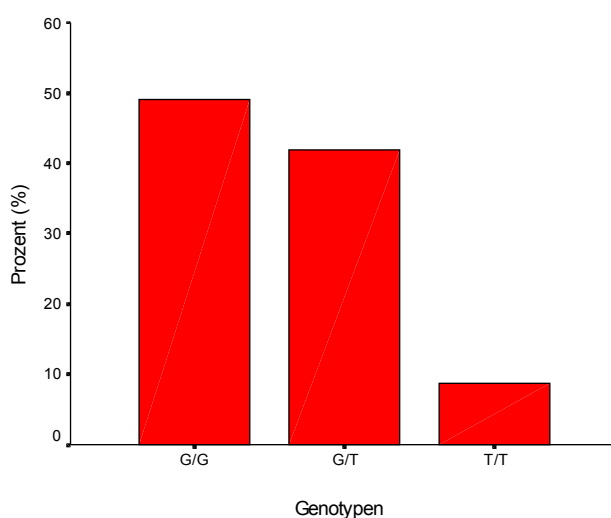


### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Verteilung des eNOS-Genotyps unter den Probanden

4.279 DNA-Proben standen von den 4.310 in die SHIP-Studie eingeschlossenen Probanden für eine Genotypisierung zur Verfügung. Diese wurden mittels TaqMan™-Verfahrens genotypisiert. Bei 4.219 DNA-Proben gelang die Alleldiskriminierung des im Exon 7 lokalisierten G894T-Polymorphismus des eNOS-Gens. Die Verteilung des G/G-, G/T- und T/T-Genotyps unter den Probanden ist Abbildung 3.1 zu entnehmen.



**Abbildung 3.1:** Verteilung des eNOS-Genotyps unter den 4.219 Probanden in Prozent (G/G: Wildtyp; G/T: heterozygote Variante; T/T: homozygote Variante)

Die beobachteten und erwarteten Häufigkeiten stimmten miteinander überein (s. Tab 3.1). Somit entspricht die Genotypverteilung dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

**Tabelle 3.1:** Häufigkeit des eNOS-Genotyps unter den Probanden (beobachtet) und nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz berechnet (erwartet)

Genotyp	beobachtet (n)	beobachtet (%)	erwartet (%)	95% Konfidenzintervall (%)
G/G	2074	49,16	49,22	47,65 - 50,67
G/T	1772	42,00	41,87	40,52 - 43,50
T/T	373	8,84	8,90	8,02 - 9,73
Gesamt	4219	100,00	100,00	

### 3.2 Verteilung des eNOS-Genotyps im Hinblick auf kardiovaskuläre Risikofaktoren und Eigenschaften der Probanden

Um den Zusammenhang von eNOS-Polymorphismus und Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu untersuchen, wurde zunächst die eNOS-Genotypverteilung hinsichtlich der vier etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren (Hypertonie, Dyslipoproteinämie, Diabetes mellitus und Rauchen) stratifiziert (s. Tabelle 3.2). Die Angabe über Vorliegen eines bzw. keines Risikofaktors wurde anamnestisch erhoben.

Innerhalb der Strata wiesen Probanden mit und ohne Dyslipoproteinämie bzw. Diabetes mellitus signifikante Unterschiede bezüglich der Verteilung der eNOS-Genotypen auf ( $p < 0,001$  bzw.  $p = 0,039$ ).

**Tabelle 3.2:** Verteilung des eNOS-Genotyps unter den Probanden im Hinblick auf kardiovaskuläre Risikofaktoren

Risikofaktor ja/nein	Gesamt (n)	G/G (% von n)	G/T (% von n)	T/T (% von n)	p
Hypertonie	1694	50,8	40,9	8,4	0,220
keine Hypertonie	2453	48,1	42,7	9,2	
Dyslipo- proteinämie	836	55,3	35,8	9,0	< 0,001
keine Dyslipo- proteinämie	2970	47,7	43,4	8,9	
Diabetes mellitus	333	49,8	37,8	12,3	0,039
kein Diabetes mellitus	3847	49,1	42,4	8,5	
Raucher	1274	49,9	41,1	9,0	0,686
Nichtraucher	2928	48,8	42,5	8,7	

Zusätzlich fanden Eigenschaften der Probanden wie Geschlecht, Alter und Body Mass Index (BMI) und die Krankengeschichte mit diagnostiziertem Herzinfarkt, diagnostiziertem Apoplex und Thrombose Beachtung. Da der Altersmedian aller Probanden bei 50,3 Jahren lag, wurde im Folgenden der Parameter „Alter“ in  $\geq 50$  Jahre

und < 50 Jahre unterteilt. Beim Body Mass Index (BMI) wurde ein Wert  $\geq 30$  demjenigen < 30 gegenübergestellt, da Adipositas laut WHO-Definition ab einem BMI  $\geq 30$  beginnt. Keiner der hier geprüften Parameter wies einen signifikanten p-Wert auf. Die größten Abweichungen von der üblichen Genotypverteilung fielen bei Probanden mit diagnostiziertem Herzinfarkt auf. Nur 44,8% trugen den Wildtyp, während der homozygote Polymorphismus mit 12,4% die höchste Prävalenz aller Substrata aufwies (s. Tab. 3.3).

**Tabelle 3.3:** Verteilung des eNOS-Genotyps unter den Probanden im Hinblick auf Eigenschaften und Krankengeschichte der Probanden

Eigenschaft	Gesamt (n)	G/G (% von n)	G/T (% von n)	T/T (% von n)	p
Männlich	2090	47,5	43,0	9,6	0,054
Weiblich	2129	50,8	41,1	8,1	
Alter $\geq 50$	2186	49,5	41,3	9,2	0,493
Alter < 50	2033	48,8	42,7	8,4	
BMI $\geq 30$	1075	51,0	41,4	7,6	0,166
BMI < 30	3136	48,5	42,2	9,3	
diagnostizierter Herzinfarkt	145	44,8	42,8	12,4	0,249
kein diagn. Herzinfarkt	4044	49,2	42,1	8,7	
diagnostizierter Apoplex	96	52,1	40,6	7,3	0,786
kein diagn. Apoplex	4099	49,0	42,1	8,8	
Thrombose	39	56,4	35,9	7,7	0,656
keine Thrombose	4161	49,0	42,1	8,8	

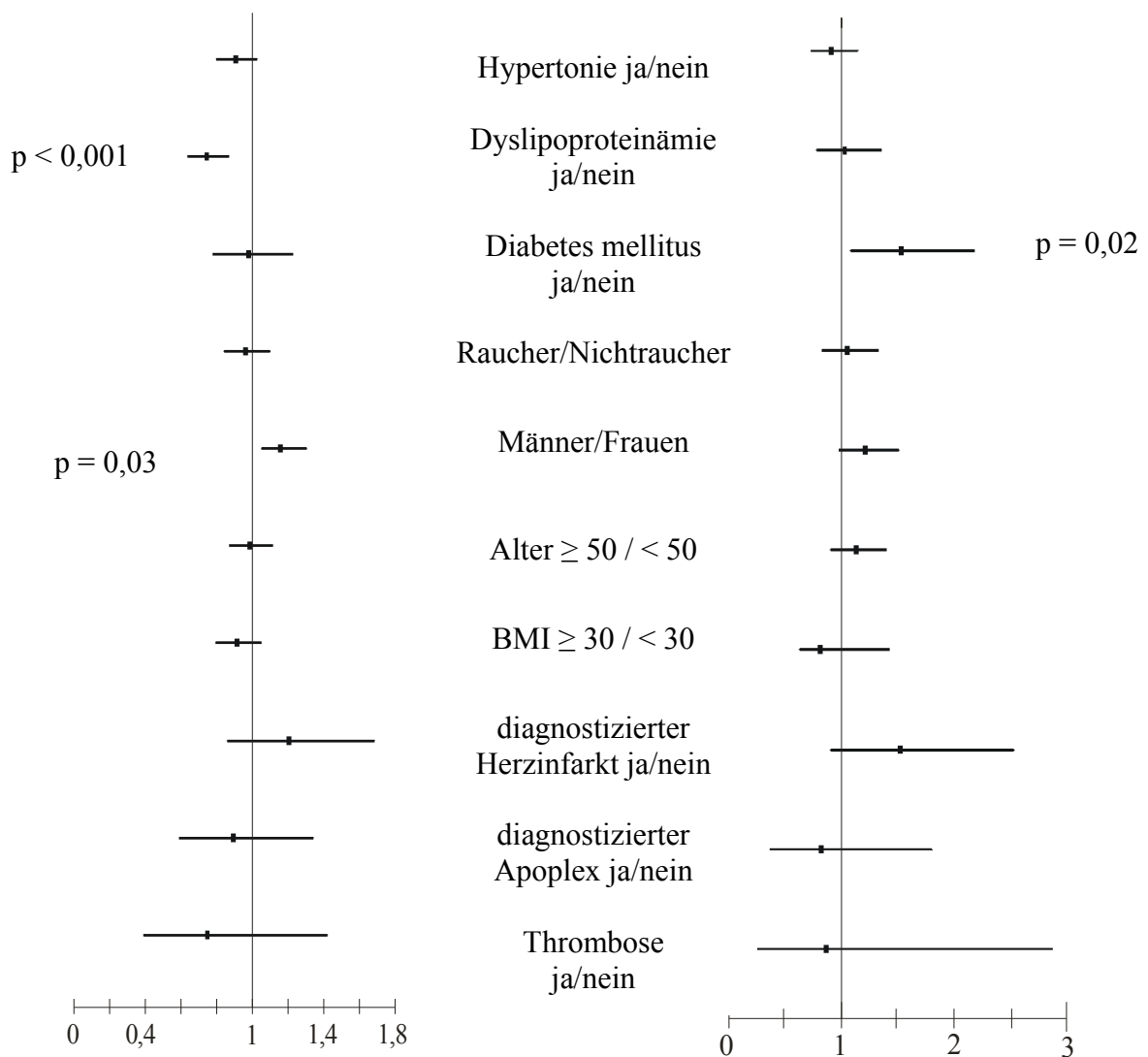
Um eine Aussage darüber zu treffen, ob der Genotyp mit einem erhöhten Krankheitsrisiko assoziiert war, wurden die Odds Ratios für die in Tabelle 3.2 und 3.3 aufgeführten Parameter berechnet. Dazu wurden zwei getrennte Quotenverhältnisse

gebildet. Zum einen wurde dem Träger mindestens eines varianten Allels (G/T+T/T) der Wildtyp (G/G) (s. linker Teil der Abb. 3.2) und zum anderen der homozygoten Variante (T/T) der Wildtyp plus heterozygote Variante (G/G+G/T) (s. rechter Teil der Abb. 3.2) gegenübergestellt – und berechnet für Vorliegen bzw. Fehlen des Risikofaktors oder der Eigenschaft.

Für das Quotenverhältnis G/T+T/T zu G/G nahmen die meisten errechneten Odds Ratios Werte  $< 1$  an, im Gegensatz zum Quotenverhältnis T/T zu G/G+G/T, bei dem der überwiegende Teil der Odds Ratios  $> 1$  lag.

Im Einzelnen wies für G/T+T/T zu G/G die Dyslipoproteinämie einen signifikanten p-Wert von  $< 0,001$  auf. Demzufolge litten Probanden mit G/T- oder T/T-Polymorphismus weniger häufig an Dyslipoproteinämie als Probanden des G/G-Genotyps (OR = 0,74; 95% KI: 0,63 – 0,86). Verglichen mit dem Quotenverhältnis T/T zu G/G+G/T bestätigte sich dieser protektive Effekt bei homozygotem (T/T-) Polymorphismus nicht (OR = 1,01;  $p = 0,92$ ). Die dem Quotenverhältnis G/T+T/T zu G/G zu entnehmende Erkenntnis, dass bei Männern gegenüber Frauen der Polymorphismus signifikant verstärkt vorkam (OR = 1,14;  $p = 0,03$ ), unterstützte das Quotenverhältnis T/T zu G/G+G/T ebenfalls nicht (OR = 1,19;  $p = 0,10$ ). Hinsichtlich des Auftretens von Diabetes mellitus zeigte das Quotenverhältnis T/T zu G/G+G/T ein signifikant positives Risiko mit einer OR = 1,51;  $p = 0,02$ . Dieses vermehrte Auftreten von polymorpher eNOS unter Diabetikern spiegelte G/T+T/T zu G/G jedoch nicht wider (OR = 0,97;  $p = 0,79$ ).

Bezüglich des Bluthochdrucks wiesen beide Quotenverhältnisse Odds Ratios  $< 1$  auf, ebenso für den BMI  $\geq 30$ , den diagnostizierten Apoplex und die Thrombose. Hinsichtlich eines diagnostizierten Herzinfarkts lagen die Odds Ratios jeweils  $> 1$ .



**Abbildung 3.2:** Grafische Darstellung der Quotenverhältnisse G/T+T/T zu G/G (links) und T/T zu G/G+G/T (rechts) für die aufgeführten Parameter: die Balken entsprechen den 95% Konfidenzintervallen, die Punkte den Odds Ratios, signifikante p-Werte sind eingetragen.

### 3.3 Verteilung des eNOS-Genotyps in Abhängigkeit von Hypertonie

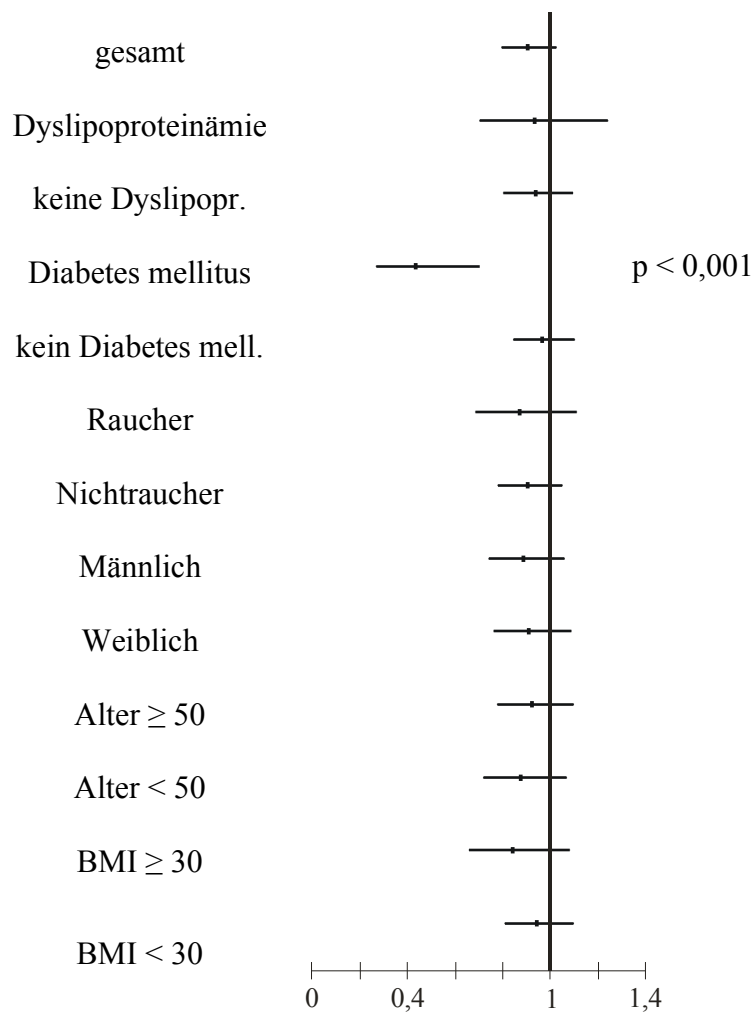
Die Verteilung des eNOS-Genotyps wurde in Abhängigkeit von vorliegender bzw. nicht vorliegender Hypertonie und anderen gleichzeitig bestehenden Risikofaktoren einer KHK und Eigenschaften der Probanden untersucht. Hier traten unter den Probanden mit Diabetes mellitus signifikante Unterschiede in der Genotypverteilung auf ( $p = 0,002$ ): auffallend viele waren T/T-Träger (10,4% mit Diabetes mellitus und Hypertonie und 16,4% mit Diabetes mellitus ohne Hypertonie). In der Genotypverteilung hinsichtlich

Bestehen bzw. Nichtbestehen von Hypertonie und Eigenschaften der Probanden gab es keine signifikanten Unterschiede (s. Tab. 3.4).

**Tabelle 3.4:** Verteilung des eNOS-Genotyps unter Probanden in Abhängigkeit von Hypertonie (HT) und anderen gleichzeitig bestehenden kardiovaskulären Risikofaktoren und Eigenschaften der Probanden

Risikofaktor/ Eigenschaft	HT/ keine HT (n <sub>1</sub> /n <sub>2</sub> )	G/G (% von n <sub>1</sub> / % von n <sub>2</sub> )	G/T (% von n <sub>1</sub> / % von n <sub>2</sub> )	T/T (% von n <sub>1</sub> / % von n <sub>2</sub> )	p
gesamt	1694/2453	50,8/48,1	40,9/42,7	8,4/9,2	0,22
Dyslipoproteinämie	520/316	56,0/54,1	34,6/37,7	9,4/8,2	0,62
keine Dyslipoprot.	1010/1913	48,9/47,2	43,7/43,2	7,4/9,7	0,12
Diabetes mellitus	222/110	56,8/36,4	32,9/47,3	10,4/16,4	0,002
kein Diabetes mellitus	1468/2324	49,8/48,8	42,1/42,4	8,1/8,9	0,66
Raucher	393/856	52,4/48,8	39,4/41,7	8,1/9,5	0,46
Nichtraucher	1300/1596	50,3/47,7	41,2/43,2	8,5/9,1	0,37
Männlich	879/1156	49,3/46,1	41,2/44,2	9,6/9,7	0,35
Weiblich	815/1297	52,4/49,9	40,5/41,3	7,1/8,8	0,30
Alter ≥ 50	1122/1039	50,4/48,3	40,5/42,2	9,1/9,5	0,61
Alter < 50	572/1414	51,4/47,9	41,6/43,1	7,0/9,0	0,21
BMI ≥ 30	645/414	52,7/48,2	39,1/45,2	8,2/6,5	0,124
BMI < 30	1044/2036	49,6/48,0	41,9/42,2	8,5/9,8	0,460

Zur Berechnung der Odds Ratios für die in Tabelle 3.4 aufgeführten Parameter wurden Quotenverhältnisse gebildet (Abb. 3.3). Träger von mindestens einem T-Allel wiesen bei gleichzeitigem Vorliegen eines Diabetes mellitus ein signifikant geringeres Risiko auf, an Hypertonie zu erkranken (OR = 0,44; p < 0,001).



**Abbildung 3.3:** Grafische Darstellung der Quotenverhältnisse G/T+T/T zu G/G für die aufgeführten Parameter in Abhängigkeit von Hypertonie: die Balken entsprechen den 95% Konfidenzintervallen, die Punkte den Odds Ratios, signifikante p-Werte sind eingetragen.

Eine weitere Gegenüberstellung von homozygotem Polymorphismus zu heterozygoter Variante plus Wildtyp (T/T zu G/G+G/T) wurde nicht mehr vorgenommen, da in den Substrata die Anzahl der T/T-Träger zu gering war, um statistisch sinnvoll ausgewertet werden zu können.

### 3.4 Verteilung des eNOS-Genotyps in Abhängigkeit von diagnostiziertem Herzinfarkt

Um den Zusammenhang von G894T-Polymorphismus und Herz-Kreislauf-erkrankungen weiter zu untersuchen, wurde die Verteilung des eNOS-Genotyps bei Probanden in Abhängigkeit von diagnostiziertem Herzinfarkt und gleichzeitig bestehenden kardiovaskulären Risikofaktoren und Eigenschaften der Probanden näher betrachtet (s. Tab. 3.5).

Diese Aufstellung zeigte keine signifikanten Unterschiede in der eNOS-Genotypverteilung. Insgesamt lag der Anteil der T/T-Träger mit diagnostiziertem Herzinfarkt bis auf den Parameter Rauchen und Alter < 50 immer über demjenigen der T/T-Träger ohne diagnostizierten Herzinfarkt. Die größte Differenz bestand bei Probanden mit Diabetes mellitus (20,6% / 11,5%).

**Tabelle 3.5:** Verteilung des eNOS-Genotyps unter Probanden in Abhängigkeit von diagnostiziertem Herzinfarkt (HI) und gleichzeitig bestehenden kardiovaskulären Risikofaktoren und Eigenschaften der Probanden

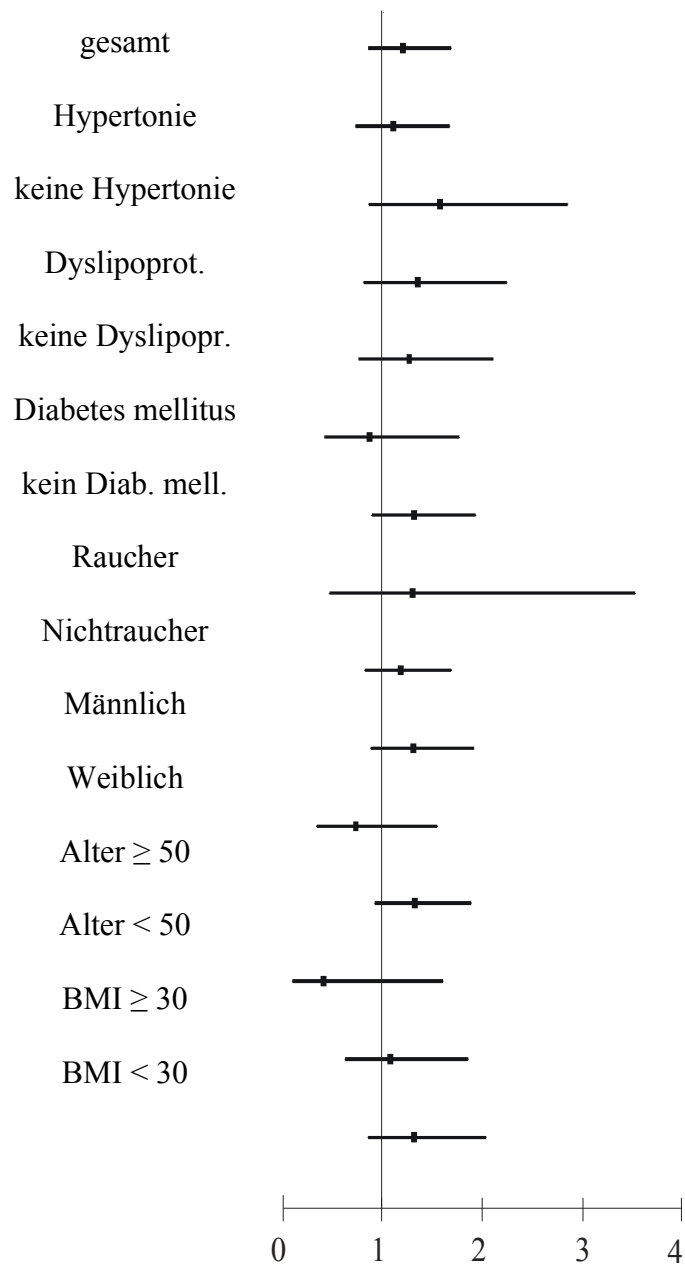
Risikofaktor/ Eigenschaft	HI/kein HI (n <sub>1</sub> /n <sub>2</sub> )	G/G (% von n <sub>1</sub> / % von n <sub>2</sub> )	G/T (% von n <sub>1</sub> / % von n <sub>2</sub> )	T/T (% von n <sub>1</sub> / % von n <sub>2</sub> )	p
gesamt	145/4044	44,8/49,2	42,8/42,1	12,4/8,7	0,25
Hypertonie	97/1587	48,5/50,8	40,2/41,0	11,3/8,2	0,55
keine Hypertonie	48/2400	37,5/48,3	47,9/42,6	14,6/9,1	0,22
Dyslipo- proteinämie	66/765	48,5/55,7	40,9/35,4	10,6/8,9	0,53
keine Dyslipoprot.	64/2896	42,2/47,8	43,8/43,5	14,1/8,7	0,29
Diabetes mellitus	34/295	52,9/49,2	26,5/39,3	20,6/11,5	0,18
kein Diabetes mellitus	110/3726	42,7/49,2	47,3/42,3	10,0/8,5	0,40
Raucher	16/1256	43,8/50,0	50,0/41,0	6,3/9,0	0,75



Nichtraucher	129/2786	45,0/48,9	41,9/42,6	13,2/8,5	0,18
Männlich	116/1955	41,4/47,6	46,6/43,0	12,1/9,4	0,36
Weiblich	29/2089	58,6/50,7	27,6/41,3	13,8/8,0	0,24
Alter $\geq$ 50	135/2024	43,0/49,6	43,7/41,4	13,3/9,0	0,14
Alter $<$ 50	10/2020	70,0/48,8	30,0/42,8	0/8,4	0,34
BMI $\geq$ 30	57/1009	49,1/50,8	35,1/42,0	15,8/7,1	0,05
BMI $<$ 30	88/3027	42,0/48,6	47,7/42,2	10,2/9,2	0,48

Das Quotenverhältnis für den Gesamtanteil aller Probanden mit diagnostiziertem Herzinfarkt gegenüber denjenigen ohne diagnostizierten Herzinfarkt betrug für G/T+T/T zu G/G 1,19 (95% KI: 0,86 – 1,66;  $p = 0,30$ ).

Auch die anderen Parameter wiesen mit einer OR  $>$  1 ein positives, aber nicht-signifikantes Risiko für die polymorphe eNOS auf. Ausnahmen hiervon bildeten für das Quotenverhältnis G/T+T/T zu G/G der Diabetes mellitus (OR = 0,86;  $p = 0,68$ ), das weibliche Geschlecht (OR = 0,73;  $p = 0,40$ ) und das Alter  $<$  50 (OR = 0,41;  $p = 0,18$ ).



**Abbildung 3.4:** Grafische Darstellung der Quotenverhältnisse G/T+T/T zu G/G für die aufgeführten Parameter in Abhängigkeit von diagnostiziertem Herzinfarkt: die Balken entsprechen den 95% Konfidenzintervallen, die Punkte den Odds Ratios.

### 3.5 Verteilung des eNOS-Genotyps in Abhängigkeit von der Anzahl kardiovaskulärer Risikofaktoren

Hypertonie, Dyslipoproteinämie, Diabetes mellitus und Rauchen sind vier etablierte kardiovaskuläre Risikofaktoren. In Tabelle 3.6 ist die Verteilung des eNOS-Genotyps in Abhängigkeit von der Anzahl der Risikofaktoren und zusätzlich in Abhängigkeit von einem diagnostizierten Herzinfarkt dargestellt.

Den prozentual kleinsten Wildtypanteil bei umso größerer Anzahl polymorpher Allelträger bildete die Gruppe der Probanden ohne die vier kardiovaskulären Risikofaktoren mit diagnostiziertem Herzinfarkt (G/G: 35,7%; G/T: 50,0%; T/T: 14,3%).

**Tabelle 3.6:** Verteilung des eNOS-Genotyps in Abhängigkeit von der Anzahl kardiovaskulärer Risikofaktoren und einem diagnostizierten Herzinfarkt

	Gesamt (n)	G/G (% von n)	G/T (% von n)	T/T (% von n)	Prozent von 4.219
Alle	11	81,8	18,2	0	0,26
4 Risikofaktoren	193	58,5	29,5	11,9	4,57
≥ 3 Risiko- faktoren	19	63,2	26,3	10,5	0,45
Keine Risikofaktoren	1167	47,4	43,6	9,0	27,66
Keine RF und diagn. Herzinfarkt	14	35,7	50,0	14,3	0,33

Eine Gegenüberstellung von Probanden ohne Risikofaktoren mit diagnostiziertem Herzinfarkt zu Probanden ohne Risikofaktoren und ohne diagnostizierten Herzinfarkt ergab für das Quotenverhältnis von G/T+T/T / G/G eine OR = 1,63 (95%KI: 0,54 – 4,89; p = 0,38).

### 3.6 Logistische Regression

Zur Ermittlung des Einflusses des G894T-eNOS-Polymorphismus auf das Risiko der Hypertonie unter Berücksichtigung weiterer Risikofaktoren wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Unabhängige Variablen waren Risikofaktoren einer KHK, Geschlecht und Alter der Probanden. Für den eNOS-Genotyp wurde die homozygote Variante (T/T) dem Wildtyp (G/G) gegenübergestellt.

Mit einem unabhängigen positiven Risiko für Hypertonie waren die Faktoren Dyslipoproteinämie (adjustierte Odds ratio = 2,48;  $p < 0,0001$ ), Diabetes mellitus (OR = 2,70;  $p < 0,0001$ ), männliches gegenüber weiblichem Geschlecht (OR = 1,25;  $p = 0,018$ ) und Alter  $\geq 50$  gegenüber  $< 50$  (OR = 1,85;  $p < 0,0001$ ) behaftet. Rauchen gegenüber Nichtrauchen (OR = 0,76;  $p = 0,011$ ) und auch der eNOS-Genotyp T/T gegenüber G/G (OR = 0,76;  $p = 0,033$ ) stellten keine positiven Risikofaktoren für die Erkrankung an Hypertonie dar (s. Tab. 3.7).

**Tabelle 3.7:** Risikofaktoren der Hypertonie in der SHIP-Studie unter Einbeziehung kardiovaskulärer Risikofaktoren und eNOS-Genotyps der Probanden nach logistischer Regression

Variable	adj. Odds ratio	95% Konfidenzintervall	p
Dyslipoproteinämie	2,48	2,00 – 3,08	< 0,0001
Diabetes mellitus	2,70	1,92 – 3,81	< 0,0001
Rauchen	0,76	0,62 – 0,94	0,011
Männlich/Weiblich	1,25	1,04 – 1,50	0,018
Alter $\geq 50$ / $< 50$	1,85	1,51 – 2,25	< 0,0001
eNOS T/T / G/G	0,76	0,58 – 0,98	0,033

Tabelle 3.8 zeigt eine ähnliche Aufstellung für den diagnostizierten Herzinfarkt als abhängige Variable. Hierbei erwies sich für alle klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren – bis auf das Rauchen (adjustierte Odds ratio = 0,32;  $p = 0,005$ ) – ein

unabhängiges positives Risiko (OR jeweils  $> 2,2$ ) für das Erleiden eines Herzinfarkts. Hier spielte auch die polymorphe eNOS eine Rolle im Sinne eines positiven Risikos (OR = 1,54), allerdings nicht als unabhängiger Faktor:  $p = 0,15$ .

**Tabelle 3.8:** Risikofaktoren des diagnostizierten Herzinfarkts in der SHIP-Studie unter Einbeziehung kardiovaskulärer Risikofaktoren und eNOS-Genotyps der Probanden nach logistischer Regression

Variable	adj. Odds ratio	95% Konfidenzintervall	p
Hypertonie	2,25	1,32 – 3,85	0,003
Dyslipoproteinämie	2,37	1,45 – 3,86	0,001
Diabetes mellitus	2,84	1,65 – 4,89	0,0002
Rauchen	0,32	0,14 – 0,71	0,005
eNOS T/T / G/G	1,54	0,86 – 2,76	0,150