

**AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN II
DIREKTOR: PROF. DR. GÜNTER RIEGGER
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG**

**EINFLUSS VON POLYMORPHISMEN IN DEN GENEN FÜR DIE HMG-
CO-A-REDUKTASE UND DIE CYP3A-ENZYME AUF DIE
CHOLESTERINSPIEGEL *IN VIVO* – ERGEBNISSE DER
REGENSBURGER HERZINFARKT-FAMILIENSTUDIE**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg**

**vorgelegt von
Christine Meindl**

2010

**AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN II
DIREKTOR: PROF. DR. GÜNTER RIEGGER
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG**

**EINFLUSS VON POLYMORPHISMEN IN DEN GENEN FÜR DIE HMG-
CO-A-REDUKTASE UND DIE CYP3A-ENZYME AUF DIE
CHOLESTERINSPIEGEL *IN VIVO* – ERGEBNISSE DER
REGENSBURGER HERZINFARKT-FAMILIENSTUDIE**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg**

**vorgelegt von
Christine Meindl**

2010

Dekan:	Prof. Dr. Bernhard Weber
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Christian Hengstenberg
2. Berichterstatter:	PD Dr. Thomas Langmann
Tag der mündlichen Prüfung:	28.09.2010

Inhaltsverzeichnis:

1.	Zusammenfassung.....	1
2.	Einleitung.....	3
2.1	Cholesterin – Biosynthese und Abbau.....	3
2.2	Hypercholesterinämie.....	8
2.2.1	Definitionen.....	8
2.2.2	Genetische Komponenten.....	9
2.2.3	Sekundäre Hypercholesterinämien.....	12
2.2.4	Hypercholesterinämie und Arteriosklerose.....	13
2.3	Therapieoptionen.....	15
2.3.1	Änderung des Lebensstils.....	15
2.3.2	Pharmakologische Interventionsmöglichkeiten.....	16
2.3.2.1	Fibrate.....	17
2.3.2.2	Nikotinsäure.....	18
2.3.2.3	Anionenaustauscherharze bzw. Gallensäurebinder.....	19
2.3.2.4	Cholesterinabsorptionsinhibitoren.....	19
2.3.2.5	Statine.....	20
2.4	Pharmakogenetik.....	27
3.	Material und Methoden.....	35
3.1	Auswahl des Kollektivs für die Einzelgenotypisierung.....	35
3.2	Kriterien der Selektion der Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs).....	38
3.3	DNA-Extraktion und Konzentrationsbestimmung.....	40
3.4	DNA-Normalisierung.....	40
3.5	Genotypisierung.....	41
3.5.1	TaqMan®-SNP Genotyping Assay.....	41
3.5.2	Vorbereitung der DNA-Proben.....	43
3.5.3	Ablauf der PCR der DNA-Proben im 384-Well-Format.....	44
3.6	PCR-Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus-Analyse.....	46
3.7	Statistische Auswertungen.....	48
4.	Ergebnisteil.....	49
4.1	Ergebnisse der Analyse der SNPs im Gen für die HMG-CoA-	

	Reduktase.....	49
4.1.1	Auswahl der Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs).....	50
4.1.2	Ergebnisse der Genotypisierung im HMGCR-Gen des Kollektivs der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (HIFAM).....	53
4.1.3	Ergebnisse der HMGCR-Genotypisierung im Survey III Kollektiv.....	65
4.1.4	Überprüfung der beschriebenen Effekte auf die Abhängigkeit von anderen bereits untersuchten Effekten.....	73
4.2	Ergebnisse der Analyse der SNPs in den Genen für die CYP3A- Enzyme.....	77
4.2.1	LD-Struktur zwischen den CYP3A-SNPs.....	77
4.2.2	Statistische Auswertung der CYP3A-SNPs.....	78
5.	Diskussion.....	82
5.1	Bedeutung der CYP3A-Enzyme in Forschung und Klinik.....	84
5.2	Bedeutung der HMGCR in Forschung und Klinik.....	87
5.3	Ausblick.....	90
6.	Literaturverzeichnis.....	93
7.	Quellennachweis der Tabellen und Abbildungen.....	103
8.	Anhang.....	104
9.	Lebenslauf.....	119
10.	Danksagung.....	120

1. Zusammenfassung

Die Pharmakogenetik beschäftigt sich mit der genetischen Information der Patienten über Medikamententransporter, Enzyme, die in den Metabolismus von Medikamenten involviert sind, und Medikamentenrezeptoren. Ziel der Pharmakogenetik ist es, eine individualisierte Medikamententherapie zu ermöglichen, indem die optimale Wahl und Dosierung einer Substanz getroffen werden können. Deshalb ist auch die Suche nach genetischen Polymorphismen oder variierenden Sequenzen in der Bevölkerung, die Einfluss auf die Effektivität der Medikamente haben, ein Forschungsgebiet der Pharmakogenetik. Es ist möglich, dass 20-40% der interindividuellen Differenzen in der Metabolisierung und dem Ansprechen auf Medikamente eine genetische Ursache haben.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Polymorphismen in den Genen für die HMG-CoA-Reduktase (HMGCR) und die CYP3A-Enzyme und ihren möglichen Einfluss auf die Cholesterinspiegel *in vivo* zu untersuchen.

Dazu wurden insgesamt 27 SNPs in den Genen für die HMGCR, CYP3A, CETP und ApoE analysiert. Die 2636 genotypisierten Personen stammen aus dem Kollektiv der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (HIFAM). Ein Teil der Probanden (n=1669) nahm eine lipidsenkende Medikation ein, während dies für die restlichen 967 Teilnehmer der Studie nicht zutreffend war.

Da die Probanden eine unterschiedliche lipidsenkende Medikation hatten, sollte in der vorliegenden Arbeit zudem analysiert werden, ob und inwiefern die Metabolisierung der einzelnen Statine durch die verschiedenen CYP3A-Enzyme von Polymorphismen beeinträchtigt wird. Dafür dienten wiederum die Cholesterinwerte mit den einzelnen Subfraktionen als Endpunkt. Bei zwei - CYP3A43_3569 (rs580123) und CYP3A43_4855 (rs680055) - der 15 untersuchten SNPs der CYP3As zeigte sich eine signifikante Assoziation ($p=0,011$) mit den Gesamtcholesterinwerten. Dabei war das seltene G-Allel mit niedrigeren Gesamtcholesterin- und LDL-Cholesterinwerten verbunden. Da dieser Effekt jedoch durch die Probandengruppe ohne Statinmedikation bedingt ist, muss er als nicht spezifisch eingeschätzt werden und bestätigt den generellen Einfluss der CYP3As auf die Cholesterinwerte.

Im Gen für die HMGCR bestanden ebenfalls zwischen zwei SNPs und den Cholesterinwerten signifikante Zusammenhänge. Während bislang publizierte Studien nur bei Patienten unter Statin-Therapie deutliche Assoziationen zwischen den SNPs im Gen für die HMGCR und den Cholesterinwerten fanden, zeigten sich in

der vorliegenden Arbeit die Effekte der Polymorphismen in dem Teil des Kollektivs, der keine lipidsenkende Medikation einnahm. Das seltene Allel A des SNPs HMGCR_3119 (rs2241402) hatte eine protektive Wirkung auf die Cholesterinwerte ($p=0,0262$), während das Allel A des SNPs HMGCR_2463 (rs5909) zu erhöhten Cholesterinwerten führte ($p=0,0014$).

Um die beschriebenen Effekte in einer weiteren Population zu bestätigen, wurde eine Normalpopulation genotypisiert. Dabei gelang es, sowohl die protektive Wirkung des Allels A des SNPs HMGCR_3119 als auch die risikobehaftete Wirkung des Allels A des SNPs HMGCR_2463 zu replizieren.

Es bedarf weiterer Studien mit möglichst großen Probandenzahlen, um die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Resultate in einer weiteren Population zu verifizieren. Die Pharmakogenetik ist ein sich entwickelndes Forschungsgebiet und bislang sind einige wichtige Fragen noch unbeantwortet. Auch wenn gegenwärtig in der Klinik eine prädiktive Genotypisierung aus diversen Gründen nicht routinemäßig durchgeführt wird, ist es bei einer gelungenen Zusammenarbeit von Grundlagenforschern und Klinikern möglich, eine individualisierte Medikamententherapie - beispielsweise im Bereich der Therapie mit Statinen - zu realisieren.

2. Einleitung

2.1 Cholesterin – Biosynthese und Abbau

Die Aufklärung des Ablaufes der Cholesterinbiosynthese gelang den Arbeitsgruppen von Konrad Bloch und Feodor Lynen. Sie erkannten, dass das aus fünf C-Atomen bestehende Isopren der Grundkörper des Cholesterins ist und dass das 30 C-Atome beinhaltende Squalen als Zwischenprodukt vorkommt (1).

Die erste Phase der Cholesterinbiosynthese besteht in der Bildung von Mevalonat. Zu Beginn entsteht unter Kondensation von zwei Acetyl-CoA und Abspaltung von CoA-SH Acetacetyl-CoA. Mit der Anlagerung eines weiteren Acetyl-CoA an das Acetacetyl-CoA wird β -Hydroxy- β -Methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) gebildet. Die Reduktion des HMG-CoA durch die HMG-CoA-Reduktase unter Verbrauch von 2 NADPH sowie der Abspaltung von CoA-SH erzeugt Mevalonat (1).

Das Resultat der zweiten Phase stellt das aktive Isopren Isopentenylpyrophosphat dar. Dieses führt über mehrere Kondensationsreaktionen zum Squalen. Dabei erfolgt zuerst die Isomerisierung von Isopentenylpyrophosphat zu Dimethylallylpyrophosphat durch die Isopentenylpyrophosphat-Isomerase. Über die Zwischenprodukte Geranylpyrophosphat sowie Farnesylpyrophosphat wird, indem zwei Moleküle Farnesylpyrophosphat kondensieren, unter der Katalyse der Squalensynthase das 30 C-Atome enthaltende Squalen gebildet (1).

Squalen ist ein Vorläufer des Cholesterins. Zunächst entsteht in einer mehrstufigen Reaktion unter Ringschluss Lanosterin. Eine dreimalige oxidative Demethylierung am Lanosterin und eine Verschiebung der Doppelbindung führen schließlich zur Bildung von Cholesterin (Abbildung 1) (1).

Das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Cholesterinbiosynthese ist die HMG-CoA-Reduktase (2). Die Regulation der HMG-CoA-Reduktase auf molekularer Ebene ist komplex und abhängig von der Expression weiterer Enzyme und Proteine. So führt die Zufuhr von Nahrungscholesterin oder Sterolen und Mevalonsäure zu kultivierten Zellen zu einer schnellen Abnahme der mRNA aller Gene, die an der Cholesterinbiosynthese partizipieren. Im Gegensatz dazu zeigt sich eine Zunahme der Transkription dieser Gene bei Cholesterinmangel (3).

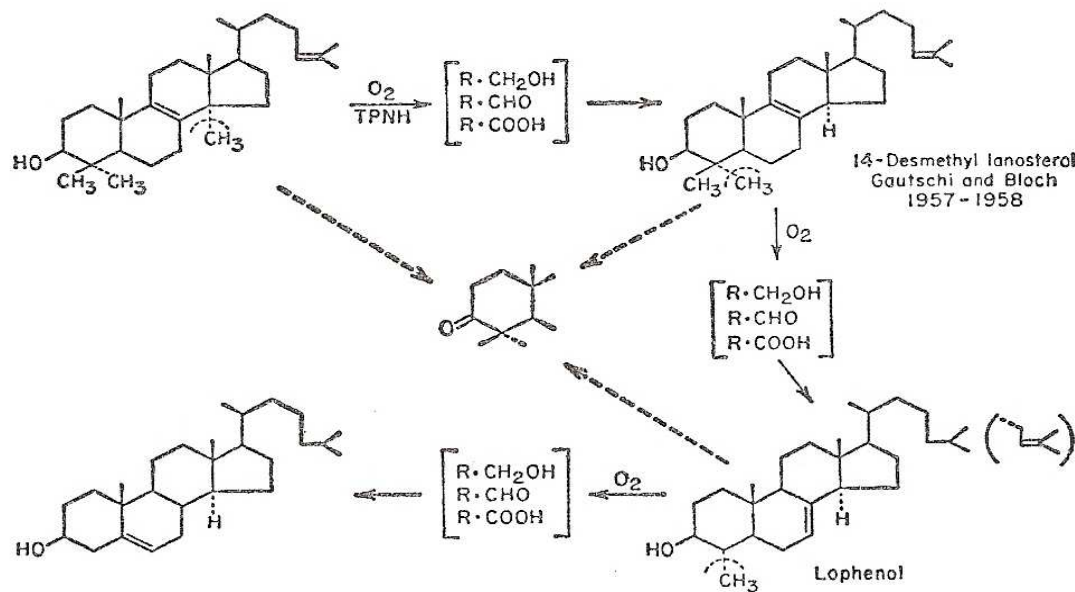


Abbildung 1:

Oxidative Entfernung der Methylgruppen vom Lanosterin und letzte Schritte der Cholesterinbiosynthese, aus Bloch [1]

In ihrer Promotorregion enthalten die Gene der oben genannten Proteine in mehrfachen Kopien ein aus acht Nucleotiden bestehendes Sterolregulationselement 1 (SRE-1, *sterol regulatory element*). Dieses ist ein *enhancer*, der bei Bindung der Transkriptionsfaktoren SREBP (*sterol response element binding protein*) die Transkription der oben genannten Gene aktiviert. Für die Regulation der Gentranskription durch Cholesterin ist überwiegend die Isoform SREBP-2 zuständig. Cholesterin inhibiert die Aktivierung von SREBP-2, so dass die HMG-CoA-Reduktase sowie die Lipidspeicherung ebenfalls gehemmt werden (3-5).

Die HMG-CoA-Reduktase ist ein Protein des endoplasmatischen Retikulums (6). Ihre Enzymaktivität ist in einer cytosolischen Domäne enthalten. Das Enzym ist mit acht Transmembrandomänen in die Membran integriert. Sie dienen auch als Cholesterinsensor und führen zu einem gesteigerten Abbau der HMG-CoA-Reduktase, sobald es zu einer Bindung des Cholesterins an diese Domänen kommt (3). Eine weitere Möglichkeit, die HMG-CoA-Reduktase zu inaktivieren, besteht in der reversiblen Phosphorylierung durch die AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK). Mit Hilfe einer Phosphoproteinphosphatase kann dieser Effekt rückgängig gemacht werden. AMP – der Aktivator der AMPK – ist immer dann gehäuft vorhanden, wenn in Zellen Energiemangel herrscht. Denn in diesem Zustand sollen Energie verbrauchende Prozesse, wie die Cholesterinbiosynthese, abgeschaltet werden (7).

Durch die oben genannten Regulationsfaktoren wird die endogene Cholesterinsynthese mit der Zufuhr von Nahrungscholesterin abgestimmt. Dies ist

nötig, da Cholesterin in wässrigen Medien praktisch unlöslich ist und beispielsweise bei erhöhten Plasmaspiegeln eine Tendenz zur Ablagerung zeigt. Aufgrund seiner hydrophoben Eigenschaften ist der Transport von Cholesterin im wässrigen Medium Blutplasma diffizil. Deshalb bindet Cholesterin an spezifische Transportproteine und wird in Form von Lipoproteinen transportiert. Die im Plasma enthaltenen Lipoproteine können nach ansteigender Dichte in vier Hauptklassen eingeteilt werden: Chylomikronen, *very low density lipoproteins* (VLDL), *low density lipoproteins* (LDL) sowie *high density lipoproteins* (HDL). Diese Lipoproteine differieren sowohl in Bezug auf ihren Lipidgehalt als auch bezüglich des Verhältnisses von Lipiden zu Proteinen. Die LDL-Fraktion hat den höchsten Cholesteringehalt, während die HDL-Fraktion den höchsten Phosphoglyceridgehalt aufweist. Mittlerweile gelang es, die sogenannten Apolipoproteine - in Lipoproteinen vorkommende Proteine - zu klassifizieren und teilweise strukturell zu entschlüsseln (8;9).

Eine Übersicht über die Zusammensetzung der Lipoproteine und die Klassifizierung der Apolipoproteine gibt Tabelle 1.

Tabelle 1:

Zusammensetzung der Lipoproteine, modifiziert nach Löffler [2]

	Chylomikronen	VLDL	LDL	HDL
Dichte (g/ml)	0,93	0,93-1,006	1,019-1,063	1,063-1,21
Durchmesser (nm)	75-1200	30-80	18-25	5-12
Triacylglycerine (%)	86	55	6	4
Cholesterin und Cholesterinester (%)	5	19	50	19
Phospholipide (%)	7	18	22	34
Apolipoproteine	CI-CIII, B ₄₈ , AI, AIV	CI-CIII, B ₁₀₀ , E	B ₁₀₀ , E	CI-CIII, AI, AII, AIV, D, E

Strukturell werden zwei Gruppen von Apolipoproteinen unterschieden: Während ApoB₁₀₀ und ApoB₄₈ nicht zwischen den verschiedenen Lipoproteinen wechseln können und deshalb nicht austauschbare Apolipoproteine genannt werden, sind die in freier Form wasserlöslichen Apolipoproteine der Klassen A, C, D und E auswechselbar (8;9).

Triacylglycerinreiche Lipoproteine entstehen im Darm und in der Leber. Chylomikronen haben ihren Ursprung in den Mukosazellen der duodenalen Schleimhaut. Ihre Funktion liegt im Transport der mit der Nahrung aufgenommenen Triacylglycerine. Durch die Lipoproteinlipase werden Chylomikronen zu *remnants* abgebaut, die zur Leber gelangen. Im Gegensatz dazu werden VLDL in der Leber synthetisiert und transportieren Triacylglycerine, die aus endogenen Quellen der Leber stammen (8-10). Durch die Wechselwirkung mit HDL-Partikeln kommt es nach der Sekretion zu einer Anreicherung mit den Apolipoproteinen E und C. Deshalb erfolgt der Abbau von VLDL-Partikeln am Kapillarendothel durch die dort vorhandene Lipoproteinlipase zu Glycerin und Fettsäuren. Dabei entstehen Partikel von intermediärer Dichte, die sogenannten IDL (IDL, *intermediate density lipoprotein*). In der Leber erfolgt auch durch einen bisher nicht vollständig aufgeklärten Mechanismus die Bildung der LDL-Partikel aus IDL (10).

Die Funktion der LDL-Partikel besteht im Transport des Cholesterins zu den extrahepatischen Geweben sowie der Regulation der Cholesterinbiosynthese. Dazu bindet LDL an den LDL-Rezeptor, der mit Clathrin in Wechselwirkung steht und sich in *coated pits* sammelt. Der LDL/LDL-Rezeptor-Komplex wird endocytiiert, wobei *coated vesicles* entstehen. Aufgrund des Verlustes der Clathrinschicht fusionieren die *coated vesicles* mit den frühen Endosomen. In diesen sinkt durch die Anwesenheit einer ATP-getriebenen Protonenpumpe der pH-Wert unter 6,5, so dass LDL und der Rezeptor dissoziieren. Daraufhin erfolgt der Abbau der LDL in den Lysosomen, wobei die in den LDL-Partikeln eingeschlossenen Cholesterinester durch eine lysosomale saure Lipase hydrolysiert werden (11). Nach dem Verlassen des Lysosoms beeinflusst das freie Cholesterin an der Membran des endoplasmatischen Retikulums zwei Abläufe: Zum einen reduziert es, wie bereits oben erläutert, die Aktivität der in die Cholesterinbiosynthese involvierten Enzyme. Andererseits führt das freie Cholesterin zu einer Aktivierung der Acyl-CoA-Cholesterin-Acyltransferase (ACAT), die eine Veresterung des Cholesterins mit anschließender Speicherung der erzeugten Cholesterinester in den Lipidtropfen der Zelle zur Folge hat. Der LDL-Rezeptor extrahepatischer Gewebe spielt eine wichtige Rolle im Cholesterinstoffwechsel. Er sorgt für eine Senkung des Cholesterinspiegels im Plasma, indem er die cholesterinreichen LDL-Partikel bindet und aufnimmt. Da er die Cholesterinbiosynthese extrahepatischer Gewebe inhibiert, beugt er einer Überschwemmung der Zellen mit Cholesterin vor (8;9;11).

Die Gruppe der HDL ist im Gegensatz zu anderen Lipoproteinen nicht einheitlich, sondern kann in mindestens drei Gruppen – HDL₁, HDL₂ und HDL₃ - eingeteilt werden. Beim Abbau der Chylomikronen entstehen discoidale Partikel, die vor allem Apolipoprotein AI, Phospholipide und Cholesterinester enthalten. Auch der Darm und die Leber produzieren entsprechende HDL-Vorläufer. Wegen des Apolipoproteins AI können diese Partikel das von der Leber synthetisierte und sezernierte Enzym Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) binden. Der Einfluss der LCAT führt dazu, dass der Gehalt der HDL an Cholesterinestern steigt. Zugleich wird der Anteil an Phosphoglyceriden reduziert, da das gebildete Lysophosphatidylcholin besser wasserlöslich ist, und deshalb abdiffundiert. Dadurch erlangen die HDL-Partikel ihre runde Form als Mizelläre Partikel (9). Für den Transport von Cholesterin durch die Plasmamembran ist der ATP-abhängige Transporter ABC-1 notwendig. Mit Hilfe der Bindung an den SR-B1-Rezeptor (Scavenger Receptor-B1) kommt es zur Aufnahme von HDL in die Leber (12). Das internalisierte Cholesterin wird entweder direkt oder nach Umwandlung in Gallensäuren eliminiert. Dieser Mechanismus unterstreicht die Vorstellung, dass im reversen Cholesterintransport eine der wichtigsten Funktionen der HDL besteht (9). Abbildung 2 stellt die Wege des Cholesterintransportes zwischen der Leber und den peripheren Geweben dar.

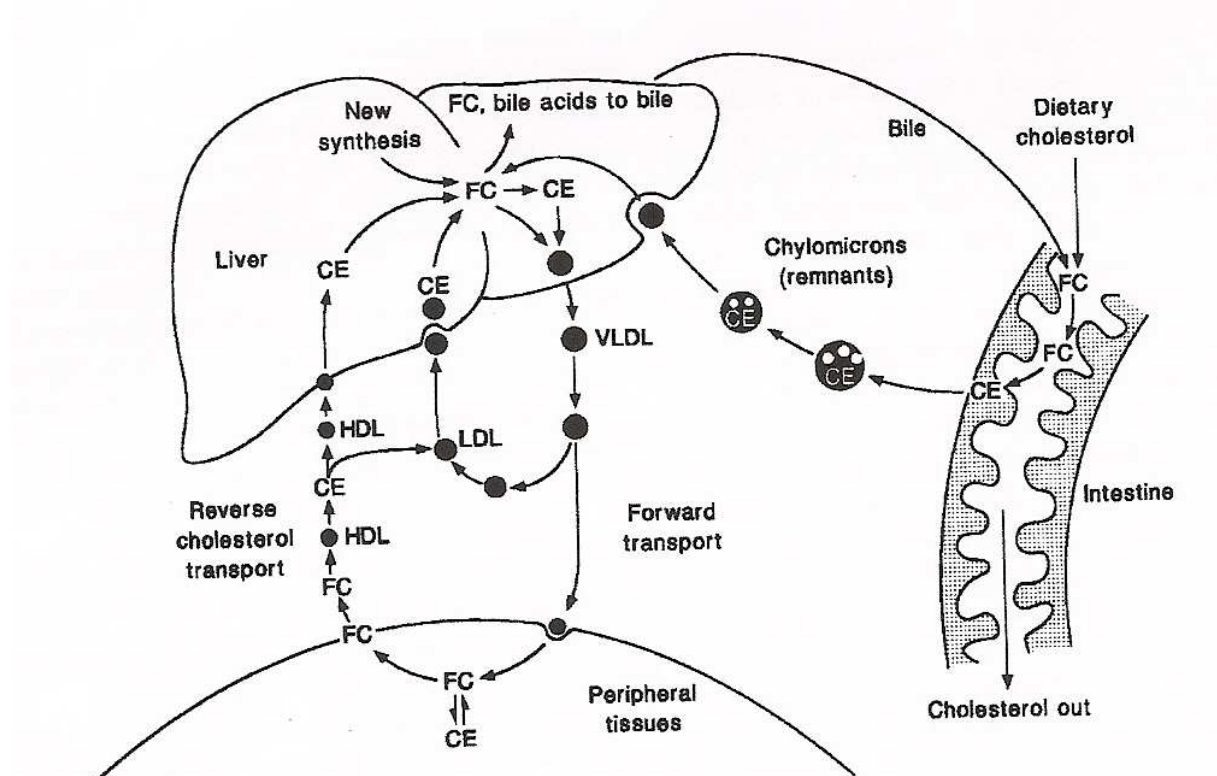


Abbildung 2:

Wichtige Wege des Cholesterintransportes zwischen der Leber und den peripheren Geweben; FC: free cholesterol, CE: cholesteryl ester, aus Fielding [3]

The diagram illustrates the complex pathways of lipid metabolism, showing the flow of lipids between three main compartments: the Liver cell, the Plasma, and the Enterocyte/Peripheral Tissues.

Liver cell:

- Cholesterol Synthesis:** AcetylCoA is converted to Mevalonate by HMGCR. This pathway is regulated by Statins. Mevalonate is converted to Squalene by FDF1, which is then converted to Cholesterol by SQLE.
- Cholesterol Regulation:** Cholesterol levels are regulated by CYP7A1, which converts Cholic Acid to Cholesterol.
- Cholesterol Esterification:** Cholesterol is converted to Cholesterol Ester by SOAT1.
- Lipid Synthesis:** Free FA and DAG are converted to Phospholipid and Triglycerides by DGAT1.
- Transporters:** SCARB1, LDLR, and LRP1 are involved in the uptake of lipids into the liver cell.

Plasma:

- Lipoproteins:** VLDL, IDL, and LDL are formed in the liver cell and enter the plasma. HDL is formed in the plasma from VLDL and IDL.
- Enzymes:** LPL, CETP, and PLTP are involved in the metabolism of lipoproteins in the plasma.
- Other Lipids:** APOB, APOE, APOC1, APOC2, APOC3, APOA1, and APOA4 are associated with lipoproteins.

Enterocyte and Peripheral Tissues:

- Enterocyte:** Cholesterol is taken up from the plasma and converted to ABCG5 and ABCG8 for excretion.
- Peripheral Tissues:** Cholesterol is taken up from the plasma and converted to ABCA1 for excretion.

2.2 Hypercholesterinämie

2.2.1 Definitionen

Im Mai 2001 legten die Mitglieder des *National Cholesterol Education Programs* (NCEP) mit dem *Adult Treatment Panel III* (ATPIII) aktuelle Empfehlungen hinsichtlich der Cholesterinwerte vor, die auch von der *American Heart Association* (AHA) übernommen wurden. Diesen Einschätzungen zufolge liegt eine Hypercholesterinämie vor, wenn das Gesamtcholesterin die Grenze von 200 mg/dl überschreitet. Die optimale Höhe des LDL-Cholesterins wird mit <100 mg/dl definiert und das HDL-Cholesterin sollte mindestens 40 mg/dl betragen. Obwohl sich die American Heart Association für die Verwendung der absoluten Cholesterinwerte ausspricht, gibt sie auch den Grenzbereich der Ratio aus Gesamtcholesterin/HDL-Cholesterin an. Dieses Verhältnis sollte kleiner 5:1 sein und bestmöglich 3,5:1 als Zielwert haben (13;14).

8

Tabelle 2:

Einteilung der Cholesterinwerte, modifiziert nach den Angaben des ATP III [5]

<u>Gesamtcholesterin</u>	
<200 mg/dl	„Erstrebenswert“; reduziert das Risiko, an einer koronaren Herzerkrankung (KHK) zu erkranken
200-239 mg/dl	„Grenzwertig hoch“
≥240 mg/dl	„Hoch“; Risiko an einer KHK zu erkranken mehr als doppelt so hoch
<u>LDL-Cholesterin</u>	
<100 mg/dl	Optimal
100-129 mg/dl	Nahezu optimal
130-159 mg/dl	Grenzwertig hoch
160-189 mg/dl	Hoch
≥190 mg/dl	Sehr hoch
<u>HDL-Cholesterin</u>	
<40 mg/dl	Risikofaktor an einer KHK zu erkranken
40-59 mg/dl	Je höher der Wert, desto besser
≥60 mg/dl	Mutmaßlich protektiv in Bezug auf die KHK

2.2.2 Genetische Komponenten

Hypercholesterinämien lassen sich einerseits in primäre und sekundäre Formen einteilen, andererseits unterscheidet man monogene sowie polygene Arten, wobei die Differenzierung zwischen diesen beiden Formen oft schwierig ist. Die am weitesten verbreitete Form der primären Hypercholesterinämie stellt die polygene Hypercholesterinämie dar. Dieser Begriff umfasst alle Cholesterinerhöhungen nicht genauer bekannter Genese. Die polygene Hypercholesterinämie ist eine Volkskrankheit in den Industrienationen, die mit zunehmend reicherer Ernährung immer bedeutsamer wird. Es wird angenommen, dass es sich um eine Kombination genetischer Einflüsse sowie sogenannter Life-style-Faktoren, wie Ernährung und Bewegungsmangel, handelt. Genetische Varianten führen zu kleineren Abweichungen mehrerer Enzyme und Bindungsproteine, die den Cholesterinstoffwechsel regulieren. Diese können eine Erhöhung der LDL-Spiegel zur Folge haben. Kommt es zudem zu einer dietätischen Belastung durch die Aufnahme vieler gesättigter Fettsäuren und des Cholesterins anstatt von einfach und mehrfach

ungesättigten Fettsäuren, entwickelt sich häufig eine Hypercholesterinämie. Die polygene Hypercholesterinämie ist nicht durch frühe klinische Zeichen gekennzeichnet, denn Xanthelasmen und Arcus lipoides corneae sind selten und unspezifisch. Da die polygene Hypercholesterinämie wesentlich zur hohen Inzidenz koronarer Herzerkrankungen beiträgt, sind Aufklärung der Bevölkerung und Prävention wichtige Aufgaben (15-18).

Die familiäre Dysbetalipoproteinämie („*broad β disease*“) zählt zu den primären Hypercholesterinämien. Sie ist durch eine kombinierte Hyperlipoproteinämie gekennzeichnet. Diese ist auf die Akkumulation von Chylomikronen und VLDL-Remnants zurückzuführen. Genetische Variationen des ApoE beeinflussen dessen Fähigkeit zur Bindung an die Lipoproteinrezeptoren. Dadurch kommt es zur Expression von drei häufigen Isoformen: ApoE3, ApoE2 und ApoE4. Während ApoE4 mit einer erhöhten Inzidenz der Alzheimer-Erkrankung assoziiert ist, hat ApoE2 eine niedrigere Affinität zum LDL-Rezeptor, wodurch Chylomikronen sowie VLDL-Remnants, die ApoE2 enthalten, langsamer aus dem Plasma eliminiert werden. Die größte Untergruppe der Patienten mit familiärer Dysbetalipoproteinämie stellen Patienten dar, die homozygot für das ApoE2-Allel (E2/E2-Genotyp) sind. Circa ein Prozent der Normalbevölkerung ist homozygot für ApoE2/E2. Jedoch entwickeln nur wenige von ihnen eine familiäre Dysbetalipoproteinämie und meist nur dann, wenn ein weiterer Risikofaktor für eine Hyperlipoproteinämie vorliegt. Klinisch imponieren Patienten im Erwachsenenalter mit familiärer Dysbetalipoproteinämie mit Xanthomen, frühzeitiger koronarer Herzerkrankung sowie peripherer arterieller Verschlusskrankheit. Sowohl die Ausbildung tuberoeruptiver als auch palmarer Xanthome wird beobachtet (15-17;19).

Im Gegensatz zur familiären Dysbetalipoproteinämie, bei der meist Triglyzerid- und Cholesterinspiegel erhöht sind, geht die familiäre Hypercholesterinämie mit normalen Triglyzeridspiegeln bei hohen Plasma-LDL-Cholesterin-Konzentrationen einher. Diese werden durch eine Mutation im LDL-Rezeptor-Gen verursacht. Zudem wird in Betracht gezogen, dass ein Defekt des PCSK9, einem Mitglied der Proprotein Convertase Familie, eine familiäre Hypercholesterinämie zur Folge haben kann. 1964 zeigte Khachadurian, dass Mitglieder betroffener Familien in drei Kategorien eingeteilt werden können: Homozygote, deren LDL-Cholesterin-Konzentrationen viermal höher als normal sind, Heterozygote, die doppelt so hohe Werte haben, und nicht betroffene Mitglieder (15;20;21).

Die Inzidenz der heterozygoten familiären Hypercholesterinämie beträgt 1/500 und ist durch einen Defekt im LDL-Rezeptorgen auf dem Chromosom 19 verursacht. Die homozygote Ausprägungsform hingegen ist selten und liegt in der europäischen Bevölkerung bei $<1/10^6$. Inzwischen wurden mehr als 840 verschiedene Mutationen im LDL-Rezeptor-Gen auf dem Chromosom 19 gefunden, die eine familiäre Hypercholesterinämie auslösen. Patienten mit homozygoter familiärer Hypercholesterinämie werden in zwei Gruppen eingeteilt, indem die LDL-Rezeptoraktivität an Hautfibroblasten gemessen wird. Mit einer LDL-Rezeptoraktivität von weniger als zwei Prozent der normalen Referenzwerte gelten die Patienten als rezeptornegativ und bei Patienten mit zwei bis 25 Prozent der normalen Rezeptoraktivität liegt eine Rezeptordysfunktion vor. Klinisch fallen Patienten mit homozygoter familiärer Hypercholesterinämie bereits in der Kindheit durch multi-lokuläre kutane Xanthome, Xanthelasmen, einen Arcus lipoides corneae und symptomatische Herzklappenerkrankungen auf (15;21-23).

Auch Mutationen in der Region des Apolipoproteins B, die für die LDL-Rezeptorbindung verantwortlich ist, können zu einer Erhöhung der LDL-Cholesterinkonzentration im Plasma führen und werden unter dem Krankheitsbild des familiären Apolipoprotein-B-Defektes zusammengefasst. Klinisch ist dieser familiäre ApoB₁₀₀-Mangel nicht von der heterozygoten familiären Hypercholesterinämie zu unterscheiden. Aktuell wird über fünf verschiedene Mutationen in der LDL-Rezeptor-Bindungs-Domäne berichtet. Die am weitesten verbreitete Form stellt die Substitution von Glutamin anstatt Arginins an der Position 3500 im ApoB₁₀₀ dar. Aus der Mutation resultiert eine verminderte Bindungsaffinität des LDL-Cholesterins an den LDL-Rezeptor, so dass mehr LDL-Cholesterin in der Zirkulation verbleibt (13;15-18;23).

Die autosomale rezessive Hypercholesterinämie (ARH) ähnelt klinisch der homozygoten familiären Hypercholesterinämie und ist - außer auf Sardinien - eine selten auftretende Krankheit. Auf molekularer Ebene sind Mutationen nachweisbar, die ein Protein verändern, das an der LDL-Rezeptor vermittelten Endozytose in die Leber beteiligt ist (15-19;23).

Die nachfolgende Tabelle beinhaltet eine Zusammenstellung der oben genannten wichtigen genetischen Störungen, die zu einer Hypercholesterinämie führen können.

Tabelle 3:

Zusammenstellung primärer monogener Hyperlipoproteinämien, modifiziert aus [6]

<u>Genetische Störung</u>	<u>Gendefekt</u>	<u>Erhöhte Lipoproteine</u>	<u>Vererbungsmuster</u>	<u>Vermutete Inzidenz</u>
Familiäre Dysbetalipoproteinämie	ApoE	Chylomikronen und VLDL-Remnants	AR, AD	1/10000
Familiäre Hypercholesterinämie	LDL-Rezeptor	LDL	AD	1/500
Familiärer ApoB-100-Mangel	ApoB 100	LDL	AD	1/1000
Autosomal rezessive Hypercholesterinämie	ARH	LDL	AR	<1/1.000.000

AR = autosomal rezessiv, AD= autosomal dominant

2.2.3 Sekundäre Hypercholesterinämien

Neben einer genetischen Ätiologie können auch Noxen oder andere Grunderkrankungen Ursache einer dann sogenannten sekundären Hypercholesterinämie sein. Die sie auslösenden Mechanismen sind nicht immer vollständig geklärt. Jedoch ist gezeigt, dass gesteigerte Mobilisierung von Fettsäuren aus dem Fettgewebe in der Leber eine erhöhte Triglyzeridsynthese und Sekretion von VLDL auslöst. Bei normaler oder erhöhter Triglyzeridhydrolyse kommt es durch Umwandlung der VLDL in LDL zur Ausbildung einer Hypercholesterinämie. Ist der Abbau der LDL durch die Suppression des Rezeptors gestört, kann ebenfalls eine Hypercholesterinämie entstehen (15-18). Zusätzlich kann eine Abnahme der Lipoproteinlipase-Aktivität zu einem reduzierten Katabolismus der Chylomikronen sowie der VLDL beitragen. Das Auftreten einer Hyperlipoproteinämie beim Diabetes mellitus Typ 2 ist beispielsweise durch diese Mechanismen zu erklären. Auch die Krankheitsbilder der Adipositas, des Alkoholismus und der Pankreatitis können mit einer Hypercholesterinämie einhergehen. Beim Vorliegen einer Hypothyreose stellen die Reduktion der hepatischen LDL-Rezeptoraktivität und eine verzögerte LDL-Clearance die primären Ursachen der erhöhten LDL-Cholesterin-Konzentration dar. Das nephrotische Syndrom ist meist ebenfalls mit einer Hypercholesterinämie assoziiert. Verantwortlich hierfür scheint sowohl eine gesteigerte hepatische Produktion sowie eine verminderte Clearance der VLDL mit einer erhöhten LDL-Bildung zu sein. Aufgrund der Tatsache,

dass die Leber Hauptort der Synthese und Clearance von Lipoproteinen ist, überrascht es nicht, dass Erkrankungen der Leber nachhaltigen Einfluss auf die Plasmalipidspiegel ausüben. Während Hepatitiden unterschiedlicher Genese zu einer HyperTriglyzeridämie führen, kommt es beispielsweise durch eine Cholestase zu einer immensen Hypercholesterinämie (15-18).

Tabelle 4 beinhaltet eine Zusammenstellung der Faktoren, die eine sekundäre Hyperlipoproteinämie auslösen können.

Tabelle 4:

Sekundäre Hyperlipoproteinämien, modifiziert nach [6]

Erhöhtes LDL	Erhöhtes VLDL	Erhöhtes IDL
Hypothyreose	Adipositas	Multiples Myelom
Nephrotisches Syndrom	Diabetes mel. Typ 2	Monoklonale Gammopathie
Cholestase	Glykogenspeicher-Krankheit	Autoimmun-Krankheiten
Akute intermit. Porphyrie	Hepatitis	Hypothyreose
Anorexia nervosa	Alkohol	
Hepatom	Niereninsuffizienz	
Medikamente: Thiazide, Cyclosporin, Tegretal	Sepsis	
	Stress	
	Cushing-Syndrom	
	Schwangerschaft	
	Akromegalie	
	Lipodystrophie	
	Diverse Medikamente	

2.2.4 Hypercholesterinämie und Arteriosklerose

Seit ungefähr 20 Jahren beschäftigt sich die Forschung zunehmend mit der Pathobiologie der Arterienwand und der Frage, inwiefern beispielsweise die Hypercholesterinämie die Arteriosklerose beeinflusst. In Bezug auf die Ätiologie der Arteriosklerose stehen sich zwei Aufklärungsmechanismen gegenüber: Zum einen die „*Response to injury*“-Hypothese Russell Ross' und andererseits das sogenannte „*Lipoprotein-induced atherosclerosis*“-Modell Joseph Leonard Goldsteins. Ross

nimmt als Auslöser eine initiale Verletzung des Endothels der Arterie („Response to injury“) (24) an. Dies zieht eine Entzündungsreaktion nach sich, die zur Ausschüttung von Mediatorsubstanzen (Zytokine und Wachstumsfaktoren) führt. Daraufhin erfolgt die Migration von Makrophagen und anderen immunkompetenten Zellen. Aus der Blutbahn wandern auch Lipide ein, die von Makrophagen aufgenommen werden und zur Entstehung sogenannter Schaumzellen beitragen. Zusammen mit akkumulierten Makrophagen und in glatte Muskelzellen eingelagerten Lipiden bilden Schaumzellen sogenannte „*fatty streaks*“. Im weiteren Verlauf der Arteriosklerose konfluieren die Lipidansammlungen aufgrund des Untergangs der Makrophagen und bilden einen in Fettstreifen eingebetteten verdichteten Lipidkern, der als Atherom bezeichnet wird. Vergrößert sich der Lipidkern und fibrosiert die obere Intima-Schicht der Arterie, so entwickelt sich ein fibröser Plaque oder Fibroatherom. Dieses weist eine kollagenöse und aufbruchgefährdete Deckplatte auf. Eine Ruptur dieser Läsion kann zur Verlegung von arteriellen Endästen führen, indem ein Teil des Atheroms in die distal gelegenen Gefäßabschnitte gelangt. Dadurch kann die Sauerstoffversorgung in dem sich distal anschließenden Gebiet nicht aufrechterhalten werden und der Patient erleidet einen Infarkt (24-26).

Demgegenüber steht die Annahme Goldsteins, dass eine Modifizierung der Lipoproteine, und nicht eine Verletzung des Endothels, den entscheidenden Schritt in der Entwicklung der Arteriosklerose darstellt. Diese Auffassung beruht auf den Ergebnissen von Experimenten an Mäusen und Hasen, die eine Beziehung zwischen der Hypercholesterinämie und der Arteriosklerose nachweisen (27).

Dieser Hypothese zufolge führt die Hypercholesterinämie zur Akkumulation von LDL-Partikeln in der Intima. Die Lipoproteine verbinden sich anschließend häufig mit Bestandteilen der extrazellulären Matrix, wie zum Beispiel mit Proteoglykanen. Durch Sequestration in die Intima werden die Lipoproteine von bestimmten Plasma-oxidantien separiert und ihre oxidative Modifikation wird gefördert. Die modifizierten Lipoproteine können eine lokale Entzündungsreaktion verursachen. Indem verstärkt leukozytäre Adhäsionsmoleküle exprimiert werden, kommt es zur Rekrutierung von Monozyten im Bereich der entstehenden arteriellen Läsion. Nach der Adhäsion der Monozyten wandern einige Leukozyten in die Intima. Die Migration der Leukozyten wird vermutlich von chemotaktisch wirkenden Zytokinen und Lipoproteinen beeinflusst. Als Beispiel soll das MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein 1*) angeführt werden, das von der Gefäßwand als Reaktion auf die veränderten

Lipoproteine produziert wird. Nach der Einwanderung durchlaufen die Monozyten eine phänotypische Modifikation, nehmen LDL auf und werden zu Schaumzellen. Wie in der Hypothese Russell Ross' werden die cholesterinreichen Schaumzellen auch in der „*lipoprotein-induced atherosclerosis*“-Hypothese als Bestandteil der „*fatty streaks*“ angesehen. Zudem stimmen die Anhänger beider Erklärungsmodelle überein, dass einige glatte Muskelzellen ebenfalls zur Bildung von Schaumzellen beitragen können. Wahrscheinlich liegt dies darin begründet, dass es ihnen bei adäquater Aktivierung möglich ist, Scavenger-Rezeptoren zu exprimieren (27;28).

Der Fettstreifen an sich ist klinisch benigne, muss jedoch als Vorläufer später auftretender und dann klinisch relevanter Läsionen gelten. Neben den oben dargestellten Hypothesen zur Genese der Arteriosklerose werden auch Viren und mechanische oder immunologische Verletzungen des Endothels als beteiligte Faktoren in Betracht gezogen. Bislang gibt es aber noch keine ausreichende Evidenz dafür, dass sie ohne das Vorliegen einer Hypercholesterinämie den Prozess der Arteriosklerose initiieren können (28).

2.3 Therapieoptionen

2.3.1 Änderung des Lebensstils

Die Hypercholesterinämie stellt neben Nikotinabusus, Hypertonus, Diabetes mellitus, familiärer Prädisposition und dem Alter einen wesentlichen Risikofaktor für die Entwicklung einer Arteriosklerose sowie deren Folgeerkrankungen, wie die periphere arterielle Verschlusskrankheit, ein Aortenaneurysma und Carotisstenosen dar. Zahlreiche Studien zeigten, dass eine Reduktion des LDL-Cholesterins um 10% das Risiko an einem kardiovaskulären Ereignis zu versterben, um 10%, und eines zu erleiden, um 25% verringert (13;29).

Deshalb ist die Reduktion des LDL-Cholesterins ein Hauptbestandteil der Empfehlungen des *National Cholesterol Education Programs* (NCEP) zur Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen. Im *Adult Treatment Panel III* (ATP III) wird beschrieben, dass alle Erwachsenen über 20 Jahre im Abstand von je fünf Jahren ein Lipoproteinprofil erstellen lassen sollten. Falls dabei erhöhte LDL-Cholesterinwerte festgestellt werden, empfehlen die Mitglieder des NCEPs den Patienten ihre Lebensgewohnheiten zu ändern („therapeutic lifestyle change“, TLC) (13).

Dieses Konzept beinhaltet eine verringerte Zufuhr gesättigter Fettsäuren (<7% der Gesamtkalorienanzahl) und des Cholesterins (<200 mg pro Tag) mit der Nahrung. Zudem soll durch die Aufnahme pflanzlicher Sterole (2 g pro Tag) und Ballaststoffe (20-30 g pro Tag) eine Reduktion des LDL-Cholesterins erreicht werden. Auch die Gewichtsreduktion und vermehrte Bewegung stellen Säulen der Änderung des Lebensstils dar. In mehreren epidemiologischen Studien konnte der Nutzen der Zufuhr von Omega-3-Fettsäuren aus pflanzlichen Quellen sowie aus Fischen für Patienten, die im Hinblick auf eine Koronare Herzerkrankung gefährdet sind, nachgewiesen werden (13;30).

2.3.2 Pharmakologische Interventionsmöglichkeiten

Falls eine Änderung des Lebensstils nicht ausreicht, adäquate LDL-Cholesterinwerte zu erreichen, ist es möglich, dem Patienten eine medikamentöse Therapie anzubieten.

Tabelle 5 gibt einen Überblick über verschiedene Interventionsmöglichkeiten in den Lipoproteinmetabolismus.

Tabelle 5:

Medikamente, die den Lipoproteinmetabolismus beeinflussen, aus ATP III [5]

Drug Class, Agents and Daily Doses	Lipid/Lipoprotein Effects	Side Effects	Contraindications	Clinical Trial Results
HMG CoA reductase inhibitors (statins)*	LDL ↓18-55% HDL ↑5-15% TG ↓7-30%	Myopathy Increased liver enzymes	Absolute: • Active or chronic liver disease Relative: • Concomitant use of certain drugs†	Reduced major coronary events, CHD deaths, need for coronary procedures, stroke, and total mortality
Bile acid Sequestrants‡	LDL ↓15-30% HDL ↑3-5% TG No change or increase	Gastrointestinal distress Constipation Decreased absorption of other drugs	Absolute: • dysbeta-lipoproteinemia • TG >400 mg/dL Relative: • TG >200 mg/dL	Reduced major coronary events and CHD deaths
Nicotinic acid¥	LDL ↓ 5-25% HDL ↑15-35% TG ↓20-50%	Flushing Hyperglycemia Hyperuricemia (or gout) Upper GI distress Hepatotoxicity	Absolute: • Chronic liver disease • Severe gout Relative: • Diabetes • Hyperuricemia • Peptic ulcer disease	Reduced major coronary events, and possibly total mortality
Fibric acids§	LDL ↓5-20% (may be increased in patients with high TG) HDL ↑10-20% TG ↓20-50%	Dyspepsia Gallstones Myopathy Unexplained non-CHD deaths in WHO study	Absolute: • Severe renal disease • Severe hepatic disease	Reduced major coronary events

* Lovastatin (20-80 mg), pravastatin (20-40 mg), simvastatin (20-80 mg), fluvastatin (20-80 mg), atorvastatin (10-80 mg), cerivastatin (0.4-0.8 mg).

† Cyclosporine, macrolide antibiotics, various antifungal agents and cytochrome P-450 inhibitors (fibrates and niacin should be used with appropriate caution).

‡ Cholestyramine (4-16 g), colestipol (5-20 g), colestesvelam (2.6-3.8 g).

¥ Immediate release (crystalline) nicotinic acid (1.5-3 g), extended release nicotinic acid (Niaspan ®) (1-2 g), sustained release nicotinic acid (1-2 g).

§ Gemfibrozil (600 mg BID), fenofibrate (200 mg), clofibrate (1000 mg BID).

2.3.2.1 Fibrate

Fibrate, d.h. der Ethylester der Clofibrinsäure und ihrer Derivate sowie Analoga, wirken über einen nukleären Transkriptionsfaktor, den Peroxisomen-Proliferator-aktivierten Rezeptor α (PPAR- α). Diese beeinflussen mehrere Stoffwechselwege der Lipoproteine in der Leberzelle. Nach der Bindung der Fibrate an PPAR- α erfolgt die

Aktivierung der Transkription mehrerer Gene, die für Apolipoprotein AI und AII, die Lipoproteinlipase, für das Fettsäuren-transportierende Protein (FATP), für die Acetyl-CoA-Synthase und für das Enzym CYP3A4 mit Steigerung der β -Oxidation kodieren. Die Steigerung der Aktivität der Lipoproteinlipase hat eine erhöhte Verwertung der VLDL zur Folge, wodurch jedoch auch die Umwandlung von VLDL in IDL und LDL ansteigt. Der Mechanismus, der dazu führt, dass Fibrate das Gesamt- und LDL-Cholesterin senken, ist bislang nicht vollständig aufgeklärt. Eine Hypothese beinhaltet eine Konformationsänderung der LDL-Partikel, die dadurch besser an den LDL-Rezeptor binden können. Die gesteigerte Synthese von Apolipoprotein AI und AII lässt das HDL-Cholesterin unter einer Fibrattherapie deutlich ansteigen. Unerwünschte Nebenwirkungen der Fibrattherapie können ein vorübergehender Anstieg der Transaminasen, dyspeptische Beschwerden, Bildung von Gallensteinen, Impotenz und Hautausschläge sein. Bei einer Anwendung in Kombination mit Statinen besteht zudem die Gefahr einer akuten Rhabdomyolyse. Absolute Kontraindikationen zum Einsatz von Fibraten stellen eine eingeschränkte Nierenfunktion sowie schwere Erkrankungen der Leber dar (13;31).

2.3.2.2 Nikotinsäure

Nikotinsäure und einige Analoga, beispielsweise Acipimox, binden mit hoher Affinität an einen G_i – Protein-gekoppelten Rezeptor, HM74A. Dieser wird beim Menschen vor allem im Fettgewebe exprimiert. Durch die Bindung kommt es zur Aktivierung einer hoch affinen GTPase und zur Inhibition der intrazellulären Adenylatcyclase sowie der cAMP-Synthese. Darauf folgt die Hemmung der für die Lipolyse entscheidenden hormonsensitiven Triglyzeridlipase, so dass die Konzentration der freien Fettsäuren im Plasma absinkt. Dies zieht eine Reduktion der Bildung von Lipoproteinen, insbesondere von VLDL, in der Leber nach sich. Zudem wird die Aktivität der Lipoproteinlipase am Kapillarendothel gesteigert. Die Reduktion der LDL ist weniger signifikant im Vergleich zur Verringerung der VLDL. Wie die Fibrate führt auch eine Therapie mit Nikotinsäure zu einem Anstieg der HDL. Dieser Effekt beruht möglicherweise auf der Reduktion der fraktionellen Abbaurate der HDL. Die Einnahme von Nikotinsäure kann in bis zu 30% Flush, Hyperglykämie, Hyperurikämie und Hepatotoxizität als unerwünschte Wirkungen aufweisen. Deshalb ist die Akzeptanz sehr eingeschränkt und ein Gebrauch beim Vorliegen eines der genannten Krankheitsbilder kontraindiziert (13;31).

2.3.2.3 Anionenaustauscherharze bzw. Gallensäurebinder

Basische Anionenaustauscherharze, wie Colestyramin und Colestipol, werden nicht resorbiert und binden im Darm Gallensäuren, wodurch deren enterohepatischer Rücktransport unterbrochen wird und die Ausscheidung von sauren und neutralen Sterolen mit den Faeces gesteigert wird. Deshalb erhöht sich der Bedarf an Bildung von Gallensäuren aus Cholesterin in der Leber. Die LDL-Rezeptoren werden aktiviert und die zelluläre Aufnahme von Cholesterin wird gesteigert, so dass die Cholesterinkonzentration im Serum reduziert wird. Patienten mit homozygoter familiärer Hypercholesterinämie sprechen auf Colestyramin nicht an, da sie keine LDL-Rezeptoren besitzen. Im Gegensatz zu den oben genannten pharmakologischen Interventionsmöglichkeiten zeigen Anionenaustauscherharze keinen Einfluss auf die Triglyzeridsynthese. Sie sind bei gemischten Hyperlipidämien und Triglyzeridwerten über 400 mg/dl jedoch kontraindiziert, da es in diesen Fällen zu einem anhaltenden Anstieg der Triglyzeride kommt. Als unerwünschte Wirkungen sind gastrointestinale Beschwerden, gelegentlich ein Anstieg der Transaminasen und sehr selten auch Steatorrhö zu erwarten (13;31).

2.3.2.4 Cholesterinabsorptionsinhibitoren

Ezetimib ist ein 2-Azetidinon, das über eine selektive Hemmung der intestinalen Resorption von Nahrungs- und biliärem Cholesterin und Phytosterolen am Bürstensaum der Enterocyten wirkt. Möglicherweise wird dazu ein spezifischer Steroltransporter blockiert, der in die Zellmembran integriert ist. Der reduzierten Aufnahme folgt ein verminderter Transport von Cholesterin zur Leber. Obwohl die intrazelluläre Neusynthese von Cholesterin in der Leber erhöht wird, sinken Gesamt- und LDL-Cholesterin im Plasma. Dagegen wird die Aufnahme von Triglyzeriden, Fettsäuren und fettlöslichen Vitaminen aus dem Darm nicht beeinträchtigt. Die Metabolisierung von Ezetimib erfolgt nicht über das Cytochrom-P₄₅₀-System und bislang wurden keine Interaktionen mit anderen Arzneimitteln nachgewiesen. In einer randomisierten doppelblinden Studie mit 628 Patienten verringerte Ezetimib die LDL-Cholesterinkonzentration um 18,4 % (32). Bei dieser Studie fielen besonders die synergistischen Effekte von Cholesterinabsorptionsinhibitoren und Statinen auf, da die Kombinationstherapie mit Ezetimib und Atorvastatin eine Reduktion der LDL-Cholesterinkonzentration um 54,5 % bewirkte (32). Auch bei Patienten mit homozygoter familiärer Hypercholesterinämie kann Ezetimib zur Therapie eingesetzt

werden, da der Effekt von der LDL-Rezeptor-Funktion unabhängig ist. Im Vergleich zu Placebogruppen traten unerwünschte Nebenwirkungen nach Einnahme von Ezetimib bisher nicht häufiger auf. Ezetimib ist momentan nur bei deutlich reduzierter Leber- oder Nierenfunktion kontraindiziert, wobei bislang Daten für Kinder und Schwangere fehlen (31;33).

2.3.2.5 Statine

Nachdem man erkannt hatte, dass die Hypercholesterinämie ein essentieller Risikofaktor für die Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung ist, wurde intensiv an Substanzen geforscht, die das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Cholesterinbiosynthese, die HMG-CoA-Reduktase, inhibieren. 1971 gelang es japanischen Forschern das erste Statin, Mevastatin, aus 600 Litern *Penicillium citrinum* Kulturfiltrat zu isolieren (34). Inzwischen wurden zudem Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin, Fluvastatin, Atorvastatin, Cerivastatin und Rosuvastatin entwickelt. Einer Internetquelle (35) zufolge wurden in den USA im Jahr 2004 126 Millionen Rezepte für Statine ausgestellt. Diese Zahl stellt auch die sozioökonomische Bedeutung von Statinen heraus (34).

Alle Statine besitzen ein HMG-Modul, ein Molekülteil, der dem 3-Hydroxy-3-methylglutaryl ähnelt. Man unterscheidet Typ I Statine (Lovastatin, Simvastatin, Pravastatin), die neben dem HMG-Modul einen starren hydrophoben Anteil aufweisen, der dem substituierten Decalinring von Compactin ähnlich ist, und Typ II Statine. Diese vollsynthetischen Inhibitoren (Atorvastatin, Fluvastatin, Rosuvastatin) weisen längere Seitenketten auf, die mehr oder weniger hydrophob sind. Indem die Statine mit ihrem HMG-Modul an die Bindungsstelle von HMG-CoA an der HMG-CoA-Reduktase binden, hemmen sie kompetitiv den Umsatz von HMG-CoA zu Mevalonsäure (vgl. Abbildung 3). Statine erzeugen einen Mangel an intrazellulärem Cholesterin und führen dadurch zu einer gesteigerten Transkription des LDL-Rezeptor-Gens. Sowohl die Anzahl der LDL-Rezeptoren auf der Zelloberfläche als auch die fraktionelle katabole Rate für LDL werden erhöht. Durch die gesteigerte Aufnahme von LDL-Cholesterin aus dem Plasma wird der Cholesterinbedarf der Zellen gedeckt, wohingegen die intrazelluläre Neusynthese von LDL reduziert wird. *In vitro*-Experimente mit Lovastatin an Rattenlebern zeigten, dass 36 Proteine signifikant in ihrer Funktion beeinflusst wurden. So führt die Suppression der HMG-CoA-Reduktase zu einer gesteigerten Aktivität der cytosolischen HMG-CoA-Synthase und

einer erhöhten Synthese von Apolipoprotein AI. Zudem wurden Schlüsselenzyme der Glukoneogenese, Fructose-1,6-diphosphatase und Kethexokinase, in ihrer Aktivität reduziert, während die Glucose-6-phosphat-1-dehydrogenase, das erste Enzym des Pentosephosphatzklus, stimuliert wurde. In Proteinen, die für die Funktion des Zytoskeletts, der Calciumhomöostase, Proteaseinhibition, Signalübertragung und Apoptose verantwortlich sind, wurden Veränderungen festgestellt, die die Autoren als Hinweis für Toxizität werteten (13;31;36).

Tabelle 6 gibt einen Überblick über die Effektivität, die Metabolisierung und weitere pharmakologische Eigenschaften der Statine.

Tabelle 6:

Vergleich der Effektivität und der pharmakologischen Eigenschaften der verschiedenen Statine modifiziert nach Vaughan und Gotto [7]

Präparat	Reduktion Gesamt- Cholesterin (in %)	Reduktion LDL- Cholesterin (in %)	Erhöhung HDL- Cholesterin (in %)	Metabolismus	Halbwertszeit (in Stunden)	hydrophil
Atorvastatin	25-45	26-60	5-13	CYP3A4	13-30	Nein
Fluvastatin	16-27	22-36	3-11	CYP2C9	0,5-3,0	Nein
Lovastatin	16-34	21-42	2-10	CYP3A4	2-4	Nein
Pravastatin	16-25	22-34	2-12	Sulfatierung	2-3	Ja
Rosuvastatin	33-46	45-63	8-14	CYP2C9	19	Ja
Simvastatin	19-36	26-47	8-16	CYP3A4	1-3	Nein

In den 90er Jahren wurden zahlreiche Studien initiiert, die sich mit den Effekten der lipidsenkenden Therapie bei kardiovaskulären Erkrankungen beschäftigten. So untersuchte beispielsweise die *Scandinavian Simvastatin Survival Study* (4S) den Einsatz von Simvastatin bei 4444 Patienten mit Angina pectoris oder bereits abgelaufenem Myokardinfarkt. Der Gruppe, die Simvastatin in einer Tagesdosis von 10-40 mg einnahm, wurde eine Placebogruppe gegenübergestellt. Nach einem Beobachtungszeitraum von 5,4 Jahren zeigte sich, dass in der Simvastatin-Gruppe die Werte des Gesamtcholesterins um 25% und die des LDL-Cholesterins um 35% reduziert wurden. Insgesamt konnte die 4S-Studie veranschaulichen, dass in dem untersuchten Patientenkollektiv im Rahmen der Sekundärprävention durch die Therapie mit Statinen sowohl die Morbidität als auch die Mortalität signifikant gesenkt wurden. Daher besteht für alle Patienten mit erheblich erhöhten

Cholesterinkonzentrationen und bekannten kardiovaskulären Vorerkrankungen die Indikation zur Behandlung der Hypercholesterinämie mit Statinen (37;38).

Die *West of Scotland Coronary Prevention Study* (WOSCOPS) beschäftigte sich mit der Fragestellung, ob eine lipidsenkende Therapie bei Männern mit Hypercholesterinämie, die in der Vorgeschichte keinen Myokardinfarkt erlitten hatten, sinnvoll sei. 6.595 Männer im Alter von 45 bis 64 Jahren erhielten entweder 40 mg Pravastatin pro Tag oder ein Placebo. Nach einem Beobachtungszeitraum von 4,9 Jahren fand man eine Reduktion des Gesamtcholesterins um 20% und des LDL-Cholesterins um 26% in der Gruppe, die Pravastatin eingenommen hatte. Das Auftreten eines Myokardinfarkts und des Herztodes wurde um 31% signifikant verringert. Die WOSCOPS war als Primärpräventionsstudie angelegt, jedoch hatten die Teilnehmer ein hohes Risiko für eine koronare Erkrankung, da sie Männer mittleren Alters waren und erheblich erhöhte Gesamtcholesterin- (272 ± 22 mg/dl) und BMI-Werte ($26 \pm 3,1$ kg/m²) aufwiesen. Zudem bestand ein Drittel des untersuchten Kollektivs aus Rauchern. Verglichen mit den Effekten der Statine bei den Hochrisikopatienten der 4S-Studie sind die Auswirkungen in der WOSCOPS nicht derart deutlich, jedoch immer noch beeindruckend. Die Ergebnisse der WOSCOPS zeigten, dass in der Primärprävention Hochrisikopatienten mit Hypercholesterinämie identifiziert und mit Statinen therapiert werden sollten (39).

Durch die *Long Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease* (LIPID)-Studie wurde die Bedeutung der lipidsenkenden Therapie in der Sekundärprävention belegt. Die in die Studie eingeschlossenen 9.014 Personen hatten als Vorerkrankungen einen Myokardinfarkt oder instabile Angina pectoris und Gesamtcholesterinwerte von 155-271 mg/dl. Nach dem Beobachtungszeitraum von 6,1 Jahren stellte sich heraus, dass die Gesamtcholesterinwerte der Gruppe, die 40 mg Pravastatin pro Tag erhalten hatte, um 18% und die LDL-Cholesterinwerte um 25% gegenüber der Placebo-Gruppe reduziert waren. Auch die Mortalität an einer koronaren Ursache nahm in der Pravastatin-Gruppe um 24% ab. Der größte Nutzen der Therapie mit Pravastatin war in der Gruppe zu beobachten, die initial die höchsten LDL-Cholesterinkonzentrationen aufgewiesen hatten. Daraus kann gefolgert werden, dass selbst in der Sekundärprävention die Patienten mit dem höchsten Risiko, ein weiteres koronares Ereignis zu erleiden, am meisten von einer medikamentösen Intervention profitieren (40;41).

Die Veröffentlichung der *Heart Protection Study* (HPS) bestätigte den Nutzen einer Statintherapie für Patienten, die ein hohes Risiko für die Entwicklung einer arteriosklerotischen Erkrankung hatten, ungeachtet deren initialer Lipidwerte. Die HPS untersuchte 20.536 Personen im Alter von 40 bis 80 Jahren. Für alle Teilnehmer bestand ein hohes Risiko aufgrund einer koronaren Ursache zu versterben, da sie entweder an einer koronaren Herzkrankheit, einer arteriellen Verschlusskrankheit oder an Diabetes litten. Die Patienten wurden randomisiert und einem Teil 40 mg Simvastatin pro Tag, der anderen Gruppe dagegen ein Placebo appliziert. Die durchschnittliche Beobachtungszeit lag bei fünf Jahren. Die Einnahme von Simvastatin resultierte in einer signifikanten Senkung der Gesamtmortalität (12,9%) gegenüber der Placebogruppe (14,7%). Die Mortalität der koronaren Herzkrankheit betrug in der Simvastatin-Gruppe 5,7%, während in der Placebo-Gruppe 6,9% aufgrund einer koronaren Ursache verstarben. Simvastatin führte zu einer Reduktion des Gesamtcholesterins um 20,3% und des LDL-Cholesterins um 29,9%. Signifikant profitierten Frauen, ältere Personen und Patienten mit einer arteriellen Verschlusskrankheit von der Statintherapie. Zudem konnten durch die HPS die letzten Zweifel an der Effektivität der Statine bei Diabetikern ausgeräumt werden, da die Anzahl kardiovaskulärer Erkrankungen der 5.963 in die Studie eingeschlossenen Diabetiker reduziert wurde. Auch die HPS zeigt, dass alle Patienten mit einer bestehenden arteriosklerotischen Erkrankung oder mit einem hohen Risiko, an der Arteriosklerose zu erkranken, eine Therapie mit Statinen benötigen. Den aktuellen Lipidwerten sollte bei der Entscheidung über eine pharmakologische Intervention weniger Gewicht zukommen. Stattdessen soll das kardiovaskuläre Risikoprofil der Patienten ein bedeutendes Kriterium darstellen (42;43).

Während sich die Patientenkollektive der oben genannten Studien vor allem aus Personen mittleren Alters zusammensetzten, untersuchte die *Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk* (PROSPER) erstmals randomisiert 2.804 männliche und 3000 weibliche Teilnehmer im Alter von 70-82 Jahren. Alle Patienten hatten entweder Risikofaktoren für eine vaskuläre Erkrankung oder litten bereits daran. Der definierte Endpunkt setzte sich aus dem Tod durch eine koronare Herzkrankheit, nicht tödlichem Myokardinfarkt sowie tödlichem oder nicht tödlichem Schlaganfall zusammen. Eine Gruppe erhielt 40 mg Pravastatin pro Tag, die andere ein Placebo. Nach einer durchschnittlichen Beobachtungszeit von 3,2 Jahren fand man in der Pravastatin-Gruppe eine Reduktion der LDL-Cholesterin-Werte um 34% und der

Mortalität durch eine koronare Herzkrankheit um 24%. Auch das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, wurde verringert, jedoch wurden in der Pravastatin-Gruppe häufiger neu aufgetretene Karzinome diagnostiziert. Diese Beobachtung wurde in einer Metaanalyse aller Studien mit Pravastatin und anderen Statinen nicht bestätigt. In Bezug auf die Häufigkeit der Schlaganfälle konnte PROSPER keinen Benefit zeigen, jedoch nachweisen, dass Statine auch bei älteren Patienten effektiv sind (44-46).

Die Frage, ob die Reduktion der LDL-Cholesterinkonzentrationen allein für die positiven klinischen Effekte der HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren verantwortlich ist, wird intensiv untersucht. Denn es gibt Hinweise, dass Statine auch cholesterinunabhängige, sogenannte pleiotrope, Effekte haben. Durch die Inhibition der HMG-CoA Reduktase verringern Statine die Konzentration der Isoprenoide, einem Intermediärprodukt der Cholesterinbiosynthese. Posttranslationale Modifikation GTP-bindender Proteine, wie Rho, Ras oder Rac, durch Isoprenylierung ist essentiell für die richtige Funktion und Lokalisation dieser Moleküle. Sie spielen sowohl im Zellwachstum als auch in der Signaltransduktion eine wichtige Rolle (47;48).

Am häufigsten wurden cholesterinunabhängige Effekte von Statinen bei der Wiederherstellung der Funktion des Endothels beschrieben. Diese ist durch eine antithrombotische erhöhte Verfügbarkeit von Stickstoffoxyd (NO) bedingt. Mit Hilfe einer modulierten Aktivierung von Makrophagen könnten Statine auch Plaques stabilisieren. Zudem wird den Statinen eine vasodilatatorische, antithrombotische und immunmodulatorische Wirkung *in vitro* und *in vivo* zugeschrieben. Die antiinflammatorische Funktion von Statinen wurde in mehreren Studien beschrieben, in denen das C-reaktive Protein (CRP) gesenkt wurde (49), jedoch konnten bislang keine dosisabhängige Reduktionen des CRP nachgewiesen werden (50). Die klinische Bedeutung der cholesterinunabhängigen Effekte von Statinen ist schwierig zu erfassen, da eine Statintherapie fast immer mit einer Senkung der Cholesterinkonzentration assoziiert ist, selbst bei Patienten deren Cholesterinwerte initial niedrig waren. Aktuell ist davon auszugehen, dass der Großteil des klinischen Profits der HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren auf die LDL-senkende Wirkung zurückzuführen ist und pleiotrope Effekte einen möglichen Bonus der Therapie darstellen (49-55).

Neben pleiotropen Effekten können mit einer Statintherapie auch unerwünschte Wirkungen einhergehen. Tabelle 7 zeigt die Gesamtzahl an unerwünschten Effekten,

die der *US Food and Drug Administration* (FDA) im Zeitraum von Juli 1999 bis Juni 2004 gemeldet wurden.

Tabelle 7:

Anzahl der unerwünschten Wirkungen von Statinen, die der FDA im Zeitraum von Juli 1999 bis Juni 2004 gemeldet wurden, aus [8]

Year	Atorva- statin	Simva- statin	Prava- statin	Lova- statin	Fluva- statin	Ceriva- statin	Rosuva- statin
July 2003- June 2004	6469	4642	2300	413	669	2337*	872
July 2002- June 2003	4640	3487	1964	332	513	5800*	N/A
July 2001- June 2002	5414	3431	1522	282	422	3936*	N/A
July 2000- June 2001	6072	2981	1399	388	379	1696	N/A
July 1999- June 2000	5787	2437	1231	571	332	912	N/A

FDA = US Food and Drug Administration

N/A: not applicable because rosuvastatin was not introduced into the US market until July 2003

**After withdrawal from the market in August 2001*

Da die Behandlung einer Hypercholesterinämie über lange Zeiträume erfolgen muss, ist die Sicherheit und Tolerabilität der Präparate von großer Bedeutung. Zahlreiche Studien zeigten, dass das hepatische, renale und muskuläre System nur sehr selten negativ durch Statine beeinflusst werden. Am häufigsten fand man unerwünschte Wirkungen der HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren auf die Muskulatur, die von einer leichten Myopathie zu einer Myositis und sehr selten auch zu einer Rhabdomyolyse mit Todesfolge reichten. 2001 wurde Cerivastatin vom Markt genommen, nachdem es zu mehreren Todesfällen aufgrund von Rhabdomyolyse gekommen war. Das Risiko einer Rhabdomyolyse und anderer unerwünschter Wirkungen wird durch mehrere Faktoren erhöht, wie eingeschränkte Leber- und Nierenfunktion, Hypothyreodismus und Diabetes. Auch die Interaktion von Statinen mit anderen Medikamenten, wie beispielsweise dem Fibrat Gemfibrozil, das den Metabolismus der Statine beeinflusst und die Plasmakonzentration der HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren erhöht, stellt einen Risikofaktor dar. Die Mechanismen, die der Myotoxizität zugrunde liegen, sind bis-lang nicht vollständig aufgeklärt. Ein

potentieller Mechanismus besteht in der intra-zellulären Entleerung wichtiger Metabolite und der Destabilisierung von Zell-membranen, woraus eine gesteigerte Zytotoxizität resultiert (56;57).

In 0,5-2,0 % der Fälle konnte eine Erhöhung der Transaminasen während einer Statintherapie festgestellt werden, die wahrscheinlich dosisabhängig ist. Die Inzidenz klinisch relevanter Transaminasenerhöhungen (3 x höher als der Normwert) ist bei Patienten, die ein Statin einnahmen, gleich mit der der Placebo-Gruppe. Statine gelten daher als nicht signifikant hepatotoxisch, da häufig eine Reduzierung der Dosis zu einer Normalisierung der Transaminasenwerte führte. Jedoch werden eine Cholestase und eine aktive Lebererkrankung von der FDA als Kontraindikationen für die Applikation eines HMG-CoA-Reduktaseinhibitors angesehen (58-61).

Oft stehen die oben genannten unerwünschten Wirkungen von Statinen mit der Einnahme weiterer Medikamente und den daraus resultierenden Interaktionen in Zusammenhang. Eine wichtige Rolle spielt dabei das Cytochrom P 450 (CYP), das für die Metabolisierung vieler Substanzen, wie beispielsweise Cyclosporin, Erythromycin, Itraconazol, Ketokonazol und HIV-Proteaseinhibitoren, verantwortlich ist. Abbildung 4 zeigt die in den Metabolismus der Statine involvierten Enzyme.

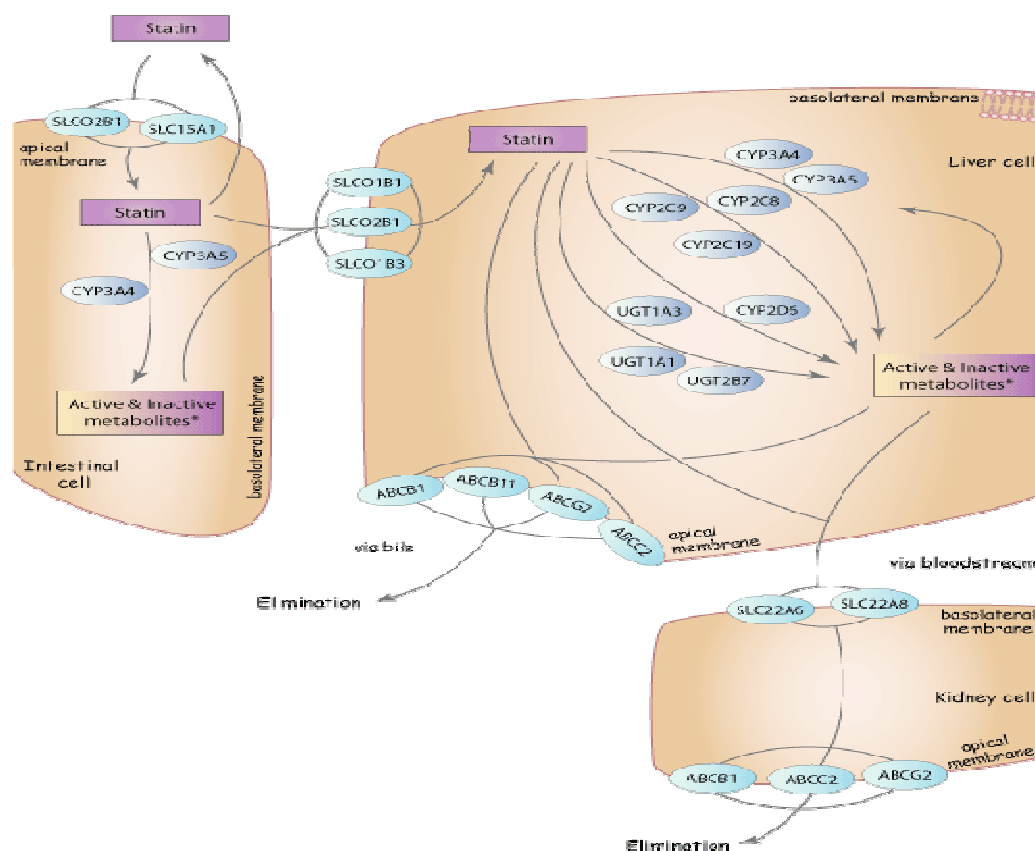


Abbildung 4:
Statin-Metabolismus, aus [4]

Pharmakodynamisch wurde ein erhöhtes Risiko einer Myopathie beschrieben, wenn Statine zusammen mit Fibraten oder Nikotinsäure eingenommen werden. In Kenntnis der pharmakokinetischen Eigenschaften der Statine sollte der Großteil der Interaktionen zwischen den verschiedenen Medikamenten vermieden werden können (62).

2.4 Pharmakogenetik

Obwohl Statine als *first-line* Therapie sowohl in der Primär- als auch der Sekundärprävention der koronaren Herzkrankheit etabliert sind, gibt es eine beachtliche interindividuelle Variation im Ansprechen auf Statine. Generell ist die medikamentöse Therapie häufig ineffektiv. Neben sogenannten „non-respondern“ - Patienten, die auf die applizierten Medikamente nicht ansprechen - verursachen unerwünschte Wirkungen geschätzte Kosten von 100 Mrd \$ und 100.000 Todesfälle pro Jahr in den USA (63). Die Pharmakogenetik beschäftigt sich mit der genetischen Information der Patienten über Medikamententransporter, Enzyme, die in den Metabolismus von Medikamenten involviert sind, und Medikamentenrezeptoren. Ziel der Pharmakogenetik ist es, eine individualisierte Medikamententherapie zu ermöglichen, indem die optimale Wahl und Dosierung einer Substanz getroffen werden können (63;64).

Einen Bereich der Pharmakogenetik stellt auch die Suche nach genetischen Polymorphismen oder variierenden Sequenzen in der Bevölkerung dar, die Einfluss auf die Medikamentenwirkung haben. Die interindividuelle Variabilität im Metabolismus und dem Ansprechen auf Medikamente ist sehr ausgeprägt. Die Plasmakonzentration einer Substanz kann sich bei zwei Individuen mit dem gleichen Gewicht und derselben Dosierung um mehr als das Tausendfache unterscheiden. Die Gründe hierfür liegen in der Genetik, der Physiologie, der Pathophysiologie und der Umwelt. Genetische Variabilität ist bei der Absorption und Metabolisierung von Medikamenten sowie in der Interaktion der Medikamente mit den Rezeptoren bekannt. Darin liegt die Ursache für einen unzureichenden oder effizienten und schnellen Ablauf der Absorption, Metabolisierung und Interaktion mit den Rezeptoren (Abb. 5). Im letzten Jahrzehnt kam den genetischen Faktoren dieser Variabilität zunehmend Bedeutung zu. Schätzungen gehen davon aus, dass 20-40% der interindividuellen Differenzen in der Metabolisierung und dem Ansprechen auf Medikamente eine genetische Ursache haben (63;65).

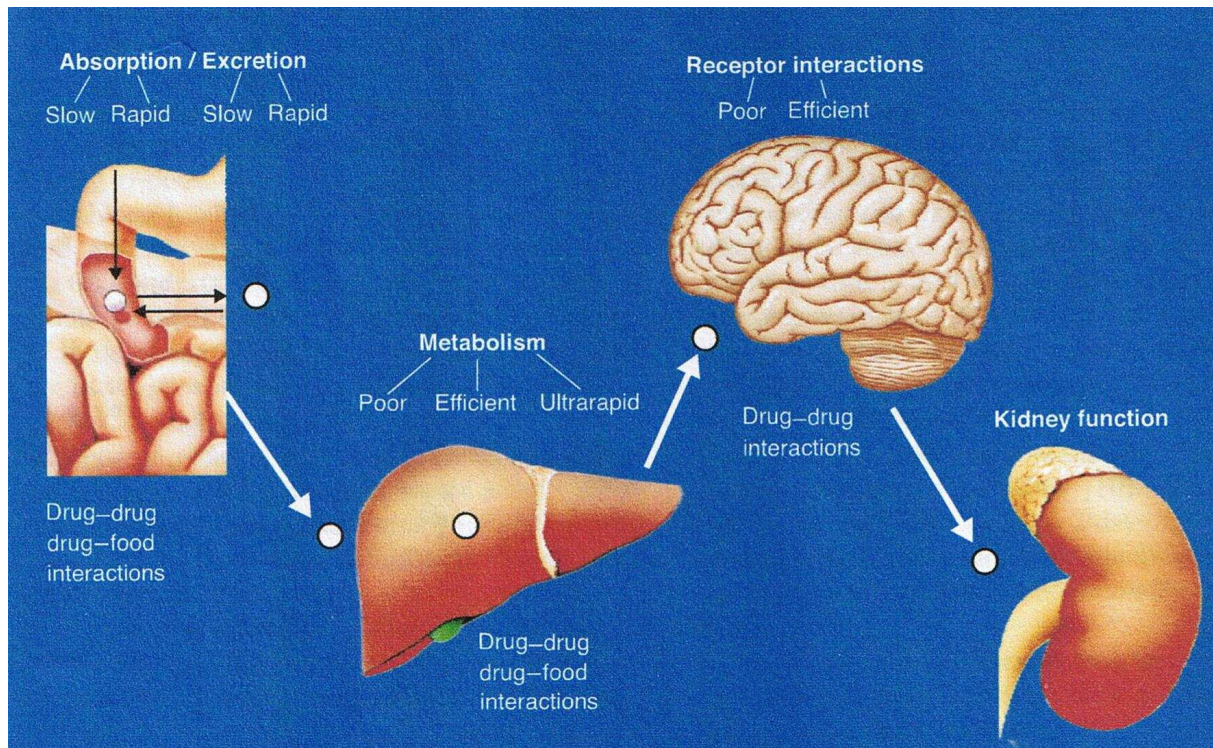


Abbildung 5:

Interindividuelle Variabilität der Medikamentenwirkung, aus [9]

Das menschliche Genom umfasst ca. 30.000 unterschiedliche Gene. Bei einer Gesamtzahl von 3,12 Milliarden Nukleotiden und dem Auftreten von *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) mit einer Häufigkeit von 1/1.250 Basenpaaren zwischen zwei Individuen schätzt man die Anzahl der SNPs zwischen zwei Individuen auf ungefähr 2,5 Millionen. Unter dieser Annahme und der Berücksichtigung der genetischen Variabilität wird die tatsächliche Anzahl der SNPs auf 10 bis 15 Millionen geschätzt. Von diesen kommt der Mehrzahl wahrscheinlich keinerlei Funktion zu und sie sind zwischen den Genen lokalisiert (*intergenic SNPs*). Eine weitere Klasse der SNPs stellen die *perigenic* SNPs dar, die sich zwar in nichtkodierenden Genregionen befinden, aber die Expression beeinflussen können. In den kodierenden Bereichen verursachen die *coding* SNPs einen Austausch der Aminosäuren. Ihre Zahl wird auf 50.000 bis 100.000 geschätzt. Es ist offensichtlich, dass die Kenntnis dieser kodierenden SNPs von größter Bedeutung für das Verständnis der genetischen Basis einer Krankheit und das unterschiedliche Ansprechen auf Medikamente wäre. Das bisherige pharmakogenetische Wissen ermöglicht eine individualisierte Therapie der Patienten sowohl im Hinblick auf die Wahl als auch auf die Dosierung weniger, spezifischer Medikamente (63).

Bezüglich Polymorphismen von Medikamenten-Transportern sind die klinischen Auswirkungen auf die Medikamentenbehandlung wenig bekannt. Insgesamt wurden bislang 15 Allel-Varianten des MDR1 P-Glykoprotein (*multidrug resistance*; P-gp)-Gens gefunden. Es scheint, dass viele Haplotypen des P-gp innerhalb der Bevölkerung verteilt sind und ein genaues Verständnis der Bedeutung dieser Varianten für den Medikamententransport *in vivo* noch nicht vorhanden ist. Generell ist es oftmals schwierig, den Effekt von Mutationen auf die Pharmakokinetik eines applizierten Medikamentes zu bewerten. Zudem wird polymorphen metabolisierenden Enzymen ein größerer Effekt als den polymorphen Transportern zugeschrieben (63;66).

Durch die Sequenzierung des menschlichen Genoms entdeckte man 58 verschiedene menschliche Cytochrom P450 (CYP)-Gene (67). Die Mehrzahl der im Metabolismus von Medikamenten und anderen Xenobiotika aktiven CYP-Enzymen ist polymorph und zusätzlich sind einige Pseudogene vorhanden. Tatsächlich haben nur zwei dieser Enzyme, CYP1A1 und CYP2E1, keine für ihre Funktion wichtigen Mutationen auf diesen Genen. Die interindividuelle Verteilung der CYP-Formen ist äußerst unterschiedlich und die häufigen Polymorphismen sind wahrscheinlich ein Resultat der Ernährungsanpassung der verschiedenen Populationen der Erde. Das Feld der polymorphen CYPs ist momentan relativ komplex, da beispielsweise mehr als 80 verschiedene Allel-Formen von CYP2D6 beschrieben wurden. Tabelle 8 gibt einen Überblick über die wichtigsten Varianten der CYPs, die für die Metabolisierung von Medikamenten und anderen Xenobiotika von besonderer Relevanz sind. Die meisten Allel-Varianten werden mit deutlichen interethnischen Unterschieden verteilt. Die Ursache hierfür ist einerseits ein genetischer *drift* und andererseits eine genetische Selektion. Die Mehrheit der interethnischen Unterschiede wird durch Spontanmutationen auf Genen verursacht, die in bestimmten Bereichen aufgrund der Bevölkerungsexpansion amplifiziert wurden. Die größte klinische Bedeutung unter den hepatischen CYP-Vertretern kommt den CYP2C9-, CYP2D6- und CYP3A4-Genen zu. Ihre Genprodukte sind für 60-70% der Phase I abhängigen Metabolisierung von klinisch relevanten Medikamenten verantwortlich. Die polymorphen Varianten der CYP-Gene verursachen zudem eine erhebliche Anzahl unerwünschter Wirkungen (63;68)

Polymorphe Enzyme (vor allem CYP2C9, CYP2C19 und CYP2D6) katalysieren ungefähr 40% des von CYP-Enzymen katalysierten Medikamenten-Stoffwechsels,

wodurch die Dosierung der Substanzen erschwert wird. Allgemein werden vier Phänotypen unterschieden: *poor metabolizers* (PMs), denen einen funktionierendes

Tabelle 8:

Wichtige Polymorphismen der Cytochrom P450 Enzyme, aus [9]

Enzyme	Major variant alleles	Mutation	Consequence	Allele frequency (%)	
				Caucas	Oriental
CYP1A2	CYP1A2*1F	-164C > A	Higher inducibility	68	
	CYP1A2*2	F21L		Rare	
	CYP1A2*3	D348N		Rare	
	CYP1A2*4	I386F		Rare	
	CYP1A2*5	C406Y		Rare	
	CYP1A2*6	C431Y		Rare	
CYP2A6	CYP2A6*2	L160H	Inactive enzyme	1-3	0
	CYP2A6*4	Gene deletion	No enzyme	1	15
	CYP2A6*9	TATA-mut	Less enzyme	5	14
CYP2C9	CYP2C9*2	R144C	Reduced affinity for P450 reductase	8-13	0
	CYP2C9*3	I359L	Altered substr spec	7-9	2-3
CYP2C19	CYP2C19*2	Aber splice site	Inactive enzyme	13	23-32
	CYP2C19*3	Stop codon	Inactive enzyme	0	6-10
CYP2D6	CYP2D6*2xn	Gene dupl	Increased activity	1-5	0-2
	CYP2D6*4	Defective splic	Inactive enzyme	12-21	1
	CYP2D6*5	Gene deletion	No enzyme	4-6	6
	CYP2D6*6	1707T > del	No enzyme		
	CYP2D6*10	P34S, S486T	Unstable enzyme	1-2	50
	CYP2D6*17	T107I, R296C, S486T	Reduced affinity for substrates	0	(in Blacks 34%)
CYP2E1	CYP2E1*2	R76H	Less enzyme expressed	0	1
	CYP2E1*3	V389I	No effects	<1	0
	CYP2E1*4	V179I	No effects	<1	nd
CYP3A4	CYP3A4*2	S222P	Higher Km for subst.	3	0
	CYP3A4*3	M445T	Unknown	0	<1
	CYP3A4*4	I118V	Decreased	0	<1
	CYP3A4*5	P218R	Decreased	0	<1
	CYP3A4*6	831 insA	Decreased	0	<1
	CYP3A4*7	G56D			Rare
	CYP3A4*8	R130Q			Rare
	CYP3A4*9	V170I			Rare
	CYP3A4*10	D174H			Rare
	CYP3A4*11	T363M			Rare
	CYP3A4*12	L373F			Rare
	CYP3A4*13	P416L			Rare
	CYP3A4*14	L15P			Rare
	CYP3A4*15	R162Q			Rare
	CYP3A4*16	T185S			Rare
CYP3A5	CYP3A5*3	Splicing defect	No enzyme		Common
	CYP3A5*6	Splicing defect	No enzyme		Rare

Enzym fehlt, *intermediate metabolizers* (IMs), denen ein Allel fehlt oder die zwei Allele tragen, die zu einer reduzierten Aktivität führen; *extensive metabolizers* (EMs), deren Allele „normal“ sind und *ultrarapid metabolizers* (UMs), die mehrere Genkopien aufweisen und deren Erbgang dominant ist. Trotz der erheblichen Unterschiede in der Metabolisierungskapazität, orientiert sich die Dosierung eines Medikamentes an Durchschnittswerten der Bevölkerung. In der europäischen Bevölkerung gibt es daher bei Substanzen, die durch CYP2D6 verstoffwechselt werden, 5,5% UMs, die

durch den zu schnellen Metabolismus nicht auf das applizierte Medikament ansprechen. Andererseits treten bei 7% der Bevölkerung, die PMs sind, aufgrund der zu hohen Plasmaspiegel unerwünschte Wirkungen auf (Abbildung 6). Wenn man bedenkt, dass 20-30% aller Medikamente von CYP2D6 metabolisiert werden, wird deutlich, dass 35-50 Millionen Menschen in Europa keine adäquate Medikamentendosis erhalten, da bei der Dosierung der Medikamente ihr Genotyp nicht berücksichtigt wird (69).

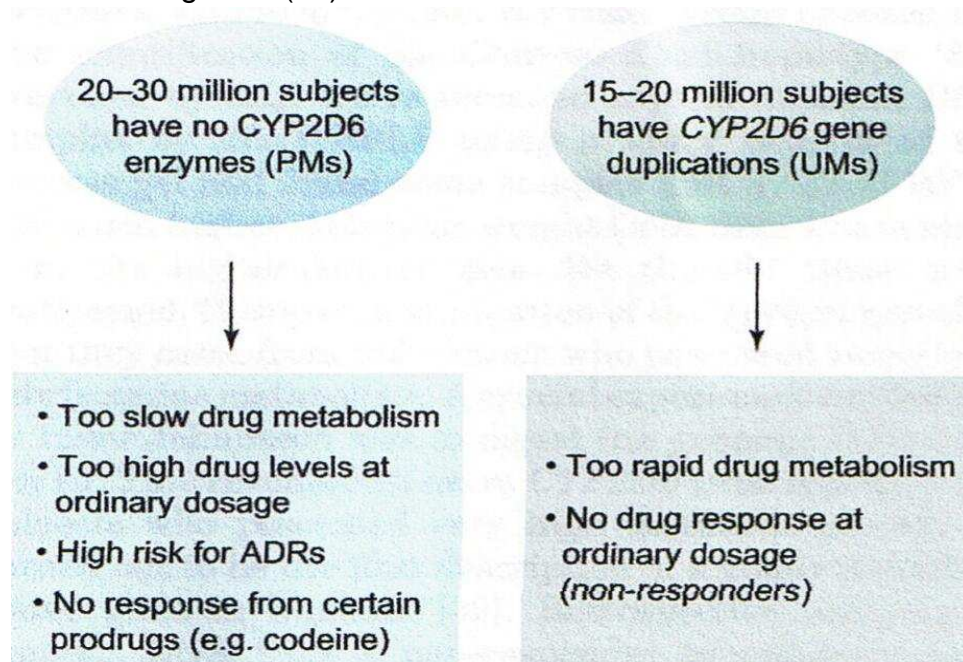


Abbildung 6:

35-50 Millionen Europäer sind entweder poor metabolizers (PMs) oder ultrarapid metabolizers (UMs) im Hinblick auf CYP2D6, aus [10]

Ungefähr 40-45% des gesamten Metabolismus der Medikamente in Phase I wird von CYP3A4 durchgeführt. Dieses Enzym bleibt über verschiedene Individuen hinweg konstant und bislang wurde im Wesentlichen keine funktionell abweichende Form bei Kaukasiern oder Orientalen beobachtet. Dennoch gibt es eine relativ hohe interindividuelle Variabilität in der Aktivität der CYP3A4, von der man annimmt, dass sie einen genetischen Hintergrund habe. Die Ursachen dafür wurden bislang jedoch nicht geklärt (70-72).

Neben genetischen Gründen tragen auch eine mangelnde Compliance der Patienten, spezifische pathophysiologische Voraussetzungen sowie ungünstige Interaktionen verschiedener Medikamente zu einer suboptimalen Medikamententherapie bei (69).

In Bezug auf pharmakogenetische Erkenntnisse besteht kein Zweifel darüber, dass Polymorphismen der metabolisierenden Enzyme, und dabei insbesondere die der

Cytochrome P450, den größten Einfluss auf die individuelle Variabilität beim Ansprechen auf Medikamente haben. Denn diese Polymorphismen betreffen das individuelle Ansprechen auf Medikamente, die beispielsweise zur Therapie von Depressionen, Psychosen, Karzinomen, kardiovaskulären Erkrankungen, Ulcera und gastrointestinalen Störungen, Schmerz und Epilepsie eingesetzt werden (63;68;69;73-76). Tabelle 9 veranschaulicht die klinischen Auswirkungen der Cytochrom P450-Pharmakogenetik.

Tabelle 9:

Beispiele für die klinischen Auswirkungen der Cytochrom P450-Pharmakogenetik, aus [10]

Disease	Enzyme	% of dose ^b		Examples
		UMs	PMs	
Depression	CYP2C9	–	–	Bipolar disorders and valproate
	CYP2C19	–	40	PMs and SSRIs
	CYP2D6	200	30	Non-responders (UMs) and side-effects of tricyclic antidepressants (PMs)
Psychosis	CYP2D6	160	30	Haloperidol and parkinsonian side-effects; oversedation and perphenazine, thioridazine
Ulcer	CYP2C19	–	20	Dosing of PPIs; pH and gastrin changes
Cancer	CYP2B6	–	–	Cyclophosphamide metabolism
	CYP2D6	250	60	Non-response to anti-emetic drugs (UMs)
Cardiovascular	CYP2C9	–	30	Warfarin dosing (acenocoumarol); irbesartan and blood pressure response
	CYP2D6	160	30	Perhexiline neuropathy and hepatotoxicity
Pain	CYP2D6	–	–	Codeine, no response (PMs)
Epilepsy	CYP2C9	–	–	Phenytoin pharmacokinetics and side-effects

b: alle Dosierungen sind in Prozentwerten der Normaldosis angegeben

Auch Lovastatin, Simvastatin und Atorvastatin werden durch CYP3A4 metabolisiert, wohingegen Fluvastatin durch CYP2C9 verstoffwechselt wird. Im Gegensatz dazu ist die Metabolisierung von Pravastatin, Rosuvastatin und Pitavastatin anscheinend nicht vom CYP P450 System abhängig (Abbildung 7) (77).

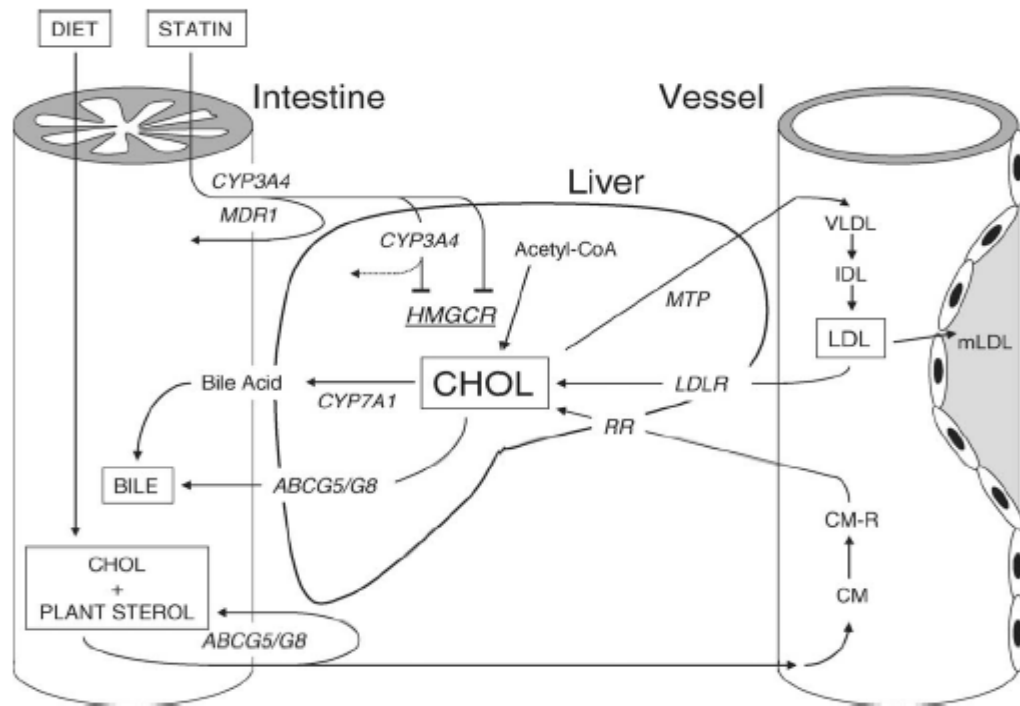


Abbildung 7:

Metabolismus der Gene, die die Pharmakogenetik der Statinantwort beeinflussen, aus [11]

Die Aktivität von CYP3A4 kann zwischen Patientengruppen um das Zehnfache variieren, wofür möglicherweise Polymorphismen in Genen verantwortlich sind, die für diese Enzyme kodieren. Um diese Hypothese zu untersuchen, wurden von Kajinami et al. die Effekte von CYP3A4-Polymorphismen auf die Reaktion der Lipidwerte nach Gabe von Atorvastatin beobachtet (78).

In dieser Untersuchung zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen einer *Promoter*-Variante (A-290G) und den LDL-Cholesterinwerten nach der Therapie. Zudem wurde eine deutliche Assoziation zwischen einer *Missense*-Variante (M445T) und den LDL-Cholesterinwerten sowohl vor als auch nach der Therapie beobachtet (78).

In einer Studie mit der bislang größten Probandenzahl (n=1.536) wurden 148 SNPs auf zehn Genen (Tabelle 10) untersucht, von denen bekannt ist, dass sie die Cholesterinsynthese, -absorption, -transport und den Statinmetabolismus beeinflussen (79).

Tabelle 10:

Kandidatengene für genetische Analysen der Reduktion von Lipidwerten, modifiziert nach Chasman et al. [12]

Gensymbol	Anzahl der SNPs	Codiertes Protein	Funktion
ABCG5	2	<i>ATP-binding cassette, subfamily G, member 5</i>	Cholesterintransport über die Plasmamembran
ABCG8	15	<i>ATP-binding cassette, subfamily G, member 8</i>	Cholesterintransport über die Plasmamembran
APOB	22	Apolipoprotein B	Wichtiges Bindungsprotein für LDL-Cholesterin
APOE	19	Apolipoprotein E	Wichtiges Bindungsprotein für VLDL/IDL-Cholesterin
CETP	17	Cholesteryl-Ester-Transfer-Protein	Transfer von Cholesterinestern auf Lipoproteinpartikeln
CYP3A4	1	Cytochrom P450, Unterfamilie IIA, Polypeptid 4	Statinmetabolismus
CYP3A5	6	Cytochrom P450, Unterfamilie IIA, Polypeptid 5	Statinmetabolismus
FDFT1	11	Farnesylldiphosphat-Farnesyltransferase 1, Squalen Synthase	Cholesterinsynthese
HMGCR	33	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzym A Reduktase	Cholesterinsynthese
LDLR	22	LDL-Rezeptor	Rezeptor für Plasma-LDL

Darunter war auch einer der CYP3A4-Polymorphismen, jedoch gelang es den Autoren nicht, deutliche Effekte einer genetischen Variante auf die Lipidwerte nach einer Pravastatin-Therapie nachzuweisen. Im Gegensatz dazu zeigten sich bei zwei SNPs, die auf dem Gen, das für die HMG-CoA-Reduktase kodiert, lokalisiert sind, signifikante Assoziationen. Diese führten zu einer reduzierten Wirksamkeit der applizierten Therapie mit Pravastatin (40 mg/d) (65;79).

Bislang war jedoch keine der publizierten Assoziationen so bedeutsam, dass sie eine genetische Analyse in der klinischen Praxis gerechtfertigt hätte. Die veröffentlichten

Daten lassen vermuten, dass größere Studien (> 1000 Probanden) oder Kombinationsanalysen mit mehr als zwei verschiedenen Polymorphismen es ermöglichen könnten, klinisch oder biologisch wichtige Unterschiede zu finden. Diese Differenzen könnten sich auf mehr als zehn Prozent belaufen. Gene, die die Cholesterinbiosynthese in der Leber beeinflussen, wie ABCG5/G8, CYP7A1 und die HMG-CoA-Reduktase, wären gute Kandidaten für zukünftige Studien (80).

3. Material und Methoden

3.1 Auswahl des Kollektivs für die Einzelgenotypisierung

Das in dieser Arbeit untersuchte Kollektiv stammt aus der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (HIFAM). Die Auswahlkriterien dafür wurden bereits ausführlich beschrieben (81;82). Alle Teilnehmer wurden charakterisiert, indem sie einen standardisierten Fragebogen ausfüllten, klinisch untersucht wurden und biochemische Analysen gemacht wurden. Die wichtigsten Charakteristika der Studienpopulation zum Zeitpunkt ihres Einschlusses in die Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie sind in den Tabellen 11a und 11b zusammengefasst. Die 967 Personen, die keine lipidsenkende Medikation einnahmen (Tabelle 11a), gehören zur Kontrollgruppe der HIFAM. Die Kontrollpersonen waren Ehepartner, Schwägerinnen oder Schwäger von Personen, die entweder einen Myokardinfarkt erlitten hatten oder an einer schweren koronaren Herzkrankheit (KHK) erkrankt waren. In Tabelle 11b sind die Charakteristika der 1.669 Teilnehmer mit lipid-senkender Medikation zum Studieneinschluss und zu der Wiederholungsuntersuchung nach 5 Jahren dargestellt. Dieses Kollektiv war entweder zu Beginn oder im Verlauf der Studie von einer schweren KHK oder einem Myokardinfarkt betroffen. Die Definition einer schweren KHK beinhaltete eine Behandlung mit einer perkutanen Koronarintervention oder einem aortokoronaren Bypass. Blutsverwandte Individuen wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Studie wurde nach den Richtlinien der *Declaration of Helsinki* (2000) der *World Medical Association* durchgeführt und erhielt die Zustimmung der Ethikkommission der Universität Regensburg (83).

Zur Replikation der Ergebnisse der Genotypisierung des HIFAM-Kollektivs wurde die Survey III-Population verwendet. Die Teilnehmer dieser Studie partizipierten in der echokardiographischen Unterstudie (Gesamtteilnehmerzahl n=1.678) der dritten MONICA (MONItroing of trends and determinants in CArdiovascular disease) Augsburg survey (84). Diese wird jetzt im Rahmen von KORA (Cooperative Health

Research in the Augsburg Area) fortgesetzt. Die Survey III-Population repräsentiert eine geschlechts- und altersgeschichtete Stichprobe aller deutschen Bewohner der Augsburger Region. Sie setzt sich aus Individuen zwischen 25 und 74 Jahren zusammen. Das Kollektiv wurde durch eine klinische Untersuchung, Blutuntersuchungen und eine standardisierte Befragung, die die Vorerkrankungen, körperliche Aktivität, Medikation und die persönlichen Gewohnheiten erforschte, charakterisiert (84) (Tabelle 11a).

Tabelle 11a:

Charakteristika der Studienpopulation der HIFAM und aus KORA/MONICA S3 **ohne lipidsenkende Medikation**

Variable	HIFAM ohne Lipidsenker (<i>n</i> = 967)	S3 ohne Lipidsenker (<i>n</i> = 1.357)
Alter zum Studieneinschluss	56,4 ± 10,5 (24-92)	50,9 ± 13,7 (25-74)
Geschlecht, % männlich (<i>n</i>)	27,5 (266)	51,7 (701)
Lipidsenker-Einnahme	0	0
Hypercholesterinämie [†] , % (<i>n</i>)	74,9 (724)	59,6 (809)
Gesamtcholesterin, mg/dL	242,4 ± 42,6	233,6 ± 44,2
HDL-Cholesterin, mg/dL	60,1 ± 16,2	53,8 ± 16,5
LDL-Cholesterin, mg/dL	154,5 ± 37,1	144,1 ± 43,1
Triglyzeride, mg/dL	159,5 ± 105,7	n.a.
Hypertonus [‡] , % (<i>n</i>)	53,9 (495)	43,9 (595)
Systolischer Blutdruck, mmHg	136,4 ± 19,2	136,0 ± 20,8
Diastolischer Blutdruck, mmHg	83,4 ± 10,1	81,3 ± 12,0
Übergewicht [§] , % (<i>n</i>)	20,9 (202)	20,0 (270)
Body mass index, kg/m ²	26,9 ± 4,3	26,8 ± 4,2
Diabetes mellitus , % (<i>n</i>)	5,8 (56)	3,6 (49)
Nikotinabusus [¶] , % (<i>n</i>)	46,9 (453)	58,1 (788)
Herzinfarkt, % (<i>n</i>)	0	2,7 (37)

Wenn nicht anders spezifiziert, sind die Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben.

[†] Definiert als LDL ≥ 130 mg/dL (es wurden nur Patienten ohne lipidsenkende Therapie eingeschlossen)

[‡] Definiert als Blutdruckwert ≥ 140/90 mm Hg

[§] Definiert als body mass index ≥ 30 kg/m²

‡ Definiert als Diabetes mellitus in der Vergangenheit oder Einnahme einer antidiabetischen Medikation

¶ Nikotinabusus aktuell oder in der Vergangenheit

Um die Werte für Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin in mmol pro Liter umzurechnen, müssen sie durch 38,66 geteilt werden.

Tabelle 11b:

Charakteristika der Studienpopulation der HIFAM mit lipidsenkender Medikation

Variable	HIFAM mit Lipidsenker (n=1.669)
Alter zum Studieneinschluss	59,8 ± 8,2 (26-86)
Alter zum 5-Jahres-Follow-up	65,2 ± 8,1 (32-91)
Geschlecht, % männlich (n)	73,2 (1.221)
Studieneinschluss, n	1.669
Gesamtcholesterin, mg/dL	230,5 ± 49,3
HDL-Cholesterin, mg/dL	50,6 ± 13,4
LDL-Cholesterin, mg/dL	154,6 ± 44,9
Triglyzeride, mg/dL	209,2 ± 173,7
kein Lipidsenker zum Studieneinschluss, % (n)	30,3 (506)
Statine zum Studieneinschluss, % (n)	69,7 (1.163)
Atorvastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	27,3 (318) / 16,3 ± 9,7
Simvastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	34,8 (405) / 16,3 ± 9,9
Lovastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	12,1 (141) / 21,8 ± 11,1
Pravastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	8,9 (104) / 16,0 ± 8,2
Cerivastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	7,5 (87) / 0,25 ± 0,08
Fluvastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	9,3 (108) / 26,7 ± 9,23
Hypertonus ‡, % (n)	55,8 (905)
Systolischer Blutdruck, mmHg	139,6 ± 20,1
Diastolischer Blutdruck, mmHg	83,1 ± 10,3
Übergewicht §, % (n)	20,9 (202)
Body mass index, kg/m²	27,1 ± 3,3
Diabetes mellitus ‡, % (n)	13,9 (230)
Nikotinabusus ¶, % (n)	65,3 (1.088)
Herzinfarkt / KHK, % (n)	64,6 (1.079) / 84,3 (1.407)
5-Jahres-Follow-up, n	1.669
Gesamtcholesterin, mg/dL	202,3 ± 42,7
HDL-Cholesterin, mg/dL	49,5 ± 12,2
LDL-Cholesterin, mg/dL	106,9 ± 30,7
Triglyzeride, mg/dL	169,5 ± 124,3
kein Lipidsenker zum 5-Jahres-Follow-up, % (n)	8,7 (146)
Lipidsenker/Statine zum 5-Jahres-Follow-up, % (n)	91,3 (1.523)

Atorvastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	31,5 (526) / 18,8 ± 12,8
Simvastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	42,2 (706) / 20,3 ± 12,9
Lovastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	3,2 (53) / 24,8 ± 12,3
Pravastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	8,1 (136) / 20,6 ± 9,7
Fluvastatin, % (n) / tägliche Dosis (mg)	5,2 (86) / 51,0 ± 24,2
Sonstige, % (n) [†]	1,0 (16)
Herzinfarkt / KHK, % (n), einschl.	66,6 (1.111) / 86,9 (1.450)
Studieneinschluss	

Wenn nicht anders spezifiziert, sind die Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben.

‡ Definiert als Blutdruckwert ≥ 140/90 mm Hg

§ Definiert als body mass index ≥ 30 kg/m²

|| Definiert als Diabetes mellitus in der Vergangenheit oder Einnahme einer antidiabetischen Medikation

¶ Nikotinabusus aktuell oder in der Vergangenheit

† Nicht aufgeführte Lipidsenker (Fibrate etc.)

Um die Werte für Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin in mmol pro Liter umzurechnen, müssen sie durch 38,66 geteilt werden.

3.2 Kriterien der Selektion der Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

Der Auswahl der SNPs aus der Datenbank dbSNP Version 126 wurden folgende Kriterien zugrunde gelegt:

1. Eintrag über die Allelfrequenz
2. Gleichmäßige Verteilung über das HMGCR-Gen (s. Tab 12) mit einem durchschnittlichen Abstand von 4730 bp bzw. vorhandene Information über CYP3A-Genpolymorphismen
3. Möglichst Lage in Exons oder in der Nähe
4. Lokalisation jeweils im 5' und 3' intergenischen Bereich zur Abgrenzung des Genlokus
5. SNP im Promotor-Bereich
6. Berücksichtigung der HapMap-LD Struktur
7. Verfügbarkeit als TaqMan-Assay bei *Applied Biosystems*

In Tabelle 12 sind alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten SNPs in den Genen für die HMG-CoA-Reduktase, CYP3A, CETP und ApoE sowie deren wichtigste Charakteristika zusammengefasst.

Tabelle 12:
Übersicht über die untersuchten SNPs

TaqMan-Name	Chr.	Position hg 17	Distanz	dbSNP	Gen	SNP-Lage
HMGCR_5309	5q13	74.663.770	-	rs3931914	<i>HMGCR</i>	5' intergenisch
HMGCR_6930	5q13	74.667.889	4.119	rs3761740	<i>HMGCR</i>	5' intergenisch
HMGCR_7224	5q13	74.673.467	5.578	rs10038095	<i>HMGCR</i>	Intron 1
HMGCR_2054	5q13	74.677.316	3.849	rs10515198	<i>HMGCR</i>	Intron 5
HMGCR_3119	5q13	74.682.011	4.695	rs2241402	<i>HMGCR</i>	Intron 8
HMGCR_8669	5q13	74.686.840	4.829	rs3846662	<i>HMGCR</i>	Intron 13
HMGCR_2463	5q13	74.691.931	5.091	rs5909	<i>HMGCR</i>	3' nicht-translatiert
HMGCR_8665	5q13	74.701.616	9.685	rs3733907	<i>HMGCR</i>	3 intergenisch
CYP3A5_3531	7q22	98.890.565	-	rs15524	<i>CYP3A5</i>	3' nicht-translatiert
CYP3A5_6746	7q22	98.915.190	24.625	rs776746	<i>CYP3A5</i>	Intron 3
CYP3A5_1723	7q22	98.922.256	7.066	rs28365095	<i>CYP3A5</i>	5' nicht-translatiert
CYP3A7_0211	7q22	98.947.645	25.389	rs10211	<i>CYP3A7</i>	3' nicht-translatiert
CYP3A7_4551	7q22	98.951.336	3.691	rs2257401	<i>CYP3A7</i>	Exon 11, T409R
CYP3A4_3812	7q22	99.000.626	49.290	rs3735451	<i>CYP3A4</i>	Intron 12
CYP3A4_6468	7q22	99.004.562	3.936	rs12721617	<i>CYP3A4</i>	Intron 10
CYP3A4_2480	7q22	99.006.117	1.555	rs2242480	<i>CYP3A4</i>	Intron 10
CYP3A4_6227	7q22	99.009.734	3.617	rs4646437	<i>CYP3A4</i>	Intron 7
CYP3A4*1B	7q22	99.026.747	17.013	rs2740574	<i>CYP3A4</i>	Promotor (-288)
CYP3A43_3563	7q22	99.090.875	64.128	rs487813	<i>CYP3A43</i>	Intron 6
CYP3A43_7740	7q22	99.091.892	1.017	rs800667	<i>CYP3A43</i>	Exon 7, N198N
CYP3A43_4855	7q22	99.102.256	10.364	rs680055	<i>CYP3A43</i>	Exon 10, P340A
CYP3A43_3569	7q22	99.105.109	2.853	rs580123	<i>CYP3A43</i>	Intron 11
CYP3A43_6830	7q22	99.118.275	13.166	rs1025576	<i>CYP3A43</i>	3' intergenisch
CETP_5318	16q13	55.553.789	-	rs708272	<i>CETP</i>	Intron 1, "Taq1B"
CETP_0057	16q13	55.573.593	19.804	rs5882	<i>CETP</i>	Exon 14, V422I
ApoE_4793	19q13	50.103.781	-	rs429358	<i>APOE</i>	Exon 4, C112R
ApoE_4973	19q13	50.103.919	138	rs7412	<i>APOE</i>	Exon 4, R156C

3.3 DNA-Extraktion und Konzentrationsbestimmung

Die Extraktion der DNA wurde im Rahmen der Regensburger Herzinfarkt-Familien-Studie sowie der Survey III durchgeführt. Für die DNA-Extraktion wurde zum EDTA-Blut die *RBC Lysis Solution* (Puregene, Gentra Systems, Minneapolis, USA) hinzugefügt, um die Lyse der Erythrozyten zu erreichen. Zu den daraus entstandenen Pellets wurde die *Puregene Cell Lysis Solution* (Gentra Systems) pipettiert, um anschließend die Pellets zu resuspendieren. Das Lysat wurde mit Puregene Protein-Präzipitationslösung (Gentra Systems) vermischt und schließlich zentrifugiert. Aus dem Überstand, der in ein mit Isopropanol befülltes Falcon-Gefäß gegeben wurde, erfolgte die Extraktion der DNA. Nach der Zugabe von Ethanol sowie einer erneuten Zentrifugation wurde zu dem entstandenen Pellet *Puregene DNA Hydration Solution* (Gentra Systems) hinzugefügt.

Die Konzentrationsbestimmung wurde durch eine photometrische UV-Messung bei 260 nm, 280 nm und 325 nm am Spectrafluor Plus (Tecan, Crailsheim, Deutschland) erreicht. Die Lagerung der DNA erfolgte bei -20°C .

3.4 DNA-Normalisierung

Zur genaueren Konzentrationsbestimmung und nachfolgenden Normalisierung wurde die DNA-Menge mit dem Fluoreszenzfarbstoff PicoGreen[®] (Invitrogen/Molecular Probes, Karlsruhe) analysiert. Da sich der PicoGreen[®] Fluoreszenzfarbstoff spezifisch an Doppelstrang-DNA anlagert, ist er geeignet, standardisierte Konzentrationsbestimmungen von DNA-Proben durchzuführen. Indem mit dem Lambda-DNA-Standard eine 8-Punkt-Eichgerade erstellt wird, können unterschiedliche Messungen direkt verglichen und die Konzentrationen der zu messenden Proben bestimmt werden. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte nach dem PicoGreen[®]-Standardprotokoll im Fluorometer Spectrafluor Plus (Tecan) bei Exzitations- und Detektionswellenlängen von 482 nm und 520 nm.

Im Anschluss an die Vermessung der DNA wurde mit Hilfe des Programms *XFluor4* und dem *Normalisation Worklist Manager* die Konzentration der DNA Proben aus der Eichgerade errechnet und eine Arbeitsliste für den Pipettierroboter erstellt (Abbildung 8). Anhand dieser wurde eine Normalisierung nach dem Standard-Normalisierungs-Protokoll in dem *Tecan*-Roboter auf eine Konzentration von 2ng/μl für die Normalisierung der Einzelgenotypisierung in einer Deep-Well-Platte (Normalisation Plate)

durchgeführt. Bei zu geringer Konzentration wurde die DNA aus dem DNA-Stock ausgetauscht und erneut normalisiert.

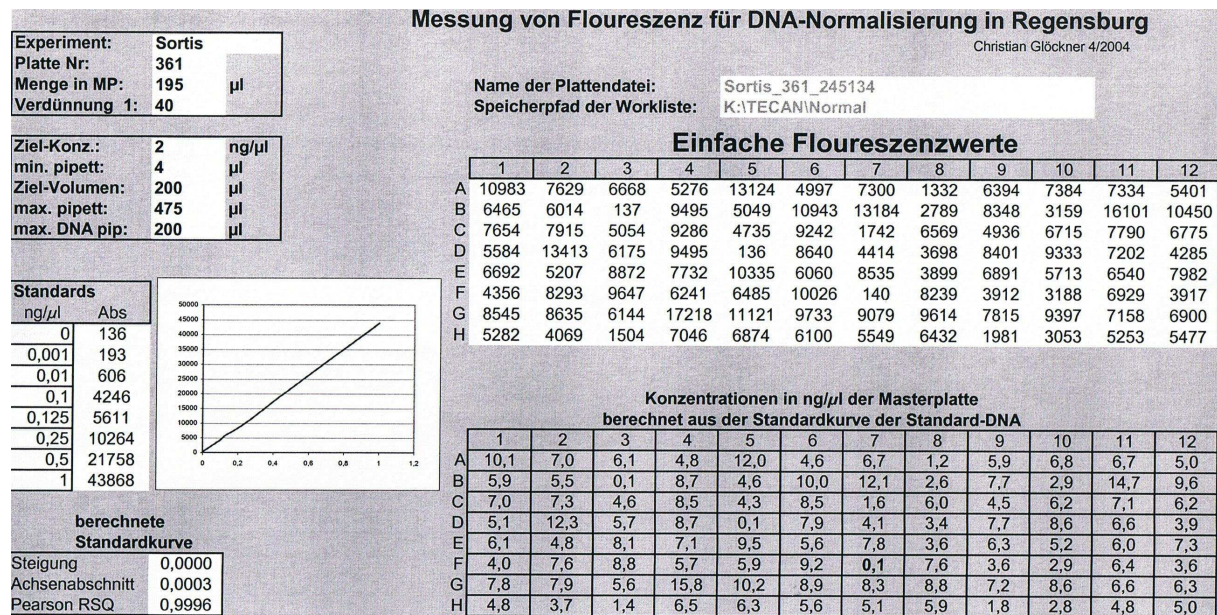


Abbildung 8:

Fluoreszenzwerte und Eichgerade des Normalisierungsprozesses

3.5 Genotypisierung

3.5.1 TaqMan[®] SNP Genotyping Assay

Der *TaqMan[®] SNP Genotyping Assay* (Applied Biosystems, Darmstadt) ist ein *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Assay, der die 5' Exonukleaseaktivität der *AmpliTaQGold[®]* (Applied Biosystems) DNA-Polymerase ausnutzt (85;86).

Der Assay enthält zwei ortsspezifische PCR-Primer, die den gewünschten *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) flankieren, sowie zwei allelspezifische *TaqMan[®]* Oligonukleotid-Sonden. Diese Sonden beinhalten am 5' Ende einen fluoreszierenden Farbstoff und einen nicht-fluoreszierenden *Quencher* (NFQ), der am 3' Ende einen *minor groove binder* (MGB) hat (87).

Wenn eine intakte Sonde angeregt wird, emittiert sie ein minimales Fluoreszenzsignal, da die Nähe des 5' Fluorophor zum 3' *Quencher* dazu führt, dass der *fluorescent resonance energy transfer* (FRET)-Effekt die vom Fluorophor emittierte Fluoreszenz abschwächt (88).

Ein Fluoreszenzsignal wird abgegeben, wenn eine intakte, an die DNA fest gebundene, Sonde durch die 5' Exonukleaseaktivität der *AmpliTaQ Gold[®]* DNA Polymerase während jedes Zyklus' der PCR geschnitten wird. Die PCR-Primer

amplifizieren einen spezifischen Abschnitt der genomischen DNA-Matrize. Jede fluoreszierende mit einem Farbstoff versehene Sonde zeigt das Vorhandensein ihres assoziierten Allels in der DNA-Probe an (Abbildung 9) (89).

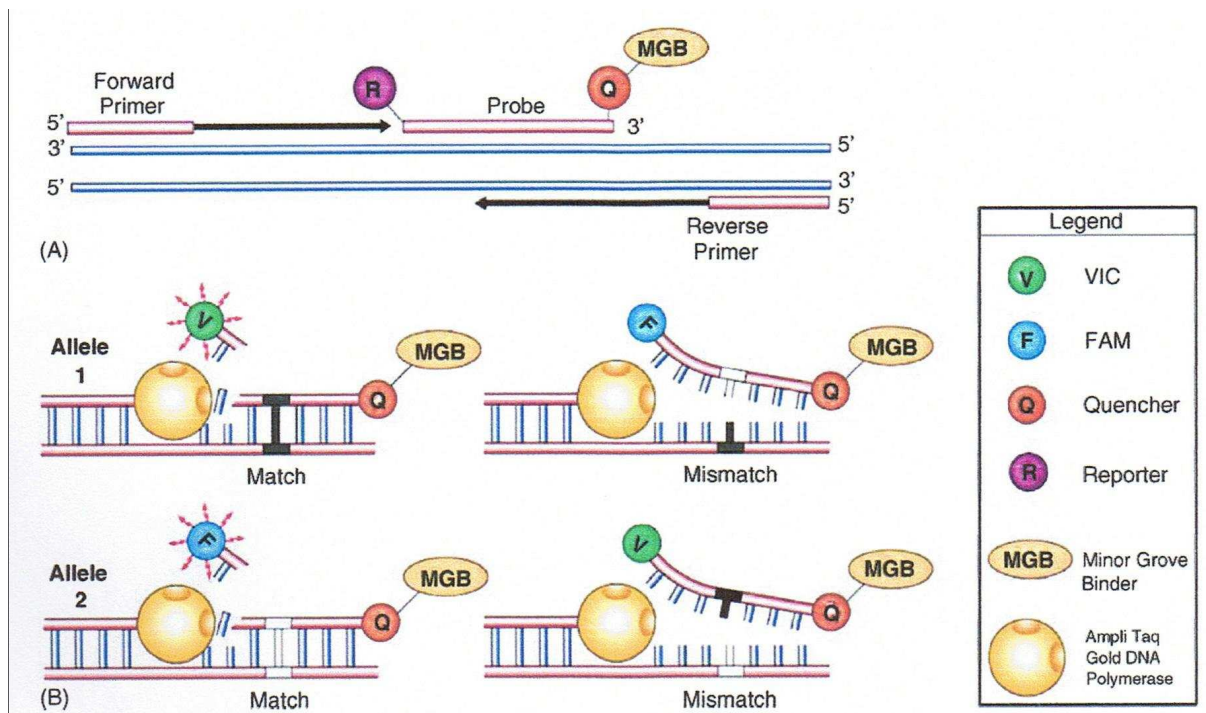


Abbildung 9:

(A) Bindung der Sonde und Primer-Extension in einem TaqMan® SNP Genotyping Assay

(B) Die Allelic discrimination wird durch ein selektives annealing der Sonde und der Probe erreicht, wodurch ein allelspezifisches Signal erzeugt wird, aus De La Vega [13]

In jedem Zyklus der PCR führt das Schneiden einer oder beider allelspezifischer Sonden zu einer exponentiellen Zunahme des Fluoreszenzsignals, indem das 5' Fluorophor vom 3' Quencher befreit wird. Fluorogene Sonden, die einen MGB enthalten, verbessern die allelic discrimination, da der MGB die Struktur der Sonde stabilisiert und dadurch die Schmelztemperatur (T_m) erhöht, ohne die Sonde zu verlängern. Zwischen diesen kürzeren Sonden ist eine bessere mismatch-Unterscheidung möglich, woraus eine verbesserte Allelspezifität resultiert. Auch die signal-to-noise ratio eines Assays wird mit Hilfe dieser Sonden erhöht, da die verringerte Distanz zwischen dem 5' Fluorophor und dem 3' Quencher ein effizienteres Abschwächen der Energie und somit des Signals einer intakten Sonde ermöglicht (89).

Im Gegensatz zu TaqMan® Assays, die entweder für absolute oder relative Quantifizierung hergestellt wurden, wird der TaqMan® SNP Genotyping Assay eher am Endpunkt als in real time gelesen. Die DNA-Proben werden simultan auf 96er oder 384er well Platten genotypisiert. Die Genotypisierungen der individuellen Proben

werden dadurch erreicht, dass die normierte Intensität der *reporter* Farbstoffe auf einen kartesischen Plot – auch bekannt als *scatter* oder *cluster plot* - aufgetragen wird (Abbildung 10) (89).

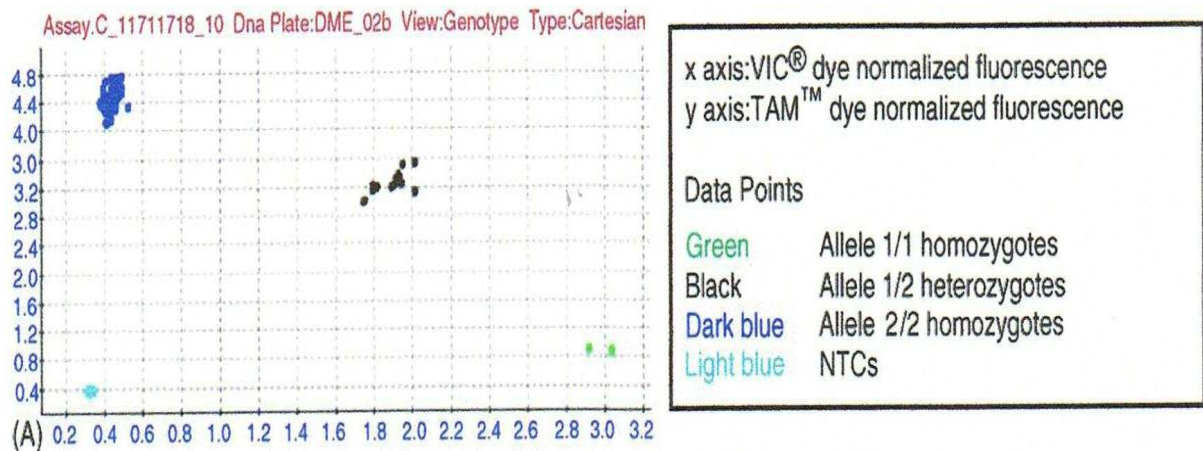


Abbildung 10:

Cluster plot von 88 Coriell DNA Proben und acht *no-template controls* (NTCs) eines typischen TaqMan assays, aus De La Vega [13]

Einer der größten Vorteile der *TaqMan*[®] *SNP Genotyping Assays* besteht in der flexiblen Platzierung der Primer in der Region, die den SNP umgibt. Zudem erfordern die Assays nur einen einzigen enzymatischen Schritt. Alle Assays nutzen universelle Reaktionen und thermische *cycling* Bedingungen. Die *TaqMan*[®] Assays sind sogenannte *closed-tube assays* und bedürfen daher keiner post-PCR-Bearbeitung. Sowohl Insertions- als auch Deletionspolymorphismen können genotypisiert werden. Für den Arbeitsablauf müssen nur der *Universal Master Mix* (Applied Biosystems) und der spezifische Assay zur Probe hinzugefügt werden, bevor die PCR ablaufen kann (89).

3.5.2 Vorbereitung der DNA-Proben

Tabelle 13:

Verwendete Materialien und Geräte

Pipettierroboter	Tecan Genesis RSP 150 Work Station (Crailsheim)
Pipettiersoftware	Tecan Gemini 3.2
Normalisierungssoftware	Tecan Normalisation Worklist Manager
Wechselspitzen	Tecan Wechselspitzen
Fluorometer	Tecan GeniOS Plate Reader
Fluoreszenzsoftware	Tecan Xfluor4 (Crailsheim)
Fluoreszenzfarbstoff	PicoGreen [®] (Molecular Probes, Karlsruhe)

Messplatte	FluoroNunc F96 (Nunc, Wiesbaden)
Deep-Well-Platten	96well Assay Block, 0,5 ml (Sarstedt, Nümbrecht)
Skirted PCR Platten	96well PCR-Plate (Sarstedt)
384-well-Platten	Thermowell® Gold PCR Plates (Corning, Acton, USA)
TE-Puffer	Tris-HCl, EDTA (AppliChem, Darmstadt)
Reagiergefäße	Eppendorf-Cups (1,5 ml), Safety Cap (Sarstedt)
Abdeckfolien	ABgene ABsolute QPCR Seal, (ABgene, Hamburg) für 384-well-Platten, Nunc™ Ampification Tape (Rochester, USA) für 96-well-Platten

Alle in dieser Arbeit untersuchten DNA-Proben wurden mit dem Tecan Pipettierroboter aus den ursprünglichen Gefäßen in das 384-well bzw. 96-well-Plattenformat überführt.

Die Pipettierung lief nach folgendem Schema ab:

1. Pipettierung aus den Gefäßen in Deep-Well-Platte (DWP) 1:1 mit dem Roboter unter Verwendung von Wechsellspitzen
2. 1:10-Verdünnung von DWP in skirted-PCR-Plates (DNA Master) mit 0,2 x TE-Puffer unter Gebrauch von Wechsellspitzen
3. 1:5-Verdünnung in DWP (Normalisation Master) mit 0,2 x TE-Puffer unter Verwendung von Wechsellspitzen

3.5.3 Ablauf der PCR der DNA-Proben im 384-Well-Format

Verwendete Materialien und Geräte:

Für den Ablauf der PCR der DNA Proben im 384-well-Format wurden folgende Geräte eingesetzt:

- ABI 7900 HT Sequence Detection System (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany)
- Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany)
- Thermo Hybaid MBS 384_S (Hybaid, Dreieich, Germany)

Tabelle 14:
Reaktionskomponenten für den Ansatz einer PCR

Reaktionskomponenten	Volumen/well (5µl Endvolumen)	Endkonzentration
TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) oder 2x PCR Master Mix for Probe Assays (Eurogentec)	2,5 µl	1x
20x TaqMan® SNP Genotyping Assay Mix	0,25 µl	1x
H ₂ O	2,25 µl	-
Getrocknete DNA in 384-well-Platten	10 ng	
Gesamt	5 µl	-

Nachdem zur getrockneten DNA jeweils 5 µl des oben beschriebenen Ansatzes pipettiert worden waren und die einzelnen 384-well-Platten fünf Minuten bei 2200 Umdrehungen (U) pro Minute zentrifugiert worden waren, lief die PCR nach dem unten abgebildeten Schema im ABI 7900 HT ab:

Tabelle 15:
Schema der PCR

Zeiten und Temperaturen:		
Initiale Schritte	Denaturierung	Annealing/Verlängerung
Aufrechterhaltung	40 Zyklen	40 Zyklen
10 min 95°C	15 s 92°C	1 min 60°C

Nach dem Abschluss der PCR wurde die Allelische Diskriminierung mit Hilfe der Software SDS 2.2 von *Applied Biosystems* vorgenommen.

3.6 PCR-Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus-Analyse

Neben den *TaqMan*[®] *SNP Genotyping Assays* kam in dieser Arbeit auch die Technik der *PCR-Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus-Analyse (RFLP)* zum Einsatz. Dabei wurde das von van Schaik et al. entwickelte Schema verwendet (90).

Aus dem EDTA-Vollblut wurde die DNA zunächst isoliert und die Absorption gemessen. Ungefähr 50 ng der genomischen DNA wurden in einem PCR-Volumen von 50 µl eingesetzt. Der PCR-Ansatz enthielt die unten angegebenen Reaktionskomponenten (Tabelle 16). Bestimmte Nucleotide konnten an die CYP3A4-Sequenz nicht binden und kreierten eine *Pst*I-Restriktionsstelle auf dem CYP3A4-V Allel-PCR-Produkt. Am 3' Ende des *forward primer* (Sequenz: 5' GGACAGCCATAGAGACAACTGCA 3') liegt ein sogenanntes *nifedipine-responsive* Element, das für CYP3A4 charakteristisch ist, wodurch eine spezifische Amplifikation von CYP3A4 mit dem *reverse primer* (Sequenz: 5' CTTTCCTGCCCTGCACAG 3') sichergestellt wurde. Mit Hilfe der CYP3A4 Primer wurde ein 334-bp Fragment amplifiziert. Das PCR-Produkt wurde mit *Pst*I 90 Minuten lang bei 37°C verdaut und auf einem Agarose/Tris-borate-EDTA-Gel mit Ethidiumbromid gefärbt. Dabei wurden für die Wildtyp-Sequenz 220, 81 und 33 bp-Fragmente produziert und 199, 81 und 33 bp für das CYP3A4-V Allel. Für heterozygote Proben zeigten sich sowohl 220- als auch 199 bp-Fragmente (90).

Eingesetzte Materialien und Geräte:

Die PCR der DNA Proben im 96-well-Format lief in den *Thermo Hybaid* Cyclern von Hybaid (Dreieich, Germany) ab.

Tabelle 16:

Reaktionskomponenten der PCR (Endvolumen 50 µl pro Ansatz)

Reaktionskomponenten	Volumen/well	Gesamtvolumen (100facher Ansatz)
Primer (metabion): ON-CYP3A4_1B_rev und ON-CYP3A4_1B_for	2 µl einer 1:10 Verdünnung (mit H ₂ O) ≙ je 10 pmol	200 µl einer 1:10 Verdünnung (mit H ₂ O)
GeneAmp [®] dNTP Mix mit dTTP (Applied Biosystems)	4 µl ≙ je 200 µM	400 µl

MgCl ₂ (Applied Biosystems)	4 µl \pm 2 µM	400 µl
GeneAmp® 10x PCR Gold Buffer (Applied Biosystems)	5 µl	500 µl
Ampli Taq Gold® (Applied Biosystems)	0,25 µl	25 µl
Destilliertes H ₂ O	24,75 µl	2475 µl

Die PCR wurde auf 96-well-Platten nach dem in Tabelle 17 dargestellten Protokoll durchgeführt.

Tabelle 17:
Schema der PCR

Initiale Denaturierung	95°C	7 min 30 s
Denaturierung (35 Zyklen)	95°C	60 s
Annealing (35 Zyklen)	56,9°C	45 s
Elongation (35 Zyklen)	72°C	60 s
Finale Elongation	72°C	7 min

Eingesetzte Materialien und Geräte zum Verdau des PCR-Produktes:

Zu je 20 µl des PCR-Produktes pro well wurden die in Tabelle 18 beschriebenen Komponenten hinzugefügt.

Tabelle 18:
Reaktionskomponenten zum Verdau von 20 µl des PCR-Produktes (Endvolumen 30 µl pro Ansatz)

Reaktionskomponenten	Volumen/well	Gesamtvolumen (98facher Ansatz)
BSA 10x (1mg/ml) (metabion)	3 µl	294 µl
Buffer Pst I 10x (metabion)	3 µl	294 µl
Pst I (metabion)	1 µl	98 µl
Destilliertes H ₂ O	3 µl	294 µl

Der Verdau der PCR-Produkte erfolgte mittels der oben genannten Komponenten bei 37°C über die Dauer von 90 Minuten.

Die Analyse der verdauten PCR-Produkte wurde auf einem 3%igen Agarosegel durchgeführt. Für die Gelelektrophorese wurden die in Tabelle 19 aufgeführten Bestandteile benötigt.

Tabelle 19:
Bestandteile der Gelelektrophorese

Komponenten	Menge
Biozym LE Agarose (Biozym)	10,5 g
Tris-Borat-EDTA (TBE)-Puffer	350 ml
Ethidiumbromidlösung 1% (10mg/ml) (Roth)	13,125µl (3,75 µl pro 100 ml Gel)
10 x Loading Dye	1 µl pro 10 µl verdautem PCR-Produkt
Standard: Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder 0,5 mg DNA/ml, 0,05 mg (Fermentas)	10 µl

Die Elektrophorese lief bei 140 V und 500 mA ab. Dabei kam die Gelelektrophoresekammer von OWL Separation Systems (Portsmouth, NH, USA) zum Einsatz.

3.7 Statistische Auswertungen

Die Abweichung der Genotypen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wurde durch den Vergleich der gemessenen und der vorhergesagten Genotypverhältnisse in einem χ^2 -Test bestimmt. Unterschiede in den Allelfrequenzen dichotomer Phänotypen wurden durch die gleiche Methode berechnet. Zusätzlich wurden die Genotypen für sowohl dominante (Genotyp 22 + 12 versus 11) als auch rezessive Effekte (Genotyp 22 versus 11 + 12) kodiert (seltene Allele erhalten die Zahl 2, die häufigen Allele die Zahl 1). Das additive genetische Modell wurde durch einen Cochran-Armitage-Trend-Test abgebildet (91). Haplotypen wurden mit dem Programm PHASE (92) berechnet. Prävalenz-Odds-Ratios (OR) sind zusammen mit ihren 95% Konvidenzintervallen (CI) angegeben. Multiple logistische Regression wurde angewandt, um dichotome Phänotypen für relevante Kovarianten zu adjustieren.

Unterschiede in kontinuierlichen Variablen zwischen Gruppen wurden mittels eines zweiseitigen, ungepaarten t-Tests oder einer ANOVA berechnet, wobei mittels einer linearen Regression als erklärende Variablen für die Cholesterinwerte Geschlecht, Alter und BMI eingesetzt wurden. Ein zweiseitiger p-Wert $\leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet. Bei der Untersuchung der Cholesterinwerte wurde kein Einfluss der Verteilung der Werte auf das statistische Verfahren festgestellt. Bei mehreren gleichzeitigen statistischen Tests wurde der p-Wert durch das Bonferroni-Verfahren korrigiert (z. B. ist bei 5 Tests der signifikante p-Wert 0,01, bei 15 Tests $3,33 \cdot 10^{-3}$). Assoziationsanalysen wurden mit den Programmen JMP IN 5.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) und PLINK v1.01 (93) durchgeführt.

4. Ergebnisteil

4.1 Ergebnisse der Analyse der SNPs im Gen für die HMG-CoA-Reduktase

Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte menschliche HMGCR-Gen, das für die HMG-CoA-Reduktase kodiert, ist auf dem Chromosom 5 lokalisiert (*map location* 5q13.3-5q14) und 24,8 Kilobasen (kb) lang (94). Die humane HMG-CoA-Reduktase besteht aus einer 888 Aminosäuren enthaltenden Polypeptidkette. Die N-terminalen 339 Reste sind membrangebunden und befinden sich in der Membran des Endoplasmatischen Retikulums. Im Gegensatz dazu ist die katalytische Aktivität des Proteins im zytoplasmatischen löslichen C-terminalen Ende (Reste 460-888) lokalisiert. Beide Anteile des Proteins werden durch eine *linker*-Region (Reste 340-459) verbunden (95).

Die HMG-CoA-Reduktase ist das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Cholesterinbiosynthese (2). Die Regulation der HMG-CoA-Reduktase wurde in ausgedehnten Studien an kultivierten Zellen, insbesondere an C-100 und UT-1, den ovariellen Tumorzellen von chinesischen Hamstern, untersucht (96). Diese Studien führten zu der Annahme, dass die HMG-CoA-Reduktase durch Sterole und Non-Sterole reguliert wird (97). Es konnte gezeigt werden, dass Sterole auf der Ebene der Transkription agieren, während Non-Sterole die HMG-CoA-Reduktase durch Translation der mRNA regulieren (97). Für die Regulation der Abbaurate der HMG-CoA-Reduktase sind sowohl Sterole als auch Non-Sterole nötig (97). Experimente mit C-100 Zellen ließen darauf schließen, dass die acht Transmembrandomänen der HMG-CoA-Reduktase für deren Abbau durch Sterole benötigt werden (98;99) und dass

Farnesol der non-sterolische Regulator des Abbaus ist (100;101). Als potentielle Mechanismen der Feedback-Regulation der hepatischen Cholesterinbiosynthese werden neben der Transkription und Translation auch der Protein-Turnover und die Regulierung der katalytischen Effektivität durch Phosphorylierung bzw. Dephosphorylierung in Betracht gezogen (97).

4.1.1 Auswahl der Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

Wie bereits unter Punkt 3.2 beschrieben erfolgte die Auswahl der zu untersuchenden SNPs aus der Datenbank dbSNP Version 126 nach verschiedenen Kriterien. Abbildung 11 zeigt schematisch die Region um das HMG-CoA-Reduktase-Gen sowie das Nachbarn COL4A3BP.

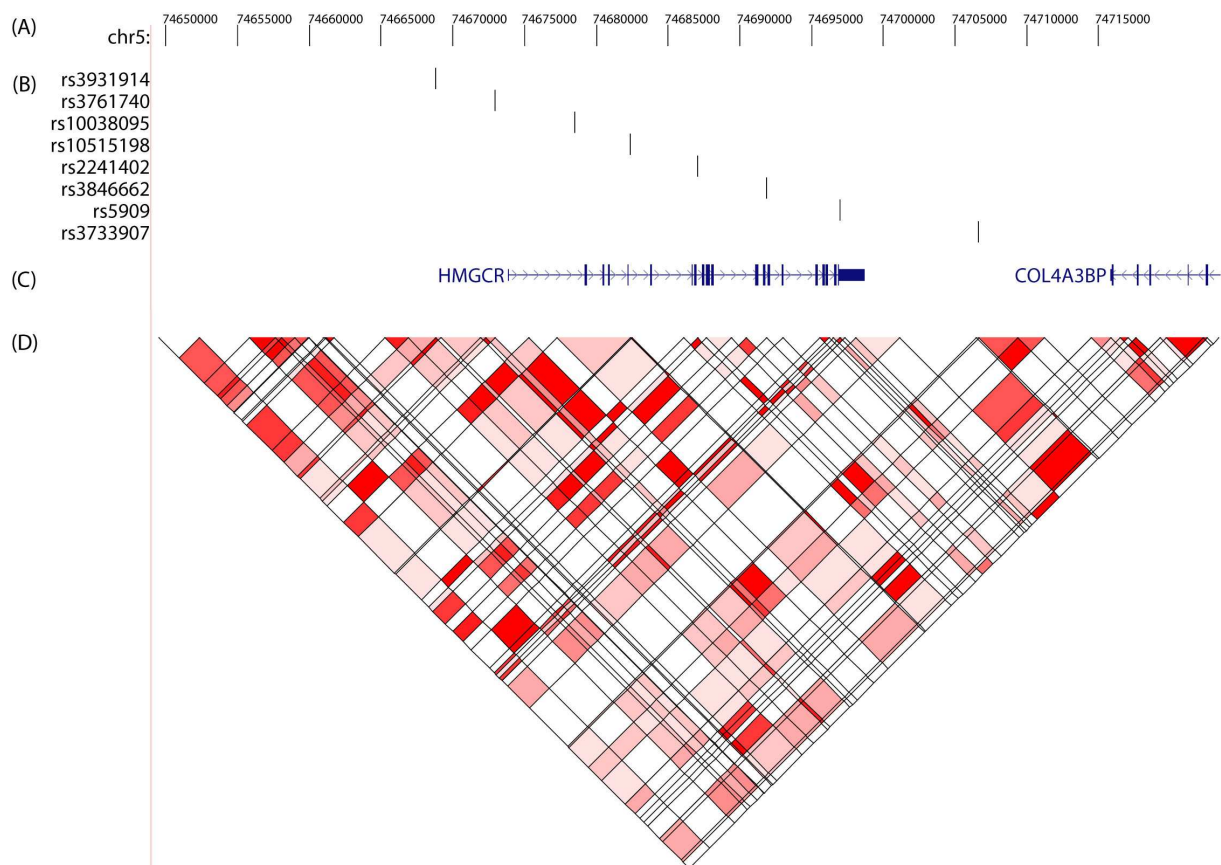


Abbildung 11:

Schematische Darstellung der Region um das HMG-CoA-Reduktase-Gen.

(A): Dargestellt ist die Region auf Chromosom 5 von Position 74.644.029 bis 74.718.506 (HG 17).

(B): Die Lage der acht ausgewählten SNPs (Tab. 12) ist durch vertikale Striche angezeigt.

(C): Das HMGCR-Gen und das Nachbarn COL4A3BP sind schematisch wieder-gegeben. Die horizontale Linie zeigt die Introns mit angedeuteten Pfeilen für die Genorientierung. Kleine vertikale Linien symbolisieren nicht translatierte Exone, große vertikale Linien stehen für den kodierten Bereich.

(D): Dargestellt ist die LD-Struktur des europäischen Kollektivs der HapMap Version 20. Dunkle Bereiche markieren LD-Strukturen mit einem höheren r^2 -Wert. Weiße Bereiche deuten auf nicht vorhandenes LD hin.

Bei der Genotypisierung ergaben sich für die in Tabelle 20 dargestellten acht SNPs folgende Call-Rates und p-Werte für das Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE).

Tabelle 20:

Call-Rates und p-Werte im HWE der acht selektierten SNPs

TaqMan-Name	db-SNP-ID	Call-Rate (%)	Frequenz des seltenen Allels (MAF) (%)	p-Wert Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
HMGCR_5309	rs3931914	95,7	25,9	0,091
HMGCR_6930	rs3761740	0	nicht bestimmt	nicht bestimmt
HMGCR_7224	rs10038095	98,1	43,3	0,841
HMGCR_2054	rs10515198	99,1	11,8	0,551
HMGCR_3119	rs2242402	95,4	5,2	0,266
HMGCR_8669	rs3846662	98,0	49,3	0,244
HMGCR_2463	rs5909	99,3	11,8	0,554
HMGCR_8665	rs3733907	98,9	17,0	0,866

Wie aus Tabelle 20 deutlich wird, war der Assay für den SNP HMGCR_6930 nicht funktionsfähig und konnte deshalb für die weiteren Schritte der Arbeit nicht verwendet werden.

Die restlichen sieben SNPs wurden einer *Linkage Disequilibrium* (LD)-Struktur Analyse unterzogen (Tabelle 21). Dabei zeigte sich, dass der SNP rs10038095 (HMGCR_7224) und der SNP rs3846662 (HMGCR_8669) einen r^2 -Wert von 0,7920 hatten (Tabelle 21). Aufgrund dieses hohen r^2 -Wertes wurde entschieden, den SNP mit der niedrigeren Call-Rate, SNP HMGCR_8669 (Tabelle 20), zu eliminieren, da von diesem SNP keine Informationen zu erwarten waren, die nicht durch den SNP HMGCR_7224 zu gewinnen waren. Das gleiche Verfahren wurde auch bei den SNPs rs10515198 (HMGCR_2054) und rs5909 (HMGCR_2463) angewendet, deren r^2 -Wert 1,00 betrug (Tabelle 21). Während die Call-Rate des SNPs HMGCR_2054 bei 99,1% lag, erzielte der SNP HMGCR_2463 eine Call-Rate von 99,3% (Tab. 20), weshalb letzterer für die weiteren Analysen ausgewählt wurde. Daher wurden in dieser Arbeit letztlich fünf SNPs des HMG-CoA-Reduktase-Gens untersucht.

Tabelle 21:
Linkage Disequilibrium (LD)-Struktur Analyse der selektierten SNPs

LD (r^2)	rs3931914	rs10038095	rs10515198	rs2241402	rs3846662	rs5909	rs3733907
rs3931914		0,4975	0,0536	0,0209	0,3728	0,0536	0,0814
rs10038095			0,1485	0,0604	0,7920	0,1485	0,2286
rs10515198				0,0087	0,1173	1,0000	0,6526
rs2241402					0,0653	0,0087	0,2618
rs3846662						0,1173	0,1996
rs5909							0,6526
rs3733907							

4.1.2 Ergebnisse der Genotypisierung im HMGCR-Gen des Kollektivs der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (HIFAM)

Nach der Selektion der fünf SNPs im HMGCR-Gen wurden die DNA-Proben der Teilnehmer der Regensburger Herzinfarkt Familienstudie ohne lipidsenkende Therapie (Tabelle 11a) auf fünf 384-well-Platten genotypisiert. Die erhaltenen Genotypen wurden anschließend verschiedenen Parametern zugeordnet. Mit Hilfe der Assoziationstests des Hardy-Weinberg Equilibriums und ANOVA wurden mögliche signifikante Effekte untersucht. Tabelle 22 stellt die Analyse der Genotypen in Bezug auf den Mittelwert des Gesamtcholesterins der Probanden dar. Dabei kamen sowohl das sogenannte *dominante* als auch das *rezessive* Modell zur Anwendung (3.7). Alle Werte entstammen den Studieneinschlussdaten der HIFAM mit Teilnehmern ohne lipidsenkende Therapie (Tabelle 11a).

Tabelle 22:

Analyse der HMGCR-Genotypen der HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das **Gesamtcholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Gesamtcholesterin (mg/dl) + SD*** Mittelwert und Anzahl			p-Wert ANOVA	dominantes Modell [*]	p-Wert ANOVA	rezessives Modell ^{**}	p-Wert ANOVA
				11 (n)	12	22					
1	HMGCR_5309	G	C	563 242±42	341 243±44	46 245±40	0,4806	387 244±43	0,5953	904 243±43	0,7442
2	HMGCR_7224	A	T	356 241±42	465 243±42	132 248±46	0,2983	597 244±43	0,2794	821 242±42	0,1490
3	HMGCR_3119	T	A	825 243±43	101 233±42	7 252±29	0,0736	108 234±41	0,0391	926 242±43	0,5481
4	HMGCR_2463	G	A	776 240±42	164 251±44	7 246±45	0,0258	171 251±44	0,0028	940 242±43	0,8348
5	HMGCR_8665	G	C	667 241±42	253 247±44	22 234±40	0,2239	275 246±44	0,1147	920 243±43	0,3617

* dominantes Modell: 11 versus 12+22;

** rezessives Modell: 22 versus 11+12;

*** SD: Standardabweichung

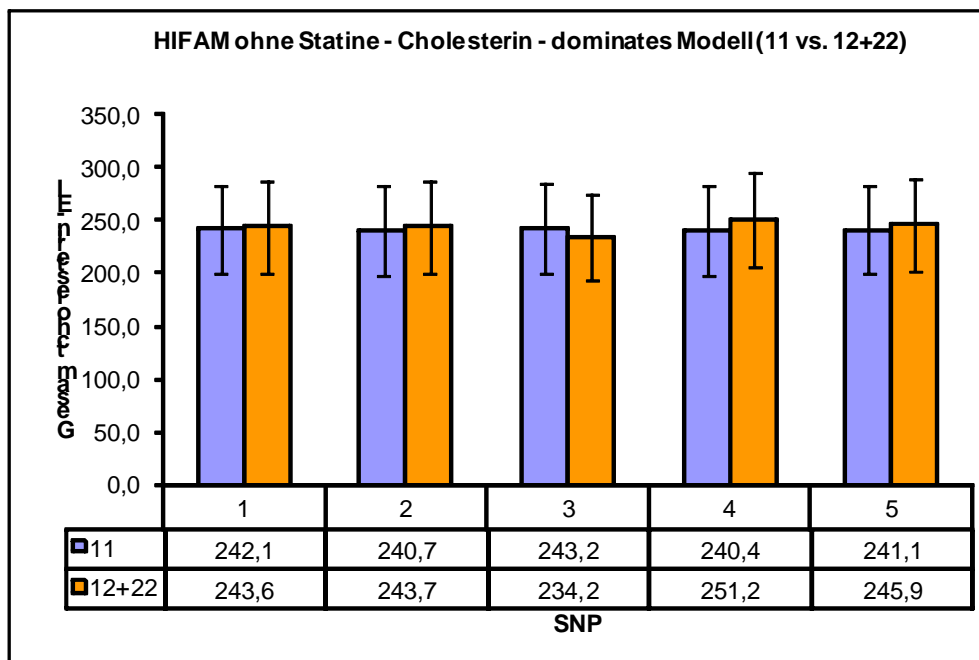


Abbildung 12:

Graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Gesamtcholesterin-Mittelwert und Genotypen im dominanten Modell (Nummerierung der SNPs s. Tabelle 22)

Alle untersuchten SNP-Marker weichen nicht signifikant vom HWE ab. Bei der Betrachtung der Tabelle 22 fällt auf, dass der SNP HMGCR_2463 im ANOVA-Test der Genotypen einen p-Wert von 0,026 erreicht und somit einen signifikanten Effekt ausübt. Die Personen, die zweimal das seltene Allel A des SNPs HMGCR_2463 tragen, haben einen Gesamtcholesterin-Mittelwert von 246 mg/dl, während der Gesamtcholesterin-Mittelwert der Probanden, die zweimal das häufige Allel G tragen, bei 240 mg/dl liegt. Auch der Gesamtcholesterin-Mittelwert derjenigen, die sowohl das seltene Allel A als auch das häufige Allel G des SNPs HMGCR_2463 aufweisen, ist verglichen mit der Gruppe, die den Genotyp GG trägt, erhöht (Gesamtcholesterin-Mittelwert: 251 mg/dl). Aus diesen Ergebnissen kann vermutet werden, dass das Allel A des SNPs HMGCR_2463 einen „risikobehafteten“ Effekt ausübt, indem es erhöhte Gesamtcholesterinwerte verursacht. Die beschriebene Assoziation bestätigt sich ebenfalls bei der Betrachtung des dominanten Modells, bei dem der p-Wert im ANOVA-Test 0,0028 beträgt (Abbildung 12). Allerdings ist die Anzahl der homozygoten Risikoallel-Träger nur sehr gering (n=7), was die Aussagekraft einschränkt.

Die Ergebnisse der Untersuchung des SNPs HMGCR_3119 zeigen mit einem p-Wert von 0,074 im ANOVA-Test der Genotypen eine Tendenz. Probanden mit dem Genotyp TT haben einen Gesamtcholesterin-Mittelwert von 243 mg/dl, während der Mittelwert

der Personen, die sowohl das häufige Allel T als auch das seltene Allel A tragen, bei 233 mg/dl liegt. Im dominanten Modell wird bei dem SNP HMGCR_3119 eine signifikante Assoziation deutlich (p-Wert ANOVA: 0,0391). Der Cholesterin-Mittelwert der Probanden mit den Genotypen AT und AA beträgt 234 mg/dl. Dem gegenüber steht ein Cholesterin-Mittelwert von 243 mg/dl der Personen, die zweimal das häufige Allel T tragen. Daher ist es möglich festzustellen, dass das seltene Allel A des SNPs HMGCR_3119 einen „protektiven“ Effekt mit gesenkten Cholesterinwerten bewirkt.

Nach der Bestimmung der Gesamtcholesterin-Mittelwerte wurden auch die HDL-Cholesterin-Mittelwerte bestimmt, um mögliche weitere Assoziationen zu untersuchen (Tabelle 23).

Tabelle 23:

Analyse der HMGCR-Genotypen von Personen ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das **HDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	HDL-Cholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			p-Wert ANOVA	dominantes Modell [*]	p-Wert ANOVA	rezessives Modell ^{**}	p-Wert ANOVA
				11 (n)	12	22					
1	HMGCR_5309	G	C	563 61±16	341 60±17	45 59±15	0,6939	386 60±17	0,3618	904 60±16	0,5877
2	HMGCR_7224	A	T	356 61±16	465 60±16	131 60±18	0,6341	596 60±16	0,3622	821 60±16	0,6380
3	HMGCR_3119	T	A	824 60±16	101 60±17	7 59±7	0,3598	108 60±17	0,7640	925 60±16	0,8711
4	HMGCR_2463	G	A	775 60±16	164 61±16	7 63±20	0,8977	171 61±16	0,7411	939 60±16	0,6454
5	HMGCR_8665	G	C	666 60±16	253 60±17	22 59±14	0,9767	275 60±17	0,8217	919 60±16	0,7492

* dominantes Modell: 11 versus 12+22; Daten von 11 siehe Tabelle 23

** rezessives Modell: 22 versus 11+12; Daten von 22 siehe Tabelle 23

Wie aus Tabelle 23 hervorgeht, weist keiner der fünf untersuchten SNPs bei der Analyse der Genotypen in Bezug auf die HDL-Cholesterin-Mittelwerte eine signifikante Assoziation auf. Auch die Betrachtung sowohl der Ergebnisse des dominanten als auch des rezessiven Modells lässt nicht auf einen Effekt schließen.

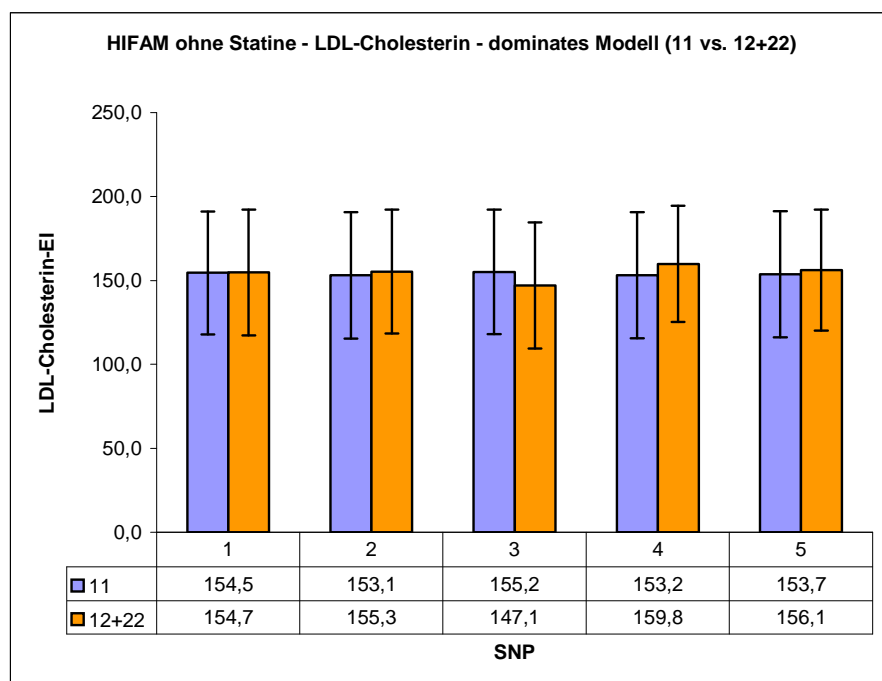
Neben den HDL-Cholesterinwerten erfolgte die Analyse der LDL-Cholesterin-Mittelwerte (Tabelle 24)

Tabelle 24:

Analyse der HMGCR-Genotypen von Personen ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das LDL-Cholesterin

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	LDL-Cholesterin (mg/dl)			p-Wert ANOVA	dominantes Modell [†]	p-Wert ANOVA	rezessives Modell ^{**}	p-Wert ANOVA
				11 (n)	12	22					
1	HMGCR_5309	G	C	561 155±37	341 154±37	45 159±38	0,7269	386 155±37	0,9207	902 154±36	0,3838
2	HMGCR_7224	A	T	355 153±38	464 155±36	131 157±39	0,7763	595 155±37	0,3742	819 154±37	0,4392
3	HMGCR_3119	T	A	823 155±37	100 146±38	7 166±30	0,0633	107 147±38	0,0338	923 154±37	0,4208
4	HMGCR_2463	G	A	773 153±38	164 160±34	7 159±44	0,1797	171 160±35	0,0359	937 154±37	0,7258
5	HMGCR_8665	G	C	665 154±38	252 157±36	22 149±40	0,5483	274 156±36	0,3668	917 155±37	0,4833

- dominantes Modell: 11 versus 12+22; Daten von 11 siehe Tabelle 24
- ** rezessives Modell: 22 versus 11+12; Daten von 22 siehe Tabelle 24

**Abbildung 13:**

Zusammenhang von **LDL-Cholesterinwerten** und Genotypen im dominanten Modell. (Nummerierung der SNPs s. Tabelle 24)

Die risikobehaftete Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463 wird durch die Ergebnisse des dominanten Modells in Bezug auf die LDL-Cholesterin-Mittelwerte bestätigt. Während Personen mit dem Genotyp GG einen LDL-Mittelwert von 153 mg/dl haben, liegt dieser bei 160 mg/dl, wenn die Probanden den Genotyp AG oder AA aufweisen. Im ANOVA-Test im dominanten Modell führen diese Ergebnisse zu einem p-Wert von 0,0359 und somit einer deutlichen Assoziation (Abbildung 13).

Die Analyse der Ergebnisse des SNPs HMGCR_3119 ergibt im dominanten Modell (Abbildung 15) eine Assoziation (p-Wert ANOVA=0,0338) und in Bezug auf die Genotypen eine Tendenz (p-Wert ANOVA=0,0633). Diese Werte heben die protektive Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_3119 hervor.

Bei Betrachtung aller bislang aufgeführten p-Werte ist der Effekt des SNPs HMGCR_2463 am signifikantesten.

Um festzustellen, ob die bereits beschriebenen Effekte durch die unterschiedlichen Geschlechter bedingt werden, erfolgte eine geschlechtsgetrennte Auswertung.

Tabelle 25:

Analyse der HMGCR-Genotypen der **weiblichen** HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das Gesamtcholesterin

Nr.	SNP	häufiges Allel (1) Frauen	seltenes Allel (2) Frauen	Frauen			p-Wert ANOVA Frauen
				Gesamtcholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			
				11	12	22	
1	HMGCR_5309	G	C	407 243±42	245 243±43	35 248±40	0,3855
2	HMGCR_7224	A	T	262 241±42	332 244±43	99 245±42	0,7023
3	HMGCR_3119	T	A	595 243±43	75 237±44	5 251±36	0,5550
4	HMGCR_2463	G	A	564 242±43	115 247±40	7 246±45	0,1820
5	HMCGR_8665	G	C	487 243±43	178 246±41	18 232±44	0,2443

Wie aus Tabelle 25 ersichtlich wird, weist keiner der fünf untersuchten SNPs eine signifikante Assoziation in Bezug auf den Gesamtcholesterin-Mittelwert auf.

Tabelle 26 beinhaltet die Genotypen und Gesamtcholesterin-Mittelwerte der männlichen HIFAM-Population.

Tabelle 26:

Analyse der HMGCR-Genotypen der **männlichen** HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das Gesamtcholesterin

Nr.	SNP	häufiges Allel (1) Männer	seltenes Allel (2) Männer	Männer			p-Wert ANOVA Männer
				Gesamtcholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			
				11	12	22	
1	HMGCR_5309	G	C	156 241±43	96 244±45	11 234±40	0,8407
2	HMGCR_7224	A	T	94 240±43	133 239±40	33 255±57	0,2469
3	HMGCR_3119	T	A	230 243±44	26 222±34	2 253±4	0,0595
4	HMGCR_2463	G	A	212 237±40	49 262±51	-	0,0004
5	HMCGR_8665	G	C	180 237±40	75 248±51	4 246±14	0,1691

Aus Tabelle 26 geht hervor, dass sich bei den Männern im Gegensatz zu den Frauen der HIFAM-Population in Bezug auf den SNP HMGCR_3119 eine deutliche Tendenz im Vergleich der Genotypen zeigt (p-Wert ANOVA=0,0595). Wiederum sind die Gesamtcholesterin-Mittelwerte der Männer mit dem Genotyp TT höher als die der männlichen Teilnehmer, die den Genotyp AT aufweisen. Auch die ungünstige Wirkung des seltenen Allel A des SNPs HMGCR_2463 kann anhand der Daten aus Tabelle 26 belegt werden. Während Männer, die zweimal das häufige Allel G tragen, einen Gesamtcholesterin-Mittelwert von 237 mg/dl haben, liegt der Wert der männlichen Probanden mit dem Genotyp AG bei 262 mg/dl. Diese Ergebnisse führen zu einem p-Wert von 0,0004 im ANOVA-Test und somit einer äußerst signifikanten Assoziation. Um zu differenzieren, ob die beschriebenen Effekte in der männlichen HIFAM-Population vor allem aus der HDL- oder LDL-Cholesterinfraktion stammen, wurden auch die HDL- und LDL-Werte geschlechtsgetrennt betrachtet.

Tabelle 27:

HMGCR-Genotypen der **weiblichen** HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das **HDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Frauen			p-Wert ANOVA Frauen
				HDL-Cholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			
				11	12	22	
1	HMGCR_5309	G	C	407 63±16	245 64±17	35 62±15	0,9610
2	HMGCR_7224	A	T	262 64±16	332 63±15	99 64±18	0,7721
3	HMGCR_3119	T	A	595 63±16	75 63±17	5 60±4	0,6708
4	HMGCR_2463	G	A	564 63±16	115 64±16	7 63±20	0,9700
5	HMGCR_8665	G	C	487 63±16	178 64±17	18 61±14	0,6284

Wie bereits bei der Analyse der Gesamtcholesterin-Mittelwerte lässt sich auch bei den HDL-Cholesterin-Mittelwerten der Frauen bei keinem der fünf SNPs ein Effekt nachweisen (Tabelle 27)

Tabelle 28 stellt die Ergebnisse der HDL-Cholesterin-Mittelwerte der männlichen Probanden der HIFAM zusammen.

Tabelle 28:

HMGCR-Genotypen der **männlichen** HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie bezogen auf das **HDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltene Allel (2)	Männer			p-Wert ANOVA Männer
				HDL-Cholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			
				11	12	22	
1	HMCCR_5309	G	C	156 53±13	96 50±14	10 48±10	0,1380
2	HMCCR_7224	A	T	94 53±14	133 52±13	32 47±14	0,2004
3	HMCCR_3119	T	A	229 52±14	26 49±12	2 57±15	0,1976
4	HMCCR_2463	G	A	211 52±14	49 53±14	-	0,7908
5	HMCCR_8665	G	C	179 51±13	75 52±14	4 51±11	0,1277

Die Ergebnisse der Analyse der männlichen HIFAM-Population lassen ebenfalls nicht auf eine Assoziation schließen.

Tabelle 29:

HMGCR-Genotypen der **weiblichen** HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie bezogen auf das **LDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltene Allel (2)	Frauen			p-Wert ANOVA Frauen
				LDL-Cholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			
				11	12	22	
1	HMCCR_5309	G	C	407 153±37	245 152±38	35 158±40	0,5817
2	HMCCR_7224	A	T	262 151±38	332 154±37	99 154±40	0,7928
3	HMCCR_3119	T	A	595 153±38	75 146±39	5 164±37	0,4179
4	HMCCR_2463	G	A	564 152±38	115 156±34	7 159±44	0,2892
5	HMCCR_8665	G	C	487 152±38	178 155±36	18 146±42	0,6686

Bei Betrachtung der Werte aus Tabelle 29 wird deutlich, dass die Effekte bei den SNPs HMCCR_3119 sowie HMCCR_2463 nicht durch die LDL-Werte der weiblichen HIFAM-Teilnehmer verursacht werden.

Tabelle 30:

HMGCR-Genotypen der **männlichen** HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie in Bezug auf das **LDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Männer			p-Wert ANOVA Männer
				LDL-Cholesterin (mg/dl) Mittelwert und Anzahl			
				11	12	22	
1	HMGCR_5309	G	C	154 159±35	96 159±36	10 163±31	0,9611
2	HMGCR_7224	A	T	93 159±36	132 158±35	32 164±35	0,8387
3	HMGCR_3119	T	A	228 160±35	25 144±34	2 171±4	0,0982
4	HMGCR_2463	G	A	209 158±35	49 168±34	-	0,0982
5	HMGCR_8665	G	C	178 158±35	74 161±36	4 162±25	0,3384

Sowohl der protektive Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGR_3119 als auch die risikobehaftete Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGR_2463 werden bei der Auswertung der Ergebnisse der Tabelle 30 sichtbar. In beiden Fällen beträgt der p-Wert im ANOVA-Test 0,0982 und spricht somit für eine deutliche Tendenz.

Neben der Analyse der HMGR-Genotypen wurden auch die Werte des dominanten Modells geschlechtsgetrennt untersucht.

Tabelle 31:

Geschlechtsgetrennte Analyse des **Gesamtcholesterins** im dominanten Modell der HMGR-SNPs in der HIFAM-Population ohne lipidsenkende Medikation

Nr.	SNP	Frauen		p-Wert ANOVA Frauen	Männer		p-Wert ANOVA Männer
		Gesamtcholesterinwert			Gesamtcholesterinwert		
		dominantes Modell erfüllt (n)	dominantes Modell nicht erfüllt (n)		dominantes Modell erfüllt (n)	dominantes Modell nicht erfüllt (n)	
1	HMGCR_5309 Dominant	280 244±43	407 243±42	0,7766	107 243±45	156 240±43	0,5889
2	HMGCR_7224 Dominant	431 244±43	262 241±42	0,3019	166 242±44	94 240±43	0,6892
3	HMGCR_3119 Dominant	80 238±43	595 243±43	0,2714	28 224±34	230 243±44	0,0290
4	HMGCR_2463 Dominant	122 247±40	564 242±43	0,2152	49 262±51	212 237±40	0,0003
5	HMCGR_8665 Dominant	196 245±42	487 243±43	0,4890	79 248±50	180 237±40	0,0619

Während die Ergebnisse der weiblichen HIFAM-Population im dominanten Modell keine Assoziation belegen, wird bei den Männern wiederum der cholesterinsenkende Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGR_3119 offensichtlich (p-Wert ANOVA=0,0290).

Der p-Wert von 0,0003 im ANOVA-Test des SNPs HMGCGR_2463 verdeutlicht die risikobehaftete, da cholesterinerhöhende, Wirkung des seltenen Allels A.

Tabelle 32:

Geschlechtsgetrennte Analyse des **HDL-Cholesterins** im dominanten Modell der HMGCGR-SNPs in der HIFAM-Population ohne lipidsenkende Medikation

Nr.	SNP	Frauen		p-Wert ANOVA Frauen	Männer		p-Wert ANOVA Männer
		HDL-Cholesterinwert			HDL-Cholesterinwert		
		dominantes Modell erfüllt (n)	dominantes Modell nicht erfüllt (n)		dominantes Modell erfüllt (n)	dominantes Modell nicht erfüllt (n)	
1	HMGCR_5309 Dominant	280 63±16	407 63±16	0,9096	106 50±14	156 53±13	0,0552
2	HMGCR_7224 Dominant	431 63±16	262 64±16	0,8003	165 51±14	94 53±14	0,1995
3	HMGCR_3119 Dominant	80 63±17	595 63±16	0,9596	28 49±12	229 52±14	0,3668
4	HMGCR_2463 Dominant	122 64±16	564 63±16	0,8598	49 53±14	211 52±14	0,4965
5	HMCGR_8665 Dominant	196 64±16	487 63±16	0,8465	79 52±14	179 51±13	0,5590

Wie bereits bei der geschlechtsgetrennten Analyse der HMGCGR-Genotypen ergibt sich auch im dominanten Modell weder bei den Frauen noch bei den Männern der HIFAM-Population eine signifikante Assoziation unter Einbeziehung der HDL-Cholesterinwerte (Tabelle 32).

Tabelle 33:

Geschlechtsgetrennte Analyse des **LDL-Cholesterins** im dominanten Modell der HMGCGR-SNPs in der HIFAM-Population ohne lipidsenkende Medikation

Nr.	SNP	Frauen		p-Wert ANOVA Frauen	Männer		p-Wert ANOVA Männer
		LDL-Cholesterinwert			LDL-Cholesterinwert		
		dominantes Modell erfüllt (n)	dominantes Modell nicht erfüllt (n)		dominantes Modell erfüllt (n)	dominantes Modell nicht erfüllt (n)	
1	HMGCGR_5309 dominant	280 153±38	407 153±37	0,9732	106 160±36	154 159±35	0,8884
2	HMGCGR_7224 dominant	431 154±37	262 151±38	0,3150	164 159±35	93 159±36	0,9668
3	HMGCGR_3119 dominant	80 148±39	595 153±38	0,2029	27 146±33	228 160±35	0,0436
4	HMGCGR_2463 dominant	122 156±34	564 152±38	0,2077	49 168±34	209 158±35	0,0514
5	HMCGR_8665 dominant	196 154±36	487 152±38	0,5249	78 161±35	178 158±35	0,5290

Bei Betrachtung der Ergebnisse aus Tabelle 33 fällt auf, dass in der weiblichen HIFAM-Population keiner der fünf untersuchten SNPs eine Assoziation zu den LDL-Cholesterin-Mittelwerten hat. Dem gegenüber stehen die signifikanten Assoziationen der SNPs

HMGCR_3119 und HMGCR_2463 im dominanten Modell der männlichen HIFAM-Probanden. Die Männer mit dem Genotyp AG weisen bei der Analyse des SNPs HMGCR_2463 einen LDL-Cholesterin-Mittelwert von 168 mg/dl auf, während Probanden mit dem Genotyp GG einen LDL-Cholesterin-Mittelwert von 158 mg/dl haben. Im ANOVA-Test führen diese Werte zu einem $p=0,0514$ und somit zu einer Assoziationstendenz. Im Gegensatz zum risikobehafteten Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463, hat das seltene Allel A des SNPs HMGCR_3119 eine protektive Wirkung, die auch bei der Analyse der LDL-Werte der Männer im dominanten Modell ($p\text{-Wert ANOVA}=0,0436$) bestätigt wird.

Die Tabellen 22 bis 33 zusammenfassend kann man feststellen, dass sowohl der protektive Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_3119 als auch der risikobehaftete Einfluss des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463 in den LDL-Cholesterin-Mittelwerten der männlichen HIFAM-Probanden liegt.

Berücksichtigt man multiples Testen (5 genotypisierte SNPs), so bleibt die Assoziation zwischen HMGCR_2463 und dem Gesamtcholesterin des Gesamtkollektivs im dominanten Modell signifikant ($p_{\text{kor}}=0,014$) sowie bei Männern im Genotypvergleich ($p_{\text{kor}}=0,002$) und im dominanten Modell ($p_{\text{kor}}=0,0015$).

Um zu überprüfen, ob und inwiefern die p-Werte des ANOVA-Tests durch Parameter wie Alter, Geschlecht und BMI beeinflusst werden, wurde eine Adjustierung dieser Werte durchgeführt.

Die Adjustierung erfolgte mit Hilfe der unter Punkt 3.7 beschriebenen Methoden.

Tabelle 34:

Adjustierung der p-Werte im ANOVA-Test des HIFAM-Kollektivs **ohne lipidsenkende Therapie** (Gesamtcholesterin)

	SNP Modell	p-Wert ANOVA	p-Wert ANOVA nach Adjustierung (Alter, Geschlecht, BMI)
HMGCR_3119	Genotypen_Gesamtcholesterin	0,0736	0,1002
	dominant_Gesamtcholesterin	0,0391	0,0412
	dominant_HDL	0,7640	0,8936
	dominant_LDL	0,0388	0,0262
HMGCR_2463	Genotypen_Gesamtcholesterin	0,0258	0,0139
	dominant_Gesamtcholesterin	0,0028	0,0014
	dominant_HDL	0,7411	0,5002
	dominant_LDL	0,0359	0,0256

Aus Tabelle 34 geht hervor, dass alle bereits beschriebenen Assoziationen auch nach der Adjustierung signifikant bleiben. Der p-Wert des SNPs HMGCR_3119 bezogen auf den Gesamtcholesterin-Mittelwert im dominanten Modell nimmt geringfügig zu. Die p-Werte aller anderen signifikanten Assoziationen werden kleiner und somit sogar deutlicher.

Zusätzlich zur Adjustierung nach Alter, Geschlecht und BMI, wurde ein potentieller Einfluss der applizierten Medikamente im HIFAM-Kollektiv untersucht. Dabei zeigte sich, dass die folgenden Medikamentengruppen eingenommen wurden: Antihypertensiva (n=479), β -Mimetika (n=46), Diuretika (n=183), Cortison (n=44), Thrombozytenaggregationshemmer (n=120), Antidiabetika (n=44), Medikamente zur Hormonersatztherapie (n=267), Schilddrüsenmedikamente (n=238), zentral wirksame Medikamente (n=103), Protonenpumpeninhibitoren (n=21) und Allopurinol (n=52). Diese führten zu keinem unterschiedlichen p-Wert in Abhängigkeit vom Cholesterinwert nach Adjustierung im Genotypmodell führen (Daten nicht gezeigt).

Neben den Genotypen wurden auch die HMGCR-Haplotypen in der HIFAM-Population ohne lipidsenkende Therapie untersucht. Tabelle 35 stellt die vier in dem HIFAM-

Kollektiv festgestellten Haplotypen mit Frequenzen >1% und ihre Zusammensetzung dar.

Tabelle 35:
Haplotypen des HIFAM-Kollektivs

Haplotyp-Nummer	Haplotypzusammen- setzung	Häufigkeit 2x	Häufigkeit 1x	Häufigkeit 0x
1	GATGG	359	469	139
2	CTTGG	46	342	579
3	GTTAC	8	168	791
4	GTAGC	7	103	857

Wie aus Tabelle 35 ersichtlich wird, enthält der Haplotyp Nummer 3 das seltene Allel A des SNPs HMGCR_2463, das - wie bereits beschrieben - einen risikobehafteten Effekt zur Folge hat. Zudem weist dieser Haplotyp 3 nicht das seltene Allel des SNPs HMGCR_3119 auf, sondern dessen häufiges Allel T. Daher fehlt die protektive Wirkung des seltenen Allels A. Bei einer Analyse der Cholesterinwerte in Bezug auf den Haplotyp 3 stellte sich eine signifikante Assoziation heraus. Probanden, die zweimal den Haplotyp 5 aufweisen (n=8), hatten einen Cholesterin-Mittelwert von 246 mg/dl. Bei Patienten, bei denen die Häufigkeit des Haplotypes 3 bei eins war (n=168), lag der Cholesterin-Mittelwert bei 251 mg/dl. Bei Probanden, die den Haplotyp 3 nicht hatten (n=788), belief sich der Cholesterin-Mittelwert auf 241 mg/dl. Bei dem ANOVA Test ergab sich daraus ein $p=0,018$ und daher eine signifikante Assoziation. Bei der Untersuchung der LDL-Cholesterinwerte ergab sich für Patienten, die zweimal den Haplotyp 3 aufweisen (n=8), ein LDL-Cholesterin-Mittelwert von 159 mg/dl, während der LDL-Cholesterin-Mittelwert der Probanden, bei denen der Haplotyp 3 nicht vorhanden ist (n=785), bei 153 mg/dl lag. Unter Einbeziehung der Patienten, die einmal den Haplotyp 3 besitzen (n=168) und deren LDL-Cholesterin-Mittelwert 160 mg/dl betrug, ergab sich im ANOVA Test ein $p=0,1055$. Daraus ergibt sich eine Tendenz, die auf den risikobehafteten Effekt des Allels A des SNPs HMGCR_2463 und den protektiven Effekt des Allels A des SNPs HMGCR_3119 hinweist. Aufgrund der beschriebenen Ergebnisse wurde eine geschlechtsgetrennte Analyse durchgeführt. Dabei konnte bei den Frauen keine signifikante Assoziation festgestellt werden. Bei den Männern zeigte sich mit 50 Patienten, die den Haplotyp 3 in einfacher Ausführung haben und deren Cholesterin-Mittelwert $261 \text{ mg/dl} \pm 52$ betrug, sowie 216 Probanden, die den Haplotyp 3

nicht aufweisen und einen Cholesterin-Mittelwert von 237 mg/dl hatten, ein deutlicher Effekt mit einem p-Wert im ANOVA Test von $p=0,0004$. Auch die Analyse der LDL-Cholesterin-Mittelwerte der Männer bestätigte den oben dargestellten Effekt, da der p-Wert im ANOVA Test bei $p=0,0602$ lag und somit eine klare Tendenz zeigt. Die LDL-Cholesterin-Mittelwerte betrugen 168 mg/dl bei Probanden, die den Haplotyp 3 mit einer Häufigkeit von 1 aufweisen ($n=50$), und 157 mg/dl bei Patienten, denen der Haplotyp 3 fehlt ($n=213$). Bei der Untersuchung der HDL-Cholesterin-Mittelwerte der Männer in Bezug auf den Haplotyp 2, der sowohl das häufige Allel T des SNPs HMGCRC_3119 als auch das häufige Allel G des SNPs HMGCRC_2463 enthält, wurde ebenfalls eine Tendenz deutlich. Bei Männern, die den Haplotyp 2 zweifach haben ($n=10$), wurde ein HDL-Cholesterin-Mittelwert von 48 mg/dl bestimmt, während der HDL-Cholesterin-Mittelwert von Probanden, die den Haplotyp 2 nicht aufweisen ($n=160$), bei 53 mg/dl lag. Für die Personen, die den Haplotyp 2 einmal haben, ergab sich ein HDL-Cholesterin-Mittelwert von 50 mg/dl. Eine Analyse dieser Werte im ANOVA Test erbrachte einen p-Wert von $p=0,0676$.

4.1.3 Ergebnisse der HMGCRC-Genotypisierung im Survey III Kollektiv

Da die SNPs HMGCRC_3119 und HMGCRC_2463 im HIFAM Kollektiv - wie bereits beschrieben - signifikante Assoziationen zeigten, wurden diese SNPs in einem weiteren Kollektiv, dem Survey III-Kollektiv (Tabelle 11a), untersucht. Diese Analyse sollte mögliche Einflussfaktoren, die durch die spezifische Zusammensetzung des HIFAM-Kollektivs (Tabelle 11a) bedingt sind, bestimmen. Alle Probanden waren ohne lipidsenkende Medikation.

Tabelle 36 stellt die Ergebnisse in Bezug auf die Genotypen und das Gesamtcholesterin dar.

Tabelle 36:

Analyse der Genotypen bezogen auf das **Gesamtcholesterin** der SIII-Population sowie Ergebnisse im dominanten und rezessiven Modell

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Gesamtcholesterin Mittelwert und Anzahl			p-Wert ANOVA	dominantes Modell erfüllt	p-Wert ANOVA	rezessives Modell**	p-Wert ANOVA
				11	12	22					
3	HMGCRC_3119	T	A	1193 234±44	134 229±43	3 223±22	0,4158	137 229±42	0,19	3 223±22	0,68
4	HMGCRC_2463	G	A	1097 233±44	237 239±46	9 230±41	0,1262	246 239±46	0,051	9 230±41	0,81

* dominantes Modell: 11 versus 12+22; Daten von 11 siehe Tabelle 36

** rezessives Modell: 22 versus 11+12; Daten von 22 siehe Tabelle 36

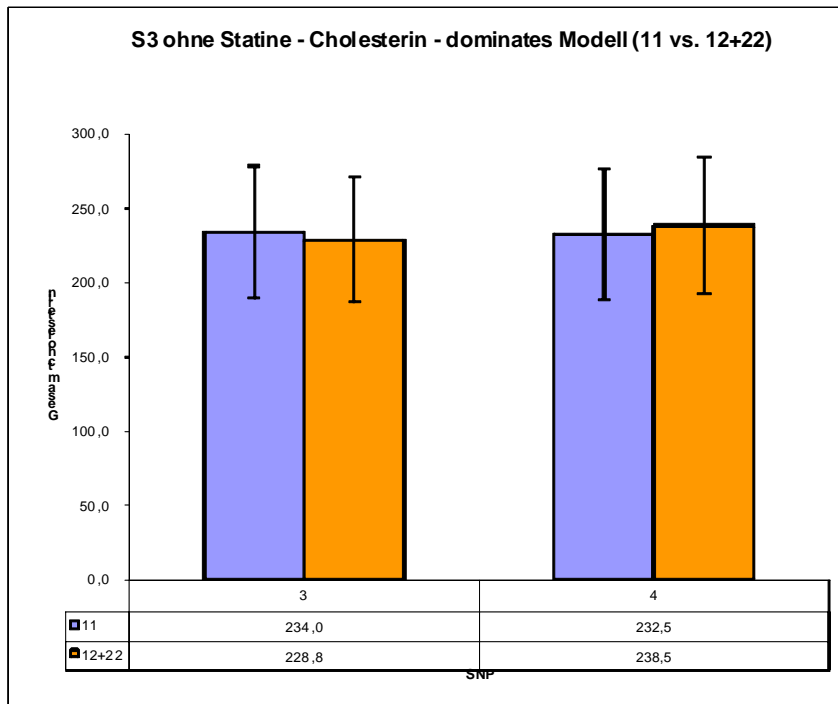


Abbildung 14:

Gesamtcholesterinwerte bezogen auf die HMGCR-Genotypen im dominanten Modell. (Nummerierung der SNPs s. Tabelle 36)

Wie aus Tabelle 36 hervorgeht, besteht im SIII-Kollektiv beim SNP HMGCR_2463 in Bezug auf die Genotypen kein bedeutender Zusammenhang (Abbildung 14), im dominanten Modell jedoch eine Assoziation zum Gesamtcholesterin-Mittelwert. Verglichen mit dem Gesamtcholesterin-Mittelwert von 233 mg/dl der Personen, die den Genotyp GG haben, ist der Gesamtcholesterin-Mittelwert der Probanden mit den Genotypen AG oder AA deutlich erhöht (239 mg/dl). Diese Werte führen zu einem p-Wert von 0,051 im ANOVA Test und zeigen somit eine Tendenz hinsichtlich der bereits im HIFAM-Kollektiv beobachteten risikobehafteten Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463.

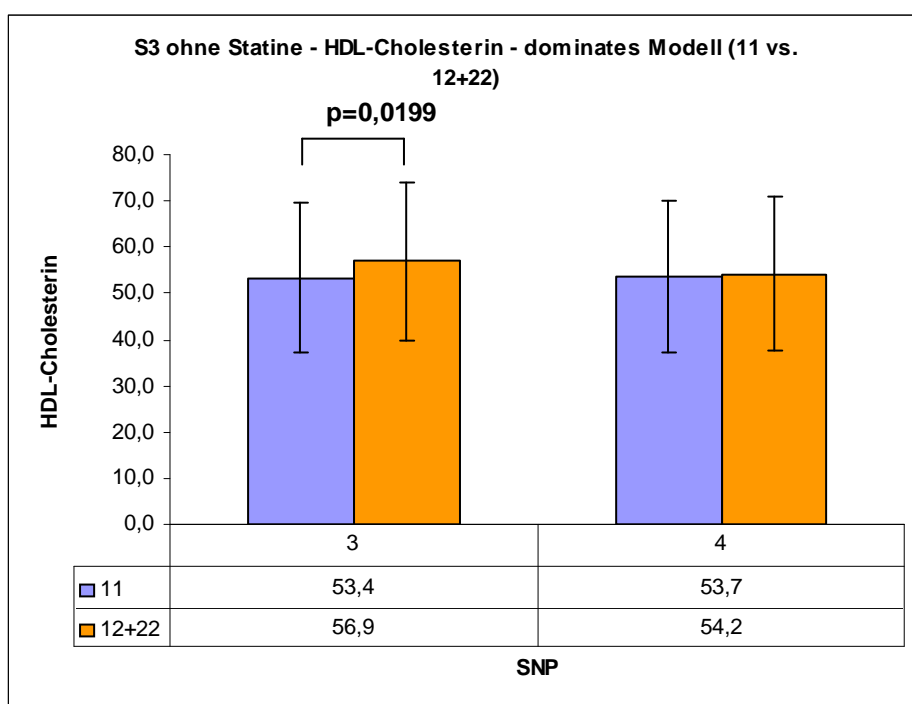
Auch im SIII-Kollektiv wurden neben den Gesamtcholesterin-Mittelwerten die HDL- und LDL-Cholesterinfraktionen bestimmt (Tabellen 37 und 38).

Tabelle 37:

Analyse der HMGCR Genotypen des SIII-Kollektivs in Bezug auf das **HDL-Cholesterin** und Ergebnisse im dominanten Modell

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	HDL-Cholesterinwert			p-Wert ANOVA	dominantes Modell*	p-Wert ANOVA
				11	12	22			
3	HMGCR_3119	T	A	1193 53±16	134 57±17	3 60±17	0,0636	137 57±17	0,0199
4	HMGCR_2463	G	A	1097 54±17	237 54±17	9 54±10	0,9263	246 54±17	0,6958

* dominantes Modell: 11 versus 12+22; Daten von 11 siehe Tabelle 37

**Abbildung 15:**

HDL-Cholesterinwerte bezogen auf die HMGCR-Genotypen im dominanten Modell. (Nummerierung der SNPs s. Tabelle 37)

Anhand der Ergebnisse der Tabelle 37 und der Betrachtung der Abbildung 15 werden eine Tendenz (p-Wert ANOVA=0,0636) und eine Assoziation der HMGCR-Genotypen und dem HDL-Cholesterin im dominanten Modell (p-Wert ANOVA=0,0199) deutlich. Es zeigt sich, dass Probanden, die den Genotyp AA aufweisen, höhere HDL-Cholesterinwerte haben (60 mg/dl) als Personen, die nicht Träger des seltenen Allels A sind (53 mg/dl). Da ein hoher HDL-Cholesterinwert als kardioprotektiv angesehen wird,

übt das seltene Allel A einen schützenden Effekt aus. Bezüglich des SNPs HMGCR_2463 und der HDL-Cholesterin-Mittelwerte kann im SIII-Kollektiv keine signifikante Assoziation festgestellt werden (p-Wert ANOVA=0,9263).

Tabelle 38:

Analyse der HMGCR-Genotypen des SIII-Kollektivs bezüglich des **LDL-Cholesterins** und Ergebnisse im dominanten Modell

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	LDL-Cholesterinwert			p-Wert ANOVA	dominantes Modell*	p-Wert ANOVA
				11	12	22			
3	HMGCR_3119	T	A	1193 145±43	133 137±41	3 137±16	0,1544	136 137±41	0,0532
4	HMGCR_2463	G	A	1096 143±43	237 148±45	9 146±40	0,3294	246 148±45	0,1369

Mittels der Werte aus Tabelle 38 wird wiederum die protektive Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_3119 verdeutlicht, da die LDL-Cholesterin-Mittelwerte im dominanten Modell geringer sind (137 mg/dl) als die der Probanden mit dem Genotyp TT (145 mg/dl) (p-Wert ANOVA=0,0532). Zwischen dem Genotyp des SNPs HMGCR_2463 und den LDL-Cholesterin-Mittelwerten konnte keine Assoziation festgestellt werden (p-Wert ANOVA=0,3294).

Neben der Analyse der einzelnen Cholesterinfraktionen wurden in der SIII-Population ebenfalls geschlechtsgetrennte Werte bestimmt (Tabellen 39 bis 47).

Tabelle 39:

Analyse der HMGCR-Genotypen der **weiblichen SIII-Population** in Bezug auf das **Gesamtcholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Frauen			p-Wert ANOVA Frauen
				Gesamtcholesterin (mg/dl)			
				11	12	22	
3	HMGCR_3119	T	A	570 233±45	70 228±41	1 234	0,6628
4	HMGCR_2463	G	A	532 231±44	108 239±46	6 240±47	0,1641

In Bezug auf den Gesamtcholesterin-Mittelwert der Frauen des SIII-Kollektivs und die Genotypen der SNPs HMGCR_3119 sowie HMGCR_2463 ist aus den in Tabelle 39 dargestellten Werten keine Assoziation abzuleiten.

Tabelle 40 veranschaulicht die Ergebnisse der Analyse der Genotypen der männlichen SIII-Population im Hinblick auf die Gesamtcholesterinwerte.

Tabelle 40:

Analyse der HMGCR-Genotypen des **männlichen SIII-Kollektivs** bezogen auf das **Gesamtcholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Männer			p-Wert ANOVA Männer
				Gesamtcholesterinwert (mg/dl)			
				11	12	22	
3	HMGCR_3119	T	A	623 235±44	64 230±44	2 217±27	0,6039
4	HMGCR_2463	G	A	565 234±44	129 238±46	3 210±16	0,3697

Auch bei den Männern zeigt sich keine Assoziation zwischen den einzelnen Genotypen und den Gesamtcholesterin-Mittelwerten.

Tabelle 41:

Untersuchung der HMGCR-Genotypen der **Frauen des SIII-Kollektivs** in Bezug auf das **HDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Frauen			p-Wert ANOVA Frauen
				HDL-Wert			
				11	12	22	
3	HMGCR_3119	T	A	570 59±16	70 63±18	1 79	0,0719
4	HMGCR_2463	G	A	532 60±16	108 60±19	6 56±11	0,8372

Der protektive Effekt des seltenen Allels A wird durch die Ergebnisse der Tabelle 41 bestätigt. Frauen, die das seltene Allel A aufweisen, haben höhere HDL-Werte als Probandinnen mit dem Genotyp TT (p-Wert ANOVA=0,0719).

Tabelle 42:

Untersuchung der HMGCR-Genotypen der **Männer des SIII-Kollektivs** in Bezug auf das **HDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Männer			p-Wert ANOVA Männer
				HDL-Wert			
				11	12	22	
3	HMGCR_3119	T	A	623 48±15	64 50±13	2 50±4	0,7110
4	HMGCR_2463	G	A	565 48±15	129 49±13	3 51±7	0,5502

Bei den Männern lässt sich der im SIII-Gesamtkollektiv gefundene protektive Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_3119 nicht replizieren (Tabelle 42). Daher stammt dieser Effekt aus der weiblichen SIII-Population. Auch beim SNP HMGCR_2463 lässt sich keine Assoziation in Bezug auf die HDL-Cholesterinwerte nachweisen.

Tabelle 43:

Analyse der HMGCR-Genotypen der **Frauen des SIII-Kollektivs** bezogen auf das **LDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Frauen			p-Wert ANOVA Frauen
				LDL-Wert			
				11	12	22	
3	HMGCR_3119	T	A	570 141±45	70 135±41	1 135	0,5436
4	HMGCR_2463	G	A	532 139±44	108 147±48	6 154±46	0,1874

Wie aus Tabelle 43 hervorgeht besteht zwischen keinem der zwei untersuchten SNPs und den LDL-Cholesterin-Mittelwerten der weiblichen SIII-Population eine signifikante Assoziation.

Tabelle 44:

Analyse der HMGCR-Genotypen der **Männer des SIII-Kollektivs** in Bezug auf das **LDL-Cholesterin**

Nr.	SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	Männer			p-Wert ANOVA Männer
				LDL-Wert			
				11	12	22	
3	HMGCR_3119	T	A	623 148±41	63 140±42	2 139±22	0,2988
4	HMGCR_2463	G	A	564 147±41	129 149±42	3 132±25	0,7606

Tabelle 44 zeigt, dass zwischen den Genotypen der SNPs HMGCR_3119 und HMGCR_2463 und den LDL-Cholesterin-Mittelwerten der Männer kein signifikanter Zusammenhang besteht.

Nach der geschlechtsgetrennten Analyse der Genotypen wurden diese auch im dominanten Modell untersucht (Tabellen 45 bis 47)

Tabelle 45:

Geschlechtsgetrennte Analyse des **Gesamtcholesterins** im dominanten Modell der HMGCR-SNPs

Nr.	SNP	Frauen		p-Wert ANOVA Frauen	Männer		p-Wert ANOVA Männer
		Gesamtcholesterinwert			Gesamtcholesterinwert		
		dominantes Modell erfüllt	dominantes Modell nicht erfüllt		dominantes Modell erfüllt	dominantes Modell nicht erfüllt	
3	HMGCR_3119 dominant	71 228±41	570 233±45	0,3706	66 230±44	623 235±44	0,3580
4	HMGCR_2463 dominant	114 239±46	532 231±44	0,0573	132 238±46	565 234±44	0,3871

Während sich im dominanten Modell bei den Männern keine signifikanten Assoziationen zwischen den beiden SNPs und den Gesamtcholesterin-Mittelwerten ergibt, wird bei Betrachtung des SNPs HMGCR_2463 im weiblichen Kollektiv die risikobehaftete Wirkung des seltenen Allels A deutlich (p-Wert ANOVA=0,0573).

Tabelle 46:

Geschlechtsgetrennte Analyse des **HDL-Cholesterins** im dominanten Modell der HMGCR-SNPs

Nr.	SNP	Frauen		p-Wert ANOVA Frauen	Männer		p-Wert ANOVA Männer
		HDL-Wert			HDL-Wert		
		dominantes Modell erfüllt	dominantes Modell nicht erfüllt		dominantes Modell erfüllt	dominantes Modell nicht erfüllt	
3	HMGCR_3119 Dominant	71 64±18	570 59±16	0,0354	66 50±13	623 48±15	0,4101
4	HMGCR_2463 Dominant	114 60±19	532 60±16	0,9099	132 50±13	565 48±15	0,2834

Die geschlechtsgetrennte Analyse der HDL-Cholesterin-Mittelwerte im dominanten Modell zeigt eine signifikante Assoziation zwischen dem SNP HMGR_3119 und den HDL-Cholesterinwerten der Frauen (p-Wert ANOVA=0,0354). Wiederum wird der protektive Effekt, in diesem Fall die Erhöhung des HDL-Cholesterins, des seltenen Allels A des SNPS HMGCR_3119 bestätigt. Die Auswertung der übrigen Ergebnisse erbrachte keine weiteren signifikanten Assoziationen.

Tabelle 47:

Geschlechtsgetrennte Analyse des **LDL-Cholesterins** im dominanten Modell des HMGCR-SNPs

Nr.	SNP	Frauen		p-Wert ANOVA Frauen	Männer		p-Wert ANOVA Männer
		LDL-Wert			LDL-Wert		
		dominantes Modell erfüllt	dominantes Modell nicht erfüllt		dominantes Modell erfüllt	dominantes Modell nicht erfüllt	
3	HMGCR_3119 Dominant	71 135±40	570 141±45	0,2694	65 140±41	623 148±41	0,1200
4	HMGCR_2463 Dominant	114 147±48	532 139±44	0,0726	132 148±42	564 147±41	0,8118

In Bezug auf die LDL-Cholesterin-Mittelwerte ist eine Tendenz beim SNP HMGCR_2463 im weiblichen Kollektiv zu erkennen (p-Wert ANOVA=0,0726). Die Werte aus Tabelle 47 belegen die risikobehaftete Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463, das zu einer Erhöhung des LDL-Cholesterins führt.

Wie bereits im HIFAM-Kollektiv durchgeführt, wurden auch die Werte der SIII-Population adjustiert. Dabei waren wiederum Alter, Geschlecht und BMI die relevanten Parameter. Tabelle 48 stellt die Ergebnisse der Adjustierung im SIII-Kollektiv zusammen.

Tabelle 48:

Auswirkungen der Adjustierung der p-Werte im ANOVA-Test bezüglich des SIII-Kollektivs

	SNP Modell	p-Wert ANOVA	p-Wert ANOVA nach Adjustierung (Alter, Geschlecht, BMI)
HMGCR_3119	dominant Gesamtcholesterin	0,1920	0,1148
	dominant HDL	0,0199	0,0285
	dominant LDL	0,0532	0,0253
HMGCR_2463	dominant Gesamtcholesterin	0,0514	0,1243
	dominant HDL	0,6958	0,3104
	dominant LDL	0,1369	0,3529

Tabelle 48 zeigt, dass die signifikante Assoziation des SNPs HMGCR_3119 bezogen auf die HDL-Cholesterin-Mittelwerte im dominanten Modell auch nach der Adjustierung erhalten bleibt. Der p-Wert im ANOVA-Test ist jedoch etwas höher. Im Gegensatz dazu ist der adjustierte p-Wert bei Betrachtung der Assoziation des SNPs HMGCR_3119 in Bezug auf die LDL-Cholesterinwerte im dominanten Modell sogar geringer (p-Wert_{adjustiert}=0,0253) und damit noch signifikanter als der ursprüngliche p-Wert im ANOVA-Test (p=0,0532). Die Assoziation des SNPs HMGCR_2463 und den Gesamtcholesterin-Mittelwerten im dominanten Modell ist nach der Adjustierung nicht mehr nachweisbar.

4.1.4 Überprüfung der beschriebenen Effekte auf die Abhängigkeit von anderen bereits untersuchten Effekten

Um festzustellen, ob die beschriebenen Effekte der seltenen Allele der SNPs HMGCR_2463 und HMGCR_3119 unabhängig von den bereits bekannten Effekten des Apolipoproteins E (ApoE) und des Cholesterylestertransferproteins (CETP) ist, wurde der *cross product terms* bestimmt.

Die SNPs ApoE_4793 (rs429358), ApoE_4973 (rs7412), CETP_0057 (rs5882) und CETP_5318 (rs708272) wurden im HIFAM-Kollektiv ohne lipidsenkende Therapie untersucht. Tabelle 49 beinhaltet die Erklärungen zur Nomenklatur der Genotypen.

Tabelle 49:

Zusammensetzung der Genotypen der SNPs ApoE_4793 und ApoE_4973

ApoE_4793=TT	&	ApoE_4973=TT	→	E2
ApoE_4793=TT	&	ApoE_4973=TC	→	E2
ApoE_4793=TT	&	ApoE_4973=CC	→	E3
ApoE_4793=CC	&	ApoE_4973=CC	→	E4
ApoE_4793=TC	&	ApoE_4973=CC	→	E4

Wie bereits die SNPs des HMG-CoA-Reduktase-Gens wurden auch die Genotypen der ApoE-SNPs in Bezug auf die Gesamtcholesterin-, HDL- und LDL-Mittelwerte analysiert (Tabellen 50 bis 55).

Tabelle 50:

Analyse der ApoE-Genotypen des HIFAM-Kollektivs in Bezug auf das Gesamtcholesterin, das HDL- und das LDL-Cholesterin

	Genotyp (n)			p-Wert ANOVA
ApoE	E2	E3	E4	
Gesamtcholesterin (mg/dl)	116 220±42	556 245±43	224 248±40	<,0001
ApoE	E2	E3	E4	
HDL-Cholesterin (mg/dl)	116 63±18	555 59±16	224 60±17	0,1235
ApoE	E2	E3	E4	
LDL-Cholesterin (mg/dl)	116 130±38	554 158±35	223 161±35	<,0001

Aus Tabelle 50 geht hervor, dass Personen, deren Genotyp beim SNP ApoE_4793 und beim SNP ApoE_4973 ein C enthält (E4), deutlich höhere Gesamtcholesterinwerte haben, als Personen mit dem Genotyp E2. Auch die Personen die den Genotyp TT des

SNPs ApoE_4793 haben, jedoch zweimal das Allel C des SNPs ApoE_4973 aufweisen, zeigen verglichen mit den E2-Probanden erhöhte Cholesterinwerte. Daher übt das Allel C der SNPs ApoE_4793 und ApoE_4973 einen risikobehafteten Effekt aus.

Die Ergebnisse aus Tabelle 50 können keinen Zusammenhang zwischen den HDL-Cholesterinwerten und den Genotypen herstellen.

Aus Tabelle 50 geht zudem hervor, dass Personen mit dem Genotyp E2 signifikant geringere LDL-Cholesterinwerte haben als Probanden mit den Genotypen E3 und E4.

Um zu eruieren, ob der beschriebene Effekt geschlechtsabhängig ist, wurde eine geschlechtsgetrennte Analyse der Genotypen durchgeführt (Tabellen 51 bis 53).

Tabelle 51:

Geschlechtsgetrennte Analyse der ApoE-Genotypen in Bezug auf das Gesamtcholesterin

	Frauen			p-Wert ANOVA	Männer			p-Wert ANOVA
ApoE	E2	E3	E4		E2	E3	E4	
Gesamt-cholesterin	90 218±42	402 246±41	157 251±41	<,0001	26 228±42	154 244±46	67 241±36	0,1958

Anhand der Werte aus Tabelle 51 wird deutlich, dass bei den Frauen des HIFAM-Kollektivs ein signifikanter Zusammenhang zwischen den ApoE-Genotypen und den Gesamtcholesterinwerten besteht. Wiederum zeigt sich, dass der Genotyp E2 mit niedrigeren Gesamtcholesterinwerten verbunden ist, verglichen mit dem Genotyp E4. Bei den Männern ist dagegen keine Assoziation zwischen Gesamtcholesterinwerten und ApoE-Genotypen nachweisbar.

Tabelle 52:

Geschlechtsgetrennte Untersuchung der ApoE-Genotypen bezogen auf das HDL-Cholesterin

	Frauen			p-Wert ANOVA	Männer			p-Wert ANOVA
ApoE	E2	E3	E4		E2	E3	E4	
HDL-Cholesterin	90 67±17	402 62±16	157 64±16	0,0317	26 49±12	153 52±13	67 50±15	0,3856

Auch in Bezug auf den HDL-Cholesterin-Mittelwert besteht im weiblichen HIFAM-Kollektiv eine Assoziation zu den ApoE-Genotypen. Frauen, die den Genotyp E2

aufweisen, haben einen höheren HDL-Wert und somit einen kardioprotektiven Effekt, im Vergleich zu Frauen mit den Genotypen E3 und E4. Bei der Analyse der Genotypen der Männer bezogen auf den HDL-Wert zeigt sich kein Zusammenhang.

Tabelle 53:

Geschlechtsgetrennte Untersuchung der ApoE-Genotypen in Bezug auf das LDL-Cholesterin

	Frauen			p-Wert ANOVA	Männer			p-Wert ANOVA
ApoE	E2	E3	E4		E2	E3	E4	
LDL-Cholesterin	90 124±38	402 156±35	157 161±35	<,0001	26 149±34	152 162±35	66 161±34	0,1933

Aus den Ergebnissen der Tabelle 53 wird deutlich, dass bei dem männlichen Anteil des HIFAM-Kollektivs keine signifikante Assoziation zwischen den LDL-Werten und den Genotypen besteht. Dagegen kann man einen Zusammenhang im weiblichen Kollektiv nachweisen. Die LDL-Werte der Frauen, die den Genotyp E2 haben, liegen bei 124 mg/dl, während der LDL-Wert der Frauen mit dem Genotyp E4 161 mg/dl beträgt. Diese Werte bestätigen die protektive Wirkung des Genotyps E2 sowie den ungünstigen Effekt des Genotyps E4 und zeigen, dass der Effekt aus dem weiblichen Kollektiv stammt.

Neben den Effekten des Apolipoproteins E wurden auch die Auswirkungen des CETP untersucht (Tabellen 54 bis 56).

Tabelle 54:

Analyse der CETP-Genotypen in Bezug auf das Gesamtcholesterin

SNP	häufiges Allel (1)	seltene Allel (2)	Gesamtcholesterin			p-Wert ANOVA
			11	12	22	
CETP_0057	A	G	441 241±42	397 243±44	91 245±43	0,6174
CETP_5318	G	A	297 240±42	497 243±43	156 245±44	0,3992

Die Werte der Tabelle 54 verdeutlichen, dass zwischen den Genotypen der SNPs CETP_0057 sowie CETP_5318 und den Gesamtcholesterinwerten kein Zusammenhang besteht.

Tabelle 55:

Analyse der CETP-Genotypen bezogen auf das HDL-Cholesterin

SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	HDL-Cholesterin			p-Wert ANOVA
			11	12	22	
CETP_0057	A	G	440 59±16	397 61±16	91 61±17	0,2587
CETP_5318	G	A	296 59±17	497 60±15	156 64±17	0,0027

Im Gegensatz zum Gesamtcholesterin wird bei Betrachtung der HDL-Cholesterinwerte und den CETP-Genotypen eine signifikante Assoziation deutlich. Das seltene Allel A des SNPs CETP_5318 ist mit erhöhten HDL-Cholesterinwerten verbunden (p-Wert ANOVA=0,0027). In Bezug auf den SNP CETP_0057 und die HDL-Cholesterinwerte ist kein signifikanter Zusammenhang festzustellen.

Tabelle 56:

Analyse der CETP-Genotypen in Bezug auf das LDL-Cholesterin

SNP	häufiges Allel (1)	seltenes Allel (2)	LDL-Cholesterin			p-Wert ANOVA
			11	12	22	
CETP_0057	A	G	439 155±37	396 154±38	91 155±32	0,9755
CETP_5318	G	A	296 154±37	495 156±38	156 151±35	0,2956

Die Werte aus Tabelle 56 zeigen, dass zwischen den Genotypen der beiden untersuchten SNPs und den LDL-Cholesterinwerten keine signifikante Assoziation besteht.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass das seltene Allel A des SNPs CETP_5318 zu erhöhten HDL-Werten führt.

Mit Hilfe des *cross product terms* konnte gezeigt werden, dass der Effekt des SNPs HMGCR_2463_dom unabhängig von ApoE p=0,8883 und CETP p=0,5241 ist.

4.2 Ergebnisse der Analyse der SNPs in den Genen für die CYP3A-Enzyme

4.2.1 LD-Struktur zwischen den CYP3A-SNPs

Neben den SNPs im Gen für die HMG-CoA-Reduktase wurden in der vorliegenden Arbeit auch CYP3A-Genotypen und ihr möglicher Einfluss auf die Effektivität von Statinen hinsichtlich der Senkung der Cholesterinwerte untersucht.

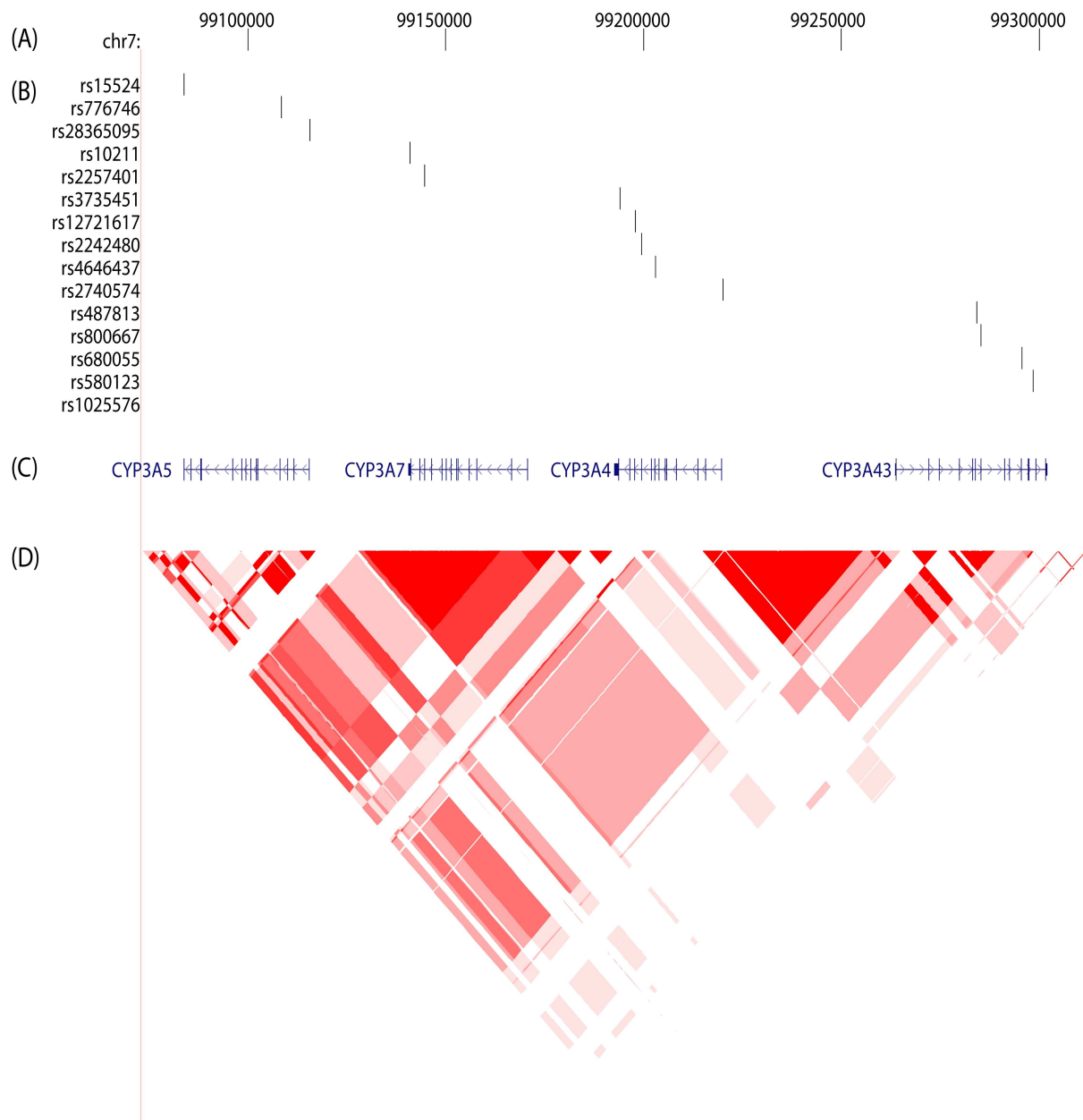


Abbildung 16:

Schematische Darstellung der Region um das CYP3A-Gencluster.

(A): Dargestellt ist die Region auf Chromosom 7 von Position 99.073.286 bis 99.313.285 (HG 18).

(B): Die Lage der 15 ausgewählten SNPs (Tab. 12) ist durch vertikale Striche angezeigt.

(C): Die Gene CYP3A5, CYP3A7, CYP3A4 und CYP3A43 sind schematisch wiedergegeben. Die horizontale Linie zeigt die Introns mit angedeuteten Pfeilen für die Genorientierung. Kleine vertikale Linien symbolisieren nicht translatierte Exone, große vertikale Linien stehen für den kodierten Bereich.

(D): Dargestellt ist die LD-Struktur des europäischen Kollektivs der HapMap Version 20. Dunkle Bereiche markieren LD-Strukturen mit einem höheren r^2 -Wert. Weiße Bereiche deuten auf nicht vorhandenes LD hin.

4.2.2 Statistische Auswertung der CYP3A-SNPs

In Tabelle 57 sind die CYP3A-Genotypen der 15 untersuchten SNPs mit Allel- und Genotypfrequenz im HIFAM-Kollektiv zusammengefasst.

Tabelle 57:

CYP3A-Genotypen mit Allel- und Genotypfrequenz im HIFAM-Kollektiv ($n=2.636$) aus Tabellen 11a und 11b

SNP	Allele		MAF [†]	Genotypen			CR [‡]	HWE (p) [§]
	seltene (2)	häufiges (1)		22	12	11		
CYP3A5_3531	G	A	7,08%	14	342	2256	99,1%	0,77
CYP3A5_6746	A	G	6,73%	14	323	2269	98,9%	0,44
CYP3A5_1723	T	C	1,52%	2	75	2523	98,6%	0,12
CYP3A7_0211	C	T	8,69%	22	409	2175	98,9%	0,54
CYP3A7_4551	C	G	8,94%	21	422	2153	98,5%	0,90
CYP3A4_3812	C	T	11,18%	31	520	2052	98,7%	0,84
CYP3A4_6468	G	T	1,00%	1	50	2554	98,8%	0,23
CYP3A4_2480	A	G	9,50%	25	448	2147	99,4%	0,73
CYP3A4_6227	A	G	10,62%	29	490	2061	97,9%	1
CYP3A4_1*B	G	A	3,39%	6	165	2441	99,1%	0,12
CYP3A43_3563	A	G	7,97%	13	390	2207	99,0%	0,42
CYP3A43_7740	C	T	7,85%	10	390	2213	99,1%	0,11
CYP3A43_4855	G	C	5,60%	13	267	2334	99,2%	0,09
CYP3A43_3569	G	A	5,58%	13	263	2313	98,2%	0,09
CYP3A43_6830	T	G	37,58%	388	1173	1032	98,4%	0,07

[†] *minor allele frequency* (Frequenz des seltenen Allels)

[‡] *call rate* (erfolgreich generierte Genotypen in Prozent des Kollektivs)

[§] Signifikanz der Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (keine Genotypverteilung weicht signifikant von den vorhergesagten Verteilungen ab)

Wie bereits bei der Analyse der SNPs im Gen für die HMG-CoA-Reduktase waren auch bei der Untersuchung der CYP3A-Genotypen die Cholesterinwerte der Bezugspunkt. Die Tabellen A1-A15 im Anhang dieser Arbeit zeigen die Ergebnisse der statistischen Auswertung. Bei den Cholesterinwerten wurden das Gesamt-, HDL-

und LDL-Cholesterin im Kollektiv ohne lipidsenkende Therapie (n=967) berücksichtigt. Zudem wurden die Genotypen für das gesamte Kollektiv (n=2.636) bestimmt. Zusätzlich erfolgte die Differenzierung der Studienpopulation in Personen, die Statine einnahmen und Teilnehmer ohne Statinmedikation. Bei der Statin-Gruppe wurde nochmals zwischen Statinen, die dem CYP3A4-Metabolismus unterliegen (Atorvastatin, Simvastatin und Lovastatin) und Statinen, die nicht durch CYP3A4 metabolisiert werden (Pravastatin, Cerivastatin und Fluvastatin) differenziert. Tabelle A1 im Anhang zeigt, dass der SNP **CYP3A5_3531** keine signifikante Assoziation mit dem Gesamtcholesterin- (p-Wert ANOVA=0,406), dem LDL-Cholesterin (p=0,252) und dem HDL-Cholesterinwert (p=0,812) aufweist. Auch bei der Differenzierung des Kollektivs in Subgruppen (Statineinnahme ja/nein, CYP3A4-Metabolismus ja/nein) zeigt sich kein Effekt des SNPs CYP3A5_3531 auf die Cholesterinwerte (Tabelle A1). Die Werte in Tabelle A2 des SNPs **CYP3A5_6746** veranschaulichen eine Tendenz (p=0,083). So weisen Probanden mit dem Genotyp AA (n=14) geringere Gesamtcholesterin- (229,4 mg/dl) und LDL-Cholesterin-Mittelwerte (151,8 mg/dl) auf als Personen mit dem Genotyp GG (n=2.259; 235,7 mg/dl bzw. n=2.236; 155,4 mg/dl). Auch in der Gruppe, die durch CYP3A4 metabolisierte Statine einnahm, ist ein tendentieller Einfluss des SNPs CYP3A5_6746 auf den Gesamtcholesterinwert erkennbar (p=0,053) (Tabelle A2).

Aus den Werten in Tabelle A3 geht hervor, dass der SNP **CYP3A5_1723** keinen Effekt auf die Cholesterinwerte im Gesamtkollektiv hat. Nur in der Subgruppe der Probanden, die ein Statin einnehmen, das nicht dem CYP3A4-Metabolismus unterliegt, zeigt sich eine Tendenz im Hinblick auf das LDL-Cholesterin (p=0,070) (Tabelle A3).

Wie in den Tabellen A4 und A5 dargestellt, besteht weder zwischen dem SNP **CYP3A7_0211** noch dem SNP **CYP3A7_4551** und den Cholesterinwerten eine signifikante Assoziation.

Tabelle A6 mit den Werten des SNPs **CYP3A4_3812** zeigt eine Tendenz in der Fraktion des Kollektivs, die eine Statinmedikation hatte, bezogen auf die HDL-Cholesterinwerte (p=0,059).

Der SNP **CYP3A4_6468** weist sowohl im Gesamtkollektiv als auch bei den Probanden, die kein Statin einnehmen, signifikante p-Werte (p=0,003 bzw. p=0,007) hinsichtlich der HDL-Cholesterinwerte auf, wobei die Gruppen, die das seltene Allel tragen jeweils deutlich zu klein sind (n=1) (Tabelle A7).

Anhand der Werte der Tabelle A8 wird ein tendentieller Einfluss des SNPs **CYP3A4_2480** auf die HDL-Werte der Probanden deutlich, die ein durch CYP3A4 metabolisiertes Statin einnehmen ($p=0,085$).

Im Gegensatz dazu hat der SNP **CYP3A4_6227** keinen Effekt auf die Cholesterinwerte des Gesamtkollektivs sowie die der einzelnen Subgruppen (Tabelle A9).

Die Ergebnisse des SNPs **CYP3A4_1B** in Tabelle A10 beinhalten mehrere Tendenzen. So führt das seltene Allel G im Gesamtkollektiv zu niedrigeren Gesamtcholesterin- (210,5 mg/dl vs. 235,4 mg/dl, $p=0,086$) und LDL-Cholesterinwerten ($125,0 \text{ mg/dl} \pm 17,1$ vs. $155,0 \text{ mg/dl} \pm 0,9$; $p=0,064$). Diese Tendenz setzt sich auch in der Probandengruppe mit Statinmedikation ($p=0,061$) und bei den Personen, die ein nicht durch CYP3A4 metabolisiertes Statin einnehmen ($p=0,075$), in Bezug auf die LDL-Cholesterinwerte fort (Tabelle A10).

Die SNPs **CYP3A43_3563** und **CYP3A43_7740** üben keinen Einfluss auf die Cholesterinwerte des Kollektivs aus (Tabellen A11 und A12).

Die SNPs **CYP3A43_4855** und **CYP3A43_3569**, die miteinander im perfekten LD liegen, zeigen einen Effekt auf die Cholesterinwerte (Tabellen A13 und A14). Das seltene Allel G bewirkt jeweils niedrigere Gesamtcholesterin- und LDL-Cholesterinwerte. Da diese Wirkung der SNPs durch die Probandengruppe, die kein Statin einnimmt, bedingt ist, weist dies auf einen generellen Einfluss der CYPs auf die Cholesterinwerte hin (Tabellen A13 und A14).

Die Werte des SNPs **CYP3A43_6830** lassen keinen Rückschluss auf einen Effekt dieses SNPs in Bezug auf die Cholesterinwerte zu (Tabelle A15).

Abbildung 17 stellt die Ergebnisse der Spezifizierung der unterschiedlichen Statine dar.

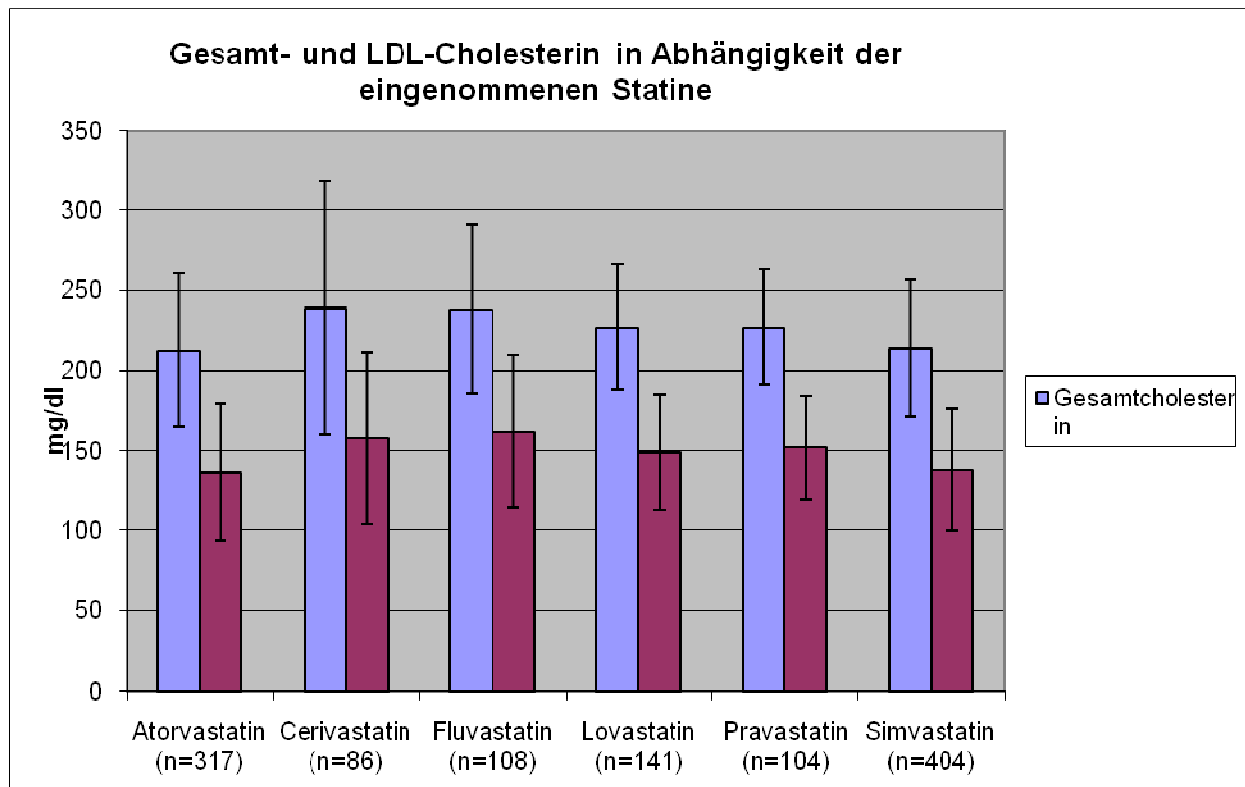


Abbildung 17: Gesamt- und LDL-Cholesterin in Abhängigkeit der eingenommenen Statine

Bei der Spezifizierung der unterschiedlichen Statine wird deutlich, dass Atorvastatin (Gesamtcholesterinmittelwert: 212,8 mg/dl, n=317, LDL-Mittelwert: 136,7 mg/dl, n=311) in der Senkung der Gesamtcholesterin- und LDL-Cholesterinwerte am effektivsten ist (Abbildung 17). Vergleichbare Werte erreichte in dieser Untersuchung nur Simvastatin (Gesamtcholesterinmittelwert: 214,3 mg/dl, n=404, LDL-Mittelwert: 138,5 mg/dl, n=398). Den geringsten Effekt hatte die Cholesterinwertsenkung mit Hilfe von Fluvastatin (Gesamtcholesterinmittelwert: 238,4 mg/dl, n=108, LDL-Mittelwert: 162,4 mg/dl, n=107) sowie Cerivastatin (Gesamtcholesterinmittelwert: 239,5 mg/dl, n=86, LDL-Mittelwert: 158,2 mg/dl, n=85). Im Hinblick auf die Erhöhung der HDL-Werte gab es unter den verschiedenen Statinen keine signifikanten Unterschiede. Die Analyse der Cholesterinwerte - wiederum spezifiziert nach den diversen Statinen - im 5-Jahres-Follow-up der HIFAM ergab bei Atorvastatin-Einnahme einen Gesamtcholesterinmittelwert von 195,0 mg/dl (n=190), während dieser Wert bei Patienten mit einer Fluvastatin-Medikation (n=5) bei 260,0 mg/dl lag. Daher bestätigen die Werte des 5-Jahres-Follow-up die oben dargestellten Ergebnisse.

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit setzte sich das Kollektiv aus Personen zusammen, die entweder mit einem Statin behandelt waren oder keine Statine einnahmen. Ziel dieser Arbeit war es, den möglichen Einfluss von Polymorphismen in den CYP-Genen auf die Cholesterinwerte zu untersuchen. Da ein Teil der Teilnehmer der Studie unterschiedliche lipidsenkende Medikamente einnahm, sollte zudem analysiert werden, ob und inwiefern die Metabolisierung der einzelnen Statine durch die verschiedenen CYP-Enzyme von Polymorphismen beeinträchtigt wird. Dafür dienten die Cholesterinwerte und deren Subfraktionen. Hierbei zeigte sich bei zwei der untersuchten 15 SNPs der CYP3A-Gene eine signifikante Assoziation. Das seltene Allel G ist jeweils mit einer Reduzierung der Gesamtcholesterin- ($p=0,011$) und grenzwertig mit LDL-Cholesterinwerten ($p=0,066$) assoziiert. Da dieser Effekt aus der Probandengruppe ohne Statinmedikation stammt, bestätigt diese Assoziation den generellen Einfluss der CYPs auf die Cholesterinwerte. Eine unabhängige Replikation steht hier noch aus. Bei Analyse der übrigen SNPs gelang es nicht, einen Effekt der SNPs auf die Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterinwerte nachzuweisen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zudem, Polymorphismen im Gen der HMG-CoA-Reduktase zu finden und ihren möglichen Einfluss auf die Cholesterinsynthese *in vivo* zu untersuchen. Während bislang beschriebene signifikante Assoziationen zwischen SNPs im HMGCR-Gen und den Cholesterinwerten nur bei Patienten unter Statin-Therapie gefunden wurden, zeigten die in der vorliegenden Arbeit untersuchten SNPs keinen Effekt auf die Cholesterinwerte der Probanden mit lipidsenkender Medikation. Bei Probanden, die keine lipidsenkende Medikation einnahmen, bestand eine signifikante Assoziation zwischen zwei SNPs (HMGCR_2463 und HMGCR_3119) und den Cholesterinwerten. Das seltene Allel A des SNPs HMGCR_2463 führte zu erhöhten Cholesterinwerten, während das seltene Allel A des SNPs HMGCR_3119 eine Assoziation mit niedrigeren Cholesterinspiegeln zeigte.

Der genetische Effekt der beiden SNPs (HMGCR_2463 und HMGCR_3119) kann durch verschiedene Mechanismen und potentielle molekulare Mechanismen erklärt werden. So erfolgt im Gen der HMG-CoA-Reduktase das *Splicing* von zumindest 4471 Basen aus 19 Exons (RefSeq: NM_000859) (102). Der SNP HMGCR_3119 ist

in einem Intron lokalisiert, während der SNP HMGCR_2463 in der 3' nichttranslatierten Region (3'UTR) liegt (Abb. 12). Die Distanz zwischen den beiden SNPs beträgt 9920 bp. Wie in Abbildung 12 dargestellt, ist das COL4A3BP-Gen dem Gen für die HMG-CoA-Reduktase benachbart. Allerdings ist ein Einfluss dieses Nachbargens jedoch aufgrund der LD-Struktur (Abb. 12) sehr unwahrscheinlich.

Da der SNP HMGCR_3119 in einem Intron lokalisiert ist, könnte die beschriebene Assoziation möglicherweise durch eine Splice-Variante erklärt werden. Dieser Mechanismus trifft für den SNP HMGCR_3119 aber nicht zu, weil keine 5' oder 3' Splicing-Stelle in der Nähe des SNPs ist. Wahrscheinlicher ist, dass der SNP HMGCR_3119 im LD mit einem anderen, kausalen, SNP liegt. Auch die Assoziation des SNPs HMGCR_2463 mit den Cholesterinwerten könnte durch eine kausale Mutation eines anderen Polymorphismus, der mit dem SNP HMGCR_2463 im LD liegt, bedingt sein. Bislang wurde jedoch keine kausale Mutation eines anderen SNPs im Bereich der SNPs HMGCR_3119 und HMGCR_2463 publiziert. Aufgrund der Lage des SNPs HMGCR_2463 in der 3'UTR könnte dieser SNP - im Gegensatz zum SNP HMGCR_3119 - selbst kausal sein, da er die Translation über Kontrollmechanismen beeinflussen könnte. Diese trans-lationalen Kontrollmechanismen entstehen durch die Interaktion von RNA-Bindeproteinen mit 5' oder 3' UTRs der mRNA (103). Die Interaktion zwischen den Transkript-Termini führt zur Formation eines RNA loops. Es wird angenommen, dass diese Zirkularisation der RNA dazu dient, die translationale Effizienz zu steigern und zusätzlich die Regulation durch Mechanismen zu gewähren, hier vor allem die translationale Kontrolle durch die 3'UTRs (103). Bislang wurden zwei generelle Mechanismen der Inhibition durch die 3'UTR-Bindeproteine postuliert. Ein Mechanismus geht von einer unterbrochenen Schließung der mRNA aus, während der andere den Zusammenschluss der mRNA für nötig hält (103).

Die in dieser Arbeit durchgeführte Analyse der HMGCR-Haplotypen ist spezifisch für die untersuchten SNPs, da diese sogenannte *lead*-SNPs der Haplotypen sind. Dabei wurden sowohl der risikobehaftete Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463 als auch die protektive Wirkung des Allels A des SNPs HMGCR_3119 bestätigt. Zudem zeigte sich anhand der Analyse des Haplotyps Nr. 9, dass das Vorkommen des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463 den protektiven Effekt des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_3119 überwiegt und zu erhöhten Cholesterinwerten führt.

Um die beschriebenen Zusammenhänge in einem weiteren Kollektiv zu bestätigen, erfolgte die HMGCR-Genotypisierung im Survey III-Kollektiv der KORA/MONICA-Studie. Auch bei den S III-Probanden wurden die risikobehaftete Wirkung des seltenen Allels A des SNPs HMGCR_2463 und der schützende Effekt des Allels A des SNPs HMGCR_3119 deutlich. Jedoch sind in diesem Kollektiv - im Gegensatz zur HIFAM-Population - nicht die LDL-Cholesterinwerte der Männer für die Assoziationen maßgeblich. Stattdessen stammt der Effekt des SNPs HMGCR_2463 aus den LDL-Werten der Frauen und die Wirkung des SNPs HMGCR_3119 aus den HDL-Werten der Frauen. Bislang bietet keine publizierte Studie eine Erklärung für dieses Phänomen. Bekannt ist aber, dass die HDL-Werte der Frauen generell höher sind als die der Männer (104).

In der dargestellten HIFAM-Studie sind einige Limitationen enthalten. So ist das Verhältnis der untersuchten Frauen (72,5%) und Männer (27,5%) nicht ausgewogen. Durch die Replikation der HIFAM-Ergebnisse im S III-Kollektiv mit ausgeglichener Geschlechterverteilung wurden diese Limitationen reduziert. Jedoch ist die Altersstruktur des S III (50,9 Jahre) sowie des HIFAM-Kollektivs (56,4 Jahre) unterschiedlich, wodurch eine weitere Limitation bedingt wird.

5.1 Bedeutung der CYP3A-Enzyme in Forschung und Klinik

Die Isoenzyme von CYP3A metabolisieren 45-60% der momentan verwendeten Medikamente aus dem kardiovaskulären Bereich sowie eine Vielzahl anderer Komponenten, wie Steroidhormone, Toxine und Karzinogene (105). Deshalb ist die Aktivität der CYP3As eine wichtige Determinante hinsichtlich der Effektivität und Sicherheit von Medikamenten. Zudem kann sie auch die individuelle Prädisposition für bestimmte Krebsarten beeinflussen (105). Die Expression und Aktivität der CYP3A-Enzyme sind aufgrund der Kombination aus genetischen und nicht-genetischen Faktoren, wie hormoneller Status und Gesundheitszustand, und dem Einfluss von Umweltstimuli interindividuell unterschiedlich (106). Innerhalb der letzten Jahre gelang es, genetische Determinanten zu identifizieren, die einen Großteil der variablen Expression von CYP3A5 und -3A7, jedoch nicht von CYP3A4, erklären (106). Unter Verwendung dieser Marker konnte ein Effekt des CYP3A5-Expressionsstatus auf die Therapie mit dem Immunsuppressivum Tacrolimus zweifelsfrei gezeigt werden (106).

Hu et al. diskutierten den Effekt genetischer Polymorphismen von CYP3A4, CYP3A5 und MDR1 auf die pharmakokinetischen Eigenschaften von Cyclosporin bei nierentransplantierten Personen (107). Der Calcineurin-Inhibitor Cyclosporin hat ein enges therapeutisches Spektrum und zeigt beträchtliche interindividuelle Unterschiede im Hinblick auf die Pharmakokinetik (107). Die interindividuellen Differenzen in der Aktivität und Expression der CYP3A4, CYP3A5 sowie der *multidrug efflux pump* P-glycoprotein (P-gp) beeinflussen die Cyclosporin-Pharmakokinetik deutlich. Hu et al. vermuteten, dass die Variabilität in der Aktivität von CYP3A4, CYP3A5 und P-gp durch genetische Polymorphismen bedingt ist (107). In einer retrospektiven Studie mit 106 nierentransplantierten chinesischen Patienten zeigten sie, dass die Zielspiegel bei Probanden mit der CYP3A5*3-Variante durch eine niedrigere Cyclosporin-Dosis einzustellen waren als bei Patienten, die das CYP3A5*1-Allel tragen (107). Daher stellten Hu et al. fest, dass genetische Polymorphismen im CYP3A5 zum Teil für die große interindividuelle Variabilität der Cyclosporin-Pharmakokinetik in der frühen Phase nach Nierentransplantation bei chinesischen Patienten verantwortlich sind (107).

Im Rahmen der *DEBATE* Study wurden 373 ältere finnische Patienten für einen CYP3A5 SNP (rs776746) (CYP3A5*1/*3 Allele) genotypisiert. Dabei zeigte sich, dass der Anteil an Individuen mit dem CYP3A5*1/*3 Genotyp, d. h. CYP3A5-Expressoren, unter Patienten mit der Diagnose einer Hypertonie signifikant höher war, als bei Patienten ohne Hypertonus ($p=0,016$) (108). Diese Studie unterstützt daher die Theorie, dass das polymorphe CYP3A5-Enzym in die Regulation des Blutdrucks involviert ist. Die mögliche Rolle des CYP3A5 als genetischer Faktor für eine Hypertonus-Prädisposition rechtfertigt weitere Studien (108).

Leskelä et al. stellten fest, dass CYP3A in normalen Prostatazellen in großer Zahl exprimiert wird, jedoch in Prostatakarzinomzellen fehlt (109). CYP3A-Enzyme hydroxylieren Testosteron und Dehydroepiandrosteron zu weniger aktiven Metaboliten, worin die Basis für die Assoziation zwischen CYP3A-Polymorphismen und dem Prostatakarzinom liegen könnte (109). Die Ergebnisse von Leskelä et al. lassen auf eine endogene Funktion von CYP3A5, das mit dem Metabolismus von intra-prostatischen Androgenen und Zellwachstum verbunden ist, schließen. Zudem könnten Polymorphismen, die die CYP3A5-Aktivität beeinflussen, zu einem veränderten Prostatakarzinomrisiko und zu einer unterschiedlichen Aggressivität führen (109).

Neben der Rolle der CYPs in der Entstehung des Prostatakarzinoms sind die CYP3A-Isoenzyme in den Metabolismus der Tabak-Karzinogene involviert (110). Sie werden im menschlichen Lungengewebe unterschiedlich exprimiert und sind variabel in ihrer Aktivität. Dally et al. führten eine Fall-Kontroll-Studie mit 801 kaukasischen Lungenkrebs-Patienten, von denen 171 an einem kleinzelligen Bronchialkarzinom (SCLC) erkrankt waren, und 432 Kontrollpersonen durch. Als Resultat dieser Studie fand sich ein signifikant erhöhtes SCLC-Risiko für Probanden, die das CYP3A4*1B-Allel trugen ($p=0,02$) (110). Nach einer geschlechtsspezifischen Trennung des Kollektivs war das Erkrankungsrisiko für ein Bronchialkarzinom bei weiblichen, nicht jedoch bei männlichen Patienten, die das CYP3A4*1B-Allel trugen, erhöht. Um diese Beobachtung zu bestätigen, sind weitere Studien mit CYP3A Haplotyp-Analysen notwendig (110).

Das hepatische CYP3A4 wird auch für die Oxidation des sonst inaktiven *pro-drugs* Clopidogrel benötigt, das erst dadurch einen aktiven Metaboliten bilden kann (111;112). Angiolillo et al. untersuchten deshalb den Einfluss von Gensequenzvariationen des Cytochroms P450 3A4 auf das variable individuelle Ansprechen auf Clopidogrel bei Patienten mit KHK (113). Dabei zeigte sich, dass Träger eines bestimmten Allels während der konstanten Einnahme von Clopidogrel eine reduzierte Glycoprotein (GP) IIb/IIIa-Aktivierung ($p=0,025$) und ein besseres Ansprechen hatten ($p=0,02$) (113). Ebenso war bei den Patienten, die erstmals Clopidogrel erhielten und Träger des Allels waren, die GP IIb/IIIa-Aktivierung innerhalb der ersten 24 Stunden nach einer *loading dose*-Gabe ($p=0,025$) verringert. In dieser Gruppe war zudem die Thrombozytenhemmung gesteigert ($p=0,006$) und das Ansprechen auf das Medikament optimiert ($p=0,003$) (113). Dieser Polymorphismus beeinflusste jedoch nicht die Thrombozytenaggregationsprofile. Zwischen den ebenfalls untersuchten Polymorphismen CYP3A4*1B, CYP3A4*3 sowie zwei weiteren SNPs und Clopidogrel wurde keine Assoziation beobachtet (113).

Wilke et al. gingen der Frage nach der Beeinflussung der Schwere von Atorvastatin-induzierten Muskelschäden durch den CYP3A-Genotyp und die Begleitmedikation nach (114). Der primäre Endpunkt der retrospektiven Fall-Kontroll-Studie bestand in der Beziehung von Serum-Kreatinkinase (CK)-Leveln und dem CYP3A-Genotyp. Es zeigte sich keine Assoziation zwischen dem CYP3A-Genotyp und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Atorvastatin-induzierten Muskelschadens. Jedoch

gab es einen Zusammenhang zwischen dem erhöhten Schweregrad der Atorvastatin-induzierten Muskelschädigung und dem CYP3A-Genotyp (114). Das nicht funktionelle Allel CYP3A5*3 war mit dem Ausmaß der Serum-CK-Erhöhung bei Patienten, die über Myalgien klagten, assoziiert. Patienten, die homozygot für CYP3A5*3 waren, zeigten höhere CK-Werte im Serum als Probanden, die heterozygote Träger des CYP3A5*3-Allels waren, als die lipidsenkende Komedikation sequentiell aus der Analyse ausgeschlossen wurde ($p=0,025$ ohne Gemfibrozil, $p=0,010$ ohne Gemfibrozil und Niacin) (114).

Kajinami et al. analysierten einen CYP3A4-Promotorpolymorphismus und untersuchten die Lipidwerte von 340 Patienten mit Hypercholesterinämie vor und nach der Behandlung mit Atorvastatin (78). Obwohl homozygote Träger der Promotorvariante nach der Therapie signifikant höhere LDL-Cholesterinwerte aufwiesen als Probanden, die ein Wildtyp-Allel hatten, gelang es in der *multiple regression analysis* nicht, eine genotypspezifische Antwort vorherzusagen (78).

Im Gegensatz dazu konnten Kivisto et al. zeigen, dass das Ansprechen auf eine lipidsenkende Therapie mit Lovastatin, Simvastatin und Atorvastatin bei Trägern von CYP3A5*1 (CYP3A5-Expressoren) signifikant geringer war (13% bei den Gesamtcholesterinwerten) als bei CYP3A5*3 homozygoten Personen (CYP3A5-Non-Expressoren) (115). Da der CYP3A5*1-Genotyp bei Afroamerikanern überwiegt und die CYP3A5-Expression bei Kaukasiern nur in 10% erhöht ist (116), sollte CYP3A5 als genetischer Beitrag zu den interindividuellen und interethnischen Unterschieden im Hinblick auf die Statin-Therapie angesehen werden (117).

5.2 Bedeutung der HMGCR in Forschung und Klinik

Chasman et al. untersuchten in einer pharmakogenetischen Studie 148 SNPs in 10 Genen, von denen bekannt ist, dass sie die Synthese, die Absorption und den Transport des Cholesterins sowie den Statin-Metabolismus beeinflussen (79). Das Kollektiv umfasste 1.536 Individuen, die 24 Wochen lang mit Pravastatin behandelt wurden. Unter den Kandidatengenen waren neben APOE, CETP, HMGCR und anderen auch die Gene für CYP3A4 sowie CYP3A5 (79). Sowohl der untersuchte SNP in dem CYP3A4-Gen als auch die sechs SNPs des CYP3A5-Gens waren jedoch nicht mit einer signifikanten Änderung der Lipidwerte verbunden (79).

Im Gegensatz zu den CYP3A-Genen zeigte sich im Gen für die HMG-CoA-Reduktase bei zwei miteinander eng verbundenen Polymorphismen eine signifikante

Assoziation zwischen zwei SNPs und der Veränderung der Lipidwerte unter Pravastatin-Therapie (79). Die Polymorphismen führten zu einer um 22% geringeren Reduktion der Gesamtcholesterin-Werte und bewirkten eine um 19% kleinere Verringerung des LDL-Cholesterins nach einer 24-wöchigen Pravastatin-Therapie. Obwohl die Tendenz der Lipidwertveränderung bei beiden Geschlechtern dieselbe war, bestand eine generell signifikantere Assoziation bei den Männern (79). Schließlich wurden die Analysen an zusätzlichen 649 Teilnehmern der PRINCE-Studie wiederholt, die keine Pravastatin-Therapie erhielten. In diesem Kollektiv gelang es nicht, die oben beschriebene Assoziation zwischen den zwei SNPs und den Lipidwerten zu replizieren (79). Die dargestellte Studie ist in ihrer Aussage teilweise eingeschränkt, da beispielsweise nur Pravastatin eingesetzt wurde und bedingt durch das Studiendesign keine Dosis-Wirkungs-Effekte evaluiert wurden (79).

Neben dem Statinmetabolismus ist das HMGCR-Gen zudem Gegenstand intensiver Forschung im Bereich der Alzheimer-Erkrankung (100;118), der KHK (119) und der Frühgeburtlichkeit (120).

Einer chinesischen Studie gelang es, zu zeigen, dass ein Polymorphismus im zweiten Intron des HMGCR-Gens mit erhöhten VLDL-Werten im Serum bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (Genotyp AA) in Zusammenhang steht (121). Zudem wurde eine Assoziation zwischen diesem Polymorphismus und einem verbesserten Ansprechen der Diabetes-Patienten (Genotypen Aa und aa) auf eine lipidsenkende Therapie mit Simvastatin nachgewiesen (121).

In einem genetischen Screening zur Identifikation von Genen, die in die Regulation der frühen Herzentwicklung von Zebrafischen involviert sind, wurde eine Mutation im 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reduktase 1 b (*hmgcr1b*) Gen gefunden, die die Migration des Myokards und somit die Morphogenese des Herzschlauches beeinflusst (122). Eine Behandlung der Embryonen mit pharmakologischen Inhibitoren der Isoprenoid-Synthese führte zu Defekten in der Ausbildung des Herzschlauches (122).

Willer et al. kombinierten drei genomweite Studien (1.874 Individuen aus der *FUSION*-Studie, 4.184 Personen aus der *SardiNIA*-Studie sowie 2.758 Probanden der *Diabetes Genetics Initiative*), um genetische Varianten zu identifizieren, die die Plasma-Lipidkonzentrationen beeinflussen (123). Insgesamt wurden Varianten in elf

Loci, deren Einfluss auf den Lipidmetabolismus bereits bekannt war (z.B. APOE-APOC-Cluster, CETP, LDLR, PCSK9), sowie in neu identifizierten Loci gefunden. Zu diesen zählen die Region um MVK-MMAB und GALNT2, die vor allem mit dem HDL-Cholesterin assoziiert sind, Loci nahe SORT1, deren Varianten vornehmlich mit dem LDL-Cholesterin in Zusammenhang stehen, und Polymorphismen in der Nähe von TRIB1, MLXIPL und ANGPTL3, die mit den Triglyzeridwerten assoziiert sind (123). Einige von diesen Loci stellen potentiell attraktive Zielstrukturen für Medikamente dar. Zudem könnte die Möglichkeit der Stratifizierung der Individuen auf der Basis von spezifischen genetischen Profilen in Zukunft die häufig verordnete lipidsenkende Therapie optimieren, um das Risiko kardiovaskulärer Komplikationen zu reduzieren (123;124).

Aus einer weiteren genomweiten Studie von Kooner et al. resultierte eine Variation im MLXIPL, die mit den Triglyzeridwerten im Plasma assoziiert ist (125). MLXIPL ist ein Koordinator der transkriptionalen Regulation von Enzymen, die glykolytische Endprodukte in die Lipogenese und die Energiereserven einschleust. Daher ist MLXIPL ein plausibles *'thrifty gene'* (125).

Die bisher in genomweiten Assoziationsstudien identifizierten Varianten erklären nur einen geringen Anteil (ca. 5 %) der interindividuellen Variabilität in den Lipoproteinspiegeln. Diese Ergebnisse legen nahe, dass weitere Loci, auf denen lipidassoziierte DNA-Sequenzvarianten liegen, mit einer größeren Teilnehmerzahl und verbesserten statistischen Verfahren gefunden werden könnten (126). Durch die Metaanalyse von sieben genomweiten Assoziationsstudien - Framingham Heart Study (FHS), London Life Sciences Prospective Population Cohort (LOLIPOP), Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SUVIMAX), Invecchiare in Chianti (InCHIANTI), DGI, FUSION sowie SardiNIA - und einer daraus resultierenden Teilnehmeranzahl von 19.840, sowie eine follow-up Replikationsanalyse in fünf weiteren Studien (n=20.623) gelang es Kathiresan et al. 30 unterschiedliche Loci zu identifizieren, die eine Assoziation mit den Lipoproteinkonzentrationen aufweisen (126). Der SNP rs3846663 im Gen für die HMGCR war mit den LDL-Cholesterinwerten assoziiert ($p=8 \times 10^{-12}$). Elf der gefundenen Loci erreichten erstmals genomweite Signifikanz. Die Ergebnisse der dargestellten Studie zeigen Regionen des Genoms auf, die vollständig sequenziert werden sollten, und geben neue Richtungen für die funktionelle Suche sowie die potentielle klinische Anwendung vor (126).

Sabatti et al. führten eine genomweite Assoziationsstudie an der Northern Finland Birth Cohort 1966 (NFBC1966) durch, einem Kollektiv (n=4.763), das fast alle Individuen einschließt, die 1966 in den zwei nördlichsten Provinzen Finnlands geboren wurden (127). Da alle Teilnehmer der NFBC1966 im selben Jahr geboren wurden und somit bei jeder Untersuchung gleich alt waren, wurde der Effekt des Alters auf die interindividuelle Variation minimiert (128). Zu den neun untersuchten metabolischen Merkmalen zählten auch die Triglyzeride, HDL- und LDL-Lipoprotein (127). Sabatti et al. gelang es, die meisten der bislang publizierten Assoziationen für diese Parameter zu replizieren und neun neue Assoziationen zu identifizieren (127). Obwohl die Aussagekraft dieser Studie durch die relativ kleine Teilnehmerzahl limitiert ist, stellen die Ergebnisse interessante Hinweise auf mögliche Gen-Umwelt-Interaktionen dar, die in größeren Studien repliziert werden sollten (128).

Aulchenko et al. führten eine genomweite Assoziationsanalyse von 16 europäischen Studien (Teilnehmeranzahl 17798-22562) durch, die populationsbasierte Kohorten beinhalteten (129). Es wurden 22 Loci identifiziert, die signifikant ($P < 5 \times 10^{-8}$) mit den Serum-Lipidwerten assoziiert waren. 16 der 22 Loci waren bereits in früheren genomweiten Assoziationsstudien publiziert worden. Einen neuen Aspekt betrachteten Aulchenko et al. mit den geschlechtsspezifischen Effekten für einige Gene. Die zwei Loci, die die beste Evidenz für geschlechtsspezifische Unterschiede aufwiesen, waren HMGCR und NCAN (neurocan) (129).

5.3 Ausblick

Für Cytochrom P450 wird gegenwärtig in der Klinik routinemäßig eine prädiktive Genotypisierung nicht durchgeführt. Hierfür verantwortlich sind, laut Ingelman-Sundberg, mangelndes Wissen über Genetik und Pharmakogenetik unter den Verschreibenden sowie das Fehlen von großen prospektiven Studien, die eine erhöhte Effektivität der Medikamente durch die Genotypisierung zeigen. Da jedoch die Kosten für Genotypisierungen rasch fallen und das Wissen über den Nutzen einer prädiktiven Genotypisierung für eine effektivere Therapie steigt, ist davon auszugehen, dass für einige spezifische Medikamente eine Genotypisierung für die CYP-Gene bald klinische Routine werden könnte. In Anbetracht der Bedeutung, die polymorphe CYP-Proteine im Medikamenten-Metabolismus spielen, könnte eine Genotypisierung die klinische Effektivität der Medikamententherapie um 10-20%

verbessern und das Auftreten von unerwünschten Wirkungen um 10-15% reduzieren (69;130;131).

Die größten Probleme bei der Detektion von klinischen Effekten der CYP3A-Genvarianten sind das anhaltende Fehlen von CYP3A-spezifischen Aktivitätsmarkern und der große Einfluss nichtgenetischer Faktoren auf die CYP3A-Variabilität (106). Um klinisch bedeutende genetische Varianten zu finden, könnten Haplotypanalysen sowie Gen-Gen-Interaktionen oder eine Kombination von Genassoziationsstudien und Studien, die eine *in vitro recombinant expression technique* verwenden, nützlich sein (64). Neben den Lipidwerten als Endpunkt wäre es auch wertvoll, diejenigen genetischen Varianten zu untersuchen, die mit der Wahrscheinlichkeit von gravierenden unerwünschten Wirkungen oder auch mit der Kosteneffektivität der Statintherapie verbunden sind (64).

Auch Schmitz et al. halten eine Veränderung der Paradigmata bei der Suche nach genetischen und Life-style-Faktoren für nötig, die das pharmakokinetische sowie pharmako-dynamische Ansprechen und somit die Effektivität der cholesterinsenkenden Behandlung und die Toxizität beeinflussen (132). Der endgültige Beweis der Bedeutung der bislang identifizierten SNPs kann nur durch genomweite Populationsstudien in Kombination mit großen Kohorten erbracht werden, die eine cholesterinsenkende Therapie erhalten und bei denen der Focus auf der Interaktion von multiplen genetischen Varianten liegt (132).

Bezüglich des HMGCR-Gens bedarf es weiterer Studien mit möglichst großen Probandenzahlen, um die dargestellten Resultate in einer weiteren Population zu verifizieren. Dabei ist der Einsatz effizienter Strategien, wie die Haplotypanalyse oder Gen-Gen-Interaktionen, hilfreich, um weitere wichtige genetische Varianten zu identifizieren (65). Eine negative Auswirkung von Gen-Polymorphismen auf den Cholesterinspiegel hat einen lebenslangen risikobehafteten Einfluss auf die Gefäßwände und damit einhergehend ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Die Kenntnis maßgeblicher Mutationen könnte in der Primärprävention helfen.

Ein relevanter Gesichtspunkt ist auch die biologische Bedeutung der bislang bekannten Differenzen der unterschiedlichen Genotypen im Hinblick auf die Medikamentenwirkung. Da Interventionsstudien mit Statinen zeigen konnten, dass die Rate an kardiovaskulären Ereignissen um 1% reduziert wird, wenn man das LDL-

Cholesterin um 1% senkt (65), kommt dem unterschiedlichen Ansprechen der Patienten auf Statine durchaus klinische Bedeutung zu.

Die Pharmakogenetik ist ein sich entwickelndes Forschungsgebiet und einige wichtige Fragen - wie die der Replikation und der klinischen Relevanz - sind bislang noch unbeantwortet. Wenn die Zusammenarbeit von Grundlagenforschern und Klinikern jedoch gelingt (65), ist die Vorstellung der individualisierten Medizin hinsichtlich der Statintherapie möglicherweise realisierbar.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Bloch K. The biological synthesis of cholesterol. *Science* 1965; 150(692):19-28.
- (2) BUCHER NL, OVERATH P, LYNEN F. beta-Hydroxy-beta-methyl-glutaryl coenzyme A reductase, cleavage and condensing enzymes in relation to cholesterol formation in rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1960; 40:491-501.
- (3) Goldstein JL, Bose-Boyd RA, Brown MS. Protein sensors for membrane sterols. *Cell* 2006; 124(1):35-46.
- (4) Brown MS, Ye J, Rawson RB, Goldstein JL. Regulated intramembrane proteolysis: a control mechanism conserved from bacteria to humans. *Cell* 2000; 100(4):391-398.
- (5) Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002; 109(9):1125-1131.
- (6) Singer II, Kawka DW, Kazazis DM et al. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase-containing hepatocytes are distributed periportally in normal and mevinolin-treated rat livers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81(17):5556-5560.
- (7) Hardie DG. The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 23):5479-5487.
- (8) Fielding CJ. Lipoprotein receptors, plasma cholesterol metabolism, and the regulation of cellular free cholesterol concentration. *FASEB J* 1992; 6(13):3162-3168.
- (9) Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995; 36(2):211-228.
- (10) Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein receptors in the liver. Control signals for plasma cholesterol traffic. *J Clin Invest* 1983; 72(3):743-747.
- (11) Brown MS, Goldstein JL. Receptor-mediated endocytosis: insights from the lipoprotein receptor system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979; 76(7):3330-3337.
- (12) Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res* 2005; 96(12):1221-1232.
- (13) Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285(19):2486-2497.
- (14) American Heart Association (<http://www.americanheart.org>). 2008.

- (15) Richter WO, Schwandt P. [Classification of disorders of lipid metabolism]. *Internist (Berl)* 1992; 33(11):728-731.
- (16) Ritter MM, Richter WO, Schwandt P. [Secondary dyslipoproteinemias]. *Internist (Berl)* 1992; 33(1):16-23.
- (17) Schwandt P, Richter WO. [Genetic metabolic defects in adults]. *Internist (Berl)* 1989; 30(9):547-555.
- (18) Thompson GR. Management of dyslipidaemia. *Heart* 2004; 90(8):949-955.
- (19) Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97(18):1837-1847.
- (20) KHACHADURIAN AK. THE INHERITANCE OF ESSENTIAL FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA. *Am J Med* 1964; 37:402-407.
- (21) Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007; 4(4):214-225.
- (22) Fouchier SW, Rodenburg J, Defesche JC, Kastelein JJ. Management of hereditary dyslipidaemia; the paradigm of autosomal dominant hypercholesterolaemia. *Eur J Hum Genet* 2005; 13(12):1247-1253.
- (23) Goldstein JL, Brown MS. Molecular medicine. The cholesterol quartet. *Science* 2001; 292(5520):1310-1312.
- (24) Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138(5 Pt 2):S419-S420.
- (25) Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362(6423):801-809.
- (26) Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al. 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(5):1355-1374.
- (27) Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1977; 46:897-930.
- (28) Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med* 2002; 8(11):1211-1217.
- (29) Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111(25):3481-3488.
- (30) Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(2):151-152.

- (31) Wood D, De BG, Faergeman O, Graham I, Mancina G, Pyorala K. Prevention of coronary heart disease in clinical practice: recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. *Atherosclerosis* 1998; 140(2):199-270.
- (32) Ballantyne CM, Houri J, Notarbartolo A et al. Effect of ezetimibe coadministered with atorvastatin in 628 patients with primary hypercholesterolemia: a prospective, randomized, double-blind trial. *Circulation* 2003; 107(19):2409-2415.
- (33) Davis HR, Jr., Compton DS, Hoos L, Tetzloff G. Ezetimibe, a potent cholesterol absorption inhibitor, inhibits the development of atherosclerosis in ApoE knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(12):2032-2038.
- (34) Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterol synthesis produced by *Penicillium citrinum*. *J Antibiot (Tokyo)* 1976; 29(12):1346-1348.
- (35) <http://www.newstarget.com/003425.html>. 2008.
- (36) Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science* 2001; 292(5519):1160-1164.
- (37) Haffner SM, Alexander CM, Cook TJ et al. Reduced coronary events in simvastatin-treated patients with coronary heart disease and diabetes or impaired fasting glucose levels: subgroup analyses in the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Arch Intern Med* 1999; 159(22):2661-2667.
- (38) Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344(8934):1383-1389.
- (39) Shepherd J, Cobbe SM, Ford I et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333(20):1301-1307.
- (40) Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339(19):1349-1357.
- (41) White HD, Simes RJ, Anderson NE et al. Pravastatin therapy and the risk of stroke. *N Engl J Med* 2000; 343(5):317-326.
- (42) Collins R, Armitage J, Parish S, Sleight P, Peto R. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361(9374):2005-2016.
- (43) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360(9326):7-22.

- (44) Weverling-Rijnsburger AW, Blauw GJ, Lagaay AM, Knook DL, Meinders AE, Westendorp RG. Total cholesterol and risk of mortality in the oldest old. *Lancet* 1997; 350(9085):1119-1123.
- (45) Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360(9346):1623-1630.
- (46) Pedersen TR, Berg K, Cook TJ et al. Safety and tolerability of cholesterol lowering with simvastatin during 5 years in the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Arch Intern Med* 1996; 156(18):2085-2092.
- (47) Tamai O, Matsuoka H, Itabe H, Wada Y, Kohno K, Imaizumi T. Single LDL apheresis improves endothelium-dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *Circulation* 1997; 95(1):76-82.
- (48) Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C, Lerman A. Statin effects beyond lipid lowering--are they clinically relevant? *Eur Heart J* 2003; 24(3):225-248.
- (49) Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P et al. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352(1):29-38.
- (50) Meredith KG, Horne BD, Pearson RR et al. Comparison of effects of high (80 mg) versus low (20 mg) dose of simvastatin on C-reactive protein and lipoproteins in patients with angiographic evidence of coronary arterial narrowing. *Am J Cardiol* 2007; 99(2):149-153.
- (51) Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000; 6(12):1399-1402.
- (52) Laufs U, La F, V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998; 97(12):1129-1135.
- (53) Sukhova GK, Williams JK, Libby P. Statins reduce inflammation in atheroma of nonhuman primates independent of effects on serum cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(9):1452-1458.
- (54) Vaughan CJ, Gotto AM, Jr. Update on statins: 2003. *Circulation* 2004; 110(7):886-892.
- (55) Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V et al. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med* 2001; 7(6):687-692.
- (56) Evans M, Rees A. Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on skeletal muscle: are all statins the same? *Drug Saf* 2002; 25(9):649-663.
- (57) Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *JAMA* 2003; 289(13):1681-1690.

- (58) Bradford RH, Shear CL, Chremos AN et al. Expanded Clinical Evaluation of Lovastatin (EXCEL) study results. I. Efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia. *Arch Intern Med* 1991; 151(1):43-49.
- (59) Cressman MD, Hoogwerf BJ, Moodie DS, Olin JW, Weinstein CE. HMG-CoA reductase inhibitors. A new approach to the management of hypercholesterolemia. *Cleve Clin J Med* 1988; 55(1):93-100.
- (60) Hsu I, Spinler SA, Johnson NE. Comparative evaluation of the safety and efficacy of HMG-CoA reductase inhibitor monotherapy in the treatment of primary hypercholesterolemia. *Ann Pharmacother* 1995; 29(7-8):743-759.
- (61) Hunninghake DB. Drug treatment of dyslipoproteinemia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990; 19(2):345-360.
- (62) Williams D, Feely J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41(5):343-370.
- (63) Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med* 2001; 250(3):186-200.
- (64) Kajinami K, Akao H, Polisecki E, Schaefer EJ. Pharmacogenomics of statin responsiveness. *Am J Cardiol* 2005; 96(9A):65K-70K.
- (65) Kajinami K, Okabayashi M, Sato R, Polisecki E, Schaefer EJ. Statin pharmacogenomics: what have we learned, and what remains unanswered? *Curr Opin Lipidol* 2005; 16(6):606-613.
- (66) Kim RB, Leake BF, Choo EF et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70(2):189-199.
- (67) <http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>. 2008.
- (68) Phillips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA* 2001; 286(18):2270-2279.
- (69) Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(4):193-200.
- (70) Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H et al. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutat* 2004; 23(1):100.
- (71) Hesselink DA, van Schaik RH, van dH, I et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74(3):245-254.

- (72) Ozdemir V, Kalow W, Tang BK et al. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics* 2000; 10(5):373-388.
- (73) Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286(5439):487-491.
- (74) Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369(1):89-104.
- (75) Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med* 2001; 7(5):201-204.
- (76) Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 2003; 348(6):529-537.
- (77) Kajinami K, Takekoshi N, Saito Y. Pitavastatin: efficacy and safety profiles of a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. *Cardiovasc Drug Rev* 2003; 21(3):199-215.
- (78) Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. CYP3A4 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin in primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004; 93(1):104-107.
- (79) Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP, Jr., Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA* 2004; 291(23):2821-2827.
- (80) Kajinami K, Takekoshi N, Brousseau ME, Schaefer EJ. Pharmacogenetics of HMG-CoA reductase inhibitors: exploring the potential for genotype-based individualization of coronary heart disease management. *Atherosclerosis* 2004; 177(2):219-234.
- (81) Baessler A, Hengstenberg C, Holmer S et al. Long-term effects of in-hospital cardiac rehabilitation on the cardiac risk profile. A case-control study in pairs of siblings with myocardial infarction. *Eur Heart J* 2001; 22(13):1111-1118.
- (82) Baessler A, Fischer M, Huf V et al. Failure to achieve recommended LDL cholesterol levels by suboptimal statin therapy relates to elevated cardiac event rates. *Int J Cardiol* 2005; 101(2):293-298.
- (83) Stark K, Neureuther K, Sedlacek K et al. The common Y402H variant in complement factor H gene is not associated with susceptibility to myocardial infarction and its related risk factors. *Clin Sci (Lond)* 2007; 113(4):213-218.
- (84) Lieb W, Mayer B, Stritzke J et al. Association of low-grade urinary albumin excretion with left ventricular hypertrophy in the general population: the MONICA/KORA Augsburg Echocardiographic Substudy. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(10):2780-2787.
- (85) Livak KJ. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 1999; 14(5-6):143-149.

- (86) McGuigan FE, Ralston SH. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatr Genet* 2002; 12(3):133-136.
- (87) Afonina I, Zivarts M, Kutuyavin I, Lukhtanov E, Gamper H, Meyer RB. Efficient priming of PCR with short oligonucleotides conjugated to a minor groove binder. *Nucleic Acids Res* 1997; 25(13):2657-2660.
- (88) Livak KJ, Flood SJ, Marmaro J, Giusti W, Deetz K. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *PCR Methods Appl* 1995; 4(6):357-362.
- (89) De L, V, Lazaruk KD, Rhodes MD, Wenz MH. Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan SNP Genotyping Assays and the SNPLEX Genotyping System. *Mutat Res* 2005; 573(1-2):111-135.
- (90) van Schaik RH, de Wildt SN, van Iperen NM, Uitterlinden AG, van den Anker JN, Lindemans J. CYP3A4-V polymorphism detection by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis and its allelic frequency among 199 Dutch Caucasians. *Clin Chem* 2000; 46(11):1834-1836.
- (91) Sasieni PD. From genotypes to genes: doubling the sample size. *Biometrics* 1997; 53(4):1253-1261.
- (92) Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001; 68(4):978-989.
- (93) Purcell S, Neale B, Todd-Brown K et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007; 81(3):559-575.
- (94) Friesen JA, Rodwell VW. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases. *Genome Biol* 2004; 5(11):248.
- (95) Istvan ES, Deisenhofer J. The structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529(1-3):9-18.
- (96) Luskey KL, Faust JR, Chin DJ, Brown MS, Goldstein JL. Amplification of the gene for 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, but not for the 53-kDa protein, in UT-1 cells. *J Biol Chem* 1983; 258(13):8462-8469.
- (97) Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343(6257):425-430.
- (98) Kumagai H, Chun KT, Simoni RD. Molecular dissection of the role of the membrane domain in the regulated degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *J Biol Chem* 1995; 270(32):19107-19113.
- (99) Moriyama T, Sather SK, McGee TP, Simoni RD. Degradation of HMG-CoA reductase in vitro. Cleavage in the membrane domain by a membrane-bound cysteine protease. *J Biol Chem* 1998; 273(34):22037-22043.

- (100) Chun KT, Bar-Nun S, Simoni RD. The regulated degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase requires a short-lived protein and occurs in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1990; 265(35):22004-22010.
- (101) Meigs TE, Roseman DS, Simoni RD. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase degradation by the nonsterol mevalonate metabolite farnesol in vivo. *J Biol Chem* 1996; 271(14):7916-7922.
- (102) Pruitt KD, Maglott DR. RefSeq and LocusLink: NCBI gene-centered resources. *Nucleic Acids Res* 2001; 29(1):137-140.
- (103) Mazumder B, Seshadri V, Fox PL. Translational control by the 3'-UTR: the ends specify the means. *Trends Biochem Sci* 2003; 28(2):91-98.
- (104) Bittner V. Lipoprotein abnormalities related to women's health. *Am J Cardiol* 2002; 90(8A):77i-84i.
- (105) Wojnowski L. Genetics of the variable expression of CYP3A in humans. *Ther Drug Monit* 2004; 26(2):192-199.
- (106) Wojnowski L, Kamdem LK. Clinical implications of CYP3A polymorphisms. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2006; 2(2):171-182.
- (107) Hu YF, Qiu W, Liu ZQ et al. Effects of genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33(11):1093-1098.
- (108) Kivisto KT, Niemi M, Schaeffeler E et al. CYP3A5 genotype is associated with diagnosis of hypertension in elderly patients: data from the DEBATE Study. *Am J Pharmacogenomics* 2005; 5(3):191-195.
- (109) Leskela S, Honrado E, Montero-Conde C et al. Cytochrome P450 3A5 is highly expressed in normal prostate cells but absent in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14(3):645-654.
- (110) Dally H, Edler L, Jager B et al. The CYP3A4*1B allele increases risk for small cell lung cancer: effect of gender and smoking dose. *Pharmacogenetics* 2003; 13(10):607-618.
- (111) Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A et al. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2002; 30(11):1288-1295.
- (112) Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF et al. Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2000; 84(5):891-896.
- (113) Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E et al. Contribution of gene sequence variations of the hepatic cytochrome P450 3A4 enzyme to variability in individual responsiveness to clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(8):1895-1900.
- (114) Wilke RA, Moore JH, Burmester JK. Relative impact of CYP3A genotype and concomitant medication on the severity of atorvastatin-induced muscle damage. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15(6):415-421.

- (115) Kivisto KT, Niemi M, Schaeffeler E et al. Lipid-lowering response to statins is affected by CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2004; 14(8):523-525.
- (116) Hustert E, Haberl M, Burk O et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2001; 11(9):773-779.
- (117) Schmitz G, Langmann T. Pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Vascul Pharmacol* 2006; 44(2):75-89.
- (118) Porcellini E, Calabrese E, Guerini F et al. The hydroxy-methyl-glutaryl CoA reductase promoter polymorphism is associated with Alzheimer's risk and cognitive deterioration. *Neurosci Lett* 2007; 416(1):66-70.
- (119) Tong Y, Zhang S, Li H et al. 8302A/C and (TTA)_n polymorphisms in the HMG-CoA reductase gene may be associated with some plasma lipid metabolic phenotypes in patients with coronary heart disease. *Lipids* 2004; 39(3):239-241.
- (120) Steffen KM, Cooper ME, Shi M et al. Maternal and fetal variation in genes of cholesterol metabolism is associated with preterm delivery. *J Perinatol* 2007; 27(11):672-680.
- (121) Ying S, Sun YM, Liu XM, An CY, Gao YY. Effect of ScrF I polymorphism in the 2nd intron of the HMGCR gene on lipid-lowering response to simvastatin in Chinese diabetic patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363(2):395-398.
- (122) D'Amico L, Scott IC, Jungblut B, Stainier DY. A mutation in zebrafish *hmgcr1b* reveals a role for isoprenoids in vertebrate heart-tube formation. *Curr Biol* 2007; 17(3):252-259.
- (123) Willer CJ, Sanna S, Jackson AU et al. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet* 2008; 40(2):161-169.
- (124) Law MR, Wald NJ, Rudnicka AR. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003; 326(7404):1423.
- (125) Kooner JS, Chambers JC, guilar-Salinas CA et al. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nat Genet* 2008; 40(2):149-151.
- (126) Kathiresan S, Willer CJ, Peloso GM et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet* 2009; 41(1):56-65.
- (127) Sabatti C, Service SK, Hartikainen AL et al. Genome-wide association analysis of metabolic traits in a birth cohort from a founder population. *Nat Genet* 2009; 41(1):35-46.
- (128) Manolio TA. Cohort studies and the genetics of complex disease. *Nat Genet* 2009; 41(1):5-6.

- (129) Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I et al. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet* 2009; 41(1):47-55.
- (130) Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 2004; 9(5):442-473.
- (131) Pirmohamed M, Park BK. Cytochrome P450 enzyme polymorphisms and adverse drug reactions. *Toxicology* 2003; 192(1):23-32.
- (132) Schmitz G, Schmitz-Madry A, Ugocsai P. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18(2):164-173.

7. Quellennachweis der Tabellen und Abbildungen

- (1) Bloch K. The biological synthesis of cholesterol. Science 1965; 150(692):19-28.
- (2) Löffler G (Hrsg.), Petrides PE (Hrsg.), Heinrich PC (Hrsg.). Biochemie und Pathobiochemie. Springer 2007; 8. Aufl.:564-583.
- (3) Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. J Lipid Res 1995; 36(2):211-228.
- (4) <http://www.pharmagkb.org/search/pathway/statin/statin.jpg>.
- (5) Third Report of the National Cholesterol Education Program on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Executive Summary 2001:3,13.
- (6) Dietel M (Hrsg.) et al. Harrisons Innere Medizin. ABW Wissenschaftsverlag GmbH 2005; 16. Aufl.
- (7) Vaughan CJ, Gotto AM, Jr. Update on statins: 2003. Circulation 2004; 110(7): 886-892.
- (8) Zipes DP, et al. Rosuvastatin: an independent analysis of risks and benefits. Med Gen Med 2006; 8(2):73.
- (9) Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. J Intern Med 2001; 250(3):186-200.
- (10) Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. Trends Pharmacol Sci 2004; 25(4):193-200.
- (11) Kajinami K, Takekoshi N, Brousseau ME, Schaefer EJ. Pharmacogenetics of HMG-CoA Reduktase inhibitors: exploring the potential for genotype-based individualization of coronary heart disease management. Atherosclerosis 2004; 177(2):219-234.
- (12) Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP, Jr., Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. JAMA 2004; 291(23):2821-2827.
- (13) De La Vega FM, Lazaruk KD, Rhodes MD, Wenz MH. Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan SNP Genotyping Assays and the SNPLEX Genotyping System. Mutat Res 2005; 573(1-2):111-135.

8. Anhang

Tabelle A1: CYP3A5_3531

häufiges Allel: 1, seltenes Allel: 2, alle Werte stammen aus den Studieneinschlusssdaten der HIFAM

CYP3A5_3531	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n) Cholesterin-Mittelwert+SE*	2246 235,4 ±1,0	338 231,7 ±2,6	14 231,9 ±12,6	0,406	972 221,6 ±1,6	166 216,2 ±3,8	8 228,3 ±17,1	0,373	1274 245,9 ±1,2	172 246,8 ±3,3	6 236,7 ±17,6	0,842	729 216,7 ±1,6	116 209,9 ±4,1	6 229,7 ±17,9	0,224	243 236,2 ±3,7	50 230,6 ±8,1	2 224,0 ±40,7	0,791
Anzahl (n) LDL-Cholesterin-Mittelwert+SE	2225 155,2 ±0,9	335 151,3 ±2,3	14 160,8 ±11,2	0,252	958 145,5 ±1,4	164 138,8 ±3,3	8 156,1 ±14,9	0,124	1267 162,5 ±1,1	171 163,3 ±3,1	6 167,0 ±16,4	0,932	717 140,6 ±1,5	114 134,6 ±3,8	6 156,5 ±16,4	0,201	241 160,2 ±2,9	50 148,3 ±6,4	2 155,0 ±31,8	0,231
Anzahl (n) HDL-Cholesterin-Mittelwert+SE	2246 54,1 ±0,3	337 53,7 ±0,8	14 55,9 ±4,1	0,812	973 50,8 ±0,4	165 50,7 ±1,1	8 56,5 ±4,9	0,503	1273 56,7 ±0,4	172 56,7 ±1,2	6 55,2 ±6,4	0,971	730 51,0 ±0,5	115 49,8 ±1,3	6 58,7 ±5,6	0,266	243 50,1 ±0,9	50 52,6 ±2,0	2 50,0 ±10,0	0,525

- *SE: Standard Error

Tabelle A2: CYP3A5_6746

häufiges Allel: 2 seltenes Allel: 1

CYP3A5_6746	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n) Cholesterin- Mittelwert+SE	14 229,4 ±12,6	319 229,5 ±2,6	2259 235,7 ±1,0	0,083	8 222,5 ±17,1	156 212,9 ±3,9	981 221,8 ±1,5	0,106	6 238,7 ±17,6	163 245,3 ±3,4	1278 246,3 ±1,2	0,875	7 222,0 ±16,5	107 206,1 ±4,2	735 216,8 ±1,6	0,053	1 226,0 ±57,5	49 228,0 ±8,2	246 236,5 ±3,7	0,634
Anzahl (n) LDL-Cholesterin- Mittelwert+SE	14 151,8 ±11,2	318 149,9 ±2,4	2236 155,4 ±0,9	0,094	8 147,6 ±14,8	156 137,3 ±3,4	965 145,6 ±1,4	0,072	6 157,3 ±16,5	162 162,1 ±3,2	1271 162,8 ±1,1	0,927	7 149,4 ±15,1	107 133,3 ±3,9	721 140,6 ±1,5	0,170	1 135,0 ±44,9	49 146,1 ±6,4	244 160,4 ±2,9	0,113
Anzahl (n) HDL-Cholesterin- Mittelwert + SE	14 57,5 ±4,1	319 53,5 ±0,9	2258 54,2 ±0,3	0,540	8 56,0 ±4,9	156 50,1 ±1,1	981 50,9 ±0,4	0,467	6 59,5 ±6,4	163 56,8 ±1,2	1277 56,7 ±0,4	0,911	7 55,4 ±5,2	107 49,2 ±1,3	735 51,1 ±0,5	0,285	1 60,0 ±14,1	49 52,1 ±2,0	246 50,1 ±0,9	0,539

Tabelle A3: CYP3A5_1723

häufiges Allel: 1, seltenes Allel 2

CYP3A5_1723	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				Kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n) Cholesterin-Mittelwert + SE	2512 235,0 ±0,9	74 232,4 ±5,5	2 182,5 ±33,4	0,263	1105 220,4 ±1,5	32 230,8 ±8,5	1 161,0 ±48,2	0,227	1405 246,4 ±1,2	42 233,7 ±6,7	1 204,0 ±43,2	0,106	822 215,6 ±1,5	24 224,6 ±9,0	1 161,0 ±44,0	0,283	283 234,4 ±3,4	8 249,3 ±20,0	0	0,464
Anzahl (n) LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	2486 154,6 ±0,8	74 154,5 ±4,9	2 120,5 ±29,7	0,518	1089 144,0 ±1,3	32 153,8 ±7,4	1 95,0 ±41,9	0,214	1397 162,8 ±1,1	42 155,0 ±6,2	1 146,0 ±40,4	0,429	808 139,5 ±1,4	24 143,1 ±8,1	1 95,0 ±39,9	0,488	281 157,1 ±2,6	8 186,0 ±15,7	0	0,070
Anzahl (n) HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	2509 54,2 ±0,3	74 53,3 ±1,8	2 45,0 ±10,8	0,611	1105 50,8 ±0,4	32 51,0 ±2,5	1 46,0 ±14,0	0,940	1404 56,8 ±0,4	42 55,0 ±2,4	1 44,0 ±15,7	0,544	822 50,9 ±0,5	24 53,6 ±2,8	1 46,0 ±13,9	0,595	283 50,7 ±0,8	8 43,1 ±5,0	0	0,133

Tabelle A4: CYP3A7_0211

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A7_0211	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n) Cholesterin-Mittelwert + SE	22 233,5 ±10,1	405 232,4 ±2,3	2165 235,4 ±1,0	0,493	12 233,3 ±14,0	195 217,7 ±3,5	932 221,3 ±1,6	0,435	10 233,7 ±13,7	210 246,1 ±3,0	1233 246,2 ±1,2	0,662	9 233,8 ±14,6	136 211,9 ±3,8	700 216,3 ±1,7	0,263	3 232,0 ±33,3	59 231,2 ±7,5	232 236,3 ±3,8	0,830
Anzahl (n) LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	22 157,3 ±9,0	404 152,4 ±2,1	2142 155,3 ±1,0	0,449	12 157,7 ±12,2	195 141,6 ±3,0	916 145,2 ±1,4	0,314	10 156,9 ±12,8	209 162,6 ±2,8	1226 162,8 ±1,2	0,899	9 163,9 ±13,3	136 137,3 ±3,4	686 140,2 ±1,5	0,147	3 139,0 ±26,0	59 151,5 ±5,9	230 160,2 ±3,0	0,321
Anzahl (n) HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	22 53,7 ±3,2	405 54,0 ±0,8	2164 54,2 ±0,3	0,981	12 56,0 ±4,0	195 51,4 ±1,0	932 50,7 ±0,5	0,342	10 50,9 ±5,0	210 56,4 ±1,1	1232 56,8 ±0,4	0,484	9 56,1 ±4,6	136 50,5 ±1,2	700 51,0 ±0,5	0,492	3 55,7 ±8,1	59 53,7 ±1,8	232 49,7 ±0,9	0,121

Tabelle A5: CYP3A7_4551

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A7_4551	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	21	418	2143	0,744	11	201	923	0,508	10	217	1220	0,619	9	142	697	0,348	2	59	226	0,838
Cholesterin-Mittelwert + SE	233,9 ±10,3	233,3 ±2,3	235,2 ±1,0		234,0 ±14,7	218,4 ±3,4	221,2 ±1,6		233,7 ±13,7	247,1 ±2,9	245,8 ±1,2		233,8 ±14,8	213,0 ±3,7	216,2 ±1,7		235,0 ±41,1	231,2 ±7,6	236,3 ±3,9	
Anzahl (n)	21	417	2120	0,535	11	201	907	0,230	10	216	1213	0,855	9	142	683	0,123	2	59	224	0,390
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	158,4 ±9,2	152,6 ±2,1	154,9 ±0,9		159,7 ±12,7	141,0 ±3,0	145,0 ±1,4		156,9 ±12,7	163,4 ±2,7	162,4 ±1,2		163,9 ±13,4	136,6 ±3,4	140,1 ±1,5		141,0 ±32,1	151,5 ±5,9	160,0 ±3,0	
Anzahl (n)	21	418	2142	0,973	11	201	923	0,418	10	217	1219	0,506	9	142	697	0,491	2	59	226	0,162
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	53,4 ±3,3	54,2 ±0,7	54,1 ±0,3		55,6 ±4,2	51,4 ±1,0	50,7 ±0,5		50,9 ±5,0	56,7 ±1,1	56,7 ±0,4		56,1 ±4,6	50,5 ±1,2	51,0 ±0,5		53,5 ±10,0	53,7 ±1,8	49,8 ±0,9	

Tabelle A6: CYP3A4_3812

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A4_3812	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	31	515	2043	0,267	18	237	883	0,804	13	278	1160	0,277	14	168	663	0,791	4	69	220	0,843
Cholesterin-Mittelwert + SE	226,7 ±8,5	232,6 ±2,1	235,6 ±1,0		224,3 ±11,4	219,1 ±3,2	221,1 ±1,6		230,1 ±12,0	244,1 ±2,6	246,6 ±1,3		219,8 ±11,7	214,0 ±3,4	216,2 ±1,7		240,3 ±28,9	231,5 ±7,0	236,0 ±3,9	
Anzahl (n)	31	513	2021	0,344	18	237	867	0,852	13	276	1154	0,506	14	168	649	0,823	4	69	218	0,571
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	147,7 ±7,6	152,9 ±1,9	155,3 ±0,9		144,8 ±10,0	143,3 ±2,7	145,0 ±1,4		151,8 ±11,2	161,3 ±2,4	163,0 ±1,2		145,1 ±10,7	138,8 ±3,1	140,2 ±1,6		143,8 ±22,6	154,1 ±5,4	159,4 ±3,1	
Anzahl (n)	31	515	2042	0,690	18	237	883	0,059	13	278	1159	0,641	14	168	663	0,135	4	69	220	0,211
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	56,2 ±2,7	53,9 ±0,7	54,2 ±0,3		58,6 ±3,3	50,9 ±0,9	50,7 ±0,5		52,9 ±4,4	56,4 ±0,9	56,8 ±0,5		58,1 ±3,7	50,4 ±1,1	51,0 ±0,5		60,3 ±7,1	52,1 ±1,7	49,9 ±1,0	

Tabelle A7: CYP3A4_6468

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A4_6468	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n) Cholesterin-Mittelwert + SE	1 258,0 ±47,3	49 235,0 ±6,8	2542 235,0 ±0,9	0,888	0	22 214,7 ±10,4	1126 221,1 ±1,4	0,540	1 258,0 ±43,2	27 251,5 ±8,3	1416 246,0 ±1,1	0,779	0	17 204,4 ±10,7	834 216,4 ±1,5	0,266	0	5 250,0 ±25,7	292 234,7 ±3,4	0,555
Anzahl (n) LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	1 140,0 ±42,1	48 155,5 ±6,1	2519 154,8 ±0,8	0,934	0	21 137,2 ±9,2	1111 144,8 ±1,3	0,417	1 140,0 ±40,3	27 169,7 ±7,8	1408 162,7 ±1,1	0,572	0	16 125,4 ±10,0	821 140,2 ±1,4	0,144	0	5 175,0 ±20,1	290 157,6 ±2,6	0,393
Anzahl (n) HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	1 106,0 ±15,1	49 53,5 ±2,2	2541 54,1 ±0,3	0,003	0	22 49,7 ±3,0	1126 50,9 ±0,4	0,683	1 106,0 ±15,6	27 56,6 ±3,0	1415 56,6 ±0,4	0,007	0	17 51,2 ±3,4	834 51,0 ±0,5	0,961	0	5 44,6 ±6,3	292 50,6 ±0,8	0,344

Tabelle A8: CYP3A4 2480

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A4_ 2480	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4- Metabolismus				kein CYP3A4- Meta- bolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	25	444	2137	0,760	14	208	928	0,810	11	236	1209	0,773	12	147	695	0,570	2	61	233	0,496
Cholesterin- Mittelwert + SE	229,5 ±9,5	234,0 ±2,2	235,2 ±1,0		221,7 ±13,0	218,9 ±3,4	221,4 ±1,6		239,4 ±13,0	247,3 ±2,8	245,8 ±1,2		226,5 ±12,8	213,7 ±3,7	216,3 ±1,7		193,0 ±40,6	231,7 ±7,4	236,4 ±3,8	
Anzahl (n)	25	442	2115	0,505	14	208	912	0,510	11	234	1203	0,948	12	147	681	0,345	2	61	231	0,178
LDL-Cholesterin- Mittelwert + SE	153,0 ±8,4	152,6 ±2,0	155,1 ±0,9		148,5 ±11,3	141,6 ±2,9	145,2 ±1,4		158,8 ±12,2	162,3 ±2,6	162,6 ±1,2		154,1 ±11,6	137,3 ±3,3	140,1 ±1,5		115,0 ±31,7	151,8 ±5,7	160,1 ±3,0	
Anzahl (n)	25	444	2136	0,775	14	208	928	0,167	11	236	1208	0,715	12	147	695	0,085	2	61	233	0,178
HDL-Cholesterin- Mittelwert + SE	55,8 ±3,0	53,8 ±0,7	54,2 ±0,3		57,8 ±3,7	50,8 ±1,0	50,7 ±0,5		53,2 ±4,7	56,4 ±1,0	56,8 ±0,5		58,6 ±4,0	49,7 ±1,1	51,0 ±0,5		53,0 ±9,9	53,5 ±1,8	49,7 ±0,9	

Tabelle A9: CYP3A4_6227

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A4_6227	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	29	486	2051	0,871	14	227	892	0,847	15	259	1159	0,925	12	164	667	0,371	2	63	225	0,422
Cholesterin-Mittelwert + SE	238,8 ±8,8	234,4 ±2,1	235,1 ±1,0		227,9 ±13,0	220,2 ±2	221,0 ±1,6		249,1 ±11,1	246,8 ±2,7	245,9 ±1,3		233,7 ±12,8	216,3 ±3,5	215,6 ±1,7		193,0 ±40,8	230,3 ±7,3	236,9 ±3,8	
Anzahl (n)	29	483	2030	0,801	14	226	877	0,721	15	257	1153	0,857	12	163	654	0,857	2	63	223	0,141
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	152,4 ±7,8	153,6 ±1,9	154,9 ±0,9		135,7 ±11,2	144,0 ±2,8	144,7 ±1,4		167,9 ±10,4	162,1 ±2,5	162,7 ±1,2		139,2 ±11,6	141,3 ±3,1	139,4 ±1,6		115,0 ±31,6	151,1 ±5,6	160,4 ±3,0	
Anzahl (n)	29	486	2050	0,541	14	227	892	0,143	15	259	1158	0,961	12	164	667	0,213	2	63	225	0,202
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	57,2 ±2,8	54,2 ±0,7	54,1 ±0,3		57,1 ±3,7	51,5 ±0,9	50,5 ±0,5		57,3 ±4,1	56,5 ±1,0	56,8 ±0,5		57,8 ±4,0	50,8 ±1,1	50,8 ±0,5		53,0 ±10,0	53,3 ±1,8	49,7 ±0,9	

Tabelle A10: CYP3A4_1B

häufiges Allel: 1, seltenes Allel: 2

CYP3A4_1B	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	2428	164	6	0,086	1068	82	3	0,155	1360	82	3	0,602	793	63	1	0,423	275	19	2	0,316
Cholesterin-Mittelwert + SE	235,4 ±1,0	228,5 ±3,7	210,5 ±19,3		221,8 ±1,5	211,9 ±5,4	199,3 ±28,0		246,2 ±1,2	245,1 ±4,7	221,7 ±24,8		216,6 ±1,6	209,1 ±5,6	210,0 ±44,2		236,5 ±3,5	221,2 ±13,1	194,0 ±40,5	
Anzahl (n)	2405	163	6	0,064	1052	82	3	0,061	1353	81	3	0,733	779	63	1	0,395	273	19	2	0,075
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	155,0 ±0,9	149,6 ±3,3	125,0 ±17,1		145,2 ±1,3	136,8 ±4,6	105,7 ±24,3		162,7 ±1,1	162,6 ±4,5	144,3 ±23,2		140,2 ±1,4	135,3 ±5,0	100,0 ±40,0		159,5 ±2,7	141,7 ±10,3	108,5 ±31,7	
Anzahl (n)	2427	164	6	0,543	1068	82	3	0,514	1359	82	3	0,631	793	63	1	0,471	275	19	2	0,926
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	54,2 ±0,3	52,9 ±1,2	52,3 ±6,2		50,9 ±0,4	49,4 ±1,5	56,3 ±8,0		56,7 ±0,4	56,3 ±1,7	48,3 ±9,0		51,1 ±0,5	49,4 ±1,7	62,0 ±13,9		50,5 ±0,9	49,7 ±3,2	53,5 ±10,0	

Tabelle A11: CYP3A43_3563
häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A43_3563	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n) Cholesterin-Mittelwert + SE	13 226,2 ±13,1	387 232,7 ±2,4	2196 235,4 ±1,0	0,457	7 201,3 ±18,4	178 218,1 ±3,6	961 221,6 ±1,6	0,383	6 255,2 ±17,6	209 245,1 ±3,0	1235 246,2 ±1,2	0,825	4 186,0 ±22,1	130 213,8 ±3,9	716 216,6 ±1,7	0,318	3 221,7 ±33,2	48 229,8 ±8,3	245 236,2 ±3,7	0,717
Anzahl (n) LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	12 152,8 ±12,1	385 151,7 ±2,1	2175 155,2 ±0,9	0,317	6 137,8 ±17,2	177 142,8 ±3,2	947 144,9 ±1,4	0,759	6 167,8 ±16,4	208 159,4 ±2,8	1228 163,2 ±1,1	0,429	3 115,0 ±23,1	129 138,6 ±3,5	704 140,2 ±1,5	0,512	3 160,7 ±26,1	48 154,0 ±6,5	243 158,7 ±2,9	0,801
Anzahl (n) HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	13 51,7 ±4,2	387 54,6 ±0,8	2195 54,0 ±0,3	0,658	7 41,9 ±5,3	178 51,4 ±1,0	961 50,8 ±0,4	0,194	6 63,2 ±6,4	209 57,3 ±1,1	1234 56,6 ±0,4	0,486	4 39,8 ±6,9	130 51,4 ±1,2	716 50,9 ±0,5	0,250	3 44,7 ±8,1	48 51,5 ±2,0	245 50,4 ±0,9	0,682

Tabelle A12: CYP3A43_7740

häufiges Allel: 2, seltenes Allel: 1

CYP3A43_7740	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	10	387	2202	0,329	7	175	967	0,344	3	212	1235	0,823	4	129	722	0,293	3	46	245	0,714
Cholesterin-Mittelwert + SE	218,7 ±15,0	232,6 ±2,4	235,3 ±1,0		201,3 ±18,4	217,6 ±3,7	221,6 ±1,6		259,3 ±24,9	245,0 ±3,0	246,1 ±1,2		186,0 ±22,1	213,4 ±3,9	216,7 ±1,6		221,7 ±33,3	229,5 ±8,5	236,2 ±3,7	
Anzahl (n)	9	385	2181	0,224	6	174	953	0,681	3	211	1228	0,432	3	128	710	0,478	3	46	243	0,790
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	143,3 ±14,0	151,6 ±2,1	155,2 ±0,9		137,8 ±17,2	142,2 ±3,2	144,9 ±1,4		154,3 ±23,3	159,4 ±2,8	163,1 ±1,2		115,0 ±23,1	138,0 ±3,5	140,2 ±1,5		160,7 ±26,1	153,7 ±6,7	158,7 ±2,9	
Anzahl (n)	10	387	2201	0,522	7	175	967	0,182	3	212	1234	0,240	4	129	722	0,253	3	46	245	0,590
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	50,5 ±4,8	54,7 ±0,8	54,0 ±0,3		41,9 ±5,3	51,6 ±1,1	50,8 ±0,4		70,7 ±9,1	57,4 ±1,1	56,6 ±0,4		39,8 ±6,9	51,4 ±1,2	50,9 ±0,5		44,7 ±8,1	52,0 ±2,1	50,4 ±0,9	

Tabelle A13: CYP3A43_4855

häufiges Allel: 1, seltenes Allel: 2

CYP3A43_4855	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	2321	266	13	0,013	1023	118	6	0,739	1298	148	7	0,002	761	89	2	0,095	262	29	4	0,969
Cholesterin-Mittelwert + SE	234,9 ±1,0	237,2 ±2,9	197,6 ±13,1		221,0 ±1,5	220,6 ±4,5	205,5 ±19,9		245,9 ±1,2	250,5 ±3,5	190,9 ±16,3		216,3 ±1,6	215,2 ±4,7	148,5 ±31,2		234,6 ±3,6	237,4 ±10,7	234,0 ±28,8	
Anzahl (n)	2299	264	13	0,068	1009	116	6	0,959	1290	148	7	0,002	749	87	2	0,141	260	29	4	0,481
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	154,7 ±0,9	155,2 ±2,6	127,7 ±11,7		144,4 ±1,3	144,0 ±3,9	149,0 ±17,2		162,8 ±1,1	163,9 ±3,3	109,4 ±15,2		140,1 ±1,5	137,8 ±4,3	85,5 ±28,3		156,9 ±2,8	162,6 ±8,4	180,8 ±22,5	
Anzahl (n)	2320	266	13	0,237	1023	118	6	0,188	1297	148	7	0,767	761	89	2	0,986	262	29	4	0,081
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	54,1 ±0,3	54,5 ±0,9	47,2 ±4,2		50,8 ±0,4	51,7 ±1,3	41,2 ±5,7		56,7 ±0,4	56,8 ±1,3	52,4 ±5,9		50,9 ±0,5	51,1 ±1,5	50,0 ±9,8		50,4 ±0,9	53,4 ±2,6	36,8 ±7,0	

Tabelle A14: CYP3A43_3569

häufiges Allel: 1, seltenes Allel: 2

CYP3A43_3569	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	2300	262	13	0,011	1016	115	6	0,744	1284	147	7	0,001	756	87	2	0,096	260	28	4	0,932
Cholesterin-Mittelwert + SE	234,9 ±1,0	237,6 ±2,9	197,6 ±13,1		220,9 ±1,5	221,0 ±4,5	205,5 ±19,9		245,9 ±1,2	250,7 ±3,5	190,9 ±16,2		216,0 ±1,6	215,1 ±4,7	148,5 ±31,2		234,8 ±3,6	239,1 ±10,9	234,0 ±28,9	
Anzahl (n)	2280	260	13	0,066	1003	113	6	0,965	1277	147	7	0,002	745	85	2	0,137	258	28	4	0,419
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	154,8 ±0,9	155,4 ±2,6	127,7 ±11,7		144,5 ±1,3	144,3 ±4,0	149,0 ±17,2		162,9 ±1,1	164,0 ±3,3	109,4 ±15,2		140,1 ±1,5	137,6 ±4,3	85,5 ±28,3		157,1 ±2,8	164,7 ±8,5	180,8 ±22,6	
Anzahl (n)	2300	262	13	0,231	1017	115	6	0,193	1283	147	7	0,761	757	87	2	0,990	260	28	4	0,081
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	54,1 ±0,3	54,6 ±0,9	47,2 ±4,2		50,8 ±0,4	51,7 ±1,3	41,2 ±5,7		56,7 ±0,4	56,9 ±1,3	52,4 ±5,9		50,9 ±0,5	51,1 ±1,5	50,0 ±9,8		50,4 ±0,9	53,5 ±2,7	36,8 ±7,0	

Tabelle A15: CYP3A43_6830

häufiges Allel: 1, seltenes Allel: 2

CYP3A43_6830	gesamt				Statineinnahme				keine Statineinnahme				CYP3A4-Metabolismus				kein CYP3A4-Metabolismus			
	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert	11	12	22	p-Wert
Anzahl (n)	1026	1168	385	0,514	439	529	173	0,366	587	639	212	0,231	321	392	134	0,659	118	137	39	0,276
Cholesterin-Mittelwert + SE	233,4 ±1,5	235,5 ±1,4	235,7 ±2,4		219,1 ±2,3	220,5 ±2,1	225,3 ±3,7		244,1 ±1,8	248,0 ±1,7	244,3 ±2,9		214,4 ±2,5	216,0 ±2,2	218,5 ±3,8		231,9 ±5,3	233,4 ±4,9	248,5 ±9,2	
Anzahl (n)	1019	1158	378	0,893	434	523	168	0,964	585	635	210	0,756	317	386	130	0,902	117	137	38	0,964
LDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	154,2 ±1,3	154,7 ±1,2	155,4 ±2,2		144,3 ±2,0	144,6 ±1,8	145,3 ±3,3		161,6 ±1,7	163,1 ±1,6	163,4 ±2,8		139,3 ±2,3	140,1 ±2,0	141,1 ±3,5		157,9 ±4,2	157,4 ±3,9	159,6 ±7,3	
Anzahl (n)	1027	1167	384	0,839	440	528	173	0,472	587	639	211	0,918	322	391	134	0,698	118	137	39	0,550
HDL-Cholesterin-Mittelwert + SE	54,3 ±0,5	54,1 ±0,4	53,7 ±0,8		51,3 ±0,7	50,9 ±0,6	49,7 ±1,1		56,5 ±0,6	56,8 ±0,6	57,0 ±1,1		51,4 ±0,8	51,0 ±0,7	50,2 ±1,2		50,9 ±1,3	50,8 ±1,2	48,2 ±2,3	

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Christine Meindl
Geburtsdatum: 13.03.1984
Geburtsort: Regensburg
Familienstand: ledig

Berufstätigkeit

Seit 01/2010 Assistenzärztin am Universitätsklinikum Regensburg

Hochschulausbildung

04/2009 – 07/2009 PJ-Tertial Anästhesiologie, Universitätsklinikum Regensburg
12/2008 – 04/2009 PJ-Tertial Chirurgie, Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, Regensburg
08/2008 – 12/2008 PJ-Tertial Innere Medizin, Universitätsspital Bern, Schweiz
10/2005-11/2009 Studium der Humanmedizin am Klinikum der Universität Regensburg (Klinischer Abschnitt)
10/2003 – 09/2005 Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg (Vorklinischer Abschnitt)

Promotion

Seit 01/2006 „Einfluss von Polymorphismen in den Genen für die HMG-CoA-Reductase und die CYP3A-Enzyme auf die Cholesterinspiegel *in vivo* – Ergebnisse der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie“, Betreuer: Prof. Hengstenberg, Universitätsklinikum Regensburg

Famulaturen

02/2008 Prof. Riegger, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II, Universitätsklinikum Regensburg
07/2007 Dr. Schönhärl, Praxis für Allgemeinmedizin, Pienhofen
02/2007 Prof. Ortmann, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Caritas-Krankenhaus St. Josef, Regensburg
09/2006 Prof. Schölmerich, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum Regensburg
09/2006 Dr. Eichhorn, Abteilung für Innere Medizin II (Nephrologie), Caritas-Krankenhaus St. Josef, Regensburg
02/2006 Prof. Niederer, Medizinische Klinik III (Kardiologie), Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, Regensburg

Schulbildung

9/1994 – 6/2003 Besuch des St. Marien-Gymnasiums der Diözese Regensburg
9/1990 – 7/1994 Besuch der Volksschule Wolfsegg (Grundschule)

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Christian Hengstenberg für sein großes persönliches Engagement sowie die zahlreichen, äußerst wertvollen Hinweise und kompetenten Anmerkungen. Im gesamten Verlauf der Erstellung meiner Dissertation zeigte Prof. Hengstenberg stets große Bereitschaft zu Gesprächen und fachlichen Diskussionen.

Prof. Dr. Günter Riegger danke ich für die Möglichkeit, meine Doktorarbeit in seiner Klinik zu erstellen.

Mein herzlichster Dank gilt Dr. Klaus Stark für die bestmögliche Betreuung während der vergangenen zwei Jahre. Sein außerordentlich großer Einsatz, die sehr kompetente Hilfestellung in allen Sachfragen und die kritische Durchsicht des Manuskripts trugen entscheidend zum Gelingen der Arbeit bei. Die Zusammenarbeit mit Dr. Stark stellte für mich sowohl in fachlicher als auch in menschlicher Hinsicht eine große Bereicherung dar.

Martina Köhler, Michaela Vöstner und Josef Simon danke ich herzlich für die Einweisungen in die verschiedenen Geräte und die große Unterstützung bei der Genotypisierung. Bei jedem technischen Problem standen sie mir hilfreich zur Seite und gaben mir wertvolle Ratschläge.

Vielen Dank an Katharina Neureuther für die freundliche Überlassung ihrer Ergebnisse zu den Genen von ApoE und CETP.

Der gesamten Laborgruppe möchte ich für die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre und gelungene Zusammenarbeit danken.

Prof. Leszek Wojnowski danke ich vielmals für die Bereitstellung der Informationen über die CYP3A-Assays.

Auch den Teilnehmern der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie sowie den Probanden der Augsburger KORA- und MONICA-Studien gebührt großer Dank.

Bei Reinhard Dillinger bedanke ich mich vielmals für die geduldige und kompetente Hilfe bei der Erstellung der zahlreichen Access-Tabellen.

Stefanie Meindl und Johanna Dillinger danke ich herzlich für ihre Freundschaft und ihr Verständnis.

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern, ohne deren Geduld, Verständnis und stetige liebevolle Unterstützung mein Studium und diese Dissertation nicht möglich gewesen wären.