort: Dessau

Familienstand: ledig

2. Schulbildung

1980-1990 „Klement-Gottwald-Oberschule“ mit Abschluss „Mittlere Reife“ in Dessau

1990-1992 Gymnasium „Philanthropinum“ mit Abschluss „Abitur“ in Dessau

3. Freiwilliges Soziales Jahr

10.1993-09.1994 in der Klinik für Chirurgie und Anästhesiologie des Krankenhauses der Anhaltischen Diakonissenanstalt Dessau

4. Studium

10.1992-09.1993 Studium der Sportwissenschaften an der Fakultät Sportwissenschaften der Universität Leipzig

10.1994-10.2000 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

4.1. Famulaturen/Praktika

- molekulargenetisches Laborpraktikum (Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)
- Innere Medizin (Krankenhaus der Anhaltischen Diakonissenanstalt Dessau)
- Chirurgie (Krankenhaus der Anhaltischen Diakonissenanstalt Dessau)
- Innere Medizin/Kardiologie (Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)
- Kinderchirurgie (Krankenhaus St. Barbara Halle)
- Orthopädie (Orthopädische Ambulanz des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus Dresden)

- Pädiatrie (Krankenhaus St. Barbara Halle)
- Allgemeinmedizin (Praxis Dr. med. R. Skiba, Könnern)
- Pädiatrie (Klinikum Schwerin)

4.2. Praktisches Jahr

- 10.1999-01.2000 Innere Medizin im Krankenhaus Thusis (Schweiz)
 02.2000-05.2000 Pädiatrie im Städtischen Krankenhaus Martha-Maria Halle-Dölau gGmbH
 06.2000-09.2000 Chirurgie im Krankenhaus St. Elisabeth Halle

4.3. Ärztliche Prüfungen

- 09.1996 Ärztliche Vorprüfung: Gesamtnote: gut
 10.2000 Ärztliche Prüfung: Gesamtnote: sehr gut
 01.08.2002 Approbation als Ärztin

5. Beruflicher Werdegang

- 02.2001-07.2002 Ärztin im Praktikum in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des
 Städtischen Krankenhauses Martha-Maria Halle-Dölau gGmbH
 seit 08.2002 Assistenzärztin in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des
 Städtischen Krankenhauses Martha-Maria Halle-Dölau gGmbH

6. Hobbys

Sport (Rad fahren, Langlauf, Abfahrtslauf, Schwimmen), Lesen, Wandern

Antje Nordwig

Selbständigkeitserklärung und Erklärung über frühere Promotionsversuche

Die vorliegende Dissertation wurde selbständig und ohne kommerzielle Hilfe angefertigt.
Weitere Promotionsversuche gab es nicht.

Antje Nordwig

Danksagung

Obwohl eine Dissertation doch stets eine wissenschaftliche Einzelleistung dokumentiert, kann nicht oft genug betont werden, dass der Wille, die Kreativität und die Einsatzbereitschaft des „Leistenden“ in hohem Maße auch von denjenigen begründet und beeinflusst werden, die ihm nahe stehen und deren Urteil ihm wichtig ist.

Im Besonderen danke ich Herrn Prof. em. Dr. Teichmann, der als Direktor der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der MLU durch eine intensive Zusammenarbeit mit dem Institut für Humangenetik und Medizinische Biologie (Dr. Gläser) die Voraussetzungen für die Durchführung der vorliegenden Arbeit schuf. Insbesondere während des klinischen Teiles der Arbeit konnte ich von seinen Lösungsvorschlägen bei Problemen profitieren.

Nach Emeritierung von Herrn Prof. em. Dr. Teichmann übernahm Herr Prof. Dr. Werdan die Leitung der Universitätsklinik und Poliklinik für Innere Medizin III der MLU. Für die Fortsetzung der Unterstützung sei ihm ganz herzlich gedankt.

Für die hervorragenden Nutzungsmöglichkeiten der genetischen Labore des Institutes für Humangenetik und Medizinische Biologie der MLU, in denen die molekulargenetischen Untersuchungen durchgeführt wurden, möchte ich dem Direktor dieses Institutes, Herrn Prof. Dr. Hansmann, ganz herzlich danken.

Besondere Dankbarkeit schulde ich Frau Dr. Gläser, die als Leiterin der Forschungsgruppe „Herz-Kreislauf“ des Institutes für Humangenetik und Medizinische Biologie der MLU durch Motivation und fruchtbare Diskussionen entscheidend zum Erfolg dieser Arbeit betrug. Mit allen anderen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe wurden die molekulargenetischen Analysen komplikationslos durchgeführt. Für ihre umfangreiche Unterstützung insbesondere in kritischen Stadien der Dissertation möchte ich hauptsächlich Frau Dr. Gläser, aber auch den Mitarbeitern der Forschungsgruppe „Herz-Kreislauf“, in besonderem Maße danken.

Frau Dr. Heider und den Mitarbeitern des Zentrallabors des Universitätsklinikums Kröllwitz danke ich für die Analyse der klinisch-chemischen Laborparameter.

Für die Empfehlungen bei der Durchführung der statistischen Prüfungen gilt Frau Dr. Lautenschläger mein Dank.

Herzlicher Dank sei auch den Ärzten und Schwestern der Stationen 7, 8 und 9 der Universitätsklinik für Innere Medizin III der MLU für ihre Hilfe und ihr Verständnis ausgesprochen.

In besonderem Maße danke ich Herrn Dr. Weidhase, der mich bei der Befragung der Probanden, bei den Blutabnahmen und -transporten sowie bei der Eingabe und Verarbeitung des umfangreichen Datenmaterials unterstützte. Durch seine ständige Diskussionsbereitschaft und seine Erfahrungen auf dem Gebiet genetischer Untersuchungen bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen konnte er mich motivieren und mir Anregungen für die vorliegende Dissertation geben.

Ganz herzlichen Dank möchte ich Herrn Dipl. Inf. Neumann sagen, der mir bei der Datenverwaltung und der Erstellung von Graphiken zur Seite stand und mich während der schriftlichen Zusammenstellung dieser Arbeit durch alle Höhen und Tiefen begleitete.

Allen freiwilligen Probanden gilt mein besonderer Dank. Ohne sie wäre die Durchführung der vorliegenden Arbeit nicht möglich gewesen.

Antje Nordwig