

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN II  
PROF. DR. LARS MAIER  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

GENETISCHE VARIATIONEN VON KORONAREKTASIEN IN ASSOZIATION MIT  
AORTENDILATATION UND BIKUSPIDER AORTENKLAPPE

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Deborah Rahel Huber

2020



AUS DEM LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN II  
PROF. DR. LARS MAIER  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

GENETISCHE VARIATIONEN VON KORONAREKTASIEN IN ASSOZIATION MIT  
AORTENDILATATION UND BIKUSPIDER AORTENKLAPPE

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Deborah Rahel Huber

2020

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Marcus Fischer

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Daniele Camboni

Tag der mündlichen Prüfung: 16.04.2021

Diese Arbeit widme ich in Liebe meiner Familie

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
1.1 Grundlagen, Definitionen und Epidemiologie.....	5
1.1.1 Koronarektasie .....	5
1.1.2 Bikuspidale Aortenklappe .....	7
1.1.3 Aortenaneurysma .....	10
1.2 Genetische Grundlagen.....	12
1.2.1 Koronarektasie .....	12
1.2.2 Bikuspidale Aortenklappe .....	13
1.2.3 Aortenaneurysma .....	15
<b>2. Fragestellung</b> .....	<b>20</b>
<b>3. Material und Methoden</b> .....	<b>21</b>
3.1 Studienpopulation .....	21
3.1.1 Gesamte Studienpopulation .....	21
3.1.2 GoKard-Register .....	21
3.1.3 HIFAM-Kollektiv .....	21
3.2 Auswahl von Studienpopulation und Single Nucleotide Polymorphisms.....	22
3.2.1 Auswahlkriterien.....	22
3.2.2 Beurteilung der Koronarektasien .....	22
3.2.3 Auswahl der zu untersuchenden Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs).....	22
3.3 DNA-Isolierung .....	25
3.4 Konzentrationsbestimmung und DNA-Normalisierung .....	25
3.5 Genotypisierung.....	26
3.5.1 Probenvorbereitung.....	26
3.5.2 Ablauf der PCR.....	27
3.5.3 TaqMan® SNP Genotyping Assay .....	27
3.6 Statistische Auswertung.....	29
3.6.1 Vorgehensweise .....	29
3.6.2 Hardy-Weinberg-Equilibrium.....	30
3.6.3 Chi <sup>2</sup> - Test .....	30
3.6.4 Odds Ratio .....	31
<b>4. Ergebnisse</b> .....	<b>32</b>
4.1 FBN1 .....	32

4.1.1 Überblick .....	32
4.1.2 rs1036477.....	32
4.1.3 rs2118181.....	33
4.1.4 rs625034.....	34
4.1.5 rs1036476.....	35
4.2 TGFBR 1 und 2 .....	37
4.2.1 Überblick .....	37
4.2.2 rs1626340.....	37
4.2.3 rs4522809.....	38
4.3 LRP1 (rs1466535) .....	39
4.4 AGTR1 (rs5186).....	40
4.5 MTHFR (rs1801133).....	41
4.6 MMP-9 (rs2274755).....	42
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>44</b>
5.1 Darstellung der aktuellen Datenlage.....	44
5.1.1 Assoziation von bikuspidaler Aortenklappe, Koronarektasie und Aortendilatation... 44	
5.1.2 Nicht-genetische und genetische Ursachen als kausaler Faktor des vermehrten gemeinsamen Auftretens .....	44
5.2 Interpretation der Ergebnisse und Limitationen .....	46
5.2.1 Allgemeine Betrachtung der Ergebnisse.....	46
5.2.2 FBN1.....	48
5.2.3 TGFBR 1 und 2.....	49
5.2.4 LRP1 .....	49
5.2.5 AGTR1.....	50
5.2.6 MTHFR.....	50
5.2.7 MMP-9.....	50
5.3 Ausblick und Bedeutung für Klinik und Forschung.....	51
<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>52</b>
<b>7. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>54</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>56</b>
<b>9. Quellennachweis der Abbildungen und Tabellen .....</b>	<b>70</b>
<b>10. Anhang .....</b>	<b>72</b>
<b>11. Danksagung.....</b>	<b>79</b>

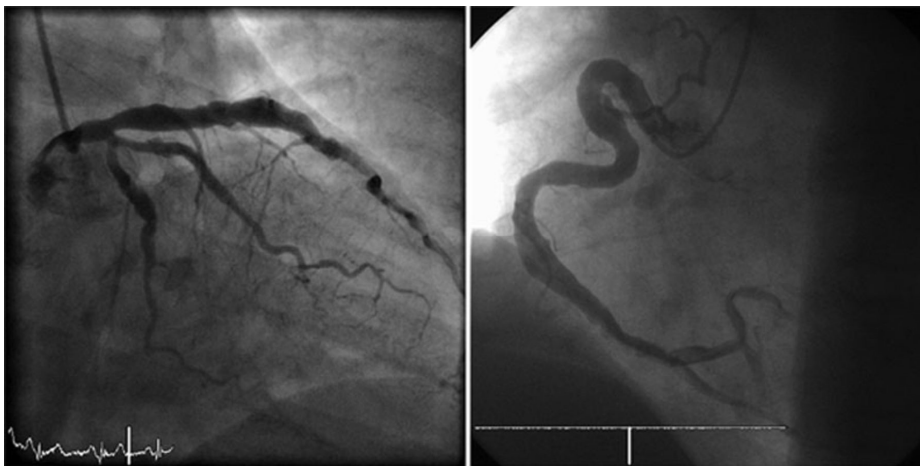
## 1. Einleitung

### 1.1 Grundlagen, Definitionen und Epidemiologie

#### 1.1.1 Koronarektasie

Unter der Bezeichnung Koronarektasie (CAE) versteht man die diffuse oder lokale Erweiterung arterieller Koronargefäße. Koronarektasien werden in der Regel im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung detektiert. Abbildung 1 zeigt, wie sich Koronarektasien in dieser Untersuchung darstellen.

Zudem stehen auch neuere, nicht-invasive Methoden wie das Koronar-MRT oder -CT zur Verfügung, mit deren Verbreitung sich unter Umständen die Detektionsrate von Koronarektasien erhöhen könnte (1). Bezüglich der genauen Definition besteht auf wissenschaftlicher Ebene kein einheitlicher Konsensus. Gemäß der am häufigsten verwendeten Definition handelt es sich um eine Erweiterung, die den eineinhalbfachen Durchmesser des angrenzenden gesunden Teils desselben Gefäßes oder des größten vorhandenen arteriellen Koronargefäßes überschreitet (2, 3). Da die Ausprägung jedoch variabel und die Verteilung von Koronarektasien nicht immer fokal ist, wird mit dieser Definition die tatsächliche Inzidenz möglicherweise unterschätzt (4).



**Abbildung 1:** Darstellung von Koronarektasien mittels Herzkatheteruntersuchung

**Links:** Ektasie des RIVA und R. circumflexus bei einem Patienten mit bikuspidaler Aortenklappe und normaler Aorta ascendens. **Rechts:** Ektasie der rechten Koronararterie bei einem Patienten mit bikuspidaler Aortenklappe und Aneurysma der Aorta ascendens (5)

In einer bereits in den siebziger Jahren von Markis entwickelten Klassifikation wird die Koronarektasie je nach Ausmaß der betroffenen Gefäße in vier Typen unterteilt: Typ I entspricht einer diffusen Ektasie mit Beteiligung von zwei oder drei Gefäßen; ein diffuser Befall eines einzelnen Gefäßes in Kombination mit einem lokalisierten Befund in einem anderen entspricht



Typ II; als Typ III wird die diffuse Ausbreitung in einem einzelnen Gefäß bezeichnet, der Befall eines einzelnen, lokalisierten Segments wiederum als Typ IV. (6)

Darüber hinaus kann zwischen fusiformen und sacciformen Koronarektasien unterschieden werden (7). Einige Autoren bevorzugen für die lokalisierte Form den Begriff Koronaraneurysma, während die Bezeichnung Koronarektasie dann hauptsächlich der diffusen Variante vorbehalten bleibt (3, 6). Grundsätzlich können alle Koronargefäße betroffen sein, wobei sich die Ektasie bei Patienten mit begleitender koronarer Herzkrankheit (KHK) in 75% der Fälle auf ein Gefäß beschränkt; am häufigsten ist die rechte Koronararterie betroffen (3). Patienten mit isolierter CAE ohne koexistente Koronarstenosen weisen häufiger eine bilaterale Verteilung diffuser, fusiformer Koronarektasien auf (3, 8).

Bezüglich der Inzidenz finden sich in der Literatur variierende Häufigkeitsangaben von circa 1,2 bis 5% (2, 3, 6). Männer sind häufiger betroffen als Frauen (9). Höhere Inzidenzen mit einer Häufigkeit von über 10% wurden in einer indischen Studie bei einer Patientenkohorte mit ischämischer Herzkrankheit beschrieben (10). In einer Koronar-CT- basierten Studie aus dem Jahr 2007 wurden bei 8% der Patienten Koronarektasien detektiert (11).

Im Hinblick auf den zugrunde liegenden Mechanismus bei der Entstehung von Koronarektasien ist es wichtig, die ektatische Erweiterung von der poststenotischen Dilatation eines Koronargefäßes abzugrenzen. Bei der poststenotischen Dilatation führt der erhöhte oxidative Stress im Bereich der Gefäßwand zum Untergang der Media, was in einer fortschreitenden Dilatation des arteriellen Gefäßes resultiert (12). Bezüglich der Ätiologie und prognostischen Relevanz von Koronarektasien besteht kein einheitlicher Konsens. Aufgrund der häufigen Assoziation zwischen stenosierender KHK und Koronarektasien wird Atherosklerose als eine der Hauptursachen für die Entwicklung von Koronarektasien angesehen- ungefähr 50 Prozent aller Koronarektasien werden mit Atherosklerose in Verbindung gebracht. 20 bis 30 Prozent werden nach heutigem Wissensstand als angeboren angesehen, während 10 bis 20 Prozent mit entzündlichen und Bindegewebserkrankungen in Zusammenhang gebracht werden. (8)

Zu nennen sind hier unter anderem Bindegewebserkrankungen wie das Marfan- (13) oder das Ehlers-Danlos-Syndrom (14), Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise die Sklerodermie (15), Polyarteriitis nodosa (16) und das Kawasaki-Syndrom (17), aber auch die syphilitische Aortitis (18). Insgesamt scheint die Heritabilität von ektatischen koronaren Läsionen eine wichtige Rolle zu spielen (19).

Als weitere Faktoren, die in der Pathogenese der Koronarektasie eine Rolle spielen könnten, werden in der Literatur zudem die zystische Medianekrose (6) sowie die veränderte Aktivität proteolytischer Enzyme, wie die der Matrix Metalloproteinasen (MMP), genannt (20).

Im Hinblick auf die prognostische Relevanz besteht kein Unterschied bezüglich der 5-Jahres-Überlebensrate einer dilatativen und nicht-dilatativen KHK (2). Auch die Inzidenz von instabiler Angina pectoris und Myokardinfarkt in diesen beiden Gruppen unterscheidet sich nicht. Die reine, nicht-obstruktive CAE hat im Allgemeinen eine gute Prognose. Dennoch darf die Erkrankung nicht unterschätzt werden, da auch bei der letztgenannten Patientengruppe eine erhöhte Rate von Angina pectoris und vorangegangener Myokardinfarkte innerhalb der ektatischen Regionen nachgewiesen werden konnte. (3)

Es besteht die Vermutung, dass der turbulente Blutfluss in den erweiterten Gefäßanteilen auch ohne begleitende signifikante KHK mit einer erhöhten Manifestationsrate an kardialen Ischämien, verminderter linksventrikulärer Funktion und akuten Myokardinfarkten einhergehen kann (6, 7). Analog dazu zeigt Nitroglycerin keinen Benefit in der klinischen Symptomatik von Koronarektasien (8). Einige Autoren empfehlen bei Vorliegen einer CAE die Gabe von Antikoagulantien, was jedoch nicht in großen Studien untersucht wurde und daher in Anbetracht der Prognose zum Teil kritisch hinterfragt wird (3, 21). Im klinischen Alltag wird bei Diagnosestellung häufig eine Plättchenhemmung initiiert, wofür jedoch ebenfalls keine Daten vorliegen (21). Eine eindeutig definierte präventive Behandlungsstrategie findet sich in der Literatur nicht.

### **1.1.2 Bikuspidale Aortenklappe**

Bei der bikuspiden Aortenklappe handelt es sich um den häufigsten angeborenen Herzfehler des Menschen (22, 23). Sie tritt mit einer Inzidenz von circa 1-2% auf (24) und findet sich in einem Verhältnis zwischen 3:1 und 4:1 häufiger bei Männern als bei Frauen (22, 23).

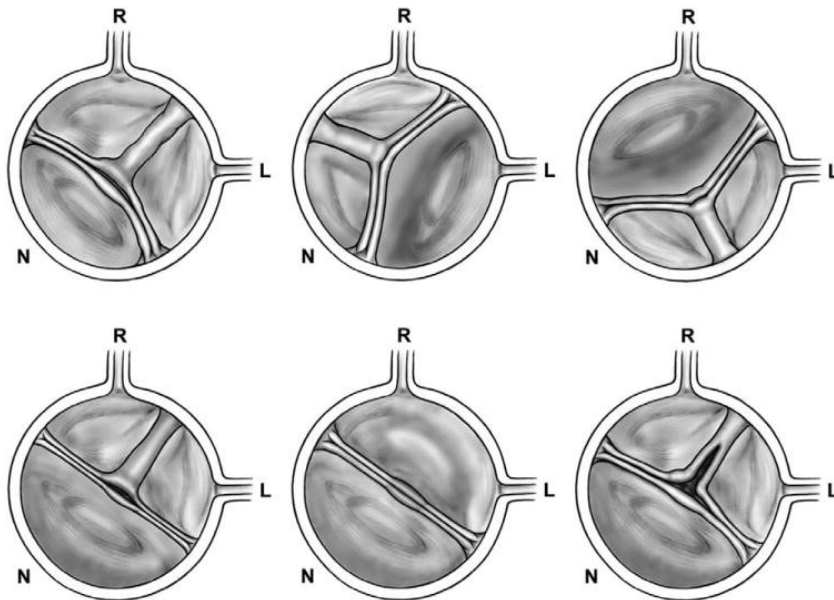
Als bikuspidale bezeichnet man eine Aortenklappe dann, wenn sie nicht wie gewöhnlich aus drei, sondern nur aus zwei Taschen besteht. Alle Kombinationen und Verschmelzungsgrade sind hierbei möglich. Die Einteilung in drei Typen gestaltet sich wie folgt: Bei Typ 1 findet sich eine Verschmelzung zwischen der rechts- und linkskoronaren Tasche. Dieser Typ stellt mit einer Prävalenz von 70 bis 80% die häufigste Form der bikuspiden Aortenklappe dar. Bei Typ 2 ist die rechtskoronare mit der akoronaren Tasche verschmolzen, die Prävalenz dieses Typs beträgt 20 bis 30%. Die seltenste Form der bikuspiden Aortenklappe mit einer Prävalenz von

nur circa 1% stellt Typ 3 dar, bei dem die Verschmelzung zwischen linkskoronarer und akoronarer Tasche besteht. (25)

In der Regel sind die beiden Taschen einer bikuspiden Klappe asymmetrisch und es finden sich drei Sinus Valsalvae; nur bei etwa fünf Prozent aller bikuspiden Klappen sind die beiden Taschen symmetrisch (26). Zuweilen wird die symmetrische BAV mit nur zwei Sinus Valsalvae auch als echte bikuspidale Klappe bezeichnet (25). In ungefähr drei Viertel der Fälle zeigt sich eine Verwachsungslinie, eine sogenannte Raphe, im Bereich der Fusionsstelle. Ein Fehlen dieser Raphe zeigt sich häufiger bei symmetrischen bikuspiden Aortenklappen. (26)

Die Standardtechnik zur Diagnostizierung einer bikuspiden Aortenklappe ist die transthorakale Echokardiographie (TTE). Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung verschiedener Phänotypen, wie sie sich in der parasternal kurzen Achse darstellen. (25)

Bei guter Bildqualität kann mit der transthorakalen Echokardiographie eine hohe Sensitivität und Spezifität erreicht werden, in der Literatur finden sich hier Zahlen von über 70 bzw. über 90% (27, 28).



**Abbildung 2:** Verschiedene Phänotypen der BAV in der parasternal kurzen Achse der transthorakalen Echokardiographie. L=linkskoronare Tasche, R=rechtskoronare Tasche, N=akoronare Tasche.

**Oben links:** Typ 1, asymmetrisch mit kompletter Raphe. **Oben Mitte:** Typ 2, asymmetrisch mit kompletter Raphe.

**Oben rechts:** Typ 3, asymmetrisch mit kompletter Raphe.

**Unten links:** Typ 1, symmetrisch mit kompletter Raphe. **Unten Mitte:** Typ 1, symmetrisch ohne Raphe. **Unten rechts:** Typ 1 mit inkompletter Raphe, teilfusioniert. (25)

Insbesondere bei schlechter Schallbarkeit und konsekutiv schlechter Bildqualität oder bei starker Verkalkung der Klappe kann die Beurteilung mittels TTE jedoch deutlich erschwert sein. Hierfür stehen weitere, höherauflösende bildgebende Methoden wie die transösophageale Echokardiographie, das Koronar-CT und das Kardio-MRT zur Verfügung. (25) Diese Methoden können die Sensitivität und Spezifität bei der Diagnosestellung und Bestimmung des Phänotyps weiter erhöhen (29, 30). Insbesondere bei starker Verkalkung ist das Kardio-MRT dem TTE als diagnostische Methode überlegen (30).

Die angeborene bikuspidale Aortenklappe tritt häufig isoliert auf, kann jedoch auch mit verschiedenen genetischen Syndromen, wie dem Turner- oder Loeys-Dietz-Syndrom, einhergehen oder mit anderen angeborenen Herzfehlern vergesellschaftet sein (25). Als isolierte kardiale Fehlbildung wird die bikuspidale Aortenklappe häufig erst im frühen Erwachsenenalter diagnostiziert. In jungen Jahren zeigt die Klappe meist eine normale Funktion, im Erwachsenenalter erhöht sich jedoch das Risiko für Komplikationen, die mit einer relevanten Morbidität einhergehen. (31, 32)

Die ersten Illustrationen von bikuspiden Aortenklappen finden sich bereits aus dem 16. Jahrhundert: Leonardo Da Vinci skizzierte Klappen mit zwei, drei und vier Taschen und stellte schon damals die Schlussfolgerung auf, dass eine optimale Funktion nur bei einer trikuspiden Klappe gewährleistet ist (33). Mitte des 19. Jahrhunderts beschrieb Peacock die Tendenz bikuspidaler Aortenklappen, frühzeitig zu verkalken und die damit verbundene Entwicklung einer Dysfunktion im Sinne einer Klappenstenose oder -insuffizienz (34). Wenig später erkannte Osler die Anfälligkeit bikuspidaler Klappen gegenüber infektiöser Endokarditis (35).



Abbildung 3: Frühe Skizzen verschiedener Phänotypen von Aortenklappen von Leonardo da Vinci (36)

Die häufigste Komplikation bei Patienten mit bikuspidaler Aortenklappe ist eine fortschreitende Klappendysfunktion (32). Das Risiko der Notwendigkeit eines operativen Klappenersatzes innerhalb von 25 Jahren nach Erstdiagnose der BAV beträgt über 50% (37). Im Mittel sind die Patienten mit bikuspidaler Aortenklappe zum Zeitpunkt des Klappenersatzes 18 Jahre jünger als Patienten mit trikuspidaler Klappe (32). Die zweithäufigste, durch die bikuspidale Aortenklappe hervorgerufene Komplikation ist die Entwicklung eines Aneurysmas der Aorta ascendens, definiert als eine Erweiterung auf mindestens 45 mm. Liegt bei Erstdiagnose der BAV noch kein Aneurysma vor, liegt das 25-Jahres-Risiko für dessen Entwicklung bei 26%. (37)

Eine Aortendilatation zeigt sich bei bis zu 50-70% der Patienten mit Klappendysfunktion. Diese betrifft typischerweise die Aortenwurzel und Aorta ascendens ohne Miteinbeziehung der Aorta descendens und abdominalis. (38) Die Dilatation der Aortenwurzel betrifft häufiger junge Männer mit BAV und ist unabhängig vom Stenosegrad der Aortenklappe (39). Die gefürchtetste Komplikation im Zusammenhang mit der bikuspidalen Aortenklappe ist die Aortendissektion. Das diesbezügliche Risiko ist in einer Patientenkohorte mit BAV bis zu acht Mal höher als das der Normalbevölkerung. Die resultierende Inzidenz einer Aortendissektion in einer Patientenkohorte mit BAV bleibt mit lediglich 0,03% pro Jahr insgesamt aber dennoch niedrig. (37) Auch die bakterielle Endokarditis betrifft nur circa 2% der Patienten mit BAV, sodass die Rate an lebensbedrohlichen Ereignissen im Zusammenhang mit bikuspidaler Aortenklappe insgesamt gering bleibt (25).

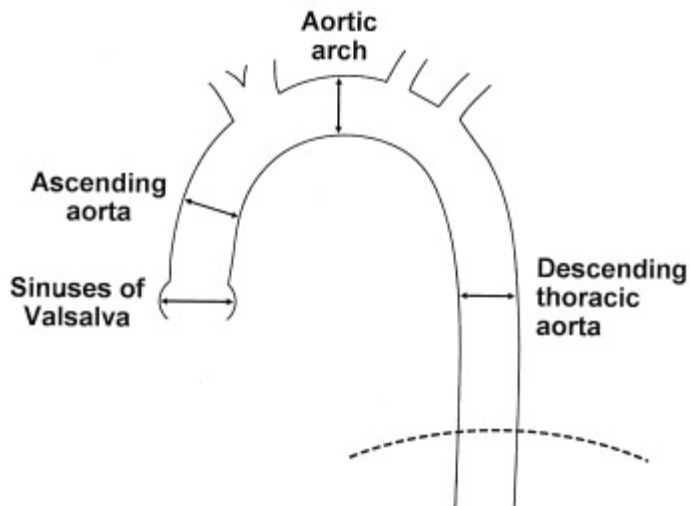
### **1.1.3 Aortenaneurysma**

Unter einem Aortenaneurysma versteht man die fokale Erweiterung der Aorta auf mindestens den eineinhalbfachen Wert des normalen Durchmessers des jeweiligen Abschnitts (38).

Beim Erwachsenen gilt eine Erweiterung auf mindestens 30 mm im Bereich der Aorta abdominalis als aneurysmatisch. Im Bereich der thorakalen Aorta müssen der jeweilige Aortenabschnitt, die Entstehungsursache des Aneurysmas sowie die Körperoberfläche berücksichtigt werden, wobei in der Regel ein Durchmesser der Aorta ascendens von über 40 mm als Dilatation gilt. (40)

Grundsätzlich unterscheidet man das abdominale Aortenaneurysma (AAA), welches unterhalb des Diaphragmas lokalisiert ist, vom thorakalen Aortenaneurysma (TAA), das den oberhalb des Zwerchfells gelegenen Anteil der Aorta betrifft (38). Das thorakale Aortenaneurysma betrifft zu circa 50% die Aorta ascendens, zu circa 40% die Aorta descendens und in nur 10% der Fälle

den Aortenbogen. Das abdominelle Aortenaneurysma ist zu über 95% im Bereich der infrarenalen Aorta lokalisiert und dehnt sich in 20% der Fälle auf die Beckenarterien aus. Man unterscheidet eine fusiforme, spindelförmige Variante des AAA sowie eine sacciforme, sackförmige Variante. Letztere geht mit einem erhöhten Rupturrisiko einher. (41)



**Abbildung 4:** Abschnitte der thorakalen Aorta (42)

Das abdominale Aortenaneurysma ist eine häufige Erkrankung, die ungefähr 1% der Bevölkerung über 50 Jahren betrifft. Von den männlichen Patienten über 70 Jahren mit arteriellem Hypertonus sind bis zu 10% betroffen. Grundsätzlich findet sich das AAA im Verhältnis 5:1 häufiger bei Männern als bei Frauen. Auch thorakale Aortenaneurysmata treten häufiger bei Männern als bei Frauen auf. Sie haben jedoch eine wesentlich niedrigere Prävalenz und betreffen nur circa 3% aller Aortenaneurysmata. (41) Insgesamt finden sich 80% aller Aortenaneurysmata zwischen dem Abgang der Nierenarterien und der Aortenbifurkation (38).

In der Pathogenese der abdominalen Aortenaneurysmata spielt Atherosklerose eine wichtige Rolle. Der Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von Risikofaktoren bzw. dem Vorhandensein einer atherosklerotischen Gefäßerkrankung und der Entwicklung abdominalen Aortenaneurysmata wurde mehrfach belegt. Zu den bekannten Risikofaktoren zählen neben dem männlichen Geschlecht Nikotinabusus, Hypercholesterinämie und Hypertriglyceridämie. (43, 44) Zudem lässt sich ein Zusammenhang mit erhöhten systemischen Entzündungsparametern nachweisen (44, 45). Eine Assoziation besteht auch zwischen dem Vorhandensein von atherosklerotischen Plaques und einem größeren Durchmesser der Aorta descendens (42). Dieser Zusammenhang scheint jedoch deutlich schwächer zu sein als bei der

Aorta abdominalis (46). Aneurysmata der proximalen thorakalen Aortenabschnitte sind in der Regel nicht atherosklerotisch bedingt (42).

Die Pathogenese der thorakalen Aortenaneurysmata ist insgesamt komplexer als die der abdominalen Aortenaneurysmen und häufig multifaktoriell bedingt. Größere Durchmesser der Aortenwurzel sind mit steigendem Alter, männlichem Geschlecht und steigender Körpergröße assoziiert (47). In der westlichen Welt stellt die altersbedingte Erweiterung der Aortenwurzel den häufigsten Grund der isolierten Aortenklappeninsuffizienz dar (48, 49). Daneben spielen die genetische Komponente und das Vorhandensein von Grunderkrankungen wie dem Marfan-Syndrom eine nicht unwesentliche Rolle bei der Entwicklung eines Aortenaneurysmas, dieser Aspekt wird im Folgenden noch genauer beleuchtet.

Sowohl thorakale als auch distale Aortenaneurysmata bleiben häufig lange Zeit klinisch asymptomatisch. Neben der bereits erwähnten Aortenklappeninsuffizienz bei Aneurysmata im Bereich der Aorta ascendens bzw. Dilatationen der Aortenwurzel sind die akute Dissektion oder Ruptur gefürchtete Komplikationen. Das Risiko für Ruptur und Dissektion ist bei thorakalen Aortenaneurysmata abhängig von Durchmesser und Morphologie. Es beträgt ca. 3% pro Jahr bei einem Durchmesser von 50-59 mm, ab 60 mm steigt das Risiko auf 7% pro Jahr. (41) Indikation zur operativen Intervention ist daher ein Aortendurchmesser von über 55 mm. Dieser Grenzwert verringert sich abhängig von der Ätiologie, wie beispielsweise bei vorliegender Bindegewebserkrankung, sowie bei begleitenden Risikofaktoren oder einer raschen Zunahme des Diameters von über 3 mm pro Jahr auf 40-45 mm. (40)

## **1.2 Genetische Grundlagen**

### **1.2.1 Koronarektasie**

Die Pathogenese und Genetik von Koronarektasien sind noch nicht hinlänglich bekannt. Vermutet wird unter anderem ein Zusammenhang mit einer verminderten Aktivität der endothelialen Stickstoff-Monoxid-Synthase eNOS, welche die NO-Synthese reguliert (50, 51). Polymorphismen, die mit einer verringerten NO-Synthese einhergehen, wurden in der Vergangenheit auch als Risikofaktoren der atherosklerotischen Herzkrankheit diskutiert (52). Verschiedene Polymorphismen des eNOS-Gens konnten als mögliche Risikofaktoren der CAE identifiziert werden (50, 51).

Wie im Vorhergehenden bereits erwähnt, scheint auch die MMP-Expression in der Pathogenese der CAE von Bedeutung zu sein. Ein Polymorphismus im Bereich des für MMP-3 kodierenden Gens konnte mit dem Vorhandensein von Koronarektasien assoziiert werden. (53)

Ebenso scheint das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System in der Pathogenese der Koronarektasien eine Rolle zu spielen. Die Auswirkung eines Insertions-Deletions-Polymorphismus des ACE-Gens auf den Koronartonus konnte in der Vergangenheit bereits gezeigt werden (54). Verschiedene Genotypen dieses Polymorphismus konnten sowohl mit einem erhöhten Risiko für CAE (55), als auch mit dem AAA (56) assoziiert werden.

Darüber hinaus wird das hOGG1-Gen in der Pathogenese der Koronarektasien diskutiert. hOGG1 ist ein wichtiger Bestandteil in der Reparatur von durch oxidativen Stress entstandenen DNA-Schäden (57). Der Ser326Cys-Polymorphismus wird als möglicher Risikofaktor für verschiedene Krebsarten diskutiert (58). Darüber hinaus konnte ein Zusammenhang mit Diabetes mellitus (59) und KHK (60) gezeigt werden. Zudem konnte dieser Polymorphismus in einer chinesischen Studienpopulation mit dem Risiko der Entstehung von Koronarektasien in Verbindung gebracht werden (57).

### **1.2.2 Bikuspidale Aortenklappe**

Der genetische Hintergrund der bikuspiden Aortenklappe gestaltet sich anhand der bislang verfügbaren Datenlage sehr heterogen.

Wie bereits in Abschnitt 1.1.2 erwähnt, tritt die bikuspidale Aortenklappe nicht ausschließlich isoliert auf, sondern kann mit verschiedenen genetischen Syndromen oder anderen angeborenen Herzfehlern assoziiert sein. Hierzu zählen insbesondere linksobstruktive Malformationen wie die Aortenisthmusstenose (61) sowie der Ventrikelseptumdefekt (62). Zudem kann die BAV auch im Zusammenhang mit anderen thorakalen Aortenaneurysmata-Syndromen wie dem Loeys-Dietz-Syndrom oder durch Mutationen im ACTA2-Gen hervorgerufenen familiäre Häufungen von transthorakalen Aortenaneurysmata und Aortendissektionen auftreten (63).

Auch Veränderungen im Remodeling der extrazellulären Matrix scheinen bei der Entwicklung von bikuspiden Aortenklappen mitzuwirken. Eine wichtige Rolle scheint hier insbesondere die Familie der Matrix Metalloproteinasen (MMP) zu spielen. So zeigt sich bei der Gewebeuntersuchung von Aortenaneurysmata, welche mit bikuspiden Aortenklappen vergesellschaftet sind, ein unterschiedliches MMP-Profil als bei mit trikuspiden Aortenklappen assoziierten Aneurysmata. Insbesondere konnte eine erhöhte Aktivität von MMP-2 und -9 bei mit bikuspiden Klappen vergesellschafteten Aneurysmata festgestellt werden (64). Darüber



hinaus gibt es Hinweise für einen Zusammenhang zwischen der Entwicklung einer bikuspiden Aortenklappe mit der verminderten Expression der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase eNOS (65) sowie mit Dysregulationen im TGF (transforming growth factor)- $\beta$  Signalweg (66). Ausgehend von dieser Basis erscheint es plausibel, dass genetische Mutationen, die zu Veränderungen zellulärer Signalwege führen, die Entwicklung einer bikuspiden Aortenklappe verursachen oder begünstigen können (25). So konnte ein Zusammenhang zwischen der bikuspiden Aortenklappe und Mutationen im NOTCH1-Gen gezeigt werden (67). Veränderungen im NOTCH-Signalweg beeinflussen neben der Migration der Zellen der Neuralleiste auch die MMP-Expression (68). Auch verschiedene SNPs (single nucleotide polymorphisms) in den für MMP-2, MMP-9, eNOS und ACE kodierenden Genen werden mit der Entwicklung einer BAV und Komplikationen im Bereich der Aorta ascendens in Verbindung gebracht (69).

Als weitere, mit der Entwicklung einer BAV assoziierte Gene sind NKX2.5 und GATA5 zu nennen (70–72). NKX2.5 spielt eine wichtige Rolle in der Entwicklung der Aortenklappe (70). Die GATA-Familie kodiert für Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren, welche eine essenzielle Rolle in der Embryonalentwicklung spielen. GATA5 kommt hierbei eine besondere Bedeutung in der kardialen Morphogenese und Klappenentwicklung zu (73). Im Mausmodell wurde durch den Funktionsverlust von GATA5 die Ausbildung einer BAV mit inkompletter Penetranz hervorgerufen (74). Studien haben eine Assoziation verschiedener Genmutationen in diesem Bereich mit einem erhöhten Risiko für die Ausbildung einer bikuspiden Aortenklappe gezeigt (71, 72). In diesem Zusammenhang ist auch ZNF385D zu nennen, ein auf Chromosom 3 lokalisiertes Zinkfingerprotein, welches einen mit der BAV assoziierten SNP enthält (75).

Weiterhin können sich Veränderungen im SMAD6-Gen auf die Klappenmorphologie auswirken. SMAD6 kodiert für ein Protein, das als intrazellulärer Inhibitor des BMP-Signalwegs fungiert, welcher wiederum einen wichtigen Einfluss auf die Herzentwicklung hat. (76) Veränderungen im SMAD6-Gen können daher mit der Entwicklung einer bikuspiden Aortenklappe und weiteren kardiovaskulären bzw. aortalen Malformationen einhergehen (76, 77).

Eine kleine Studie aus dem Jahr 2011 gibt zudem einen Hinweis auf einen möglichen Zusammenhang mit genetischen Veränderungen der TGFBR (transforming growth factor-beta receptor)-Familie. So konnte bei einer Patientin und deren Vater, beide mit TAA und BAV, eine Missense Mutation im TGFBR2 (transforming growth factor-beta receptor type II)-Gen

nachgewiesen werden (78). Andere Studien wiederum (79–81) ergaben keinen Nachweis einer TGFBR-Mutation bei Patienten mit sporadisch aufgetretener oder familiärer BAV.

Bekannt ist jedoch, dass verschiedene Mutationen des TGF- $\beta$ -Signalwegs Ursache für syndromale Formen des thorakalen Aortenaneurysmas, wie dem Loeys-Dietz-Syndrom, sein können. In diesen Patientenkohorten wiederum kann eine erhöhte BAV-Prävalenz beobachtet werden, insbesondere bei bestehender TGFBR1/2- Mutation (82). Auch SMAD6 scheint neben der BMP-Signalkette auch den TGF- $\beta$ -Signalweg zu beeinflussen (77).

Des Weiteren werden Mutationen im MAT2A-Gen mit thorakalen Aortenaneurysmata, zum Teil auch mit assoziierter BAV, in Verbindung gebracht, allerdings bislang nur in einer sehr limitierten Anzahl an Patienten (83).

### **1.2.3 Aortenaneurysma**

Wie bereits im Vorgehenden erwähnt, spielt die genetische Komponente bei der Ätiologie des thorakalen wie des abdominalen Aortenaneurysmas eine nicht unwesentliche Rolle.

Sowohl das thorakale als auch das abdominale Aortenaneurysma können auch im Zusammenhang mit genetischen Syndromen auftreten. Die Assoziation nicht-syndromaler TAA-Formen, wie Veränderungen von ACTA2 und MYH11, mit dem TGF $\beta$ -Signaltransduktionsweg, der wiederum in der Genetik syndromaler Formen eine bedeutende Rolle spielt, legt eine enge Verbindung beider Formen nahe. Und auch ohne identifizierbares genetisches Syndrom ist eine starke genetische Komponente in der Ätiologie von thorakalen wie abdominalen Aortenaneurysmata bekannt. (84)

Bereits vor 20 Jahren konnte in Studien gezeigt werden, dass ca. 20% der Patienten mit nicht-syndromalem thorakalen Aortenaneurysma eine positive Familienanamnese aufweisen (85, 86). Bei fast 25% der Patienten mit thorakalem Aortenaneurysma oder TAAD (Thorakale Aortenaneurysmata und Dissektionen) lässt sich eine zugrundeliegende Genmutation nachweisen (87). Meist handelt es sich um ein autosomal dominantes Vererbungsmuster mit unterschiedlicher Penetranz und Expressivität (88). Und auch bei Verwandten ersten Grades eines Patienten mit abdominalem Aortenaneurysma konnten mehrere Studien ein im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung deutlich erhöhtes Risiko zeigen, ebenfalls ein solches zu entwickeln (89).

Mutationen in den das Marfan- und Loeys-Dietz-Syndrom Typ 1-4 betreffenden Genen (FBN1 bzw. TGFBR1/2, TGFBR2 und SMAD 3) sind für schätzungsweise 10% der familiären, nicht-syndromalen Formen des thorakalen Aortenaneurysmas verantwortlich (90). Die häufigsten

Syndrome, die mit der Entwicklung eines Aortenaneurysmas bereits in jungem Alter assoziiert sind, sind neben dem Marfan- und Loeys-Dietz-Syndrom das Ehlers-Danlos- sowie das TAAD-Syndrom. Weiterhin sind in diesem Zusammenhang die bikuspide Aortenklappe sowie die autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD) zu nennen. Seltener können Aortenaneurysmata auch mit dem Turner- oder dem Noonan-Syndrom, der Neurofibromatose, der tuberösen Sklerose, der Osteogenesis imperfecta sowie mit der Homocysteinurie assoziiert sein. Abbildung 5 zeigt eine Auflistung inklusive des betroffenen Gens sowie des betroffenen Aortenabschnittes. (38)

Genetic aneurysm syndromes		
Marfan syndrome (MFS)	FBN1	Dilatation and aneurysm of the aortic root, dilatation of the pulmonary artery, and dilatation or dissection of the descending thoracic or abdominal aorta
Ehlers-Danlos syndrome (EDS)	COL5A1, COL5A2, and COL3A1	Arterial mid-sized rupture, specially involving thoracic or abdominal vessels. Frequently descending and abdominal aorta [18]
Loeys-Dietz syndrome (LDS)	TGFBR1 and TGFBR2	Premature and aggressive aneurysms and dissections. Aneurysms distal to the aortic root
Familial aortic aneurysm and/or dissection syndromes (FAAD)	TGFBR2, MYH11, and ACTA2	Ascending aorta aneurysm and dissection
Bicuspid aortic valve (BAV)	Unknown	Aortic dilation typically involves the aortic root and ascending aorta whereas it is not present in the descending and abdominal aorta
Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD)	PKD1 and PKD2	Dilatation of the aortic root and dissection of the thoracic aorta
Turners	45X	Thoracic aortic aneurysms and dissections
Neurofibromatosis	NF1	Aneurysmal arterial disease affecting the abdominal aorta

**Abbildung 5:** Mit Aortenaneurysmata vergesellschaftete genetische Syndrome (38)

Je nach zugrundeliegendem Mechanismus, der zur Entwicklung eines Aneurysmas führt, können die genetischen Veränderungen wie im Folgenden erläutert in verschiedene Gruppen unterteilt werden.

### Veränderungen der extrazellulären Matrix

Erweiterungen der Aortenwurzel werden häufig durch genetisch bedingte Strukturveränderungen der Aortenwand hervorgerufen, wie beim Marfan-Syndrom (42). Es handelt sich hierbei um die häufigste mit dem TAA assoziierte familiäre Bindegewebserkrankung (91). Ihr zugrunde liegen verschiedenste Mutationen des FBN1-Gens (92, 93). FBN1 kodiert für Fibrillin-1, einem wichtigen Bestandteil der extrazellulären Matrix

(91). Eine Erweiterung der Aortenwurzel entwickelt sich in unterschiedlicher Ausprägung bei der großen Mehrheit der Patienten mit Marfan-Syndrom. Seltener, in ca. 10-20% der Fälle, kann die Dilatation auch die Aorta descendens oder abdominalis betreffen (94). Sequenzvarianten im Bereich des FBN1-Gens können jedoch auch ohne bestehendes Marfan-Syndrom die Ausbildung eines thorakalen Aortenaneurysmas begünstigen (95).

Weitere genetische Syndrome, im Rahmen derer aufgrund der veränderten Extrazellulärmatrix ein Aortenaneurysma auftreten kann, sind das Ehlers-Danlos-Syndrom, das Cutis-laxa-Syndrom sowie die Osteogenesis imperfecta.

Beim Ehlers-Danlos-Syndrom handelt es sich um ein klinisch wie genetisch heterogenes Syndrom; es sind mehrere Genmutationen bekannt, die zu veränderten Kollagenfibrillen und dadurch zu verschiedenen Symptomen im Bereich der Haut, Gelenke, Bänder und inneren Organe führen können (94). Beim klassischen und hypermobilen Typ findet sich häufig eine Erweiterung der Aortenwurzel (96). Beim vaskulären Ehlers-Danlos-Syndrom ist die Aortenwurzel dagegen nur selten betroffen (91). Vaskuläre Komplikationen können hier bei allen mittelgroßen Arterien, aber auch im Bereich der thorakalen und abdominalen Aorta auftreten und sich in Rupturen mit oder ohne vorausgehendem Aneurysma äußern (91, 97).

Der Osteogenesis imperfecta liegt ebenfalls eine Störung der Kollagensynthese zugrunde; betroffene Gene sind COL1A1 und COL1A2, die auch mit selteneren Formen des Ehlers-Danlos-Syndroms assoziiert sein können (91). Bei der Osteogenesis imperfecta kommt es nur selten zu vaskulären Komplikationen im Sinne von Aortenaneurysmata und -dissektionen, wobei die Dilatation der Aortenwurzel die häufigste kardiovaskuläre Manifestation darstellt (91, 98).

Das Cutis-laxa-Syndrom ist eine sehr seltene Erkrankung, bei der die Qualität der elastischen Fasern beeinträchtigt ist (91). Bei der durch Mutationen in dem für Fibulin-4 kodierenden Gen FBLN4 hervorgerufenen autosomal rezessiven Form zeigen sich regelhaft Tortuositäten und Aneurysmata der Aorta ascendens (99). Die autosomal dominante Variante, bei der das Elastin-Gen (ELN) betroffen ist, ist insgesamt als benignere Verlaufsform bekannt. Jedoch kann es auch hier zu Aneurysmata der Aorta ascendens mit konsekutiver Dissektion kommen (100).

### TGFβ-Signalweg

Der TGFβ-Signalweg nimmt eine Schlüsselrolle bei der regelrechten vaskulären und kraniofazialen Entwicklung ein (101). Seine Rolle in der Pathogenese der Aortenaneurysmata zeigt sich vor allem im Loey-Dietz-Syndrom, einer systemischen Bindegewebserkrankung, die sich in vielen phänotypischen Merkmalen mit dem Marfan-Syndrom überschneidet (91).

Vaskuläre Komplikationen des Loeys-Dietz-Syndroms sind gekennzeichnet durch ein aggressives Voranschreiten sowie ein hohes Rupturrisiko bei vergleichsweise geringen Durchmessern. Die vaskuläre Manifestation ist breit gefächert. Neben häufig auftretenden Aneurysmata der Aorta ascendens kann sich die arterielle Beteiligung auch auf weiter distal gelegene Aortenabschnitte sowie Äste insbesondere des thorakalen Stromgebietes beziehen. (102) Zum Loeys-Dietz-Syndrom können Mutationen verschiedener Komponenten des TGF $\beta$ -Signalwegs führen. Es können sowohl die für die Rezeptoren kodierenden Gene (TGFB1R 1/2), als auch jene für die Zytokine (TGFB2/3) und die der ausführenden Effektoren (SMAD 2/3) betroffen sein (101). Insbesondere TGFB1R-Mutationen können auch mit nicht-syndromalen Formen des familiären thorakalen sowie des abdominalen Aortenaneurysmas assoziiert sein (103, 104).

Zum TGF $\beta$ -Signalweg gehören auch die knochenmorphogenetischen Signalproteine, auch BMPs (bone morphogenetic proteins) genannt, welche auch in der Pathogenese des thorakalen Aortenaneurysmas diskutiert werden (105). Im Vorhergehenden wurde bereits das SMAD6-Gen erwähnt, welches für ein inhibitorisches Protein der BMP-Signalkette kodiert. Veränderungen in diesem Gen konnten in einer Patientenkohorte mit simultan bestehendem thorakalen Aortenaneurysma und bikuspidaler Klappe nachgewiesen werden (77).

#### Vaskuläre glatte Muskelzellen

Ein weiterer Ansatz in der Klärung der Pathogenese des Aortenaneurysmas ist die Identifikation von Genmutationen, die den Kontraktionsapparat des Gefäßsystems betreffen (91). Die Relevanz dieses Pathomechanismus zeigte sich als erstes bei der Entdeckung von Mutationen im MYH11-Gen als Ursache für isolierte familiäre thorakale Aortenaneurysmata. MYH11 kodiert für die schwere Myosinkette glatter Muskelzellen. (106)

Weiterhin sind an dieser Stelle Mutationen im ACTA2-Gen zu nennen. ACTA2 kodiert für alpha-SMA, einem Protein der glatten Muskulatur, welches eine wichtige Rolle bei der Zellstruktur und Motilität spielt (91). ACTA2-Mutationen sind für ca. 12-21% der familiären thorakalen Aortenaneurysmata und Dissektionen (TAAD) verantwortlich (90).

Weiterhin wurden die seltenen MAT2A-Mutationen im Vorgehenden bereits erwähnt. MAT2A kodiert für das Enzym MAT II $\alpha$ , welches für Methylierungs-Reaktionen in vielen Geweben, unter anderem in den aortalen glatten Muskelzellen, zuständig ist. Mutationen in diesem Gen werden mit thorakalen Aortenaneurysmata mit oder ohne assoziierter bikuspidaler Aortenklappe in Verbindung gebracht. (83)

### Sonstige Mechanismen

Wie bereits erwähnt, können Mutationen in den für eNOS sowie MMP-2 und -9 kodierenden Genen mit dem Vorhandensein einer bikuspiden Aortenklappe und eines assoziierten Aneurysmas der Aorta ascendens in Zusammenhang gebracht werden (69). Zudem wurde ein Polymorphismus in dem für LRP (low-density lipoprotein receptor-related protein) 1 kodierenden Bereich in einer großen genomweiten Studie mit dem AAA in Verbindung gebracht. Bei LRP1 handelt es sich um einen großen Membranrezeptor der LDL-Rezeptor-Familie, welcher auch eine Rolle in der Regulation der MMP9-Expression spielt. (107)

Ebenso gibt es Hinweise, dass Veränderungen im NOS3-Gen einen prädisponierenden Faktor für die Entwicklung eines AAA darstellen können (108). Mit letzterem ist auch eine Sequenz-Variante des Gens DAB2IP assoziiert (109). Es handelt sich um ein die Ras-GTPase aktivierendes Protein, welches in vielen Geweben exprimiert wird und die Induktion der Apoptose auslösen kann (110).

Mit dem AAA wird zudem das Renin-Angiotensin-Aldosteronsystem (RAS) in Verbindung gebracht. So scheinen ACE-Hemmer das Rupturrisiko stärker zu senken als andere Antihypertensiva (111). Polymorphismen des ACE-Gens spielen sowohl als Risikofaktor für Koronarektasien (55), als auch in der Pathogenese des AAA (56) eine Rolle. Darüber hinaus konnte insbesondere ein Polymorphismus des Angiotensin II-Rezeptors Typ 1 (AGTR1) in einer großen Studie mit mehreren Kohorten mit dem AAA in assoziiert werden (112).

Des Weiteren sind im Zusammenhang mit dem AAA die Gene CDKN2A/B, CNTN3 sowie MTHFR zu nennen. Bei CDKN2A und CDKN2B handelt es sich um auf Chromosom 9p21.3 lokalisierte Cyclin-abhängige Kinasen, die eine wichtige Rolle in der Zellproliferation und Apoptose spielen. Für 9p21.3, welches in Vergangenheit bereits als Risiko-Lokus für KHK identifiziert werden konnte (113), konnte auch eine Assoziation mit dem AAA gezeigt werden (114). CNTN3 kodiert für ein Zelladhäsionsmolekül, welches auch in aortalem Gewebe nachgewiesen werden konnte. Eine benachbarte Sequenzvariante, welche möglicherweise die Expression dieses Gens beeinflusst, wird mit dem AAA in Verbindung gebracht (115). Die Methylentetrahydrofolat-Reduktase, für die MTHFR kodiert, ist an der Umwandlung von Homocystein zu Methionin beteiligt (116). Erhöhte Homocystein-Level sind ein bekannter Risikofaktor für Atherosklerose (117). Zudem besteht die Vermutung, dass ein erhöhter Homocystein-Spiegel auch die Funktion der Aortenwand beeinflussen und so die Entstehung eines Aortenaneurysmas begünstigen könnte (118). Mehrere Studien konnten einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des MTHFR-Gens und dem AAA nachweisen (119, 120).

## **2. Fragestellung**

Strukturelle Veränderungen der Aortenklappe sowie der angrenzenden Gefäße stehen in einem engen Zusammenhang. Die Aortenklappe, die Aorta ascendens sowie der Truncus pulmonalis gehen auf einen gemeinsamen Ursprung in der Embryonalentwicklung zurück. Alle genannten Strukturen entstehen aus Zellen der Neuralleiste (121). Diese spielen auch in der Entwicklung der Koronararterien eine Rolle (122).

Patienten mit bikuspidaler Aortenklappe entwickeln häufig ein konsekutives Aneurysma der Aorta ascendens (37). Die BAV ist häufig mit dem Vorhandensein von CAE vergesellschaftet, unabhängig von Pathologien der Aorta ascendens (5).

Auch in der Pathogenese der genannten Erkrankungen lassen sich Gemeinsamkeiten feststellen. Matrix-Metalloproteasen spielen nicht nur bei der Entstehung von Koronarektasien, sondern auch für die BAV mit begleitendem Aneurysma der Aorta ascendens eine wichtige Rolle. Die für eNOS und ACE kodierenden Gene werden in der Pathogenese sowohl von BAV und begleitendem TAA also auch von AAA und CAE diskutiert.

Aufgrund des engen Zusammenhangs der Pathologien ist ein gemeinsamer genetischer Hintergrund denkbar. Der gemeinsame embryonale Ursprung sowie die Überschneidungen in der Pathogenese legen nahe, dass das häufig simultane Auftreten von bikuspidaler Aortenklappe und/oder arteriellen Aneurysmen bzw. Koronarektasien nicht nur mechanischen Ursprungs im Sinne einer Blutverwirbelung ist, sondern auf überschneidende genetische Ursachen zurückzuführen ist. Ziel dieser Arbeit ist es daher zu untersuchen, ob für SNPs, welche für die bikuspidale Klappe oder für thorakale und abdominale Aortenaneurysmen kodieren, auch eine Assoziation mit Koronarektasien gezeigt werden kann.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1 Studienpopulation**

#### **3.1.1 Gesamte Studienpopulation**

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Ergebnisse der Genotypisierung von insgesamt 1422 Patienten. Als Basis dienten das GoKard-Register sowie die Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (HIFAM). Bei allen der eingeschlossenen Patienten war eine Koronarangiographie durchgeführt worden und es lag eine Blutprobe vor. 337 der eingeschlossenen Patienten wurden nach Beurteilung der Herzkatheteruntersuchung der Fallgruppe mit Koronarektasien zugeteilt. Bei den übrigen 1085 Patienten wurde anhand der Koronarangiographie keine Koronarektasie diagnostiziert, so dass diese als Kontrollgruppe dienten.

#### **3.1.2 GoKard-Register**

Beim GoKard-Register handelt es sich um ein unselektiertes Beobachtungsregister des Universitätsklinikums Regensburg. Aufgenommen werden Patienten, bei denen am Universitätsklinikum Regensburg eine ambulante oder stationäre Herzkatheteruntersuchung aus medizinischer Indikation durchgeführt wird. Insgesamt 855 der genotypisierten Patienten entstammen diesem Register. Bei 146 wurden Koronarektasien diagnostiziert und diese entsprechend der Fallgruppe zugeteilt. Die restlichen 709 Patienten dieses Kollektivs gehören zur Kontrollgruppe.

#### **3.1.3 HIFAM-Kollektiv**

Bei der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie handelt es sich um ein Register von über 7500 Personen mit auffälligen Familienanamnesen bezüglich Myokardinfarkten. Bei Aufnahme in das Register wurden Informationen zum Gesundheitszustand in standardisierter Form festgehalten und von einem Großteil des Kollektivs Blutproben gesammelt. (123) 567 der für diese Arbeit genotypisierten Patienten entstammen dem HIFAM-Kollektiv. Hiervon gehören wiederum 191 Patienten der Fallgruppe mit Koronarektasien an. Bei den restlichen 376 Patienten dieses Kollektivs handelt es sich um Kontrollen ohne Koronarektasien.



## **3.2. Auswahl von Studienpopulation und Single Nucleotide Polymorphisms**

### **3.2.1 Auswahlkriterien**

Ausgewählt wurden Patienten, bei denen in der Vergangenheit bereits eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt worden war und eine Blutprobe für die Genotypisierung vorhanden war. Bei vorhandenen Koronarektasien wurde der Patient der Fallgruppe, bei Fehlen von Koronarektasien der Kontrollgruppe zugeteilt. Die Studie wurde den Maßstäben der lokalen Ethikkommission entsprechend durchgeführt.

### **3.2.2 Beurteilung der Koronarektasien**

Die Herzkatheteruntersuchungen der in diese Arbeit eingeschlossenen Studienpopulation wurden von zwei im Bereich der interventionellen Kardiologie erfahrenen Untersuchern getrennt voneinander beurteilt. Hierzu erfolgte eine systematische Durchsicht der Bilder, wobei die Untersuchungen in zufälliger Reihenfolge aufgerufen wurden. Der Fokus bei der Beurteilung der Bilder lag hierbei auf dem Vorhandensein von Koronarektasien. Als Ektasie wurde eine Erweiterung der Koronararterie um das mindestens Eineinhalbfache des angrenzenden gesunden Teilstücks desselben Gefäßes oder, falls nicht verfügbar, des Diameters der größten gesunden Koronararterie des Patienten definiert. Zudem wurde die Ausdehnung und Lokalisation der Ektasie festgelegt: entsprechend den distalen, proximalen oder gesamten Gefäßabschnitt der rechten Koronararterie (RCA), des linken Hauptstamms (LM), des Ramus circumflexus (CA) oder des Ramus interventricularis anterior (LAD) betreffend.

Die koronaren Versorgungstypen wurden in Linksversorger-, Rechtsversorger- und ausgeglichener Typ eingeteilt. Wurde anhand der Koronarangiographie die Diagnose einer koronaren Herzkrankheit (KHK) gestellt, musste eine Stenose von mindestens 50 Prozent zugrunde liegen. Die KHK wurde als Ein-, Zwei- oder Drei-Gefäßerkrankung definiert.

### **3.2.3 Auswahl der zu untersuchenden Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)**

Es wurden solche SNPs ausgewählt, welche in der Literatur bereits bei Patienten mit thorakalem oder abdominalen Aortenaneurysma oder bei Patienten mit bikuspiden Aortenklappen sowie zum Teil auch bei Patienten mit bikuspider Aortenklappe und assoziiertem Aneurysma der Aorta ascendens untersucht wurden. Hierzu wurde eine systematische Literaturrecherche in der PubMed-Datenbank durchgeführt. Verwendete Stichworte waren „bicuspid aortic valve“, „thoracic aortic aneurysm“, „abdominal aortic aneurysm“ sowie deren Kombinationen.

Ausgewählt wurden anschließend SNPs, für die sich in der Literatur eine statistische Signifikanz gezeigt hatte. Die 22 gewählten SNPs mit Literaturangabe finden sich in der folgenden Tabelle.

**Tabelle 1:** Ausgewählte SNPs mit Literaturangabe und jeweiliger Assoziation

	SNP	Gen	Assoziation mit	Literatur
1	rs2285053	MMP-2	TAA, BAV	Pisano et al. 2012 (69)
2	rs10519177	FBN1	TAA	Lemaire et al. 2011 (95)
3	rs4774517	FBN1	TAA	(95)
4	rs755251	FBN1	TAA	(95)
5	rs1036477	FBN1	TAA	(95)
6	rs2118181	FBN1	TAA	(95)
7	rs689304	FBN1	TAA	(95)
8	rs1036476	FBN1	TAA	(95)
9	rs1626340	TGFBR1	AAA	Baas et al. 2010 (104)
10	rs1036095	TGFBR2	AAA	(104)
11	rs4522809	TGFBR2	AAA	(104)
12	rs7025486	DAB2IP	AAA	Gretarsdottir et al. 2010 (109)
13	rs1466535	LRP1	AAA	Bown et al. 2011 (107)
14	rs5186	AGTR1	AAA	Jones et al. 2008 (112)
15	rs1799983	NOS3	AAA	Fatini et al. 2005 (108), Atli et al. 2009 (124)
16	rs2070744	NOS3	TAA, BAV	Pisano et al. 2012 (69)
17	rs1801133	MTHFR	AAA	Thompson et al. 2008 (119)
18	rs388647	ZNF385D	BAV	Wooten et al. 2010 (75)
19	rs10757278	CDKN2B-AS1	AAA	Helgadottir et al. 2008 (125), Biros et al. 2010 (114)
20	rs1333049	CDKN2B-AS1	AAA	Bown et al. 2008 (126), Biros et al. 2010 (114)
21	rs3918242	MMP-9	TAV, BAV	Pisano et al. 2012 (69)
22	rs7635818	CNTN3 (upstream)	AAA	Elmore et al. 2009 (115)

Anschließend wurden die SNPs auf das Vorhandensein eines TaqMan-Genotyping-Assay geprüft. In zwei Fällen wurde aufgrund der fehlenden Verfügbarkeit der jeweilige Proxy-SNP verwendet, wie in der folgenden Tabelle 2 zu sehen ist, in der die SNPs mit dazugehörigem Genloкус und Assay-ID aufgeführt sind.

**Tabelle 2:** Tabellarische Übersicht über die untersuchten SNPs

	SNP	Assay-ID	Gen-Lokus	Chromosom	Position auf GRCh 38	Funktion
1	rs2285053	C__15903863_10	MMP-2	16q12.2	55478465	2KB Upstream variant
2	rs10519177	C__1132304_10	FBN1	15q21.1	48464998	Intron
3	rs4774517	C__28032458_20	FBN1	15q21.1	48467094	Intron
4	rs755251	C__1865677_10	FBN1	15q21.1	48519823	Intron
5	rs1036477	C__8932690_10	FBN1	15q21.1	48622729	Intron
6	rs2118181	C__16234705_10	FBN1	15q21.1	48623687	Intron
7	rs625034 (Proxy-SNP von rs689304)	C__3093315_10 (rs689304 nicht verfügbar)	FBN1	15q21.1	48634005	Intron
8	rs1036476	C__8932689_10	FBN1	15q21.1	48622578	Intron
9	rs1626340	C__1441206_10	TGFBR1	9q22.33	99161090	unbekannt
10	rs1036095	C__1982024_10	TGFBR2	3p24.1	30620836	Intron
11	rs4522809	C__1612565_10	TGFBR2	3p24.1	30627192	Intron
12	rs7025486	C__29006014_10	DAB2IP	9q33.2	121660124	Intron
13	rs1466535	C__7499211_10	LRP1	12q13.3	57140687	Intron
14	rs5186	C__3187716_10	AGTR1	3q24	148742201	3'-UTR
15	rs1799983	C__3219460_20	NOS3	7q36.1	150999023	Missense
16	rs2070744	C__15903863_10	NOS3	7q36.1	150992991	Intron
17	rs1801133	C__1202883_20	MTHFR	1p36.22	11796321	Missense
18	rs388647	C__3061436_20	ZNF385D	3p24.3	21459131	Intron
19	rs10757278	C__11841860_10	CDKN2B- AS1	9p21.3	22124478	unbekannt
20	rs1333049	C__1754666_10	CDKN2B- AS1	9p21.3	22125504	unbekannt
21	rs2274755 (Proxy-SNP von rs3918242)	C__15746644_10 (rs3918242 nicht verfügbar)	MMP-9	20q13.12	46011053	Intron
22	rs7635818	C__11544536_10	CNTN3 (upstream)	3p12.3	74734325	unbekannt

### **3.3 DNA-Isolierung**

Die DNA-Extraktion wurde im Rahmen der GoKard- und HIFAM-Studie durchgeführt. Die verwendete RBC Lysis-Lösung und Reagenzien entstammen dem Gentra Puregene Blood Kit von Qiagen.

Zunächst wurde EDTA- Blut mit RBC Lysis- Lösung gemischt, 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, anschließend 10 Minuten lang bei 3300 cpm zentrifugiert und der Überstand verworfen. Zur Resuspension wurde zu den entstandenen Pellets Cell Lysis- Lösung gegeben. Das Gemisch wurde zusammen mit Proteinpräzipitationslösung nochmals 10 Minuten bei 3300 rpm zentrifugiert und der Überstand in ein mit Isopropanol gefülltes Falcon gegeben, aus welchem anschließend die Extraktion der DNA erfolgte. Hierzu wurde der Isopropanol-Überstand nach erneuter Zentrifugation über 3 Minuten bei 3300 cpm vorsichtig abgegossen und Ethanol zu den Pellets gegeben. Nach nochmaliger dreiminütiger Zentrifugation und Verwerfen des Überstands wurde Hydration Solution auf das Pellet pipettiert und das Gemisch nach einstündiger Inkubation im Wasserbad bei 65°C zentrifugiert. Die fertig gelöste DNA wurde dann in zwei Cups (Reagiergefäß 2ml, PP von Sarstedt; Art-Nr. 72.689.002) aufgeteilt und anschließend in das ABgene Probenverwaltungssystem überführt. Hierbei erfolgte die Lagerung der DNA in ABgene 2-D Barcode-Tubes (Thermo Scientific; Art-Nr. AB-1150) im 96-Well Format in Racks auf zugewiesenen Positionen (Lockable Cluster Tube Rack, Thermo scientific; Art-Nr. SP-0324) bei -20°C.

### **3.4 Konzentrationsbestimmung und DNA-Normalisierung**

Die DNA-Konzentrationsbestimmung erfolgte mit dem Tecan Infinite M200 Pro-Messgerät im i-control-Programm. Hierfür wurde die gelagerte DNA verdünnt, in eine Tochterplatte (96 well conical Btm PP Plate von Thermo Scientific; Art-Nr. 249944) überführt und anschließend die genaue Konzentration vermessen. Dies erfolgte durch Messung der Absorption bei 260nm mittels Nano-Quant Platte mit Vermessen von bis zu 16 Proben pro Durchgang.

Danach wurde die Normalisierung nach dem Standard-Normalisierungsprotokoll mittels Pipettierroboter (Tecan Genesis Freedom 150/4/8 SN: 2388) in einer 96-Well Platte (96 Well conical Btm PP Plate von Thermo Scientific; Art.-Nr. 249944) vorgenommen. Hierfür wurde mit dem Normalisation Worklist Manager die DNA-Konzentration aus der Eichgeraden errechnet und die für die Normalisierung notwendige Menge an DNA und Lösungsmittel bestimmt. Anschließend wurde ein Work-Sheet für den Pipettierroboter erstellt, nach welchem

die Normalisierung auf 2ng/µl erfolgte. Eichgerade und Work-Sheet sind in Abbildung 6 dargestellt.

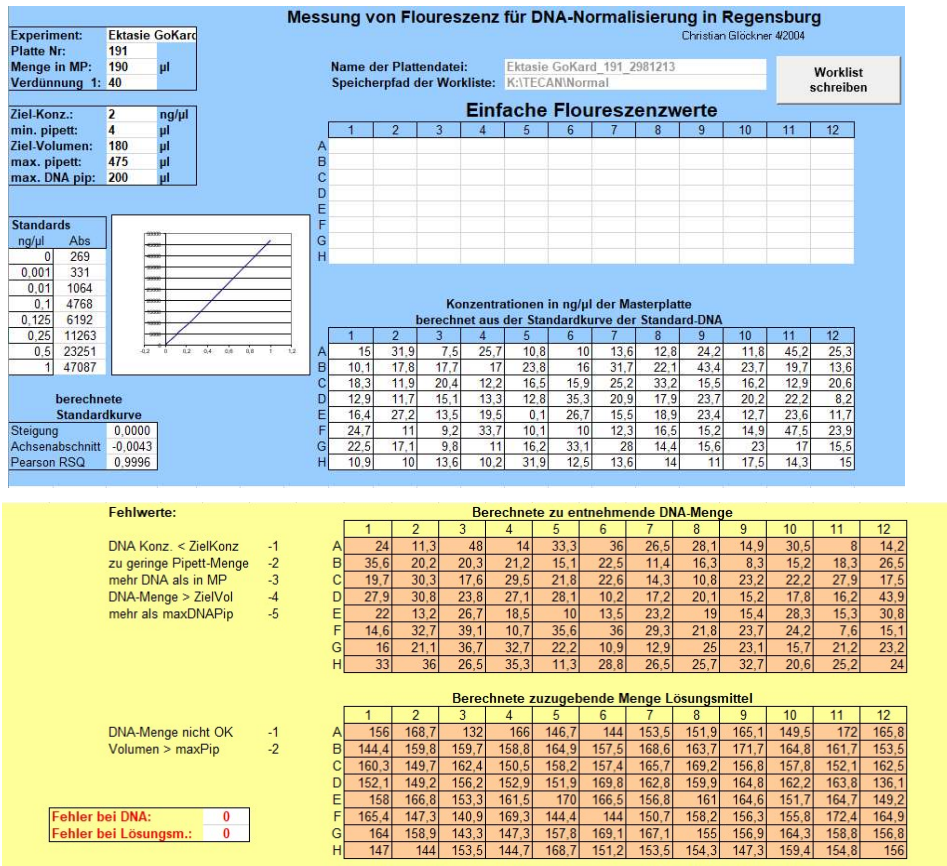


Abbildung 6: Eichgerade und Work-Sheet für den Normalisierungs-Prozess

### 3.5 Genotypisierung

#### 3.5.1 Probenvorbereitung

Zur Vorbereitung der DNA-Proben wurden jeweils vier der normalisierten 96-Well Platten auf einer 384-Well Reaktionsplatte (MicroAmp Optical 384-well reaction plate, Applied Biosystems; Art-Nr. 4309849) zusammengeführt. Hierfür wurden 5 µl, entsprechend 10ng DNA, aus der normalisierten Platte auf die Reaktionsplatte pipettiert und die DNA anschließend bei Raumtemperatur getrocknet. Der Reaktionsansatz für die 384-Well Reaktionsplatte ist in der folgenden Tabelle 3 aufgeführt.

**Tabelle 3:** Reaktionsansatz für die PCR in der 384- Well Platte

<b>Reaktionskomponente</b>	<b>Volumen (µl)</b>
TaqMan® GTXpress Master Mix (2x)	2,5
TaqMan® SNP Genotyping Assay (20x)	0,25
Nuclease-freies Wasser	2,25
10 ng getrocknete DNA	--
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>5 µl</b>

### 3.5.2 Ablauf der PCR

Die Durchführung der PCR in der 384-Well Plate erfolgte mit dem Viia 7 Real-Time PCR System von Thermo Fisher Scientific nach folgendem Schema:

**Tabelle 4:** Schema der PCR

<b>Phase</b>	<b>Zeiten und Temperaturen</b>
Pre-Read	30s bei 60°C
DNA-Polymerase Aktivierung	20s bei 95°C
PCR (40 Zyklen)	Stufe 1 (Denaturierung): 3s bei 95°C Stufe 2 (Annealing/ Verlängerung): 20s bei 60°C
Allelische Diskriminierung	60s bei 25°C

Die Auswertung der allelischen Diskriminierung wurde mit dem Programm „Taqman Genotyper Software“ von Thermo Fisher Scientific vorgenommen.

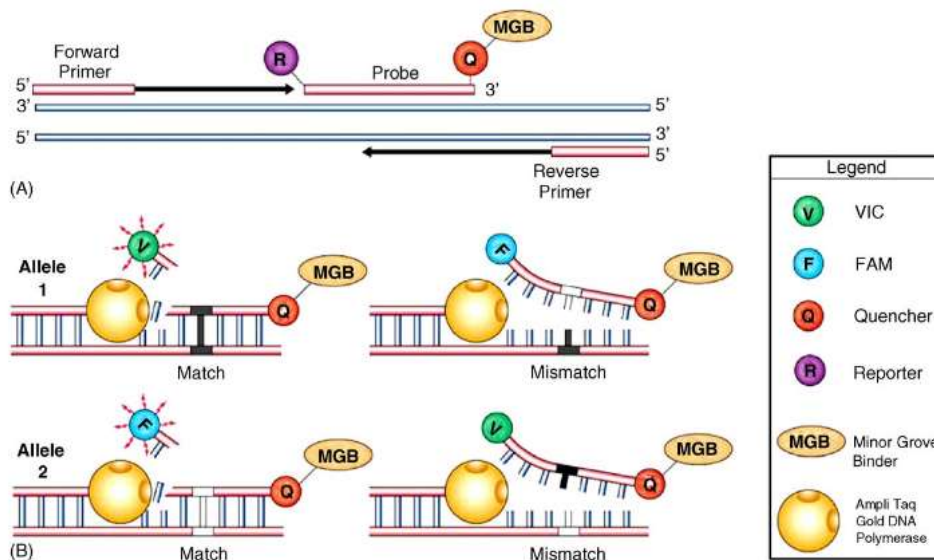
### 3.5.3 TaqMan® SNP Genotyping Assay

Beim Taqman-System handelt es sich um eine real time PCR-Methode, welche auch für die Detektierung von Polymorphismen angewendet werden kann (127). Aufgrund ihrer Häufigkeit sind Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) etabliert als wichtige Marker zur Lokalisierung von Genen sowie per se bei der Detektion kausaler genetischer Varianten (128). Im Gegensatz zu TaqMan® Assays zur absoluten oder relativen Quantifizierung, wie bei Genexpressionsanalysen, wird der TaqMan® SNP Genotyping Assay eher am PCR-Endpunkt als in real time gelesen (129).

Der TaqMan® SNP Genotyping Assay basiert auf der 5'-3' Exonuklease-Aktivität der AmpliTaq Gold® DNA Polymerase (127, 129). Im Assay sind zwei ortsspezifische DNA-Primer, die den gewünschten SNP flankieren, sowie zwei allelspezifische Oligonukleotid-Sonden enthalten. Am 5' Ende besitzen diese Sonden einen fluoreszierenden Farbstoff, am 3' Ende einen nicht-fluoreszierenden Quencher (NFQ) mit einem minor groove binder (MGB). (130)

Bei einer intakten Sonde ist das Fluoreszenzsignal nach Anregung nur minimal, da die Nähe zum Quencher die Fluoreszenz abschwächt (127). Wie in Abbildung 7 zu sehen, wird ein Fluoreszenzsignal dann generiert, wenn die intakte, fest mit der der DNA verbundene Sonde von der AmpliTaq Gold® DNA-Polymerase gespalten und somit der Quencher am 3' Ende vom Fluoreszenzfarbstoff am 5' Ende getrennt wird. Mit jedem PCR-Zyklus steigt das Fluoreszenzsignal durch die DNA-Amplifikation und Trennung des Farbstoffs vom Quencher exponentiell an und zeigt dadurch das Vorhandensein des spezifischen Allels an. (129)

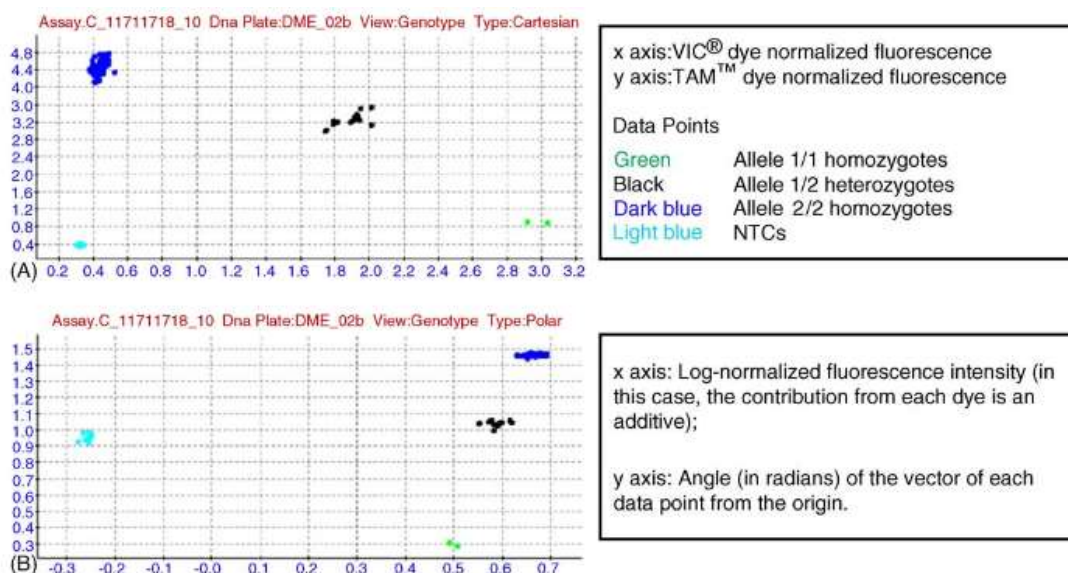
Sonden mit Minor groove binder (MGB) verbessern die allelische Diskriminierung, da durch den MBG die Sondenstruktur stabilisiert und die Schmelztemperatur ( $T_m$ ) erhöht wird, ohne die Sonde zu verlängern. Zwischen den kürzeren Sonden ist eine bessere Mismatch-Unterscheidung möglich, wodurch die Allelspezifität erhöht wird. (131)



**Abbildung 7:** Sondenbindung und Primer Extension (A). Allelische Diskriminierung durch selektive Hybridisierung der passenden Sonde mit der DNA-Probe und Generierung eines allelspezifischen Fluoreszenz-Signals (B). (129)

Die Genotypisierung erfolgt simultan auf 96- oder 384- Well Platten. Der TaqMan® SNP Genotyping Assay bietet mehrere technologische Vorteile: es wird nur ein einziger enzymatischer Schritt benötigt und alle verfügbaren Assays laufen unter denselben Bedingungen ab. Des Weiteren kann die Lokalisation des Primers in der Region um den gewünschten SNP flexibel gewählt werden, es können Insertions- wie Deletionspolymorphismen genotypisiert werden und eine post-PCR-Bearbeitung ist nicht notwendig. Zudem erlaubt der TaqMan® SNP Genotyping Assay einen einfachen Arbeitsablauf, der problemlos mittels Pipettierroboter automatisiert werden kann.

Die Genotypen-Differenzierung der einzelnen Proben erfolgt durch die graphische Darstellung der normierten Fluoreszenzsignal-Intensitäten. Die Ergebnisse werden typischerweise in einem kartesischen Plot (auch cluster oder scatter plot genannt) veranschaulicht, wie in Abbildung 8 gezeigt. Alternativ können sie auch in einem Polar Plot dargestellt werden. (129)



**Abbildung 8:** Cluster Plot eines typischen TaqMan Assays aus 88 DNA-Proben und 8 no-template-controls (NTCs) (A). Polar Plot derselben Daten (B). (129)

### 3.6 Statistische Auswertung

#### 3.6.1 Vorgehensweise

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software JPM 11 von SAS Institute. Zunächst wurde die Abweichung der Genotypen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht berechnet. Hierbei wurden die gemessenen und theoretisch erwarteten Genotypenverteilungen in einem Chi-Quadrat Test verglichen. Es wurde sowohl der klassische Pearson Chi-Quadrat-Test und der Fisher's exact test, als auch der Likelihood-Ratio Chi-Quadrat-Test verwendet. Neben den



Genotypenfrequenzen wurden anschließend die Allelfrequenzen und Allelpositivitäten untersucht. Der lineare Trend wurde mit dem Cochran-Armitage-Trend-Test geprüft. (132)  
Die Odds-Ratios (OR) wurden jeweils mit ihrem 95% Konfidenzintervall (C.I.) angegeben. Ein p-Wert von  $\leq 0,05$  wurde als statistisch signifikant angenommen.

### 3.6.2 Hardy-Weinberg-Equilibrium

Das Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) beschreibt den Zusammenhang zwischen Allelfrequenz und der Häufigkeit der drei möglichen Genotypen eines biallelischen autosomalen Locus. In einer großen, homogenen Population sollen diese Häufigkeiten von Generation zu Generation konstant bleiben. Für die Allelfrequenzen  $p$  und  $q$  des häufigen Allels  $A$  und des seltenen Allels  $a$  gilt dann:

$$p + q = 1$$

Für die Genotypenhäufigkeiten ergibt sich:

$$AA: p^2$$

$$Aa: 2pq$$

$$aa: q^2$$

(133)

Die Testung auf Abweichungen vom HWE hat sich als wichtiges Instrument der Qualitätskontrolle bei genetischen Assoziationsstudien etabliert, um Genotypisierungsfehler zu detektieren (134). Das Hardy-Weinberg-Equilibrium gilt allerdings nur unter speziellen Bedingungen, wie dem Vorliegen großer Populationen, dem Fehlen geschlechtsspezifischer Unterschiede und der Vererbung nach geltenden Mendelschen Gesetzen, ohne Mutationen und natürliche oder künstliche Selektion (133). Neben Genotypisierungsfehlern kommen noch andere Ursachen für ein Abweichen der Genotypen-Verteilung vom HWE in Betracht, wie Konsanguinität, das Vorliegen von Subgruppen oder genetische Faktoren wie die Selektion bestimmter Genotypen (134).

### 3.6.3 Chi<sup>2</sup>-Test

Der  $\chi^2$ (Chi<sup>2</sup>)-Test vergleicht die tatsächlich beobachteten mit den zu erwartenden Genotypenhäufigkeiten. Er wird verwendet, um die Unabhängigkeit eines Allels von einem bestimmten Merkmal zu prüfen. Der Test wird daher auch Chi<sup>2</sup>-Unabhängigkeitstest genannt. Dabei wird die Nullhypothese (keine Assoziation) mit der Alternativhypothese (vorhandene Assoziation) verglichen. Die Prüfgröße Chi wird dabei mit der Formel

$$\chi^2 = \frac{(O - E)^2}{E} \quad (135)$$

angegeben, wobei O die tatsächlich beobachtete, und E die erwartete Häufigkeit angibt. Die  $\chi^2$ -Statistik einer Kontingenztafel ergibt sich aus den Summen der  $\chi^2$ -Werte der einzelnen Zellen, wobei die Bestimmung p-Werts von der Anzahl der Freiheitsgrade abhängt. Die  $\chi^2$ -Statistik der gesamten Kontingenztafel bestimmt, ob die beiden Prüfgrößen als abhängig oder unabhängig voneinander angenommen werden (entsprechend  $p < 0,05$  bzw.  $p > 0,05$  bei einem Signifikanzniveau von 5%). (135)

In einem konventionellen  $\chi^2$ -Test mit 2 Freiheitsgraden wird die Assoziation eines jeden Genotyps mit dem zu untersuchenden Merkmal als unabhängig voneinander angenommen. Um alternative Penetranz-Modelle zu untersuchen, existieren unterschiedliche Methoden der Kontingenztafelanalyse. Durch Kombination von Genotypen oder Verwendung von Allelen statt Genotypen kann der  $\chi^2$ -Test so modifiziert werden, dass ein dominantes oder rezessives Vererbungsmodell oder die allelische Assoziation untersucht werden können. (136)

### 3.6.4 Odds Ratio

Die Odds Ratio (OR) ist ein Maß für die Assoziationsstärke zwischen zwei Variablen. Häufig wird sie verwendet, um den Zusammenhang zwischen einem vermuteten Risikofaktor und einer Erkrankung zu untersuchen. Zur Bestimmung der OR wird das Chancenverhältnis zwischen zwei Gruppen bestimmt. Besteht eine Gruppe Erkrankter aus Exponierten (a) und nicht Exponierten (c) und eine Gruppe nicht Erkrankter aus Exponierten (b) und nicht Exponierten (d), so ergibt sich:

$$OR = \frac{\text{Chance der Erkrankten auf Exposition}}{\text{Chance der nicht Erkrankten auf Exposition}} = \frac{a/c}{b/d} \quad (137)$$

In dieser Arbeit gibt die OR an, um welchen Faktor das Erkrankungsrisiko für eine Person steigt, wenn sie Träger eines bestimmten Genotyps ist. Für die Risikoberechnung wurde zwischen dominantem und rezessivem Vererbungsmodell unterschieden.

Die OR wird jeweils mit ihrem 95%igen Konfidenzintervall (CI) angegeben, was einem p-Wert von 0,05 entspricht. Bei dem CI handelt es sich um den Wertebereich, in dem mit der vorgegebenen Sicherheit die wahre approximierte OR enthalten ist. Es wird benötigt, um Signifikanz und Präzision der OR einschätzen zu können. (137)

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 FBN1**

#### **4.1.1 Überblick**

Die statistische Auswertung erfolgte zum einen für alle 337 Fälle und 1085 Kontrollen, wie in Tabelle A1 im Anhang dargestellt. Zum anderen wurden die 709 Patienten der GoKard-Kontrollgruppe sowohl mit der gesamten, als auch mit der aus 191 Patienten bestehenden HIFAM-Fallgruppe verglichen. Die Tabelle A2 im Anhang zeigt die Ergebnisse der statistischen Auswertung der gesamten Fall- und GoKard-Kontrollgruppe, Tabelle A3 die der HIFAM-Fall- und GoKard-Kontrollgruppe. Die Berechnung der Abweichung der Genotypen vom HWE ist in Tabelle A4 im Anhang zu sehen.

Im Folgenden sind die statistisch signifikanten Ergebnisse nach Genlokus geordnet dargestellt. Das erste der untersuchten Gene ist das FBN1-Gen. Wie im Vorhergehenden dargestellt, ist dieses Gen in der Literatur mit dem thorakalen Aortenaneurysma assoziiert (90). Bei mehreren der in dieser Arbeit untersuchten SNPs im Bereich des FBN1-Gens zeigen sich statistisch signifikante Werte, diese werden im Nachfolgenden genauer erläutert.

#### **4.1.2 rs1036477**

Bei der Analyse der Genotypenverteilung des SNPs rs1036477 zeigt sich bei keiner der Auswertungen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Fall- und Kontrollgruppen. Eine Abweichung vom HWE wird ebenfalls nicht beobachtet, wie die Tabelle A4 im Anhang zeigt.

Bei der Auswertung aller Fälle und aller Kontrollen bzw. GoKard-Kontrollen ergibt sich im dominanten Modell ein signifikanter p-Wert von 0,046 (OR=1,315; 95% CI, 1,005-1,818) bzw. 0,026 (OR=1,435; 95% CI, 1,043- 1,975), was für einen dominanten Effekt des seltenen Allels G spricht. Im Cochran-Armitage Trend Test zeigt sich in der Auswertung aller Fälle und Kontrollen ein knapp nicht-signifikanter p-Wert von 0,059, in der Auswertung aller Fälle und GoKard-Kontrollen ein signifikanter p-Wert von 0,035.

Die Frequenz des vermuteten Risikoallels G ist in der Fallgruppe mit 0,12 höher als in den Kontrollgruppen, wo die Frequenz 0,10 (alle Kontrollen) und 0,09 (GoKard-Kontrollen) beträgt, wobei der Unterschied zwischen gesamter Fall- und Kontrollgruppe knapp nicht-signifikant ist. Passend zu einem dominanten Effekt dieses Allels sind die Genotypen GG und AG in der Fallgruppe häufiger vorhanden (1,79 und 21,43%) als in den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 1,48 und 16,81%; GoKard-Kontrollen: 1,41 und 15,98%). Diese Unterschiede sind

jedoch nicht signifikant. Die absolute Anzahl des homozygoten Genotyps GG ist in dieser Auswertung in der Fall- (n=6) und den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: n=16; GoKard-Kontrollen: n=10) allerdings gering, wodurch die Aussagekraft einschränkt ist.

Die Auswertung der HIFAM-Fall- und GoKard-Kontrollgruppe zeigt keine statistisch signifikanten Ergebnisse, wie in Tabelle A3 im Anhang dargestellt.

**Tabelle 5:** Statistische Auswertung aller Fälle und Kontrollen bzw. GoKard-Kontrollen des SNPs 1036477 auf FNB1 (vgl. Tabelle A1 und A2 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)				
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test	
Alle Fälle u. Kontrollen	fG	0,12	0,10		p=0,053	<b>p=0,046</b>	p=0,689	p=0,059
	AA	258 (76,79)	885 (81,72)	0,136	OR=1,303 (0,996-1,705)	OR=1,351 (1,005-1,818)	OR=0,825 (0,320-2,125)	
	AG	72 (21,43)	182 (16,81)					
	GG	6 (1,79)	16 (1,48)					
Alle Fälle, GoKard-Kontrollen	fG	0,12	0,09					
AA	258 (76,79)	584 (82,60)	0,083	OR=1,376 (1,029-1,839)	OR=1,435 (1,043-1,975)	OR=0,789 (0,283-2,190)		
AG	72 (21,43)	113 (15,98)						
GG	6 (1,79)	10 (1,41)						

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

#### 4.1.3 rs2118181

Für rs2118181 zeigt sich in keiner der Auswertungen ein signifikanter Unterschied in der Genotypenverteilung der Fall- und Kontrollgruppen. Auch zeigt sich keine Abweichung vom HWE.

In der Auswertung aller Fälle und aller Kontrollen sowie der GoKard-Kontrollgruppe ergibt sich im dominanten Modell ein statistisch signifikanter p-Wert von 0,041 (OR=1,361; 95% CI, 1,012-1,831) und 0,022 (OR=1,452; 95% CI, 1,055- 1,999), was auf einen dominanten Effekt der seltenen Allels C hinweist. Der Cochran-Armitage Trend Test ergibt für alle Fälle und Kontrollen einen knapp nicht-signifikanten p-Wert von 0,532, für alle Fälle und GoKard-Kontrollen einen signifikanten Wert von 0,030.

Die Allelfrequenz des seltenen Allels ist in der Fallgruppe (0,12) signifikant höher als in den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 0,10; GoKard-Kontrollen: 0,09). Wie bei einem dominanten Effekt dieses Allels zu erwarten, sind die Genotypen CC und TC in der Fallgruppe jeweils häufiger vertreten (1,79 und 21,43%) als in den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 1,48 und

16,70%; GoKard-Kontrollen: 1,41 und 15,82%). Die Unterschiede in der Genotypenverteilung sind jedoch nicht signifikant. Die Aussagekraft wird durch die niedrige absolute Zahl insbesondere des homozygoten Genotyps CC mit n=6 in der Fall- und n=16 bzw. 10 in den Kontrollgruppen verringert.

Auch für rs2118181 zeigt sich keine statistische Signifikanz in der Auswertung der HIFAM-Fall- und GoKard-Kontrollgruppe.

**Tabelle 6:** Statistische Auswertung aller Fälle und Kontrollen bzw. GoKard-Kontrollen des SNPs 2118181 auf FNB1 (vgl. Tabelle A1 und A2 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)				
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test	
Alle Fälle u. Kontrollen	fC	0,12	0,10	0,123	p=0,048 OR=1,311 (1,002-1,716)	p=0,041 OR=1,361 (1,012-1,831)	p=0,688 OR=0,824 (0,320-2,123)	p=0,053
	TT	258 (76,79)	887 (81,83)					
	TC	72 (21,43)	181 (16,70)					
	CC	6 (1,79)	16 (1,48)					
Alle Fälle, GoKard-Kontrollen	fC	0,12	0,09	0,071	p=0,026 OR=1,390 (1,039-1,858)	p=0,022 OR=1,452 (1,055-1,999)	p=0,646 OR=0,788 (0,284-2,186)	p=0,030
	TT	258 (76,79)	586 (82,77)					
	TC	72 (21,43)	112 (15,82)					
	CC	6 (1,79)	10 (1,41)					

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

#### 4.1.4 rs625034

Bei der Betrachtung der Genotypenverteilung des SNPs rs625034 zeigt sich ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich aller Fälle sowohl mit der gesamten, als auch mit der GoKard-Kontrollgruppe.

In den Assoziationstestungen in diesen Gruppen werden im dominanten Modell statistisch signifikante Werte erreicht. In der Auswertung aller Fälle und Kontrollen zeigt sich ein p-Wert von 0,037 (OR=1,382; 95% CI, 1,019- 1,873), beim Vergleich der gesamten Fall- mit der GoKard-Kontrollgruppe ein Wert von 0,017 (OR=1,490; 95% CI, 1,072- 2,071). Somit ist ein Effekt der Genotypen TC und CC zu erwarten. Im Cochran-Armitage Trend Test kann dieser Effekt nicht eindeutig nachvollzogen werden, es zeigen sich nicht-signifikante Werte (p=0,115 bzw. p=0,056).

Bei Betrachtung der Allelfrequenzen zeigt sich, dass das seltene Allel C mit einer Frequenz von 0,11 jeweils signifikant häufiger in der gesamten Fall- als in den Kontrollgruppen vertreten ist, wo die Frequenz 0,09 (alle Kontrollen) bzw. 0,08 (GoKard-Kontrollen) beträgt. Die

Genotypenverteilung der Fall- und Kontrollgruppen unterscheidet sich signifikant ( $p=0,017$  bzw.  $p=0,010$ ). Der heterozygote Genotyp TC ist in der Fallgruppe häufiger vorhanden (21,43%) als in den beiden Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 15,53%; GoKard-Kontrollen: 14,57%;  $p=0,017$ ). Anders als bei einem dominanten Effekt des Allels C zu erwarten, ist der homozygote Genotyp CC dagegen häufiger in den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 1,2%; GoKard-Kontrollen: 1,13%) als in der Fallgruppe (0,3%) zu finden. Einschränkend ist die niedrige Anzahl dieses Genotyps insbesondere in der Fallgruppe zu nennen, wodurch Trennschärfe und Aussagekraft vermindert sein können. In der Fallgruppe ist der Genotyp CC nur einmal, der gesamten Kontrollgruppe 13-mal und in der GoKard-Kontrollgruppe 8-mal vertreten.

Zu erwähnen ist auch eine grenzwertig signifikante Abweichung vom HWE ( $p=0,047$ ) bei der Berechnung mittels Likelihood ratio in der Gruppe aller Fälle. Diese kann in den anderen verwendeten  $\chi^2$ -Tests nicht nachvollzogen werden, wie in Tabelle A4 im Anhang dargestellt.

In der Auswertung der HIFAM-Fall- und GoKard-Kontrollgruppe ergeben sich keine statistisch signifikanten Werte.

**Tabelle 7:** Statistische Auswertung aller Fälle und Kontrollen bzw. GoKard-Kontrollen des SNPs 625034 auf FNB1 (vgl. Tabelle A1 und A2 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltene Allel)				
		Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test
Alle Fälle u. Kontrollen	fC	0,11	0,09		$p=0,113$	<b><math>p=0,037</math></b>	$p=0,143$	$p=0,115$
	TT	263 (78,27)	901 (83,27)		OR=1,257	OR=1,382	OR=4,073	
	TC	72 (21,43)	168 (15,53)		(0,947-1,668)	(1,019-1,873)	(0,531-31,257)	
	CC	1 (0,30)	13 (1,2)	<b>0,017</b>				
Alle Fälle, GoKard-Kontrollen	fC	0,11	0,08		$p=0,056$	<b><math>p=0,017</math></b>	$p=0,174$	$p=0,056$
	TT	263 (78,27)	596 (84,30)		OR=1,347	OR=1,490	OR=3,834	
	TC	72 (21,43)	103 (14,57)		(0,992-1,829)	(1,072-2,071)	(0,478-30,780)	
	CC	1 (0,30)	8 (1,13)	<b>0,010</b>				

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

#### 4.1.5 rs1036476

Der SNP rs1036476 zeigt statistisch signifikante Werte sowohl in der Auswertung aller Fälle und Kontrollen, als auch im Vergleich der gesamten Fall- mit der GoKard-Kontrollgruppe.

In den Assoziationstests erreichen die p-Werte von rs1036476 im dominanten Modell jeweils einen statistisch signifikanten Wert, was einen Effekt der Genotypen TC und CC erwarten lässt. Bei der Auswertung aller Fälle und Kontrollen ergibt sich ein p-Wert von 0,033 (OR=1,392; 95% CI, 1,027- 1,888), im Vergleich der gesamten Fall- mit der GoKard-Kontrollgruppe ein Wert von 0,014 (OR=1,506; 95% CI, 1,084- 2,094). Im Cochran-Armitage Trend Test kann der vermutete Effekt in der Auswertung aller Fälle und Kontrollen allerdings nicht nachvollzogen werden, hier zeigt sich ein nicht-signifikanter p-Wert von 0,151. In der Auswertung aller Fälle und GoKard-Kontrollen ergibt sich ein knapp signifikanter Wert von 0,049.

Bei Betrachtung der Allelfrequenzen zeigt sich, dass die Frequenz des seltenen Allels C in der gesamten Fallgruppe mit 0,11 höher ist als in den Kontrollgruppen mit Allelfrequenzen von 0,09 (gesamte Kontrollgruppe) und 0,08 (GoKard-Kontrollgruppe), wobei nur der Unterschied zwischen Fallgruppe und GoKard-Kontrollgruppe statistisch signifikant ist.

Die Genotypenverteilung zeigt einen signifikanten Unterscheid zwischen der Fall- und beiden Kontrollgruppen. Der heterozygote Genotyp TC ist in der Fallgruppe häufiger vertreten (21,43%) als in den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 15,42%; GoKard-Kontrollen: 14,43%). Der homozygote Genotyp des seltenen Allels C ist jedoch, anders als bei einem dominanten Effekt dieses Allels zu erwarten, in den Kontrollgruppen häufiger zu finden (alle Kontrollen: 1,2%; GoKard-Kontrollen: 1,13%; alle Fälle: 0,3%). Die absolute Anzahl des Genotyps CC ist insbesondere in der Fallgruppe allerdings sehr gering (n=1), was die Aussagekraft einschränkt. In der gesamten Kontrollgruppe ist dieser Genotyp 13-mal, innerhalb der GoKard-Kontrollgruppe 8-mal zu finden.

**Tabelle 8:** Statistische Auswertung aller Fälle und Kontrollen bzw. GoKard-Kontrollen des SNPs 1036476 auf FNB1 (vgl. Tabelle A1 und A2 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)			
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test
Alle Fälle u. Kontrollen	fC	0,11	0,09	p=0,103	<b>p=0,033</b>	p=0,144	p=0,105
	TT	263 (78,72)	903 (83,38)	<b>0,015</b>	OR=1,265 (0,953-1,679)	OR=1,392 (1,027-1,888)	
	TC	72 (21,43)	167 (15,42)				
	CC	1 (0,30)	13 (1,2)				
fC	0,11	0,08	p=0,049				<b>p=0,014</b>
Alle Fälle, GoKard-Kontrollen	TT	263 (78,27)	597 (84,44)	<b>0,008</b>	OR=1,395 (1,000-1,846)	OR=1,506 (1,084-2,094)	OR=3,83 (0,478-30,780)
	TC	72 (21,43)	102 (14,43)				
	CC	1 (0,30)	8 (1,13)				
	fC	0,11	0,08				

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

Bei der Berechnung mittels Likelihood ratio fällt in der Gruppe aller Fälle eine grenzwertig signifikante Abweichung vom HWE ( $p=0,047$ ) auf, welche in den anderen verwendeten  $\text{Chi}^2$ -Tests nicht bestätigt werden kann.

In der Auswertung der HIFAM-Fall- und GoKard-Kontrollgruppe ergibt sich keine Signifikanz.

## **4.2 TGFBR 1 und 2**

### **4.2.1 Überblick**

Die untersuchten SNPs im Bereich der für die Rezeptoren des TGF $\beta$ -Signalwegs kodierenden Gene werden in der Literatur mit dem abdominalen Aortenaneurysma in Verbindung gebracht (104). In der Auswertung zeigen sich signifikante Werte sowohl für rs1626340 im Bereich von TGFBR1, als auch für rs4522809 im Bereich von TGFBR2.

### **4.2.2 rs1626340**

Bei der Betrachtung der Genotypenverteilung zeigt sich in keiner der Auswertungen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Fall- und Kontrollgruppen.

In der Assoziationstestung der Auswertung von HIFAM-Fall- und GoKard-Kontrollgruppe zeigt sich ein statistisch signifikanter p-Wert von 0,039 im dominanten Modell (OR=1,390; 95% CI, 1,016- 1,903). Somit wäre ein dominanter Effekt des seltenen Allels A zu erwarten. Dieser Effekt kann im Cochran-Armitage Trend Test nicht bestätigt werden, hier ergibt sich ein nicht-signifikanter p-Wert von 0,18710.

Die Allelfrequenz des seltenen Allels A ist in der HIFAM-Fallgruppe nicht-signifikant höher als in der GoKard-Kontrollgruppe (0,23 bzw. 0,20). Wie bereits erwähnt ist in der Genotypenverteilung dieser Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied zu verzeichnen ( $p=0,3422$ ). Bei genauerer Betrachtung zeigt sich, dass der heterozygote Genotyp GA in der HIFAM-Fallgruppe zwar häufiger vorhanden ist (HIFAM-Fälle: 35,79%; GoKard-Kontrollen: 31,5%). Anders als bei einem dominanten Effekt zu erwarten, ist der homozygote Genotyp AA aber in der Kontrollgruppe häufiger zu finden (HIFAM-Fälle: 2,63%,  $n=5$ ; GoKard-Kontrollen: 4,38%,  $n=31$ ).

Zu erwähnen ist auch eine signifikante Abweichung der Genotypenverteilung vom HWE in der HIFAM-Fallgruppe, wie in der Tabelle A4 im Anhang dargestellt ist. Die Abweichung fällt in allen verwendeten  $\text{Chi}^2$ -Tests auf und erschwert die Interpretation zusätzlich.



Für die Gruppe aller Fälle und die Kontrollgruppen ist keine Abweichung vom HWE zu finden, auch zeigen sich in den anderen Auswertungen keine statistisch signifikanten Ergebnisse.

**Tabelle 9:** Statistische Auswertung von HIFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen des SNPs 1626340 auf TGFBR1 (vgl. Tabelle A3 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)			
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test
HIFAM-Fälle, GoKard-Kontrollen	fA	0,23	0,20	p=0,192	<b>p=0,039</b>	p=0,198	p=0,187
	GG	117 (61,58)	454 (64,12)	0,342	OR=1,191 (0,916-1,548)	OR=1,390 (1,016-1,903)	OR=1,859 (0,714-4,843)
	GA	68 (35,79)	223 (31,50)				
	AA	5 (2,63)	31 (4,38)				

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

#### 4.2.3 rs4522809

Für den SNP rs4522809 ist in keiner der Auswertungen ein statistisch signifikanter Unterschied in der Genotypenverteilung der Fall- und Kontrollgruppen oder eine Abweichung vom HWE zu beobachten.

In der Auswertung der gesamten Fall- und Kontrollgruppe sowie der GoKard-Kontrollen ergeben sich signifikante Werte in der Assoziationstestung. In der Auswertung aller Fälle und Kontrollen zeigt sich im dominanten Modell ein p-Wert von 0,034 sowie ein Wert von 0,045 im Cochran-Armitage Trend Test. In der Auswertung der gesamten Fall- und GoKard-Kontrollgruppe ergibt sich im dominanten Modell ein Wert von 0,029, im Cochran-Armitage Test wird ein p-Wert von 0,030 erreicht. Es ist also ein Effekt für die Genotypen GG und AG zu erwarten.

Bemerkenswert ist, dass die  $OR < 1$  des dominanten Modells sowohl in der Auswertung aller Fälle und Kontrollen ( $OR = 0,753$ ; 95% CI, 0,579- 0,979), als auch aller Fälle und GoKard-Kontrollen ( $OR = 0,732$ ; 95% CI, 0,553- 0,970) eine negative Assoziation anzeigt, was entgegen der eigentlichen Erwartung für einen protektiven Effekt des seltenen Allels G sprechen würde. Zu einem protektiven Effekt passend wäre auch, dass die Frequenz des seltenen Allels G in der gesamten Fallgruppe (0,42) niedriger ist als in den Kontrollgruppen (alle Kontrollen: 0,46; GoKard-Kontrollen: 0,47). Der homozygote Genotyp GG ist in der gesamten Fallgruppe mit 17,91% seltener vertreten als in den Kontrollgruppen (gesamte Kontrollgruppe: 20,59%, GoKard-Kontrollgruppe: 21,36%). Ebenso ist der heterozygote Genotyp AG in der gesamten Fallgruppe mit 48,36% seltener vorhanden als in der gesamten Kontrollgruppe (51,71%) und

der GoKard-Kontrollgruppe (51,49%). Die Unterschiede in Allelfrequenz und Genotypenverteilung sind jedoch nicht signifikant.

In der Auswertung der HIFAM-Fallgruppe und GoKard-Kontrollgruppe ergibt sich für den SNP rs4522809 keine Signifikanz, wie in Tabelle A3 im Anhang zu sehen.

**Tabelle 10:** Statistische Auswertung aller Fälle und Kontrollen bzw. GoKard-Kontrollen des SNPs 4522809 auf TGFB2 (vgl. Tabelle A1 und A2 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)				
	Fälle	Kontrollen	p- Wert* (Pear- son)	Unter- schied Allel- frequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test	
Alle Fälle u. Kontrollen	fG	0,42	0,46		<b>p=0,048</b>	<b>p=0,034</b>	p=0,283	<b>p=0,045</b>
	AA	113 (33,73)	300 (27,70)	0,096	OR=0,838 (0,703- 0,998)	OR=0,753 (0,579- 0,979)	OR=1,188 (0,867- 1,630)	
	AG	162 (48,36)	560 (51,71)					
	GG	60 (17,91)	223 (20,59)					
Alle Fälle, GoKard- Kontrollen	fG	0,42	0,47					
AA	113 (33,73)	192 (27,16)	0,077	OR=0,817 (0,678- 0,983)	OR=0,732 (0,553- 0,970)	OR=1,245 (0,893- 1,735)		
AG	162 (48,36)	364 (51,49)						
GG	60 (17,91)	151 (21,36)						

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

### 4.3 LRP1 (rs1466535)

Für rs1466535 konnte in der Vergangenheit eine Assoziation mit dem abdominalen Aortenaneurysma gezeigt werden. Der SNP befindet sich in einem Intron des für LRP1, einem Membranrezeptor der LDL-Familie, kodierenden Gens. (126)

In unserer Auswertung ergeben sich für rs1466535 statistisch signifikante Werte bei der Testung der gesamten Fall- und Kontrollgruppe.

Die Allelfrequenz des seltenen Allels A ist in der Fallgruppe nur leicht höher als in der Kontrollgruppe (0,35 bzw. 0,34), der Unterschied ist nicht statistisch signifikant. Bei Betrachtung der Genotypenverteilung aber zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (p=0,037). Der heterozygote Genotyp GA ist in der Fallgruppe häufiger vorhanden (52,08% bzw. 44,32%), jedoch ist der homozygote Genotyp des seltenen Allels A in der Kontrollgruppe (11,63%, n=126) häufiger zu finden als in der Fallgruppe (8,93%, n=30). In den Assoziationstestungen ergeben sich keine statistisch signifikanten Werte, auch im Armitage-Trend Test lässt sich ein Effekt des seltenen Allels A nicht nachweisen (p=0,56907).

Einschränkend ist anzumerken, dass die Genotypenverteilung in der Fallgruppe signifikant vom HWE abweicht, wie in Tabelle A4 im Anhang dargestellt.

In der Auswertung der GoKard-Kontrollen und der gesamten sowie der HIFAM-Fallgruppe zeigen sich keine signifikanten Ergebnisse, wie in den Tabellen A2 und A3 im Anhang zu sehen ist.

**Tabelle 11:** Statistische Auswertung aller Fälle und Kontrollen des SNPs 1466535 auf LRP1 (vgl. Tabelle A1 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)				
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test	
Alle Fälle u. Kontrollen	fA	0,35	0,34		p=0,574	p=0,102	p=0,166	p=0,569
	GG	131 (38,99)	477 (44,04)		OR=1,053	OR=1,232	OR=1,343	
	GA	175 (52,08)	480 (44,32)		(0,878-1,264)	(0,959-1,581)	(0,884-2,041)	
	AA	30 (8,93)	126 (11,63)	0,037				

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

#### 4.4 AGTR1 (rs5186)

Bei rs5186 handelt es sich um einen Polymorphismus im Bereich des AGTR1-Gens, welcher mit dem abdominalen Aortenaneurysma assoziiert wird (112).

In der Auswertung von HIFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen fällt für diesen SNP ein signifikanter Wert im rezessiven Modell auf ( $p=0,04237$ ;  $OR=0,581$ ; 95% CI, 0,342- 0,987), was für einen Effekt des seltenen Allels C sprechen würde. Im Cochran-Armitage Trend Test lässt sich dieser Effekt jedoch nicht nachvollziehen ( $p=0,19867$ ).

Anzumerken ist, dass die  $OR < 1$  des rezessiven Modells eine negative Assoziation angibt, was entgegen der eigentlichen Erwartung für einen protektiven Effekt des seltenen Allels C sprechen würde.

Bei der Betrachtung der Allelfrequenzen zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Entgegen der zu erwartenden Verteilung im Falle eines protektiven Effekts ist der homozygote Genotyp des seltenen Allels C in der Fallgruppe häufiger (11,58%,  $n=22$ ) vertreten als in der Kontrollgruppe (7,07%,  $n=50$ ). Die beiden anderen Genotypen AA und AC sind jeweils in der Kontrollgruppe geringfügig häufiger zu finden, wobei die Unterschiede in der Genotypenverteilung nicht signifikant sind.

**Tabelle 12:** Statistische Auswertung von HIFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen des SNPs 5186 auf AGTR1 (vgl. Tabelle A3 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltene Allel)			
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test
HIFAM-Fälle,	fC	0,30	0,26		p=0,191	p=0,588	p=0,199
GoKard-Kontrollen	AA	99 (52,11)	384 (54,3)		OR=1,181	OR=1,093	
	AC	69 (36,32)	273 (38,61)		(0,920-	(0,793-	OR=0,581
	CC	22 (11,58)	50 (7,079)	0,127	1,516)	1,506)	(0,342-0,987)

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

Wie in den Tabellen A1 und A2 im Anhang zu sehen, ergeben sich in den Auswertungen aller Fälle und aller Kontrollen sowie GoKard-Kontrollen keine signifikanten Ergebnisse.

#### 4.5 MTHFR (rs1801133)

Der SNP rs1801133 ist im Bereich des MTHFR-Gens lokalisiert, welches mit dem abdominalen Aortenaneurysma in Verbindung gebracht wird (119).

In der Auswertung der HIFAM-Fälle und GoKard-Kontrollen fällt ein statistisch signifikanter p-Wert von 0,032 im rezessiven Modell auf (OR=1,817; 95% CI, 1,045-3,160), was einen Effekt des homozygoten Genotyps AA erwarten lässt. Der Cochran-Armitage Trend Test ergibt einen knapp nicht-signifikanten p-Wert von 0,05106.

Anders als bei einem Effekt des potenziellen Risikoallels A zu erwarten, ist die Frequenz dieses Allels in der Kontrollgruppe mit 0,36 höher als in der Fallgruppe, wo die Allelfrequenz 0,31 beträgt. Bei der Genotypenverteilung zeigt sich weder eine Abweichung vom HWE, noch ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Fall- und Kontrollgruppe. Bei genauerer Betrachtung fällt auf, dass der homozygote Genotyp des potenziellen Risikoallels A ebenfalls, anders als bei einem rezessiven Effekt zu erwarten, in der Kontrollgruppe (14,39%, n=102) nicht-signifikant häufiger vorhanden ist als in der Fallgruppe (8,47%, n= 16).

Wie in den Tabellen A1 und A2 im Anhang dargestellt, ergibt sich in den Auswertungen aller Fälle und aller Kontrollen sowie GoKard-Kontrollen keine Signifikanz.

**Tabelle 13:** Statistische Auswertung von HIFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen des SNPs 1801133 auf MTHFR (vgl. Tabelle A3 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltenes Allel)			
	Fälle	Kontrollen	p-Wert* (Pearson)	Unterschied Allelfrequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test
HIFAM-Fälle,	fA	0,31	0,36		p=0,212	p=0,032	p=0,051
GoKard-Kontrollen	GG	89 (47,09)	298 (42,03)	0,087	OR=0,781 (0,612-0,997)	OR=0,815 (0,590-1,124)	OR=1,817 (1,045-3,160)
	GA	84 (44,44)	309 (43,58)				
	AA	16 (8,47)	102 (14,39)				

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

#### 4.6 MMP-9 (rs2274755)

Polymorphismen in den für MMP-2 und -9 kodierenden Genen werden mit der BAV und Komplikationen im Bereich der Aorta ascendens in Verbindung gebracht (69).

Für den SNP rs2274755, welcher im Bereich von MMP-9 lokalisiert ist, zeigt sich in der Auswertung der HIFAM-Fälle und GoKard-Kontrollen ein knapp statistisch signifikanter p-Wert von 0,04998 im Cochran-Armitage Trend Test. Der vermutete Effekt des seltenen Allels T kann jedoch weder im dominanten, noch im rezessiven Modell eindeutig nachvollzogen werden. Im rezessiven Modell ergibt sich ein nicht-signifikanter p-Wert von 0,220. Im dominanten Modell zeigt sich ein knapp nicht-signifikanter p-Wert von 0,071. Die  $OR < 1$  ( $OR = 0,706$ ; 95% CI, 0,483- 1,032) des dominanten Modells würde allerdings nicht wie zu erwarten wäre auf eine positive Assoziation, sondern auf einen protektiven Effekt der Genotypen TT und GT hinweisen.

In der Genotypenverteilung zeigen sich keine Abweichungen vom HWE und keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe. Bei genauerer Betrachtung zeigt sich, dass die Frequenz des Allels T, passend zu einem möglichen protektiven Effekt, in der Kontrollgruppe signifikant höher ist als in der Fallgruppe (0,16 und 0,12). Die Genotypen TT und GT sind in der GoKard-Kontrollgruppe nicht-signifikant häufiger (2,54 und 26,27%) vorhanden sind als in der HIFAM-Fallgruppe (1,06 und 21,26%), was ebenfalls zu einem protektiven dominanten Effekt des Allels T passen würde.

Allerdings sind die Fallzahlen gering und die Anzahl insbesondere an homozygoten Genotypen des seltenen Allels T niedrig (HIFAM-Fälle: 1,06%, n=2; GoKard-Kontrollen: 2,54%, n=18). Das Konfidenzintervall des dominanten Modells, welches 1 miteinschließt, macht einen tatsächlichen Effekt weiter unwahrscheinlich.

**Tabelle 14:** Statistische Auswertung von HIFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen des SNPs 2274755 auf MMP-9 (vgl. Tabelle A3 im Anhang)

Auswertung	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltene Allel)				
	Fälle	Kontrollen	p- Wert* (Pear- son)	Unter- schied Allel- frequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armitage Trend Test	
HIFAM- Fälle,	fT	0,12	0,16		p=0,050	p=0,071	p=0,220	p= 0,050
GoKard- Kontrollen	GG	147 (77,78)	504 (71,19)		OR=0,709	OR=0,706	OR=2,439	
	GT	40 (21,26)	186 (26,27)		(0,502-	(0,483-	(0,561-	
	TT	2 (1,06)	18 (2,54)	0,142	1,001)	1,032)	10,606)	

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe

In den Auswertungen aller Fälle und aller Kontrollen sowie GoKard-Kontrollen ergeben sich keine signifikanten Werte, wie in den Tabellen A1 und A2 im Anhang zu sehen.

## **5. Diskussion**

### **5.1 Darstellung der aktuellen Datenlage**

#### **5.1.1 Assoziation von bikuspider Aortenklappe, Koronarektasie und Aortendilatation**

In einer im Jahr 2016 von unserer Arbeitsgruppe veröffentlichten Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass die bikuspidale Aortenklappe mit dem Vorhandensein von Koronarektasien assoziiert ist (5). Patienten mit BAV waren hier etwa doppelt so oft betroffen wie Patienten mit trikuspidaler Aortenklappe. Eine Ektasie der Aorta ascendens wurde in dieser Studienkohorte bei BAV etwa viermal so häufig gefunden wie bei Trikuspidie. Letzteres deckt sich mit Ergebnissen früherer Studien, die ebenfalls ein gehäuftes Auftreten von Pathologien der Aorta ascendens bei Patienten mit BAV beobachten konnten (39, 138). In einigen Studien konnte zudem ein gehäuftes Vorkommen von CAE bei Patienten mit Aneurysmata der Aorta ascendens und abdominalis gezeigt werden (139, 140). Allerdings wurde bei diesen Studien die Klappenmorphologie nicht berücksichtigt. Ein Zusammenhang zwischen einer Dilatation der Aorta ascendens und Koronarektasien unabhängig von der Morphologie der Aortenklappe wurde in der von unserer Arbeitsgruppe untersuchten Studienkohorte nicht bestätigt. Zwar wiesen Patienten mit BAV und CAE gehäuft Dilatationen der Aorta ascendens auf, dies war allerdings auch bei Patienten mit BAV ohne CAE der Fall (5).

Daher stellt sich die Frage, ob eine Assoziation zwischen Aortenaneurysmata und Koronarektasien auch unabhängig von der Aortenklappenmorphologie besteht und auf welcher Ursache der Zusammenhang zwischen bikuspidaler Aortenklappe und den beiden Gefäßveränderungen beruht.

#### **5.1.2 Nicht-genetische und genetische Ursachen als kausaler Faktor des vermehrten gemeinsamen Auftretens**

Sowohl für die Entwicklung des AAA, als auch für CAE gilt die Atherosklerose als maßgeblicher Faktor (8, 43). Die gefundene Assoziation zwischen ektatischen Veränderungen der Koronararterien und dem AAA (140) könnte auf diese gemeinsame Entstehungsursache zurückzuführen sein.

Auch müssen hämodynamische Ursachen als mögliche Verbindung zwischen den Pathologien berücksichtigt werden. Hope et al. fanden Veränderungen des Blutflusses in der Aorta ascendens bei Patienten mit BAV (141). Diese Flussveränderungen waren unabhängig von Aortendilatation oder Klappenstenose, jedoch wurde abhängig vom Fusionstyp der bikuspiden Klappe ein unterschiedliche Strömungsmuster beobachtet. Bissell et al. konnten eine

Assoziation zwischen dem Fusionstyp, dem Schweregrad der Blutfluss-Veränderung und dem Durchmesser der Aorta ascendens zeigen: eine Fusion der rechtskoronaren mit der akoronaren Tasche und ein gleichzeitig vorhandener rechtsgerichteter Fluss waren mit höhergradigen Fluss-Abnormalitäten und einem größerem Aortendurchmesser assoziiert (142). Auch wurden bei Vorliegen einer Bikuspidie im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte, auf die Aorta ascendens wirkende, systolische Wandschubspannungen gemessen. Bei Patienten mit BAV und normalem Flussmuster waren aortale Durchmesser und gemessene Wandschubspannung dagegen vergleichbar zur Kontrollgruppe mit trikuspidaler Aortenklappe. Dies legt nahe, dass ein Aneurysma der Aorta ascendens hämodynamisch durch den veränderten Blutfluss, der durch die bikuspidale Aortenklappe entsteht, verursacht werden könnte.

Schubspannungen werden als wichtiger Faktor für die Entstehung von Thromben angesehen, Bedeutung wird ihnen auch in der Genese und der Aggravation von Atherosklerose zugeschrieben (143). Insofern wäre denkbar, dass durch die enge anatomische Beziehung eine hämodynamische Veränderung des Blutflusses über der BAV nicht nur die Dilatation der Aorta ascendens, sondern auch der Koronargefäße bedingen könnte.

Insbesondere auch durch Überschneidungen in Embryo- und Pathogenese erscheint allerdings auch ein genetischer Zusammenhang zwischen Aortenaneurysmata, Koronarektasien und bikuspidaler Aortenklappe durchaus möglich.

Es ist bekannt, dass das Vorliegen einer Bikuspidie Auswirkungen auf die Anatomie der Koronararterien haben kann, was eine gemeinsame Entstehungsursache vermuten lässt. So finden sich bei BAV gehäuft eine Verkürzung oder Dominanz der linken Koronararterie (144). Für einen genetischen Hintergrund bei der Entstehung von Koronarektasien spricht das gehäufte Vorkommen bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie (145) und die Auswirkung unterschiedlicher HLA II-Typen auf das Entstehungsrisiko. So wurden HLA-DR B1\*13, DR16, DQ2 und DQ5 in einer kleineren türkischen Studie signifikant häufiger bei Patienten mit CAE gefunden (146). Der Einfluss der genetischen Komponente konnte bereits im Jahr 2005 durch Fischer et al. in einer retrospektiven Familienstudie gezeigt werden. Hier zeigte sich eine Heritabilität von 52% in Bezug auf ektatische Läsionen auf dem Boden einer KHK (19).

Darüber hinaus bestehen einige weitere enge pathogenetische Zusammenhänge zwischen den Pathologien, die auf eine hereditäre Komponente hinweisen. Wie im Vorhergehenden erläutert, sind Polymorphismen in den für MMPs, eNOS, ACE und SMAD6 kodierenden Genen mit der BAV und einem begleitenden TAA assoziiert (69, 77). Der TGF $\beta$ -Signalweg und die BMP-



Signalkette sind sowohl in der Pathogenese der BAV als auch des TAA von Bedeutung (147, 148). Veränderungen im AGTR1-Gen, welches wie das ACE-Gen zum RAAS beiträgt, als auch in den Genen NOS3 und TGFBR werden mit dem AAA assoziiert (112, 108, 104).

Polymorphismen der für eNOS, ACE sowie für MMPs kodierende Gene scheinen wiederum auch bei der Entstehung der CAE von Bedeutung zu sein (50, 55, 53).

Bei den histopathologischen Merkmalen der Aortenwand zeigt das mit der BAV vergesellschaftete TAA Überschneidungen mit dem Marfan-Syndrom. Hierzu gehören neben einer erhöhten MMP- Expression die Mediadegeneration und eine verminderte Expression von Fibrillin-1 (149). Veränderungen der Media wiederum werden auch in der Pathogenese der CAE diskutiert (150). Eine Verbindung zwischen der Überexpression von MMP-9 und der Erweiterung von Koronargefäßen konnte in der Vergangenheit im Rattenmodell gezeigt werden (151).

Mehrere Argumente sprechen gegen die Alternative einer hämodynamischen Ursache und für einen genetisch bedingten Zusammenhang der Pathologien. So kann ein Klappenersatz die fortschreitende Dilatation der Aorta ascendens bei bikuspider Aortenklappe nicht aufhalten, im Gegensatz zur Dilatation bei vorliegender trikuspider Klappe (152). Wenn eine Aortendilatation primär durch die veränderte Hämodynamik bei bikuspider Aortenklappe hervorgerufen würde, wäre zudem mit einer Korrelation von Klappenfunktion und Ausmaß der Dilatation zu rechnen. Bei Patienten mit bikuspider Aortenklappe zeigen sich jedoch auch bei normaler Klappenfunktion signifikant größere Durchmesser der Aorta ascendens als bei Patienten mit trikuspider Klappe (153). Ein gemeinsamer genetischer Hintergrund erscheint daher wahrscheinlich.

## **5.2 Interpretation der Ergebnisse und Limitationen**

### **5.2.1 Allgemeine Betrachtung der Ergebnisse**

In dieser Arbeit wurden SNPs untersucht, für die eine Assoziation mit dem thorakalen oder abdominalen Aortenaneurysma oder der BAV bereits bekannt war. Diese SNPs wurden auf Signifikanz für Koronarektasien geprüft mit dem Ziel, einen genetischen Zusammenhang herzustellen.

Als Basis dienen das unselektierte Beobachtungsregister GoKard sowie das HIFAM-Register, welches Patienten mit auffälligen Familienanamnesen bezüglich Myokardinfarkten beinhaltet. Bei beiden Registern lagen Blutproben und Herzkatheteruntersuchungen bereits vor, der

Einschluss erfolgte retrospektiv. Die Berücksichtigung der Aortenklappenanatomie war daher nicht möglich, was eine der Limitationen dieser Studie darstellt.

Insgesamt wurden 337 Patienten mit Koronarektasien genotypisiert, wovon 191 aus dem HIFAM-Kollektiv stammten. 1085 Patienten ohne Koronarektasien dienten als Vergleichsgruppe, von diesen gehörten 376 dem HIFAM-Kollektiv an.

Wie im Vorhergehenden beschrieben, gestaltet sich der genetische Hintergrund von Aortenaneurysmata, BAV und CAE äußerst heterogen. Viele verschiedene Gene und Signalwege scheinen an der Pathogenese beteiligt zu sein. Es zeigen sich multiple Überschneidungen, wobei sich eine klare Abgrenzung und Einordnung schwierig gestaltet. Vor diesem Hintergrund erscheint es denkbar, dass eindeutige signifikante Werte für ein einzelnes Gen bzw. einen bestimmten Polymorphismus erst durch deutlich größere Fallzahlen erreicht werden können.

Auch ist das genaue Vererbungsmuster von Koronarektasien nicht hinlänglich bekannt. Beispielsweise müssen auch Erbgänge mit variabler Penetranz und eine multifaktorielle Genese in Betracht gezogen werden. So wäre es denkbar, dass bei vorliegenden Risikofaktoren, wie Atherosklerose, eine genetische Prädisposition die Ausbildung einer CAE zwar verstärken kann, aber nicht zwingend vorhanden sein muss.

Unter diesen Aspekt dürfen auch Familienregister nicht unkritisch betrachtet werden. Zwar kann ihr Einschluss insbesondere bei kleinen Fallzahlen die Untersuchung genetischer Hintergründe erleichtern. Jedoch dürfen mögliche Störfaktoren, unter Umständen auch verbunden mit dem Einschlusskriterium, nicht außer Acht gelassen werden. Hier ist insbesondere die Atherosklerose als mögliche Ursache einer CAE zu nennen (8), welche auch bei der hereditären Disposition für Myokardinfarkt eine Rolle spielt (19) und daher einen möglichen Bias in der HFAM-Fallgruppe darstellen könnte.

Insofern könnten zukünftig neben der Erhöhung der Fallzahlen unter Einbeziehung einer unselektierten Population auch Subgruppenanalysen mit Berücksichtigung von Risikofaktoren, Begleiterkrankungen und Aortenklappenanatomie sinnvoll sein. Prospektive Studiendesigns könnten das klinische Verständnis der Erkrankung und einer möglichen Beziehung zu verschiedenen Genotypen verbessern. Bei dieser Studie handelt es sich um eine retrospektive Untersuchung, eine Nachbeobachtung der Patienten wurde demnach nicht durchgeführt.

In unserer Untersuchung zeigten sich für insgesamt 10 der 22 untersuchten SNPs signifikante Werte: 4 der insgesamt 7 untersuchten SNPs auf FBN1, jeweils ein SNP auf TGFBR1 und 2, sowie der jeweils untersuchte SNP auf LRP1, AGTR1, MTHFR und MMP-9.

Keine signifikanten Werte erreichten die SNPs auf den Genen NOS3, MMP-2, ZNF385D, CDKN2B sowie CNTN3.

### **5.2.2 FBN1**

Für die SNPs rs1036477, rs2118181, rs689304 sowie rs1036476 ließen sich jeweils signifikante Werte beobachten.

Bei den ersten beiden SNPs zeigten sich in der Auswertung der gesamten Fall- und Kontrollgruppe sowie der GoKard-Kontrollen statistisch signifikante Werte im dominanten Modell. Wie bei einem dominanten Effekt des seltenen Allels zu erwarten, fand sich eine erhöhte Anzahl der heterozygoten sowie homozygoten Genotypen dieses Allels in der Fallgruppe. Die Frequenz des seltenen Allels war in der Fallgruppe jeweils höher als in den Kontrollgruppen, der Unterschied in der Genotypenverteilung erwies sich aber als nicht signifikant. Da bei beiden SNPs die insgesamt Anzahl insbesondere des homozygoten Genotyps in der Fall- und Kontrollgruppe gering war, kann die Trennschärfe und Aussagekraft eingeschränkt sein. Die zu geringe Fallzahl könnte auch ein Grund sein, warum sich in der Auswertung der HIFAM-Fälle und GoKard-Kontrollen keine signifikanten Ergebnisse gezeigt haben.

Bei den beiden anderen SNPs zeigten sich ebenfalls signifikante Werte in der Auswertung der gesamten Fall- und Kontrollgruppe sowie der GoKard-Kontrollen. Sowohl im dominanten Modell, als auch bei der Genotypenverteilung wurden signifikante Ergebnisse erreicht. Allerdings war jeweils nur der heterozygote Genotyp des seltenen Allels häufiger in der Fallgruppe zu finden, nicht aber der homozygote Genotyp, wie bei einem dominanten Effekt zu erwarten gewesen wäre. Wiederum war jedoch die Anzahl des homozygoten Genotyps zu gering, um ein valides Ergebnis zu ermöglichen. Einschränkend muss auch die grenzwertig signifikante Abweichung vom HWE beider SNPs bei der Berechnung mittels Likelihood ratio erwähnt werden, was die Interpretation zusätzlich erschwert.

Ein Effekt dieser SNPs kann insgesamt damit nicht bewiesen, aber auch nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

### **5.2.3 TGFBR 1 und 2**

Der im Bereich von TGFBR1 lokalisierte SNP rs1626340 zeigte ein signifikantes Ergebnis im dominanten Modell bei der Auswertung von HFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen. Anders als bei einem dominanten Effekt des seltenen Allels zu erwarten, war nur der heterozygote Genotyp in der Fallgruppe häufiger vorhanden, während der homozygote Genotyp des seltenen Allels in der Kontrollgruppe nicht-signifikant häufiger vorhanden war. Der nicht-signifikante Wert im Cochran-Armitage Trend Test sowie die signifikante Abweichung der Genotypenverteilung dieses SNPs vom HWE in der HFAM-Fallgruppe schränken das Ergebnis weiter ein, sodass ein Effekt hier insgesamt eher unwahrscheinlich erscheint.

Für rs4522809, welcher auf TGFBR2 lokalisiert ist, ließ sich ein signifikanter Wert im dominanten Modell aller Fälle und Kontrollen beobachten. Der heterozygote Genotyp sowie der homozygote Genotyp des seltenen Allels waren jeweils in der Fallgruppe jeweils nicht-signifikant seltener vorhanden als in der Kontrollgruppe, was zu dem von der  $OR < 1$  angezeigten protektiven Effekt passen würde. Da dieser SNP jedoch mit dem abdominalen Aortenaneurysma assoziiert ist und, wie im Vorhergehenden erläutert, eine Verbindung zur Pathogenese der CAE vermutet wird, ist ein tatsächlicher protektiver Effekt dieses Allels als eher unwahrscheinlich zu werten.

Als mögliche Ursachen für die genannten Ergebnisse sind zum einen eine verminderte Aussagekraft und Trennschärfe durch die relativ geringen Fallzahlen, wie auch ein möglicher nicht-kausaler Effekt zu nennen.

### **5.2.4 LRP1**

Für den im Bereich von LRP1 liegenden SNP rs1466535 ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Genotypenverteilung aller Fälle und Kontrollen. Der vermutete dominante Effekt konnte anhand der Genotypenverteilung jedoch nicht eindeutig nachvollzogen werden, da nur der heterozygote Genotyp, nicht aber der homozygote Genotyp des seltenen Allels häufiger in der Fallgruppe vorhanden war. Auch war die Anzahl des homozygoten Genotyps mit  $n=30$  und  $n=126$  in der Fall- bzw. Kontrollgruppe nicht eindeutig niedrig genug, um die Abweichung hinlänglich zu erklären. Des Weiteren schränkt die Abweichung vom HWE in der Genotypenverteilung der gesamten Fallgruppe die Interpretation der Ergebnisse für diesen SNP auch weiter ein, weshalb ein Effekt abschließend nicht bewiesen werden kann.

### **5.2.5 AGTR1**

In der Auswertung von HIFAM-Fällen und GoKard-Kontrollen des im Bereich dieses Gens lokalisierten SNPs rs5186 fiel ein statistisch signifikanter Wert im rezessiven Modell auf. Die  $OR < 1$  zeigte allerdings einen protektiven Effekt an, was in Anbetracht der Pathogenese und Verbindung dieses SNPs mit dem abdominalen Aortenaneurysma eher unwahrscheinlich erscheint. Zudem wäre im Falle eines protektiven Effekts mit einem geringeren Vorkommen des homozygoten Genotyps des seltenen Allels in der Fallgruppe zu rechnen. Dieser Genotyp war aber in der Fallgruppe häufiger vorhanden als in der Kontrollgruppe, wobei sich der Unterschied in der Genotypenverteilung einschränkend als nicht signifikant erwies.

Der nicht-signifikante Wert im Cochran-Armitage Trend Test macht einen tatsächlichen Effekt dieses SNPs weiter unwahrscheinlich.

### **5.2.6 MTHFR**

Der vermutete rezessive Effekt des seltenen Allels von rs1801133 konnte anhand der Genotypenverteilung in HIFAM-Fall und GoKard-Kontrollgruppe nicht nachvollzogen werden. Anders als bei einem rezessiven Effekt des Allels zu erwarten, war der homozygote Genotyp in der Fallgruppe sogar seltener vorhanden als in der Kontrollgruppe. Die Unterschiede in der Genotypenverteilung waren zwar nicht signifikant, die absolute Anzahl des homozygoten Genotyps des seltenen Allels scheint mit  $n=16$  und  $n=192$  in der Fall- und Kontrollgruppe als alleinige Erklärung für die Abweichung jedoch nicht gering genug. Das relativ weite Konfidenzintervall ( $CI= 1,045- 3,160$ ) und der knapp nicht-signifikante p-Wert im Cochran-Armitage Trend Test schränken die Aussagekraft der Assoziationstestung weiter ein, sodass ein Effekt dieses SNPs letztlich nicht nachgewiesen werden kann.

### **5.2.7 MMP-9**

Der im Bereich dieses Gens lokalisierte SNP rs2274755 zeigte in der Auswertung der HIFAM-Fälle und GoKard-Kontrollen einen signifikanten Wert lediglich im Cochran-Armitage Trend Test, nicht jedoch in der Assoziationstestung. Aufgrund des grenzwertig nicht-signifikanten p-Werts im dominanten Modell könnte ein dominanter Effekt des seltenen Allels vermutet werden, welcher aufgrund der geringen Fallzahlen nicht evident wurde. Das Konfidenzintervall, welches 1 miteinschließt, sowie die  $OR < 1$  schränken das Ergebnis jedoch weiter ein. Aufgrund der Assoziation mit BAV und TAA sowie den im Vorangehenden diskutierten Überschneidungen in der Pathogenese der CAE wäre zudem kein protektiver

Effekt, sondern eher eine positive Assoziation zu erwarten, was einen tatsächlichen Effekt letztendlich eher unwahrscheinlich erscheinen lässt.

### **5.3 Ausblick und Bedeutung für Klinik und Forschung**

Die Bedeutung von Koronarektasien für die klinische Praxis ist weiterhin nicht eindeutig definiert. Zwar wird die Prognose einer reinen, nicht-obstruktiven CAE als gut angesehen, dennoch sollte die Erkrankung aufgrund von erhöhten Raten an Myokardinfarkten und Angina pectoris auch ohne begleitende KHK beachtet werden (3, 150).

Eine mögliche Schwierigkeit im klinischen Alltag kann die Definition der Ektasie als das 1,5fache des angrenzenden gesunden Gefäßlumens sein, was unter Umständen zur Unterschätzung der Inzidenz führen kann (4). Zudem kann die Diagnose einer Ektasie bei diffuser obstruktiver KHK möglicherweise erschwert sein.

Die Erkenntnis des gemeinsamen Auftretens von BAV und CAE oder Aortenaneurysmata sollte das klinische Vorgehen dahingehend beeinflussen, dass bei Diagnosestellung von Koronarektasien im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung auch eine Abklärung hinsichtlich BAV und gegebenenfalls Aortenaneurysma erwogen werden sollte. Gleichfalls sollte das mögliche Vorliegen einer CAE bei Diagnosestellung einer BAV in Betracht gezogen werden und zu einer Sensibilisierung hinsichtlich Risikofaktoren und Symptomatik führen.

Das genauere Verständnis des genetischen Hintergrunds könnte den Umgang mit Koronarektasien im Hinblick auf Behandlungsstrategien und Prognose erleichtern. Dies sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Keiner der für diese Arbeit untersuchten SNPs war in den Auswertungen aller Fall- und Kontrollgruppen signifikant, und zum Teil zeigten sich inkonsistente Ergebnisse, die die Interpretation erschweren. Insbesondere für FBN1 ist jedoch eine Assoziation nicht auszuschließen und eine weiterführende Untersuchung dieses Genlokus mit größeren Fallzahlen könnte lohnenswert sein.

## **6. Zusammenfassung**

In Studien wurde ein gehäuftes Auftreten von bikuspiden Aortenklappen mit Aortenaneurysmata sowie mit Koronarektasien beobachtet. Sowohl das gehäufte Auftreten von Koronarektasien im Rahmen von Autoimmunerkrankungen und in Verbindung mit verschiedenen HLA II-Typen, als auch eine familiäre Häufung machen eine genetische Komponente von Koronarektasien wahrscheinlich. Die Pathogenese und Genetik dieser Erkrankung sind jedoch noch nicht hinlänglich bekannt. Neben dem gehäuften gemeinsamen Auftreten sprechen die verwandte Entwicklung von Aortenklappe, Aorta ascendens und Koronararterien in der Embryonalperiode sowie Gemeinsamkeiten in der Pathogenese für einen gemeinsamen genetischen Hintergrund von bikuspider Aortenklappe, Aortenaneurysmata und Koronarektasien. Matrix-Metalloproteasen, Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und TGF $\beta$ -Signalweg sowie die für eNOS und ACE kodierenden Gene stellen überlappende Mechanismen dar. Ziel dieser Arbeit war es daher zu prüfen, ob SNPs, für die bereits eine Assoziation mit der bikuspiden Klappe oder dem thorakalen oder abdominalen Aortenaneurysma gefunden wurde, auch für Koronarektasien kodieren könnten.

Zu diesem Zweck wurden 337 Patienten mit und 1085 ohne Koronarektasien genotypisiert. Alle eingeschlossenen Patienten stammten entweder aus dem unselektierten Beobachtungsregister GoKard oder aus der Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (HIFAM), ein Register mit dem Einschlusskriterium auffälliger Familienanamnesen im Hinblick auf Myokardinfarkte. Eingeschlossen wurden Patienten, die bereits eine Herzkatheteruntersuchung erhalten hatten und von denen eine Blutprobe zur Genotypisierung vorhanden war. Nach systematischer Durchsicht der Bilder der Herzkatheteruntersuchung durch zwei erfahrene Untersucher wurden die Patienten in eine Fallgruppe mit und eine Kontrollgruppe ohne Koronarektasien eingeteilt.

Zur Genotypisierung wurden durch eine systematische Literaturrecherche in der PubMed-Bibliothek 22 SNPs ausgewählt, für die sich bereits eine Assoziation mit dem thorakalen oder abdominalen Aortenaneurysma, mit der bikuspiden Aortenklappe sowie zum Teil auch mit bikuspider Aortenklappe und assoziiertem Aneurysma der Aorta ascendens gezeigt hatte. Es wurden 7 SNPs auf dem FBN1-Gen, je zwei SNPs auf TGFBR2, CDKN2B-AS1 und NOS3 sowie je ein SNP auf den Genen MMP-2, TGFBR1, DAB2IP, LRP1, AGTR1, MTHFR, ZNF385D, MMP-9 und CNTN3 ausgewählt.

Es wurden drei statistische Auswertungen durchgeführt: Gesamte Fall- und Kontrollgruppe, gesamte Fall- und GoKard-Kontrollgruppe sowie HIFAM-Fall und GoKard-Kontrollgruppe. Für insgesamt zehn der 22 untersuchten SNPs wurden teilweise signifikante Werte gefunden: Für vier der sieben untersuchten SNPs auf FBN1 (rs1036477, rs2118181, rs625034 und rs1036476), jeweils einen SNP auf TGFBR1 (rs1626340) und TGFBR2 (rs4522809), sowie für den jeweils untersuchten SNP auf LRP1 (rs1466535), AGTR1 (rs5186), MTHFR (rs1801133) und MMP-9 (rs2274755).

Keiner der untersuchten SNPs war in allen durchgeführten Auswertungen signifikant, und zum Teil zeigten sich inkonsistente Ergebnisse. Die Interpretation wurde zudem durch geringe Fallzahlen und teilweise durch Abweichungen der Genotypenverteilung vom Hardy-Weinberg-Equilibrium erschwert. Insbesondere für FBN1 ist jedoch eine Assoziation nicht auszuschließen. Zwar konnte der in der Assoziationstestung vermutete Effekt des jeweils seltenen Allels anhand der Genotypenverteilung nicht immer nachvollzogen werden. Dies könnte jedoch auf die zum Teil sehr geringe Anzahl des homozygoten Genotyps und die damit verbundene geringere Trennschärfe zurückzuführen sein.

Insgesamt konnte eine Assoziation der signifikant getesteten SNPs nicht bewiesen, aber größten Teils auch nicht eindeutig widerlegt werden.

Die Bedeutung von Koronarektasien für die klinische Praxis ist nicht eindeutig definiert. Trotz der allgemein guten Prognose einer reinen Koronarektasie ohne begleitende obstruktive koronare Herzerkrankung sollte die Erkrankung aufgrund der erhöhten Raten von Angina pectoris und vorangegangener Myokardinfarkte Beachtung finden. Das genauere Verständnis des genetischen Hintergrunds könnte den Umgang mit Koronarektasien im Hinblick auf Behandlungsstrategien und Prognose erleichtern. Weiterführende Untersuchungen mit größeren Fallzahlen und Subgruppenanalysen könnten sich daher als lohnenswert erweisen.



## **7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

AAA	Abdominales Aortenaneurysma
ACE	Angiotensin-converting enzyme, gleichnamiges Gen
AGTR1	Für Angiotensin II-Rezeptor Typ 1 (AT1-Rezeptor) kodierendes Gen
BAV	Bicuspid aortic valve (engl. für bikuspidale Aortenklappe)
BMP	Bone morphogenetic proteins (engl. für knochenmorphogenetische Signalproteine)
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CDKN2B	Für das Protein Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B (Inhibitor der Cyklin-abhängigen Proteinkinasen) kodierendes Gen
CAE	Coronary artery ectasia (engl. für Koronarektasie)
CI	Confidence interval (engl. für Konfidenzintervall)
CNTN3	Für das Protein Contactin-3 kodierendes Gen
CT	Computertomographie
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase, zugehöriges Gen → NOS3
DAB2IP	Für das Disabled homolog 2-interacting protein kodierendes Gen
FBN1	Für das Glykoprotein Fibrillin-1 kodierendes Gen
GoKard	Register ambulanter und stationärer Herzkatheteruntersuchungen am Universitätsklinikum Regensburg
HIFAM	Regensburger Herzinfarkt-Familienstudie (Register von Personen mit auffälligen Familienanamnesen bezüglich Myokardinfarkte)
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
KHK	Koronare Herzkrankheit
LRP1	Low-density Lipoprotein Receptor-related Protein 1 (Membranrezeptor der LDL-Familie); gleichnamiges kodierendes Gen
MMP-2 und -9	Für die Matrix-Metalloproteinasen 2 und -9 kodierende Gene
MRT	Magnetresonanztomographie
MTHFR	Für die Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase kodierendes Gen

NOS3	Für die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase → eNOS kodierendes Gen
OR	Odds ratio
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
rpm	rotations per minute (engl. für Umdrehungen pro Minute, Angabe für die Drehzahl einer Zentrifuge)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TAAD	Thoracic aortic aneurysm and dissection (engl. für thorakales Aortenaneurysma mit Dissektion)
TAA	Thorakales Aortenaneurysma
TEE	Transösophageale Echokardiographie
TGFBR 1 und 2	Für den Transforming Growth Factor Beta Receptor Typ I und II (Mitglieder der Serin/Threonin-Kinasen) kodierende Gene
TTE	Transthorakale Echokardiographie
u.	und
vgl.	vergleiche
ZNF385D	Für das Zinkfinger-Protein 385D kodierendes Gen

## **8. Literaturverzeichnis**

1. Díaz-Zamudio M, Bacilio-Pérez U, Herrera-Zarza MC, Meave-González A, Alexanderson-Rosas E, Zambrana-Balta GF et al. Coronary artery aneurysms and ectasia: role of coronary CT angiography. *Radiographics* 2009; 29(7):1939–54.
2. Swaye PS, Fisher LD, Litwin P, Vignola PA, Judkins MP, Kemp HG et al. Aneurysmal coronary artery disease. *Circulation* 1983; 67(1):134–8.
3. Demopoulos VP, Olympios CD, Fakiolas CN, Pissimissis EG, Economides NM, Adamopoulou E et al. The natural history of aneurysmal coronary artery disease. *Heart* 1997; 78(2):136–41.
4. Manginas A, Cokkinos DV. Coronary artery ectasias: imaging, functional assessment and clinical implications. *Eur Heart J* 2006; 27(9):1026–31.
5. Meindl C, Achatz B, Huber D, Baessler A, Hubauer U, Meisinger C et al. Coronary Artery Ectasia Are Frequently Observed in Patients With Bicuspid Aortic Valves With and Without Dilatation of the Ascending Aorta. *Circ Cardiovasc Interv* 2016; 9(10).
6. Markis JE, Joffe CD, Cohn PF, Feen DJ, Herman MV, Gorlin R. Clinical significance of coronary arterial ectasia. *Am J Cardiol* 1976; 37(2):217–22.
7. Befeler B, Aranda MJ, Embi A, Mullin FL, El-Sherif N, Lazzara R. Coronary artery aneurysms: study of the etiology, clinical course and effect on left ventricular function and prognosis. *Am J Med* 1977; 62(4):597–607.
8. Krüger D, Stierle U, Herrmann G, Simon R, Sheikhzadeh A. Exercise-induced myocardial ischemia in isolated coronary artery ectasias and aneurysms ("dilated coronopathy"). *J Am Coll Cardiol* 1999; 34(5):1461–70.
9. Pinar Bermúdez E, López Palop R, Lozano Martínez-Luengas I, Cortés Sánchez R, Carrillo Sáez P, Rodríguez Carreras R et al. Ectasia coronaria: prevalencia, características clínicas y angiográficas. *Rev Esp Cardiol* 2003; 56(5):473–9.
10. Sharma SN, Kaul U, Sharma S, Wasir HS, Manchanda SC, Bahl VK et al. Coronary arteriographic profile in young and old Indian patients with ischaemic heart disease: a comparative study. *Indian Heart J* 1990; 42(5):365–9.
11. Zeina A-R, Sharif D, Blinder J, Rosenschein U, Barmeir E. Noninvasive assessment of coronary artery ectasia using multidetector computed tomography. *Coron Artery Dis* 2007; 18(3):175–80.

12. Rodbard S, Ikeda K, Montes M. An analysis of mechanisms of post stenotic dilatation. *Angiology* 1967; 18(6):349–67.
13. Abanador-Kamper N, Kamper L, Vorpahl M, Tiroch K, Haage P, Seyfarth M. Coronary aneurysm with stent dislocation leading to the diagnosis of Marfan syndrome. *Circulation* 2014; 129(17):1791–2.
14. Eriksen UH, Aunsholt NA, Nielsen TT. Enormous right coronary arterial aneurysm in a patient with type IV Ehlers-Danlos syndrome. *Int J Cardiol* 1992; 35(2):259–61.
15. Tarek E-G, Yasser AE, Gheita T. Coronary angiographic findings in asymptomatic systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 2006; 25(4):487–90.
16. Tang PH, Segal AJ. Polyarteritis nodosa of infancy. Fatal late complication. *JAMA* 1971; 217(12):1666–70.
17. Hiraishi S, Yashiro K, Oguchi K, Kusano S, Ishii K, Nakazawa K. Clinical course of cardiovascular involvement in the mucocutaneous lymph node syndrome. Relation between clinical signs of carditis and development of coronary arterial aneurysm. *Am J Cardiol* 1981; 47(2):323–30.
18. Davidson A, Eshaghpour E, Young N, Mintz GS. Late thrombosis of a coronary artery mycotic aneurysm. *Am Heart J* 1991; 121(5):1549–50.
19. Fischer M, Broeckel U, Holmer S, Baessler A, Hengstenberg C, Mayer B et al. Distinct heritable patterns of angiographic coronary artery disease in families with myocardial infarction. *Circulation* 2005; 111(7):855–62.
20. Finkelstein A, Michowitz Y, Abashidze A, Miller H, Keren G, George J. Temporal association between circulating proteolytic, inflammatory and neurohormonal markers in patients with coronary ectasia. *Atherosclerosis* 2005; 179(2):353–9.
21. Eitan A, Roguin A. Coronary artery ectasia: new insights into pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Coron Artery Dis* 2016; 27(5):420–8.
22. Campbell M. Calcific aortic stenosis and congenital bicuspid aortic valves. *Br Heart J* 1968; 30(5):606–16.
23. Siu SC, Silversides CK. Bicuspid aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55(25):2789–800.

24. Hoffman JIE, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(12):1890–900.
25. Michelena HI, Prakash SK, Della Corte A, Bissell MM, Anavekar N, Mathieu P et al. Bicuspid aortic valve: identifying knowledge gaps and rising to the challenge from the International Bicuspid Aortic Valve Consortium (BAVCon). *Circulation* 2014; 129(25):2691–704.
26. Sabet HY, Edwards WD, Tazelaar HD, Daly RC. Congenitally bicuspid aortic valves: a surgical pathology study of 542 cases (1991 through 1996) and a literature review of 2,715 additional cases. *Mayo Clin Proc* 1999; 74(1):14–26.
27. Brandenburg RO, Tajik AJ, Edwards WD, Reeder GS, Shub C, Seward JB. Accuracy of 2-dimensional echocardiographic diagnosis of congenitally bicuspid aortic valve: echocardiographic-anatomic correlation in 115 patients. *Am J Cardiol* 1983; 51(9):1469–73.
28. Chan KL, Stinson WA, Veinot JP. Reliability of transthoracic echocardiography in the assessment of aortic valve morphology: pathological correlation in 178 patients. *Can J Cardiol* 1999; 15(1):48–52.
29. Lee SC, Ko SM, Song MG, Shin JK, Chee HK, Hwang HK. Morphological assessment of the aortic valve using coronary computed tomography angiography, cardiovascular magnetic resonance, and transthoracic echocardiography: comparison with intraoperative findings. *Int J Cardiovasc Imaging* 2012; 28 Suppl 1:33–44.
30. Malaisrie SC, Carr J, Mikati I, Rigolin V, Yip BK, Lapin B et al. Cardiac magnetic resonance imaging is more diagnostic than 2-dimensional echocardiography in determining the presence of bicuspid aortic valve. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 144(2):370–6.
31. Mathieu P, Bossé Y, Huggins GS, Della Corte A, Pibarot P, Michelena HI et al. The pathology and pathobiology of bicuspid aortic valve: State of the art and novel research perspectives. *J Pathol Clin Res* 2015; 1(4):195–206.
32. Michelena HI, Desjardins VA, Avierinos J-F, Russo A, Nkomo VT, Sundt TM et al. Natural history of asymptomatic patients with normally functioning or minimally dysfunctional bicuspid aortic valve in the community. *Circulation* 2008; 117(21):2776–84.
33. O'Malley CD, Saunders, J. B. de C. M. Leonardo da Vinci on the Human Body: The Anatomical, Physiological and Embryological Drawings of Leonardo da Vinci with Translations, Emendations and a Biographical Introduction. 1st ed. Henry Schuman; 1952.

34. Peacock TB. *On Malformations of the Human Heart*. 2nd ed. London: Churchill; 1866.
35. Osler W. The bicuspid condition of the aortic valves. *Transactions of the Association of American Physicians*. 1: 185-92; 1886.
36. Moshe Bronshtein MD. Bicuspid aortic valve; 2012 [cited 2020 Feb 8]. Available from: URL: <https://sonoworld.com/thefetus/page.aspx?id=3276>.
37. Michelena HI, Khanna AD, Mahoney D, Margaryan E, Topilsky Y, Suri RM et al. Incidence of aortic complications in patients with bicuspid aortic valves. *JAMA* 2011; 306(10):1104–12.
38. Cury M, Zeidan F, Lobato AC. Aortic disease in the young: genetic aneurysm syndromes, connective tissue disorders, and familial aortic aneurysms and dissections. *Int J Vasc Med* 2013; 2013:267215.
39. Cecconi M, Nistri S, Quarti A, Manfrin M, Colonna PL, Molini E et al. Aortic dilatation in patients with bicuspid aortic valve. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2006; 7(1):11–20.
40. Erbel R, Aboyans V, Boileau C, Bossone E, Di Bartolomeo R, Eggebrecht H et al. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2014; 35(41):2873–926.
41. Herold G. *Innere Medizin 2016: Eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung ; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*. Köln: Selbstverlag; 2016, S. 822-823.
42. Agmon Y, Khandheria BK, Meissner I, Schwartz GL, Sicks JD, Fought AJ et al. Is aortic dilatation an atherosclerosis-related process? Clinical, laboratory, and transesophageal echocardiographic correlates of thoracic aortic dimensions in the population with implications for thoracic aortic aneurysm formation. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(6):1076–83.
43. Lee AJ, Fowkes FG, Carson MN, Leng GC, Allan PL. Smoking, atherosclerosis and risk of abdominal aortic aneurysm. *Eur Heart J* 1997; 18(4):671–6.
44. Lindblad B, Börner G, Gottsäter A. Factors associated with development of large abdominal aortic aneurysm in middle-aged men. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 30(4):346–52.

45. Rohde LE, Arroyo LH, Rifai N, Creager MA, Libby P, Ridker PM et al. Plasma concentrations of interleukin-6 and abdominal aortic diameter among subjects without aortic dilatation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(7):1695–9.
46. Zarins CK, Xu C, Glagov S. Atherosclerotic enlargement of the human abdominal aorta. *Atherosclerosis* 2001; 155(1):157–64.
47. Vasan RS, Larson MG, Levy D. Determinants of echocardiographic aortic root size. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1995; 91(3):734–40.
48. Olson LJ, Subramanian R, Edwards WD. Surgical pathology of pure aortic insufficiency: a study of 225 cases. *Mayo Clin Proc* 1984; 59(12):835–41.
49. Roman MJ, Devereux RB, Niles NW, Hochreiter C, Kligfield P, Sato N et al. Aortic root dilatation as a cause of isolated, severe aortic regurgitation. Prevalence, clinical and echocardiographic patterns, and relation to left ventricular hypertrophy and function. *Ann Intern Med* 1987; 106(6):800–7.
50. Arif Yalcin A, Faruk Akturk I, Celik O, Erturk M, Sabri Hancer V, Yalcin B et al. Coronary artery ectasia is associated with the c.894GT (Glu298Asp) polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Tohoku J Exp Med* 2014; 232(2):137–44.
51. Ekmekçi A, Ozcan KS, Abaci N, Güngör B, Osmonov D, Tosu R et al. The relationship between coronary artery ectasia and eNOS intron 4a/b gene polymorphisms. *Acta Cardiol* 2013; 68(1):19–22.
52. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Ogawa H, Kugiyama K et al. T(-786)-C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary organic stenosis. *Am J Cardiol* 2000; 86(6):628–34.
53. Lamblin N, Bauters C, Hermant X, Lablanche J-M, Helbecque N, Amouyel P. Polymorphisms in the promoter regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 genes as determinants of aneurysmal coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(1):43–8.
54. Prasad A, Narayanan S, Waclawiw MA, Epstein N, Quyyumi AA. The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene determines coronary vascular tone and nitric oxide activity. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(5):1579–86.

55. Gülec S, Aras O, Atmaca Y, Akyürek O, Hanson NQ, Sayin T et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is a potent risk factor for coronary artery ectasia. *Heart* 2003; 89(2):213–4.
56. Pola R, Gaetani E, Santoliquido A, Gerardino L, Cattani P, Serricchio M et al. Abdominal aortic aneurysm in normotensive patients: association with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 21(5):445–9.
57. Hsu P-C, Wang C-L, Su H-M, Juo S-H, Lin T-H, Voon W-C et al. The hOGG1 Ser326Cys gene polymorphism and the risk of coronary ectasia in the Chinese population. *Int J Mol Sci* 2014; 15(1):1671–82.
58. Wei B, Zhou Y, Xu Z, Xi B, Cheng H, Ruan J et al. The effect of hOGG1 Ser326Cys polymorphism on cancer risk: evidence from a meta-analysis. *PLoS ONE* 2011; 6(11):e27545.
59. Sun C, Liu X, Zhang H, Guo W, Cai Z, Chen H et al. Functional polymorphism of hOGG1 gene is associated with type 2 diabetes mellitus in Chinese population. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 325(1-2):128–34.
60. Wang C-L, Lin T-H, Lin H-Y, Sheu S-H, Yu M-L, Hsiao P-J et al. The 8-oxoguanine glycosylase I (hOGG1) Ser326Cys variant affects the susceptibility to multi-vessel disease in Taiwan coronary artery disease patients. *Thromb Res* 2010; 126(4):319–23.
61. Fernandes SM, Sanders SP, Khairy P, Jenkins KJ, Gauvreau K, Lang P et al. Morphology of bicuspid aortic valve in children and adolescents. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(8):1648–51.
62. Duran AC, Frescura C, Sans-Coma V, Angelini A, Basso C, Thiene G. Bicuspid aortic valves in hearts with other congenital heart disease. *J Heart Valve Dis* 1995; 4(6):581–90.
63. Cedars A BAC. The many faces of bicuspid aortic valve disease. *Prog Pediatr Cardiol* 2012; (34):91–6.
64. Boyum J, Fellingner EK, Schmoker JD, Trombley L, McPartland K, Ittleman FP et al. Matrix metalloproteinase activity in thoracic aortic aneurysms associated with bicuspid and tricuspid aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127(3):686–91.
65. Lee TC, Zhao YD, Courtman DW, Stewart DJ. Abnormal aortic valve development in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2000; 101(20):2345–8.



66. Paloschi V, Kurtovic S, Folkersen L, Gomez D, Wågsäter D, Roy J et al. Impaired splicing of fibronectin is associated with thoracic aortic aneurysm formation in patients with bicuspid aortic valve. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(3):691–7.
67. Garg V. Molecular genetics of aortic valve disease. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21(3):180–4.
68. Niessen K, Karsan A. Notch signaling in cardiac development. *Circ Res* 2008; 102(10):1169–81.
69. Pisano C, Maresi E, Balistreri CR, Candore G, Merlo D, Fattouch K et al. Histological and genetic studies in patients with bicuspid aortic valve and ascending aorta complications. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2012; 14(3):300–6.
70. Qu X-K, Qiu X-B, Yuan F, Wang J, Zhao C-M, Liu X-Y et al. A novel NKX2.5 loss-of-function mutation associated with congenital bicuspid aortic valve. *Am J Cardiol* 2014; 114(12):1891–5.
71. Padang R, Bagnall RD, Richmond DR, Bannon PG, Semsarian C. Rare non-synonymous variations in the transcriptional activation domains of GATA5 in bicuspid aortic valve disease. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 53(2):277–81.
72. Shi L-M, Tao J-W, Qiu X-B, Wang J, Yuan F, Xu L et al. GATA5 loss-of-function mutations associated with congenital bicuspid aortic valve. *Int J Mol Med* 2014; 33(5):1219–26.
73. Laforest B, Nemer M. GATA5 interacts with GATA4 and GATA6 in outflow tract development. *Dev Biol* 2011; 358(2):368–78.
74. Laforest B, Andelfinger G, Nemer M. Loss of Gata5 in mice leads to bicuspid aortic valve. *J Clin Invest* 2011; 121(7):2876–87.
75. Wooten EC, Iyer LK, Montefusco MC, Hedgepeth AK, Payne DD, Kapur NK et al. Application of gene network analysis techniques identifies AXIN1/PDIA2 and endoglin haplotypes associated with bicuspid aortic valve. *PLoS ONE* 2010; 5(1):e8830.
76. Tan HL, Glen E, Töpf A, Hall D, O'Sullivan JJ, Sneddon L et al. Nonsynonymous variants in the SMAD6 gene predispose to congenital cardiovascular malformation. *Hum Mutat* 2012; 33(4):720–7.

77. Gillis E, Kumar AA, Luyckx I, Preuss C, Cannaeerts E, van de Beek G et al. Candidate Gene Resequencing in a Large Bicuspid Aortic Valve-Associated Thoracic Aortic Aneurysm Cohort: SMAD6 as an Important Contributor. *Front Physiol* 2017; 8:400.
78. Girdauskas E, Schulz S, Borger MA, Mierzwa M, Kuntze T. Transforming growth factor-beta receptor type II mutation in a patient with bicuspid aortic valve disease and intraoperative aortic dissection. *Ann Thorac Surg* 2011; 91(5):e70-1.
79. Arrington CB, Sower CT, Chuckwuk N, Stevens J, Leppert MF, Yetman AT et al. Absence of TGFBR1 and TGFBR2 mutations in patients with bicuspid aortic valve and aortic dilation. *Am J Cardiol* 2008; 102(5):629–31.
80. Loscalzo ML, Goh DLM, Loeys B, Kent KC, Spevak PJ, Dietz HC. Familial thoracic aortic dilation and bicommissural aortic valve: a prospective analysis of natural history and inheritance. *Am J Med Genet A* 2007; 143A(17):1960–7.
81. Foffa I, Ait Ali L, Panesi P, Mariani M, Festa P, Botto N et al. Sequencing of NOTCH1, GATA5, TGFBR1 and TGFBR2 genes in familial cases of bicuspid aortic valve. *BMC Med Genet* 2013; 14:44.
82. Lindsay ME, Schepers D, Bolar NA, Doyle JJ, Gallo E, Fert-Bober J et al. Loss-of-function mutations in TGFB2 cause a syndromic presentation of thoracic aortic aneurysm. *Nat Genet* 2012; 44(8):922–7.
83. Guo D-C, Gong L, Regalado ES, Santos-Cortez RL, Zhao R, Cai B et al. MAT2A mutations predispose individuals to thoracic aortic aneurysms. *Am J Hum Genet* 2015; 96(1):170–7.
84. Saratzis A, Bown MJ. The genetic basis for aortic aneurysmal disease. *Heart* 2014; 100(12):916–22.
85. Biddinger A, Rocklin M, Coselli J, Milewicz DM. Familial thoracic aortic dilatations and dissections: a case control study. *J Vasc Surg* 1997; 25(3):506–11.
86. Coady MA, Davies RR, Roberts M, Goldstein LJ, Rogalski MJ, Rizzo JA et al. Familial patterns of thoracic aortic aneurysms. *Arch Surg* 1999; 134(4):361–7.
87. Milewicz D, Hostetler E, Wallace S, Mellor-Crummey L, Gong L, Pannu H et al. Precision medical and surgical management for thoracic aortic aneurysms and acute aortic dissections based on the causative mutant gene. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2016; 57(2):172–7.

88. Albornoz G, Coady MA, Roberts M, Davies RR, Tranquilli M, Rizzo JA et al. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections--incidence, modes of inheritance, and phenotypic patterns. *Ann Thorac Surg* 2006; 82(4):1400–5.
89. Sandford RM, Bown MJ, London NJ, Sayers RD. The genetic basis of abdominal aortic aneurysms: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 33(4):381–90.
90. Brownstein AJ, Ziganshin BA, Kuivaniemi H, Body SC, Bale AE, Elefteriades JA. Genes Associated with Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection: An Update and Clinical Implications. *Aorta (Stamford)* 2017; 5(1):11–20.
91. Lindsay ME, Dietz HC. The genetic basis of aortic aneurysm. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 4(9):a015909.
92. Turner CLS, Emery H, Collins AL, Howarth RJ, Yearwood CM, Cross E et al. Detection of 53 FBN1 mutations (41 novel and 12 recurrent) and genotype-phenotype correlations in 113 unrelated probands referred with Marfan syndrome, or a related fibrillinopathy. *Am J Med Genet A* 2009; 149A(2):161–70.
93. Faivre L, Masurel-Paulet A, Collod-Bérout G, Callewaert BL, Child AH, Stheneur C et al. Clinical and molecular study of 320 children with Marfan syndrome and related type I fibrillinopathies in a series of 1009 probands with pathogenic FBN1 mutations. *Pediatrics* 2009; 123(1):391–8.
94. Meester JAN, Verstraeten A, Schepers D, Alaerts M, van Laer L, Loeys BL. Differences in manifestations of Marfan syndrome, Ehlers-Danlos syndrome, and Loeys-Dietz syndrome. *Ann Cardiothorac Surg* 2017; 6(6):582–94.
95. LeMaire SA, McDonald M-LN, Guo D-C, Russell L, Miller CC, Johnson RJ et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for thoracic aortic aneurysms and aortic dissections spanning FBN1 at 15q21.1. *Nat Genet* 2011; 43(10):996–1000.
96. Wenstrup RJ, Meyer RA, Lyle JS, Hoechstetter L, Rose PS, Levy HP et al. Prevalence of aortic root dilation in the Ehlers-Danlos syndrome. *Genet Med* 2002; 4(3):112–7.
97. Oderich GS, Panneton JM, Bower TC, Lindor NM, Cherry KJ, Noel AA et al. The spectrum, management and clinical outcome of Ehlers-Danlos syndrome type IV: a 30-year experience. *J Vasc Surg* 2005; 42(1):98–106.
98. Bonita RE, Cohen IS, Berko BA. Valvular heart disease in osteogenesis imperfecta: presentation of a case and review of the literature. *Echocardiography* 2010; 27(1):69–73.

99. Renard M, Holm T, Veith R, Callewaert BL, Adès LC, Baspinar O et al. Altered TGFbeta signaling and cardiovascular manifestations in patients with autosomal recessive cutis laxa type I caused by fibulin-4 deficiency. *Eur J Hum Genet* 2010; 18(8):895–901.
100. Szabo Z, Crepeau MW, Mitchell AL, Stephan MJ, Puntel RA, Yin Loke K et al. Aortic aneurysmal disease and cutis laxa caused by defects in the elastin gene. *J Med Genet* 2006; 43(3):255–8.
101. Verstraeten A, Alaerts M, van Laer L, Loeys B. Marfan Syndrome and Related Disorders: 25 Years of Gene Discovery. *Hum Mutat* 2016; 37(6):524–31.
102. Loeys BL, Schwarze U, Holm T, Callewaert BL, Thomas GH, Pannu H et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med* 2006; 355(8):788–98.
103. Pannu H, van Fadulu T, Chang J, Lafont A, Hasham SN, Sparks E et al. Mutations in transforming growth factor-beta receptor type II cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections. *Circulation* 2005; 112(4):513–20.
104. Baas AF, Medic J, van 't Slot R, Kovel CG de, Zhernakova A, Geelkerken RH et al. Association of the TGF-beta receptor genes with abdominal aortic aneurysm. *Eur J Hum Genet* 2010; 18(2):240–4.
105. Cai J, Pardali E, Sánchez-Duffhues G, Dijke P ten. BMP signaling in vascular diseases. *FEBS Lett* 2012; 586(14):1993–2002.
106. Pannu H, van Tran-Fadulu, Papke CL, Scherer S, Liu Y, Presley C et al. MYH11 mutations result in a distinct vascular pathology driven by insulin-like growth factor 1 and angiotensin II. *Hum Mol Genet* 2007; 16(20):2453–62.
107. Bown MJ, Jones GT, Harrison SC, Wright BJ, Bumpstead S, Baas AF et al. Abdominal aortic aneurysm is associated with a variant in low-density lipoprotein receptor-related protein 1. *Am J Hum Genet* 2011; 89(5):619–27.
108. Fatini C, Sofi F, Sticchi E, Bolli P, Sestini I, Falciani M et al. eNOS G894T polymorphism as a mild predisposing factor for abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2005; 42(3):415–9.
109. Gretarsdottir S, Baas AF, Thorleifsson G, Holm H, den Heijer M, de Vries, Jean-Paul P M et al. Genome-wide association study identifies a sequence variant within the DAB2IP gene conferring susceptibility to abdominal aortic aneurysm. *Nat Genet* 2010; 42(8):692–7.

110. Xie D, Gore C, Zhou J, Pong R-C, Zhang H, Yu L et al. DAB2IP coordinates both PI3K-Akt and ASK1 pathways for cell survival and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(47):19878–83.
111. Hackam DG, Thiruchelvam D, Redelmeier DA. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and aortic rupture: a population-based case-control study. *Lancet* 2006; 368(9536):659–65.
112. Jones GT, Thompson AR, van Bockxmeer FM, Hafez H, Cooper JA, Golledge J et al. Angiotensin II type 1 receptor 1166C polymorphism is associated with abdominal aortic aneurysm in three independent cohorts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(4):764–70.
113. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 357(5):443–53.
114. Biros E, Cooper M, Palmer LJ, Walker PJ, Norman PE, Golledge J. Association of an allele on chromosome 9 and abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis* 2010; 212(2):539–42.
115. Elmore JR, Obmann MA, Kuivaniemi H, Tromp G, Gerhard GS, Franklin DP et al. Identification of a genetic variant associated with abdominal aortic aneurysms on chromosome 3p12.3 by genome wide association. *J Vasc Surg* 2009; 49(6):1525–31.
116. Tran P, Leclerc D, Chan M, Pai A, Hiou-Tim F, Wu Q et al. Multiple transcription start sites and alternative splicing in the methylenetetrahydrofolate reductase gene result in two enzyme isoforms. *Mamm Genome* 2002; 13(9):483–92.
117. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274(13):1049–57.
118. Strauss E, Waliszewski K, Gabriel M, Zapalski S, Pawlak AL. Increased risk of the abdominal aortic aneurysm in carriers of the MTHFR 677T allele. *J Appl Genet* 2003; 44(1):85–93.
119. Thompson AR, Drenos F, Hafez H, Humphries SE. Candidate gene association studies in abdominal aortic aneurysm disease: a review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008; 35(1):19–30.
120. Peeters AC, van Landeghem BA, Graafsma SJ, Kranendonk SE, Hermus AR, Blom HJ et al. Low vitamin B6, and not plasma homocysteine concentration, as risk factor for abdominal aortic aneurysm: a retrospective case-control study. *J Vasc Surg* 2007; 45(4):701–5.

121. Tadros TM, Klein MD, Shapira OM. Ascending aortic dilatation associated with bicuspid aortic valve: pathophysiology, molecular biology, and clinical implications. *Circulation* 2009; 119(6):880–90.
122. Arima Y, Miyagawa-Tomita S, Maeda K, Asai R, Seya D, Minoux M et al. Preotic neural crest cells contribute to coronary artery smooth muscle involving endothelin signalling. *Nat Commun* 2012; 3:1267.
123. Hengstenberg C. Genomweite Untersuchungen in Herzinfarktfamilien: Kombiniertes Zwischen- und Abschlussbericht, NGFN-2 - Herz-Kreislauf-Netz, Subprojekt: KG-CV 2.1. Regensburg; ca. 2008.
124. Atli FH, Manduz S, Katrancioglu N, Ozum U, Disli OM, Atahan E et al. eNOS G894T polymorphism and abdominal aortic aneurysms. *Angiology* 2010; 61(2):125–30.
125. Helgadottir A, Thorleifsson G, Magnusson KP, Grétarsdottir S, Steinthorsdottir V, Manolescu A et al. The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm. *Nat Genet* 2008; 40(2):217–24.
126. Bown MJ, Braund PS, Thompson J, London NJM, Samani NJ, Sayers RD. Association between the coronary artery disease risk locus on chromosome 9p21.3 and abdominal aortic aneurysm. *Circ Cardiovasc Genet* 2008; 1(1):39–42.
127. McGuigan FEA, Ralston SH. Single nucleotide polymorphism detection: allelic discrimination using TaqMan. *Psychiatr Genet* 2002; 12(3):133–6.
128. Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat. Genet.* 2003; 33 (Suppl.):228–37.
129. De la Vega, Francisco M, 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):111–35.
130. Afonina I, Zivarts M, Kutyavin 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):2657–60.
131. Kutyavin IV, Afonina IA, Mills A, Gorn VV, Lukhtanov EA, Belousov ES et al. 3'-minor groove binder-DNA probes increase sequence specificity at PCR extension temperatures. *Nucleic Acids Res* 2000; 28(2):655–61.

132. Sasieni PD. From genotypes to genes: doubling the sample size. *Biometrics* 1997; 53(4):1253–61.
133. Mayo O. A century of Hardy-Weinberg equilibrium. *Twin Res Hum Genet* 2008; 11(3):249–56.
134. Li B, Leal SM. Deviations from hardy-weinberg equilibrium in parental and unaffected sibling genotype data. *Hum Hered* 2009; 67(2):104–15.
135. McHugh ML. The chi-square test of independence. *Biochem Med (Zagreb)* 2013; 23(2):143–9.
136. Clarke GM, Anderson CA, Pettersson FH, Cardon LR, Morris AP, Zondervan KT. Basic statistical analysis in genetic case-control studies. *Nat Protoc* 2011; 6(2):121–33.
137. Viera AJ. Odds ratios and risk ratios: what's the difference and why does it matter? *South Med J* 2008; 101(7):730–4.
138. Debl K, Djavidani B, Buchner S, Poschenrieder F, Schmid F-X, Kobuch R et al. Dilatation of the ascending aorta in bicuspid aortic valve disease: a magnetic resonance imaging study. *Clin Res Cardiol* 2009; 98(2):114–20.
139. Hatemi AC, Tongut A, Özyedek Z, Çerezci İ, Özgöl İ, Perk Gürün H. Association between ascending aortic diameter and coronary artery dilation: a demographic data analysis. *J Int Med Res* 2016; 44(6):1349–58.
140. Stajduhar KC, Laird JR, Rogan KM, Wortham DC. Coronary arterial ectasia: increased prevalence in patients with abdominal aortic aneurysm as compared to occlusive atherosclerotic peripheral vascular disease. *Am Heart J* 1993; 125(1):86–92.
141. Hope MD, Hope TA, Meadows AK, Ordovas KG, Urbania TH, Alley MT et al. Bicuspid aortic valve: four-dimensional MR evaluation of ascending aortic systolic flow patterns. *Radiology* 2010; 255(1):53–61.
142. Bissell MM, Hess AT, Biasioli L, Glaze SJ, Loudon M, Pitcher A et al. Aortic dilation in bicuspid aortic valve disease: flow pattern is a major contributor and differs with valve fusion type. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013; 6(4):499–507.
143. Siouffi M, Pelissier R, Farahifar D, Rieu R. The effect of unsteadiness on the flow through stenoses and bifurcations. *J Biomech* 1984; 17(5):299–315.

144. Johnson AD, Detwiler JH, Higgins CB. Left coronary artery anatomy in patients with bicuspid aortic valves. *Br Heart J* 1978; 40(5):489–93.
145. Sudhir K, Ports TA, Amidon TM, Goldberger JJ, Bhushan V, Kane JP et al. Increased prevalence of coronary ectasia in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1995; 91(5):1375–80.
146. Akdemir R, Ozhan H, Gunduz H, Erbilen E, Yazici M, Duran S et al. HLA-DR B1 and DQ B1 polymorphisms in patients with coronary artery ectasia. *Acta Cardiol* 2004; 59(5):499–502.
147. Jones JA, Barbour JR, Stroud RE, Bouges S, Stephens SL, Spinale FG et al. Altered transforming growth factor-beta signaling in a murine model of thoracic aortic aneurysm. *J Vasc Res* 2008; 45(6):457–68.
148. Garside VC, Chang AC, Karsan A, Hoodless PA. Co-ordinating Notch, BMP, and TGF- $\beta$  signaling during heart valve development. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70(16):2899–917.
149. Nataatmadja M, West M, West J, Summers K, Walker P, Nagata M et al. Abnormal extracellular matrix protein transport associated with increased apoptosis of vascular smooth muscle cells in marfan syndrome and bicuspid aortic valve thoracic aortic aneurysm. *Circulation* 2003; 108 Suppl 1:II329-34.
150. Markis JE, Joffe CD, Cohn PF, Feen DJ, Herman MV, Gorlin R. Clinical significance of coronary arterial ectasia. *Am J Cardiol* 1976; 37(2):217–22.
151. Mason DP, Kenagy RD, Hasenstab D, Bowen-Pope DF, Seifert RA, Coats S et al. Matrix metalloproteinase-9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery. *Circ Res* 1999; 85(12):1179–85.
152. Yasuda H, Nakatani S, Stugaard M, Tsujita-Kuroda Y, Bando K, Kobayashi J et al. Failure to prevent progressive dilation of ascending aorta by aortic valve replacement in patients with bicuspid aortic valve: comparison with tricuspid aortic valve. *Circulation* 2003; 108 Suppl 1:II291-4.
153. Nistri S, Sorbo MD, Marin M, Palisi M, Scognamiglio R, Thiene G. Aortic root dilatation in young men with normally functioning bicuspid aortic valves. *Heart* 1999; 82(1):19–22.



## **9. Quellennachweis der Abbildungen und Tabellen**

**Abbildung 1 (S. 5):** Meindl C, Achatz B, Huber D, Baessler A, Hubauer U, Meisinger C et al. Coronary Artery Ectasia Are Frequently Observed in Patients With Bicuspid Aortic Valves With and Without Dilatation of the Ascending Aorta. *Circ Cardiovasc Interv* 2016; 9(10). (5)

**Abbildung 2 (S. 8):** Michelena HI, Prakash SK, Della Corte A, Bissell MM, Anavekar N, Mathieu P et al. Bicuspid aortic valve: identifying knowledge gaps and rising to the challenge from the International Bicuspid Aortic Valve Consortium (BAVCon). *Circulation* 2014; 129(25):2691–704. (25)

**Abbildung 3 (S. 9):** Moshe Bronshtein MD. Bicuspid aortic valve; 2012 [cited 2020 Feb 8]. Available from: URL: <https://sonoworld.com/thefetus/page.aspx?id=3276>.

**Abbildung 4 (S. 11):** Agmon Y, Khandheria BK, Meissner I, Schwartz GL, Sicks JD, Fought AJ et al. Is aortic dilatation an atherosclerosis-related process? Clinical, laboratory, and transesophageal echocardiographic correlates of thoracic aortic dimensions in the population with implications for thoracic aortic aneurysm formation. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(6):1076–83. (42)

**Abbildung 5 (S. 16):** Cury M, Zeidan F, Lobato AC. Aortic disease in the young: genetic aneurysm syndromes, connective tissue disorders, and familial aortic aneurysms and dissections. *Int J Vasc Med* 2013; 2013:267215. (38)

**Abbildung 6 (S. 26):** Eigenes Institut

**Abbildung 7 u. 8 (S. 28 u. 29):** De la Vega, Francisco M, 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):111–35. (129)

**Tabelle 1 (S. 23):** Quellen in der Tabelle aufgeführt

**Tabelle 2 (S. 24):** Informationen zu den verwendeten SNPs (Stand März 2019) unter:

- ThermoFisher scientific: <https://www.thermofisher.com/order/genome-database/>
- The Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) of Nucleotide Sequence Variation: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
- USCS (University of California Santa Cruz) genome browser: <https://genome.ucsc.edu/>

**Tabelle 3 u. 4 (S. 27):** Modifiziert nach TaqMan® GTXpress™ Master Mix Protocol; 2010; [cited 2020 Feb 8]. Available from: URL: <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS->

Assets%2FLSG%2Fmanuals%2Fcms\_057276.pdf&title=UHJvdG9jb2w6IFRhcU1hbiZyZWc  
7IEdUWHByZXNzJnRyYWRIWyBmYXN0ZXIgaW4ICkFbmdsaXNoICk=.

**Tabellen 5- 14 (S. 33- 43):** Eigenes Institut

## 10. Anhang

**Tabelle A1:** Auswertung aller Fälle und Kontrollen

Gen	SNP	Allelfrequenz f, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung des seltenen Allels				
		Fälle	Kontrollen	p- Wert* (Pear- son)	Unter- schied Allel- frequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armit- age Trend Test	
MMP-2	rs2285053 C>T	fT	0,13	0,12	0,808	p=0,816	p=0,712	p=0,647	p=0,812
		CC	827 (76,43)	252 (75,45)		OR=1,031 (0,794-1,339)	OR=1,055 (0,793-1,405)	OR=1,342 (0,380-4,737)	
		CT	242 (22,37)	79 (23,65)					
		TT	13 (1,20)	3 (0,90)					
FBN1	rs1051917 7 A>G	fG	0,24	0,23	0,564	p=0,514	p=0,36131	p=0,799	p=0,517
		AA	646 (59,65)	191 (56,85)		OR=1,070 (0,873-1,310)	OR=1,122 (0,876-1,438)	OR=1,073 (0,625-1,840)	
		AG	375 (34,63)	127 (37,80)					
	rs4774517 G>T	fT	0,24	0,23	0,493	p=0,518	p=0,335	p=0,699	p=0,961
		GG	190 (56,89)	647 (59,85)		OR=1,069 (0,872-1,311)	OR=1,130 (0,881-1,448)	OR=1,115 (0,642-1,937)	
		GT	127 (38,02)	373 (34,51)					
	rs755251 A>G	fG	0,24	0,23	0,660	p=0,560	p=0,426	p=0,844	p=0,560
		AA	193 (57,61)	651 (60,06)		OR=1,068 (0,866-1,304)	OR=1,106 (0,863-1,418)	OR=1,057 (0,607-1,842)	
		AG	125 (37,31)	375 (34,59)					
	rs1036477 A>G	fG	0,12	0,10	0,136	p=0,053	<b>p=0,046</b>	p=0,689	p=0,059
		AA	258 (76,79)	885 (81,72)		OR=1,303 (0,996-1,705)	OR=1,351 (1,005-1,818)	OR=0,825 (0,320-2,125)	
		AG	72 (21,43)	182 (16,81)					
rs2118181 T>C	fC	0,12	0,10	0,123	<b>p=0,048</b>	<b>p=0,041</b>	p=0,688	p=0,053	
	TT	258 (76,79)	887 (81,83)		OR=1,311 (1,002-1,716)	OR=1,361 (1,012-1,831)	OR=0,824 (0,320-2,123)		
	TC	72 (21,43)	181 (16,70)						
rs625034 T>C	fC	0,11	0,09	0,017	p=0,113	<b>p=0,037</b>	p=0,143	p=0,115	
	TT	263 (78,27)	901 (83,27)		OR=1,257 (0,947-1,668)	OR=1,382 (1,019-1,873)	OR=4,073 (0,531-31,257)		
	TC	72 (21,43)	168 (15,53)						
rs1036476 T>C	fC	0,11	0,09	0,015	p=0,103	<b>p=0,033</b>	p=0,144	p=0,105	
	TT	263 (78,72)	903 (83,38)		OR=1,265 (0,953-1,679)	OR=1,392 (1,027-1,888)	OR=4,070 (0,530-31,228)		
	TC	72 (21,43)	167 (15,42)						
TGFB R1	rs1626340 G>A	fA	0,20	0,21	0,295	p=0,402	p=0,707	p=0,118	p=0,394
		GG	212 (63,10)	671 (61,96)		OR=0,912 (0,734-1,132)	OR=0,953 (0,739-1,227)	OR=1,819 (0,850-3,893)	
		GA	116 (34,52)	366 (33,80)					
TGFB R2	rs1036095 G>C	fC	0,27	0,25	0,359	p=1,71	p=0,153	p=0,603	p=0,177
		GG	178 (53,13)	624 (57,56)		OR=1,147 (0,942-1,396)	OR=1,196 (0,935-1,530)	OR=0,882 (0,550-1,415)	
		GC	132 (39,40)	388 (35,79)					
	rs4522809 A>G	fG	0,42	0,46	0,096	<b>p=0,048</b>	<b>p=0,034</b>	p=0,283	<b>p=0,045</b>
AA	113 (33,73)	300 (27,70)	OR=0,838 (0,703-0,998)	OR=0,753 (0,579-0,979)		OR=1,188 (0,867-1,630)			
AG	162 (48,36)	560 (51,71)							
		GG	60 (17,91)	223 (20,59)					

DAB2 IP	rs7025486 G>A	fA	0,27	0,27	0,994	p=0,963	p=0,936	p=0,965	p= 0,964
		GG	177 (51,84)	576 (53,09)		OR=1,005	OR=1,010	OR=1,010	
		GA	132 (39,40)	424 (38,08)		(0,827-	(0,790-	(0,639-	
		AA	26 (7,76)	85 (7,83)		1,220)	1,291)	1,596)	
LRP1	rs1466535 G>A	fA	0,35	0,34	0,037	p=0,574	p=0,102	p=0,166	p= 0,569
		GG	131 (38,99)	477 (44,04)		OR=1,053	OR=1,232	OR=1,343	
		GA	175 (52,08)	480 (44,32)		(0,878-	(0,959-	(0,884-	
		AA	30 (8,93)	126 (11,63)		1,264)	1,581)	2,041)	
AGT R1	rs5186 A>C	fC	0,28	0,28	0,175	p=0,843	p=0,356	p=0,198	p=0,8 41
		AA	180 (53,57)	549 (50,69)		OR=0,981	OR=0,891	OR=0,748	
		AC	126 (37,50)	460 (42,47)		(0,808-	(0,697-	(0,480-	
		CC	30 (8,93)	74 (6,83)		1,190)	1,139)	1,165)	
NOS3	rs1799983 G>T	fT	0,33	0,34	0,682	p=0,591	p=0,855	p=0,384	p= 0,586
		GG	148 (44,18)	471 (43,61)		OR=0,951	OR=0,763-	OR=1,203	
		GT	156 (46,57)	491 (45,46)		(0,790-	1,251	(0,793-	
	TT	31 (9,25)	118 (10,92)	1,143)			1,824)		
	rs2070744 T>C	fC	0,41	0,40		p=0,53	p=0,407	p=0,858	p= 0,503
		TT	115 (34,23)	398 (36,72)		OR=1,062	OR=1,115	OR=0,970	
TC		166 (49,40)	513 (47,32)	(0,891-	(0,862-	(0,696-			
CC	55 (16,37)	173 (15,96)	1,267)	1,442)	1,352)				
MTH FR	rs1081133 G>A	fA	0,33	0,35	0,525	p=0,285	p=0,258	p=0,633	p= 0,291
		GG	155 (46,27)	464 (42,76)		OR=0,905	OR=0,868	OR=1,097	
		GA	141 (42,09)	484 (44,61)		(0,753-	(0,678-	(0,751-	
		AA	39 (11,64)	137 (12,63)		1,087)	1,110)	1,602)	
ZNF3 85D	rs388647 G>A	fA	0,19	0,19	0,900	p=0,882	p=0,779	p=0,783	p= 0,997
		GG	219 (65,37)	717 (66,20)		OR=1,017	OR=. 1,038	OR=1,100	
		GA	105 (31,34)	327 (30,19)		(0,815-	(0,802-	(0,557-	
		AA	11 (3,28)	39 (3,60)		1,269)	1,343)	2,173)	
CDK N2B- AS1	rs1075727 8 A>G	fG	0,49	0,51	0,787	p=0,512	p=0,665	p=0,516	p= 0,506
		AA	79 (23,58)	268 (24,75)		OR=1,060	OR=1,066	OR=0,9110	
		AG	171 (51,04)	559 (51,62)		(0,891-	(0,799-	(,0686-	
	GG	85 (25,37)	256 (23,64)	1,260)		1,421)	1,209)		
	rs1333049 G>C	fC	0,51	0,50		p=0,495	p=0,587	p=0,561	p= β,489
		GG	78 (23,35)	268 (24,81)		OR=1,062	OR=1,082	OR=0,919	
GC		171 (51,20)	554 (51,30)	(0,893-	(0,812-	(0,693-			
CC	85 (25,45)	258 (23,89)	1,264)	1,446)	1,220)				
MMP -9	rs2274755 G>T	fT	0,14	0,15	0,607	p=0,389	p=0,333	p=0,991	p= 0,393
		GG	251 (74,93)	783 (72,23)		OR=0,896	OR=0,871	OR=1,004	
		GT	76 (22,69)	275 (25,27)		(0,698-	(0,658-	(0,450-	
		TT	8 (2,39)	26 (2,40)		1,150)	1,152)	2,240)	
CNT N3	rs7635818 G>C	fC	0,44	0,44	0,832	p=0,694	p=0,930	p=0,55194	p= 0,694
		GG	105 (31,25)	336 (31,00)		OR=0,966	OR=0,988	OR=1,100	
		GC	169 (50,30)	532 (49,08)		(0,811-	(0,759-	(0,804-	
		CC	62 (18,45)	216 (19,93)		1,150)	1,287)	1,504)	

**Tabelle A2:** Auswertung aller Fälle und GoKard-Kontrollen

Gen	SNP	Allelfrequenz, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltene Allel)				
		Fälle	Kontrollen	p- Wert* (Pear- son)	Unter- schied Allel- frequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armit- age Trend Test	
MMP-2	rs2285053 C>T	fT	0,23	0,23		p=0,976	p=0,752	p=0,311	p= 0,976
		CC	252 (75,45)	539 (76,35)	0,516	OR=1,004 (0,762- 1,324)	OR=1,050 (0,775- 1,423)	OR=1,908 (0,535- 6,806)	
		CT	79 (23,65)	155 (21,95)					
TT	3 (0,90)	12 (1,70)							
FBN1	rs1051917 7 A>G	fG	0,24	0,23		p=0,498	p=0,360	p=0,843	p= 0,500
		AA	191 (56,85)	423 (59,83)	0,585	OR=1,077 (0,868- 1,337)	OR=1,131 (0,869- 1,471)	OR=1,059 (0,598- 1,877)	
		AG	127 (37,80)	244 (34,51)					
GG	18 (5,36)	40 (5,66)							
	rs4774517 G>T	fT	0,24	0,23		p=0,500	p=0,341	p=0,768	p= 0,501
		GG	190 (56,89)	423 (60,00)	0,533	OR=1,077 (0,867- 1,338)	OR=1,137 (0,873- 1,480)	OR=1,092 (0,608- 1,960)	
		GT	127 (38,02)	243 (34,47)					
TT	17 (5,09)	39 (5,53)							
	rs755251 A>G	fG	0,24	0,22		p=0,472	p=0,360	p=0,918	p= 0,472
		AA	193 (57,61)	429 (60,59)	0,612	OR=1,083 (0,871- 1,346)	OR=1,131 (0,869- 1,473)	OR=1,031 (0,572- 1,860)	
		AG	125 (37,31)	242 (34,18)					
GG	17 (5,07)	37 (5,23)							
	rs1036477 A>G	fG	0,12	0,09		<b>p=0,031</b>	<b>p=0,026</b>	p=0,648	<b>p= 0,035</b>
		AA	258 (76,79)	584 (82,60)	0,083	OR=1,376 (1,029- 1,839)	OR=1,435 (1,043- 1,975)	OR=0,789 (0,283- 2,190)	
		AG	72 (21,43)	113 (15,98)					
GG	6 (1,79)	10 (1,41)							
	rs2118181 T>C	fC	0,12	0,09		<b>p=0,026</b>	<b>p=0,022</b>	p=0,646	<b>p= 0,030</b>
		TT	258 (76,79)	586 (82,77)	0,071	OR=1,390 (1,039- 1,858)	OR=1,452 (1,055- 1,999)	OR=0,788 (0,284- 2,186)	
		TC	72 (21,43)	112 (15,82)					
CC	6 (1,79)	10 (1,41)							
	rs625034 T>C	fC	0,11	0,08		p=0,056	<b>p=0,017</b>	p=0,174	p= 0,056
		TT	263 (78,27)	596 (84,30)	<b>0,010</b>	OR=1,347 (0,992- 1,829)	OR=1,490 (1,072- 2,071)	OR=3,834 (0,478- 30,780)	
		TC	72 (21,43)	103 (14,57)					
CC	1 (0,30)	8 (1,13)							
	rs1036476 T>C	fC	0,11	0,08		<b>p=0,049</b>	<b>p=0,014</b>	p=0,174	<b>p= 0,049</b>
		TT	263 (78,27)	597 (84,44)	<b>0,008</b>	OR=1,395 (1,000- 1,846)	OR=1,506 (1,084- 2,094)	OR=3,83 (0,478- 30,780)	
		TC	72 (21,43)	102 (14,43)					
CC	1 (0,30)	8 (1,13)							
TGFB R1	rs1626340 G>A	fA	0,20	0,20		p=0,796	p=0,747	p=0,112	p= 0,794
		GG	212 (63,10)	454 (64,12)	0,211	OR=0,970 (0,770- 1,221)	OR=1,045 (0,798- 1,369)	OR=1,877 (0,853- 4,130)	
		GA	116 (34,52)	223 (31,50)					
AA	8 (2,38)	31 (4,38)							
TGFB R2	rs1036095 G>C	fC	0,27	0,25		p=0,224	p=0,194	p=0,068	p= 0,231
		GG	178 (53,13)	407 (57,40)	0,431	OR=1,138 (0,924- 1,402)	OR=1,89 (0,915- 1,543)	OR=0,900 (0,545- 1,487)	
		GC	132 (39,40)	254 (35,83)					
CC	25 (7,46)	48 (6,77)							
	rs4522809 A>G	fG	0,42	0,47		<b>p=0,032</b>	<b>p=0,029</b>	p=0,196	<b>p= 0,030</b>
		AA	113 (33,73)	192 (27,16)	0,077	OR=0,817 (0,678- 0,983)	OR=0,732 (0,553- 0,970)	OR=1,245 (0,893- 1,735)	
		AG	162 (48,36)	364 (51,49)					
GG	60 (17,91)	151 (21,36)							

DAB2 IP	rs7025486 G>A	fA	0,27	0,27	0,982	p=0,855	p= 0,885	p=0,870	p= 0,855	
		GG	177 (52,84)	378 (53,31)		OR=1,019	OR=1,019	OR=0,960		
		GA	132 (39,40)	278 (29,21)		(0,830-	(0,786-	(0,589-		
		AA	26 (7,76)	53 (7,48)		1,253)	1,323)	1,565)		
LRP1	rs1466535 G>A	fA	0,35	0,34	0,200	p=0,521	p=0,181	p=0,443	p= 0,505	
		GG	131 (38,99)	307 (43,36)		OR=1,065	OR=1,198	OR=1,191		
		GA	175 (52,08)	327 (46,19)		(0,878-	(0,919-	(0,762-		
		AA	30 (8,93)	74 (10,45)		1,292)	1,561)	1,859)		
AGT R1	rs5186 A>C	fC	0,28	0,26	0,571	p=0,531	p=0,822	p=0,202	p= 0,536	
		AA	180 (53,57)	384 (54,31)		OR=1,068	OR=1,030	OR=0,776		
		AC	126 (37,50)	273 (38,61)		(0,869-	(0,794-	(0,484-		
		CC	30 (8,93)	50 (7,07)		1,313)	1,337)	1,245)		
NOS3	rs1799983 G>T (?)	fT	0,33	0,34	0,809	p=0,581	p=0,715	p=0,534	p= 0,572	
		GG	148 (44,18)	303 (42,98)		OR=0,946	OR=0,952	OR=1,150		
		GT	156 (46,57)	328 (46,52)		(0,778-	(0,733-	(0,740-		
		TT	31 (9,25)	74 (10,50)		1,151)	1,238)	1,788)		
	rs2070744 T>C	fC	0,41	0,39	0,473	p=0,286	p=0,221	p=0,686	p= 0,288	
		TT	115 (34,23)	270 (38,14)		OR=1,107	OR=1,185	OR==0,930		
		TC	166 (49,40)	329 (46,47)		(0,918-	(0,903-	(0,653-		
		CC	55 (16,37)	109 (15,40)		1,335)	1,554)	1,324)		
MTH FR	rs1081133 G>A	fA	0,33	0,36	0,312	p=0,119	p=0,197	p=0,226	p= 0,128	
		GG	155 (46,27)	298 (42,03)		OR=0,857	OR=0,842	OR=1,275		
		GA	141 (42,09)	309 (43,58)		(0,705-	(0,648-	(0,860-		
		AA	39 (11,64)	102 (14,39)		1,040)	1,092)	1,892)		
ZNF3 85D	rs388647 G>A	fA	0,19	0,20	0,814	p=0,704	p=0,852	p=0,521	p= 0,704	
		GG	219 (65,37)	458 (64,78)		OR=0,956	OR=0,974	OR=1,260		
		GA	105 (31,34)	220 (31,12)		(0,757-	(0,742-	(0,622-		
		AA	11(3,28)	29 (4,10)		1,207)	1,280)	2,554)		
CDK N2B- AS1	rs1075727 8 A>G	fG	0,51	0,49	0,637	p=0,475	p=0,345	p=0,829	p= 0,477	
		AA	79 (23,58)	186 (26,31)		OR=1,069	OR=1,157	OR=0,967		
		GA	171 (51,04)	346 (48,94)		(0,890-	(0,855-	(0,717-		
	GG	85 (25,37)	175 (24,75)	1,285)		1,566)	1,305)			
	rs1333049 G>C	fC	0,51	0,49		0,542	p=0,419	p=0,273	p=0,828	p= 0,421
		GG	78 (23,35)	187 (26,52)			OR=1,079	OR=1,185	OR=0,967	
GC		171 (51,20)	343 (48,65)	(0,897-	(0,875-		(0,717-			
CC	85 (25,45)	175 (24,82)	1,297)	1,605)	1,305)					
MMP -9	rs2274755 G>T	fT	0,14	0,16	0,444	p=0,246	p=0,207	p=0,881	p= 0,250	
		GG	251 (74,93)	504 (71,19)		OR=0,856	OR=0,827	OR=1,066		
		GT	76 (22,69)	186 (26,27)		(0,658-	(0,615-	(0,459-		
		TT	8 (2,39)	18 (2,54)		1,113)	1,111)	2,478)		
CNT N3	rs7635818 G>C	fC	0,44	0,45	0,500	p=0,418	p=0,833	p=0,243	p= 0,422	
		GG	105 (31,25)	217 (30,61)		OR=0,927	OR=0,970	OR=1,216		
		GC	169 (50,30)	339 (47,81)		(0,770-	(0,733-	(0,875-		
		CC	62 (18,45)	153 (21,58)		1,115)	1,285)	1,689)		

**Tabelle A3:** Auswertung der HIFAM-Fälle und GoKard-Kontrollen

Gen	SNP	Allelfrequenz, Genotypenverteilung [n (%)]			Assoziationstestung (seltene Allel)				
		Fälle	Kontrollen	p- Wert* (Pear- son)	Unter- schied Allel- frequenz	Dominantes Modell	Rezessives Modell	Armit- age Trend Test	
MMP-2	rs2285053 C>T	fT	0,12	0,13	0,467	p=0,791	p=0,964	p=0,232	p=0,790
		CC	144 (76,19)	539 (76,35)		OR=0,954	OR=1,009	OR=3,251	
		CT	44 (23,28)	155 (21,95)		(0,675-1,349)	(0,692-1,471)	(0,420-25,159)	
		TT	1 (0,53)	12 (1,70)					
FBN1	rs1051917 7 A>G	fG	0,23	0,23	0,400	p=0,994	p=0,630	p=0,278	p=0,994
		AA	110 (57,89)	423 (59,83)		OR=0,999	OR=1,083	OR=1,568	
		AG	73 (38,42)	244 (34,51)		(0,763-1,308)	(0,783-1,499)	(0,691-3,558)	
		GG	190 (3,68)	50 (5,66)					
	rs4774517 G>T	fT	0,23	0,23	0,436	p=0,965	p=0,616	p=0,319	p=0,965
		GG	109 (57,98)	432 (60,00)		OR=1,006	OR=1,087	OR=1,514	
		GT	71 (38,30)	243 (34,47)		(0,767-1,319)	(0,784-1,507)	(0,666-3,442)	
		TT	7 (3,72)	39 (5,53)					
	rs755251 A>G	fG	0,22	0,22	0,578	p=0,969	p=0,739	p=0,389	p=0,969
		AA	112 (59,26)	429 (60,59)		OR=0,995	OR=1,057	OR=1,434	
		AG	70 (37,04)	242 (34,18)		(0,757-1,307)	(0,762-1,466)	(0,629-3,269)	
		GG	7 (3,70)	37 (5,23)					
	rs1036477 A>G	fG	0,11	0,09	0,700	p=0,418	p=0,507	p=0,495	p=0,434
		AA	153 (80,53)	584 (82,60)		OR=1,165	OR=1,148	OR=0,667	
		AG	33 (17,37)	113 (15,98)		(0,805-1,686)	(0,763-1,727)	(0,207-2,151)	
		GG	4 (2,11)	10 (1,41)					
	rs2118181 T>C	fC	0,11	0,09	0,679	p=0,389	p=0,372	p=0,494	p=0,406
		TT	153 (80,53)	586 (82,77)		OR=1,176	OR=1,162	OR=0,666	
		TC	33 (17,37)	112 (15,82)		(0,812-1,704)	(0,772-1,748)	(0,207-2,148)	
		CC	4 (2,11)	10 (1,41)					
	rs625034 T>C	fC	0,10	0,08	0,265	p=0,332	p=0,213	p=0,457	p=0,339
		TT	153 (80,53)	596 (84,30)		PR=1,209	OR=1,298	OR=2,163	
		TC	36 (18,95)	103 (14,57)		(0,823-1,775)	(0,860-1,961)	(0,269-17,402)	
		CC	1 (0,53)	8 (1,13)					
	rs1036476 T>C	fC	0,10	0,08	0,245	p=0,309	p=0,196	p=0,457	p=0,317
		TT	153 (80,53)	597 (84,44)		OR=1,220	OR=1,312	OR=2,163	
		TC	36 (18,95)	102 (14,43)		(0,831-1,793)	(0,869-1,983)	(0,269-17,402)	
		CC	1 (0,53)	8 (1,13)					
TGFB R1	rs1626340 G>A	fA	0,23	0,20	0,342	p=0,192	<b>p=0,039</b>	p=0,198	p=0,187
		GG	117 (61,58)	454 (64,12)		OR=1,191	OR=1,390	OR=1,859	
		GA	68 (35,79)	223 (31,50)		(0,916-1,548)	(1,016-1,903)	(0,714-4,843)	
		AA	5 (2,63)	31 (4,38)					
TGFB R2	rs1036095 G>C	fC	0,26	0,25	0,770	p=0,480	p=0,473	p=0,759	p=0,487
		GG	103 (54,50)	407 (57,40)		OR=1,098	OR=1,125	OR=0,908	
		GC	72 (38,10)	254 (35,83)		(0,848-1,421)	(0,815-1,554)	(0,489-1,684)	
		CC	14 (7,41)	48 (6,77)					
	rs4522809 A>G	fG	0,42	0,47	0,207	p=0,081	p=0,126	p=0,180	p=0,076
		AA	62 (32,80)	192 (27,16)		OR=0,815	OR=0,764	OR=1,332	
		AG	95 (50,26)	364 (51,49)		(0,648-1,026)	(0,540-1,079)	(0,875-2,029)	
		GG	32 (16,93)	151 (21,36)					

DAB2 IP	rs7025486 G>A	fA	0,27	0,27	0,951	p=0,970	p=0,873	p=0,831	p= 0,970
		GG	102 (53,97)	378 (53,31)		OR=0,995	OR=0,974	OR=0,937	
		GA	72 (38,10)	278 (39,21)		(0,771-	(0,706-	(0,516-	
		AA	15 (7,94)	53 (7,48)		1,285)	1,344)	1,703)	
LRP1	rs1466535 G>A	fA	0,36	0,34	0,230	p=0,360	p=0,137	p=0,693	p= 0,345
		GG	71 (37,37)	307 (43,36)		OR=1,117	OR=1,283	OR=1,115	
		GA	101 (53,16)	327 (46,19)		(0,881-	(0,923-	(0,649-	
		AA	18 (8,47)	74 (10,45)		1,415)	1,784)	1,918)	
AGT R1	rs5186 A>C	fC	0,30	0,26	0,127	p=0,191	p=0,588	p=0,042	p= 0,199
		AA	99 (52,11)	384 (54,3)		OR=1,181	OR=1,093	OR=0,581	
		AC	69 (36,32)	273 (38,61)		(0,920-	(0,793-	(0,342-	
		CC	22 (11,58)	50 (7,079)		1,516)	1,506)	0,987)	
NOS3	rs1799983 G>T	fT	0,34	0,34	0,739	p=0,953	p=0,771	p=0,544	p= 0,952
		GG	79 (41,80)	303 (42,98)		OR=0,993	OR=1,049	OR=1,187	
		GT	93 (49,21)	328 (46,52)		(0,781-	(0,758-	(0,682-	
		TT	17 (8,99)	74 (10,50)		1,262)	1,453)	2,064)	
	rs2070744 T>C	fC	0,39	0,39	0,891	p=0,910	p=0,744	p=0,822	p= 0,911
		TT	70 (36,84)	270 (38,14)		OR=1,013	OR=1,057	OR=1,053	
		TC	91 (48,42)	329 (46,47)		(0,803-	(0,759-	(0,671-	
		CC	28 (14,74)	109 (15,40)		1,278)	1,472)	1,651)	
MTH FR	rs1081133 G>A	fA	0,31	0,36	0,087	p=0,047	p=0,212	p=0,032	p= 0,051
		GG	89 (47,09)	298 (42,03)		OR=0,781	OR=0,815	OR=1,817	
		GA	84 (44,44)	309 (43,58)		(0,612-	(0,590-	(1,045-	
		AA	16 (8,47)	102 (14,39)		0,997)	1,124)	3,160)	
ZNF3 85D	rs388647 G>A	fA	0,18	0,20	0,717	p=0,539	p=0,450	p=0,0936	p= 0,544
		GG	128 (67,72)	458 (64,78)		OR=0,912	OR=0,877	OR=0,968	
		GA	53 (28,04)	220 (31,12)		(0,681-	(0,623-	(0,435-	
		AA	8 (4,23)	29 (4,10)		1,222)	1,234)	2,153)	
CDK N2B- AS1	rs1075727 8 A>G	fG	0,51	0,49	0,806	p=0,526	p=0,688	p=0,530	p= 0,531
		AA	47 (24,87)	186 (26,31)		OR=1,076	OR=1,079	OR=0,890	
		AG	91 (48,15)	346 (48,94)		(0,858-	(0,745-	(0,619-	
		GG	51 (26,98)	175 (24,75)		1,350)	1,561)	1,281)	
	rs1333049 G>C	fC	0,51	0,49	0,803	p=0,510	p=0,645	p=0,544	p= 0,516
		GG	47 (24,87)	187 (26,52)		OR=1,079	OR=1,091	OR=0,893	
		GC	91 (48,15)	343 (48,65)		(0,860-	(0,754-	(0,621-	
		CC	51 (26,98)	175 (24,82)		1,355)	1,579)	1,286)	
MMP -9	rs2274755 G>T	fT	0,12	0,16	0,142	p=0,050	p=0,071	p=0,220	p= 0,050
		GG	147 (77,78)	504 (71,19)		OR=0,709	OR=0,706	OR=2,439	
		GT	40 (21,26)	186 (26,27)		(0,502-	(0,483-	(0,561-	
		TT	2 (1,06)	18 (2,54)		1,001)	1,032)	10,606)	
CNT N3	rs7635818 G>C	fC	0,41	0,45	0,233	p=0,084	p=0,173	p=0,151	p= 0,089
		GG	68 (35,79)	217 (30,61)		OR=0,817	OR=0,791	OR=1,359	
		GC	90 (47,37)	339 (47,81)		(0,649-	(0,565-	(0,893-	
		CC	32 (16,84)	153 (21,58)		1,028)	1,108)	2,068)	

Tabellen A1-A3:

Die p-Werte wurden auf drei Stellen, Prozentzahlen auf zwei Stellen gerundet. Die OR ist jeweils mit dem 95% Konfidenzintervall angegeben. Statistisch signifikante Werte sind rot.

fX= Allelfrequenz des jeweils in dieser Studie seltenen Allels X

X>Y = in dieser Studie häufiges Allel X, seltenes Allel Y

\*Signifikanz des Unterschiedes in der Genotypenverteilung zwischen Fall- und Kontrollgruppe



**Tabelle A4:** Berechnung des Hardy-Weinberg-Equilibriums

Gen	SNP	p-Werte des Hardy-Weinberg-Equilibriums (Pearson/ Likelihood ratio/ Fisher's Exact Test)			
		alle Fälle	alle Kontrollen	HIFAM-Fälle	GoKard-Kontrollen
MMP-2	rs2285053	0,235/ 0,205/ 0,326	0,314/ 0,300/ 0,400	0,221/ 0,172/ 0,320	0,824/ 0,825/ 0,865
FBN1	rs10519177	0,599/ 0,597/ 0,658	0,438/ 0,441/ 0,441	0,224/ 0,211/ 0,304	0,540/ 0,542/ 0,524
	rs4774517	0,472/ 0,468/ 0,551	0,455/ 0,458/ 0,439	0,241/ 0,228/ 0,304	0,598/ 0,600/ 0,593
	rs755251	0,573/ 0,570/ 0,652	0,677/ 0,678/ 0,665	0,326/ 0,314/ 0,404	0,706/ 0,707/ 0,745
	rs1036477	0,708/ 0,713/ 0,623	0,064/ 0,080/ 0,085	0,178/ 0,2147/ 0,242	0,098/ 0,122/ 0,117
	rs2118181	0,708/ 0,713/ 0,623	0,058/ 0,073/ 0,060	0,178/ 0,214/ 0,242	0,087/ 0,110/ 0,114
	rs625034	0,087/ <b>0,047</b> / 0,155	0,109/ 0,130/ 0,132	0,468/ 0,433/ 0,700	0,144/ 0,172/ 0,142
	rs1036476	0,087/ <b>0,047</b> / 0,155	0,099/ 0,120/ 0,130	0,468/ 0,433/ 0,700	0,130/ 0,159/ 0,136
TGFBR1	rs1626340	0,086/ 0,073/ 0,118	0,659/ 0,657/ 0,716	<b>0,018/ 0,012/ 0,019</b>	0,588/ 0,590/ 0,560
TGFBR2	rs1036095	0,938/ 0,938/ 1,000	0,270/ 0,273/ 0,286	0,773/ 0,774/ 0,851	0,332/ 0,335/ 0,363
	rs4522809	0,883/ 0,884/ 0,911	0,195/ 0,194/ 0,222	0,667/ 0,667/ 0,766	0,378/ 0,378/ 0,407
DAB2IP	rs7025486	0,840/ 0,841/ 0,891	0,572/ 0,573/ 0,593	0,648/ 0,649/ 0,711	0,848/ 0,849/ 0,849
LRP1	rs1466535	<b>0,008/ 0,007/ 0,008</b>	0,756/ 0,754/ 0,786	<b>0,035/ 0,033/ 0,042</b>	0,339/ 0,338/ 0,355
AGTR1	rs5186	0,246/ 0,250/ 0,275	0,088/ 0,852/ 0,978	0,071/ 0,075/ 0,082	0,876/ 0,877/ 0,847
NOS3	rs1799983	0,267/ 0,263/ 0,319	0,554/ 0,553/ 0,586	0,158/ 0,153/ 0,193	0,285/ 0,283/ 0,313
	rs2070744	0,705/ 0,705/ 0,736	0,720/ 0,720/ 0,751	0,802/ 0,802/ 0,879	0,596/ 0,596/ 0,634
MTHFR	rs1081133	0,426/ 0,427/ 0,456	0,538/ 0,538/ 0,548	0,538/ 0,536/ 0,610	0,134/ 0,135/ 0,143
ZNF385D	rs388647	0,712/ 0,710/ 0,859	0,820/ 0,821/ 0,841	0,407/ 0,418/ 0,462	0,691/ 0,692/ 0,721
CDKN2B-AS1	rs1075727	0,698/ 0,698/ 0,744	0,286/ 0,286/ 0,302	0,615/ 0,615/ 0,662	0,577/ 0,577/ 0,598
	rs1333049	0,656/ 0,656/ 0,742	0,393/ 0,393/ 0,429	0,615/ 0,615/ 0,662	0,479/ 0,479/ 0,498
MMP-9	rs2274755	0,438/ 0,450/ 0,486	0,751/ 0,752/ 0,723	0,692/ 0,683/ 1,000	0,865/ 0,866/ 0,887
CNTN3	rs7635818	0,677/ 0,677/ 0,740	0,836/ 0,836/ 0,854	0,811/ 0,811/ 0,880	0,340/ 0,349/ 0,363

## **11. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mir mit ihrer Unterstützung die Fertigstellung dieser Promotionsschrift ermöglicht haben.

An erster Stelle ist hier mein Doktorvater Herr Prof. Dr. Fischer zu nennen, der die Dissertation betreut hat. Für die Anleitung und Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken. Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Dr. Christine Meindl für die Hilfestellung bei der Planung und Durchführung sowie für die aufmerksame Korrektur dieser Arbeit. Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. Ute Hubauer, die unsere Arbeitsgruppe nicht nur mit Fachwissen und konstruktiven Vorschlägen unterstützt, sondern uns auch mit viel Elan und Witz die Arbeit erleichtert hat. Dank gebührt ebenso Herrn Josef Simon, der mich im Labor geduldig mit Materialien versorgte und tatkräftig unterstützte, sowie Frau Dr. Martina Zimmermann für die Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Genotypisierung.

Weiterhin möchte ich mich bei meinem persönlichen Umfeld bedanken. An erster Stelle möchte ich Frau Dr. Birgit Haslböck nennen, die mich nicht nur als Mitstreiterin auf dem Weg zur Dissertation am Institut für Innere Medizin II unterstützt hat, sondern mir auch als Freundin bereits jahrelang mit Rat und Tat zur Seite steht. Auch unserer gemeinsamen Freundin Dr. Ingrid Weiß gebührt an dieser Stelle Dank für die zahlreichen Aufmunterungen und ein allzeit offenes Ohr.

Bedanken möchte ich mich selbstverständlich auch bei meinen Eltern, die mir in allen Lebenslagen den Rücken stärken. Durch sie sind das Medizinstudium und damit diese Arbeit überhaupt erst möglich geworden. Für ihre Liebe, Unterstützung und Fürsorge bin ich ihnen sehr dankbar. Ebenso danke ich meiner Zwillingschwester Dr. Elena Dalilah Bruckner, die mich seit jeher begleitet und eine große Stütze für mich ist. Zuletzt danke ich natürlich auch meinem Freund Alessandro Singelmann. Nachsichtig und verständnisvoll hat er mich nicht nur bei der Arbeit an dieser Dissertation unterstützt, sondern mir auch tatkräftig den Rücken freigehalten und damit ebenfalls einen großen Beitrag zur Fertigstellung dieser Arbeit geleistet.

Bei allen möchte ich mich von Herzen bedanken.