

**Restenose nach perkutaner transluminaler Koronar Angioplastie  
und Insertion/Deletion Polymorphismus im Gen für  
das Angiotensin-I-Konversionsenzym**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität  
Bonn

Frank Faltraco  
aus Wesel

2006

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Privatdozent Dr. med. Thorsten Lewalter
2. Gutachter: Professor Dr. med. Ch. Grohé

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Januar 2006

Aus der  
Medizinischen Klinik II der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität  
Sigmund Freud Str. 25  
53105 Bonn  
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. Berndt Lüderitz

*Meinen Eltern*



## INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<b>1. Koronare Herzerkrankung</b> .....	7
1.2 Epidemiologie .....	7
1.3 Pathogenese .....	7
1.4 Klinik der koronaren Herzerkrankung .....	9
1.5 Diagnose und Therapie der koronaren Herzerkrankung .....	9
<b>2. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System</b> .....	11
2.1 Angiotensin-I-Konversionsenzym .....	12
2.2 Angiotensin-II .....	13
<b>3. Der Angiotensin Converting Enzym Insertion/Deletion Genpolymorphismus</b> .....	14
<b>4. Zur Biomechanik</b> .....	16
<b>5. Die perkutane koronare Ballon-Angioplastie</b> .....	17
<b>6. Zur Pathogenese der Restenose nach koronarer Ballon-Angioplastie</b> .....	20
6.1 Zur Restenoseformierung .....	21
6.2 Aspekte der Ballon-Gefäß-Interaktion während PTCA .....	22
6.3 Glatte Gefäßmuskelzellen .....	23
6.4 Endothelzellen .....	24
<b>7. Fragestellung</b> .....	25
<b>8. Patienten, Material und Methoden</b> .....	27
8.1 Patienten .....	27
8.2 Ein- und Ausschlusskriterien .....	27
8.3 Quantitative Koronarangiographie .....	29
8.4 DNA-Isolierung aus Vollblut .....	29
8.5 Polymerase Kettenreaktion .....	30
8.6 Elektrophorese .....	31
8.7 Statistik .....	32
<b>9. Ergebnisse</b> .....	34
9.1 Deskriptive Statistik .....	34
9.2 Risikofaktoren .....	38
9.3 Post-hoc-Analysen .....	41

<b>10. Diskussion</b> .....	44
10.1 Methodische Aspekte .....	44
10.2 Diskussion im Kontext der Literatur .....	45
10.3 Schlussfolgerungen .....	46
10.4 Ausblick .....	47
<b>11. Zusammenfassung</b> .....	48
Abkürzungsverzeichnis .....	49
Abbildungsverzeichnis .....	50
Tabellenverzeichnis .....	51
Feststellung über die Einhaltung der Deklaration von Helsinki .....	52
Literaturverzeichnis .....	53
Lebenslauf .....	65

## 1. Koronare Herzerkrankung

### 1.2 Epidemiologie

Die Lebenserwartung in der westlichen Welt ist mit der ständigen Verbesserung der sozialen Bedingungen, des Gesundheitssystems sowie der aktiven und passiven Krankheitsprävention höher als jemals zuvor. Morbidität und Mortalität infolge ischämischer Herzkrankheiten stiegen in den letzten Jahren gleichfalls an, während die Todesrate infolge von Myokardinfarkten abnahm (Statistisches Bundesamt, 1999). Die koronare Herzerkrankung ist in Deutschland die führende Todesursache noch vor den Malignomen. Hierzulande sind etwa 20% der Patienten jünger als 65 Jahre (Assmann, 1990). Für das 21. Jahrhundert wird eine an der Lebensweise der westlichen Welt orientierte Änderung der Ernährung und Lebensführung in Entwicklungsländern erwartet und als Folge ein Anstieg der Prävalenz der Atherosklerose prognostiziert (Gaziano, 1998). Prävention, Therapie und Rehabilitation der koronaren Herzerkrankung sind somit ärztliche Kernprobleme höchster Wichtigkeit.

Im internationalen Vergleich gibt es in einzelnen Ländern große Unterschiede in der Inzidenz der koronaren Herzkrankheit, ein Umstand, der auf den pathogenetischen Einfluss von Umwelt- und Risikofaktoren aufmerksam macht (Tunstall-Pedoe et al., 1994). In diesem Kontext spielen vererbte Eigenschaften, also die komplexe genetische Grundlage der Erkrankung im Verhältnis zu ihrem Phänotyp, eine nicht zu vernachlässigende Rolle (Deschepper et al., 2002).

### 1.3 Pathogenese

Die koronare Herzerkrankung ist eine Manifestation der Atherosklerose, zu deren Pathogenese bereits im 19. Jahrhundert erste Theorien aufgestellt wurden (Rokitanzky C, 1852; Virchow, 1856). Eine Zusammenfassung hierüber findet sich bei Hauss (1990).

Heute wird die Atherosklerose als eine Erkrankung der Gefäß-Intima verstanden, die durch die Bildung von Plaques charakterisiert ist. Jede Plaque besteht aus einer Kombination von extrazellulärer Flüssigkeit, Lipiden in Schaumzellen und extrazellulären Matrixproteinen wie Kollagen, das von glatten Gefäßmuskelzellen produziert wird. Ein Großteil der Schaumzellen leitet sich von Monozyten ab, die aus dem arteriellen Lumen in die Plaque gelangen. Lipide sind

eine Hauptkomponente der atherosklerotischen Plaque. Sie initiieren eine inflammatorisch-reparative Reaktion der Zellen der Gefäßwand (Ross, 1993).

Im Unterschied dazu sind Läsionen, die etwa nach mechanischer Denudation des Endothels im Tierversuch oder nach Angioplastie entstehen und sich histologisch hauptsächlich durch Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen auszeichnen, als eine Reaktion auf das Trauma zu verstehen und können als Wundheilungsreaktion aufgefasst werden (Davies, 1998). Eine intimale Verdickung, die nur aus Bindegewebe und glatten Gefäßmuskelzellen besteht, wird als adaptiver Prozess auf den luminalen Fluss und daraus resultierende Scherkräfte und nicht als Atherosklerose verstanden (Glagov et al., 1995).

Die American Heart Association hat eine Nomenklatur für unterschiedliche Plaque-Stadien empfohlen (Stary et al., 1995).

Die initiale Läsion (Typ I) entsteht, wenn Monozyten aus dem Gefäßlumen durch das intakte Endothel in die Intima einwandern und dort akkumulieren. Die Typ II Läsion besteht aus lipidangereicherten, fokal akkumulierten Schaumzellen direkt unter dem intakten Endothel. Diese Lipidflecken werden in der internationalen Literatur als „Fatty streaks“ bezeichnet und sind schon bei Jugendlichen nachweisbar. In der Typ III Läsion kommen zusätzlich extrazelluläre Lipid-Anreicherungen vor. Die Stadien I bis III sind Vorläufer stärker fortgeschrittener Läsionen und verursachen keine klinischen Symptome.

Das Stadium IV ist durch das Vorhandensein glatter Gefäßmuskelzellen und die Ausbildung eines Lipid-Kerns, dem sog. „Lipid-Core“, charakterisiert. Im Stadium V finden sich mehr Bindegewebe und eine fibröse Kappe (engl. fibrous cap), die den Lipid-Kern umgibt und die Plaque vom Gefäßlumen trennt. An der schlecht ernährten Basis sind in den meisten Fällen degenerative Veränderungen und Nekrosen nachweisbar, der Lipid-Kern ist häufig durch Carotinoide gelb gefärbt. Plaques werden anhand morphologischer Kriterien weiter unterschieden, bestehen sie hauptsächlich aus einem Lipid-Kern und einer fibrösen Kappe werden sie als Stadium Va, bei starker Kalzifikation als Vb, bei Überwiegen von Kollagen und glatten Gefäßmuskelzellen als Vc klassifiziert.

Entwickelt sich ein Thrombus in der Plaque, besteht Stadium VI. Diese Komplikation entsteht häufig aus Stadium Va. Läsionen mit einem hohen Lipid-Gehalt und aktivierten Makrophagen werden als vulnerable Plaques bezeichnet.

Die Plaque kann durch aus der Adventitia einsprossende kleine dünnwandige Vasa vasorum neovaskularisiert sein (Barger et al., 1990).



## 1.4 Klinik der koronaren Herzerkrankung

Die Klinik der koronaren Herzerkrankung ist durch die Angina pectoris gekennzeichnet. Der Schmerzcharakter wird von den Patienten typischerweise als bohrend, brennend oder würgend in charakteristischer Lokalisation, z.B. retrosternal und/oder linker Arm beschrieben. Die Symptomatik wurde von der Canadian Cardiovascular Society (CCS) in vier Stadien eingeteilt (Campeau, 1974).

Schweregradeinteilung der Angina pectoris Klassifikation der Canadian Cardiovascular Society (CCS), modifiziert nach Meyer (2000):

1. Normale körperliche Aktivität, wie Treppensteigen oder Gehen verursacht keine Angina, wohl aber anstrengende, plötzliche und prolongierte Belastung.
2. Leichte Beeinträchtigung der normalen Aktivität: Gehen, schnelles Treppensteigen und Bergangehen, Treppensteigen nach dem Essen, Kälte, Wind und psychische Belastungen verursachen Beschwerden.
3. Deutliche Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität: Schmerzen nach dem Gehen von wenigen 100 m auf ebener Erde und nach dem Treppensteigen zum ersten Stock in normalem Tempo.
4. Unfähigkeit, irgendeine körperliche Aktivität ohne Beschwerden durchzuführen, Symptome können in Ruhe auftreten.

Unterschieden wird zwischen stabiler und instabiler Angina pectoris. Bei der stabilen Angina treten die Symptome über einen längeren Zeitraum nach gleicher körperlicher Belastung auf. Die instabile Angina ist durch plötzliches Auftreten bei körperlicher Ruhe, auch in der Nacht (Ruhe-Angina) gekennzeichnet. Nimmt die Anfallshäufigkeit bei der instabilen Angina zu, wird sie Crescendo-Angina genannt.

## 1.5 Diagnose und Therapie der koronaren Herzerkrankung

Am Anfang der Diagnostik steht die ausführliche Anamnese und die körperliche Untersuchung, in der Mehrzahl der Fälle kann eine Verdachtsdiagnose gestellt werden. Apparative Untersuchungen ergänzen die Befundlage und sind hilfreich bei der Schweregradeinteilung der Erkrankung. Eine definitive Diagnose wird gestellt, indem das Ausmaß der Erkrankung und die exakte Lokalisation stenosierender Veränderungen der Koronararterien mittels diagnostischer Herzkatheteruntersuchung und selektiver Koronarangiographie bestimmt werden.

Falls bei stabiler Angina pectoris aufgrund einer koronaren Herzerkrankung mit einer pharmakologischen und Risikofaktoren minimierenden Therapie ein klinisch unbefriedigendes Ergebnis erzielt wird, kann die Indikation zur invasiven perkutanen Koronarintervention gestellt werden, um die Angina pectoris Symptomatik zu vermindern, die Belastungstoleranz und die Prognose zu verbessern sowie die anti-ischämische Medikation zu minimieren oder zu beenden. Die Alternativen bestehen in der Fortsetzung der konservativen Therapie und der operativen Revaskularisation (Dzavik, 1998).

## 2. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist an der Blutdruck-Regulation sowie der Salz- und Wasserhomöostase beteiligt. Die Leber sezerniert das Glykoprotein Angiotensinogen, in der Lunge wird das Angiotensin-I-Konversionsenzym und in der Niere Renin synthetisiert. Aus Angiotensinogen wird durch Renin physiologisch inaktives Angiotensin I gebildet. Dieses Dekapeptid wird durch das Angiotensin-I-Konversionsenzym in das Oktapeptid Angiotensin II umgewandelt. Angiotensin II ist der aktive Metabolit des RAAS.

Es wurden lokale RAAS im Herzen (Lindpaintner 1987), in Gefäßen (Dzau 1984) und Gehirn (Ganten, 1984) nachgewiesen. Während als extrinsisches-lokales RAAS die Bildung von Angiotensin II nach Aufnahme von zirkulierendem, aus der Niere stammendem Renin bezeichnet wird, beinhaltet die Bezeichnung intrinsisches-lokales RAAS die lokale Bildung aller Komponenten. Durch den proliferativen Einfluss von Angiotensin II auf glatte Gefäßmuskulzellen (Geisterfer et al., 1988) sowie die Induktion der ACE-Expression in der Neo-Intima spielt das RAAS bei der Pathogenese der Atherosklerose und der Restenose nach perkutaner koronarer Ballondilatation eine Rolle (Rakugi et al., 1994).

Durch die Entwicklung von Angiotensin-II Konversionsenzym-Hemmern und Rezeptor-Antagonisten wurde das RAAS therapeutisch beeinflussbar. Seit der Entdeckung von Polymorphismen in den Genen für Renin, Angiotensinogen, dem Angiotensin-I-Konversionsenzym und den Angiotensin-II-Rezeptoren hat das RAAS in der molekularbiologischen Forschung an Bedeutung gewonnen. Die für diese Arbeit wichtigen Komponenten des RAAS werden im Folgenden vorgestellt.

## 2.1 Angiotensin-I-Konversionsenzym

Das Angiotensin-I-Konversionsenzym (ACE, CD143, Kininase II) ist eine  $Zn^{2+}$ -Dipeptidyl-Carboxypeptidase (Brown et al., 1998; Danilov et al., 1997; Dzau et al., 2001), die carboxyterminale Dipeptide unterschiedlicher Substrate mit geringer Spezifität abspaltet. Im menschlichen Körper wird ACE organ- und zellspezifisch exprimiert (Dzau et al., 2001). Es kommt überwiegend als transmembranes Protein von Endothelzellen, epithelialen und neoepithelialen Zellen sowie in löslicher Form im Blut mit geringerer Konzentration (<10%) und anderen Körperflüssigkeiten vor.

Nachdem durch Renin das physiologisch inaktive Dekapeptid Angiotensin I vom Prohormon Angiotensinogen abgespalten ist, entsteht daraus durch ACE das vasokonstriktorische Oktapeptid Angiotensin II. Synergistisch degradiert ACE vasodilatatorisch wirkendes Bradykinin, das durch Kalikrein aus Kininogen entsteht, durch sequentielle Entfernung zweier carboxyterminaler Enden zu metabolisch inaktiven Fragmenten. Bradykinin fördert die Vasodilatation u. a. durch Stimulation der Produktion von Arachidonsäure-Metaboliten, Stickstoffmonoxid und dem sog. „endothelium-derived hyperpolarisation factor“ (Baudin et al., 1997; Brown et al., 1998) und wirkt zudem anti-mitogen.

Die ACE-Serumkonzentration dient als Parameter bei der Diagnose der Sarkoidose (Lieberman, 1975) und als Verlaufsparemeter zur Beurteilung der Granulomlast, sie ist ebenfalls bei anderen Krankheiten wie etwa M. Gaucher, Diabetes mellitus, chronischer Berylliose und Mixed Connective Tissue Disease erhöht.

Abhängig von seiner zellulären Lokalisation und der lokalen Verfügbarkeit seiner multiplen Substrate wird ACE zunehmend als multifunktionales Enzym verstanden (Franke et al., 2003). Das humane Endothel zeigt antigene und funktionelle Heterogenität, die nicht nur zwischen verschiedenen Organen variiert, sondern auch z.B. innerhalb der pulmonalen Strombahn gefäßtypassoziierte molekülspezifische Expressionsmuster aufweist (Müller et al., 2002 a; Müller et al., 2002 b). ACE wurde histochemisch in der atherosklerotischen Plaque nachgewiesen (Ohishi et al., 1999); mit der Plaque-Progression steigt auch die ACE-Expression an (Ohishi et al., 1997).

## 2.2 Angiotensin-II

Angiotensin II ist ein Peptid-Hormon und hat eine physiologische Rolle bei der Regulation des Gefäßtonus und der Flüssigkeits-Homöostase, zusätzlich hat Angiotensin II trophische und mitogene Effekte auf glatte Gefäßmuskelzellen und andere Zelltypen. Angiotensin-II wirkt stark vasokonstriktorisch direkt auf glatte Gefäßmuskelzellen sowie indirekt über eine Interaktion mit dem peripheren und zentralen sympathischen Nervensystem. Es wirkt einem Blutdruckabfall durch Volumenvermehrung (infolge aldosteronvermittelter Natriumretention und renaler Vasokonstriktion) sowie über Flüssigkeitsretention (über antidiuretisches Hormon, ADH) entgegen (Brown et al., 1998).

Neue Befunde legen nahe, dass Angiotensin II gemeinsame Charakteristika mit klassischen Peptid-Wachstums-Faktoren hat. Beispiele sind Endothelial Growth Factor (EGF), Tumor Growth Faktor alpha (TGF-alpha), Platelet Derived Growth Factor (PDGF) und Insulin Growth Faktor 1 (IGF-1). Dazu kommen auto- und parakrine Eigenschaften zur lokalen Produktion und Stimulation der Tyrosin-Phosphorylierung, zur Aktivierung von Mitose aktivierenden Protein-Kinasen (MAP-K) und zur Expressions-Steigerung nukleärer Proto-Onkogene. Bei glatten Gefäßmuskelzellen kann Angiotensin II sowohl Hypertrophie als auch Hyperplasie bewirken (Meloche et al., 2000), teilweise abhängig von Faktoren, die entweder die Mitose stimulieren (PDGF, IGF-1, basic Fibroblast Growth Factor) oder inhibieren (TGF-beta).

### 3. Der Angiotensin Converting Enzym Insertion/Deletion Genpolymorphismus

Die Bedeutung dieses Gen-Polymorphismus für die medizinische Forschung wird an über 1300 in der Medline im April 2005 gelisteten Publikationen deutlich (OMIM Nr.: +106180). Hier sollen die für die vorliegende Untersuchung relevanten Ergebnisse dargestellt werden.

Die humane endothelale cDNA für das ACE wurde von Soubrier und Mitarbeitern untersucht (1988). Es zeigte sich, dass das Enzym als Folge einer Genduplikation aus zwei homologen und funktionell aktiven Domänen besteht. Die Organisation des humanen ACE Gens unterstützt diese Befunde (Hubert et al., 1991). Es existieren zwei Promoter-Regionen im ACE Gen, ein somatischer Promoter am 5' Ende von Exon 1 und einen germinaler, der am 5' Ende der spezifisch-testikulären mRNA lokalisiert ist. Der somatische Promoter ist in endothelialen, epithelialen und neuronalen Zellen, der germinale Promoter ist stadienabhängig nur in männlichen Keimzellen aktiv (Howard et al., 1990).

Allgemein wird angenommen, dass das ACE im Plasma aus somatischen Zellen stammt. Die interindividuelle Variationsbreite der ACE Plasmakonzentration beträgt 1 – 8. Dieser Befund ist gut reproduzierbar (Alhenc-Gelas et al., 1991). Die interindividuelle Variabilität und ihre Reproduzierbarkeit werden stark durch einen genetischen Effekt beeinflusst. In einer Familienstudie wurde eine Reproduzierbarkeit von 30% mit 70% Varianzaufklärung der ACE Plasmakonzentration bei der Parental- bzw. ersten Filialgeneration gezeigt (Cambien et al., 1988).

Die Funktion des ACE Gens auf dem langen Arm von Chromosom 17 (Region 17q23) bei der Kontrolle der ACE-Plasmakonzentration wurde anhand eines Gen-Polymorphismus erkannt. Es wurde eine 287 Basenpaare umfassende *alu* Sequenz im Intron 16 mit polymorphen Eigenschaften beschrieben (Rigat et al., 1990), die bei weiteren Untersuchungen als Marker diente. Die zwei verschiedenen Allele dieses Polymorphismus bestehen aus der An- bzw. Abwesenheit (Insertion/Deletion) dieser *alu* Sequenz. Daraus resultieren drei Genotypen, II und DD als die homozygoten Varianten für Insertion bzw. Deletion und der heterozygote Genotyp ID.

Der ACE I/D GP steht im Kopplungsungleichgewicht mit einem die ACE Plasmakonzentration bestimmenden Locus (Tiret et al., 1992). Merkmalsträger mit DD-Genotyp haben höhere ACE Plasmakonzentrationen als Individuen mit ID oder II-Genotyp (Rigat et al., 1990).

Cambien und Mitarbeiter (1992) berichteten über eine erhöhte Häufigkeit von DD-Merkmalsträgern bei Patienten mit Myokardinfarkt in einer Fall-Kontroll-Studie. In einer

prospektiven Studie konnten Lindpaintner und Mitarbeiter (1995) keinen Zusammenhang zwischen dem ACE I/D GP und ischämischen Herzerkrankungen nachweisen. Hingegen in einer Meta-Analyse, in die 3394 Patienten mit Myokardinfarkt und 5479 Kontrollen einbezogen wurden, wurde die Hypothese einer Assoziation des D-Allels mit einem Myokardinfarkt unterstützt (Samani et al., 1996).

Gardemann und Mitarbeiter (1998) untersuchten retrospektiv 2267 Männer und fanden einen Zusammenhang zwischen dem D-Allel mit koronarer Herzerkrankung bei Patienten unter 61,7 Jahren, nicht aber bei älteren. Nach Ausschluss von Patienten mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren, z.B. einem erhöhten Body-Mass-Index, zeigte sich eine noch stärkere Assoziation des D-Allels mit der koronaren Herzerkrankung.

Schachter und Mitarbeiter (1994) untersuchten im Fall-Kontroll-Design 338 Hundertjährige und verglichen die Ergebnisse mit einer Gruppe von Erwachsenen zwischen 20 und 70 Jahren. Der DD-Genotyp kam bei den Hundertjährigen überzufällig häufig vor.

Ohishi und Mitarbeiter (1993) berichteten über eine erhöhte, visuell eingeschätzte Restenose-Rate bei DD-Merkmalsträgern in einer Gruppe von 82 Patienten, die bei einem akuten Myokardinfarkt mit einer PTCA behandelt und angiographisch kontrolliert wurden. In mehreren darauf folgenden, quantitativ koronarangiographisch-kontrollierten, retrospektiven und prospektiven Studien wurde kein Zusammenhang zwischen der Restenose-Rate nach einfacher PTCA und dem ACE I/D GP gefunden (Hamon et al., 1995 a; Samani et al., 1995; Zee et al., 2001).

Amant und Mitarbeiter (1997) untersuchten die Restenose-Rate nach Stent-PTCA bei 146 Patienten. Sie zeigten, dass DD-Merkmalsträger eine mehr als doppelt so hohe Rezidivrate wie II-Merkmalsträger hatten. Dies legte eine Beteiligung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems bei der Pathogenese der In-Stent-Restenose nahe. In einer prospektiv angelegten Studie mit 1850 konsekutiven Patienten in Deutschland zeigte sich hingegen kein Zusammenhang der Restenose-Rate mit dem ACE I/D Genotyp (Koch, et al., 2000).

In Japan wurde in einer Studie mit 238 Patienten ein Zusammenhang zwischen DD-Merkmalsträgern und der In-Stent-Restenose festgestellt (Ryu et al., 2002). Anzumerken ist, dass in der Restenose-Gruppe die Diabetes-Häufigkeit erhöht war.

In einer Studie von Ribichini und Mitarbeitern (2004) zeigte erst sich nach Ausschluss von Diabetikern und Patienten mit akutem Myokardinfarkt bei den verbliebenen 632 Patienten bei DD-Merkmalsträgern eine erhöhte In-Stent-Restenose-Rate: DD: 31.7%, ID: 24.3%, II: 17.6%,  $p=0.02$  (DD versus non-DD OR=1.57, 95% CI: 1.09-2.25). Klinische Einflussfaktoren, nicht die

Größe des untersuchten Kollektivs, haben bei dieser Studie den Zusammenhang zwischen Rezidiv und Genotyp moduliert.

Durch hoch auflösende, quantitative Ultraschalltechnik ist es möglich, die Intima-Media-Dicke (engl.: Intima-Media-Thickness, IMT) zu bestimmen. Dieses Verfahren wurde zur Messung des arteriellen Remodeling-Prozesses, sowie zur Darstellung der Atherosklerose im asymptomatischen Stadium und ihrer Progression genutzt. Strukturell-vaskuläre Veränderungen konnten bei Kindern von Koronar-Patienten, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten, nachgewiesen werden (Cuomo et al., 2002).

Abhängig von der Lokalisation im Gefäßbaum und dem genetischen sowie ethnischen Hintergrund der 188 teilnehmenden Personen zeigten Balkestein et al. (2001) einen Zusammenhang der IMT mit dem ACE I/D Polymorphismus für die A. femoralis. In dieser Untersuchung bestand jedoch kein Zusammenhang zwischen der IMT und ACE I/D GP für die A. carotis.

#### 4. Zur Biomechanik

Die Eigenschaften atherosklerotischen Gewebes unter Druckeinwirkung für verschiedene Zeitintervalle wurden von Kaltenbach und Mitarbeitern untersucht (1984). Die Morphologie der verwendeten Plaques wurde mittels Standard-Histologie dokumentiert, Plaques wurden nach lipidreich und fibrosiert klassifiziert.

Bei Anwendung der gleichen Last und der gleichen Belastungsdauer auf verschiedene Proben zeigte sich, dass lipidreiche Plaques (17% Flüssigkeitsverlust) eine größere Volumenreduktion aufwiesen als fibrosierte Plaques (11% Flüssigkeitsverlust). Die maximale Reduktion des Plaquevolumens stellte sich nach einer Belastungsdauer von 60 Sekunden ein.

Es zeigte sich, dass fibrotische Plaques regelmäßig horizontale Fissuren oder Rupturen aufwiesen. Lipidreiche Plaques hingegen zeigten selten horizontale Fissuren, Rupturen traten bei diesen Proben überhaupt nicht auf.

Diese Ergebnisse weisen auf ein Verfahrens- und zusammensetzungsabhängiges Verhalten verbunden mit unterschiedlicher mechanischer Stabilität der atherosklerotischen Plaque hin, wenn sie einer Belastung ausgesetzt wird. Es handelt sich hierbei um *in vitro* Befunde, die nur eingeschränkt auf die *in vivo* Situation übertragbar sind.



## 5. Die perkutane koronare Ballon-Angioplastie

Das erste perkutane Behandlungsverfahren zur minimal-invasiven Rekanalisation arteriosklerotischer Gefäßstenosen wurde von Dotter und Judkins (1964) entwickelt (Zeitler et al., 1971). Sie führten koaxiale rigide Dilatatoren mit zunehmendem Durchmesser bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit über Arterienstenosen der unteren Extremität vor und weiteten so das stenosierte arterielle Lumen auf. In den späten 60er und Anfang der 70er-Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts hatte diese Technik einen festen Platz mit hohem Stellenwert bei der symptomatischen Behandlung peripherer Gefäßstenosen.

Die Technik wurde von Grüntzig modifiziert und entscheidend verbessert. Er verwendete anstelle der steifen Dilatatoren einen Katheter, an dessen Spitze sich ein aufblasbarer Ballon aus Polyvinylchlorid befand. Der Ballon wurde im nicht-enfalteten Zustand über die Stenose geführt und durch ein Kontrastmittel bis zum Erreichen eines vorgegebenen Umfangs gedehnt (Grüntzig et al., 1979a).

Die erste perkutane koronare Ballon-Angioplastie wurde 1977 durchgeführt (Grüntzig et al., 1979b). Simpson entwickelte 1982 hierzu eine weitere technische Verbesserung, indem er über ein separates Katheter-Lumen einen Führungsdraht verwendete, der unabhängig vom Katheter bewegt und an der Spitze gebogen werden konnte. Somit war eine Steuerungsmöglichkeit gegeben und der Katheter konnte ausgewechselt werden, während der Führungsdraht im koronaren Arterienlumen verblieb (Simpson et al., 1982).

Durch technische Fortentwicklung wurden die Katheter zunehmend miniaturisiert, ihre Gleitfähigkeit verbessert und der maximale Belastungsdruck erhöht.

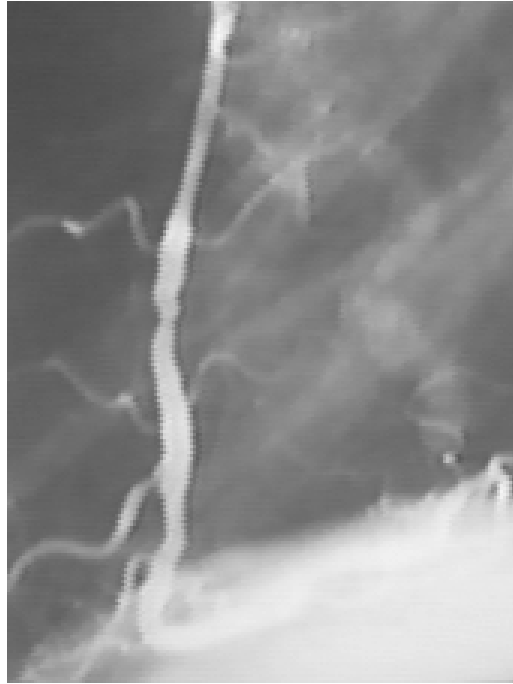
Die primäre Erfolgsrate der einfachen PTCA liegt bei über 90% (Stammen et al., 1991). Eine PTCA wird dann als erfolgreich angesehen, wenn der Stenosegrad nach der Intervention weniger als 50% des Referenzdurchmessers beträgt und keine Flussbehindernden oder peripheren Komplikationen, wie z.B. Dissektionen der Intima, Embolien distal vom behandelten Gefäßsegment, Kontrastmittelunverträglichkeit oder an der Punktionsstelle auftreten.



Abb. 1: Rechte Herzkranzarterie in LAO-Projektion, ID-Genotyp, 12 bar, 60 s (MP/LT-PTCA) vor PTCA.



Abb. 2: Rechte Herzkranzarterie in LAO-Projektion, ID-Genotyp, 12 bar, 60 s (MP/LT-PTCA) während Balloninsufflation.



*Abb. 3: Rechte Herzkranzarterie in LAO-Projektion, ID-Genotyp, 12 bar, 60 s (MP/LT-PTCA) nach PTCA.*

## 6. Zur Pathogenese der Restenose nach koronarer Ballon-Angioplastie

Die wachsende Erfahrung im Umgang mit und der technische Fortschritt bei der perkutanen koronaren Ballon-Angioplastie resultieren in einer hohen primären Erfolgsrate mit geringen Komplikationen (Baim, 1988). Die Rezidivrate nach einfacher PTCA beträgt ca. 30-50% (Ruocco et al., 1992). In einer multivariaten Analyse wurde das Auftreten einer Rezidivstenose als unabhängiger Prädiktor der Langzeitmortalität identifiziert (Espinola-Klein et al., 1998). Als wesentliche Risikofaktoren für eine Restenose wurden residuale Stenosen nach PTCA von mehr als 30%, hochgradige Stenosen vor der PTCA, instabile Angina pectoris Symptomatik sowie Diabetes mellitus identifiziert (Rupprecht et al., 1990). Die Restenose tritt klinisch in der Regel durch erneute Angina pectoris Symptomatik in Erscheinung.

Die exakten biologischen Mechanismen, die zur Erhaltung des Koronarlumens nach der Intervention führen sind nicht vollständig geklärt. Histopathologische Untersuchungen an Koronararterien von Patienten nach PTCA sind limitiert, können aber dennoch bei Aufklärung grundlegender pathophysiologischer Vorgänge hilfreich sein (Waller, 1989).

In biologischen Systemen, insbesondere bei Säugetieren, gilt, je größer die Wundheilungsreaktion, umso beträchtlicher ist die Verletzung (Clark, 1988). Für die Pathogenese der Restenose sind unterschiedliche Mechanismen postuliert worden, dazu gehören die bereits früh nach der Intervention auftretenden elastischen Rückstellkräfte (engl.: elastic recoil), der Koronar-Spasmus, die akzelerierte Atherogenese und die intimale Hyperplasie (Schwartz et al., 1992; Waller et al., 1991).

Letztere scheint die am ehesten zutreffende Ursache zu sein und spiegelt wahrscheinlich eine überschießende Wundheilung nach der Interaktion zwischen Dilatationsballon und Atherom bzw. Gefäßwand wider. Um effektiv zu sein, also um den luminalen Durchmesser und damit den Blutfluss vergrößern zu können, muss der Angioplastie-Ballon oder ein anderes Hilfsmittel eine Verletzung verursachen. Die Wundheilungsreaktion auf diese Verletzung wird für die Restenose verantwortlich gemacht (Myler et al., 1992).

## 6.1 Zur Restenoseformierung

Die lichtmikroskopischen Eigenschaften einer primären atherosklerotischen Plaque und einer Läsion als Äquivalent einer Restenose unterscheiden sich deutlich. Während primäre Plaques meist hypozellulär sind und aus geordneten Kollagen-Fibrillen in einer extrazellulären Matrix bestehen, haben Restenose-Läsionen einen hyperzellulären Focus. Die Zellen in diesen Foci haben die phänotypischen Charakteristika proliferierender glatter Gefäßmuskelzellen; die sie umgebende extrazelluläre Matrix ist, verglichen mit der einer primären Plaque typischerweise heller angefärbt und weniger kompakt (Isner, 1993). Anzumerken ist, dass Material, das aus einer Restenose gewonnen wird, nach einem kürzeren Zeitraum nach einem akuten Trauma, in der Regel einige Monate nach der Angioplastie, abgetragen wird als Material aus primären Läsionen. Bei letzteren wird eine kontinuierliche Schädigung der Gefäßwand über einen langen Zeitraum angenommen. Dies hat zur kontroversen Diskussion darüber geführt, primäre und Restenose-Läsionen als ein Kontinuum im pathogenetischen Gefüge der Atherosklerose anzusehen (Banai et al., 2001).

Das Auftreten einer Restenose nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie ist ein multifaktorieller Prozess, der als eine überschießende Wundheilungsreaktion verstanden werden kann. Das Endothel der Koronararterie wird während der Ballondilatation teilweise zerstört und der darunter liegende arteriosklerotische Plaque wird aufgerissen. Die Tunica media kann bei diesem Vorgang teilweise eingerissen oder abgelöst werden. Es kommt zum funktionellen oder anatomischen Verlust des Endothels und zur Exposition der extrazellulären Matrix gegenüber dem Blutstrom. An dieser verletzten Oberfläche haften Thrombozyten und es bildet sich ein Thrombus. Nun folgt die Wundheilung, die in 3 verschiedene, konsekutive Phasen eingeteilt wird. In der ersten Phase, die bis ca. 10 Tage nach der Intervention andauert, werden Wachstumsfaktoren freigesetzt und es treten Entzündungszellen auf. Durch diese werden in der zweiten Phase, etwa ab dem dritten Tag bis zu einem Monat nach der Dilatation, die glatten Muskelzellen der Media zur Proliferation und Emigration in die Intima angeregt. In der dritten Phase, ab der zweiten Woche bis zu einigen Monaten kommt es durch Hyperplasie und Hypertrophie der glatten Gefäßmuskelzellen sowie der Produktion extrazellulärer Matrix zur Bildung einer Neo-Intima. Dieser Prozess kann dann zur Restenose führen (Bauriedel, 1994; Lange et al., 1993; Libby et al., 1992).

Ein zweites Phänomen, das zur post-interventionellen Lumenverringerng nach einfacher PTCA beiträgt, ist eine Verminderung des äußeren Gefäßaußendurchmessers, das Remodeling.

## 6.2 Aspekte der Ballon-Gefäß-Interaktion während PTCA

Interventionelle Verfahren, die das koronare Lumen wiederherstellen, tun dies, indem sie die atherosklerotische Plaque, den Thrombus oder beide aus dem Lumen verdrängen. Dies geschieht bei der Ballon-Angioplastie durch Aufbrechen oder Zersplittern. Das koronare Lumen wird bei exzentrischen Plaques durch Dehnung der gesunden Gefäßwand oder bei konzentrischen Plaques des gesamten Gefäß-Querschnittes wiederhergestellt.

Zunächst wurde angenommen (Dotter und Judkins, 1964, Grüntzig, 1978) dass der Erfolg der Angioplastie auf Kompression und Neuverteilung des intimalen Plaque-Materials beruhe, indem die Plaque bei Ballon-Insufflation gegen die Arterienwand gedrückt werde. Der größte Anteil humaner atherosklerotischer Plaques besteht jedoch aus dichtem, fibro-kollagenösem Bindegewebe mit unterschiedlichen Mengen von Kalkablagerungen (harte Plaque) und geringeren Mengen intra- und extrazellulärer Lipide (weiche Plaque). Es ist somit unwahrscheinlich, dass die Kompression der Plaque eine so große Rolle bei der Dilatation spielt (Waller und Anderson, 2002).

Die Ergebnisse experimenteller Modelle legen nahe, dass Brechen und Zersplittern von Plaques wichtige Vorgänge bei der initialen und persistierenden Aufweitung des Gefäßdurchmessers humaner Koronar-Arterien sind. Das Aufbrechen der Plaque, intimale Einrisse und Dissektionen der Media wurden als Hauptmechanismen des Traumas bei der Dilatation beschrieben (Waller et al., 1983).

Bei exzentrischen atherosklerotischen Läsionen scheint die Dehnung der gesunden, plaque-freien Gefäßwand von Bedeutung zu sein. Die Aufdehnung einer exzentrischen Stenose dehnt und streckt das gesunde Wandsegment, hat aber wenig oder keinen Einfluss auf die Plaque. Dies führt initial möglicherweise zu einer Vergrößerung des koronaren Lumens, nach einigen Tagen oder Wochen kommt es durch Relaxation des überdehnten Segments zur erneuten Reduktion des Gefäßdurchmessers auf das prä-Interventions Niveau (Waller und Anderson, 2002).

Auch technische Besonderheiten tragen zum Trauma bei Angioplastie bei. Bei einem mit zu groß gewähltem (engl.: over-sized) Angioplastie-Ballon kommt es zu einer Kombination von Überdehnung und Plaque-Kompression des gesamten Koronar-Segments (Waller und Anderson, 2002).

### 6.3 Glatte Gefäßmuskelzellen

Im Folgenden werden drei Phasen der Antwort der glatten Gefäßmuskelzelle auf das Trauma der Angioplastie dargestellt. Diese Zellen sind vielfältig an der Pathogenese der Restenose beteiligt und werden als häufigster Zelltyp in der Neo-Intima angetroffen (Isner et al, 1995).

Sie produzieren Wachstumsfaktoren, die ihrerseits die Restenose-Bildung fördern (Schwartz et al., 1995a) und sind primäre Quelle für Matrix-Proteine, die einen Großteil des Volumens der Neo-Intima ausmachen (Meyers, 1995).

Es besteht wissenschaftlicher Konsens darüber, dass in der Media von gesunden Arterien unterschiedliche Phänotypen von glatten Muskelzellen vorkommen (Schwartz et al., 1995b). Es wird kontrovers diskutiert, ob diese unterschiedlichen Phänotypen eine Entdifferenzierung vom kontraktilen zum synthetisierenden Phänotyp oder unterschiedliche Zell-Linien repräsentieren (Lindner et al., 1991, Schwartz et al., 1995b; Ueda et al., 1995). In der nicht-verletzten Gefäßwand prädominieren Zellen vom kontraktilen Phänotyp, es können ebenfalls Zellen ohne die charakteristischen Proteine des kontraktilen Phänotyps identifiziert werden. (Frid et al., 1994).

In der Intima kommen der kontraktile und synthetisierende Phänotyp abhängig vom Alter der Läsion häufig vor (Clowes et al., 1987; Schwartz et al., 1995a). Nach einer Gefäßverletzung ist die Anzahl der Zellen vom synthetisierenden Phänotyp erhöht, entweder durch Entdifferenzierung oder verbesserte Wachstumsbedingungen für die synthetisierende Zell-Linie (Chen et al., 1997). Die für den kontraktilen Phänotyp zelltypisches Actin nicht exprimierenden Zellen vom synthetisierenden Phänotyp produzieren Wachstumsfaktoren, die eine wichtige Rolle bei der Proliferation der Neo-Intima spielen können (Schwartz et al., 1995a). Dieser Phänotyp wird in humanen Koronar-Arterien bereits zwei Tage nach der Intervention beobachtet (Frid et al., 1994). Die Gefäßverletzung verursacht weitere konsekutive, zeitlich sich überlappende Vorgänge in den glatten Gefäßmuskelzellen der Media. Die erste Phase ist die Proliferation (Clowes et al., 1983), im Tiermodell (Ratte und Kaninchen) kommt diese frühe Proliferation in 20-40% vor (Wilenski et al., 1995). Aus der Untersuchung von Atherektomie-Präparaten gewonnene Daten legen nahe, dass bei humanen Zellen diese initiale Proliferation schwächer ausgeprägt ist (O'Brien et al., 1993).

Dann folgt eine Migrationsphase der glatten Gefäßmuskelzellen. Der exakte Herkunftsort der in die Intima migrierten Zellen wird kontrovers diskutiert; tierexperimentelle Daten legen nahe,

dass diese Zellen aus der unverletzten Media in der Umgebung der Läsion und nicht aus ihr selbst stammen (Muhlestein et al., 2002).

Die dritte Phase der Antwort auf das Trauma durch die glatten Gefäßmuskelzellen besteht in der Proliferation der Intima und extrazellulärer Matrix-Bildung. In allen Tiermodellen findet die Proliferation hauptsächlich an der luminalen Oberfläche statt (Clowes et al., 1986; Wilensky et al., 1995). Der zeitliche Verlauf der Proliferation variiert stark zwischen unterschiedlichen Spezies.

#### 6.4 Endothelzellen

Wenn im Rattenmodell die Endothelzellschicht nur leicht zerrissen ist oder nach dem Trauma eine frühe Re-Endothelialisierung auftritt, ist die intimale Hyperplasie vermindert (Clowes et al., 1987; Tada et al., 1987). Es ist nicht bekannt, ob die verminderte Hyperplasie eine Folge der geringen Schädigung der glatten Gefäßmuskelzellen, der Wiederherstellung der Barrierefunktion des Endothels oder der wachstumsinhibierenden Endothelfunktion in diesem Modell ist. Die Re-Endothelialisierung scheint nicht der einzige die Hyperplasie limitierende Faktor zu sein, auch ohne neues Endothel ist die Intima-Hyperplasie nach ca. drei Monaten beendet (Hamon et al., 1995 b).



## 7. Fragestellung

Die Bedeutung des D-Allels des ACE Insertions/Deletions Genpolymorphismus, insbesondere in homozygoter Ausprägung (DD), für kardiovaskuläre Erkrankungen wird kontrovers diskutiert, der Zusammenhang der ACE-Konzentration im Plasma mit dem GP ist reproduzierbar (Rigat et al., 1990). Bei Personen mit verschiedenen ACE I/D Genotypen zeigen sich differierende Eigenschaften unterschiedlicher Abschnitte des Gefäßbaums (Balkestein et al., 2001). Im Tierexperiment wurden von Challah und Mitarbeitern (1998) in Abhängigkeit von einem Polymorphismus im ACE-Gen unterscheidbare Gefäß-Reaktionen auf Ballon-induzierte Läsionen beobachtet. Dieser Polymorphismus war in gleicher Weise wie der ACE I/D Polymorphismus mit der ACE-Plasmakonzentration korreliert. Es stellt sich die Frage, ob bei der PTCA unterschiedliche, mit dem ACE I/D-Genotyp in Zusammenhang stehende, Gefäßeigenschaften eine Rolle spielen, die die Restenose-Bildung begünstigen.

Aktuelle Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen dem ACE I/D GP und der Restenose-Rate nach Stent-Implantation (Ryu et al., 2002), jedoch nicht bei einfacher PTCA (Zee et al., 2001). Die Kombination aus Insufflationsdruck und -zeit der einfachen Ein-Gefäß-PTCA ohne Komplikationen und ein möglicher Zusammenhang mit der Rezidivrate bei Merkmalsträgern der verschiedenen ACE I/D Genotypen wurde bisher nicht untersucht und ist Gegenstand dieser retrospektiven Arbeit.

Untersucht wurden folgende Fragestellungen:

1. Gibt es im untersuchten Kollektiv einen Zusammenhang zwischen dem ACE I/D GP und der Restenose nach PTCA?
2. Können mittels der bei der PTCA angewandten Insufflationsdrucke und -zeiten bei Merkmalsträgern unterschiedlicher ACE Genotypen hinsichtlich der Restenose-Rate Unterschiede identifiziert werden?
3. Gibt es Unterschiede im Risikofaktoren-Profil des untersuchten Kollektivs?

4. Ist aus den vorhandenen Daten in einer post hoc Analyse ein Hinweis für die Vorgehensweise zur Ermittlung einer Vorhersagewahrscheinlichkeit für eine Restenose zu entwickeln?

## 8. Patienten, Material und Methoden

### 8.1 Patienten

In den Jahren 1986 bis 1991 wurden in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. Dr. B. Lüderitz) 780 perkutane Koronar-Angioplastien durchgeführt. Alle Eingriffe wurden im Herzkatheter-Labor der Universitätsklinik durchgeführt, die Patienten wurden vor der Intervention über Nutzen und Risiken aufgeklärt. Es lag eine schriftliche Einverständniserklärung vor jeder Intervention vor.

Bei 231 Patienten (29,6%) wurde aus unterschiedlichen Indikationen reangiographiert. Neun weitere ebenfalls in die Studie inkludierte Patienten wurden von 1992 bis 1994 behandelt und reangiographiert. Die Patienten wurden anhand ihrer in der Krankenakte dokumentierten Diagnose identifiziert.

Alle Teilnehmer wurden schriftlich zur Blutentnahme eingeladen und gaben ihr Einverständnis zur genetischen Bestimmung bei einem ambulanten Besuch der Klinik. Von 200 eingeladenen Patienten wurden 61 (52 Männer 42 -72 Jahre;  $56,8 \pm 15,3$  Jahre, 9 Frauen 49-71 Jahre;  $58,6 \pm 17,4$  Jahre; jeweils Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) in die Studie aufgenommen.

Klinische Daten wurden aus der Krankenakte und durch standardisierte Anamneseerhebung mittels eines Fragebogens erhoben. Zusätzlich wurden die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (ventrikulographische Bestimmung), Begleiterkrankungen und Medikamenteneinnahmen erfasst. Neben der klassischen Symptomatik der koronaren Herzkrankheit wurde bei der Befragung der Patienten ein besonderes Augenmerk auf andere Herz-Kreislauf-Erkrankungen, sowie weitere internistische, neurologische, genetische und Infektionskrankheiten gelegt.

### 8.2 Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden Patienten nach elektiver erfolgreicher Ein-Gefäß-PTCA einer primären Läsion mit zum Zeitpunkt der Intervention stabiler Angina pectoris Symptomatik, die innerhalb eines Jahres aus unterschiedlichen Indikationen reangiographiert wurden.

Ausschlussgründe waren eine Akut-PTCA, eine Mehrgefäß-PTCA, eine Stent-Einlage oder eine Komplikation während der ersten PTCA, eine schwerwiegende Zweit-Erkrankung, wie Malignom, andere internistische, neurologische Erkrankung oder Infektion.

Diabetes mellitus, essentielle arterielle Hypertonie, Myokardinfarkt in der Anamnese, Nikotin-Konsum oder eine Hyperuricämie stellten kein Ausschlusskriterium dar.

### 8.3 Quantitative Koronarangiographie

Ein Verlust von 50% oder mehr des ursprünglich erzielten Gefäßdurchmessers wurde als Restenose definiert und durch visuelle Einschätzung erfahrener, invasiv tätiger Kardiologen dokumentiert bzw. quantitativ mittels CAAS II (Cardiovascular Angiography Analysis System II, Pie Medical Imaging B.V., Maastricht, Niederlande) offline ausgewertet. Auf der Basis eines automatisierten Edge-Detection Algorithmus wurden für alle Läsionen Bilder identischer Projektion (LAO) verwendet und der minimale lumenale Durchmesser, der Referenz-Durchmesser und der Stenosegrad in % berechnet.

### 8.4 DNA-Isolierung aus Vollblut

Die venöse Blutentnahme erfolgte bei allen Patienten morgens nach nächtlicher Nahrungskarenz. Genomische DNA wurde aus Zitrat- oder EDTA Vollblut mit dem QIAamp®-DNA-Blood-Kit (QIAGEN GmbH; Hilden, Deutschland) isoliert und in Aqua bidest. (dH<sub>2</sub>O) eluiert. Die molekularbiologischen Präparationen und die PCR wurden im Institut für Neuropathologie der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität (Direktor: Prof. Dr. med. Ottmar Wiestler) durchgeführt.

Zunächst wurden 200µl Vollblut mit 25µl Qiagen Proteinase und 20µl Lyse-Puffer in ein Eppendorf-Gefäß gegeben und mit einem Vortex-Gerät für 15 sec gemischt. Anschließend wurde für 10 min bei 70°C im Wasserbad inkubiert. Nach Zugabe von 210µl Ethanol (96%, pro analysi) und erneutem Mischen wurde das Lysat auf eine QIAamp-Spin-Säule, die sich in einem sterilen Auffanggefäß befand, gegeben und 1min bei 6000x g zentrifugiert. In zwei Schritten wurden je 500µl Wasch-Puffer auf die Säule gegeben und erneut 1 bzw. 3min. bei 6000x g zentrifugiert. Zur Eluation der DNA wurden 200µl 70°C warme Eluations-Puffer-Lösung zugegeben, 1min. bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend 1min. zentrifugiert. Die DNA wurde nach photometrischer Bestimmung der Konzentration auf 50ng/µl mit dH<sub>2</sub>O verdünnt und bis zur Verwendung bei -80°C aufbewahrt.

## 8.5 Polymerase Kettenreaktion

Das Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde von Mullis und Mitarbeitern (1986) erstmals beschrieben und basiert auf der selektiven Amplifikation eines in seiner Basen-Abfolge bekannten Abschnittes der Erbsubstanz. Durch Anlagerung eines Primer-Paares an jeweils einen Abschnitt der denaturierten DNA Doppelstranges wird selektiv mittels Taq DNA Polymerase die zu untersuchende Basensequenz amplifiziert.

Zuerst wird der DNA Doppelstrang durch Wärme denaturiert. Dann, nach Verringerung der Temperatur, kommt es zur Anlagerung der Primer an ihre spezifischen komplementären Basensequenzen (Annealing). Durch Einstellung des Temperaturoptimums der Taq Polymerase wird die nun folgende Verlängerung des komplementären DNA Stranges begünstigt. Danach beginnt ein neuer Zyklus. Durch multiple Wiederholung der einzelnen Schritte der Reaktion können DNA Fragmente in so großer Anzahl synthetisiert werden, dass deren Darstellung im UV-Licht durch Färbung mit Ethidiumbromid und Trennung mittels Agarose Gelelektrophorese möglich wird.

Die Bestimmung des ACE I/D Genotyps wurde nach der Methode von Rigat und Mitarbeitern (1992) durchgeführt. Das I-Allel stellt sich aufgrund seiner Größe schlechter als das D-Allel dar, es könnte also der Genotyp ID fälschlicherweise als DD erscheinen. Daher wurde zur Kontrolle eventueller Fehlbestimmungen heterozygoter Merkmalsträger in einer zweiten Reaktion ein zweites, Insertions-spezifisches, Primer Paar verwendet und alle DD Genotypen mit dem von Shanmugam und Mitarbeitern (1993) beschriebenen Verfahren kontrolliert.

Die Reaktionsgefäße wurden in einen Thermocycler (Eppendorf Master Gradient) überführt. Die einzelnen Zyklen hatten folgende Dauer und Temperatur:

<i>Zyklen</i>	<i>Temperatur</i>	<i>Dauer</i>
1) Denaturierung	94°C	10 Minuten
2) Denaturierung	94°C	30 Sekunden
3) Anlagerung der Primer	56°C	60 Sekunden
4) Extension	72°C	120 Sekunden
5) Extension	72°C	10 Minuten

Tabelle 1: *Dauer und Temperatur der PCR-Zyklen.*

Ansatz pro Tube: dNTP: 1µl, MgCl<sub>2</sub>: 1,5 µmol/l: 1µl, Primer: je 0,5µl, dH<sub>2</sub>O: 5,95µl, Taq/PFU: 0,05µl, Gesamtvolumen 10µl. Es wurden 36 Zyklen durchgeführt. Die Proben wurden bis zur weiteren Verwendung bei 4°C gelagert.

	<i>Sequenz</i>
ACE I/D Genpolymorphismus	5` GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3` 5` CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3`
Insertionsspezifisches Primer Paar	5` TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC 3` 5` TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA 3`

Tabelle 2: *Sequenzen der Primer-Paare für den ACE I/D GP und das Insertions-spezifische Primer Paar.*

## 8.6 Elektrophorese

Die PCR-Produkte wurden mit 2µl Ladebuffer vermischt und in die Taschen eines 1,5 % Agarose-Gel (Qualex Gold Agarose, HYBAID GmbH) eingebracht. Die in TEE Puffer (Trizma®Base, Taurin, Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat) gelöste Gelmatrix wurde zur Visualisierung der Reaktionsprodukte mit Ethidiumbromid versetzt. Zur Auswertung wurden kommerziell erhältliche Längen-standardisierte DNA-Fragmente (100 base pair ladder, Roche Diagnostics GmbH Mannheim) aufgetragen. Die PCR-Produkte wurden mittels 15 Minuten Elektrophorese (Bio Rad PowerPac300) bei 180 Volt und 100 mA getrennt und im UV-Licht fotografiert. Das D-Allel stellt sich als 190 bp und das I-Allel als 490 bp Bande dar.

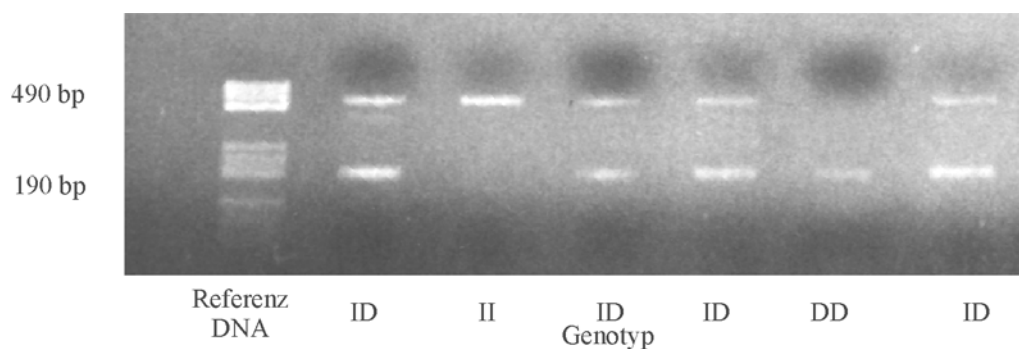


Abb. 4: *Fotografie repräsentativer PCR Ergebnisse auf einem 1,5% Agarose-Gel (Färbung mit Ethidiumbromid).*

## 8.7 Statistik

Die Berechnungen wurden mit dem SPSS Softwarepaket Version 12.0.1 (Statistical Package for the Social Sciences, ©SPSS Inc.) für Microsoft Windows durchgeführt.

Untersucht wurden Zusammenhänge zwischen den Bedingungen der perkutanen koronaren Ballonangioplastie, d.h. der Kombination aus Insufflationsdruck und -zeit mit der Rezidivrate bei Merkmalsträgern der verschiedenen ACE Insertion/Deletion Genotypen. Der Nullhypothese zufolge besteht bei unterschiedlichen ACE I/D Genotypen kein Zusammenhang zwischen den Bedingungen der PTCA und dem Auftreten eines Rezidivs. Die Alternativhypothese beinhaltet konditional, dass bei verschiedenen ACE I/D Genotypen zwischen den Bedingungen der PTCA mit der Restenose ein Zusammenhang besteht.

Das Vorgehen bei der PTCA wurde retrospektiv anhand der häufigsten Kombination von Insufflationszeit und -druck auf zwei Kategorien verteilt.

1. Unterschreitung von 6 bar Insufflationsdruck und 60 Sekunden Insufflationszeit im maximalen Schritt der Dilatation wurde als Low pressure/ Short inflation time (LP/ST) PTCA und
2. Anwendung oder Überschreitung von 6 bar oder 60 Sekunden im maximalen Schritt wurde als Moderate pressure/Long inflation time (MP/LT) PTCA definiert.

Die Patienten wurden unter der Annahme eines Risiko-Effektes des D-Allels anhand ihrer ACE I/D Genotypen auf zwei Gruppen verteilt. Die erste Gruppe wurde DD benannt und umfasst die DD Merkmalsträger. Die zweite Gruppe besteht aus Merkmalsträgern mit den Genotypen ID und II und wurde nonDD benannt.

Die Vierfeldertafeln zur Ermittlung von Zusammenhängen zwischen den unterschiedlichen ACE I/D Genotypen, Risikofaktoren sowie LP/ST bzw. MP/LT PTCA und der Bildung einer Restenose wurden mit dem Chi-Quadrat ( $\chi^2$ ) Test nach Pearson und Fisher's exaktem Test geprüft. Als Maß der Risikoschätzung nominaler und ordinaler Größen wurde die „*odds ratio*“ (OR) verwendet.

Daten aus der Quantitativen Koronar-angiographischen Analyse sowie die Insufflationszeiten und -drucke wurden auf Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest geprüft. Mittelwerte stetiger, normalverteilter Merkmale wurden mit dem Student-T-Test, nicht normal verteilte Merkmale mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen.

Zur explorativen post hoc Untersuchung der Vorhersagewahrscheinlichkeit für ein Rezidiv wurde die binäre logistische Regression eingesetzt. Hierbei stellten Insufflationsdruck und -zeit



die unabhängigen Variablen, die Zugehörigkeit zum jeweiligen ACE I/D Genotyp die Gruppenvariable und die Bildung einer Restenose die abhängige Variable dar. Die Berechnung wurde für die gesamte Untersuchungsgruppe und getrennt für die DD und die nonDD Gruppe durchgeführt.

Mittels Receiver Operating Characteristics (ROC) Kurven mit Restenose als Zustandsvariable wurden die Cut-Off Werte für Insufflationsdruck und -zeit ermittelt.

Die Prüfung erfolgte zweiseitig, das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

## 9. Ergebnisse

### 9.1 Deskriptive Statistik

Es wurden 61 Patienten (52 Männer 42 -72 Jahre;  $56,8 \pm 15,3$  Jahre, 9 Frauen 49-71 Jahre;  $58,6 \pm 17,4$  Jahre; jeweils Mittelwert und Standardabweichung) mit stabiler Angina pectoris und primärer Läsion eingeschlossen und der ACE I/D Genotyp bestimmt.

Bei 39 (63,2%) Patienten wurde eine Restenose dokumentiert. Die Genotypen verteilten sich wie aus Tabelle ersichtlich. Die Frequenzen für die einzelnen Genotypen betragen 0,05 für II, 0,59 für ID und 0,36 für DD, die Allel-Frequenz für das D-Allel 0,655, für das I-Allel 0,345, vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht wurde abgewichen ( $\chi^2=5,741$ ;  $df=1$ ;  $p<0,025$ ).

Die häufigsten Werte für Druck und Zeit (s. Abb.) im maximalen Schritt der PTCA waren 6 bar (4 – 13 bar) und 60 s (30 – 120 s). Es wurden 24 Cinefilme (35mm) von 10 Patienten mittels CAAS ausgewertet.

	<i>Genotypen</i>		
	<b>non-DD</b>	<b>DD</b>	<i>gesamt</i>
keine Restenose	14	8	22
Restenose	25	14	39
<i>gesamt</i>	39	22	61

Tabelle 3: Verteilung der DD- und nonDD-Gruppe mit und ohne Restenose.

<b>Gefäß</b>	<b>Genotypen</b>				<b>Restenose DD-Genotyp</b>		
	<b>II</b>	<b>ID</b>	<b>DD</b>	<b>gesamt</b>	<b>ja</b>	<b>nein</b>	<b>gesamt</b>
ACVB	0	0	1	1	1	0	1
LAD	2	24	14	40	6	8	14
RCA	1	8	5	14	1	4	5
RCX	0	4	2	6	0	2	2
<i>gesamt</i>	3	36	22	61	8	14	22

Tabelle 4: Verteilung der Gefäße bei den einzelnen Genotypen.

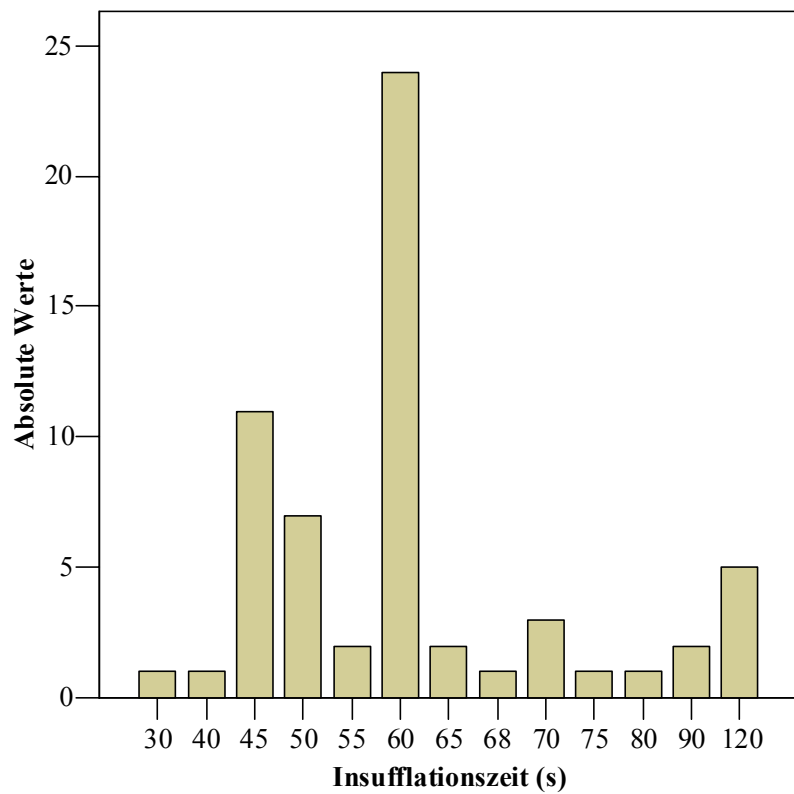
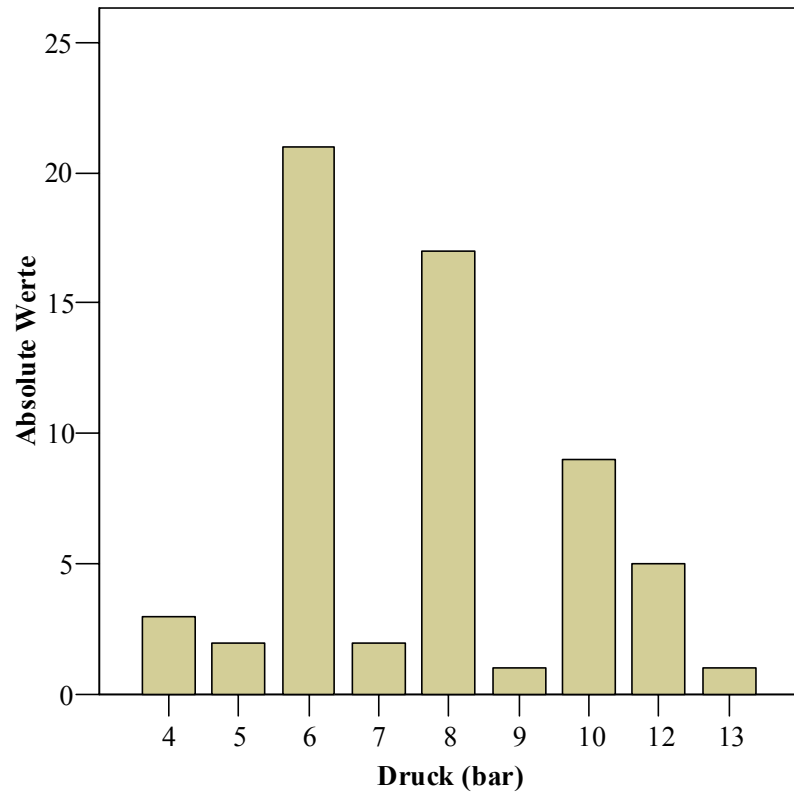


Abb. 5: Balkendiagramme; Kumulative Häufigkeit der verwendeten Insufflationsdrücke und -zeiten.

## Boxplots

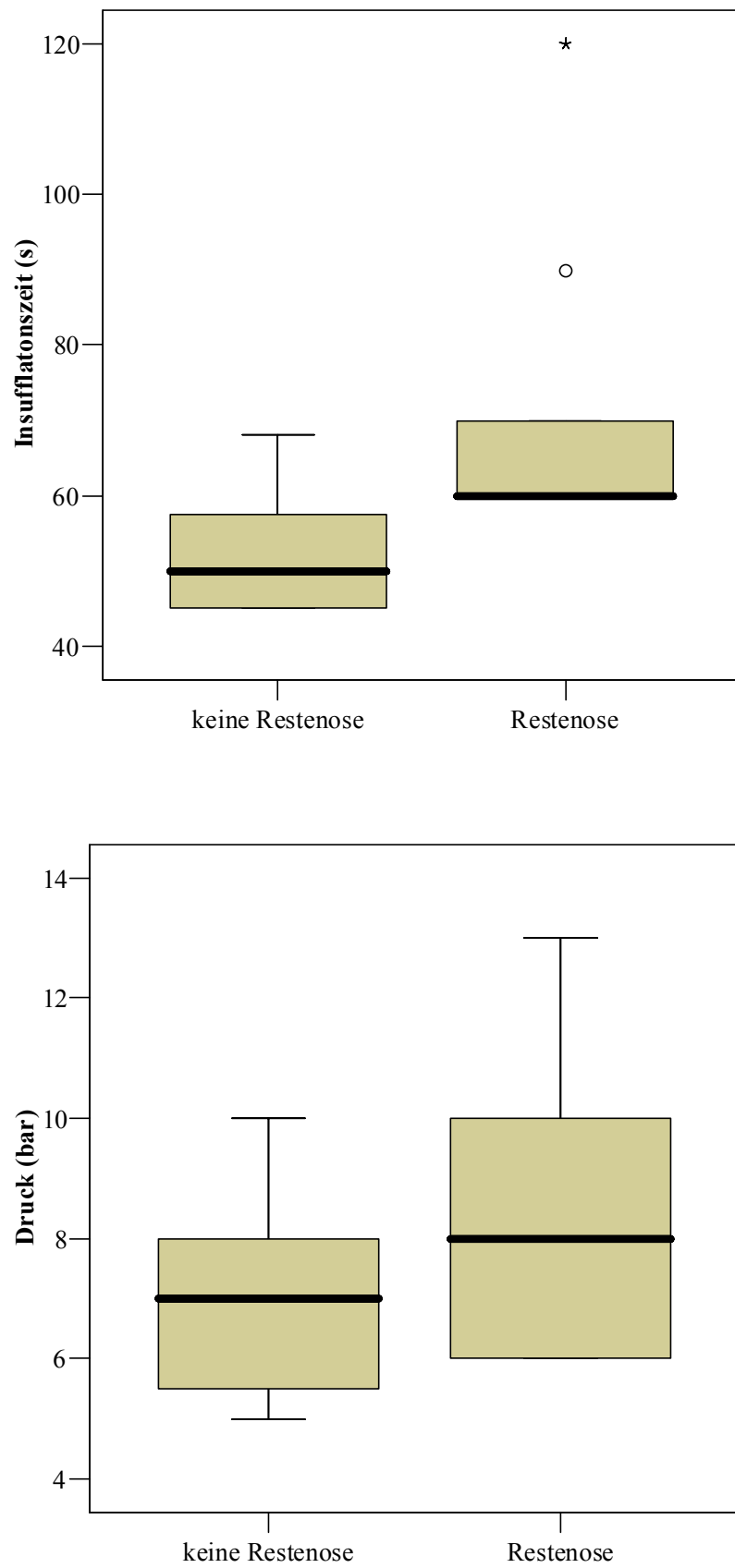


Abb. 6: Boxplots, DD-Genotyp, Insufflationszeit/-druck.

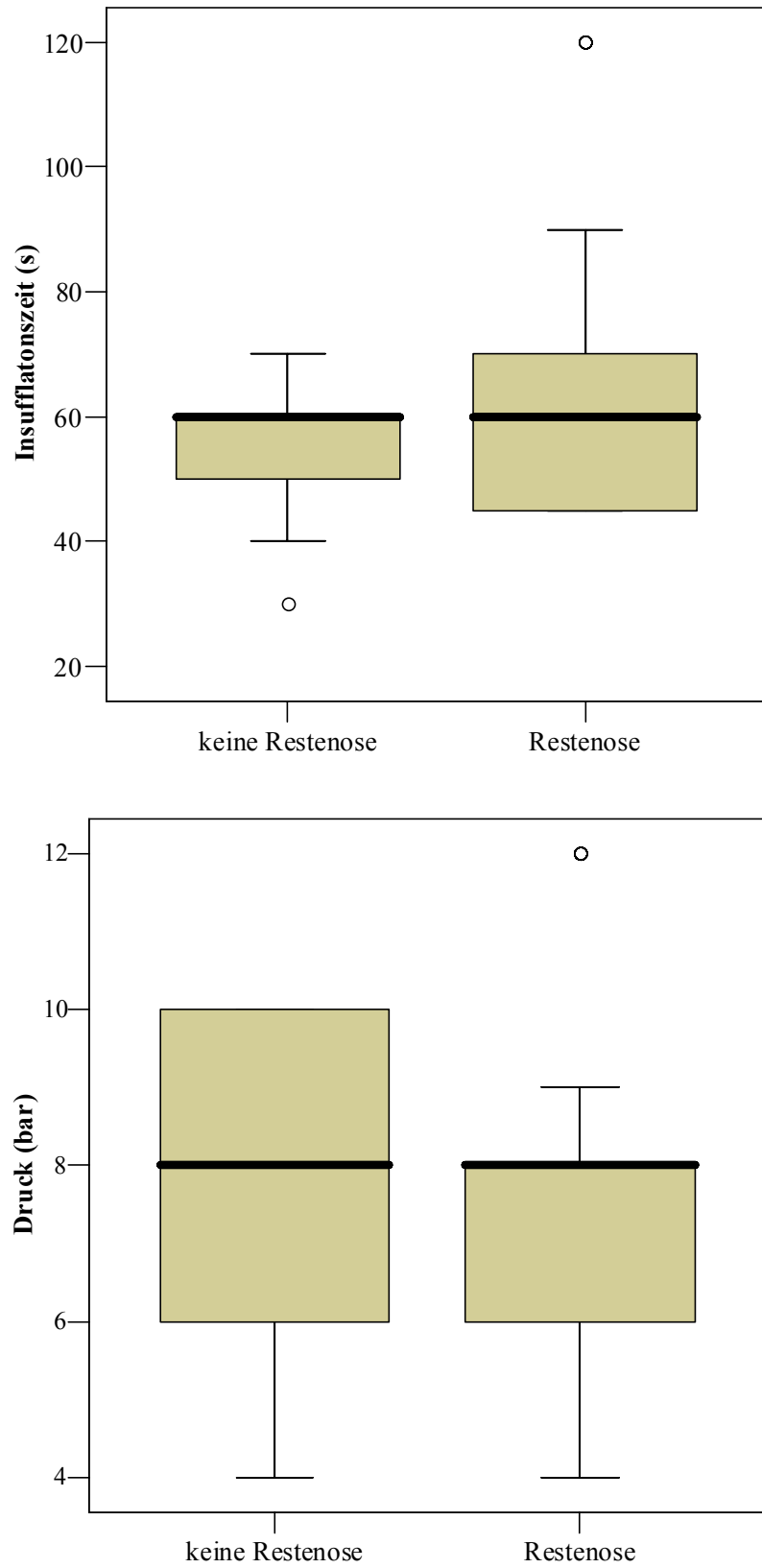


Abb. 7: Boxplots, nonDD-Genotyp, Insufflationszeit/ -druck.

## 9.2 Risikofaktoren

Tabelle 5: Verteilung der Risikofaktoren bei den einzelnen Genotypen und  $\chi^2$ -Werte.

	<i>ACE-Genotyp</i>				<i>Gesamt</i>		<i>DD</i>		<i>nonDD</i>	
	DD <i>n</i> =22	ID <i>n</i> =36	II <i>n</i> =3	non DD <i>n</i> =39	DD+nonDD/ Risikofaktor		Risikofaktor / Restenose		Risikofaktor / Restenose	
	<i>n</i>				$\chi^2$	<i>p</i>	$\chi^2$	<i>p</i>	$\chi^2$	<i>p</i>
Myokardinfarkt	12	21	1	22	0,00	0,97		0,65 <sup>a</sup>	0,79	0,49
Hypertonie	8	16	1	17		0,79 <sup>a</sup>		1,00 <sup>a</sup>	0,73	0,51
Diabetes mellitus	4	6	1	7	0,02	0,88		1,00 <sup>a</sup>		1,00 <sup>a</sup>
Hyperuricämie	9	13	0	13		0,57 <sup>a</sup>		0,20 <sup>a</sup>		1,00 <sup>a</sup>
Familienanamnese	10	18	1	19	0,00	1,00		0,65 <sup>a</sup>	1,81	0,31
ACE Hemmer	4	6	0	6		0,72 <sup>a</sup>		1,00 <sup>a</sup>		0,65 <sup>a</sup>
Nikotinkonsum	12	28	3	31		0,11 <sup>a</sup>		1,00 <sup>a</sup>		1,00 <sup>a</sup>
<b>Restenose</b>	14	24	1	25						

*Anmerkung*<sup>a</sup> Fisher's exakter Test

Risikofaktor oder Gefäß zeigten keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Restenose-Bildung. Die Zugehörigkeit zu einer der ACE I/D Genotyp-Gruppen war hinsichtlich Restenosierung nicht hinweisend für einen Zusammenhang ( $p > 0,9$ ). Dies galt ebenso für die Anwendung einer LP/ST bzw. MP/LT PTCA und die Rezidivrate ( $p = 0,5$ ). In der nonDD Gruppe war kein Zusammenhang zwischen MP/LT bzw. LP/ST PTCA mit einer Restenose nachweisbar ( $p = 0,28$ ). Homozygote Merkmalsträger für das D-Allel zeigten jedoch ein deutlich erhöhtes Auftreten einer Restenose, wenn sie mit einer MP/LT PTCA behandelt wurden (Fisher's exakter Test,  $p = 0,01$ ; Odd's Ratio: 4,5; 95% Konfidenzintervall: 1,9 – 10,7).

## Scatterplots

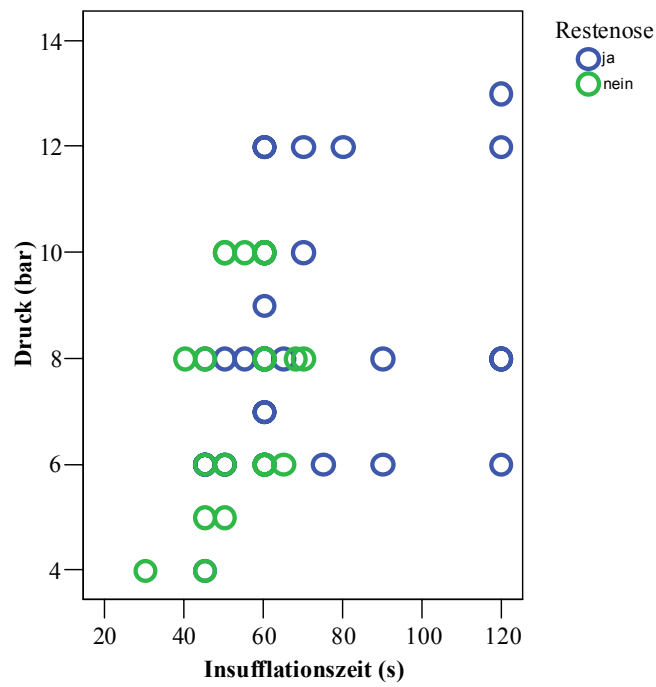


Abb.8: Scatterplot, Alle Genotypen mit Kombination aus Insufflationszeit und –druck.

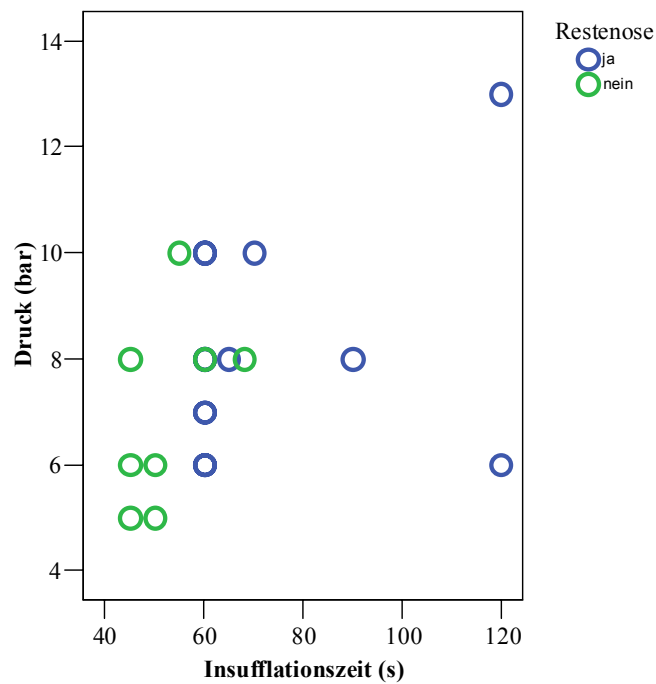


Abb. 9: Scatterplot, DD-Gruppe Kombination aus Insufflationszeit und –druck.

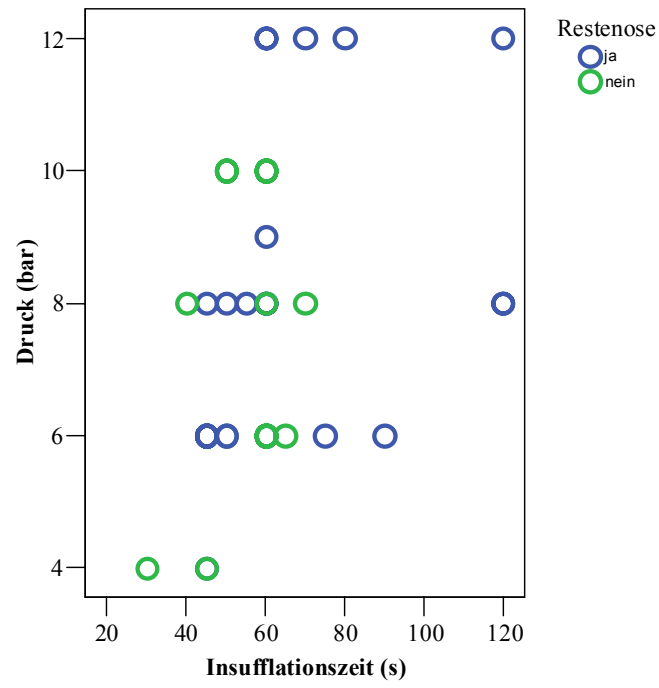


Abb. 10: Scatterplot, nonDD-Gruppe mit Kombination aus Insufflationszeit und -druck.



### 9.3 Post-hoc-Analysen

Bei der binär logistischen Regression zur Prüfung eines Zusammenhanges der Gesamtgruppe aller Genotypen mit dem Auftreten einer Restenose zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Insufflationszeit (Regressionskoeffizient 0,057;  $p=0,043$ , 65,6% richtige Berechnung der Gruppenzugehörigkeit). In der Gruppe der Patienten mit nonDD Genotyp zeigt sich kein signifikantes Ergebnis mit der Insufflationszeit als unabhängiger Variable ( $p=0,19$ ). Bei den DD Merkmalsträgern wurde ein statistisch signifikantes Ergebnis (Regressionskoeffizient 0,287;  $p=0,037$ , 90,9% richtige Berechnung der Gruppenzugehörigkeit) berechnet. Der Insufflationsdruck zeigte weder in der Gesamtgruppe ( $p=0,8$ ) noch in der nonDD Gruppe ( $p=0,748$ ) oder bei den DD Merkmalsträgern ( $p=0,733$ ) einen Zusammenhang mit einem Rezidiv.

Die Receiver Operating Characteristics (ROC) Kurven in der Gruppe der DD Merkmalsträger für Insufflationsdruck und –zeit wurden berechnet. Die Werte mit der größten Trennschärfe zwischen der Gruppenzugehörigkeit Restenose/keine Restenose wurden ermittelt. Bei einer Sensitivität von 100% wurde bei einer Insufflationszeit von 57,5 s eine Wahrscheinlichkeit von 25% für ein falsch positives Ergebnis (1-Spezifität) errechnet (Fläche unter der Kurve: 0,87; Standardfehler: 0,095). Bei einer Sensitivität von 100% wurde bei einem Insufflationsdruck 5,5 bar ein Wert von 25% für 1-Spezifität erreicht (Fläche unter der Kurve: 0,65; Standardfehler: 0,13).

## ROC-Kurven

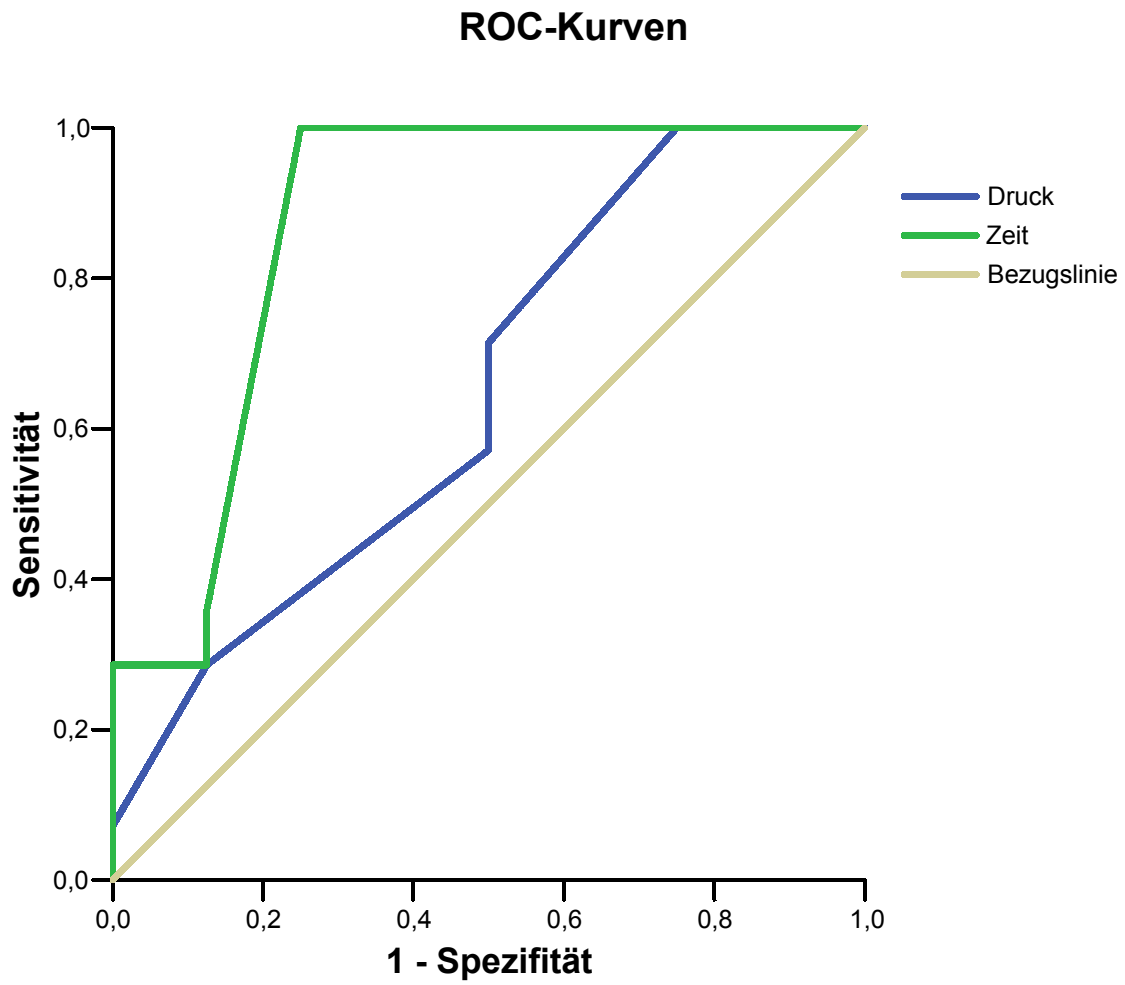


Abb. 11: ROC-Kurven für Insufflationsdruck und Zeit in der DD-Gruppe.

## Ergebnisse der quantitativen Auswertung mit CAAS II

	<i>DD</i>	<i>non-DD</i>
Referenz Durchmesser, mm		
vor Angioplastie	1,80±0,48	2,33±0,68
nach Angioplastie	1,53±0,79	2,03±0,17
Follow-up	2,53 <sup>a</sup>	2,30±0,47
minimaler luminaler Durchmesser, mm		
vor Angioplastie	0,83±0,26	1,02±0,32
nach Angioplastie	1,05±0,33	1,44±0,38
Follow-up	1,09 <sup>a</sup>	1,36±0,68
Durchmesser Stenose, %		
vor Angioplastie	49±24	53±16
nach Angioplastie	28±15	28±17
Follow-up	57 <sup>a</sup>	41±22

Tabelle 6: *Ergebnisse der quantitativen Auswertung mit CAAS II**Anmerkung*<sup>a</sup> *n* = 1

Bei den Mittelwertvergleichen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich quantitativ-koronarangiographischer Daten.

## 10. Diskussion

### 10.1 Methodische Aspekte und Limitationen

Homozygote Merkmalsträger für das D-Allel zeigten bei dieser Untersuchung ein deutlich erhöhtes Auftreten einer Restenose, wenn sie mit einer MP/LT PTCA behandelt wurden. Dieses Ergebnis muss unter Berücksichtigung folgender Gesichtspunkte betrachtet werden.

Es wurden nur Patienten mit angiographisch dokumentierter koronarer Herzerkrankung mit stabiler Angina pectoris Symptomatik einbezogen, die mit einer erfolgreichen elektiven perkutanen Intervention behandelt und mit unterschiedlichen Indikationen koronarangiographisch kontrolliert wurden. Um einen Zusammenhang der anatomischen Lokalisation im Gefäßbaum mit dem ACE I/D GP und insbesondere die Reaktion der Koronar-Arterien auf das exogene Trauma einer Ballon-Dilatation, untersuchen zu können, wurden Patienten ausgewählt, bei denen eine einfache PTCA ohne Komplikation durchgeführt worden war. Es wurde eine Follow-up Periode von einem Jahr gewählt, um pro-restenotische Effekte des ACE I/D GP angiographisch zu erfassen.

Das untersuchte Kollektiv war hinsichtlich seines Risikofaktorenprofils homogen, Männer waren überrepräsentiert. Die Zusammensetzung der Stichprobe resultiert aus der Bereitschaft zur Studienteilnahme, ist daher nicht für die Population repräsentativ und erklärt sowohl die Verzerrung hinsichtlich der Restenose-Rate, die nicht dem Durchschnitt entspricht, als auch die geringe Abweichung vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht. Es wurden nicht für alle Interventionen 35mm Cinefilme ausgewertet, in großen angiographisch kontrollierten Studien (Zee et al., 2001) zur Restenose-Rate wird kein vom ACE-Genotyp abhängiger Unterschied hinsichtlich quantitativ-koronarangiographischer Daten beschrieben.

Die Gruppe der homozygoten I-Allel Merkmalsträger (n=3) war zu klein um Berechnungen zu Dominanz und Ko-Dominanz (DD vs. ID vs. II) durchzuführen, so dass die Ergebnisse aus dem Modell DD vs. ID + II stammen. Bei größeren Kollektiven können weiterführende Berechnungen, z.B. hinsichtlich eines Gen-Dosis Effektes in Kombination mit quantitativ-koronarangiographischen Daten, durchgeführt werden.

In den post-hoc Analysen wurden mittels ROC-Kurven Cut-Off Werte für Insufflationszeiten und -drücke berechnet, die nahe bei den zur Kategorienbildung verwendeten Werten liegen. Die jeweils erreichte Sensitivität und Spezifität sind im Hinblick auf Verwendbarkeit zur Vorhersage einer Restenose bei relativ kleiner Fallzahl in dieser Studie nur eingeschränkt

verwertbar. Sie dienen als Hinweis für die Relevanz dieser Variablen in der DD-Gruppe und sollten an einem größeren Kollektiv überprüft werden.

Im binären logistischen Regressionsmodell war in der DD-Gruppe das Ergebnis für die Insufflationszeit, nicht für den verwendeten Druck, statistisch signifikant. Die Dauer der Insufflation mit ca. 60 Sekunden liegt im gleichen Bereich, den Kaltenbach und Mitarbeiter (1984) in einem *in vitro* Modell mit post-mortem Gewebe für die maximale Reduktion des Plaquevolumens ermittelt haben.

## 10.2 Diskussion im Kontext der aktuellen Literatur

Ohishi und Mitarbeiter (1993) haben auf eine Assoziation des ACE I/D Genotyps mit der Restenose nach Akut-PTCA bei Myokardinfarkt in einer japanischen Population aufmerksam gemacht. Bei dieser retrospektiven Studie wurden 82 Patienten mit akutem Myokardinfarkt untersucht. Diese Ausgangssituation, die mit einem höheren Risiko für eine Restenose einhergeht, könnte das Ergebnis beeinflusst haben (Rupprecht et al., 1990). Aufgrund des spezifischen ethnischen Hintergrundes der japanischen Population ist zudem eine andere Verteilung genetischer Polymorphismen zu diskutieren.

Der ACE Genotyp allein war in der vorliegenden Arbeit nicht mit der Inzidenz einer Restenose assoziiert. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der prospektiven Studie von Zee und Mitarbeitern an 779 quantitativ koronarangiographisch kontrollierten Patienten (2001). Die Ergebnisse dieser Arbeit sind vorbehaltlich der Größe des untersuchten Kollektivs zu interpretieren. Samani und Mitarbeiter (1996) haben in ihrer Meta-Analyse die inverse Korrelation von Kollektivgröße und dem mit dem ACE I/D GP assoziiertem Krankheitsrisiko beschrieben. Die vorliegenden Befunde hinsichtlich einer Erhöhung des Restenose-Risikos beziehen sich jedoch auf homozygote Merkmalsträger für das D-Allel.

In dieser Studie sind Patienten aus Bonn und näherer Umgebung eingeschlossen worden (Faltraco et al., 1999, Lewalter et al., 1996), so dass davon ausgegangen werden kann, dass alle Teilnehmer einen homogenen ethnischen Hintergrund haben. Hinsichtlich des Zusammenhanges zwischen In-Stent-Restenose und ACE I/D Genpolymorphismus liegen kontroverse Befunde aus unterschiedlichen Populationen vor (Koch et al., 2000; Ryu et al., 2002). Dies weist darauf hin, dass ethnischer Hintergrund und dessen Interaktion mit Restenose-Pathophysiologie sowie mit Risikofaktoren einbezogen werden sollten.

### 10.3 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass die Eigenschaften der Koronararterien bei DD-Merkmalsträgern sich von denen von nonDD-Merkmalsträgern unterscheiden könnten. Bei der Dilatation wenig nachgiebiger Stenosen homozygoter Merkmalsträger für das D-Allel könnte gegenüber Patienten mit I-Allel ein höheres Risiko für eine Restenosierung bestehen. Andererseits könnten bei Patienten mit DD Genotyp eine im Durchschnitt längere Insufflationszeit sowie ein höherer Druck für eine erfolgreiche PTCA notwendig sein. Dies könnte auf einen eher protektiven Einfluss des D-Allels bei einem Gefäß-Trauma hindeuten.

Eine indirekte Bestätigung findet diese Vermutung in der überproportionalen Häufigkeit von DD-Merkmalsträgern in einer Gruppe von Hundertjährigen (Schachter et al., 1994). Ein weiterer Hinweis bei Personen mit verschiedenen ACE I/D Genotypen auf Unterschiede in der Pathogenese atherosklerotischer Läsionen findet sich bei Gardemann und Mitarbeitern (1998), die eine Erhöhung des Risikos für eine koronare Herzerkrankung bei jüngeren Personen mit D-Allel beschrieben haben.

Da es sich bei der Restenose um ein polygenes, multifaktorielles Geschehen handelt, erscheint es nicht sinnvoll, nur einen genetischen Marker zur Risikostratifizierung eines Individuums heranzuziehen. Erschwert wird dies im Fall des ACE und somit des Einflusses des I/D GP durch die lokale und systemische Produktion des Enzyms durch verschiedene Zelltypen (Ohishi et al., 1997). Die grundlegenden Probleme bei der molekularbiologischen Erforschung komplexer Krankheiten unter zur Hilfenahme genetischer Marker, unabhängig davon ob die untersuchte Variante selbst krankheitsdisponierend ist, oder die zu Grunde liegende genetische Veränderung markiert, sollten hierbei Berücksichtigung finden (Schumacher et al., 2002). Bei diesen Problemen handelt es sich um inkomplette Penetranz, Phänokopie, Locus-Heterogenität, Polygenie, hohe Frequenz der verursachenden Genvarianten und andere genetische Vererbungsmechanismen, wie etwa im Fall veränderter mitochondrialer DNA.

Eine exakte Beschreibung des untersuchten Phänotyps, etwa mittels moderner bildgebender Verfahren wie der Kernspintomographie, würde Vergleiche zwischen verschiedenen Kollektiven ermöglichen. Interaktionen zwischen verschiedenen Gen-Loci und differierende ethnische Gruppen können unterschiedliche Ergebnisse zwischen Einzel-Gen-Untersuchungen erklären. Vor diesem Hintergrund bleibt die Berücksichtigung des ACE I/D

Genpolymorphismus für die zukünftige Ursachenklärung der Restenose nach PTCA weiterhin sinnvoll.

#### 10.4 Ausblick

Die Ergebnisse der Studie weisen auf eine mögliche Bedeutung des ACE I/D Genpolymorphismus für die Eigenschaften der koronaren Strombahn hin. Es stellt sich die Frage, ob die Ergebnisse an einem größeren Kollektiv reproduzierbar sind und gegebenenfalls prospektiv bestätigt werden können. Hierbei könnten Interaktionen mit anderen RAAS-Gen-Polymorphismen berücksichtigt werden. Die Wechselwirkung mit dem Bradykinin-System könnte in diese Untersuchungen einbezogen werden.

Unklar ist, ob *in vivo* unterschiedliche Phänotypen der Restenose ausreichend differenziert werden können und somit das Konzept des Endo-Phänotyps anwendbar wird. Dies wäre von großer Bedeutung bei der Klärung des genetischen Hintergrundes der Erkrankung, da davon auszugehen ist, dass unterscheidbare Phänotypen von einer geringeren Anzahl von Genen beeinflusst werden als die gesamte Entität (Maier, 2003).

## 11. Zusammenfassung

Derzeit wird die Bedeutung des Insertions/Deletions (I/D) Gen-Polymorphismus (GP) im Intron 16 des Gens für das Angiotensin-I-Konversionsenzym (ACE) für kardiovaskuläre Erkrankungen kontrovers diskutiert. Für das D-Allel und die In-Stent Restenose ist eine positive Assoziation bekannt. Für die Restenose nach einfacher perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) besteht keine Assoziation. Bisher nicht untersucht wurde, ob ein Zusammenhang zwischen Insufflationsdruck und -zeit einer PTCA, I/D Genotyp und der Bildung einer Restenose besteht.

Retrospektiv wurden 61 Patienten (52 Männer 42-72 Jahre; Mittelwert 56,8 Jahre, 9 Frauen 49-71 Jahre; Mittelwert 58,6 Jahre) untersucht, die nach primär erfolgreicher komplikationsloser Ein-Gefäß PTCA innerhalb eines Jahres reangiographiert wurden. Es bestand kein Unterschied hinsichtlich des Risikofaktorenprofils in den einzelnen Gruppen. Der ACE I/D Genotyp wurde mittels Polymerase Ketten Reaktion bestimmt; es wurde eine DD und eine nonDD-Gruppe gebildet. Das Vorgehen bei der PTCA wurde anhand der häufigsten verwendeten Kombination von Druck und Zeit in zwei Kategorien geteilt:

1. Medium pressure/Long inflation time (MP/LT): bei Erreichen oder Überschreiten der Kombination von 6 bar oder 60 Sekunden in einem Dilatationschritt, andernfalls
2. Low pressure/short inflation time (LP/ST).

Bei 39 Patienten wurde eine Restenose dokumentiert. Zwischen ACE I/D Genotyp ( $p=0,9$ ) sowie MP/LT und LP/ST PTCA ( $p=0,49$ ) bestand kein Zusammenhang mit einem Rezidiv. Homozygote Merkmalsträger für das D-Allel hingegen zeigten eine deutlich erhöhte Restenose-Rate, wenn sie mit einer MP/LT PTCA behandelt wurden ( $p = 0,01$ ; Odd's Ratio: 4,5; 95% Konfidenzintervall: 1,9 – 10,7). In einer post hoc Analyse zeigte sich mittels eines binären logistischen Regressionsmodells in der DD-Gruppe ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Insufflationszeit (Regressionskoeffizient 0,287;  $p=0,037$ , 90,9% richtige Berechnung der Gruppenzugehörigkeit). In einer Receiver-Operating-Characteristics Analyse wurde bei einer Sensitivität von 100% bei einer Insufflationszeit von 57,5 s eine Wahrscheinlichkeit von 25% für ein falsch positives Ergebnis (1-Spezifität) errechnet (Fläche unter der Kurve: 0,87; Standardfehler: 0,095).

Angesichts der Ergebnisse sollte der ACE I/D GP bei der Charakterisierung der komplexen Zusammenhänge der Pathogenese der Restenose in zukünftigen Studien weiterhin Berücksichtigung finden.



## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-I-Konversionsenzym
ACVB	Aorto-coronarer-Venen-Bypass
CAAS II	Cardiovascular Angiography Analysis System II
CI	Konfidenzintervall
$\chi^2$	Chi-Quadrat
D	Deletion
dH <sub>2</sub> O	Aqua bi-distilliert
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
GP	Gen-Polymorphismus
I	Insertion
I/D	Insertion/Deletion
IMT	Intima-Media-Thickness
LAD	Left anterior descendens
LAO	Left anterior oblique
LP/ST	Low Pressure/Short Inflation Time
MLD	Minimal Lumen Diameter
MP/LT	Medium Pressure/Long Inflation Time
n	Umfang der Stichprobe
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
OR	Odd's Ratio
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PTCA	perkutane transluminale koronare Angioplastie
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RAO	Right anterior oblique
RCA	Right coronary artery
RCX	Ramus circumflexus
ROC	Receiver Operating Characteristics
Taq	Thermophilus aquaticus
UV	Ultra-Violett

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Rechte Herzkranzarterie in LAO-Projektion, ID-Genotyp, 12 bar, 60 s (MP/LT-PTCA) vor PTCA.

Abb. 2: Rechte Herzkranzarterie in LAO-Projektion, ID-Genotyp, 12 bar, 60 s (MP/LT-PTCA) während Balloninsufflation.

Abb. 3: Rechte Herzkranzarterie in LAO-Projektion, ID-Genotyp, 12 bar, 60 s (MP/LT-PTCA) nach PTCA.

Abb. 4: Fotografie repräsentativer PCR Ergebnisse auf einem 1,5% Agarose-Gel (Färbung mit Ethidiumbromid).

Abb. 5: Balkendiagramme; Kumulative Häufigkeit der verwendeten Insufflationsdrücke und -zeiten.

Abb. 6: Boxplots, DD-Genotyp, Insufflationszeit/ -druck.

Abb. 7: Boxplots, nonDD-Genotyp, Insufflationszeit/ -druck.

Abb.8: Scatterplot, Alle Genotypen mit Kombination aus Insufflationszeit und –druck.

Abb. 9: Scatterplot, DD-Gruppe Kombination aus Insufflationszeit und –druck.

Abb. 10: Scatterplot, nonDD-Gruppe mit Kombination aus Insufflationszeit und –druck.

Abb. 11: ROC-Kurven für Insufflationsdruck und Zeit in der DD-Gruppe.

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: *Dauer und Temperatur der PCR-Zyklen.*

Tabelle 2: *Sequenzen der Primer-Paare für den ACE I/D GP und das Insertions-spezifische Primer Paar.*

Tabelle 3: *Verteilung der DD- und nonDD-Gruppe mit und ohne Restenose.*

Tabelle 4: *Verteilung der Gefäße bei den einzelnen Genotypen.*

Tabelle 5: *Verteilung der Risikofaktoren bei den einzelnen Genotypen und  $\chi^2$ -Werte.*

Tabelle 6: *Ergebnisse der quantitativen Auswertung CAAS II*

## Feststellung über die Einhaltung der Deklaration von Helsinki

Alle Untersuchungen am Menschen wurden auf der Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes (1983) und den entsprechenden gesetzlichen Grundlagen durchgeführt.

## Literaturverzeichnis

Alhenc-Gelas F, Richard J, Courbon D, Warnet JM, Corvol P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. *J Lab Clin Med* 1991; 117: 33-39.

Amant C, Bauters C, Bodart JC, Lablanche JM, Grollier G, Danchin N, Hamon M, Richard F, Helbecque N, McFadden EP, Amouyel P, Bertrand ME. D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation* 1997; 96: 56-60.

Assmann G: Nationale Cholesterin-Initiative. *Dtsch Ärzteblatt* 1990; 87: 991-1010.

Banai S, Kurgan A, Gertz SD. Coronary Atherosclerosis and Restenosis. In. Sperelakis N, Yoshihisa K, Terzic A, Cohen MV (eds.). *Heart Physiology and Pathophysiology*. San Diego: *Academic Press*, 2001: 967-1010.

Baim DS (ed): A symposium: Interventional cardiology 1987. *Am J Cardiol* 1988; 61: 1G-117G.

Balkestein EJ, Staessen JA, Wang JG, van Der Heijden-Spek JJ, Van Bortel LM, Barlassina C, Bianchi G, Brand E, Herrmann SM, Struijker-Boudier HA. Carotid and femoral artery stiffness in relation to three candidate genes in a white population. *Hypertension* 2001; 38: 1190–1197.

Baudin B, Berard M, Carrier JL, Legrand Y, Drouet L. Vascular origin determines angiotensin I-converting enzyme expression in endothelial cells. *Endothelium* 1997; 5: 73–84.

Barger AC, Beeuwkes R 3rd. Rupture of coronary vasa vasorum as a trigger of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1990; 66: 41G-43G.

Bauriedel G. Pathological mechanisms of restenosis after angioplasty. Cell and molecular biology findings--possible new therapeutic approaches. *Fortschr Med* 1994; 112: 322-323.

Berk BC. Angiotensin II signal transduction in vascular smooth muscle: pathways activated by specific tyrosine kinases. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 [Suppl. 11]: 562-568.

Brown NJ, Agirbasli MA, Williams GH, Litchfield WR, Vaughan DE. Effect of activation and inhibition of the renin-angiotensin system on plasma PAI. *Hypertension* 1998; 32: 965–971.

Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation* 1998; 97: 1411–1420.

Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovao R, Gonzales MF, Allegrini J, Bloch C. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy Study. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 774-780.

Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Alhenc-Gelas F, Soubrier F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.

Campeau L: Letter to the editor, *Circulation* 1976; 54: 522.

Challah M, Villard E, Philippe M, Ribadeau-Dumas A, Giraudeau B, Janiak P, Vilaine JP, Soubrier F, Michel JB. Angiotensin I-converting enzyme genotype influences arterial response to injury in normotensive rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 235-243.

Chen YH, Chen YL, Lin SJ, Chou CY, Mar GY, Chang MS, Wang SP: Electron microscopic studies of phenotypic modulation of smooth muscle cells in coronary arteries of patients with unstable angina pectoris and postangioplasty restenosis. *Circulation* 1997; 95: 1169-1175.

Clark RAF. Overview and general considerations of wound repair. In Clark RAF, Henson F, eds. *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. New York: *Plenum Press*, 1988: 11.

Clowes AW, Clowes MM, Reidy MA. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. III. Endothelial and smooth muscle growth in chronically denuded vessels. *Lab Invest* 1986; 54: 295-303.

Clowes AW, Clowes MM, Reidy MA. Role of acute distension in the induction of smooth muscle proliferation after arterial denudation. *Fed Proc* 1987; 46: 720.

Cuomo S, Guarini P, Gaeta G, De Michele M, Boeri F, Dorn J, Bond M, Trevisan M. Increased carotid intima-media thickness in children-adolescents, and young adults with a parental history of premature myocardial infarction. *Eur Heart J* 2002; 23: 1245–1350.

Danilov SM, Franke FE, Erdos EG. CD143 (angiotensin-converting enzyme) Workshop Panel report endothelial cell markers. In: Kishimoto T, ed *Leucocyte typing VI*. New York: *Garland Publishing*, 1997: 746–751

Davies MJ. Pathology of coronary atherosclerosis. In: Alexander RW, Schlant RC, Fuster V, (eds.) *The heart, arteries and veins*. New York: *McGraw-Hill*, 1998: 1161-1173.

Deschepper CF, Boutin-Ganache I, Zahabi A, Jiang Z. In search of cardiovascular candidate genes: Interactions between phenotypes and genotypes. *Hypertension* 2002; 39: 332-336.

Dotter CT, Judkins MP. Transluminal Treatment of arteriosclerotic obstruction. Description of a new technic and a preliminary report of its application. *Circulation* 1964; 30: 654-670.

Dzau VJ, Bernstein K, Celermajer D, Cohen J, Dahlof B, Deanfield J, Diez J, Drexler H, Ferrari R, van Gilst W, Hansson L, Hornig B, Husain A, Johnston C, Lazar H, Lonn E, Luscher T, Mancini J, Mimran A, Pepine C, Rabelink T, Remme W, Ruilope L, Ruzicka M, Schunkert H, Swedberg K, Unger T, Vaughan D, Weber M, Working Group on Tissue Angiotensin-converting enzyme, International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy. The relevance of tissue angiotensin-converting enzyme: manifestations in mechanistic and endpoint data. *Am J Cardiol* 2001; 88: 1–20.

Dzavik V. The need for revascularization procedures will remain the same or increase in the next decade. *Can J Cardiol*. 1998; 27A-31A.

Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Erbel R, Nafe B, Brennecke R, Meyer J. Impact of restenosis 10 years after coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1998; 19: 1047-1053.

Faltraco F, Lewalter T, Pizzulli L, Jung W, Bauriedel G, Lüderitz B: Restenosis after PTCA depends on procedural performance and is associated with ACE Insertion Deletion Genotype; *Basic Res Cardiol*, 1999; 94: 35 (Abstract).

Franke FE, Pauls K, Metzger R, Danilov SM. Angiotensin I-converting enzyme and potential substrates in human testis and testicular tumors. *APMIS* 2003; 111: 234-243.

Frid MG, Moiseeva EP, Stenmark KR. Multiple phenotypically distinct smooth muscle cell populations exist in the adult and developing bovine pulmonary arterial media in vivo. *Circ Res* 1994; 75: 669-681.

Ganten D, Lang RE, Lehmann E, Unger T. Brain angiotensin: on the way to becoming a well-studied neuropeptide system. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 3523-3528.

Gardemann A, Fink M, Stricker J, Nguyen QD, Humme J, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W. ACE I/D gene polymorphism: presence of the ACE D allele increases the risk of coronary artery disease in younger individuals. *Atherosclerosis* 1998; 139: 153-159.

Gaziano JM. When should heart disease prevention begin? *N Engl J Med* 1998; 338: 1690-1692

Geisterfer AA, Peach MJ, Owens GK. Angiotensin II induces hypertrophy, not hyperplasia, of cultured rat aortic smooth muscle cells. *Circ Res* 1988; 62: 749-756.

Glagov S, Bassiouny HS, Giddens DP, Zarins DK. Intimal thickening: Morphogenesis, functional significance and detection. *J Vasc Invest* 1995; 1: 2-14.

Grüntzig A. Perkutane Dilatation von Coronarstenosen - Beschreibung eines neuen Kathetersystems. *Klin Wochenschr* 1976; 54: 534.



Grüntzig A. Transluminal dilatation of coronary-artery stenosis. *Lancet* 1978; 4: 263.

Grüntzig A, Kumpe DA. Technique of percutaneous transluminal angioplasty with the Grüntzig balloon catheter. *Am J Radiol* 1979 a; 152: 547

Grüntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Non-operative dilatation of coronary artery stenosis – percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Eng J Med* 1979 b; 302: 61

Hamon M, Bauters C, Amant C, McFadden EP, Helbecque N, Lablanche JM, Bertrand ME, Amouyel P. Relation between the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and late luminal narrowing after coronary angioplasty. *Circulation* 1995 a; 92: 296-269.

Hamon M, Bauters C, McFadden EP, Wernert N, Lablanche JM, Dupuis B, Bertrand ME: Restenosis after coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1995 b; 16 [Suppl I]: 33-48.

Hauss WH: Die Arteriosklerose. *Steinkopff Verlag Darmstadt*, 1990: 1-253.

Howard TE, Shai SY, Langford KG, Martin BM, Bernstein KE. Transcription of testicular angiotensin-converting enzyme (ACE) is initiated within the 12th intron of the somatic ACE gene. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 4294-4302.

Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biol Chem* 1991; 266: 15377-15383.

Huckle WR, Earp HS. Regulation of cell proliferation and growth by angiotensin II. *Prog Growth Factor Res* 1994; 5: 177-194.

Isner JM, Kearney M, Bortman S. Sequential biopsy of human atheromata in vivo: longitudinal analysis of atheromatous coronary artery wall in 11 patients treated for primary and restenosis lesions by directional atherectomy. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 74

Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 1995; 91: 2703-2711.

Kaltenbach M, Beyer J, Waltr S, Klepzig H, Schmidts L. Prolonged application of pressure in transluminal coronary angioplasty. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1984; 10: 213-219.

Koch W, Kastrati A, Mehilli J, Bottiger C, von Beckerath N, Schomig A. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is not associated with restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 2000; 102: 197-202.

Lange RA, Willard JE, Hillis LD. Southwestern internal medicine conference: restenosis: the Achilles heel of coronary angioplasty. *Am J Med Sci* 1993; 306: 265-275.

Lewalter T, Faltraco F, Pizzulli L, Jung W, Pfeiffer D, von Deimling A, Wiestler O, Schlegel U, Lüderitz B. Beeinflußt der ACE Gen-Polymorphismus die Restenosehäufigkeit nach PTCA? *Z. Kardiol* 1996, 65: 35 (Abstract).

Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. A special case of atherosclerosis progression. *Circulation* 1992; 86 [Suppl]: III47-52.

Lindner V, Reidy MA. Proliferation of smooth muscle cells after vascular injury is inhibited by an antibody against basic fibroblast growth factor. *Proc Nat Acad Sci* 1991; 88: 3739-3743.

Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, Buring J, Hennekens CH. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 706-711.

Maier W. Psychiatric Genetics: Overview on Achievements, Problems, Perspectives. In: Leboyer M, Belivier F, eds. Psychiatric Genetics: methods and reviews. Totowa: *Humana Press*, 2003: 3-20.

Meloche S, Pelletier S, Servant MJ. Functional cross-talk between the cyclic AMP and Jak/STAT signaling pathways in vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Biochem* 2000; 212: 99-109.

Meyer J, Bokisch A, Darius H, Heusch G, Hort W, Mohr-Kahaly S, Rupprecht HJ, Voigtländer T. In: Erdmann (Hrsg.) *Klinische Kardiologie. Klinik und Diagnostik der koronaren Herzkrankheit*. Berlin: *Springer*, 2000: 327-353.

Meyers P. Vascular wound healing and restenosis following revascularisation. In Weber (ed): *Wound Healing Responses in Cardiovascular Disease*. Mt Kisco, NY: *Futura Publishing*, 1995: 137.

Muhlestein JB, Zidar JP, Blazing MA. The vascular biology of restenosis: An overview. In: Stack RS, Roubin GS, O'Neill WW (eds). *Interventional Cardiovascular Medicine*. Philadelphia: *Churchill Livingstone*, 2002: 118-135.

Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 263-273.

Müller AM, Nesslinger M, Skipka G, Müller KM. On the expression of CD 34 by pulmonary endothelial cells in vivo. *Pathobiology* 2002 a; 70: 11-17.

Müller AM, Skrzynski C, Skipka G, Müller KM. Expression of von Willebrand factor by human pulmonary endothelial cells in vivo. *Respiration* 2002 b; 69: 526-533.

Myler RK, Shaw RE, Stertz SH. There is no such thing as „restenosis.“ *J Invasive Cardiol* 1992; 4: 282.

O'Brien ER, Alpers CE, Stewart DK, Ferguson M, Tran N, Gordon D, Benditt EP, Hinohara T, Simpson JB, Schwartz SM. Proliferation in primary and restenotic coronary atherectomy tissue. Implications for antiproliferative therapy. *Circ Res* 1993; 73: 223-231.

Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 2000: World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>

Ohishi M, Fujii K, Minamino T, Higaki J, Kamitani A, Rakugi H, Zhao Y, Mikami H, Miki T, Ogihara T. A potent genetic risk factor for restenosis. *Nat Genet* 1993; 5: 324-325.

Ohishi M, Ueda M, Rakugi H, Naruko T, Kojima A, Okamura A, Higaki J, Ogihara T. Enhanced expression of angiotensin-converting enzyme is associated with progression of coronary atherosclerosis in humans. *J Hypertens* 1997; 15: 1295-1302.

Ohishi M, Ueda M, Rakugi H, Naruko T, Kojima A, Okamura A, Higaki J, Ogihara T. Relative localization of angiotensin-converting enzyme, chymase and angiotensin II in human coronary atherosclerotic lesions. *J Hypertens* 1999; 17: 547-553.

Rakugi H, Kim DK, Krieger JE, Wang DS, Dzau VJ, Pratt RE. Induction of angiotensin converting enzyme in the neointima after vascular injury. Possible role in restenosis. *J Clin Invest* 1994; 93: 339-346.

Ribichini F, Ferrero V, Matullo G, Feola M, Vado A, Camilla T, Guarrera S, Carturan S, Vassanelli C, Uslenghi E, Piazza A. Association study of the I/D polymorphism and plasma ACE as risk factors for stent restenosis. *Clin Sci (Lond)* 2004; 107: 381-389.

Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-1346.

Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acid Res* 1992; 20: 1433.

Rokitanzky C. Über eine der wichtigsten Krankheiten der Arterien. *K.K. Hof- und Staatsdruckereien Wien* 1852.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.

Ruocco NA Jr, Ring ME, Holubkov R, Jacobs AK, Detre KM, Faxon DP. Results of coronary angioplasty of chronic total occlusions (the National Heart, Lung, and Blood Institute 1985-1986 Percutaneous Transluminal Angioplasty Registry). *Am J Cardiol* 1992; 69: 69-76.

Rupprecht HJ, Brennecke R, Bernhard G, Erbel R, Pop T, Meyer J. Analysis of risk factors for restenosis after PTCA. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1990; 19: 151-159.

Ryu SK, Cho EY, Park HY, Im EK, Jang YS, Shin GJ, Shim WH, Cho SY. Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) gene polymorphism as a risk factor of coronary in-stent restenosis. *Yonsei Med J* 2002; 43: 461-472.

Samani NJ, Martin DS, Brack M, Cullen J, Chauhan A, Lodwick D, Harley A, Swales JD, de Bono DP, Gershlick AH. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty. *Lancet* 1995; 345: 1013-1016.

Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation* 1996; 94: 708-712.

Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F, Rouger H, Froguel P, Lesueur-Ginot L, Cohen D. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nat Genet* 1994; 6: 29-32.

Schumacher J, Nöthen MM, Propping P. Methoden der Genidentifizierung bei genetisch komplexen Krankheiten. In: Rieß O, Schöls L. (Hrsg.) Neurogenetik Stuttgart: *Kohlhammer*, 2002: 41-54.

Schwartz RS, Holmes DR Jr, Topol EJ. The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 1284-1293.

Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ER. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 1995; 77: 445-465.

Schwartz SM, Majesky MW, Murry CE. The intima: Development and monoclonal responses to injury. *Atherosclerosis* 1995; 118 [Suppl.]: S125-S140.

Shanmugam V, Sell K, Saha B. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl* 1993; 3: 120-121.

Simpson JB, Baim DS, Robert EW, Harrison DC. A new catheter system for coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1982; 49: 1216

Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregear G, Corvol P. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 9386-9390.

Stammen F, Piessens J, Vrolix M, Glazier JJ, De Geest H, Willems JL. Immediate and short-term results of a 1988-1989 coronary angioplasty registry. *Am J Cardiol* 1991; 67:253-258.

Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92: 1355-1374.

Statistisches Bundesamt, Publikationen des Bundesamtes in Wiesbaden, 1999, © Statistisches Bundesamt, Wiesbaden 2004.

Tada T, Reidy MA. Endothelial regeneration. IX. Arterial injury followed by rapid endothelial repair induces smooth-muscle-cell proliferation but not intimal thickening. *Am J Pathol* 1987; 129: 429-433.

Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 197-205.

Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Amouyel P, Arveiler D, Rajakangas AM, Pajak A. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation* 1994; 90: 583-612.

Ueda M, Becker AE, Naruko T, Kojima A. Smooth muscle cell de-differentiation is a fundamental change preceding wound healing after percutaneous transluminal coronary angioplasty in humans. *Coron Artery Dis* 1995; 6: 71-81.

Virchow R. Der atheromatöse Prozess der Arterien. *Wien Med Wschr* 1856; 51: 809-812 und 52: 825-828.

Waller BF, Dillon JC, Cowley MH. Plaque hematoma and coronary dissection with percutaneous transluminal angioplasty (PTCA) of severely stenotic lesions: Morphologic coronary observations in 5 men within 30 days of PTCA. *Circulation* 1983; 68: 144.

Waller BF. "Crackers, breakers, stretchers, drillers, scrapers, shavers, burners, welders and melters"--the future treatment of atherosclerotic coronary artery disease? A clinical-morphologic assessment. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13: 969-987.

Waller BF, Pinkerton CA, Orr CM, Slack JD, VanTassel JW, Peters T. Morphological observations late (greater than 30 days) after clinically successful coronary balloon angioplasty. *Circulation* 1991; 83 [2 Suppl.]: I28-141.

Waller BF, Anderson PG. Pathology of various mechanical interventional procedures and devices. In: Stack RS, Roubin GS, O'Neill WW (eds). *Interventional Cardiovascular Medicine*. Philadelphia: *Churchill Livingstone*, 2002: 49-96.

Wilensky RL, March KL, Gradus-Pizlo I, Sandusky G, Fineberg N, Hathaway DR. Vascular injury, repair, and restenosis after percutaneous transluminal angioplasty in the atherosclerotic rabbit. *Circulation* 1995; 92: 2995-3005.

Zee RY, Fernandez-Ortiz A, Macaya C, Pintor E, Lindpaintner K, Fernandez-Cruz A. Ace D/I polymorphism and incidence of post-PTCA restenosis: a prospective, angiography-based evaluation. *Hypertension* 2001; 37: 851-855.

Zeitler E, Schoop W, Zahn W. The treatment of occlusive arterial disease by transluminal catheter angioplasty. *Radiology* 1971; 99: 19.



## Lebenslauf

---

Name, Vorname:	Faltraco, Frank
Geburtsdatum und -ort:	11 Mai 1965 in Wesel (Niederrhein)
Nationalität:	Deutsch
Konfession:	Römisch - katholisch

**Ärztliche Weiterbildung**


---

Seit 15.01.2001	Psychiatrie und Psychotherapie, Ludwig-Maximilians Universität, München
2000-2001	Nuklearmedizin, Friedrich-Alexander Universität, Erlangen
1999 - 2000	Innere Medizin, Kardiologie, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität, Bonn
1998	Innere Medizin, Gastroenterologie, Universitätskliniken des Saarlandes/Homburg

**Ausbildung**


---

1997 - 1998	3. Staatsexamen, Praktisches Jahr, Wahlfach Psychiatrie und Psychotherapie, Justus-Liebig-Universität, Gießen
1991 - 1997	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität, Gießen
1984 - 1991	Studium der Chemie, Rheinische Friedrich-Wilhelm Universität, Bonn
1975 - 1984	Konrad Duden Gymnasium, Wesel