

Klinik für Herz- und Kreislauferkrankungen,
Technische Universität München
Deutsches Herzzentrum München des Freistaates Bayern
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Schömig)

4G5G-Polymorphismus des PAI-1-Genes und Restenoserisiko nach koronarer Stentimplantation

Christina Lahn

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:	Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier
Prüfer der Dissertation:	
	1. Univ.-Prof. A. Kastrati
	2. apl. Prof. Dr. W. Theiss

Die Dissertation wurde am 14.07.2003 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.02.2004 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungen	5
2	Einleitung	7
3	Hintergrund	9
3.1	Koronare Herzkrankheit	9
3.1.1	Risikofaktoren	9
3.1.2	Diagnostik	10
3.1.3	Therapie	10
3.2	Stent-Restenose	18
3.2.1	Einleitung	18
3.2.2	Interaktion zwischen Koronarstent und Gefäßwand	19
3.2.3	Pathophysiologie der Neointimabildung	20
3.2.4	Genpolymorphismen	21
3.2.5	Das fibrinolytische System	22
3.3	PAI-1	22
3.3.1	Gen	22
3.3.2	Protein	23
3.3.3	Funktion	23
3.3.4	Regulation des PAI-1-Plasmaspiegels	25
3.3.5	Der 4G5G-Polymorphismus	27
3.4	Fragestellung	28

4	Studiendesign	29
4.1	Patientenkollektiv	29
4.1.1	Einschlusskriterien	29
4.2	Methoden	30
4.2.1	Geräte und Bezugsquellen	30
4.2.2	DNA-Präparation	31
4.2.3	Ermittlung des Genotyps	34
4.3	Datenverarbeitung und statistische Methoden	40
5	Ergebnisse	43
5.1	Definitionen	43
5.2	Patienten-Charakteristika	45
5.3	Akute und subakute thrombotische Ereignisse	45
5.4	Angiographische Restenose	46
6	Diskussion	53
7	Zusammenfassung	61
8	Literaturverzeichnis	63
9	Danksagung	89

1 Abkürzungen

Häufig verwendete Abkürzungen:

- ACC: American College of Cardiology
- ACE-Hemmer: Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer
- ACVB: Aortokoronarer Venenbypass
- AHA: American Heart Association
- CCS: Canadian Cardiovascular Society
- CRP: C-reaktives Protein
- DHM: Deutsches Herzzentrum München
- DNA: Desoxiribonukleinsäure
- dNTP: Desoxiribonukleotide
- KHK: Koronare Herzkrankheit
- LAD: Arteria coronaria sinistra, Ramus interventricularis anterior
- LCx: Arteria coronaria sinistra, Ramus circumflexus
- MACE: Major adverse cardiac events
- OR: Odds ratio
- PAI-1: Plasminogen Aktivator Inhibitor-1
- PCR: Polymerase-Kettenreaktion
- PTCA: Perkutane transarterielle Koronarangioplastie
- RCA: Arteria coronaria dextra
- TGF: Transforming growth factor

1 Abkürzungen

- TIMI: Thrombolysis in myocardial infarction
- TNF: Tumor Nekrose Faktor
- t-PA: Tissue-type Plasminogen Aktivator
- UK: Urokinase
- UV: Ultraviolett

2 Einleitung

Die vorliegende Arbeit wurde am Deutschen Herzzentrum München (DHM) in Zusammenarbeit mit der Technischen Universität München unter der Leitung von Prof. Dr. Adnan Kastrati durchgeführt.

Bei der koronaren Herzerkrankung gilt die koronare Stentimplantation heute als die Standardtherapie. Hierbei konnte jedoch das Hauptproblem, die Ausbildung von Restenosen, noch nicht gelöst werden. Die Entstehung der Restenosen scheint einem multifaktoriellen Prozess zu unterliegen. Es gibt Hinweise, dass auch das Fibrinolyse-System am Prozess der Restenoseentstehung beteiligt ist. Hierbei ist insbesondere PAI-1 (Plasminogen Aktivator Inhibitor-1) zu nennen. Es ist ein biallelischer Polymorphismus des PAI-1-Gens bekannt, dessen funktionelle Relevanz in einer unterschiedlichen PAI-1-Produktion resultiert. Das Ziel dieser Studie ist es, in einer großen Patientenkohorte eine mögliche Assoziation zwischen diesem 4G5G-Polymorphismus von PAI-1 und der Restenose nach koronarer Stentimplantation festzustellen.

3 Hintergrund

3.1 Koronare Herzkrankheit

Die Koronare Herzkrankheit und ihre thrombotischen Komplikationen stellen die Hauptmortalitäts- und Hauptmorbidityursache in den westlichen Ländern dar.

3.1.1 Risikofaktoren

Hauptrisikofaktoren für das Auftreten der KHK (Koronare Herzkrankheit) sind: Störungen des Lipoproteinstoffwechsels, Adipositas, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus, Alter, männliches Geschlecht, Familienanamnese mit frühzeitiger Manifestation einer koronaren Herzerkrankung, Homocystein; auch erhöhte Entzündungsparameter wie CRP (C-reaktives Protein) oder Fibrinogen sowie chronische Chlamydien- oder Helicobacter pylori-Infektionen werden mit dem Risiko für das Auftreten einer KHK in Zusammenhang gebracht.

3.1.2 Diagnostik

Die Stadieneinteilung der Angina pectoris richtet sich nach der Klassifizierung der CCS (Canadian Cardiovascular Society) (Tab.:3.1) [9]. EKG und Belastungs-EKG stellen wichtige Diagnostika dar. Im Anfall können ST-T-Veränderungen im EKG auftreten. Laboruntersuchungen, wie die Messung von Troponin T und I oder der CK, sind bei der Diagnostik der instabilen Angina pectoris oder dem Myokardinfarkt von Bedeutung. Die Koronarangiographie mit linksventrikulärer Angiographie gilt als das Diagnostikum der Wahl, denn sie erlaubt die selektive, präzise Darstellung der Koronararterien sowie die Beurteilung der regionalen und globalen linksventrikulären Funktion.

3.1.3 Therapie

Als Therapie der koronaren Herzkrankheit stehen inzwischen, neben der Einstellung der kardiovaskulären Risikofaktoren sowie einer medikamentösen Therapie bestehend aus Betablocker, Thrombozytenaggregationshemmer und Cholesterolsynthese-Enzym-Hemmer, die interventionellen Verfahren mit PTCA (perkutane transluminale Koronarangioplastie) und Stentimplantation sowie weiterhin die aortokoronare Bypassoperation (ACVB) zur Verfügung.

Invasive, interventionelle Therapie

PTCA: Die interventionelle Therapie der koronaren Herzkrankheit wurde durch die Einführung der Ballondilatation von Andreas Grüntzig 1977 initiiert [39].

Tabelle 3.1: Einteilung der Symptomatik nach der CCS

Schweregrad 1	Schweregrad 2	Schweregrad 3	Schweregrad 4
Alltägliche Arbeiten und Leben ohne Beschwerden	Geringe Einschränkung der täglichen Arbeit	Erhebliche Einschränkung der täglichen Arbeit	Alltägliche Aktivität ohne Angina nicht mehr möglich
Angina nur bei extremen Belastungen oder schneller oder sehr langer Belastung während der Arbeit	Angina bei schnellerem Gehen und Steigen, Aufwärtsgehen, Gehen nach dem Essen, Gehen in der Kälte und im Wind, unter psychischer Belastung und in den ersten Stunden nach dem Aufwachen	Angina beim Gehen von wenigen Metern, von einer Straße zur anderen, Ersteigen einer Etage bei normalen Bedingungen und normaler Geschwindigkeit	

So haben sich interventionelle Verfahren immer stärker durchgesetzt und die PTCA gehört seit 15 Jahren zu den Standardverfahren in der Behandlung der koronaren Herzkrankheit und ist hier die am häufigsten verwandte Therapieoption [58].

Den bei der PTCA auftretenden Problemen von hoher Restenoserate und Dissektion versucht man durch Stentimplantation beizukommen.

Stent: Die Entwicklung von Stents geht auf die Untersuchungen von Charles Dotter in den 60er Jahren zurück [23]. Ziel ist es, die Gefäß-

3 Hintergrund

wand abzustützen und damit den Erfolg der Aufdehnung oder Aufweitung zu sichern und drohende Verschlüsse, z.B. durch Dissektion, zu verhindern [43, 97, 104, 111].

Die koronare Stentimplantation entwickelte sich zu einer etablierten Methode in der Behandlung suboptimaler Ergebnisse nach konventioneller Angioplastie (PTCA) [4, 35, 89, 106, 110]. Heute ist die Stentimplantation ein Routineverfahren in der interventionellen Kardiologie. Obwohl die Stentimplantation technisch schwieriger ist als die Standard-PTCA, kann eine hohe primäre Erfolgsrate von 94 - 97 % erreicht werden [42, 43, 84, 104, 111]. 1997 wurden in den USA ca. 300000 und in Deutschland 55000 koronare Stentimplantationen durchgeführt [58]. 1998 beinhalteten mehr als 75 % der PTCA eine Stentimplantation [58]. Die koronare Stentimplantation hat im Vergleich zur konventionellen Ballonangioplastie die Restenoseinzidenz signifikant vermindert [58]. Allerdings treten auch nach koronarer Stentimplantation Restenoseraten von ca. 20 - 30 % auf [58].

Zur Prognoseabschätzung nach koronarer Stentimplantation wird häufig eine modifizierte ACC/AHA-Einteilung (American College of Cardiology/American Heart Association-Einteilung) (Tab.:3.2) [100, 99] benutzt, in der Typ A und B1-Läsionen als einfache, Typ B2- und C-Läsionen als komplexe Läsionen gewertet werden.

Komplikationen der Stentimplantation

Die Risikoabschätzung nach Koronarintervention ist eng mit der Gefäßanatomie verbunden. Unterschieden wird in eine 1-, 2-, 3-Gefäßerkrankung in Abhängigkeit von der Zahl der Läsionen mit einer Durchmesserstenose von mehr als 50 %. Die Einteilung der Segmente wird entsprechend der ACC/AHA-Einteilung (Tab.:3.2) vorgenommen [2, 98]. Die Koronarperfusion wird in vier Klassen eingeteilt, um eine semiquantitative Abschätzung zu erreichen. Verwendet wird die Gradu-

3 Hintergrund

Tabelle 3.2: Stenosegraduierung modifiziert nach der ACC/AHA

<i>Typ A-Stenose</i> (Erfolgsquote > 95 %)	<ul style="list-style-type: none">• umschrieben (weniger als 1 cm)• konzentrisch• glatt konturiert• leicht erreichbar• wenig anguliert (< 45°)• nur wenig Kalk• entfernt vom Ostium• nicht am Abgang von Seitenästen• kein Thrombus
<i>Typ B-Stenose</i> ① Typ B1-Stenose: ein Kriterium (Erfolgsquote 90 - 95 %) ② Typ B2-Stenose: mehr als ein Kriterium (Erfolgsquote 80 - 85 %)	<ul style="list-style-type: none">• tubuläre Stenose (1 - 2 cm)• exzentrische Stenose• irreguläre Kontur• geschlängeltes Gefäß• stark anguliert (> 45°)• geringe bis ausgedehnte Verkalkung• Ostiumstenose• Bifurkationsstenose• sichtbarer Thrombus
<i>Typ C-Stenose</i> (Erfolgsquote 75 %)	<ul style="list-style-type: none">• diffuse Stenosierung (> 2 cm)• stark geschlängeltes Gefäß• starke Angulierung (> 90°)• Einbeziehung eines großen Seitenastes• degenerativ veränderter koronarer Bypass• Gefäßverschluss

ierung nach der TIMI-Klassifizierung (thrombolysis in myocardial infarction) (Tab.:3.3) [13]. Mit 50 - 70 % ist auch heute noch die Erfolgsrate bei Rekanalisationsversuchen niedrig. Die Rezidivrate nach alleiniger Ballonangioplastie liegt bei stabiler Angina pectoris bei 30 bis 40 %, bei instabiler Angina pectoris bei 40 bis 50 %, bei rekanalisierten Verschlüssen bei 50 %. Die gleichzeitige Implantation von intrakoronaren Stents reduziert diese Rezidivraten um jeweils etwa 10 %. Die Stents sichern bei ungünstigem Dilatationsergebnis oder Dissektionen (bail-out-stents) die Koronarperfusion und reduzieren die Zahl der erforderlichen Notoperationen. Das Risiko der PTCA ist heute geringer als noch vor wenigen Jahren, da die Stentimplantation insbesondere bei Dissektionen eine Abstützung der Gefäßwand ermöglicht und damit eine notfallmäßige operative Intervention meist vermieden werden kann.

3 Hintergrund

Die Ausweitung der Indikation auch auf Mehrgefäßerkrankungen hat jedoch dazu geführt, dass die Zahl der schweren Komplikationen insgesamt nicht abgenommen hat. In den letzten Jahren wurden 3 Hauptkriterien bzw. Haupteinschränkungen der konventionellen PTCA deutlich:

1. Läsionen, die für die konventionelle PTCA primär ungeeignet erscheinen oder bei denen die PTCA erfolglos abgebrochen werden muss (ca. 6 %)
2. Akute Gefäßverschlüsse durch Dissektion, Thromben oder Gefäßspasmen (2 - 9 %)
3. Eine Restenoserate von mindestens 30 - 45 % nach primär erfolgreicher PTCA.

Die Einführung neuer Behandlungsverfahren hat sicherlich die Risikobeurteilung beeinflusst. Dissektionen können durch Stentimplantationen stabilisiert werden. Bei instabiler Angina pectoris kann wahrscheinlich die Gefährdung durch die Vorbehandlung mit dem Glycoprotein IIb/IIIa Rezeptor-Blocker gesenkt werden [1, 118]. Der Erfolg nach Öffnung eines Gefäßverschlusses wird mit Hilfe der TIMI-Klassifikation (Tab.:3.3) abgeschätzt, wobei eine Reperfusion entsprechend einer TIMI-Klassifikation Grad 3 erreicht werden sollte.

Die langfristige Erfolgsbeurteilung nach koronarer Stentimplantation wird am Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen (MACE - major adverse cardiac events) gemessen. Hierzu zählen Tod, akuter Stentverschluss und Revaskularisierung. Ebenso werden die Restenosen sowie cerebrale Insulte berücksichtigt. Technische Verfeinerungen und Fortschritte in der postprozeduralen Therapie haben die Rate der kardio-

Tabelle 3.3: TIMI-Klassifizierung

TIMI 0	Verschluss mit fehlender Darstellung im distalen Gefäßanteil
TIMI 1	Verschluss mit Darstellung von wenigen Teilen des distalen Gefäßabschnittes
TIMI 2	Darstellung des Gefäßes distal der Stenose mit verlangsamttem Fluss des Kontrastmittels im Vergleich zu anderen Gefäßarealen
TIMI 3	Normaler Ein- und Abstrom des Kontrastmittels

vaskulären Ereignisse (MACE) während der frühen Nachbehandlungsphase reduziert [15, 107]. Auch heute noch stellen die Reduzierung der Restenoserate und die Verringerung der Inzidenz von Stentverschlüssen sehr große Herausforderungen der interventionellen Kardiologie dar [31, 35, 70, 73, 76, 108]. In den nächsten Kapiteln wird auf diese beiden Probleme näher eingegangen.

Operative Therapie: Als dritte Option neben PTCA und Stentimplantation gibt es die Bypassoperation, die jedoch an eine strenge Indikationsstellung geknüpft ist. Einen umfassenden Einblick hierzu geben die ACC/AHA Guidelines for Coronary Artery Bypass Graft Surgery: Executive Summary and Recommendations.

3.2 Stent-Restenose

3.2.1 Einleitung

Nach der Einführung der Ballonangioplastie im Jahre 1977 durch Grüntzig muss die Anwendung von Stents (Gefäßstützen), die im Jahre 1986 erstmals in menschliche Koronargefäße implantiert wurden, als die bedeutsamste Innovation im Bereich der interventionellen Kardiologie gewertet werden, die sich im Gegensatz zu alternativen Techniken in allen kardiologischen Zentren durchgesetzt hat [93, 110].

Durch die Implantation von Gefäßstützen konnten die akute Komplikationsrate der PTCA und die Häufigkeit der Notfall-Bypass-Operationen, die zumeist durch okkludierende Dissektate bedingt waren, in allen Zentren signifikant gesenkt werden.

Darüber hinaus konnte im Jahre 1993 in zwei unabhängigen Studien in den Vereinigten Staaten und in Europa gezeigt werden, dass sich die Restenoserate der PTCA durch Stents um etwa ein Drittel senken lässt. In der europäischen BENESTENT-Studie wurde eine signifikante Senkung von 32 % auf 22 % ($p < 0,05$) und in der amerikanischen STRESS-Studie von 42 % auf 32 % ($p = 0,046$) nachgewiesen [30, 109].

Eine flächendeckende Verbreitung erlangten die Stents jedoch erst, nachdem die Probleme der subakuten Stentthrombose und der heparininduzierten Blutungskomplikationen durch die Gabe der Thrombozytenaggregationshemmer Ticlopidin und später Clopidogrel relativ sicher gelöst werden konnten [107].

Der positive Effekt eines Stents auf die Restenoserate ist jedoch rein mechanischer Natur und beruht ausschließlich auf einer initialen Ver-

hinderung der elastischen Rückstellkräfte („recoil“), was zu einem größeren Lumengewinn nach PTCA führt. Trotz dieses positiven Effektes auf die Restenoserate begünstigen andererseits jedoch sowohl das chronische Barotrauma der Gefäßwand als auch der Fremdkörperreiz des Metallimplantates die Transformation von glatten Muskelzellen und die Proliferation einer Neointima, die bei etwa 20 % der Patienten zu dem hartnäckigen und bislang ungelösten Problem der In-Stent-Restenose führt.

3.2.2 Interaktion zwischen Koronarstent und Gefäßwand

Für die Ausbildung der Restenose spielen sowohl der Stent als auch die Gefäßwand selbst eine Rolle. Zudem wird bei der Implantation ein Trauma gesetzt. In Abhängigkeit von der operativen Technik kann daher die Qualität der Interaktion entscheidend mit beeinflusst werden.

Der Stent selbst beeinflusst die Interaktion durch die Materialeigenschaften unter mehr oder minder hoher biomechanischer Belastung. Die Gefäßwand reagiert in ihrer Gesamtheit, das heißt mit den zellulären und den extrazellulären Bestandteilen, auf die Implantation der Stents. Dabei muss berücksichtigt werden, dass das Ausmaß der Reaktionen von Zellen und Geweben auf die Implantation von der Vorgeschichte der Gefäßwand mitbestimmt wird.

Ein Stent wird in eine mehr oder minder erkrankte Gefäßregion implantiert. Diese Erkrankung bringt eine starke Veränderung der lokalen Reaktionsfähigkeit der Gefäßwand mit sich. Es ist sowohl mit einer größeren Neigung zur Reaktion der Gefäßwand mit dem Blut (verstärkte

Anheftung von Blutzellen und Thrombozyten bis hin zur Bildung von Thromben) als auch mit Änderungen des Gefäßtonus und damit der Neigung zur Einengung des Gefäßlumens und schließlich mit länger dauernden obstruierenden Prozessen der Gefäßwand zu rechnen. Die Reaktion der Gefäßwand im Sinne der Bildung einer Neointima wird im wesentlichen von glatten Muskelzellen der Gefäßwand getragen.

3.2.3 Pathophysiologie der Neointimabildung

Frühere Studien haben vermuten lassen, dass chronisches Stent-Recoil zur signifikanten Stent-Restenose führt [62]. Neuere intravasculäre Ultraschall-Studien zeigen jedoch, dass das chronische Stent-Recoil minimal ist und der Lumenverlust sowie die In-Stent-Restenose die Folge von neointimaler Gewebsneubildung darstellen [37, 48, 86]. Neointimale Hyperplasie nach perkutaner Koronarintervention spielt also die Schlüsselrolle im Restenoseprozess. Der Prozess der Neointimabildung geschieht durch Migration und Proliferation glatter Muskelzellen sowie Bildung einer extrazellulären Matrix.

Normalerweise finden sich glatte Muskelzellen in der Media einer Arterienwand und regeln durch Kontraktion den Tonus dieser Arterie. Bei der Arteriogenese bzw. als Antwort auf eine Gefäßverletzung werden diese Zellen aktiviert und wandern in die Intima ein, wo sie proliferieren und eine extrazelluläre Matrix aufbauen. Dies führt letztlich zur Bildung einer fibrösen Abdeckung, einer Plaque bzw. zur Restenose. Die Stimulation der glatten Muskelzellen, welche von einem ruhenden kontraktiven Phänotyp in einen synthetischen proliferativen Zustand übergehen, geschieht durch eine Reihe von Wachstumsfaktoren wie „platelet deri-

ved growth factor“ (PDGF), „transforming growth factor β “ (TGF β) und „basic fibroblast growth factor“ (b-FGF). Sie werden aus Thrombozyten, Endothelzellen, Makrophagen und der glatten Muskulatur selbst freigesetzt und begünstigen die Migration von glatten Gefäßmuskelzellen und Fibroblasten von der Gefäßmedia in die Intima, wo vermehrt extrazelluläre Matrix produziert wird. Es kommt zu einem Remodeling der Gefäßwand, welches vor allem die Veränderung in der Zusammensetzung der extrazellulären Matrix beinhaltet und durch Dickenzunahme oder Gewebsschrumpfung das Ausmaß der Restenose beeinflusst. Komatsu et al. untersuchten die Histopathologie der Neointimabildung an einer kleinen Patientenkohorte. Die Neointima beinhaltete neugeformte Kapillargefäße und reichlich Makrophagen sowie eine umfassende Ansammlung glatter Muskelzellen [67].

3.2.4 Genpolymorphismen

Es mehren sich die Hinweise, dass genetische Faktoren zumindest teilweise das exzessive Restenoserisiko bestimmter Patienten erklären können. Genpolymorphismen können zu quantitativen oder funktionellen Veränderungen des jeweiligen Genprodukts führen.

Neuere Untersuchungen zeigen eine signifikante Assoziation zwischen Restenose nach Koronarintervention und verschiedenen polymorphen Allelen, die für Proteine kodieren, die beim Restenoseprozess von Relevanz sind [20, 27, 61]. Diesbezüglich am besten untersucht sind Polymorphismen jener Gene, die für das Angiotensin converting enzyme und für thrombozytäres Glykoprotein IIIa kodieren [20, 61].

Eine Vielzahl abgeschlossener und noch laufender Studien konzentriert

sich auf Polymorphismen in Genen, die für Proteine kodieren, welche am Lipidmetabolismus, der Hämostase, der NO-Produktion, den inflammatorischen Mechanismen, der Proliferation glatter Muskelzellen und der Matrixproduktion beteiligt sind.

Die Ergebnisse dieser Forschung werden wesentliche pathophysiologische und therapeutische Implikationen für den Kampf gegen die Restenose haben [58].

3.2.5 Das fibrinolytische System

Es gibt Hinweise für einen Einfluss des fibrinolytischen Systems bei der Entstehung von Restenosen. Hierbei soll in den folgenden Kapiteln näher auf die Rolle von PAI-1 eingegangen werden.

3.3 PAI-1

3.3.1 Gen

Das Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-(PAI-)1 Gen ist in der Region q21.3-q22 auf dem Chromosom Nummer 7 lokalisiert [64]. Das PAI-1-Gen ist ca. 12,2 Kilobasenpaare lang und besteht aus 9 Exonen sowie 8 Intronen [71]. Es existiert ein Insertions-Deletions-Polymorphismus in der Promotorregion des PAI-1-Gens, 675 Basenpaare vom Transkriptionsstart entfernt, bei der auf der Deletion oder Insertion eines G/C-Basenpaares beruht.

3.3.2 Protein

PAI-1-cDNA (komplementäre Desoxyribonukleinsäure) enkodiert ein Protein, das 402 Aminosäuren enthält und eine Molekülmasse von 45 kD aufweist [36]. Der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1, welcher 1986 als neues Mitglied der Serpin-Proteinase-Inhibitor-Familie identifiziert wurde [87], ist der wichtigste Inhibitor von t-PA (tissue-type Plasminogen Aktivator) im Blut und hat somit seine Hauptfunktion in der Hemmung der Fibrinolyse.

PAI-1 wird in der Gefäßwand selbst durch Endothelzellen und glatte Muskelzellen produziert. Die Bildung von PAI-1 wurde aber auch in Makrophagen, der Milz und der Leber nachgewiesen [14].

Die Biosyntheserate von PAI-1 ist hoch und die relativ geringen Plasmakonzentrationen sind von der kurzen biologischen Halbwertszeit (ca. 8 – 10 min) abhängig. Die normale Plasmakonzentration von PAI-1-Antigen beträgt 6 – 80 ng/ml. Ungefähr 80 % des PAI-1 wird in einer »latenten« Form in Plättchen gespeichert und kann in vivo bei Bedarf aktiviert werden (z.B. nach Gefäßtrauma mit nachfolgender Plättchenaktivierung und -aggregation).

Die exakten Mechanismen, wie aus latentem Plättchen-PAI-1 aktiver PAI-1 entsteht, sind nicht restlos aufgeklärt [28, 78].

3.3.3 Funktion

Die Hauptaufgabe von PAI-1 liegt in der Hemmung der Fibrinolyse durch plasmatische, spezifische Inhibition von tissue-type Plasminogen Aktivator (t-PA) und Urokinase (UK) [68]. Die endogene fibrinolytische

3 Hintergrund

Aktivität wird im Plasma primär durch das freie und aktive t-PA bestimmt. Die im Plasma messbare t-PA-Aktivität ist jedoch relativ gering, da der größte Teil des im Plasma vorkommenden t-PA inaktiv und überwiegend an PAI-1 gebunden ist (zum kleineren Teil an α 2-Antiplasmin und α 2-Makroglobulin) [55].

PAI-1 ist der einzige Plasminogen-Aktivator-Inhibitor, der in humanem Plasma an t-PA gebunden vorkommt. Die Geschwindigkeitskonstante für die Interaktion zwischen PAI-1 und t-PA (und auch der vor allem im Gewebe vorkommenden Urokinase) ist etwa 20.000-fach größer als die anderer Plasminogen-Aktivator-Inhibitoren. Deshalb gilt PAI-1 als der wichtigste unter den verschiedenen, bis heute bekannten, Plasminogen-Aktivator-Inhibitoren.

Während der intravasalen Fibrinolyse spaltet t-PA Plasminogen in die aktive Protease Plasmin, die den Fibrin-Thrombus auflösen kann. T-PA wird sehr rasch durch PAI-1 neutralisiert, indem sich dieser an das aktive Zentrum von t-PA bindet und stabile stöchiometrische 1:1-Komplexe bildet [102]. Bei diesem Prozess wird der Inhibitor völlig verbraucht (»suicide inhibitor«).

Im Rahmen der physiologischen Regulation limitiert PAI-1 die Plasminbildung und verhindert so, dass ein Überschuss an Plasmin Fibrinogen und andere Gerinnungsfaktoren abbauen kann und dadurch einen systemischen »lytischen« Status mit erhöhter Blutungsneigung hervorruft. So konnte in vereinzelt Fällen ein relativer Überschuss an t-PA bedingt durch einen genetischen PAI-1-Mangel als Ursache für eine erhöhte Blutungsneigung bei diesen Patienten beschrieben werden [5, 7, 21, 29].

Meistens jedoch ist die Wirkung von t-PA durch einen Überschuss an

PAI-1 eingeschränkt und geht mit thromboembolischen Krankheitsbildern [18, 122], wie Myokardinfarkt [41, 116] und Schlaganfall [11] sowie koronarer, cerebraler oder peripherer Arteriosklerose [16] einher.

PAI-1 interagiert des Weiteren mit anderen Komponenten der extrazellulären Matrix, zum einen mit dem Matrixprotein Vitronektin [69], zum anderen aber auch mit Heparin und Fibrin.

Weiterhin sind PAI-1 und t-PA an der Gewebsneubildung während der Wundheilung beteiligt. So zeigte sich im Tierexperiment mit Ratten, dass bei einer mittels Ballon gesetzten Verletzung der Arteria carotis in der ersten Woche nach der Verletzung während der Neointima-Bildung t-PA und PAI-1 ausgeschüttet werden [95].

In renalen Zellen konnte nachgewiesen werden, dass durch Herabregulierung der PAI-1-Synthese der Wundverschluss signifikant abgeschwächt wird; während durch Transfektion von epithelialen Zellen mit PAI-1-antisense-expression-Vector die PAI-1-Synthese sowie die Wundheilung wieder auf ein normales Level zurückgeführt werden können [92].

3.3.4 Regulation des PAI-1-Plasmaspiegels

Eine Reihe von Triggersubstanzen sind in der Lage, sowohl in vitro als auch in vivo die Gen-Expression von PAI-1 zu stimulieren. Dies sind Endotoxin, TNF- α (Tumor Nekrose Faktor), TGF- β und andere Wachstumsfaktoren, Zytokine, Insulin und andere Hormone sowie bestimmte Proteinasen. Des Weiteren besteht eine Beeinflussung durch eine akute Infektion [90], Alkoholkonsum [45], Insulin [77], Glukose [33] und den vascular endothial growth factor B [81]. Erst kürzlich konnte auch die

3 Hintergrund

Bedeutung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems für die Regulation der PAI-1-Plasmaspiegel nachgewiesen werden [119].

Genetische Faktoren

Einen wichtigen Einfluss scheinen genetische Faktoren zu haben. Es wurde gezeigt, dass Kinder von Patienten mit Myokardinfarkt in relativ jungen Jahren ein defektes endogenes Fibrinolyse-System im Sinne erhöhter PAI-1-Plasmaspiegel aufweisen [94]. PAI-1-Spiegel unterliegen teilweise einer genetischen Kontrolle, wobei unterschiedliche Genpolymorphismen beschrieben sind: der 4G5G-Polymorphismus, auf den in dieser Arbeit noch näher eingegangen wird, sowie ein Polymorphismus bestehend aus CA-repeats, wobei hier 8 Allele bekannt sind [64] und ein Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus mit 2 Allelen, welcher durch die Spaltung mittels der Restriktionsendonuklease Hind III charakterisiert wird [17, 19].

3.3.5 Der 4G5G-Polymorphismus

Humphries et al. detektierten 1992 einen Insertions-Deletions-Polymorphismus in der Promotorregion des PAI-1-Gens, 675 Basenpaare vom Transkriptionsstart entfernt, welcher auf der Deletion (4G-Allel) oder Insertion (5G-Allel) eines G/C-Basenpaares beruht [51]. Beide Allele binden ein Transkriptions-Aktivator-Molekül. Das 5G-Allel bindet zudem ein Transkriptions-Repressor-Molekül, ein hepatisches nukleares Protein, welches das 4G-Allel nicht bindet [26]. Dieser Effekt scheint für die Erhöhung der Transkriptionsrate des PAI-1-Genes verantwortlich zu sein [51]. Das Deletionsallel (4G) produziert sechs mal mehr mRNA als das Insertionsallel (5G) und somit scheint das 4G-Allel mit einer höheren Plasma-PAI-1-Aktivität einher zu gehen als das 5G-Allel [51]. Der Polymorphismus in der Promotorregion ist demnach von funktionaler

Wichtigkeit bei der Regulation der PAI-1-Gen-Expression [19]. Individuen, die homozygot für das 4G-Allel sind, haben die höchsten PAI-1-Plasmaspiegel.

3.4 Fragestellung

Ziel dieser Studie ist es, eine mögliche Assoziation zwischen dem 4G5G-Polymorphismus von PAI-1 und der Restenose nach intrakoronarer Stentimplantation nachzuweisen.

4 Studiendesign

4.1 Patientenkollektiv

Die Untersuchung wurde an dem Deutschen Herzzentrum München (DHM) durchgeführt. Für die vorliegende Untersuchung wurde von 1850 Patienten 5 ml EDTA-Blut entnommen und bei - 20°C tiefgefroren.

4.1.1 Einschlusskriterien

1850 Patienten, die wegen einer symptomatischen koronaren Herzkrankheit einer PTCA mit intrakoronarer Stentimplantation im DHM und der 1. Medizinischen Klinik, Krankenhaus Rechts der Isar, München unterzogen wurden, sind in die Studie aufgenommen worden.

Alle Patienten, die an dieser Studie teilnahmen, gaben ihre schriftliche Einwilligung zur Intervention, Rekoronarangiographie nach 6 Monaten und Genotyp-Bestimmung. Das Studienprotokoll richtete sich nach der Deklaration von Helsinki und wurde von der Ethikkommission unseres Instituts genehmigt. Bei 84 % der Patienten wurde eine Rekoronarangiographie nach 6 Monaten durchgeführt.

Die medikamentöse Behandlung nach Stentimplantation bestand aus

Aspirin (100 mg, 2/d, über einen unbeschränkten Zeitraum) und Ticlopidine (250 mg, 2/d, für vier Wochen). Patienten mit einem höheren Risiko für Stent-Thrombosen bekamen zusätzlich den Glycoprotein-IIb/IIIa-Blocker Abciximab als Bolusinjektion während der Stentimplantation und im Anschluss in Form einer kontinuierlichen Infusion über zwölf Stunden. Die Entscheidung über die Abciximab-Gabe lag in der Einschätzung des Operateurs.

4.2 Methoden

4.2.1 Geräte und Bezugsquellen

PCR-Prozessoren

- Authorized thermal Cycler for PCR (Hybaid, Heidelberg, Germany)
- Primus 96 plus (MWG-Biotech AG, Ebersberg, Germany)
- GeneAmp PCR System 9600 (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany)
- GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany)
- ABI Prism 7700 Sequence (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany)

Spannungsgeräte

- Power N Pac 300 (Bio-Rad, USA)

Elektrophorese-Kammer

- Xcell II (Invitrogen, Karlsruhe, Germany)

Zentrifugen

- Zentrifuge CR3-12 (Novex, Frankfurt/Main, Germany)
- Zentrifuge A 14 (Jouan, St. Herblain, France)
- Biofuge fresco (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany)

Mischungsgeräte

- Thermomixer comfort (Eppendorf, Wesseling, Germany)

4.2.2 DNA-Präparation

Materialien und Bezugsquellen

DNA-Isolierung:

- QIAamp DANN Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)
- High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Applied Science GmbH, Mannheim, Germany)

Enzyme:

- TaqMan Universal PCR Master Mix (Perkin Elmer Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany)
- Taq-Pol (Qiagen, Hilden, Germany)
- Restriktionsenzym BseLI (BioLabs, New England, USA)

Gel:

- 8% Polyacrylamidgel (Novey, Frankfurt/Main, Germany)

PCR-Reaktionsgefäße:

- PCR-Tubes, 0,5 ml ultradünn (Eppendorf, Wesseling, Germany)
- MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate (Perkin Elmer Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany)
- MicroAmp Optical Caps (8 caps/ strip) (Perkin Elmer Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany)

Puffersubstanzen:

- 10xPCR-Puffer (Qiagen, Hilden, Germany)

Sonstiges:

- Molekulargewichtsmarker VIII (Roche Applied Science GmbH, Mannheim, Germany)
- Ladepuffer für das Gel:
10mM TBE-Puffer (Invitrogen, Karlsruhe, Germany)
- Ethanol 70 %
- Desoxiribonukleotidlösung (10 mM dNTP)
- Ethidiumbromidlösung (1 %):
1 g Ethidiumbromid in 100ml aqua dest.
- Software
„Primer Express“-Software (Perkin Elmer Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany)

Vorgehen

Von den 1.850 Patienten wurde EDTA-Blut entnommen und hieraus DNA gewonnen, um den Genotyp zu bestimmen. Die meiste DNA wurde schon für frühere Polymorphismusbestimmungen im Labor der experimentellen Kardiologie des DHM mit dem QIAamp Blood Kit oder dem High Pure PCR Template Preparation Kit isoliert und bei - 20°C gelagert.

4.2.3 Ermittlung des Genotyps

Ermittlung des Genotyps mittels TaqMan

Die meisten Genloci wurden mittels des ABI prism Sequenz Detection Systems ermittelt. Mit Hilfe allel-spezifischer fluoreszierender Sonden im 5'-Nuklease-Test wird die DNA-Amplifikation und die Genotyp-Erkennung in einem Schritt kombiniert. „Primer“ und Sonden wurden mit Hilfe der „Primer Express-Software“ festgelegt.

Quantitative PCR mit dem TaqMan System und dem ABI PRISM 7700 (Real Time PCR): Die quantitative Real Time PCR ist eine genaue Methode zur Bestimmung spezifischer DNA- und RNA-Level, z.B. in Gewebeproben. Beim ABI PRISM 7700 System liefern TaqMan-Sonden Daten über einen dynamischen Bereich von mindestens fünf Größenordnungen, weshalb Messungen schon während der exponentiellen Phase der Reaktion durchgeführt werden können. Die TaqMan-Sonde ist so entwickelt, dass sie sich ideal zwischen den üblichen „Forward- und Reverse-Primern“ der PCR anlagert. Sie hat einen höheren Schmelzpunkt als die anderen beiden „Primer“ und muss sich während der Erweiterungsphase (Extension) zu 100 % an den DNA-Grenzstrang anlagern. Am 5'-Ende ist die Sonde mit einem „Reporter“ markiert und am 3'-Ende mit einem „Quenscher“. Erst die Nuklease-Aktivität der Taq-Polymerase setzt während der Erweiterungsphase den Reporter frei, was zu einer messbaren Fluoreszenz führt. Die Fluoreszenz, die während jedes Zyklus zusätzlich freigesetzt wird, ist pro-

portional zur Anzahl der in diesem Zyklus hergestellten Fragmente. Die moderne Optik des ABI PRISM 7700 ist sehr sensitiv und erfasst schon nach wenigen Zyklen messbare Fluoreszenz. Die Genotypbestimmung erfolgt dann nach Beendigung der Reaktionsablaufs (Real Time) im „Plate Read“-Verfahren zur Alleldiskriminierung.¹

Vorgehen: Die „Primer“-Sequenzen 5' CAGACAAGGTTGTTGACA-CAAGAGA 3' („Forward“) und 5' TCCCTCATCCCTGCCATGT 3' („Reverse“) wurden genutzt, um eine 114-bp (5G Allel) oder eine 113-bp (4G Allel) Sequenz, bestehend aus den Nukleotiden -734 (5G Allel) oder -733 (4G Allel) bis -621 upstream von Exon 1 des IL-6 Gens, zu amplifizieren.

Die Sequenzen der Oligonukleotid-Sonden waren komplementär zu der mRNA-like DNA: 5' FAM-CACGGCTGACTCCCCACGTGT 3' (4G Allel-spezifisch) und 5' VIC-CGGCTGACTCCCCACGTGT 3' (5G Allel-spezifisch).

FAM (6-carboxy-fluorescein) und VIC (Applied Biosystem) bestimmten die fluoreszierenden Farben, welche kovalent an das 5'-Ende der Sonden gebunden waren.

Die 4G-spezifische Sonde wurde am 5'-Ende durch den fluoreszierenden 6-carboxy-Fluoreszin-Farbstoff (FAM) und die 5G-spezifische Sonde durch den fluoreszierenden Farbstoff VIC gekennzeichnet. Alle Sonden wurden an ihrem 3'-Ende mit dem „quencher 6-carboxy-tetramethyl-rhodamine“ (TAMRA) markiert. Das Thermocycling-Programm wurde durchgeführt, wie in dem Protokollen von PE Applied

¹Quelle und weitere Informationen siehe unter <http://www.tib-molbiol.de>

Biosystems vorgeschlagen und beinhaltete 40 Zyklen Denaturierung bei 95°C für 15 Sekunden sowie Verlängerung bei 60°C für 1 Minute. Zur Kontrolle wurden 20 % separat präparierte Sonden typisiert. Die Genotyp-Identifikation wurde ohne Wissen der klinischen und angiographischen Patienten-Daten durchgeführt.

Auswertung: Die Auswertung führte der TaqMan anhand des kumulierten fluoreszierenden Farbstoffs durch.

Ermittlung des Genotyps mittels PCR und Restriktionsfragmentanalyse

Um die homozygote DNA für das 4G- und 5G-Allel, welche als Genotyp-Standards für den TaqMan-Versuch benötigt wurden, identifizieren zu können und um die Richtigkeit der durch die TaqMan-Methode erworbenen Ergebnisse zu testen, wurde eine konventionelle Genotyp-Determination mittels PCR durchgeführt.

Der 4G5G-Genotyp wurde durch Amplifikation der genomischen DNA mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließender Kennzeichnung durch allel-spezifische restriktionsenzymatische Aufspaltung ermittelt.

Allgemeines zur PCR: Die PCR ist eine empfindliche Methode zur Amplifikation von DNA-Sequenzen. Sie wurde Anfang der 80er Jahre von Kary Mullis entwickelt, wofür er den Chemie-Nobelpreis erhielt. 1989 ließen Hoffmann La Roche und die Perkin Elmer Corporation die

PCR-Methode patentieren. Die PCR benötigt nur sehr wenig DNA als Ausgangsmaterial, in manchen Fällen genügt ein einziger DNA-Strang. Während einer Kettenreaktion wird die DNA durch das Enzym DNA-Polymerase kopiert. Normalerweise wird nur ein kleiner Teil eines langen DNA-Strangs durch PCR amplifiziert.

Im Schmelzschritt werden die beiden Doppelstränge der DNA durch Erhitzen wie ein Reißverschluss aufgetrennt.

Beim Anlagerungsschritt lagern sich die 2 „Primer“, hitzeunempfindliche synthetische Oligonukleotide, die zu den beiden Enden der gesuchten DNA-Sequenz komplementär sind, an. Die hitzeunempfindliche DNA-Polymerase lagert sich nun an die „Primer“ an.

Im Verlängerungsschritt wird mittels DNA-Polymerase der fehlende DNA-Strang am DNA-Einzelstrang aus Desoxiribonukleosidtriphosphaten (dNTP) synthetisiert.

Diese drei Schritte werden mehrmals wiederholt, wobei die DNA-Menge exponentiell ansteigt und man viele identische Kopien erhält.

Vorgehen: Zunächst wurde der Genlocus der DNA-Sequenz um den 4G5G-Polymorphismus in der Promotorregion des PAI-1-Gens mittels PCR vervielfältigt.

Die „Primer“ 5' CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT 3' (forward) und - 5' GGTGGCTCGAGGGCAGAAT 3' (reverse) wurden genutzt, um die 147-bp (5G-Allel) oder 146-bp (4G-Allel) Sequenz, welche in den Nukleotidsequenzen -698 (5G-Allel) bzw. -697 (4G-Allel) bis -552 enthalten sind, zu vervielfältigen. Der „upstream primer“ war passend zu der genomischen Sequenz (C anstatt A) modifiziert, um eine 5G allel-

4 Studiendesign

spezifische BseLI „restriction site“ (CCN₅↓N₂GG) zu erhalten, die im 4G allel-spezifischen PCR-Produkt nicht vorhanden ist.

Es wurde jeweils ein PCR-Reaktionsmix für 14 Proben erstellt. Dieser beinhaltete 100,8 μl H_2O , 14,0 μl 10xPCR-Puffer, 2,8 μl 10mM dNTP, jeweils 2,8 μl der beiden „Primer“ und 2,8 μl Taq-Polymerase. Dieser Ansatz wurde gemischt und bei 10.000 rpm abzentrifugiert. Pro Amplifikationsansatz wurden 8 μl Reaktionsmix und 2 μl der jeweiligen DNA in ein Reaktionsgefäß pipettiert, nochmals bei 10.000 rpm zentrifugiert und anschließend dem Thermocycling-Programm zugeführt.

Dies bestand aus :

- 40 Zyklen Denaturierung bei 95°C für 15 Sekunden
- Vervielfältigung bei 60°C für 1 Minute
- Wiederholung in 35 Zyklen
- Letzte Verlängerung bei 72°C für 7 Minuten

Das DNA-Amplifikat wurde durch die Restriktionsendonuklease Bse-
LI gespalten: das 4G allel-spezifische PCR-Produkt wurde in 2 Frag-
mente von 96 bp und 50 bp, das 5G allel-spezifische PCR-Produkt in 3
Fragmente von 74 bp, 50 bp und 23 bp.

Auswertung: Die Restriktionsfragmente wurden auf einem 8 %-
Polyacrylamide-Gel elektrophoretisch aufgetrennt und nach Anfärbung
mit Ethidium-Bromid-Lösung unter 312 nm-UV-Licht identifiziert. Das
Ergebnis wurde mittels eines digitalen Dokumentationssystems foto-
graphiert.

4.3 Datenverarbeitung und statistische Methoden

Datenkontrolle: Um ein korrektes Eingeben der Daten zu gewährleisten, wurde die entstandene Datenliste von zwei Personen zur Korrektur gelesen.

Statistik: In die statistische Auswertung gingen nur Daten der Patienten ein, bei denen ein Follow-up-Protokoll durchgeführt wurde. In diesem Protokoll waren berücksichtigt:

- Telefoninterview nach 30 Tagen
- Klinische Visite nach sechs Monaten
- Telefongespräch nach einem Jahr

Schilderten die Patienten während des Telefoninterviews kardiale Symptome, so wurde eine klinische und elektrokardiographische Nachuntersuchung in der Ambulanz oder beim jeweiligen Arzt durchgeführt. Im Falle eines Verdachts auf eine Restenose wurde eine weitere Angiographie durchgeführt. Alle gesammelten Informationen wurden in die Computerdatenbank eingegeben.

Diskrete Veränderungen sind in Zahlen oder Prozentwerten ausgedrückt und jeweils mittels Chi-Quadrat oder Fisher-exact-Test miteinander verglichen. Fortlaufende Veränderungen sind ausgedrückt als Mittelwert \pm Standardabweichung und mit Hilfe des unpaaren, zweiseitigen T-Tests oder der Analyse der Varianz von mehr als 2 Gruppen verglichen. Die Ermittlung des Risikos wird aufgeführt mittels Ermittlung der odds ratio (OR) und des 95 %- Konfidenzintervalls.

4.3 Datenverarbeitung und statistische Methoden

Die Hauptanalyse bestand darin, heterozygote und homozygote Träger der 4G-Allels mit den homozygoten Trägern des 5G-Allels zu vergleichen. Die Assoziation von PAI-1-Genotyp und Restenose wurde zudem mittels multivariater Regressionsanalyse bestimmt, in der alle klinischen und läsionsbezogenen Faktoren eingeschlossen wurden. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

5 Ergebnisse

5.1 Definitionen

Die Diagnose der Angina pectoris wurde gestellt, wenn eine Crescendo-Angina-pectoris, eine Ruheangina oder das Neuauftreten einer Angina pectoris innerhalb von einem Monat, ohne Vorhandensein eines mittels EKG oder Herz-Enzymen diagnostizierten Myokardinfarkts, vorlag.

Ein akuter Myokardinfarkt war vorhanden, wenn eine Episode von prolongierten retrosternalen Schmerzen mit EKG-Veränderungen oder einem Anstieg der Herz-Enzyme (CK oder CK-MB) auftraten.

Der Diabetes mellitus wurde diagnostiziert, wenn eine Behandlung mittels Insulin oder oralen Antidiabetika indiziert war.

Personen, welche in den letzten sechs Monaten regelmäßig rauchten wurden als Raucher definiert.

Ein systemischer arterieller Hypertonus bestand, wenn der systolische Blutdruck 140 mmHg oder höher, oder der diastolische Druck bei 90 mmHg oder höher lag.

Eine Hypercholesterinämie war vorhanden, wenn das Gesamtcholesterin über 6,2 mmol/l lag.

5 Ergebnisse

Das Vorhandensein von kardialen Risikofaktoren wurde ermittelt anhand von Daten, die aus dem aktuellen Krankenhausaufenthalt oder der Patientenkartei bezogen wurden.

Die gemessenen Parameter waren Länge der Läsion, Referenz-, minimaler Lumen- und Stenosendurchmesser sowie der Durchmesser der maximalen Ballonfüllung während der Stentimplantation.

Der akute Lumengewinn wurde berechnet aus der Differenz des endgültigen minimalen Lumendurchmessers nach der Stentimplantation und dem Durchmesser vor der Stentimplantation.

Der späte Lumenverlust wurde berechnet aus der Differenz des endgültigen minimalen Lumendurchmessers nach der Stentimplantation und dem Lumendurchmesser bei der Rekoronarangiographie.

Der Verlustindex wurde berechnet aus dem Verhältnis zwischen Lumenverlust und Lumengewinn.

Komplexe Läsionen sind definiert als Läsionstyp nach ACC/AHA B2 und C (in Übereinstimmung ACC/AHA-Einteilung).

Die in den Tabellen verwendeten Abkürzungen seien hier kurz aufgelistet:

ACVB: Arteriokoronarer Venenbypass

LAD: Arteria coronaria sinistra, Ramus interventricularis anterior

LCx: Arteria coronaria sinistra, Ramus circumflexus

RCA: Arteria coronaria dextra

5.2 Patienten-Charakteristika

Der PAI-Genotyp wurde bei 1.850 Patienten mittels der TaqMan-Methode ermittelt. Der untersuchte Genotyp war bei 572 (31 %) 4G4G, bei 908 (49 %) 4G5G und bei 370 (20 %) Patienten 5G5G. Dies bedeutet, dass das 4G-Allel mit einer Häufigkeit von 0,56 vorkam. Die Genotypverteilung entspricht dem Hardy-Weinberg-Gesetz.

Die wichtigsten klinischen Charakteristika der Patienten sind in (Tab.:5.1) sowie (Tab.:5.2) aufgelistet. Es zeigt sich, dass bei keinem der untersuchten Parameter ein signifikanter Unterschied festgestellt wurde.

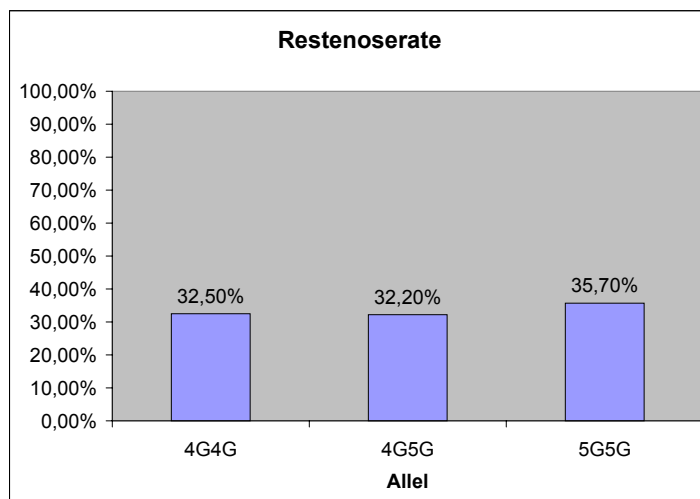
5.3 Akute und subakute thrombotische Ereignisse

Nur einige wichtige Ergebnisse sollen hier genannt sein, die gesamten Resultate sind den Tabellen zu entnehmen.

Ein Verschluss der gestenteten Gefäße wurde bei 1,9 % der 4G4G-, 1,8 % der 4G5G und bei 1,4 % der 5G5G-Patienten beobachtet ($p = 0,80$). Es konnte daher kein signifikanter Unterschied bei den verschiedenen Genotypen nachgewiesen werden. Große kardiale Ereignisse (Tod, Myokardinfarkt und Revaskularisation des Zielgefäßes) wurden bei 5,6 % der 4G-homozygoten Patienten, bei 5,3 % der heterozygoten Patienten und bei 4,6 % der 5G-homozygoten Patienten beobachtet ($p = 0,80$), (Tab.:5.3).

5.4 Angiographische Restenose

Von den 1 850 an der Studie beteiligten Patienten unterzogen sich 1556 Patienten (84 %) nach sechs Monaten einer Follow-up-Koronarangiographie. Die Restenoserate, der primäre Endpunkt dieser Studie, unterschied sich bei den verschiedenen Genotypen nicht: 32,5 % bei 4G-homozygoten, 32,2 % bei heterozygoten und 35,7 % bei 5G-homozygoten Patienten ($p = 0,52$).



Alle anderen Indices für Restenose, aufgezeigt in (Tab.:5.4), zeigen auch, dass der jeweilige PAI-1-Genotyp nicht zu einem unterschiedlichen angiographischen Ergebnis führt.

Während der 1-Jahres-Follow-up-Periode (Tab.:5.5) verstarben 1,6 % der 4G4G-Patienten, 2,4 % der 4G5G-Patienten und 4,1 % der 5G5G-Patienten. Obwohl dieser Unterschied nicht signifikant ist, zeigt sich ei-

5.4 Angiographische Restenose

ne Tendenz zu höherer Sterblichkeit bei 5G-Allel-Trägern.

Betrachtet man nur den Herztod, so zeigt sich hier der gleiche Trend, jedoch in geringerem Ausmaß ($p = 0.10$). Nichtfatale Myokardinfarkte wurden bei 1,1 % der 4G-Homozygoten, bei 1,9 % der Heterozygoten und bei 2,0 % der 5G-Homozygoten beobachtet ($p = 0,41$).

Eine Revaskularisation des Zielgefäßes war bei 21,3 % der 4G4G-Patienten, bei 19,6 % der 4G5G-Patienten und bei 20,5 % der 5G5G-Patienten nötig ($p = 0,72$). Alles in allem waren 24,7 % der 4G-homozygoten Patienten, 23,0 % der heterozygoten Patienten und 26,2 % der 5G-homozygoten Patienten einem ungünstigen Ereignis während der 1-Jahres-Periode ausgesetzt.

5 Ergebnisse

Tabelle 5.1: Baseline klinischer Charakteristika

	4G4G (n=572)	4G5G (n=908)	5G5G (n=370)	p
Alter (Jahre)	62,7±10,2	63,0±10,0	63,5±10,0	0,43
Frauen (%)	21,2	19,8	24,3	0,20
Arterieller Hypertonus (%)	68,5	67,3	69,2	0,77
Diabetes (%)	21,9	21,5	18,4	0,39
Raucher (%)	31,8	29,6	32,2	0,55
Erhöhtes Gesamtcholesterin (%)	43,2	42,5	43,0	0,97
Akuter Myokardinfarkt (%)	21,0	19,2	21,9	0,48
Instabile Angina pectoris (%)	24,8	30,3	26,5	0,06
Vorangegangener Myokardinfarkt (%)	28,8	25,7	26,5	0,40
Vorangegangene PTCA (%)	24,0	25,7	22,7	0,50
Vorangegangene Bypass-Operation (%)	10,0	11,2	12,4	0,49
Anzahl der erkrankten Koronargefäße				0,36
- 1 Gefäß (%)	29,2	29,1	24,6	
- 2 Gefäße (%)	33,2	30,8	34,9	
- 3 Gefäße (%)	37,6	40,1	40,5	
Eingeschränkte linksventrikuläre Funktion (%)	29,7	28,2	31,9	0,41

5.4 Angiographische Restenose

Tabelle 5.2: Läsionen und Vorgehensweise bei der Intervention

	4G4G (n=572)	4G5G (n=908)	5G5G (n=370)	p
Betroffenes Koronargefäß				0,19
-Hauptstamm (%)	1,1	1,4	2,2	
-LAD (%)	40,0	39,8	38,9	
-LCx (%)	23,4	18,7	17,6	
-RCA (%)	28,7	33,2	35,4	
-ACVB (%)	6,8	6,9	6,0	
Komplexe Läsionen (%)	73,4	74,0	78,1	0,22
Restenotische Läsionen (%)	23,8	25,1	23,0	0,68
Chronische Verschlüsse (%)	7,0	6,4	5,4	0,62
Ostiale Läsionen (%)	5,6	7,3	7,8	0,33
Vor der Stentimplantation				
-Referenzdurchmesser (mm)	3,05±0,53	3,04±0,53	3,00±0,54	0,27
-Minimaler Lumendurchmesser (mm)	0,64±0,51	0,64±0,49	0,65±0,49	0,95
-Durchmesser der Stenose (%)	79,1±15,7	79,0±15,0	78,4±15,4	0,78
-Länge der Läsion (mm)	12,0±6,7	11,9±6,8	12,5±6,8	0,38
Daten während des Eingriffs				
-Gemessener Ballondurchmesser (mm)	3,25±0,54	3,24±0,53	3,22±0,53	0,77
-Maximaler Ballondruck (atm)	13,9±3,3	13,8±3,3	13,8±3,2	0,83
-Ballon-Gefäß-Verhältnis	1,07±0,09	1,07±0,09	1,08±0,11	0,09
-Länge des stentimplantierten Segments (mm)	20,3±13,4	19,7±14,4	21,0±13,8	0,33
-Anzahl der Stents	1,81±1,15	1,76±1,20	1,85±1,16	0,39
-Abciximab-Therapie während des Eingriffs (%)	20,5	18,3	21,9	0,29
Sofort nach Stentimplantation				
-Minimaler Lumendurchmesser (mm)	2,95±0,52	2,93±0,52	2,91±0,51	0,52
-Durchmesser Stenose (%)	5,2±8,0	5,3±8,7	5,4±8,0	0,95
-Akuter Lumengewinn (mm)	2,31±0,67	2,29±0,63	2,26±0,62	0,52

5 Ergebnisse

Tabelle 5.3: Klinische Ergebnisse nach 30 Tagen

	4G4G (n=572)	4G5G (n=908)	5G5G (n=370)	p
Früher Stentverschluss (%)	1,9	1,8	1,4	0,80
Todesfälle (%)	0,4	1,2	1,1	0,22
Nichtfataler Myokardinfarkt (%)	0,5	1,2	0,8	0,38
Revaskularisation der Zielläsion (%)	3,0	2,8	1,9	0,58
-ACVB (%)	0,2	0,0	0,5	0,09
-RePTCA (%)	2,8	2,8	1,6	0,45
MACE (%)	5,6	5,3	4,6	0,80

Tabelle 5.4: Ergebnisse der Rekoronarangiographie

	4G4G (n=486)	4G5G (n=762)	5G5G (n=308)	p
Minimaler Lumendurchmesser (mm)	1,73±0,92	1,74±0,93	1,71±0,96	0,87
Durchmesser (%)	43,6±27,1	43,4±27,5	44,0±28,6	0,96
Später Lumenverlust (mm)	1,21±0,84	1,21±0,85	1,20±0,81	0,98
Lumenverlustindex	0,56±0,42	0,55±0,40	0,58±0,45	0,52
Restenoserate (%)	32,5	32,2	35,7	0,52

5.4 Angiographische Restenose

Tabelle 5.5: Klinische Ergebnisse nach einem Jahr

	4G4G (n=572)	4G5G (n=908)	5G5G (n=370)	p
Todesfälle (%)	1,6	2,4	4,1	0,06
Kardiale Todesursachen (%)	1,1	2,0	3,0	0,10
Nichtfataler Myokardinfarkt (%)	1,1	1,9	2,0	0,41
Revaskularisation der Zielläsion (%)	21,3	19,6	20,5	0,72
-ACVB (%)	2,5	1,4	2,2	0,34
-RePTCA(%)	19,2	18,5	18,6	0,94
MACE (%)	24,7	23,0	26,2	0,45

6 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden 1850 Patienten, die klinische oder objektive Zeichen einer kardialen Ischämie aufwiesen und sich einer Koronarintervention unterzogen hatten, im Hinblick auf den 4G5G-Polymorphismus des PAI-1-Genes und dessen Einfluss auf das Restenoserisiko nach koronarer Stentimplantation untersucht.

Es zeigte sich keine Assoziation zwischen dem 4G5G-Promotor-Polymorphismus des PAI-1-Genes und der In-stent-Restenose.

Obwohl während der letzten Jahre die koronare Stentimplantation die Standardtherapie der koronaren Herzerkrankung darstellte, wurde ein Hauptproblem dieser Therapie bis jetzt noch nicht gelöst: die Restenose.

Die Restenose ist eine multifaktorielle Erkrankung [8] mit Neointimabildung als Hauptmechanismus [67]. Beim Restenoseprozess spielen sowohl klinische Patientencharakteristika, wie der Diabetes mellitus, als auch interventionelle Charakteristika, z.B. der Stent-Typ, eine Rolle [60]. Viele Studien zeigen genetische Polymorphismen als einflussnehmende Faktoren auf die Restenose, z.B. der P1^A-Polymorphismus von GPIIb/IIIa [61] und der Polymorphismus von CD18 [65] und IL-1 [59].

Neben diesen Faktoren spielt das Fibrinolyse-System eine wichtige Rolle bei der Restenoseentwicklung [114], hier ist vor allen Dingen PAI-1 zu nennen.

Aufgrund seiner regulierenden Funktion im Fibrinolyse- und Gerinnungsprozess wird PAI-1 als ein wichtiger Faktor in der Entstehung von Thrombosen und Myokardinfarkten angesehen [25, 44, 66, 116].

Es liegen viele Daten aus Studien vor, die die Beteiligung von PAI-1 an der Entwicklung von

- Myokardinfarkt
- Schlaganfall
- Tiefe Beinvenenthrombose
- Arteriosklerose/KHK
- Restenose

näher beleuchten. Die Ergebnisse sind teilweise diskordant.

Myokardinfarkt: Mehrere Studien zeigen, dass der 4G5G-Polymorphismus von PAI-1 mit dem Auftreten des Myokardinfarkts assoziiert ist und dass das 4G-Allel möglicherweise einen wichtigen angeborenen Risikofaktor darstellt [26, 33, 83, 88].

Dagegen zeigt Doggen [22] in der SMILE-Studie (Study of Myocardial Infarction Leiden), dass der 4G5G-Polymorphismus im PAI-1-Gen nicht mit dem Myokardinfarkt assoziiert ist. Zum gleichen Ergebnis kamen auch Hooper et al. bei einer Studie mit 125 Patienten [49] sowie Sugano et al. bei einer japanischen Populationsstudie [115].

Schlaganfall: Auch der Zusammenhang des 4G5G-Polymorphismus mit dem Auftreten cerebraler Infarkte war Gegenstand mehrerer Studien und auch hier sind die Ergebnisse diskordant [6, 11, 24, 47, 80].

Tiefe Beinvenenthrombose: Es besteht ein möglicher Zusammenhang zwischen dem 4G5G-Polymorphismus und der tiefen Beinvenenthrombose [103, 113].

Arteriosklerose/KHK: Eine groß angelegte Studie legt nahe, dass der Plasma-Spiegel von PAI-1 das Risiko der koronaren Herzkrankheit moduliert; und dass der 4G5G-Polymorphismus die Expression des -PAI-1-Gens beeinflusst [74]. Viele weitere Studien berichten von einer Assoziation des 4G5G-Polymorphismus mit der koronaren Arteriosklerose und dem Auftreten des akuten koronaren Syndroms [34, 54, 75].

In verschiedenen Untersuchungen gelang der Nachweis einer vermehrten Expression des PAI-1-Gens und des PAI-1-Proteins in arteriosklerotisch veränderten, menschlichen Arterien [72, 85, 105]. Eine erhöhte PAI-1-Aktivität in arteriosklerotischen Läsionen hemmt die Bildung von Plasmin und trägt so wahrscheinlich zum verminderten Abbau oder zur vermehrten Anhäufung von extrazellulärer Matrix in den Läsionen bei [40]. Eine erhöhte PAI-1-Aktivität in der arteriosklerotisch veränderten Gefäßwand und im Plasma führt ferner über eine Verschiebung des dynamischen Gleichgewichts zwischen Fibrinbildung und endogener Fibrinolyse zu einer vermehrten Exposition der Gefäßwand mit atherogenen Mikrothromben [79]. Der PAI-1-Gen-Polymorphismus ist also mit familiärer koronarer Herzerkrankung assoziiert [74]. Gardemann et al. postulieren, dass der PAI-1-Gen-Polymorphismus einen unabhängigen Risikofaktor der koronaren Herzkrankheit darstellt, des Weiteren beschleunigt das Vorhandensein weiterer kardiovaskulärer Risikofaktoren das Risiko für das Auftreten dieser Erkrankung [34]. Es

besteht jedoch kein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und der verfrühten KHK [120].

Restenose: Der pathophysiologische Prozess, welcher zur Restenose nach koronarer Stentimplantation führt, scheint Wundheilungsprozessen [121] ähnlich zu sein. Die Tendenz von PAI-1, einen Fibrinklumpen aufrecht zu erhalten, könnte an der Stelle der Gefäßverletzung zu einer ausgedehnten Präsenz von potenten mitogenen Substanzen führen. Diese Substanzen tragen möglicherweise zur Migration und Proliferation von vaskulären glatten Muskelzellen und zur Bildung einer Neointima bei, was zu einer Restenose führt.

Eine Vielzahl von Untersuchungen bezüglich des Zusammenhangs von PAI-1 und der Restenose nach Koronarintervention wurden vorgenommen.

Vorherrschend war die Erhöhung des PAI-1-Spiegels mit einer Restenosebildung assoziiert [32, 38, 50, 53, 101].

Jedoch existieren widersprüchliche Daten über die Rolle von PAI-1 im Restenose-Prozess. So gibt es Studien, die beschreiben, dass PAI-1 die Reduktion von Intimabildung fördern könnte und somit sogar einer Restenose vorbeugen würde [10, 57, 63, 112].

Zwei Studien untersuchten das Auftreten von Restenosen nach PTCA ohne Stent-Implantation und PTCA mit Stent-Implantation. Eine dieser Studien fand eine positive Korrelation mit der PAI-1-Aktivität [91], während die andere eine negative Korrelation mit den PAI-1-Spiegeln beschreibt [114].

Diese offenbar widersprüchlichen Ergebnisse der beiden Studien zeigen, wie schwierig es ist, den individuellen Beitrag der PAI-1-Plasmakonzentration oder Aktivität zur Restenosebildung zu beziffern. Beispielsweise gibt es eine signifikante Korrelation zwischen der Plasma-Konzentration und Aktivität von PAI-1 und seinen natürlichen Gegenspielern t-PA und u-PA, was eine partielle Neutralisation der Effekte durch Ausbildung von inaktiven Komplexen bewirken könnte [12, 63, 102, 117]. Hinzu kommt, dass der PAI-1-Plasmaspiegel sensitiv auf die Tageszeitrhythmik reagiert und von Faktoren abhängig ist, welche auch mit der koronaren Herzkrankheit assoziiert sind, wie zum Beispiel die Insulin-Resistenz [3, 56].

In dem Bestreben, die Rolle von PAI-1 bei der Entwicklung der Restenose weiter zu klären, untersuchten wir einen funktionell relevanten genetischen Marker von PAI-1, den 4G5G-Polymorphismus, um zu testen, ob er sich als Prädiktor des Restenoserisikos nach koronarer Stentimplantation eignet.

Bisher wurde nur eine andere Studie, die explizit den Einfluss des Polymorphismus auf die Restenose nach PTCA mit Stentimplantation untersucht, veröffentlicht. Ortlepp und Kollegen untersuchten bei 300 Patienten den Einfluss des 4G5G-Promotor-Polymorphismus des PAI-1-Gens auf Instent-Restenosen bei 167 Rauchern und 133 Nichtrauchern. Die Autoren beschreiben, dass der 5G5G-Genotyp bei Nichtrauchern zu einem geringeren Lumenverlust führe als das Vorhandensein des 4G-Allels. Bei Rauchern hingegen sei der 5G5G-Genotyp mit einem größeren Lumenverlust assoziiert. Der Polymorphismus in der

Promotorregion des PAI-1 habe somit einen signifikanten Einfluss auf die Restenoseentwicklung nach koronarer Stentimplantation [82].

Bei der Wertung des Ergebnisses der Studie von Ortlepp muss die dort untersuchte sehr geringe Patientenzahl berücksichtigt werden, auf deren Basis kaum eine relevante Aussage bezüglich der Assoziation von Lumenverlust und 4G5G-Polymorphismus möglich ist.

Genau die Größe der Studiengruppe ist eine der Stärken unserer Studie, so dass man von einem statistisch relevanten Ergebnis ausgehen kann. Weiterhin wurden die Phänotypen präzise definiert. Im Rahmen von Genotypanalysen spielt häufig die Genauigkeit der Genotypbestimmung eine große Rolle. Wir verwendeten zur Genotypisierung zwei Methoden, die TaqMan-Technik sowie die herkömmliche Methode der PCR und restriktionsenzymatischen Aufspaltung. Die Ergebnisse beider Methoden stimmten überein, so dass hier eine technische Fehlbestimmung des Genotyps auszuschließen ist. Eine 4G-Allel-Frequenz von 0,55, wie wir sie in unserer Patientengruppe fanden, ist vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Gruppen [26, 52, 96, 123], was die Validität unserer Genotypisierung bekräftigt.

Im Gegensatz zu Assoziationen, welche zwischen Genpolymorphismen andere Gene und der Restenose nach Stentimplantation zu beobachten sind [59, 61, 65], ist der 4G5G-Polymorphismus des PAI-1-Gens allerdings kein Marker für ein Restenoserisiko. Dies bedeutet wiederum nicht, dass PAI-1 bezüglich der Restenosemechanismen uninteressant wäre. Vielleicht erreicht der funktionelle Beitrag des

4G5G-Polymorphismus in Prozessen wie der Neointimabildung, so vorhanden, keine signifikanten Level. Metabolische Determinanten, wie zum Beispiel das Insulin-Resistenz-Syndrom, könnten weit stärker als der 4G5G-Polymorphismus die PAI-1-Aktivität und dessen Korrelation mit der Restenose nach Stentimplantation beeinflussen [46].

Es ist wahrscheinlich, dass nicht eine einzelne Variante, sondern verschiedene Kombinationen mehrerer Polymorphismen, welche das PAI-1-Gen aufweist, einen genetischen Marker für das Auftreten von Restenosen nach koronarer Stentimplantation darstellen könnten. In unserer Studie zeigte sich ein Trend einer höheren Mortalität bei Patienten mit dem 5G5G-Genotyp. Die Studie war jedoch nicht ausgerichtet, diese Frage zu beantworten. Daher ist keine Deutung dieses Befundes möglich.

Auch wenn in unserer Studie kein Einfluss des 4G5G-Polymorphismus auf das MACE-Risiko zu finden war, sollte weiterhin die Rolle von PAI-1 im Rahmen der Klärung der grundlegenden Prozesse der Restenoseentstehung untersucht werden, um die Hintergründe der Restenoseentstehung zu verstehen und Möglichkeiten der Vermeidung derartiger Koronarinterventionskomplikationen zu finden.

7 Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der 4G5G-Polymorphismus des PAI-1 von 1850 Patienten mit koronarer Stentimplantation, bei denen nach 6 Monaten eine angiographische Kontrolluntersuchung erfolgte und das klinische Follow-up über 1 Jahr erhoben wurde, evaluiert. Untersucht wurde, ob der Insertions-Deletions-Polymorphismus in der Promotorregion des PAI-1-Genes einen Einfluss auf die In-stent-Restenose hat.

Die 4G-Allel-Frequenz betrug 0,56. 32,5 % der für das 4G-Allel homozygoten Patienten entwickelten eine Restenose, im Vergleich dazu 32,2 % der Heterozygoten und 35,7 % der Homozygoten für das 5G-Allel ($p = 0,52$).

Dies führt zu der Aussage, dass es keinen signifikanten Unterschied bei den drei Genotypen bezüglich der Ausgangsfragestellung gab.

Bezüglich der großen kardialen Ereignisse war das frühe Outcome sowie das Outcome nach einem Jahr mit 5,6 % beim 4G4G-Genotyp, 5,3 % beim 4G5G-Genotyp und 4,6 % beim 5G5G-Genotyp nicht signifikant abhängig vom Genotyp.

Als Schlussfolgerung ergibt sich daher, dass dem 4G5G-Polymorphismus von PAI-1 keine Rolle bei der Entwicklung einer Restenose nach koronarer Stentimplantation zugeschrieben werden kann.

8 Literaturverzeichnis

- [1] Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. The EPIC Investigation. 330 (1994), S. 956–61
- [2] AKHTAR, M. ; WILLIAMS, S. V. ; ACHORD, J. L. ; REYNOLDS, W. A. ; FISCH, C. ; ; KLOCKE, F. J. ; RYAN, T. J. ; SCHLANT, R. C.: Clinical competence in invasive cardiac electrophysiological studies. A statement for physicians from the ACP/ACC/AHA Task Force on Clinical Privileges in Cardiology. In: *Circulation* 89 (1994), S. 1917–20
- [3] ANGLETON, P. ; CHANDLER, W. L. ; SCHMER, G.: Diurnal variation of tissue-type plasminogen activator and its rapid inhibitor (PAI-1). In: *Circulation* 79 (1989), S. 101–6
- [4] AUER, J. ; BERENT, R. ; MAURER, E. ; MAYR, H. ; WEBER, T. ; EBER, B.: [Acute coronary syndromes: an update. II. Coronary revascularization and risk stratification]. In: *Herz* 26 (2001), S. 111–8
- [5] AZNAR, J. ; ESTELLES, A. ; VILA, V. ; REGANON, E. ; ESPANA, F. ; VILLA, P.: Inherited fibrinolytic disorder due to an enhanced

- plasminogen activator level. In: *Thromb Haemost* 52 (1984), S. 196–200
- [6] BANG, C. O. ; PARK, H. K. ; AHN, M. Y. ; SHIN, H. K. ; HWANG, K. Y. ; HONG, S. Y.: 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene and insertion/deletion polymorphism of the tissue-type plasminogen activator gene in atherothrombotic stroke. In: *Cerebrovasc Dis* 11 (2001), S. 294–9
- [7] BOOTH, N. A. ; BENNETT, B. ; WIJNGAARDS, G. ; GRIEVE, J. H.: A new life-long hemorrhagic disorder due to excess plasminogen activator. In: *Blood* 61 (1983), S. 267–75
- [8] CALIFF, R. M. ; FORTIN, D. F. ; FRID, D. J. ; HARLAN, W. R. 3. ; OHMAN, E. M. ; BENGTON, J. R. ; NELSON, C. L. ; TCHENG, J. E. ; MARK, D. B. ; STACK, R. S.: Restenosis after coronary angioplasty: an overview. In: *J Am Coll Cardiol* 17 (1991), S. 2B–13B
- [9] CAMPEAU, L.: Letter: Grading of angina pectoris. In: *Circulation* 54 (1976), S. 522–3
- [10] CARMELIET, P. ; MOONS, L. ; LIJNEN, R. ; JANSSENS, S. ; LUPU, F. ; COLLEN, D. ; GERARD, R. D.: Inhibitory role of plasminogen activator inhibitor-1 in arterial wound healing and neointima formation: a gene targeting and gene transfer study in mice. In: *Circulation* 96 (1997), S. 3180–91
- [11] CATTO, A. J. ; CARTER, A. M. ; STICKLAND, M. ; BAMFORD, J. M. ; DAVIES, J. A. ; GRANT, P. J.: Plasminogen activator inhibitor-

- 1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphism and levels in subjects with cerebrovascular disease. In: *Thromb Haemost* 77 (1997), S. 730–4
- [12] CHANDLER, W. L. ; TRIMBLE, S. L. ; LOO, S. C. ; MORNIN, D.: Effect of PAI-1 levels on the molar concentrations of active tissue plasminogen activator (t-PA) and t-PA/PAI-1 complex in plasma. In: *Blood* 76 (1990), S. 930–7
- [13] CHESEBRO, J. H. ; KNATTERUD, G. ; ROBERTS, R. ; BORER, J. ; COHEN, L. S. ; DALEN, J. ; DODGE, H. T. ; FRANCIS, C. K. ; HILLIS, D. ; LUDBROOK, P. ; AL. et: Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Trial, Phase I: A comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous streptokinase. Clinical findings through hospital discharge. In: *Circulation* 76 (1987), S. 142–54
- [14] CHOMIKI, N. ; HENRY, M. ; ALESSI, M. C. ; ANFOSSO, F. ; JUHAN-VAGUE, I.: Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls. In: *Thromb Haemost* 72 (1994), S. 44–53
- [15] COLOMBO, A. ; HALL, P. ; NAKAMURA, S. ; ALMAGOR, Y. ; MAIELLO, L. ; MARTINI, G. ; GAGLIONE, A. ; GOLDBERG, S. L. ; TOBIS, J. M.: Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance. In: *Circulation* 91 (1995), S. 1676–88
- [16] CORTELLARO, M. ; COFRANCESCO, E. ; BOSCHETTI, C. ; MUS-

- SONI, L. ; DONATI, M. B. ; CARDILLO, M. ; CATALANO, M. ; GABRIELLI, L. ; LOMBARDI, B. ; SPECCHIA, G. ; AL. et: Increased fibrin turnover and high PAI-1 activity as predictors of ischemic events in atherosclerotic patients. A case-control study. The PLAT Group. In: *Arterioscler Thromb* 13 (1993), S. 1412–7
- [17] DAWSON, S. ; HAMSTEN, A. ; WIMAN, B. ; HENNEY, A. ; HUMPHRIES, S.: Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. In: *Arterioscler Thromb* 11 (1991), S. 183–90
- [18] DAWSON, S. ; HENNEY, A.: The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: a review. In: *Atherosclerosis* 95 (1992), S. 105–17
- [19] DAWSON, S. J. ; WIMAN, B. ; HAMSTEN, A. ; GREEN, F. ; HUMPHRIES, S. ; HENNEY, A. M.: The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. In: *J Biol Chem* 268 (1993), S. 10739–45
- [20] DI CASTELNUOVO, A. ; GAETANO, G. de ; DONATI, M. B. ; IACOVIELLO, L.: Platelet glycoprotein receptor IIIa polymorphism PLA1/PLA2 and coronary risk: a meta-analysis. In: *Thromb Haemost* 85 (2001), S. 626–33
- [21] DIEVAL, J. ; NGUYEN, G. ; GROSS, S. ; DELOBEL, J. ; KRUIHOF, E. K.: A lifelong bleeding disorder associated with a deficiency

- of plasminogen activator inhibitor type 1. In: *Blood* 77 (1991), S. 528–32
- [22] DOGGEN, C. J. ; BERTINA, R. M. ; CATS, V. M. ; REITSMA, P. H. ; ROSENDAAL, F. R.: The 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is not associated with myocardial infarction. In: *Thromb Haemost* 82 (1999), S. 115–20
- [23] EGGELING, T. ; OSTERHUES, H. H. ; POHLER, E. ; KOCHS, M. ; HOMBACH, V.: [Effect of a pressure dressing on angiologic complications after diagnostic coronary angiography]. In: *Z Kardiol* 83 (1994), S. 623–5
- [24] ENDLER, G. ; LALOUSCHEK, W. ; EXNER, M. ; MITTERBAUER, G. ; HARING, D. ; MANNHALTER, C.: The 4G/4G genotype at nucleotide position -675 in the promotor region of the plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) gene is less frequent in young patients with minor stroke than in controls. In: *Br J Haematol* 110 (2000), S. 469–71
- [25] EREN, M. ; PAINTER, C. A. ; ATKINSON, J. B. ; DECLERCK, P. J. ; VAUGHAN, D. E.: Age-dependent spontaneous coronary arterial thrombosis in transgenic mice that express a stable form of human plasminogen activator inhibitor-1. In: *Circulation* 106 (2002), S. 491–6
- [26] ERIKSSON, P. ; KALLIN, B. ; HOOFT, F. M. ' . ; BAVENHOLM, P. ; HAMSTEN, A.: Allele-specific increase in basal transcription of the

- plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 (1995), S. 1851–5
- [27] EXNER, M. ; SCHILLINGER, M. ; MINAR, E. ; MLEKUSCH, W. ; SCHLERKA, G. ; HAUMER, M. ; MANNHALTER, C. ; WAGNER, O.: Heme oxygenase-1 gene promoter microsatellite polymorphism is associated with restenosis after percutaneous transluminal angioplasty. In: *J Endovasc Ther* 8 (2001), S. 433–40
- [28] FAY, W. P. ; EITZMAN, D. T. ; SHAPIRO, A. D. ; MADISON, E. L. ; GINSBURG, D.: Platelets inhibit fibrinolysis in vitro by both plasminogen activator inhibitor-1-dependent and -independent mechanisms. In: *Blood* 83 (1994), S. 351–6
- [29] FAY, W. P. ; SHAPIRO, A. D. ; SHIH, J. L. ; SCHLEEF, R. R. ; GINSBURG, D.: Brief report: complete deficiency of plasminogen-activator inhibitor type 1 due to a frame-shift mutation. In: *N Engl J Med* 327 (1992), S. 1729–33
- [30] FISCHMAN, D. L. ; LEON, M. B. ; BAIM, D. S. ; SCHATZ, R. A. ; SAVAGE, M. P. ; PENN, I. ; DETRE, K. ; VELTRI, L. ; RICCI, D. ; NOBUYOSHI, M. ; AL. et: A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. In: *N Engl J Med* 331 (1994), S. 496–501
- [31] FOLEY, J. B. ; BROWN, R. I. ; PENN, I. M.: Thrombosis and restenosis after stenting in failed angioplasty: comparison with elective stenting. In: *Am Heart J* 128 (1994), S. 12–20

- [32] FORNITZ, G. G. ; NIELSEN, P. ; AMTORP, O. ; KASSIS, E. ; ABILDGARD, U. ; SLOTH, C. ; WINTHER, K. ; ORSKOV, H. ; DALSGARD, J. ; HUSTED, S.: Impaired fibrinolysis determines the outcome of percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). In: *Eur J Clin Invest* 31 (2001), S. 586–92
- [33] FU, L. ; JIN, H. ; SONG, K. ; ZHANG, C. ; SHEN, J. ; HUANG, Y.: Relationship between gene polymorphism of the PAI-1 promoter and myocardial infarction. In: *Chin Med J (Engl)* 114 (2001), S. 266–9
- [34] GARDEMANN, A. ; LOHRE, J. ; KATZ, N. ; TILLMANN, H. ; HEHRLEIN, F. W. ; HABERBOSCH, W.: The 4G/5G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. In: *Thromb Haemost* 82 (1999), S. 1121–6
- [35] GEORGE, B. S. ; VOORHEES, W. D. 3. ; ROUBIN, G. S. ; FEARNOT, N. E. ; PINKERTON, C. A. ; RAIZNER, A. E. ; KING, S. B. ; HOLMES, D. R. ; TOPOL, E. J. ; KEREIAKES, D. J. ; AL. et: Multicenter investigation of coronary stenting to treat acute or threatened closure after percutaneous transluminal coronary angioplasty: clinical and angiographic outcomes. In: *J Am Coll Cardiol* 22 (1993), S. 135–43
- [36] GINSBURG, D. ; ZEHEB, R. ; YANG, A. Y. ; RAFFERTY, U. M. ; ANDREASEN, P. A. ; NIELSEN, L. ; DANO, K. ; LEBO, R. V. ; GELEHRTER, T. D.: cDNA cloning of human plasminogen activator-

- inhibitor from endothelial cells. In: *J Clin Invest* 78 (1986), S. 1673–80
- [37] GORDON, P. C. ; GIBSON, C. M. ; COHEN, D. J. ; CARROZZA, J. P. ; KUNTZ, R. E. ; BAIM, D. S.: Mechanisms of restenosis and redilation within coronary stents—quantitative angiographic assessment. In: *J Am Coll Cardiol* 21 (1993), S. 1166–74
- [38] GOTTSÄUNER-WOLF, M. ; SOCHOR, H. ; HORNÝKEWYCZ, S. ; BECKMANN, R. ; LANG, I. ; PROBST, P. ; BINDER, B. R. ; HUBER, K.: Predictive value of PAI-1 plasma activity and thallium perfusion imaging for restenosis after percutaneous transluminal angioplasty in clinically asymptomatic patients. In: *Thromb Haemost* 81 (1999), S. 522–6
- [39] GRUNTZIG, A. R. ; SENNING, A. ; SIEGENTHALER, W. E.: Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. In: *N Engl J Med* 301 (1979), S. 61–8
- [40] HAMSTEN, A.: Hemostatic function and coronary artery disease. In: *N Engl J Med* 332 (1995), S. 677–8
- [41] HAMSTEN, A. ; FAIRE, U. de ; WALLDIUS, G. ; DAHLEN, G. ; SZAMOSI, A. ; LANDOU, C. ; BLOMBACK, M. ; WIMAN, B.: Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. In: *Lancet* 2 (1987), S. 3–9
- [42] HAUDE, M. ; CASPARI, G. ; BAUMGART, D. ; BRENNECKE, R. ; MEYER, J. ; ERBEL, R.: Comparison of myocardial perfusion re-

- serve before and after coronary balloon predilatation and after stent implantation in patients with postangioplasty restenosis. In: *Circulation* 94 (1996), S. 286–97
- [43] HAUDE, M. ; ERBEL, R. ; STRAUB, U. ; DIETZ, U. ; SCHATZ, R. ; MEYER, J.: Results of intracoronary stents for management of coronary dissection after balloon angioplasty. In: *Am J Cardiol* 67 (1991), S. 691–6
- [44] HELD, C. ; HJEMDAHL, P. ; REHNQVIST, N. ; WALLEN, N. H. ; BJORKANDER, I. ; ERIKSSON, S. V. ; FORSLUND, L. ; WIMAN, B.: Fibrinolytic variables and cardiovascular prognosis in patients with stable angina pectoris treated with verapamil or metoprolol. Results from the Angina Prognosis study in Stockholm. In: *Circulation* 95 (1997), S. 2380–6
- [45] HENDRIKS, H. F. ; VEENSTRA, J. ; WIERIK, E. J. ; SCHAAFSMA, G. ; KLUFT, C.: Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors. In: *BMJ* 308 (1994), S. 1003–6
- [46] HENRY, M. ; TREGOUET, D. A. ; ALESSI, M. C. ; AILLAUD, M. F. ; VISVIKIS, S. ; SIEST, G. ; TIRET, L. ; JUHAN-VAGUE, I.: Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphisms in determining the PAI-1 activity and antigen plasma concentrations: a family study with part of the Stanislas Cohort. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18 (1998), S. 84–91
- [47] HINDORFF, L. A. ; SCHWARTZ, S. M. ; SISCOVICK, D. S. ; PSATY, B. M. ; LONGSTRETH, W. T. J. ; REINER, A. P.: The association of

PAI-1 promoter 4G/5G insertion/deletion polymorphism with myocardial infarction and stroke in young women. In: *J Cardiovasc Risk* 9 (2002), S. 131–7

- [48] HOFFMANN, R. ; MINTZ, G. S. ; DUSSAILLANT, G. R. ; POPMA, J. J. ; PICHARD, A. D. ; SATLER, L. F. ; KENT, K. M. ; GRIFFIN, J. ; LEON, M. B.: Patterns and mechanisms of in-stent restenosis. A serial intravascular ultrasound study. In: *Circulation* 94 (1996), S. 1247–54
- [49] HOOPER, W. C. ; LALLY, C. ; AUSTIN, H. ; RENSHAW, M. ; DILLEY, A. ; WENGER, N. K. ; PHILLIPS, D. J. ; WHITSETT, C. ; RAWLINS, P. ; EVATT, B. L.: The role of the t-PA I/D and PAI-1 4G/5G polymorphisms in African-American adults with a diagnosis of myocardial infarction or venous thromboembolism. In: *Thromb Res* 99 (2000), S. 223–30
- [50] HUBER (Hrsg.): *Hämostase, Proteolyse und Arteriosklerose*. Schattauer Zeitschrift Fibrinolyse 1 1999, Oktober 1998
- [51] HUMPHRIES, S. E. ; LANE, A. ; DAWSON, S. ; GREEN, F. R.: The study of gene-environment interactions that influence thrombosis and fibrinolysis. Genetic variation at the loci for factor VII and plasminogen activator inhibitor-1. In: *Arch Pathol Lab Med* 116 (1992), S. 1322–9
- [52] IACOVIELLO, L. ; BURZOTTA, F. ; DI CASTELNUOVO, A. ; ZITO, F. ; MARCHIOLI, R. ; DONATI, M. B.: The 4G/5G polymorphism

- of PAI-1 promoter gene and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. In: *Thromb Haemost* 80 (1998), S. 1029–30
- [53] ISHIWATA, S. ; TUKADA, T. ; NAKANISHI, S. ; NISHIYAMA, S. ; SEKI, A.: Postangioplasty restenosis: platelet activation and the coagulation-fibrinolysis system as possible factors in the pathogenesis of restenosis. In: *Am Heart J* 133 (1997), S. 387–92
- [54] IWAI, N. ; SHIMOIKE, H. ; NAKAMURA, Y. ; TAMAKI, S. ; KINOSHITA, M.: The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor gene is associated with the time course of progression to acute coronary syndromes. In: *Atherosclerosis* 136 (1998), S. 109–14
- [55] JANSSON, J. H. ; OLOFSSON, B. O. ; NILSSON, T. K.: Predictive value of tissue plasminogen activator mass concentration on long-term mortality in patients with coronary artery disease. A 7-year follow-up. In: *Circulation* 88 (1993), S. 2030–4
- [56] JUHAN-VAGUE, I. ; PYKE, S. D. ; ALESSI, M. C. ; JESPERSEN, J. ; HAVERKATE, F. ; THOMPSON, S. G.: Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. In: *Circulation* 94 (1996), S. 2057–63
- [57] KANSE, S. M. ; KOST, C. ; WILHELM, O. G. ; ANDREASEN, P. A. ; PREISSNER, K. T.: The urokinase receptor is a major vitronectin-

binding protein on endothelial cells. In: *Exp Cell Res* 224 (1996), S. 344–53

- [58] KASTRATI, A. ; DIRSCHINGER, J. ; SCHOMIG, A.: Genetic risk factors and restenosis after percutaneous coronary interventions. In: *Herz* 25 (2000), S. 34–46
- [59] KASTRATI, A. ; KOCH, W. ; BERGER, P. B. ; MEHILLI, J. ; STEPHENSON, K. ; NEUMANN, F. J. ; BECKERATH, N. von ; BOTTIGER, C. ; DUFF, G. W. ; SCHOMIG, A.: Protective role against restenosis from an interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in patients treated with coronary stenting. In: *J Am Coll Cardiol* 36 (2000), S. 2168–73
- [60] KASTRATI, A. ; MEHILLI, J. ; DIRSCHINGER, J. ; DOTZER, F. ; SCHUHLEN, H. ; NEUMANN, F. J. ; FLECKENSTEIN, M. ; PFAFFEROTT, C. ; SEYFARTH, M. ; SCHOMIG, A.: Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO) trial. In: *Circulation* 103 (2001), S. 2816–21
- [61] KASTRATI, A. ; SCHOMIG, A. ; SEYFARTH, M. ; KOCH, W. ; ELEZI, S. ; BOTTIGER, C. ; MEHILLI, J. ; SCHOMIG, K. ; BECKERATH, N. von: PIA polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. In: *Circulation* 99 (1999), S. 1005–10
- [62] KEREN, G. ; PICHARD, A. D. ; KENT, K. M. ; SATLER, L. F. ; LEON, M. B.: Failure or success of complex catheter-based interven-

- tional procedures assessed by intravascular ultrasound. In: *Am Heart J* 123 (1992), S. 200–8
- [63] KJOLLER, L. ; KANSE, S. M. ; KIRKEGAARD, T. ; RODENBURG, K. W. ; RONNE, E. ; GOODMAN, S. L. ; PREISSNER, K. T. ; OS-SOWSKI, L. ; ANDREASEN, P. A.: Plasminogen activator inhibitor-1 represses integrin- and vitronectin-mediated cell migration independently of its function as an inhibitor of plasminogen activation. In: *Exp Cell Res* 232 (1997), S. 420–9
- [64] KLINGER, K. W. ; WINQVIST, R. ; RICCIO, A. ; ANDREASEN, P. A. ; SARTORIO, R. ; NIELSEN, L. S. ; STUART, N. ; STANISLOVITIS, P. ; WATKINS, P. ; DOUGLAS, R. ; AL. et: Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21.3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 84 (1987), S. 8548–52
- [65] KOCH, W. ; BOTTIGER, C. ; MEHILLI, J. ; BECKERATH, N. von ; NEUMANN, F. J. ; SCHOMIG, A. ; KASTRATI, A.: Association of a CD18 gene polymorphism with a reduced risk of restenosis after coronary stenting. In: *Am J Cardiol* 88 (2001), S. 1120–4
- [66] KOHLER, H. P. ; GRANT, P. J.: Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. In: *N Engl J Med* 342 (2000), S. 1792–801
- [67] KOMATSU, R. ; UEDA, M. ; NARUKO, T. ; KOJIMA, A. ; BECKER, A. E.: Neointimal tissue response at sites of coronary stenting

in humans: macroscopic, histological, and immunohistochemical analyses. In: *Circulation* 98 (1998), S. 224–33

- [68] KRUIHOF, E. K. ; TRAN-THANG, C. ; RANSIJN, A. ; BACHMANN, F.: Demonstration of a fast-acting inhibitor of plasminogen activators in human plasma. In: *Blood* 64 (1984), S. 907–13
- [69] LEE, C. C. ; SHYU, K. G. ; LIN, S. ; WANG, B. W. ; LIU, Y. C. ; CHANG, H.: Cell adhesion regulates the plasminogen activator inhibitor-1 gene expression in anchorage-dependent cells. In: *Biochem Biophys Res Commun* 291 (2002), S. 185–90
- [70] LIU, M. W. ; VOORHEES, W. D. 3. ; AGRAWAL, S. ; DEAN, L. S. ; ROUBIN, G. S.: Stratification of the risk of thrombosis after intracoronary stenting for threatened or acute closure complicating coronary balloon angioplasty: a Cook registry study. In: *Am Heart J* 130 (1995), S. 8–13
- [71] LOSKUTOFF, D. J. ; LINDERS, M. ; KEIJER, J. ; VEERMAN, H. ; HEERIKHUIZEN, H. van ; PANNEKOEK, H.: Structure of the human plasminogen activator inhibitor 1 gene: nonrandom distribution of introns. In: *Biochemistry* 26 (1987), S. 3763–8
- [72] LUPU, F. ; BERGONZELLI, G. E. ; HEIM, D. A. ; COUSIN, E. ; GENTON, C. Y. ; BACHMANN, F. ; KRUIHOF, E. K.: Localization and production of plasminogen activator inhibitor-1 in human healthy and atherosclerotic arteries. In: *Arterioscler Thromb* 13 (1993), S. 1090–100

- [73] MAK, K. H. ; BELLI, G. ; ELLIS, S. G. ; MOLITERNO, D. J.: Subacute stent thrombosis: evolving issues and current concepts. In: *J Am Coll Cardiol* 27 (1996), S. 494–503
- [74] MARGAGLIONE, M. ; CAPPUCCI, G. ; COLAIZZO, D. ; GIULIANI, N. ; VECCHIONE, G. ; GRANDONE, E. ; PENNELLI, O. ; DI MINNO, G.: The PAI-1 gene locus 4G/5G polymorphism is associated with a family history of coronary artery disease. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18 (1998), S. 152–6
- [75] MARGAGLIONE, M. ; CAPPUCCI, G. ; COLAIZZO, D. ; VECCHIONE, G. ; GRANDONE, E. ; DI MINNO, G.: C-reactive protein in offspring is associated with the occurrence of myocardial infarction in first-degree relatives. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 (2000), S. 198–203
- [76] MOUSSA, I. ; DI MARIO, C. ; REIMERS, B. ; AKIYAMA, T. ; TOBIS, J. ; COLOMBO, A.: Subacute stent thrombosis in the era of intravascular ultrasound-guided coronary stenting without anticoagulation: frequency, predictors and clinical outcome. In: *J Am Coll Cardiol* 29 (1997), S. 6–12
- [77] NAGI, D. K. ; HENDRA, T. J. ; RYLE, A. J. ; COOPER, T. M. ; TEMPLE, R. C. ; CLARK, P. M. ; SCHNEIDER, A. E. ; HALES, C. N. ; YUDKIN, J. S.: The relationships of concentrations of insulin, intact proinsulin and 32-33 split proinsulin with cardiovascular risk factors in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic subjects. In: *Diabetologia* 33 (1990), S. 532–7

- [78] NORDENHEM, A. ; WIMAN, B.: Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) content in platelets from healthy individuals genotyped for the 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene. In: *Scand J Clin Lab Invest* 57 (1997), S. 453–61
- [79] NORDT, T. K. ; SCHNEIDER, D. J. ; SOBEL, B. E.: Augmentation of the synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 by precursors of insulin. A potential risk factor for vascular disease. In: *Circulation* 89 (1994), S. 321–30
- [80] NOWAK-GOTTL, U. ; STRATER, R. ; KOSCH, A. ; ECKARDSTEIN, A. von ; SCHOBESS, R. ; LUIGS, P. ; NABEL, P. ; VIELHABER, H. ; KURNIK, K. ; JUNKER, R.: The plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 promoter 4G/4G genotype is not associated with ischemic stroke in a population of German children. Childhood Stroke Study Group. In: *Eur J Haematol* 66 (2001), S. 57–62
- [81] OLOFSSON, B. ; KORPELAINEN, E. ; PEPPER, M. S. ; MANDRIOTA, S. J. ; AASE, K. ; KUMAR, V. ; GUNJI, Y. ; JELTSCH, M. M. ; SHIBUYA, M. ; ALITALO, K. ; ERIKSSON, U.: Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) binds to VEGF receptor-1 and regulates plasminogen activator activity in endothelial cells. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 (1998), S. 11709–14
- [82] ORTLEPP, J. R. ; HOFFMANN, R. ; KILLIAN, A. ; LAUSCHER, J. ; MERKELBACH-BRESE, S. ; HANRATH, P.: The 4G/5G promoter polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene and late lumen loss after coronary stent placement in smoking and nonsmoking patients. In: *Clin Cardiol* 24 (2001), S. 585–91

- [83] OSSEI-GERNING, N. ; MANSFIELD, M. W. ; STICKLAND, M. H. ; WILSON, I. J. ; GRANT, P. J.: Plasminogen activator inhibitor-1 promoter 4G/5G genotype and plasma levels in relation to a history of myocardial infarction in patients characterized by coronary angiography. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17 (1997), S. 33–7
- [84] OWEIDA, S. W. ; ROUBIN, G. S. ; ; SALAM, A. A.: Postcatheterization vascular complications associated with percutaneous transluminal coronary angioplasty. In: *J Vasc Surg* 12 (1990), S. 310–5
- [85] PADRO, T. ; EMEIS, J. J. ; STEINS, M. ; SCHMID, K. W. ; KIENAST, J.: Quantification of plasminogen activators and their inhibitors in the aortic vessel wall in relation to the presence and severity of atherosclerotic disease. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15 (1995), S. 893–902
- [86] PAINTER, J. A. ; MINTZ, G. S. ; WONG, S. C. ; POPMA, J. J. ; PICHARD, A. D. ; KENT, K. M. ; SATLER, L. F. ; LEON, M. B.: Serial intravascular ultrasound studies fail to show evidence of chronic Palmaz-Schatz stent recoil. In: *Am J Cardiol* 75 (1995), S. 398–400
- [87] PANNEKOEK, H. ; VEERMAN, H. ; LAMBERS, H. ; DIERGAARDE, P. ; VERWEIJ, C. L. ; ZONNEVELD, A. J. ; MOURIK, J. A.: Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): a new member of the Serpin gene family. In: *EMBO J* 5 (1986), S. 2539–44

- [88] PASTINEN, T. ; PEROLA, M. ; NIINI, P. ; TERWILLIGER, J. ; SALOMAA, V. ; VARTIAINEN, E. ; PELTONEN, L. ; SYVANEN, A.: Array-based multiplex analysis of candidate genes reveals two independent and additive genetic risk factors for myocardial infarction in the Finnish population. In: *Hum Mol Genet* 7 (1998), S. 1453–62
- [89] PEPINE, C. J. ; HOLMES, D. R.: Coronary artery stents. American College of Cardiology. In: *J Am Coll Cardiol* 28 (1996), S. 782–94
- [90] PRALONG, G. ; CALANDRA, T. ; GLAUSER, M. P. ; SCHELLEKENS, J. ; VERHOEF, J. ; BACHMANN, F. ; KRUIHOF, E. K.: Plasminogen activator inhibitor 1: a new prognostic marker in septic shock. In: *Thromb Haemost* 61 (1989), S. 459–62
- [91] PRISCO, D. ; FEDI, S. ; ANTONUCCI, E. ; CAPANNI, M. ; CHIARUGI, L. ; CHIOCCIOLI, M. ; FALAI, M. ; GIGLIOLI, C. ; ABBATE, R. ; GENSINI, G. F.: Postprocedural PAI-1 activity is a risk marker of subsequent clinical restenosis in patients both with and without stent implantation after elective balloon PTCA. In: *Thromb Res* 104 (2001), S. 181–6
- [92] PROVIDENCE, K. M. ; KUTZ, S. M. ; STAIANO-COICO, L. ; HIGGINS, P. J.: PAI-1 gene expression is regionally induced in wounded epithelial cell monolayers and required for injury repair. In: *J Cell Physiol* 182 (2000), S. 269–80
- [93] PUEL, J. ; JOFFRE, F. ; ROUSSEAU, H. ; GUERMONPREZ, J. L. ; LANCELIN, B. ; MORICE, M. C. ; VALEIX, B. ; IMBERT, C. ; BOUNHOURE, J. P.: [Self-expanding coronary endoprosthesis in the

- prevention of restenosis following transluminal angioplasty. Preliminary clinical study]. In: *Arch Mal Coeur Vaiss* 80 (1987), S. 1311–2
- [94] RALLIDIS, L. S. ; MEGALOU, A. A. ; PAPAGEORGAKIS, N. H. ; TRIKAS, A. G. ; CHATZIDIMITRIOU, G. I. ; TSITOURIS, G. K.: Plasminogen activator inhibitor 1 is elevated in the children of men with premature myocardial infarction. In: *Thromb Haemost* 76 (1996), S. 417–21
- [95] REIDY, M. A. ; IRVIN, C. ; LINDNER, V.: Migration of arterial wall cells. Expression of plasminogen activators and inhibitors in injured rat arteries. In: *Circ Res* 78 (1996), S. 405–14
- [96] RIDKER, P. M. ; HENNEKENS, C. H. ; LINDPAINTNER, K. ; STAMPFER, M. J. ; MILETICH, J. P.: Arterial and venous thrombosis is not associated with the 4G/5G polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor gene in a large cohort of US men. In: *Circulation* 95 (1997), S. 59–62
- [97] RUPPRECHT, H. J. ; ERBEL, R. ; BRENNECKE, R. ; POP, T. ; JUNG, D. ; KOTTMEYER, M. ; HERING, R. ; MEYER, J.: [Current complication rate of percutaneous transluminal coronary angioplasty in stable and unstable angina]. In: *Dtsch Med Wochenschr* 113 (1988), S. 409–13
- [98] RYAN, T. J. ; BAUMAN, W. B. ; KENNEDY, J. W. ; KEREIAKES, D. J. ; ; MCCALLISTER, B. D. ; SMITH, S. C. ; ULLYOT, D. J.: Guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty. A report of

the American Heart Association/American College of Cardiology Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures (Committee on Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty). In: *Circulation* 88 (1993), S. 2987–3007

- [99] RYAN, T. J. ; BAUMAN, W. B. ; KENNEDY, J. W. ; KEREIAKES, D. J. ; KING, S. B. 3. ; MCCALLISTER, B. D. ; SMITH, S. C. J. ; ULLYOT, D. J.: Guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty. A report of the American Heart Association/American College of Cardiology Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures (Committee on Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty). In: *Circulation* 88 (1993), S. 2987–3007
- [100] RYAN, T. J. ; KLOCKE, F. J. ; REYNOLDS, W. A.: Clinical competence in percutaneous transluminal coronary angioplasty. A statement for physicians from the ACP/ACC/AHA Task Force on Clinical Privileges in Cardiology. In: *J Am Coll Cardiol* 15 (1990), S. 1469–74
- [101] SAKATA, K. ; MIURA, F. ; SUGINO, H. ; SHINOBE, M. ; SHIROTANI, M. ; YOSHIDA, H. ; MORI, N. ; HOSHINO, T. ; TAKADA, A.: Impaired fibrinolysis early after percutaneous transluminal coronary angioplasty is associated with restenosis. In: *Am Heart J* 131 (1996), S. 1–6
- [102] SAKSELA, O. ; RIFKIN, D. B.: Cell-associated plasminogen acti-

- vation: regulation and physiological functions. In: *Annu Rev Cell Biol* 4 (1988), S. 93–126
- [103] SARTORI, M. T. ; WIMAN, B. ; VETTORE, S. ; DAZZI, F. ; GIROLAMI, A. ; PATRASSI, G. M.: 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene promoter and fibrinolytic capacity in patients with deep vein thrombosis. In: *Thromb Haemost* 80 (1998), S. 956–60
- [104] SCHATZ, R. A. ; BAIM, D. S. ; LEON, M. ; ELLIS, S. G. ; GOLDBERG, S. ; HIRSHFELD, J. W. ; CLEMAN, M. W. ; CABIN, H. S. ; WALKER, C. ; AND, J. S.: Clinical experience with the Palmaz-Schatz coronary stent. Initial results of a multicenter study. In: *Circulation* 83 (1991), S. 148–61
- [105] SCHNEIDERMAN, J. ; SAWDEY, M. S. ; KEETON, M. R. ; BORDIN, G. M. ; BERNSTEIN, E. F. ; DILLEY, R. B. ; LOSKUTOFF, D. J.: Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 89 (1992), S. 6998–7002
- [106] SCHOMIG, A. ; KASTRATI, A. ; MUDRA, H. ; BLASINI, R. ; SCHUHLEN, H. ; KLAUSS, V. ; RICHARDT, G. ; NEUMANN, F. J.: Four-year experience with Palmaz-Schatz stenting in coronary angioplasty complicated by dissection with threatened or present vessel closure. In: *Circulation* 90 (1994), S. 2716–24
- [107] SCHOMIG, A. ; NEUMANN, F. J. ; KASTRATI, A. ; SCHUHLEN, H. ; BLASINI, R. ; HADAMITZKY, M. ; WALTER, H. ; ZITZMANN-ROTH,

- E. M. ; RICHARDT, G. ; ALT, E. ; SCHMITT, C. ; ULM, K.: A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. In: *N Engl J Med* 334 (1996), S. 1084–9
- [108] SCHUHLEN, H. ; KASTRATI, A. ; DIRSCHINGER, J. ; HAUSLEITER, J. ; ELEZI, S. ; WEHINGER, A. ; PACHE, J. ; HADAMITZKY, M. ; SCHOMIG, A.: Intracoronary stenting and risk for major adverse cardiac events during the first month. In: *Circulation* 98 (1998), S. 104–11
- [109] SERRUYS, P. W. ; JAEGERE, P. de ; KIEMENEIJ, F. ; MACAYA, C. ; RUTSCH, W. ; HEYNDRICKX, G. ; EMANUELSSON, H. ; MARCO, J. ; LEGRAND, V. ; MATERNE, P. ; AL. et: A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. In: *N Engl J Med* 331 (1994), S. 489–95
- [110] SIGWART, U. ; PUEL, J. ; MIRKOVITCH, V. ; JOFFRE, F. ; KAPPENBERGER, L.: Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. In: *N Engl J Med* 316 (1987), S. 701–6
- [111] SIGWART, U. ; URBAN, P. ; GOLF, S. ; KAUFMANN, U. ; IMBERT, C. ; FISCHER, A. ; KAPPENBERGER, L.: Emergency stenting for acute occlusion after coronary balloon angioplasty. In: *Circulation* 78 (1988), S. 1121–7
- [112] STEFANSSON, S. ; LAWRENCE, D. A.: The serpin PAI-1 inhibits

- cell migration by blocking integrin alpha V beta 3 binding to vitronectin. In: *Nature* 383 (1996), S. 441–3
- [113] STEGNAR, M. ; UHRIN, P. ; PETERNEL, P. ; MAVRI, A. ; SALOBIR-PAJNIC, B. ; STARE, J. ; BINDER, B. R.: The 4G/5G sequence polymorphism in the promoter of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene: relationship to plasma PAI-1 level in venous thromboembolism. In: *Thromb Haemost* 79 (1998), S. 975–9
- [114] STRAUSS, B. H. ; LAU, H. K. ; BOWMAN, K. A. ; SPARKES, J. ; CHISHOLM, R. J. ; GARVEY, M. B. ; FENKELL, L. L. ; NATARAJAN, M. K. ; SINGH, I. ; TEITEL, J. M.: Plasma urokinase antigen and plasminogen activator inhibitor-1 antigen levels predict angiographic coronary restenosis. In: *Circulation* 100 (1999), S. 1616–22
- [115] SUGANO, T. ; TSUJI, H. ; MASUDA, H. ; NAKAGAWA, K. ; NISHIMURA, H. ; KASAHARA, T. ; YOSHIZUMI, M. ; NAKAHARA, Y. ; KITAMURA, H. ; YAMADA, K. ; YONEDA, M. ; MAKI, K. ; TATSUMI, T. ; AZUMA, A. ; NAKAGAWA, M.: Plasminogen activator inhibitor-1 promoter 4G/5G genotype is not a risk factor for myocardial infarction in a Japanese population. In: *Blood Coagul Fibrinolysis* 9 (1998), S. 201–4
- [116] THOGERSEN, A. M. ; JANSSON, J. H. ; BOMAN, K. ; NILSSON, T. K. ; WEINEHALL, L. ; HUHTASAARI, F. ; HALLMANS, G.: High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. In: *Circulation* 98 (1998), S. 2241–7

- [117] THOMPSON, S. G. ; KIENAST, J. ; PYKE, S. D. ; HAVERKATE, F. ; LOO, J. C. d.: Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. In: *N Engl J Med* 332 (1995), S. 635–41
- [118] TOPOL, E. J. ; CALIFF, R. M. ; WEISMAN, H. F. ; ELLIS, S. G. ; TCHENG, J. E. ; WORLEY, S. ; IVANHOE, R. ; GEORGE, B. S. ; FINTEL, D. ; AND, M. W.: Randomised trial of coronary intervention with antibody against platelet IIb/IIIa integrin for reduction of clinical restenosis: results at six months. The EPIC Investigators. In: *Lancet* 343 (1994), S. 881–6
- [119] VAUGHAN, D. E.: Fibrinolytic balance, the renin-angiotensin system and atherosclerotic disease. In: *Eur Heart J* 19 Suppl G (1998), S. G9–12
- [120] VIITANEN, L. ; PIHLAJAMAKI, J. ; HALONEN, P. ; LEHTONEN, M. ; KAREINEN, A. ; LEHTO, S. ; LAAKSO, M.: Association of angiotensin converting enzyme and plasminogen activator inhibitor-1 promoter gene polymorphisms with features of the insulin resistance syndrome in patients with premature coronary heart disease. In: *Atherosclerosis* 157 (2001), S. 57–64
- [121] VIRMANI, R. ; FARB, A.: Pathology of in-stent restenosis. In: *Curr Opin Lipidol* 10 (1999), S. 499–506
- [122] WIMAN, B.: Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma:

its role in thrombotic disease. In: *Thromb Haemost* 74 (1995), S. 71–6

- [123] YE, S. ; GREEN, F. R. ; SCARABIN, P. Y. ; NICAUD, V. ; BARA, L. ; DAWSON, S. J. ; HUMPHRIES, S. E. ; EVANS, A. ; LUC, G. ; CAMBOU, J. P. ; AL. et: The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. Etude Cas-Temoins de l'infarctus du Myocarde. In: *Thromb Haemost* 74 (1995), S. 837–41

9 Danksagung

Für die Bereitstellung des Themas möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Adnan Kastrati bedanken.

Ebenfalls möchte ich mich bei Herrn Dr. Werner Koch für die Unterstützung bei den praktischen Versuchen bedanken.

Weiterhin gilt mein Dank allen meinen Freunden und Kollegen, die mir mit Anregung, Rat, Tat und Korrektur zur Seite standen.

Mein besonderer Dank gebührt meiner Betreuerin Dr. Corinna Böttiger für ihren großen wissenschaftlichen und menschlichen Einsatz sowie die sehr angenehme Kooperation.

Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name	Christina Lahn
Geburtsdatum	15.02.1976
Geburtsort	Heidelberg
Wohnsitz	St.-Wolfgang-Straße 26 69231 Malschenberg
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Konfession	Römisch-katholisch
Familienstand	Ledig
Eltern	Karl Lahn (Prokurist) Ursula Lahn (Hausfrau)
Geschwister	Stefanie Lahn, 30 Susanne Lahn, 20

Schulbildung

1982 - 1986	Grundschule Malschenberg
1986 - 1995	Gymnasium Wiesloch (naturwissenschaftlich-neusprachlicher Zug)
06/1995	Allgemeine Hochschulreife

Freiwilliges Soziales Jahr

09/1995 - 10/1995	Ambulanter Pflegedienst Malteser Hilfsdienst e.V., Wiesloch
-------------------	--

Hochschulbildung

11/1995 - 04/1998	Ludwig-Maximilian-Universität München, vorklinische Semester
04/1998 - 04/2001	Technischen Universität München, klinische Semester
04/2001- 04/2002	Ludwig-Maximilian-Universität München, Praktisches Jahr
04/2002	Abschluss des Hochschulstudiums mit der Ärztlichen Prüfung

Beruf

Seit 08/2002	Ärztin im Praktikum am Klinikum der Stadt Ludwigshafen am Rhein, Chirurgische Klinik bei Prof. Dr. Klaus Schönleben
--------------	---

Fremdsprachen

Gute Kenntnisse in Englisch in Wort und Schrift
Grundkenntnisse in Französisch

Nebentätigkeiten

Seit 1992	Ehrenamtliche Tätigkeit beim Malteser Hilfsdienst e.V., Wiesloch
Seit 1992	Nebenamtliche Tätigkeit als Rettungssanitäterin im Rettungsdienst
02/2000 - 04/2002	Transplantationskoordination bei der Deutschen Stiftung Organtransplantation, München

Malschenberg, 8. Juli 2003