

# Anwendung genetischer Tests bei der koronaren Herzerkrankung

Jan R. Ortlepp<sup>1,2</sup>, Klaus Zerres<sup>3</sup>

- 1) Interdisziplinäre Intermediate Care,
- 2) Medizinische Klinik I,
- 3) Institut für Humangenetik RWTH Aachen

## Zusammenfassung

Nicht-genetisch determinierte Verhaltensweisen (Rauchen, Bewegungsmangel und kalorienreiche Ernährung etc.) prädisponieren zur Atherosklerose und zur koronaren Herzerkrankung (KHK). Darüber hinaus weiß man aus Zwillingsstudien, mit deutlich höherer Konkordanzrate für monozygote als für dizygote Zwillinge, dass es eine erhebliche genetische Disposition gibt, und zwar besonders bei einer Manifestation der Erkrankung vor dem 65. Lebensjahr. Die genetische Disposition der KHK hat in den meisten Fällen keine monogene Basis, sondern ist meist multifaktoriell bedingt mit polygener Basis. Nun gibt es sicherlich über tausend mögliche Kandidatengene. Durch Assoziations- und Linkageuntersuchungen wurden einzelne genetische Risikofaktoren (i.d.R. SNP – single nucleotide polymorphism) identifiziert. Im Sinne der evidence based medicine fehlen bis heute jedoch die validen Beweise, welche eine derartige Diagnostik und ihre entsprechenden therapeutischen Konsequenzen rechtfertigen. Das Wissen über genetische Risikofaktoren der KHK und das komplexe Zusammenwirken mit nicht-genetischen Faktoren wird in Zukunft sicherlich weitere Erkenntnisse bringen, welche das Potential für innovative Präventions- und Therapieansätze haben. Dazu sind aber noch weitere intensive Studien erforderlich.

## Schlüsselwörter

KHK, Zwillingsstudien, Atherosklerose

## Summary

Non-genetic determined lifestyle conditions (smoking, inactivity and high-caloric nutrition) are risk factors for atherosclerosis and coronary heart disease (CHD). However, these diseases are strongly influenced by genetic factors as proven by twin studies. The genetic influence seems to be strongest at younger ages (<65 years) and decreases at older ages (>65 years). The genetic disposition is in the majority of cases polygenetic. The human genome contains several thousand candidate genes with SNP (single nucleotide polymorphism) for CHD and we think that several hundred genetic factors may be involved in the pathogenesis. In several association and linkage studies some genetic risk factors for coronary heart disease have been identified. Genetic risk factors have the potential to improve prevention and therapy of coronary heart disease. However, there is lack of evidence that testing of SNP will improve the prognosis and outcome of individuals. Therefore further studies are necessary before genetic testing of multiple SNP can be implemented into clinical practice.

## Keywords

CHD, twin studies, atherosclerosis

## Genetik und koronare Herzerkrankung

In der klinischen Medizin ist die Atherosklerose, insbesondere die koronare Herzerkrankung (KHK), eine der wichtigsten Erkrankungen mit hoher Morbidität und Mortalität. Seit vielen Jahren ist bekannt, dass prinzipiell durch nicht-genetisch determinierte Verhaltensweisen (Rauchen, Bewegungsmangel und kalorienreiche Ernährung etc.) beeinflusste Risikofaktoren (Hypercholesterinämie, Diabetes, Inflammation etc.) zur Atherosklerose prädisponieren. Darüber hinaus weiß man aber auch, dass die KHK zu einem erheblichen Teil erblich bedingt ist und die kardiovaskuläre Morbidität der Eltern per se einen kardiovaskulären Risikofaktor für die Kinder darstellt. Zwillingsstudien belegen unzweifelhaft den Einfluss genetischer Faktoren auf die Entstehung der Erkrankung. Die Konkordanzrate für die KHK betrug in einer dänischen Zwillingsstudie bei Männern für monozygote Zwillinge (MZ) 39% versus 26% für dizygote Zwillinge (DZ) (bei Frauen für MZ 44% versus 14% für DZ) (1). Eine weitere grundlegende Studie stammt aus Schweden (2): Marenberg et al. untersuchten 10.502 monozygote bzw. dizygote Zwillingspaare. Sie konnten ebenfalls zeigen, dass, wenn ein Geschwisteranteil vor dem 55. Lebensjahr an der KHK verstarb, das Risiko, ebenfalls an einer KHK zu sterben, für männliche MZ (relatives Risiko 8.1; 95%CI 2.7-24.5) deutlich über dem von männlichen DZ (relatives Risiko 3.8; 95%CI 1.4-10.5) lag. Analog war auch das Risiko bei den weiblichen MZ-Zwillingen deutlich hö-

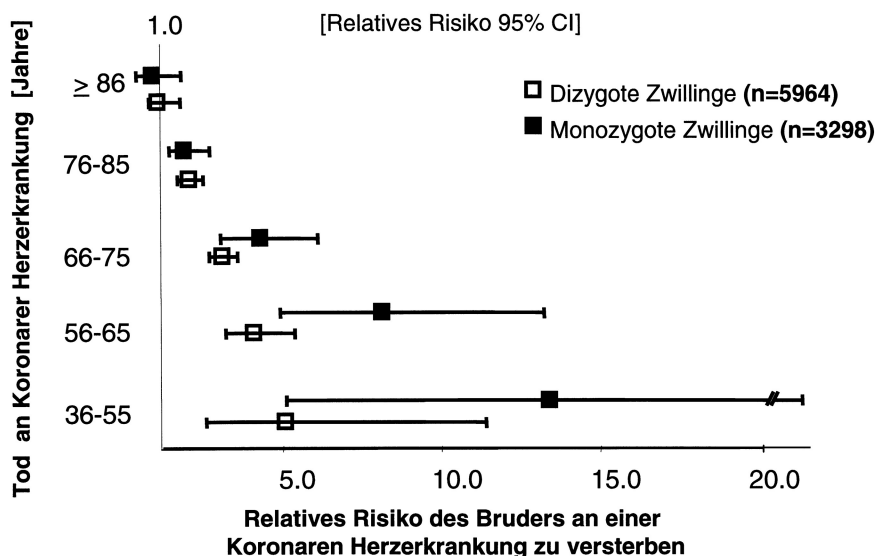


Abb 1 Zusammenhang zwischen dem Manifestationsalter (y-Achse) beim Geschwisteranteil und dem korrespondierenden Risiko (x-Achse) männlicher Zwillinge, ebenfalls an der koronaren Herzkrankung zu versterben.

her (MZ: relatives Risiko 15.0; 95%CI 7.1-31.9 versus DZ: relatives Risiko 2.6; 95%CI 1.0-7.1), wenn ein Geschwister vor dem 65. Lebensjahr an der KHK verstarb. Lag jedoch das Manifestationsalter deutlich jenseits des 65. Lebensjahres näherte sich das Risiko von MZ und DZ an (Abbildung 1). Aus den Untersuchungen lässt sich ableiten, dass die positive Familienanamnese für eine KHK insbesondere im frühen Lebensalter per se einen Risikofaktor darstellt. Dabei scheint der genetische Einfluss umso größer, je früher im Leben die KHK manifest wird.

#### Polygene Basis

Die genetische Disposition der KHK hat in den meisten Fällen keine monogene Basis, wie z.B. bei der familiären Hypercholesterinämie oder dem familiären Liganden-Defekt APOB-100, sondern ist meist multifaktoriell bedingt mit polygener Basis. Die unterschiedliche genetische Disposition der KHK kann dabei durch unterschiedliche Varianten (Mutation oder Polymorphismus) der entsprechenden für die Atherosklerose wichtigen Gene erklärt werden. Mutationen mit konsekutiver Mortalität oder starker Morbidität bei Heterozygotie (autosomal dominante Erbgänge), werden durch evolutionäre Selektion in ihrer Prävalenz niedrig gehalten. Genetische Polymorphismen sind primär nichts anderes als unterschiedliche Nukleotidsequenzen in einem Genabschnitt ohne zunächst einen eindeutig zuzuordnenden Phänotyp bzw. ohne eine eindeutig zuzuordnende Erkrankung. Dabei ist zu beachten,

dass das individuelle Genom zu 99% identisch ist und in nur etwa 1% polymorphe Regionen vorliegen (i.d.R. SNP), wobei man von ca. 2–3 Millionen SNPs in Introns, Exons, regulatorischen und intergenen Bereichen ausgeht. Ein zentrales wesentliches Problem der Analyse genetischer Faktoren der KHK besteht bis heute darin, dass wir nicht wissen, welche und wieviel Gene die genetische Disposition der KHK verursachen; d.h. wir wissen auch nicht, welche Gene getestet werden müssten, um die genetische Disposition für die KHK einigermaßen vollständig zu erfassen. In einer eigenen Untersuchung haben wir die theoretische Anzahl auf über 200 Gene geschätzt (3). Ein zusätzliches Problem ist, dass der individuelle Beitrag eines Gens an der Entstehung eines multifaktoriell bedingten Merkmals oder einer Erkrankung auch unter betroffenen Individuen sehr unterschiedlich sein kann, so dass in Anbetracht einer wahrscheinlich größeren Zahl beteiligter Gene und dem meist geringen prädiktiven Wert eines oder weniger disponierender Gene eine individuelle Vorhersage äußerst begrenzt sein muss.

#### Pathophysiologie und Kandidatengene

Das derzeitige pathophysiologische Konzept der Atherosklerose geht von einer initialen Endothelläsion mit konsekutiver Dysfunktion durch unterschiedliche Noxen aus (4). Die weitere Pathogenese ist ein komplexes Zusammenspiel aus extrazellulärer Deposition modifizierter Lipoproteine, inflammatorischer Reaktion sowie der

Synthese von extrazellulärer Matrix in der Gefäßwand. In letzter Zeit wird der Inflammation eine führende Rolle zugesprochen. Durch Endothelläsionen werden desweiteren Thrombozyten aktiviert. Im Extremfall, der sogenannten Plaqueruptur, führt die luminal Exposure von extrazellulärer Matrix über Aktivierung des Gerinnungssystems zur Gefäßthrombose und somit zum klinischen Bild der instabilen Angina pectoris bzw. des Myokardinfarktes (5). Diese Stoffwechselschritte werden von einer Vielzahl von Genen kontrolliert, von denen genetische Variationen bekannt sind. Als mögliche Kandidatengene kommen nun Gene in Frage, für die unterschiedliche Allele existieren, die z.B. aufgrund einer Veränderung der Struktur des Genprodukts oder dessen Expression die Krankheitsentstehung der KHK beeinflussen könnten. Aus methodischen Gründen können jedoch verständlicherweise nur Kandidaten aus bekannten oder vermuteten pathophysiologischen Bereichen abgeleitet ausgewählt werden. Tabelle 1 zeigt exemplarisch und ohne Anspruch auf Vollständigkeit eine Auswahl von möglichen Kandidatengenen. Aufgrund der komplexen Pathogenese wird die Anzahl der möglichen Kandidatengene auf über tausend geschätzt.

#### Assoziationsstudien

In Assoziationsstudien werden die Allelfrequenzen bestimmter Kandidatengene von Gesunden und Kranken verglichen. Gibt es einen statistisch signifikanten Unterschied in der Häu-

**Tab 1** Die Tabelle listet exemplarisch und ohne Anspruch auf Vollständigkeit verschiedene Kandidatengene für die koronare Herzerkrankung aus unterschiedlichen pathophysiologischen Systemen (Gerinnung, Lipidstoffwechsel, RAAS, Endothelfunktion, Matrix, Inflammation etc.) auf, welche auf ihre Assoziation mit der Erkrankung untersucht wurden. Allein aus den bekannten pathophysiologischen Systemen ließen sich sicherlich mehrere hundert weitere Kandidatengene definieren.

Gene	Chrom. Lokalisation	SNPs
AGT (angiotensinogen)	1q42-q43	p.M235T
AGTR1 (angiotensin II receptor type 1)	3q21-q25	c.1166A>C
APOE (Apolipoprotein E)	19q13.2	c.3932T>C/ c.4070C>T
C5 (Complement component 5)	9q32-9q34	p.I802V
CASR (Calcium-sensing receptor)	3q21-q24	p.A 986 S
CCL 11 (Eotaxin)	17q21.1	c.23A>T
CCR2 (Chemokine receptor 2)	3p21	p.V61I
CCR3 (Chemokine receptor 3)	3p21.3	c.51T>C
CCR5 (Chemokine receptor 5)	3p21	c.303G>A
CD14 (CD14 receptor)	5q31	1-260C>T
CETP (cholesterol ester transfer protein)	16q21	p.R451Q
CMA1 (heart chymase A)	14q11.2	1-1905G>A
CRP (C-reactive protein)	1q21-q23	c.1059G>C
CSF2 (Colony stimulating factor 2)	5q23-5q31	c.2284C>T
CTGF (Connective tissue growth factor)	6q23.1	1-447G>C
CX3CR (Chemokine CXC-motif receptor 3)	Xq13	p.V249I
ESR1 (estrogen receptor alpha gene polymorphism)	6q25.1	c.351A>G/ c.397T>C
F12 (coagulation factor 12)	5q33	c.46C>T
F2 (prothrombin)	11p11	c.20210G>A
F5 (coagulation factor 5)	1q23	c.1691G>A
F7 (coagulation factor 7)	13q34	c.11496G>A
FGB (beta Fibrinogen)	4q28	c.8059C>A
GJA4 (gap junction protein, alpha 4, 37kDa, connexin 37)	1p35.1	c.1019C>T
GNB3 (guanine nucleotide binding protein beta polypeptide 3)	12q13	c.825C>T
IL-10 (Interleukin 10)	1q31-q32	1-1082G>A
IL1B (Interleukin 1B)	2q14	c.1423C>T
IL-4 (Interleukin 4)	5q23-q31	c.582C>T
IL-6 (interleukin 6)	7p21-p15	1-174G>C
ITGB3 (platelet glycoprotein IIIa, antigen CD61)	17q21.32	c.1565T>C
LPL (lipoprotein lipase)	8p22	c.280G>A
LTC4S (Leukotriene 4 Synthase)	5q35	1-444A>C
MCP-1 (Monocyte chemotactic protein 1)	19	1-2518G>A
MGP (Matrix Gla protein)	12p	1-138T>C
MMP10 (Human stromelysin 2)	11q22.2-q22.3	c.10920A>G
MMP3 (Human stromelysin 1)	11q23	c.94C>T
MMP9 (Gelatinase B)	20q12-q13	1-1562C>T
PHOX (NADPH oxidase p22)	6q25.1	c.242C>T
PON1 (paraoxonase)	7q21-q22	p.Q192R
PPARG (peroxisome proliferative activated receptor, gamma)	3p25	c.161C>T
SPP1 (Osteopontin)	4q11-q21	c.9583A>G
THBD (thrombomodulin)	20p11.2	c.845G>A
TLR4 (toll-like receptor 4)	9q32-q33	p.N229G
TNF (Tumor necrosis factor alpha)	6p21.3	1-308G>T
VDBP (Vitamin D Binding Protein)	4q12-4q13	p.D416E

figkeit einzelner Genotypen so wird eine Assoziation zwischen dem Gen und der Erkrankung angenommen. Nach der initialen Euphorie der ersten positiven Assoziationsbefunde, zeigte sich, dass die meisten Studien zu klein waren und die Ergebnisse in großen Studien nicht reproduziert werden konnten. So zeigte die erste Arbeit zum ACE Insertions/Deletionspolymorphismus eine positive Assoziation (odds ratio 1.34;  $p < 0.01$ ) für den Genotyp DD mit der KHK an einer Population mit 610 Infarktpatienten und 733 Kontrollen (6). Dies konnte u.a. an einer sehr großen Folgeuntersuchung mit 4629 Fällen und 5934 Kontrollen nicht so bestätigt werden (odds ratio 1.10; 95% CI 1.00-1.21) (7). Fall-Kontroll Studien tragen immer die Möglichkeit der Verfälschung, weil

sich die Fall- und Kontrollgruppen aus teilweise unterschiedlichen Subpopulationen rekrutieren; da diese Subpopulationen aber nicht immer exakt definiert bzw. schwierig zu stratifizieren sind (zB ethnischer Hintergrund etc.) bleibt dieses methodische Problem bestehen. Darüber hinaus ist eine einheitlich und sehr sorgfältige Phänotypisierung notwendig. Ferner erhöht sich aufgrund des Problems des multiplen Testens die Wahrscheinlichkeit für falsch positive Ergebnisse. Eine ideale Assoziationsstudie untersucht wenige pathophysiologisch relevante Polymorphismen, an sehr vielen Individuen und wiederholt die Untersuchung an weiteren unabhängigen Populationen. Ein Problem neben der ausreichenden Fallzahl und Qualität der

Phänotypisierung ist die richtige Auswahl der Kontrollen. Die „idealen“ Kontrollpersonen wären – trotz Zigaretten-Rauchen, Inaktivität und fast food – 100 Jahre alt, kerngesund, vital und glücklich...

Für den APOE Polymorphismus ist die Datenlage konklusiv und es konnte ein eindeutiger Zusammenhang mit der koronaren Herzerkrankung nachgewiesen werden (8, 9, 10). In der „Framingham offspring study“ mit 3413 Individuen war der Genotyp APOE2 und APOE4 bei Männern mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität assoziiert (Männer: APOE2/APOE4 18.2%/18.6% versus APOE3 12.7%), bei Frauen lediglich der Genotyp APOE4 (Frauen: APOE4 9.9% versus APOE2/APOE3 4.9%/6.6%). Die odds ratio für APOE4 lag bei 1.63 für Männer und 1.51 für Frauen (8). In einer angiographischen Untersuchung war ebenfalls der Genotyp APOE4 mit der Schwere der KHK assoziiert (9). In einer großen Studie mit über 10.000 Individuen konnte die Assoziation für APOE4 mit Myokardinfarkt bestätigt werden (10), allerdings was die hazard ratio für APOE4 versus APOE3 bzw. APOE3 versus APOE 2 mit 1.17 (95% CI 1.09-1.25) gering im Vergleich zu einer hazard ratio von 4.6 (95% CI 4.1-5.3) des Zigarettenrauchens. In einer Meta-Analyse aus 48 Studien konnte ebenfalls der Stellenwert des APOE4-Alleles als Risikofaktor der KHK mit einer odds ratio von 1.42 (95% CI 1.26-1.61) bestätigt werden (11).

Zwei Studien haben die Intima-Media-Dicke (IMT) der A. carotis als Surrogatparameter der Atherosklerose auf die Assoziation mit genetischen Polymorphismen untersucht (12, 13). Eine Arbeitsgruppe zeigte dabei eine Assoziation der IMT mit dem Genotyp des toll-like receptors 4 (TLR4) bei 810 Individuen, wobei lediglich 55 Individuen das seltene, mit erhöhter Atherosklerose assoziierte, Allel aufwiesen (12). Eine andere Arbeitsgruppe untersuchte 470 gesunde Probanden ebenfalls mittels Ultraschall und zeigte eine Assoziation des 5-Lipoxygenase (ALOX5) Genotyps mit der IMT. Aber auch hier trugen nur 28 Personen das seltene, mit erhöhter

Atherosklerose assoziierte, Allel (13). Schlussfolgerungen über den prognostischen Wert der jeweiligen Genotypen erlauben diese Studien in keiner Weise. Eine japanische Arbeitsgruppe hat 112 Polymorphismen bei 909 Individuen (464 Kontrollen; 445 Fälle) untersucht und in der Folge etwa 20 Polymorphismen bei über 4000 Individuen auf ihre Assoziation getestet. Von diesen zeigten sich lediglich bei Männern und Frauen je zwei unterschiedliche Polymorphismen als signifikant häufiger in den Fallgruppen (bei Männern: Connexin 37 und p22phox; bei Frauen: Plasminogen-activator inhibitor type 1 und Stromelysin-1) (14). Die ebenfalls getesteten APOE-SNPs waren in dieser Studie letztlich nicht signifikant mit der KHK assoziiert. Dies illustriert, dass verschiedene genetische Polymorphismen bei beiden Geschlechtern die Disposition zur KHK unterschiedlich bedingen können. Den geschlechtsspezifischen Effekt eines genetischen Faktors unterstreicht auch eine sehr interessante kürzlich publizierte Arbeit, welche 2617 Männer und 3791 Frauen der „Rotterdam Study“, einer prospektiven Populations-Kohortenstudie, untersuchten. Hierbei zeigte sich bei Frauen einen protektiver Effekt eines ESR1 (estrogen receptor alpha) Haplotyps (bei ca. 21% der Frauen) vor einem Myokardinfarkt (Ereignisrate 1.8% versus 3.3%/3.5%) über einen mittleren follow up-Zeitraum von 7 Jahren (15). Diese Ergebnisse müssen noch in weiteren Studien reproduziert werden.

#### **Linkage Untersuchungen (genome wide scan)**

Mit Hilfe eines genome wide scans können Genloci identifiziert werden, welche in einem Zusammenhang mit einem quantitativen oder qualitativen Phänotyp stehen, ohne das man die pathophysiologische Funktion des Gens vorher kennt. Schunkert et al. konnten unlängst bei 513 Familien mit frühzeitigem Myokardinfarkt einen Genort auf Chromosom 14 identifizieren (16). Ob es sich hierbei auch um einen Polymorphismus oder aber um eine neue eher seltene Mutation handelt, und wie dieses Gen in der allgemeinen Population die Inzidenz des Myokardinfarktes beeinflusst, muss

noch in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Eine Arbeitsgruppe aus Japan hat bei 92 Fällen und 658 Kontrollen mittels Genotypisierung von 65.671 SNPs nur bei 5 SNP (Lmphotoxin-a; LTA/ nuclear factor of k light polypeptide enhancer in B cells, inhibitor-like 1; NFKBIL1/ HLA-B associated transcript 1; BAT1) eine signifikante Assoziation mit dem Herzinfarkt gefunden. In einer zweiten Population aus 1133 Fällen und 1006 Kontrollen waren lediglich die SNPs des LTA Gens signifikant mit dem Herzinfarkt assoziiert (17). Interessanterweise konnte diese Assoziation in einer weiteren unabhängigen Studienpopulation in Japan mit 1891 Fällen und 1798 Kontrollen nicht reproduziert werden (18). Eine Arbeitsgruppe aus Island konnte mittels eines genome wide scan einen weiteren Genlocus für die Region des 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) identifizieren (19). Dass die drei Arbeitsgruppen nicht dieselben Loci fanden, unterstreicht die heterogene genetische Disposition der KHK und lässt ahnen, wie schwierig die Übertragung einzelner Studienergebnisse auf unsere Allgemeinbevölkerung ist.

#### **SNP und Evidenz based medicine (EBM) – klassische Risikofaktoren**

Nach den Kriterien der EBM fehlt bis dato der in mehreren unabhängigen Studien bewiesene Vorteil einer genetischen Testung für die KHK. Dabei ist zu betonen, dass hier nicht nur der statistische Nachweis einer positiven Assoziation gefordert werden sollte, sondern auch der Nachweis des Nutzens von therapeutischen Konsequenzen in Bezug auf Lebensqualität und/oder Überlebensvorteil. Dies konnte bis jetzt für keinen genetischen Polymorphismus belegt werden. Demgegenüber ist für sogenannte klassische Risikofaktoren die Datenlage konsistent. Bereits im Jugendalter sind sie mit den Initialstadien der Atherosklerose assoziiert (20, 21). Die klassischen Risikofaktoren liegen bei 80–90% der Fälle mit KHK vor (22, 23). Nikotinkarenz, Bewegung und Ernährungsumstellung stellen weiterhin die eigentliche Herausforderung in der Primärprävention der KHK dar. Daneben ist der additive Wert der Diagnostik genetischer

Polymorphismen bisher in keiner Studie nachgewiesen worden.

#### **Fazit**

Bis heute gibt es für die multifaktoriell bedingte Atherosklerose, insbesondere die KHK, keine validen Daten, welche derzeit den Einsatz von genetischen Polymorphismen als Screening-Tests rechtfertigen könnten. Auf der anderen Seite ist die Evidenz der Schädlichkeit von Rauchen, Bewegungsmangel und Fehlernährung so überwältigend, dass alle Anstrengungen unternommen werden sollten, hier in der Primärprävention aktiv zu werden. Falls ein Angehöriger vor dem 65. Lebensjahr an der KHK erkrankt, so ist dies als Risikofaktor wahrzunehmen. Bei dem Verdacht auf eine monogen bedingte familiäre Hypercholesterinämie ist die Diagnose entsprechend den allgemeinen Richtlinien zu stellen.

Für die Anwendung von SNP-Analysen in der Primärprävention im Sinne der evidence based medicine fehlen bis heute Daten, die diese Diagnostik und ihre entsprechenden therapeutischen Konsequenzen rechtfertigen. Wie in einer kürzlich publizierten Arbeit kommentiert (24), könnte die zu starke Fokussierung auf die genetische Ursache der Erkrankung, Ressourcen von einfachen aber effektiven Maßnahmen ablenken. Das Wissen über genetische Risikofaktoren der KHK und das komplexe Zusammenwirken mit nicht-genetischen Faktoren wird in Zukunft sicherlich weitere Erkenntnisse bringen, welche das Potential für innovative Präventions- und Therapieansätze haben. Dazu sind aber noch weitere intensive Studien erforderlich.

#### **Literatur**

1. Harvald B, Hauge M. Hereditary factors elucidated by twin studies. Publication 1103, Genetic and Epidemiology of Chronic Disease. Washington DC: U.S. Public Health Service, 1963:61-67.
2. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF et al. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. N Engl J Med 1994; 330:1041-1046.
3. Ortlepp JR, Lauscher J, Janssens U, et al. Analysis of Multiple Genetic Polymorphisms Improves Assessment of the Individual Genetic Burden for Coronary Artery Disease. Eur J Intern Med 2002; 13:485-492.

4. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
5. Fuster V. Elucidation of the role of plaque instability and rupture in acute coronary events. *Am J Cardiol* 1995;76:24C-33C.
6. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359: 641-44.
7. Keavney B, McKenzie C, Parish S, et al. Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. *Lancet* 2000;355:434-42.
8. Lahoz C, Scafefer EJ, Cupples LA, et al. Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 2001; 154:529-537.
9. Chen Q, Reis SE, Kammerer CM, et al. APOE polymorphism and angiographic coronary artery disease severity in the women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *Atherosclerosis* 2003; 169: 159-167.
10. Keavney B, Parish S, Palmer A, et al. Large-scale evidence that the cardiotoxicity of smoking is not significantly modified by the apolipoprotein E e2/e3/e4 genotype. *Lancet* 2003; 361: 396-398
11. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-Analysis: Apolipoprotein E genotype and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004; 141:137-147.
12. Kiechl S, Lorenz E, Reindl M, et al. Toll-like receptor 4 polymorphism and atherogenesis. *N Engl J Med* 2002; 347:185-192.
13. Dwyer JH, Allayee H, Dwyer KM, et al. Arachidonate 5-Lipoxygenase promotor genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N Engl J Med* 2004; 350:29-37.
14. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002; 347: 1916-1923.
15. Schuit SCE, Oei HHS, Wittemann JCM, et al. Estrogen receptor alpha gene polymorphism and risk of myocardial infarction. *JAMA* 2004; 291:2969-2977.
16. Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B et al. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nature Genetics* 2002; 30: 210-214.
17. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-a gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nature Genetics* 2002; 32: 650-654.
18. Yamada A, Ichihara S, Murase Y, et al. Lack of association of polymorphism of the lymphotoxin-a gene with myocardial infarction. *J Mol Med* 2004; 82:477-483.
19. Helgadottir A, Manolescu A, Thorleifsson, et al. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nature Genetics* 2004; 36:23-239.
20. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N Engl J Med* 2004 1998; 338:1650-1656.
21. Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood. *JAMA* 2003; 290:2277-2283.
22. Greenland P, Knoll MD, Stammler J, et al. Major Risk Factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *JAMA* 2003; 290:891-897.
23. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003; 290:898-904.
24. Sankar P, Cho MK, Condit CM, et al. Genetic research and health disparities. *JAMA* 2004; 291:2985-2989.

**Korrespondenz**

Priv.-Doz. Dr. med. Jan R. Ortlepp  
 Interdisziplinäre Intermediate Care /  
 Medizinische Klinik I  
 Universitätsklinikum RWTH Aachen  
 Pauwelsstrasse 30  
 52074 Aachen  
 jortlepp@ukaachen.de