

Aus der
Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
(Schwerpunkt: Kardiologie und Angiologie)

**Prognostische Bedeutung von C5 SNPs bei Patienten
mit koronarer Herzerkrankung**

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

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Henes, Jessica Kristin

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Rath

2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Burgstahler

Tag der Disputation: 19.06.2023

Für Mama und Papa

Inhaltsverzeichnis

Seite

Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	8
Abkürzungen	10
1. Einleitung	14
1.1 Koronare Herzkrankheit	14
1.1.1 Chronisches Koronarsyndrom	14
1.1.2 Akutes Koronarsyndrom	15
1.1.3 Epidemiologie	17
1.1.4 Kardiovaskuläre Risikofaktoren	17
1.1.5 Pathophysiologie	18
1.1.5.1 Historische Perspektive	18
1.1.5.2 Atherosklerose	18
1.1.5.3 Thrombozyten	20
1.2 Komplementsystem	23
1.2.1 Historische Perspektive	23
1.2.2 Physiologie	24
1.2.3 Assoziierte Erkrankungen	27
1.3 Single-Nucleotide-Polymorphisms (SNPs)	28
1.3.1 Definition	28
1.3.2 SNPs und kardiovaskuläre Erkrankungen	28
1.3.3 SNPs des C5-Gens	29
1.4 Fragestellung	31

2. Material und Methoden	32
2.1 Patientenkollektiv	32
2.2 Genotypisierung der C5-Varianten	33
2.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	34
2.4 Fluorescence-activated Cell Sorting (FACS)	35
2.5 Follow-up	36
2.6 Statistische Analyse	37
3. Ergebnisse	39
3.1 Übersicht der analysierten SNPs	39
3.2 Analyse der C5-SNPs	40
3.2.1 rs10985126	40
3.2.2 rs12237774	45
3.2.3 rs17611	49
3.2.4 rs17216529	53
3.2.5 rs41258306	57
4. Diskussion	61
5. Limitationen	69
6. Zusammenfassung	71
7. Literaturverzeichnis	73
8. Erklärung zum Eigenanteil	85
9. Veröffentlichungen	86
10. Danksagung	87

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** *Klinische Präsentation und Einteilung der KHK* **Seite 16**
- Abbildung 2:** *Vereinfachte Darstellung der Pathogenese der KHK* **Seite 22**
- Abbildung 3:** *Aktivierungswege des Komplementsystems auf der Oberfläche eines Pathogens, gemeinsame Endstrecke mit MAC, sowie Funktionen der Spaltprodukte, insbesondere der Anaphylatoxine, und Interaktion mit anderen Zellen* **Seite 26**
- Abbildung 4:** *Entstehung eines SNP mit zwei Allelen bei diploidem Chromosomensatz* **Seite 28**
- Abbildung 5:** *Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs10985126, mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung* **Seite 43**
- Abbildung 6:** *Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs10985126* **Seite 44**
- Abbildung 7:** *Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs10985126* **Seite 44**
- Abbildung 8:** *Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs12237774, mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung* **Seite 47**
- Abbildung 9:** *Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs12237774* **Seite 48**
- Abbildung 10:** *Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs12237774* **Seite 48**
- Abbildung 11:** *Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs17611, mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung* **Seite 51**

Abbildung 12: *Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs17611* **Seite 52**

Abbildung 13: *Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach der Allel-Zugehörigkeit von rs17611* **Seite 52**

Abbildung 14: *Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs17216529 mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung* **Seite 55**

Abbildung 15: *Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs17216529* **Seite 56**

Abbildung 16: *Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs17216529* **Seite 56**

Abbildung 17: *Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs41258306 mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung* **Seite 59**

Abbildung 18: *Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs41258306* **Seite 60**

Abbildung 19: *Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs41258306* **Seite 60**

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1:** Allelfrequenzen der untersuchten C5-Varianten **Seite 39**
- Tabelle 2:** Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=831), unterteilt nach dem Genotyp von rs10985126 **Seite 40**
- Tabelle 3:** Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=756), unterteilt nach dem Genotyp von rs10985126 **Seite 41**
- Tabelle 4:** Multivariable Cox-Regression mit der Mortalität als abhängiger Variable und rs10985126, sowie epidemiologischen Faktoren als Kovariaten in der Gesamtkohorte **Seite 42**
- Tabelle 5:** Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=833), unterteilt nach dem Genotyp von rs12237774 **Seite 45**
- Tabelle 6:** Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=758), unterteilt nach dem Genotyp von rs12237774 **Seite 46**
- Tabelle 7:** Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=826), unterteilt nach dem Genotyp von rs17611 **Seite 49**
- Tabelle 8:** Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=751), unterteilt nach dem Genotyp von rs17611 **Seite 50**
- Tabelle 9:** Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=827), unterteilt nach dem Genotyp von rs17216529 **Seite 53**
- Tabelle 10:** Anzahl Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=752), unterteilt nach dem Genotyp von rs17216529 **Seite 54**
- Tabelle 11:** Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=825), unterteilt nach dem Genotyp von rs41258306 **Seite 57**

Table 12: Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=750), unterteilt nach dem Genotyp von rs41258306 **Seite 58**

Abkürzungen

A:	Adenin
ACE:	Angiotensin converting enzyme
ACS:	Akutes Koronarsyndrom
ADP:	Adenosindiphosphat
AMD:	Altersbedingte Makuladegeneration
AP:	Angina pectoris
ASS:	Acetylsalicylsäure
AT:	Angiotensin
BARC:	Bleeding Academic Research Consortium
C:	Cytosin
CABG:	Koronararterien- Bypass- Operation
CCS:	Chronisches Koronarsyndrom
CD:	Cluster of differentiation
CPDA:	Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin
cTn:	kardiales Troponin
CVRF:	Kardiovaskuläre Risikofaktoren
DD:	Differentialdiagnose
DNA:	Desoxyribonukleinsäure
EDTA:	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
EKG:	Elektrokardiogramm
ELISA:	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ESC:	European Society of Cardiology
FACS:	Fluorescence-activated Cell Sorting

FITC:	Fluoresceinisothiocyanat
G:	Guanin
GP:	Glykoprotein
GRS:	Multilocus-genetic-risk-scores
HT:	homozygote Träger
ICAM:	Intercellular adhesion molecule
IFN- γ :	Interferon-gamma
IL:	Interleukin
IR:	Inzidenzrate
IS:	Ischämischer Schlaganfall
KE:	Kombinierter Endpunkt
KHK:	Koronare Herzkrankheit
KI:	Konfidenzintervall
LDL:	Low Density Lipoprotein
LVEF:	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
M:	Mittelwert
MAC:	Membranangriffskomplex
MAF:	Minor allele frequency (Allelfrequenz des selteneren Allels)
MALDI-TOF:	Matrix-Assistierte Laser-Desorption-Ionisierung mit Flugzeitanalyse
MASP:	MBL-assoziierten Serinprotease
MBL:	Mannose-bindendes Lektin
MCP:	Monocyte chemoattractant protein
M-CSF:	Macrophage colony-stimulating factor
MFI:	Mean fluorescence intensity

MI:	Myokardinfarkt
MMPs:	Matrix- Metalloproteasen
n. a.:	nicht auswertbar
NO:	Stickstoffmonoxid
NSTEMI:	non-ST-segment-elevation myocardial infarction
oGTT:	oraler Glukosetoleranztest
oxLDL:	oxidiertes Low Density Lipoprotein
pAVK:	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS:	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCI:	Perkutane koronare Intervention
PCR:	Polymerase-Kettenreaktion
PDGF:	Platelet-derived growth factor
PE:	Phycoerythrin
P-J:	Personen-Jahre
PNH:	Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
RKI:	Robert-Koch-Institut
SD:	Standardabweichung
SDF-1:	Stromal cell-derived factor 1
SLE:	Systemischer Lupus erythematodes
SNP:	Single-Nucleotide-Polymorphism
STEMI:	ST-segment-elevation myocardial infarction
T:	Thymin
TF:	Gewebefaktor (Tissue factor)
TGF:	Transforming Growth Factor

TNF: Tumornekrosefaktor
TXA₂: Thromboxan A₂
VCAM: Vascular cell adhesion molecule
vWF: von-Willebrand-Faktor

1. Einleitung

1.1 Koronare Herzkrankheit

Das Studienkollektiv besteht aus Patienten, die aufgrund von symptomatischer koronarer Herzkrankheit (KHK), also entweder mit chronischem Koronarsyndrom (CCS) oder mit akutem Koronarsyndrom (ACS), vorstellig wurden.

Die KHK ist ein pathologischer Prozess, der durch Akkumulation atherosklerotischer Plaques in den epikardialen Arterien charakterisiert ist. Die Krankheit kann lange Zeit stabil verlaufen, kann aber auch zu jeder Zeit durch ein akutes Ereignis, wie eine Plaqueruptur, instabil werden. Diese dynamische Eigenschaft der KHK kann verschiedene klinische Bilder hervorrufen, die übergeordnet entweder als ACS oder CCS eingestuft werden können.¹

1.1.1 Chronisches Koronarsyndrom

Definitionsgemäß umfasst das CCS jegliche Präsentationen der KHK, in denen das klinische Bild nicht durch ein akutes thrombotisches Geschehen in den Herzkranzgefäßen, wie es bei einem ACS der Fall ist, dominiert wird.¹

Die European Society of Cardiology (ESC) beschreibt mehrere klinische Situationen, mit denen sich ein CCS präsentieren kann: 1) Bei Patienten mit Verdacht auf KHK und stabilen pektanginösen Beschwerden und/oder Dyspnoe.¹ Als stabile Angina pectoris (AP) bezeichnet man ein klinisches Symptom, das durch Unwohlsein in Brust, Kiefer, Schulter, Nacken, Armen oder auch Epigastrium gekennzeichnet ist und typischerweise durch körperliche Anstrengung oder emotionalen Stress hervorgerufen wird und durch Ruhe oder die Applikation von Nitroglycerin gelindert werden kann.² 2) Bei Patienten mit neu aufgetretener Herzinsuffizienz oder reduzierter linksventrikulärer Pumpfunktion und Verdacht auf KHK. 3) Bei Patienten mit stabilisierten Symptomen weniger als 1 Jahr nach ACS, oder bei Patienten mit kürzlich stattgehabter Revaskularisation. 4) Bei Patienten über 1 Jahr nach der initialen Diagnose oder Revaskularisation. 5) Bei Patienten mit AP und Verdacht auf eine mikrovaskuläre

oder vasospastische Erkrankung. 6) Bei asymptomatischen Personen, bei denen eine KHK als Zufallsbefund festgestellt wird.¹

1.1.2 Akutes Koronarsyndrom

Klinisch kann sich ein ACS auf vielfältige Art präsentieren. Leitsymptom sind thorakale Beschwerden, die meist als Schmerz, Druck, Enge und Brennen beschrieben werden. Es können aber auch andere Symptome, wie Dyspnoe, epigastrische Schmerzen oder Schmerzen im linken Arm führend sein.³

Eine Myokardschädigung ist durch eine Erhöhung des kardialen Troponin (cTn) mit mindestens einem Wert über der 99. Perzentile, also dem oberen Referenzwert, gekennzeichnet. Bei Anstieg oder Abfall dieses Wertes kann die Schädigung als akut angesehen werden. Geht diese laborchemisch nachgewiesene akute Myokardschädigung mit dem klinischen Nachweis einer myokardialen Ischämie einher, spricht man von einem akuten Myokardinfarkt (MI). Dafür muss mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt sein: Symptome der myokardialen Ischämie, neuaufgetretene Ischämie-typische Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG), Ausbildung pathologischer Q-Zacken im EKG, bildgebeischer Nachweis neuaufgetretener und mit einer Ischämie vereinbarer regionaler Wandbewegungsstörungen oder eines Verlustes von vitalem Myokard, Nachweis eines koronaren Thrombus in der Angiographie oder Autopsie.^{4,5} Die instabile AP ist dagegen definiert als myokardiale Ischämie in Ruhe oder bei geringer Anstrengung ohne akute Myokardschädigung, also ohne Erhöhung des cTn-Wertes.³

Bei Diagnose eines akuten MI ist es für die nachfolgende Therapie relevant, die Patienten aufgrund von EKG-Befunden in zwei Gruppen einzuteilen: Liegen bei einem Patienten mit klinischem Verdacht auf eine myokardiale Ischämie ST-Streckenhebungen in mindestens zwei zusammenhängenden Ableitungen vor, wird das Ereignis als ST-segment-elevation myocardial infarction (STEMI) klassifiziert und bedarf einer umgehenden Reperfusionstherapie.⁶ Fehlen diese persistierenden ST-Hebungen bei einem Patienten mit klinisch und laborchemisch nachgewiesenem akutem MI, gilt dieser als non-ST-segment-

elevation myocardial infarction (NSTEMI). Das EKG kann hierbei normal sein oder Ischämie-typische Anomalien, wie z.B. ST-Senkungen oder T-Wellenveränderungen aufweisen. Das weitere Prozedere ist bei einem NSTEMI abhängig von der individuellen Risikostratifizierung und kann von einer schnellen invasiven Abklärung bis hin zu vorerst nicht-invasiven Untersuchungen reichen.⁷

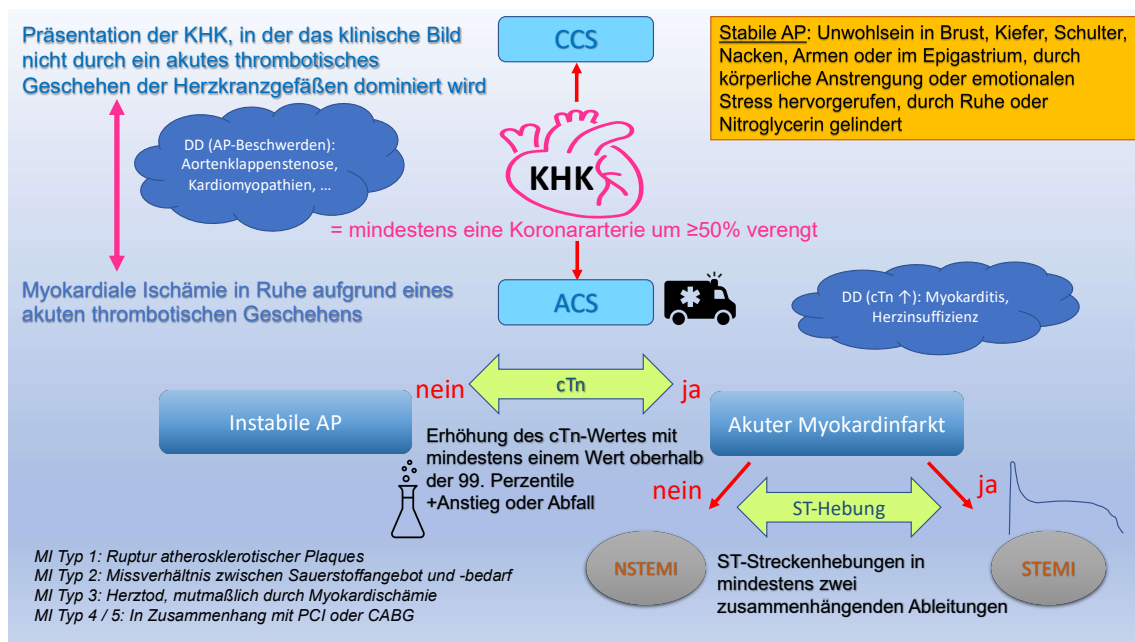


Abbildung 1: Klinische Präsentation und Einteilung der KHK

Abbildung selbst erstellt in Anlehnung an ^{1,2,3,4}.

Ein MI ist häufig durch die Ruptur atherosklerotischer Plaques bedingt. Dennoch gibt es neben diesem sogenannten MI Typ 1 auch andere Ätiologien: Als MI Typ 2 wird ein Zustand bezeichnet, bei dem es aufgrund eines Missverhältnisses zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf zu einer ischämischen Myokardschädigung kommt, beispielsweise durch eine schwere Anämie oder Hypotonie oder bei persistierender Tachyarrhythmie. Ferner kann auch eine Koronardissektion mit damit einhergehendem intramuralem Hämatom oder ein Vasospasmus der Koronargefäße einen MI Typ 2 auslösen. Unter einem MI Typ 3 versteht man einen Herztod, welchem aufgrund des typischen klinischen Bildes eine Myokardischämie vorausgegangen zu sein scheint. Außerdem unterscheidet man den MI Typ 4, bzw. MI Typ 5, der in Zusammenhang mit einer perkutanen koronaren Intervention (PCI), bzw. einer Koronararterien- Bypass-Operation (CABG) steht. Es sei darauf hingewiesen, dass einer

Myokardschädigung, die durch den erhöhten cTn-Wert gekennzeichnet ist, auch eine andere Pathophysiologie als die myokardiale Ischämie zugrunde liegen kann, beispielsweise Herzinsuffizienz oder Myokarditis.⁴

1.1.3 Epidemiologie und Relevanz der KHK

Herz-Kreislaufkrankungen sind die häufigste Todesursache in Deutschland. Der Todesursachenstatistik des Statistischen Bundesamts zufolge starben 2020 in Deutschland 338 001 Menschen (davon waren 53,4% weiblich und 46,6% männlich) aufgrund von Krankheiten des Kreislaufsystems. Dies entspricht 34,3% aller Sterbefälle in diesem Jahr. Davon fallen 121 462 Todesfälle auf ischämische Herzkrankheiten und wiederum 44 529 auf einen Myokardinfarkt zurück.⁸ Die Lebenszeitprävalenz der KHK lag, in einer Studie des Robert-Koch-Instituts (RKI) aus dem Jahr 2012, bei 8,3%. Das heißt, dass bei 8,3% der Deutschen bereits eine KHK diagnostiziert wurde. Bei Männern ab 65 Jahren lag die Prävalenz bei 27,8%.⁹

1.1.4 Kardiovaskuläre Risikofaktoren

Die Framingham-Herz-Studie beschäftigt sich seit 1948 mit der Erforschung von Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen. Die Tatsache, dass kardiovaskuläre Erkrankungen in den 1940er Jahren die häufigste Todesursache in den USA waren und auch der ehemalige US-Präsident Franklin D. Roosevelt an deren Folgen verstarb, führte dazu, dass mögliche Risikofaktoren genauer untersucht werden sollten. In einer beobachtenden, longitudinalen Kohorten-Studie wurden gesunde Einwohner der Stadt Framingham in Massachusetts auf das Vorliegen potentieller Risikofaktoren untersucht und über viele Jahre hinsichtlich des Auftretens kardiovaskulärer Erkrankungen beobachtet.¹⁰ Als klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren (CVRF), die das Risiko für KHK, ischämischen Schlaganfall, hypertensive Herzkrankheit und periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) erhöhen, gelten arterielle Hypertonie, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus und Nikotinabusus.^{11,12} Außerdem erhöhen Adipositas und körperliche Inaktivität das kardiovaskuläre Risiko.¹³ Das individuelle Risiko wird auch durch Alter und Geschlecht beeinflusst.^{14,15} 1971

begann mit der Offspring-Kohorte die Untersuchung einer zweiten Generation in der Framingham-Studie, die aus Nachkommen der ursprünglichen Kohorte bestand. Dadurch sollte der Einfluss familiärer Disposition auf das kardiovaskuläre Risiko genauer untersucht werden.¹⁶ Seit 2002 wird die dritte Generation untersucht. Außerdem wurden mittlerweile auch weitere ethnische Gruppen in die Studie aufgenommen. Seit einigen Jahren werden zunehmend genetische Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen erforscht.¹⁰ Außerdem wird die Etablierung weiterer potenziell unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktoren, z.B. Hyperhomocysteinämie, untersucht.¹⁷

1.1.5 Pathophysiologie

1.1.5.1 Historische Perspektive

Atherosklerotische Plaques konnten bereits bei Mumien ägyptischer Pharaonen nachgewiesen werden. Erasistratos beschrieb 300 v.Chr. erstmals die typische Symptomatik der pAVK. Nachdem Parry 1799 einen Zusammenhang zwischen den Symptomen der AP und koronaren Läsionen postuliert hatte, wurden AP-Beschwerden ca. 80 Jahre später durch Potain auf eine myokardiale Ischämie zurückgeführt. Der Begriff der Atherosklerose geht auf Lobstein zurück, der diesen erstmals 1835 in seinem „Lehrbuch der pathologischen Anatomie“ verwendete. Seit Anfang des 20. Jahrhunderts wird die Pathophysiologie der Atherosklerose genauer untersucht. Mithilfe des Hasenmodells von Anitschkow wurde die Akkumulation von Cholesterin in der Gefäßwand als wichtige Ursache identifiziert und erstmals wurden Schaumzellen beschrieben. Dieses Wissen wächst aufgrund moderner Technologien stetig z.B. durch die Entwicklung der „Response-to-Injury“-Hypothese von Ross und Glomset oder die Entdeckung der LDL-Rezeptoren und ihrer Bedeutung durch Brown und Goldstein.¹⁸

1.1.5.2 Atherosklerose

Ursächlich für die Entstehung von Atherosklerose ist eine Dysfunktion des Endothels, verursacht z.B. durch arterielle Hypertonie oder durch metabolische Ursachen.^{19,20} Atherosklerose scheint nach der „Response-to-Injury“-Hypothese

die Reaktion der Gefäßwand auf eine solche Schädigung zu sein.²¹ Kleine Endotheldefekte können teilweise bereits bei Kindern nachgewiesen werden.²² Aufgrund der resultierenden Dysfunktion des Endothels verändern sich dessen physiologische Eigenschaften, wie beispielsweise die Permeabilität.²³ Low Density Lipoprotein (LDL) kann in der Gefäßwand akkumulieren und wird dort in Anwesenheit freier Radikale, welche von Endothelzellen und glatten Muskelzellen freigesetzt werden, zu oxidiertem LDL (oxLDL) oxidiert.²⁴ Das proinflammatorisch wirksame oxLDL stimuliert die Expression von Zelladhäsionsmolekülen durch Endothelzellen, wie VCAM-1 und ICAM-1, die der Adhäsion von Entzündungszellen an die Gefäßwand dienen.^{25,26} Außerdem scheint oxLDL eine chemotaktische Wirkung auf Monozyten und Makrophagen zu haben.²⁷ Nach Migration der Entzündungszellen durch das Endothel in den subendothelialen Raum kommt es hier zur Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen, was wiederum durch Zytokine, wie M-CSF, gesteuert wird.²⁸ Neben den Makrophagen befinden sich in atherosklerotischen Läsionen auch T-Lymphozyten, die ihrerseits proinflammatorische Zytokine, wie IFN- γ und IL-2, sezernieren.²⁹ Makrophagen nehmen über ihre Scavenger-Rezeptoren oxLDL auf und werden dadurch zu Schaumzellen.³⁰ Als „Fatty Streak“ bezeichnet man die erste makroskopisch sichtbare Läsion der Gefäßwand, welche durch mehrlagige Schaumzellen in der Intima gekennzeichnet ist, und außerdem glatte Muskelzellen mit Lipidtropfen aufweist.³¹ Im weiteren Verlauf kommt es innerhalb der Intima zur Proliferation glatter Muskelzellen aus der Media³² und zur progredienten Ansammlung einzelner extrazellulärer Lipid-Pools, die die glatten Muskelzellen auseinander drängen³¹. Diese Läsion kann in ein Atherom übergehen, das durch einen Lipidkern, also eine definierte Ansammlung von extrazellulären Lipidtropfen, gekennzeichnet ist. Zwischen diesem Lipidkern und dem Gefäßlumen kommt es in der Intima außerdem zur Ansammlung von glatten Muskelzellen und Immunzellen. Die Produktion von Kollagen durch glatte Muskelzellen führt zur Ausbildung von fibrösem Bindegewebe. Man spricht dann von einem Fibroatherom, bei dem dementsprechend eine deutliche Veränderung der extrazellulären Matrix zwischen Lipidkern und Endotheloberfläche vorliegt.

Darüber hinaus kann es zur Kalzifikation des Lipidkernes und anderer Bestandteile der Läsion kommen.³³

Eine schwerwiegende Komplikation ist die Ruptur einer atherosklerotischen Plaque, da sich ein Thrombus auf der entstandenen Endothelläsion bilden kann, was sich aufgrund der durch den Gefäßverschluss verursachten Ischämie klinisch als ACS äußert.³⁴ Eine solche Ruptur kann einerseits durch mechanische Belastung aufgrund von Scherkräften im Blutstrom hervorgerufen werden.³⁵ Andererseits scheinen auch verschiedene Matrix-Metalloproteasen (MMPs), die die extrazelluläre Matrix abbauen, in atherosklerotischen Plaques überexprimiert zu sein und zu deren Destabilisierung und Ruptur beizutragen.³⁶ Darüber hinaus wird die Stabilität einer Plaque durch weitere Faktoren determiniert: So ist auch die Dicke der fibrösen Kappe entscheidend, da eine dünne Kappe ein höheres Risiko für eine Ruptur aufweist.³⁷ Ein geringer Anteil glatter Muskelzellen ist ein weiteres Merkmal vulnerabler Plaques, da diese die Kollagenmatrix produzieren, welche eigentlich zur Stabilität der fibrösen Kappe beitragen sollte.³⁸ Außerdem sind vulnerable Plaques durch einen hohen Anteil an Makrophagen und Monozyten gekennzeichnet.³⁹ Die Prädilektionsstelle für eine Ruptur befindet sich meistens am seitlichen Rand der Plaque, in der sogenannten Schulterregion.⁴⁰ Erstaunlicherweise liegt einem Infarkt oft eine Läsionen zugrunde, die initial lediglich mit einer milden Stenose einhergegangen war.⁴¹

1.1.5.3 Thrombozyten

Thrombozyten sind ca. $3,6 \times 0,7 \mu\text{m}$ große Zellen im menschlichen Blut.⁴² Sie haben eine essenzielle Bedeutung für die Bildung von Blutgerinnseln und besitzen dadurch eine Schlüsselrolle in der Pathophysiologie der KHK.⁴³

Der initiale Schritt der Blutgerinnung ist die Adhäsion der Thrombozyten an die Gefäßwand.⁴² Für die Thrombozytenadhäsion ist der von-Willebrand-Faktor (vWF), ein großmolekulares, multimeres Glykoprotein, das von Endothelzellen und Megakaryozyten produziert und in das Blut abgegeben wird, von Bedeutung.⁴⁴ Der vWF verbindet subendotheliales Kollagen im Bereich einer Endothelläsion mit dem GPIb/V/IX-Rezeptor auf der Oberfläche der

Thrombozyten.⁴² Auf die Thrombozytenadhäsion folgt das sogenannte „Rolling“ der Thrombozyten auf dem Gefäßendothel. Dabei kommt es zur Interaktion zwischen P-Selektin, was von aktivierten Endothelzellen exprimiert wird, und thrombozytären Rezeptoren.⁴⁵ Thrombozyten können über verschiedene Rezeptoren, z.B. GPIa/IIa (Integrin $\alpha_2\beta_1$), auch direkt an subendotheliales Kollagen binden.⁴² Ein weiterer wichtiger Rezeptor ist GPVI, dessen Bindung an Kollagen die Aktivierung von Thrombozyten über intrazelluläre Signalwege bewirken kann.⁴⁶ Bei der Aktivierung der Thrombozyten verändern diese zunächst ihre Form („shape change“). Aufgrund von Veränderungen des Zytoskeletts kommt es zur Ausbildung von Pseudopodien aus der Plasmamembran der im Ruhezustand diskoiden Plättchen. Darüber hinaus fusionieren intrazelluläre Granula mit der Plasmamembran und entleeren ihren Inhalt durch Exozytose. Dabei werden Stoffe freigesetzt, die den Prozess der Aktivierung wiederum verstärken können.⁴² α -Granula enthalten eine Reihe von Stoffen: Zelladhäsionsmoleküle (z.B. vWF, Fibronectin, Thrombospondin-1), Wachstumsfaktoren (z.B. PDGF, TGF β), Gerinnungsfaktoren (z.B. Faktor V, XIII, Fibrinogen) und Proteaseinhibitoren (z.B. α_2 -Antitrypsin, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1). δ -Granula enthalten unter anderem Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und Calcium.⁴⁷ Die jeweiligen thrombozytären Rezeptoren sämtlicher Agonisten der Thrombozytenaktivierung und -aggregation, wie ADP und Serotonin, sind G-Protein-gekoppelt und induzieren intrazelluläre Signalkaskaden.^{42,43} Ein weiterer Agonist ist Thromboxan A₂ (TXA₂), was von Thrombozyten gebildet wird und Thrombozytenaggregation, sowie die Aktivierung weiterer Thrombozyten bewirkt.⁴³ Im physiologischen Zustand existieren auch Antagonisten, wie Prostacyclin oder Stickstoffmonoxid (NO), die von Endothelzellen gebildet werden und die Aktivierung von Thrombozyten am intakten Endothel verhindern.⁴²

Nachfolgend kommt es zur Thrombozytenaggregation, also zu einer Vernetzung der aktivierten Thrombozyten durch Fibrinbrücken über den Rezeptor GPIIb/IIIa (Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$). Hierfür bedarf es zunächst der Aktivierung von GPIIb/IIIa, zu der es im Rahmen der Thrombozytenaktivierung nach Adhäsion von GPIb/V/IX an vWF kommt. Erst in Folge der daraus resultierenden Konformationsänderung von

GPIIb/IIIa ist dieses in der Lage, Fibrinogen zu binden.⁴² Die instabilen Fibrinogen-Brücken werden schließlich in stabiles Fibrin umgewandelt. Grob zusammengefasst wird bei Verletzung der Gefäßwand der Gewebefaktor (engl. Tissue factor (TF)) freigesetzt, der für die Aktivierung des Faktors X benötigt wird. Der aktivierte Faktor Xa ist wiederum an der Umwandlung von Prothrombin in Thrombin beteiligt, welches schließlich die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin katalysiert.²⁰ Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung gelangen anionische Phospholipide, wie Phosphatidylserin, aus der inneren Lipidschicht der Zellmembran über einen Flip-Flop-Mechanismus in den äußeren Lipidschicht. Die Zellmembran der Thrombozyten stellt dadurch eine gerinnungsfördernde Oberfläche dar, an die Gerinnungsfaktoren binden, um dort ihre jeweilige Reaktion zu katalysieren.⁴²

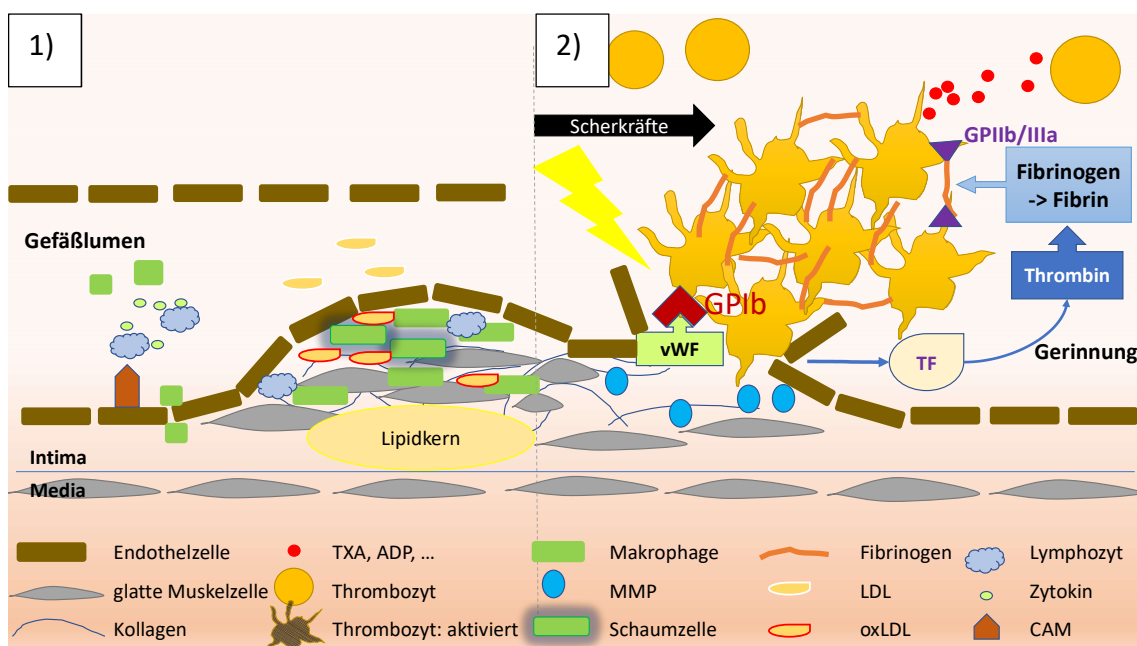


Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung der Pathogenese der KHK.

1) Plaques bilden sich durch Akkumulation und Oxidation von LDL, gefolgt von der Einwanderung von Entzündungszellen. Makrophagen werden durch Aufnahme von oxLDL zu Schaumzellen. Glatte Muskelzellen produzieren Kollagen. Es kommt zu einer Einengung des Lumens. Ab einem gewissen Grad leidet der Patient unter AP-Beschwerden.
 2) Scherkräfte und MMPs können eine Plaqueruptur bewirken und so ein ACS auslösen. Oft ist die Plaques nicht sehr groß und rupturiert in der Schulterregion. Thrombozyten binden über vWF an frei vorliegendes Kollagen. Aktivierte Thrombozyten ändern ihre Form, entleeren die Granula, was weitere Thrombozyten anlockt, und aggregieren über Fibrinogenbrücken. Diese werden durch die Gerinnung in stabiles Fibrin umgewandelt. Dafür spielen u.a. Thrombin und TF eine Rolle.

Abbildung selbst erstellt in Anlehnung an ^{20,43}.

1.2 Das Komplementsystem

Das Komplementsystem ist ein wichtiger Bestandteil des angeborenen Immunsystems und stellt damit eine erste Barriere gegen Erreger dar. Es besteht aus über 30 verschiedenen Proteinen und wird kaskadenartig aktiviert. Daraus resultiert einerseits die Bildung eines Membranangriffskomplexes (MAC), sowie die Opsonierung der Zellen für Makrophagen und die Bildung von Anaphylatoxinen.

1.2.1 Historische Perspektive

Die Entdeckung des Komplementsystems geht zurück auf das Ende des 19. Jahrhunderts. Hans Buchner beobachtete damals, dass die bakterizide Eigenschaft des Serums durch Erhitzen aufgehoben wird und bezeichnete die mutmaßlich dafür verantwortliche, offensichtlich hitzelabile und bakterizide Substanz damals als „alexine“ (griechisch für verteidigen).^{48,49} Der belgische Forscher Jules Bordet entdeckte 1895 am Pariser „l'Institut Pasteur“ hingegen, dass bei Erhitzen über 56°C zwar die bakterizide Wirkung des Serums aufgehoben werde, es aber dennoch zur Agglutination von Bakterien komme. Er schlussfolgerte daraus, dass es neben dem oben beschriebenen „alexine“, das hitzelabil ist und Bakterien tötet, auch eine hitzestabile Substanz, die die Bakterien lediglich bindet, geben muss. Letztere bezeichnete er als „substances sensibilatrices“, wobei es sich um die heute bekannten Antikörper handelte.^{48,50} Der Begriff „Komplement“ wurde schließlich später von Paul Ehrlich eingeführt.^{48,51} Die einzelnen Komponenten wurden zunächst nach ihrem chemischen Verhalten in Experimenten eingeteilt und als C'1 bis C'4 bezeichnet.^{48,52} Der alternative Weg wurde erst 1954 von Louis Pillemer entdeckt, der das Protein Properdin nachweisen konnte, das dazu führte, dass C3 im humanen Serum bei Inkubation mit Hefe vermindert vorlag.^{48,53} Die Isolation der heute bekannten Komplementkomponenten C1 bis C9 aus dem Serum von Meerschweinchen gelang schließlich 1966.^{48,54} 1964 wurde erstmals ein Polymorphismus einer Komplementkomponente, nämlich im C4-Gen, entdeckt.^{48,55}

1.2.2 Physiologie

Das Komplementsystem kann über verschiedene Wege aktiviert werden: Über den klassischen Weg, den alternativen Weg oder den Lektin-Weg. Alle diese Aktivierungswege führen jedoch letztendlich zu einer gemeinsamen Endstrecke. Der klassische Weg wird durch die Bindung von C1 an Immunkomplexe aus Antikörpern der Klassen IgM oder IgG und Antigenen aktiviert.⁵⁶ C1 besteht aus den Untereinheiten C1q, C1r und C1s.⁵⁷ C1q bindet an den Fc-Teil der Antikörper. C1r aktiviert daraufhin C1s, C1s wiederum spaltet dann C4 und C2. Dabei entstehen die Spaltprodukte C4a und C4b, sowie C2a und C2b.^{56,58} C4b und C2a bilden die C3-Konvertase des klassischen Weges C4b2a, die C3 in C3a und C3b spaltet. C3b bildet mit dieser C3-Konvertase schließlich die C5-Konvertase C4b2a3b, welche wiederum C5 in C5a und C5b spaltet.^{56,59}

Die Aktivierung des Komplementsystems über den Lektin-Weg wird initiiert, indem das Mannose-bindende Lektin (MBL) an Kohlenhydratketten auf der pathogenen Oberfläche bindet. Dadurch werden die MBL-assoziierten Serinproteasen (MASP) aktiviert, die – genau wie C1 beim klassischen Weg – die Spaltung von C4 und C2 katalysieren, woraus ebenfalls die Bildung der C3-Konvertase C4b2a und später der C5-Konvertase C4b2a3b resultiert.⁵⁶ Neben der MASP-2, die für diese Reaktionen hauptsächlich verantwortlich ist, existieren auch MASP-1 und MASP-3, deren Funktionen allerdings noch nicht vollumfänglich bekannt sind.⁶⁰ Außerdem sind auch drei verschiedene Ficoline in der Lage, das Komplementsystem über den Lektin-Weg zu aktivieren, indem sie Pathogene binden und dadurch die MASP aktivieren.⁶¹

Der alternative Weg ist auch unter physiologischen Bedingungen kontinuierlich aktiv, da C3 stets in geringem Ausmaß durch spontane Hydrolyse („tick-over“) zu C3(H₂O) zerfällt. Außerdem entsteht C3b bei der Spaltung von C3 durch die C3-Konvertasen aller Aktivierungswege. C3b bzw. C3(H₂O) bindet zunächst an pathogene Oberflächen, wie Lipopolysaccharide der bakteriellen Zellwand, wo im Verlauf auch der Faktor B daran bindet, der daraufhin selbst durch den Faktor D gespalten wird.⁵⁸ Das entstandene Bb bildet zusammen mit dem oben

genannten C3b die C3-Konvertase des alternativen Weges C3bBb, die wiederum C3 zu C3b und C3a spaltet.^{56,58} Das von Neutrophilen freigesetzte Protein Properdin stabilisiert die fragile C3-Konvertase C3bBb und unterstützt als positiver Regulator der Komplementaktivierung ihre Bildung. Darüber hinaus verhindert Properdin die Inaktivierung von C3b durch die Faktoren H und I auf pathogenen Oberflächen.^{56,62} Das entstandene C3b dient der Opsonierung von Erregern für Makrophagen und der Amplifikation der Komplementaktivierung über den alternativen Weg, wie oben beschrieben. Letztlich kommt es auch hier zur Bildung einer C5-Konvertase C3bBb3b, was dann zum Eintritt in die gemeinsame Endstrecke aller Aktivierungswege führt.⁵⁶

Mit der Spaltung von C5 in C5a und C5b durch die C5-Konvertasen der verschiedenen Aktivierungswege, also C3bBb3b oder C4b2a3b, beginnt schließlich die gemeinsame Endstrecke.⁵⁶ Infolge der Spaltung von C5 kommt es zur Bildung des MAC C5b-9, indem sich die Komponenten C6, C7 und C8 nacheinander mit C5b zusammenlagern. Daraufhin wird die Polymerisierung von bis zu 18 C9-Molekülen veranlasst, die dann ebenfalls an den Komplex binden. Dieser Komplex kann aufgrund seiner chemischen Eigenschaften in die Membran der angegriffenen Zelle eindringen und dort als Pore fungieren, was letztlich die Lyse dieser Zelle bewirkt.⁶³

Die in der Kaskade entstandenen Spaltprodukte C3a und C5a werden auch als Anaphylatoxine bezeichnet, da sie die lokale Entzündungsreaktion fördern. Sie bewirken eine Vasodilatation, eine gesteigerte Permeabilität der Gefäßwände und die Kontraktion der glatten Muskulatur, regen die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies durch Makrophagen und neutrophile Granulozyten, sowie die Freisetzung von Histamin durch Mastzellen und basophile Granulozyten an. Außerdem wirkt C5a chemotaktisch auf sämtliche Entzündungszellen, wie etwa Makrophagen und Neutrophile.⁶⁴ C5a entfaltet seine vielfältige proinflammatorische Wirkung hauptsächlich durch Bindung an den G-Proteingekoppelten C5a-Rezeptor C5aR (auch als CD88 bezeichnet).⁶⁵ Dieser wird in erster Linie von Makrophagen, Neutrophilen⁶⁶, Eosinophilen⁶⁷, Basophilen, Mastzellen⁶⁸ und dendritischen Zellen⁶⁹ exprimiert. C5aR wird jedoch auch von

anderen Zellen exprimiert, zum Beispiel von Endothelzellen⁷⁰, Neuronen⁷¹ oder Tubuluszellen der Niere⁷². Außerdem gibt es Evidenz, dass auch Herzmuskelzellen unter bestimmten Bedingungen C5aR exprimieren.⁷³

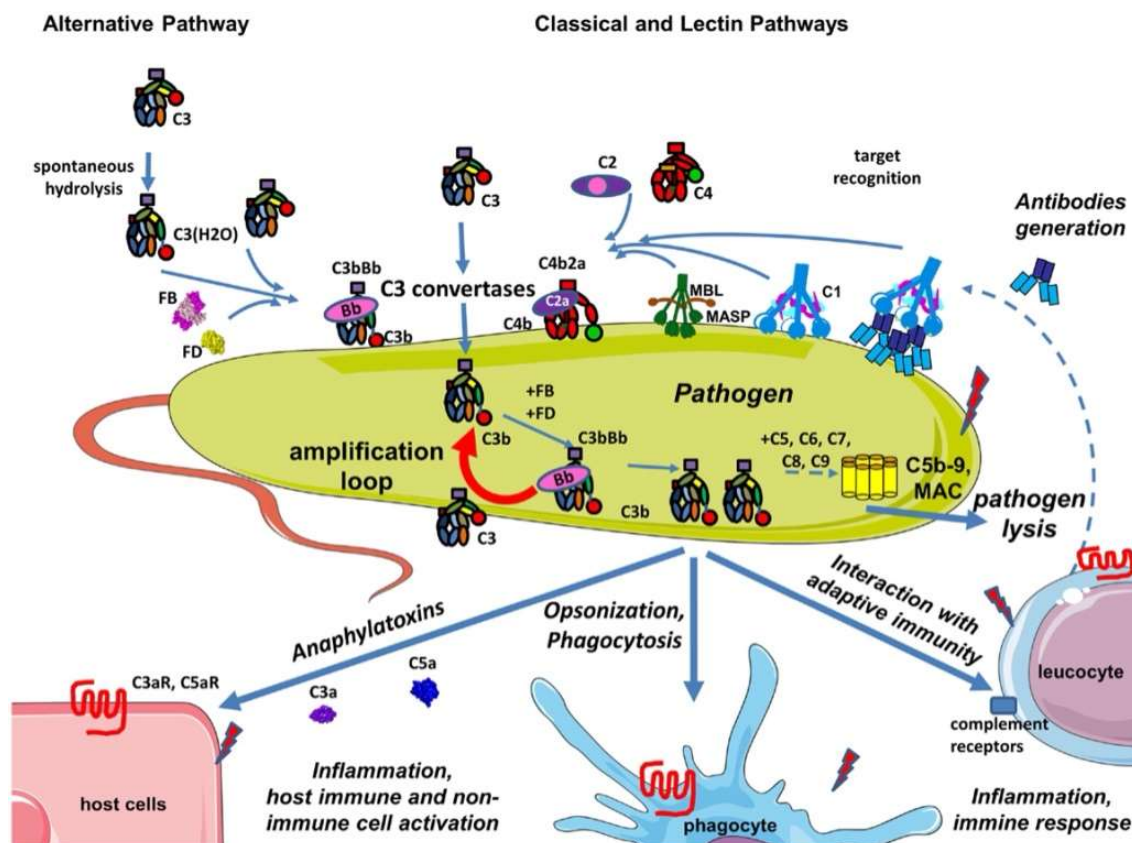


Abbildung 3: Aktivierungswege des Komplementsystems auf der Oberfläche eines Pathogens, gemeinsame Endstrecke mit MAC, sowie Funktionen der Spaltprodukte, insbesondere der Anaphylatoxine, und Interaktion mit anderen Zellen

Abbildung modifiziert nach: Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part I—molecular mechanisms of activation and regulation. *Frontiers in immunology*. 2015. 6:262. Mit freundlicher Genehmigung durch Frontiers Media SA.

Die Komplementaktivierung kann auf verschiedene Weise reguliert werden: C1 kann durch den C1-Inhibitor inaktiviert werden, indem C1r und C1s von C1q abgespalten werden. Außerdem kann er auch die MASP-2 inaktivieren. Der C1-Inhibitor kann also in den klassischen Weg und in den Lektin-Weg eingreifen.^{74,75} Der alternative Weg kann durch den Faktor I reguliert werden, welcher C3b und C4b spalten und dadurch inaktivieren kann. Dafür werden Cofaktoren benötigt,

zu denen u.a. Faktor H und Komplementrezeptor 1 (CR1, bzw. CD35) zählen.⁵⁸ Das C4b-bindende Protein kann den Zerfall der C3-Konvertase C4b2a des klassischen Wegs und des Lektin-Wegs beschleunigen und fungiert ebenfalls als Cofaktor von Faktor I.⁷⁶ Auch auf der Ebene des MAC existiert ein Regulationsmechanismus: Protectin (bzw. CD59) ist in der Membran der Wirtszellen verankert und unterbindet den Einbau von C9 in den Komplex.⁷⁷ Diese Mechanismen dienen dazu, körpereigene Zellen vor einem Angriff durch das Komplementsystem zu schützen und tragen damit zur Diskriminierung zwischen Selbst und Fremd bei. Diesen Effekt können sich allerdings auch manche Bakterien zu Nutze machen, um dem Immunsystem zu entkommen, beispielsweise indem sie Regulatorproteine des Wirtes auf der eigenen Oberfläche binden.⁷⁸

1.2.3 Assoziierte Erkrankungen

Aufgrund der wichtigen Funktionen im Rahmen der angeborenen Immunabwehr ist das Komplementsystem auch an der Pathogenese vieler Krankheiten beteiligt: So kann beim Mangel an bestimmten Komplementfaktoren, eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionen, z.B. mit *Neisseria meningitidis*, resultieren.⁷⁹ Jedoch kann auch eine überschießende Aktivierung des Komplementsystems klinische Konsequenzen haben: Ein angeborener oder erworbener Mangel des Negativregulators C1-Inhibitor bedingt letztlich durch erhöhte Gefäßpermeabilität die Entstehung von Angioödemem.⁸⁰ Andererseits sind C1q-bindende Antikörper und C1q-Mangel kritisch an der Pathogenese des systemischen Lupus erythematoses (SLE) beteiligt.⁸¹ Ein weiteres klassisches Beispiel ist die paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH), bei der Erythrozyten nicht ausreichend vor der Zerstörung durch das Komplementsystem geschützt sind, da CD59, der Negativregulator des MAC, nicht auf deren Oberfläche exprimiert werden kann, weil der hierfür benötigte GPI-Anker wegen eines genetischen Defekts fehlt.⁸² Auch genetische Polymorphismen einzelner Komplementkomponenten können klinische Relevanz besitzen, wie bei altersbedingter Makuladegeneration (AMD), deren Risiko signifikant mit einem Polymorphismus des Faktor-H-Gens assoziiert ist.⁸³

1.3 Single-Nucleotide-Polymorphisms (SNPs)

1.3.1 Definition

Einzelnukleotid-Polymorphismen (engl. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)) sind mit über 90% die häufigsten genetischen Varianten des Menschen. Dabei unterscheiden sich die verschiedenen Allele lediglich in einem einzelnen Nukleotid. Das seltenere Allel hat dabei jedoch einen Anteil von mindestens 1% in der Bevölkerung. SNPs können sowohl innerhalb von kodierenden als auch nicht-kodierenden und regulatorischen Regionen liegen. SNPs werden vererbt und weisen eine niedrige Mutationsrate auf. Durchschnittlich tritt fast ein SNP pro 1000 Nukleotide auf.⁸⁴

Verschiedene Ausprägungen eines Gens werden als Allel bezeichnet. Besitzt ein Individuum auf beiden Chromosomen dasselbe Allel, bezeichnet man dies als homozygot. Unterscheiden sich die beiden Allele eines Individuums, ist es für dieses Gen heterozygot. Diese Kombination aus zwei Allelen ist der Genotyp.⁸⁵

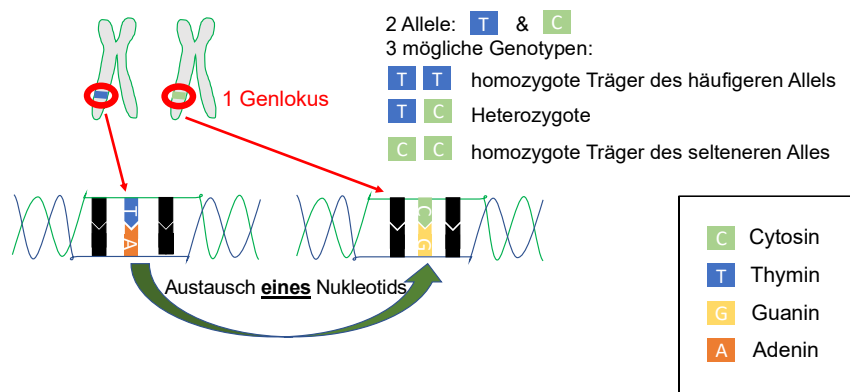


Abbildung 4: Entstehung eines SNP mit zwei Allelen bei diploidem Chromosomensatz
Abbildung selbst erstellt in Anlehnung an ⁸⁴.

1.3.2 SNPs und kardiovaskuläre Erkrankungen

Wie bereits erwähnt, existieren neben den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren, wie der arteriellen Hypertonie, auch genetische Risikofaktoren, über die bisher weniger bekannt ist. Die erste Genregion, die mit

kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung gebracht wurde, liegt auf Chromosom 9p21 und ist scheinbar unabhängig mit der KHK assoziiert. Dabei stehen die SNPs rs10757274 und rs2383206 in besonderem Fokus. Ungefähr 20-25% der Kaukasier sind homozygote Träger des Risiko-Allels und sollen aufgrund dessen ein 30-40-fach erhöhtes Risiko für KHK aufweisen.⁸⁶ Der zugrunde liegende Mechanismus war lange Zeit unklar. Man vermutet, dass ein Zusammenhang zu den benachbarten Tumorsuppressorgenen CDKN2A und CDKN2B besteht. Bei Trägern des Risiko-Allels könne es zur verringerten Expression von p15 und p16 und dadurch zur gesteigerten Proliferation glatter Muskelzellen in der Gefäßwand kommen.⁸⁷ 1996 wurde ein Polymorphismus des GPIIb/IIIa-Gens entdeckt, der mit dem Risiko, ein ACS zu erleiden, besonders bei Patienten unter 60 Jahren, vergesellschaftet ist.⁸⁸ In den letzten Jahren gab es in Fachkreisen wiederholt Diskussionen über die Implementierung von Multilocus-genetic-risk-scores (GRS) im klinischen Alltag, anhand derer das individuelle kardiovaskuläre Risiko eines Patienten, in Ergänzung zu den klassischen Risikofaktoren, bestimmt werden könnte. Diese sollen eine gezieltere Prävention und Therapie ermöglichen, um damit die Prognose der Patienten zu verbessern. In einer Studie aus Schweden wurden GRS getestet, die auf Basis von SNPs mit kardiovaskulärer Bedeutung erstellt wurden. Vor allem bei Patienten mit mittlerem Risikoprofil in Bezug auf klassische Risikofaktoren konnte durch bestimmte GRS ein zusätzlicher prognostischer Nutzen erzielt werden.⁸⁹

1.3.3 SNPs des C5-Gens

Auch SNPs des C5-Gens, das auf Chromosom 9q34.1 lokalisiert ist⁹⁰, wurden im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen bereits untersucht. C5 rs17611 scheint mit der Erstmanifestation kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit asymptomatischer Atherosklerose der Karotiden assoziiert zu sein.⁹¹ Außerdem gibt es Hinweise auf eine Assoziation von rs17611 mit der Prävalenz ischämischer Schlaganfälle.⁹² SNPs des C5-Gens wurden jedoch bereits auch schon mehrfach hinsichtlich deren etwaiger Bedeutung im Rahmen anderer häufig auftretender und/oder entzündlicher Erkrankungen näher

beleuchtet. So bestehe beispielsweise ein Zusammenhang des Genotyps von rs17611 mit dem Auftreten einer diabetischen Retinopathie bei Diabetes mellitus Typ 2.⁹³ Außerdem scheinen rs17611 und auch rs25681 die Prognose von Transplantatnieren zu beeinflussen.⁹⁴ Für die SNPs rs10985126 und rs12237774 hingegen konnte in den beschriebenen Arbeiten kein signifikanter Zusammenhang mit der diabetischen Retinopathie oder der Prognose von Transplantatnieren nachgewiesen werden.^{93,94} Ferner wurden rs25681, rs17611, rs10985126 und rs12237774 zur Identifizierung eines protektiven Haplotypen in Bezug auf Asthma bronchiale herangezogen.⁹⁵ Weder für rs17216529 im Rahmen der altersbedingten Makuladegeneration⁹⁶, noch für rs41258306 bei Gliom-Patienten, konnte in bisherigen Studien ein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden.⁹⁷ Aufgrund ihrer klinischen Relevanz, die aus der einschlägigen Literatur hervorgeht, wurden die genannten SNPs in dieser Arbeit auf einen etwaigen Zusammenhang mit der Prognose bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung hin untersucht.

1.4 Fragestellung

Kardiovaskuläre Erkrankungen, wie die KHK, sind die häufigste Todesursache in Deutschland.⁸ Atherosklerose, die die Hauptursache der KHK darstellt, ist eine entzündliche Erkrankung, bei der immunologische und metabolische Prozesse miteinander interagieren.⁹⁸ Dabei könnte auch das Komplementsystem, als Teil der angeborenen Immunabwehr, mit den potenten Anaphylatoxinen C5a und C3a, beteiligt sein.⁶⁴

Neben den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren sind auch genetische Risikofaktoren in den Fokus moderner Forschung gerückt. Verschiedene SNPs, die das kardiovaskuläre Risiko beeinflussen können, wurden bereits identifiziert.^{86,88}

SNPs des C5-Genes könnten die Konzentration von C5a im Plasma, und eventuell sogar die oberflächliche Expression des C5a-Rezeptors durch Thrombozyten, beeinflussen und damit die Wirkung von C5a und C5aR im Rahmen einer Entzündungsreaktion, wie sie bei der Atherosklerose in der Gefäßwand vorliegt, modulieren.⁹¹

Die vorliegende Dissertation soll daher folgende Punkte untersuchen:

- Ist der Genotyp ausgewählter SNPs des C5-Gens mit der Prognose von Patienten mit koronarer Herzerkrankung assoziiert? ⁹⁹
- Beeinflusst der Genotyp dieser SNPs die Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a oder die Expression des C5a-Rezeptors durch Thrombozyten? ⁹⁹
- Könnten ausgewählte SNPs des C5-Gens künftig als unabhängige Parameter für die Risikostratifizierung bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung herangezogen werden und somit bei der Erstellung eines maßgeschneiderten Therapiekonzeptes mitwirken? ⁹⁹

2. Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Die Analyse der C5 SNPs wurde an einer Kohorte mit insgesamt 833 Patienten durchgeführt. Diese wurden aufgrund von CCS oder ACS (einschließlich NSTEMI und STEMI) im Zeitraum von November 2011 bis März 2016 an der Klinik für Kardiologie und Angiologie am Universitätsklinikum Tübingen behandelt.⁹⁹ Patienten aus dieser Kohorte wurden bereits im Rahmen anderer wissenschaftlicher Arbeiten dieser Klinik untersucht.¹⁰⁰ Alle Probanden gaben ihr schriftliches Einverständnis für die Studienteilnahme. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität und am Universitätsklinikum Tübingen (Projektnummern: 270/2011BO1 und 238/2018BO2) genehmigt und entspricht der Deklaration von Helsinki und den Leitlinien zur guten wissenschaftlichen Praxis.^{101,102,103}

Definitionsgemäß liegt eine KHK bei Verengung von $\geq 50\%$ mindestens einer Koronararterie vor.¹⁰⁴ Unter der Aufnahmediagnose eines ACS wurden der akute Myokardinfarkt und die instabile AP zusammengefasst, welche sich klinisch v.a. durch akute thorakale Beschwerden in Ruhe auszeichnen.³ CCS wurde definiert als jegliche Präsentation einer KHK, in der das klinische Bild nicht durch ein akutes thrombotisches Geschehen in den Herzkranzgefäßen dominiert wird.¹ Patienten mit anderen Aufnahmediagnosen als KHK (z.B. nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose/-insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, Myokarditis) wurden nicht in dieses Studienkollektiv eingeschlossen.

Die Informationen zu CVRF und Aufnahmemedikation basieren auf der Krankengeschichte oder auf Diagnosen, die während des stationären Aufenthaltes gestellt wurden. Arterielle Hypertonie liegt bei einem systolischen Blutdruck ≥ 140 mmHg und/oder einem diastolischen Blutdruck ≥ 90 mmHg vor.¹⁰⁵ Hyperlipoproteinämie bezeichnet die Erhöhung des basalen LDL-Cholesterins ≥ 160 mg/dl und der Triglyceride ≥ 200 mg/dl.¹⁰⁶ Kriterien für das Vorliegen eines Diabetes mellitus Type II sind: HbA1c $\geq 6.5\%$ oder Nüchtern-Plasma-Glucose

≥126mg/dl oder Plasma-Glucose ≥200mg/dl 2 Stunden nach einem standardisierten 75-g-oralen Glukosetoleranztest (oGTT) oder klassische Symptome einer Hyperglykämie bei gleichzeitiger Plasma-Glucose ≥200mg/dl zu einem beliebigen Zeitpunkt.¹⁰⁷

2.2 Genotypisierung der C5-Varianten

Die C5-Varianten, die untersucht werden sollten, wurden aufgrund ihrer klinischen Relevanz, die aus vorheriger Literatur in PubMed hervorgeht, ausgewählt.⁹¹⁻⁹⁷ Zunächst wurde die Desoxyribonukleinsäure (DNA) aus den Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat (EDTA) -Blutproben isoliert. Dazu wurde das „QIAmp® DNA Blood Mini Kit System“ von Qiagen (Hilden, Deutschland) benutzt.^{100,108} Die Genotypisierung der C5-Varianten (rs25681, rs17611, rs17216529, rs12237774, rs41258306 und rs10985126) wurde mithilfe von MALDI-TOF Massenspektrometrie durch das MassARRAY® Kompaktsystem von Sequenom (CA, USA) durchgeführt.⁹⁹

Zu Beginn dieses Verfahrens wird eine lokusspezifische Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt. Der nächste Schritt ist eine lokusspezifische Primer Extension. Dazu bindet zunächst ein Oligonukleotid-Primer unmittelbar „upstream“, also in die Richtung zum 5'-Ende des Stranges hin, der zu untersuchenden Stelle an die DNA. Im nächsten Schritt wird dieser Primer verlängert, indem modifizierte DNA-Bausteine, die komplementär zu der untersuchten Stelle sind, durch eine Polymerase angehängt werden. Dazu wurden dem Ansatz vorher verschiedene Didesoxyribonukleosid-Triphosphate hinzugefügt. Diesen Molekülen fehlt eine Hydroxylgruppe, sodass kein weiterer DNA-Baustein angehängt werden kann und die Kette an dieser Stelle abbricht. Die Masse dieses verlängerten Primers wird schließlich durch die Massenspektrometrie bestimmt. Daraus können dann Rückschlüsse auf die Sequenz dieses Primers und schließlich auch des vorliegenden DNA-Stranges, insbesondere an der variablen Stelle, gezogen werden.^{109,110}

2.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Die Konzentration von C5a wurde im Plasma von 116 Patienten⁹⁹ mithilfe eines kommerziell erwerblichen ELISA-Kits nach Anleitung des Herstellers R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)¹¹¹ bestimmt. Die Blutproben wurden während der Herzkatheteruntersuchung aus der arteriellen Schleuse gewonnen. Die EDTA-Proben wurden, innerhalb von 30 Minuten nach der Gewinnung, 15 Minuten lang zentrifugiert, aliquotiert und bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt.¹¹²

ELISA ist ein Nachweisverfahren für Proteine im Serum, das mithilfe von spezifischen Antikörpern durchgeführt wird. Beim sog. *Sandwich-ELISA* wird zunächst eine Mikrotiterplatte mit Antikörpern beschichtet, die gegen das gesuchte Antigen gerichtet sind (*sog. Capture Antibody*). Dazu wird eine Lösung, die die Antikörper enthält auf der Platte ausgebreitet, inkubiert und später nach einem vorgegebenen Schema gewaschen. Zu dieser festen Phase wird schließlich die zu analysierende Probe hinzugegeben, sodass die möglicherweise darin enthaltenen Antigene durch die Antikörper auf der Platte gebunden werden. Nach der Inkubation werden sämtliche ungebundene Proteine durch eine erneute Spülung entfernt. Dann werden erneut Antikörper (*sog. Detection Antibody*) hinzugegeben, die gegen das Antigen gerichtet sind und dieses ebenfalls binden. Nach erneuter Inkubation und Waschung, um frei vorliegende Antikörper zu entfernen, werden Enzyme hinzugegeben, z.B. Meerrettichperoxidase, welche später eine Farbreaktion katalysieren sollen. Diese sind gekoppelt an Antikörper oder andere Stoffe, wie Streptavidin, die die Detektionsantikörper binden können, die im vorigen Schritt das Antigen gebunden haben. Nachdem erneut inkubiert und gespült wurde, wird ein Farbagens hinzugegeben, das durch dieses Enzym aktiviert werden kann. Nach gewisser Zeit wird diese Reaktion mit einer Stopplösung angehalten. Nun kann das emittierte Signal, welches durch die Farbreaktion entstanden ist, photometrisch gemessen werden. Es dient zur Quantifizierung der Konzentration des gesuchten Antigens in der Probe. Die gemessene Extinktion kann dazu mit einer Standardkurve verglichen werden.¹¹³

2.4 Fluorescence-activated Cell Sorting (FACS)

Thrombozyten aus dem Vollblut von 473 Patienten wurden auf die oberflächliche Expression von C5aR hin untersucht.⁹⁹ Das mit Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin (CPDA) konservierte Blut wurde im Verhältnis 1:50 mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) von Gibco™ verdünnt. Anschließend wurden die Proben 30 Minuten lang bei Raumtemperatur mit dem murinen monoklonalen Antikörper gegen den humanen C5aR, der mit dem fluoreszierenden Farbstoff Fluoresceinisothiocyanat (FITC) konjugiert war, von AbD Serotec und dem murinen Antikörper gegen humanes CD42b, der mit dem Farbstoff Phycoerythrin (PE) konjugiert war, von Becton Dickinson inkubiert. Gleichzeitig wurden auch Negativ-Kontrollen angefertigt, die mit den jeweiligen Kontroll-Isotypen, nämlich murinem IgG1 mit dem Farbstoff FITC, bzw. murinem IgG2b mit dem Farbstoff PE von R&D Systems, inkubiert wurden. Nach der Färbung wurden die Zellen mit 0,5%igem Paraformaldehyd fixiert und mittels Durchflusszytometrie mithilfe des Durchflusszytometers FACSCalibur von Becton Dickinson (Heidelberg, Deutschland) analysiert.¹¹²

Bei der Durchflusszytometrie werden die Zellen in einem Flüssigkeitsstrom fokussiert, sodass die Zellen der Reihe nach, einzeln untersucht werden können. Sie werden dazu an einer Lichtquelle vorbeigeführt. Dadurch entsteht Streulicht (Vorwärtsstreuung und Seitwärtsstreuung), welches durch Detektoren gemessen werden kann und Auskunft über die Morphologie der Zelle gibt. Beim FACS wird gleichzeitig der Fluoreszenzfarbstoff angeregt, der mit den Antikörpern konjugiert ist, die zuvor an oberflächliche Proteine auf der Zelle gebunden haben. Die daraufhin emittierten Signale werden ebenfalls detektiert und können Hinweise auf spezielle Eigenschaften der Zelle liefern. Die durchschnittliche Fluoreszenzintensität (engl. mean fluorescence intensity (MFI)) ist ein relatives Maß für die Intensität der durch die Fluoreszenz-markierten Zellen emittierten Signale, worüber Rückschlüsse auf die Anzahl der mit konjugierten Antikörpern besetzten Rezeptoren gezogen werden können. Anhand des Plättchen-spezifischen Markers CD42b (GPIb) wurde ein sog. „Gating“ für Thrombozyten durchgeführt. Das bedeutet, dass für die spätere Auswertung nur diese

bestimmten markierten Zellen herangezogen wurden, hier also nur Thrombozyten untersucht wurden.¹¹⁴

2.5 Follow-up

Alle Patienten wurden nach der initialen Herzkatheteruntersuchung hinsichtlich des Auftretens der klinischen Ereignisse Mortalität, Myokardinfarkt (MI), ischämischer Schlaganfall (IS) und Blutung über einen Zeitraum von 1080 Tagen, also für ungefähr 3 Jahre, nach Aufnahme in die Studie nachverfolgt.⁹⁹ Die Diagnose eines akuten MI wurde bei Anstieg und/oder Abfall des kardialen Biomarkers cTn mit mindestens einem Wert über der 99. Perzentile, also dem oberen Referenzwert, gestellt, wenn damit mindestens eines der folgenden Merkmale einhergeht: Ischämie-typische Symptome, neuaufgetretene Ischämie-typische EKG-Veränderungen, z.B. signifikante ST-Strecken-/T-Wellen-Veränderungen oder ein neu aufgetretener Linksschenkelblock, Entwicklung pathologischer Q-Zacken im EKG, bildgeberischer Hinweis auf einen neu aufgetretenen Verlust vitalen Myokards oder auf neue regionale Wandbewegungsstörungen, Identifikation eines koronaren Thrombus in der Angiographie.⁴ Der ischämische Schlaganfall ist definiert als Absterben von Zellen in Gehirn, Rückenmark oder Retina, das auf eine Ischämie zurückzuführen ist. Diese Annahme basiert entweder auf pathologischer, bildgeberischer oder sonstiger Evidenz für eine fokale zerebrale, spinale oder retinale ischämische Schädigung in einem definierten vaskulären Versorgungsgebiet; oder auf klinischer Evidenz für eine fokale zerebrale, spinale oder retinale Schädigung aufgrund von Symptomen, die ≥ 24 h oder bis zum Tod persistieren, wobei eine andere Ätiologie ausgeschlossen werden kann.¹¹⁵ Die Einstufung einer klinisch relevanten Blutung erfolgte anhand der standardisierten Definition von Blutungen für klinische kardiovaskuläre Studien des Bleeding Academic Research Consortium (BARC).¹¹⁶ Der primäre kombinierte Endpunkt (KE) bezeichnet das erstmalige Auftreten eines der folgenden Ereignisse: Mortalität, MI oder IS. Das Follow-up bezüglich des KE wurde bis zum Auftreten eines der Ereignisse

durchgeführt. Die einzelnen Ereignisse Mortalität, MI und Blutung stellten die sekundären Endpunkte dar. 75 Patienten sind der Nachbeobachtung verloren gegangen (d.h. lost to follow-up: 9,0%).⁹⁹ Das Follow-up wurde anhand eines telefonischen Interviews mit dem Patienten oder dessen Hausarzt und/oder der Sichtung von Patientenakten bei einer etwaigen Wiedervorstellung durchgeführt. Zu jedem Zeitpunkt lag eine Verblindung des jeweiligen Untersuchers hinsichtlich der Laborergebnisse vor.

2.6 Statistische Analyse

Sämtliche statistische Analysen wurden mithilfe von SPSS, Version 25 (SPSS Inc., Chicago IL) durchgeführt.

Alle statistischen Tests waren zweiseitig. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgelegt. Mithilfe der Bonferroni-Korrektur wurden die erhaltenen p-Werte für das multiple Testen adjustiert, indem sie mit der Anzahl der untersuchten C5-Varianten (n=5) multipliziert wurden.

Anhand von Kreuztabellen wurde die Anzahl der Ereignisse primärer und sekundärer Endpunkte für die einzelnen Genotypen des jeweiligen SNP deskriptiv dargestellt. Außerdem wurden Inzidenzraten (IR), bezogen auf 100 Personen pro Jahr, in diesen Kreuztabellen aufgeführt und als Anzahl der Fälle in 100 Personen-Jahren (P-J) angegeben. Auch die Basischarakteristika der Gesamtkohorte, einschließlich CVRF, allgemeiner und klinischer Faktoren, Aufnahmemedikation und Aufnahmediagnosen, wurden tabellarisch, aufgeteilt nach dem Genotyp des jeweiligen C5 SNP, dargestellt. Die Häufigkeit nominaler Variablen wurde dabei mithilfe des Chi-Quadrat-Tests verglichen. Für normalverteilte Daten wurde der Mittelwert (M) und die Standardabweichung (SD) angegeben. Zum Vergleich dieser normalverteilten Daten zwischen zwei Gruppen wurde der Welch t-Test herangezogen, beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen wurde die ANOVA angewendet.

Die Überlebenszeitdaten wurden mithilfe von Kaplan-Meier-Kurven visualisiert und mit dem Log-Rank-Test zwischen den einzelnen Genotypen verglichen. Für die Kaplan-Meier-Kurven wurde jeweils die Anzahl der Patienten unter Risiko, also derjenigen, die zum jeweiligen Zeitpunkt noch kein Ereignis erlitten hatten, angegeben. Mithilfe einer Cox-Regression sollte ein etwaiger unabhängiger Einfluss eines C5 SNPs auf die Überlebenszeit, unter Berücksichtigung epidemiologischer Faktoren, welche die kardiovaskuläre Prognose beeinflussen könnten, ermittelt werden. Dabei wurde mit dem Hazard Ratio eine Schätzung über die Größe dieses Einflusses auf den Endpunkt als abhängige Variable für die einzelnen Kovariaten angegeben. Außerdem wurde das 95%-Konfidenzintervall (KI) für das Hazard Ratio angegeben, also der Bereich, in dem sich der tatsächliche Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% befindet. Ist der Wert 1 in diesem Intervall nicht enthalten, kann der Einfluss der Variable auf das Überleben als signifikant angesehen werden. Die entsprechenden p-Werte sind angegeben, sowohl ohne Adjustierung als auch adjustiert nach der Bonferroni-Korrektur. Als Kovariaten wurden CVRF, klinische Faktoren und Medikamente eingeschlossen, welche allesamt die Prognose von Patienten mit koronarer Herzerkrankung beeinflussen können.

Um die C5aR-Expression und die C5a-Konzentration zwischen den drei Genotypen zu vergleichen, wurde der Kruskal-Wallis-Test angewendet. Wurden nur zwei Gruppen verglichen, wurde der Mann-Whitney-U-Test herangezogen. Box-Plots visualisieren die Werte für die einzelnen SNPs. Außerdem sind für jeden Genotypen der Median und die 25./75. Perzentile angegeben.

Die Allelfrequenz des selteneren Allels (engl. minor allele frequency (MAF)) wurde für jeden SNP in % angegeben. Diese berechnet sich, indem die Anzahl der Kopien dieses Allels innerhalb einer Kohorte (homozygote Träger (HT) haben zwei Kopien, Heterozygoten haben eine Kopie) durch die Anzahl der Gene in der Kohorte (jeder Proband besitzt insgesamt zwei Genkopien) dividiert wird. Außerdem ist für jeden SNP der Hardy-Weinberg-p-Wert angegeben, der bei einem Wert von $p > 0,050$ anzeigt, dass bei dem jeweiligen Gen von einer Verteilung nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz ausgegangen werden kann.

3. Ergebnisse

3.1 Übersicht der analysierten SNPs

In *Tabelle 1* werden die Allelfrequenzen für die hier analysierten Varianten des C5-Gens in unserer Kohorte und in der „Europäischen Kohorte mit 1000 Genomen“ (www.internationalgenome.org) gegenübergestellt.

Tabelle 1: Allelfrequenzen der untersuchten C5-Varianten

C5-Variante	Allele (häufigeres/ selteneres)	MAF [%]	Fehlende Werte [%]	Hardy- Weinberg p-Wert	MAF [%] 1000 Genome, EUR
rs10985126	T/C	17,4	0,2	0,91	16,7
rs12237774	C/T	1,4	0	1	1,1
rs25681	G/A	47,1	0	0,21	45,9
rs17611	C/T	47,4	0,8	0,15	45,8
rs17216529	C/T	7,9	0,7	0,65	7,0
rs41258306	T/C	6,0	1,0	1	6,1

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. Pharmgenomics Pers Med. 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Für die beiden SNPs rs25681 und rs17611 liegt ein Kopplungsungleichgewicht („linkage disequilibrium“) vor. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson beträgt $r^2 = 0,98$ in unserer Kohorte mit 833 Patienten, bzw. $r^2 = 0,996$ in „1000 Genome, EUR“. Daher wird in dieser Arbeit nur rs17611 untersucht. Für rs25681 werden aufgrund der hohen Übereinstimmung mit rs17611 ähnliche Ergebnisse angenommen.⁹⁹

3.2 Analyse der C5-SNPs

3.2.1 rs10985126

Das häufigere Allel von rs10985126 ist Thymin (T) und das seltenere Allel ist Cytosin (C). In der Gesamtkohorte gab es 563 homozygote Träger (HT) des häufigeren Allels, 246 Heterozygote und 22 HT des selteneren Allels. Für 2 Patienten konnte der Genotyp nicht bestimmt werden. Die Allelfrequenz des selteneren Allels betrug in unserer Kohorte daher 17,4%.⁹⁹

In *Tabelle 2* sind die Basischarakteristika der Gesamtkohorte dargestellt, die hier entsprechend dem Genotyp von rs10985126 in drei Gruppen aufgeteilt ist.

Tabelle 2: Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=831), unterteilt nach dem Genotyp von rs10985126 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: TT = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, CC = HT des selteneren Allels

Basischarakteristika	Gesamt (n=831)	TT (n=563)	CT (n=246)	CC (n=22)	p
Alter (M±SD)	68 (±12)	68 (±11)	69 (±12)	71 (±10)	0,578
Männliches Geschlecht	590 (71%)	401 (71%)	176 (72%)	13 (59%)	0,442
CVRF					
Arterielle Hypertonie	693 (83%)	463 (82%)	211 (86%)	19 (86%)	0,259
Hyperlipidämie	483 (58%)	334 (59%)	139 (57%)	10 (45%)	0,331
Diabetes mellitus Typ 2	273 (33%)	189 (34%)	75 (30%)	9 (41%)	0,579
Raucher	338 (41%)	234 (42%)	96 (39%)	8 (36%)	0,783
Klinische Faktoren					
LVEF [%] (M±SD)	51 (±11)	51 (±11)	51 (±11)	52 (±12)	0,819
Kreatinin [mg/dl] (M±SD)	1,0 (±0,6)	1,0 (±0,7)	1,0 (±0,4)	1,4 (±1,0)	0,037
Aufnahmemedikation					
ASS	461 (55%)	301 (53%)	143 (58%)	17 (77%)	0,033
Clopidogrel	103 (12%)	68 (12%)	31 (13%)	4 (18%)	0,647
Prasugrel	17 (2%)	14 (2%)	3 (1%)	0 (0%)	0,396
Ticagrelor	37 (4%)	22 (4%)	14 (6%)	1 (5%)	0,539
Orale Antikoagulation	68 (8%)	47 (8%)	18 (7%)	3 (14%)	0,568
ACE-Hemmer	354 (43%)	236 (42%)	108 (44%)	10 (45%)	0,886

AT ₁ -Antagonisten	151 (18%)	100 (18%)	44 (18%)	7 (32%)	0,250
Calciumkanalblocker	168 (20%)	102 (18%)	61 (25%)	5 (23%)	0,103
Betablocker	471 (57%)	312 (55%)	140 (57%)	19 (86%)	0,018
Statine	396 (48%)	269 (48%)	113 (46%)	14 (64%)	0,275
Aufnahmediagnose					
ACS	411 (49%)	285 (51%)	116 (47%)	10 (45%)	0,616
CCS	420 (51%)	278 (49%)	130 (53%)	12 (55%)	0,616
Fehlende Werte	2 (0,2%)				

Table modified after: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. Pharmgenomics Pers Med. 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Die Anzahl der Ereignisse für die einzelnen Endpunkte KE, Mortalität, MI und Blutung, sowie die dazugehörigen Inzidenzraten pro 100 Personen-Jahre, sind in *Tabelle 3* aufgelistet. Die Gesamtkohorte ist dafür ebenfalls entsprechend des Genotyps von rs10985126 gruppiert.

Tabelle 3: Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=756), unterteilt nach dem Genotyp von rs10985126 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: TT = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, CC = HT des selteneren Allels

	Anzahl der Ereignisse	IR/100 P-J	p	p adjustiert
	Gesamt (TT/ CT/ CC)	Gesamt (TT/ CT/ CC)		
KE	189 (132/49/8)	8,3 (8,5/7,4/12,7)	0,234	1
Mortalität	102 (72/23/7)	4,5 (4,7/3,5/11,1)	0,012	0,060
MI	95 (67/26/2)	4,2 (4,3/3,9/3,2)	0,826	1
Blutung	71 (53/16/2)	3,1 (3,4/2,4/3,2)	0,438	1

Table modified after: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. Pharmgenomics Pers Med. 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Die multivariable Cox-Regression (Tabelle 4) deckte auf, dass rs10985126 signifikant und unabhängig mit der Mortalität von Patienten mit symptomatischer KHK assoziiert ist ($p = 0,003$; Bonferroni-adjustiertes $p = 0,015$). Darüber hinaus waren auch das Alter und die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) signifikant mit der Mortalität assoziiert.⁹⁹

Tabelle 4: Multivariable Cox-Regression mit der Mortalität als abhängiger Variable und rs10985126, sowie epidemiologischen Faktoren (Alter, Geschlecht, arterielle Hypertonie, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus Typ 2, Rauchen LVEF und Aufnahmediagnose) als Kovariaten in der Gesamtkohorte (signifikante p -Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt)

	Hazard Ratio (Mortalität) (95% KI)	p (Mortalität)	p adjustiert (Mortalität)
Alter [Jahre]	1,11 (1,08-1,14)	<0,001	<0,001
Geschlecht	1,00 (0,61-1,64)	0,992	1
Arterielle Hypertonie	1,15 (0,59-2,24)	0,685	1
Hyperlipoproteinämie	0,87 (0,56-1,36)	0,544	1
Diabetes mellitus Typ 2	1,62 (1,03-2,53)	0,036	0,180
Rauchen	1,29 (0,78-2,13)	0,325	1
LVEF [%]	0,96 (0,94-0,98)	<0,001	<0,001
Aufnahmediagnose	1,61 (1,04-2,49)	0,031	0,155
C5 rs10985126	0,53 (0,35-0,81)	0,003	0,015

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

In der univariablen Analyse der Überlebenszeitdaten zeigte sich ein signifikant schlechteres Überleben in Hinblick auf die Mortalität bei homozygoten Trägern des selteneren Allels von rs10985126, verglichen mit Heterozygoten und homozygoten Trägern des häufigeren Allels (Log-Rank = 0,008; Bonferroni-adjustierter p-Wert: 0,040). Für die anderen Endpunkte KE, MI und Blutung konnte in der univariablen Analyse kein signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen von rs10985126 nachgewiesen werden (alle drei nach Bonferroni adjustierten p-Werte = 1) (Abbildung 5).⁹⁹

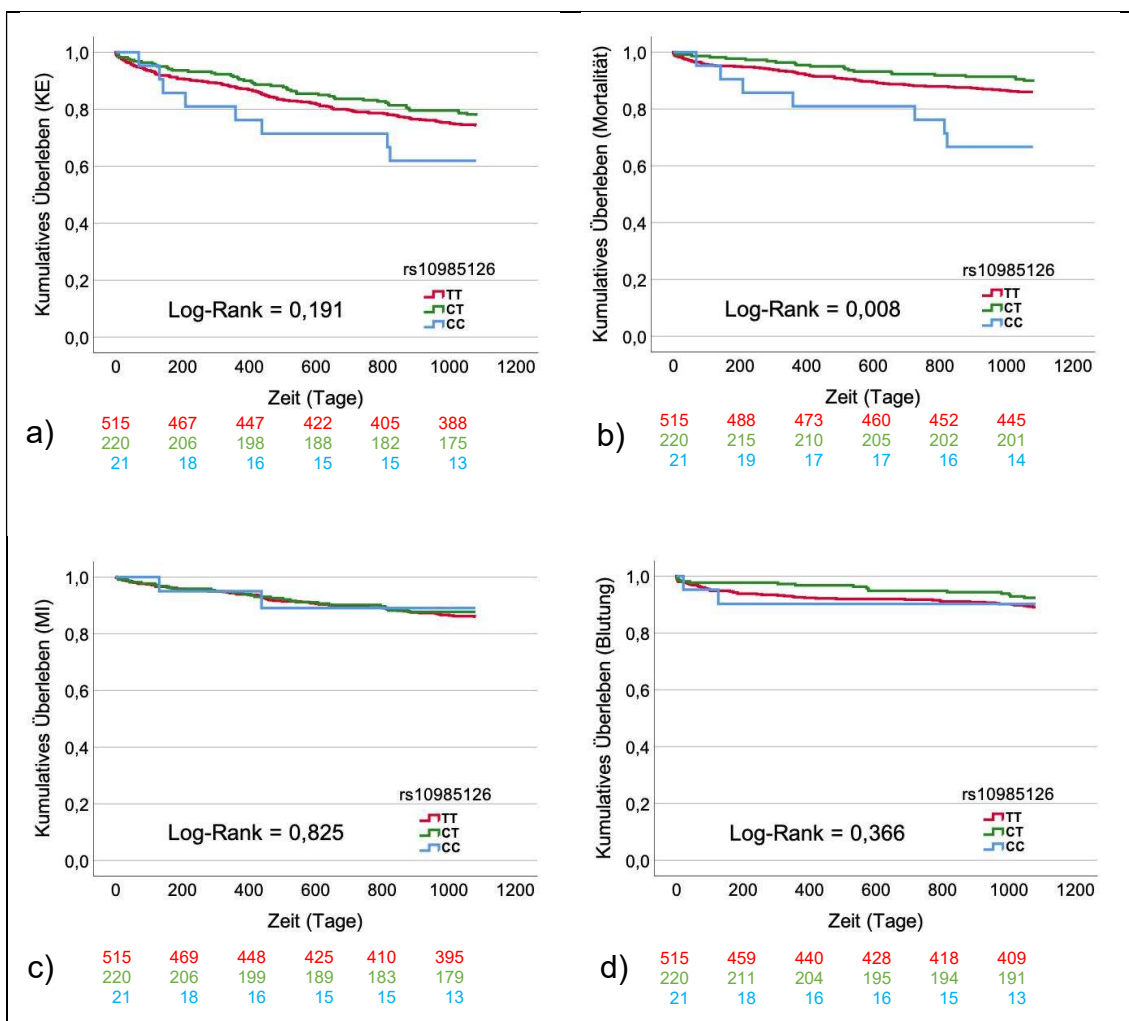


Abbildung 5: Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs10985126, mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung; jeweils mit Angabe der Anzahl der Patienten unter Risiko für die einzelnen Genotypen mit: TT = HT des häufigeren Allels (rot), CT= Heterozygote (grün), CC = HT des selteneren Allels (blau)

Abbildung modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmgenomics Pers Med.* 2021;14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Die Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a unterschied sich signifikant ($p=0,016$) zwischen den Genotypen von rs10985126. HT des häufigeren Allels wiesen die niedrigste Konzentration auf, während HT des selteneren Allels die höchste Konzentration aufwiesen. Heterozygote lagen in der Mitte. Die dazu gehörigen Box-Plots sind in *Abbildung 6* dargestellt. Die Expression von C5aR auf der Oberfläche der Thrombozyten unterschied sich nicht signifikant zwischen den Genotypen von rs10985126 (*Abbildung 7*).⁹⁹

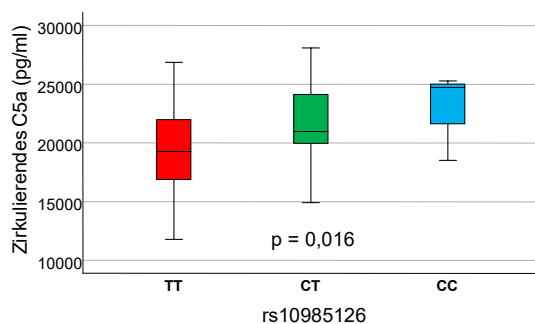


Abbildung 6: Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs10985126 mit: TT = HT des häufigeren Allels (rot), CT= Heterozygote (grün), CC = HT des selteneren Allels (blau)
 Median (25./ 75. Perzentile) [pg/ml] für TT: 19264 (16813/ 21991), $n=78$; für CT: 20956 (19834/ 24185), $n=35$; für CC: 24715 (18504/ n. a.), $n=3$; mit $p=0,016$

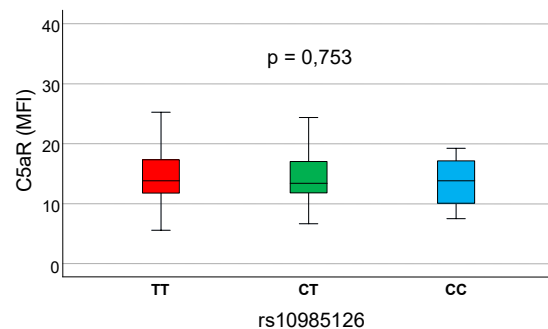


Abbildung 7: Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs10985126 mit: TT = HT des häufigeren Allels (rot), CT= Heterozygote (grün), CC = HT des selteneren Allels (blau)
 Median (25./ 75. Perzentile) (MFI) für TT: 13,8 (11,7/ 17,3), $n=316$; für CT: 13,4 (11,8/ 17,0), $n=142$; für CC: 13,8 (9,6/ 17,8), $n=15$; mit $p=0,753$

Abbildung modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2021;14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

3.2.2 rs12237774

Das häufigere Allel von rs12237774 ist C und das seltenere Allel ist T. In der Gesamtkohorte gab es 810 homozygote Träger des häufigeren Allels, 23 Heterozygote. HT des selteneren Allels gab es in unserer Kohorte nicht. Die Allelfrequenz des selteneren Allels betrug 1,4%.

Die Basischarakteristika der gesamten Kohorte, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs12237774, sind in *Tabelle 5* dargestellt.

Tabelle 5: Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=833), unterteilt nach dem Genotyp von rs12237774 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: CC = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote

Basischarakteristika	Gesamt (n=833)	CC (n=810)	CT (n=23)	p
Alter ($M \pm SD$)	69 (± 12)	68 (± 12)	69 (± 11)	0,765
Männliches Geschlecht	590 (71%)	571 (70%)	19 (83%)	0,216
CVRF				
Arterielle Hypertonie	693 (83%)	673 (83%)	20 (87%)	0,194
Hyperlipidämie	484 (58%)	472 (58%)	12 (52%)	0,799
Diabetes mellitus Typ 2	273 (33%)	269 (33%)	4 (17%)	0,154
Raucher	339 (41%)	331 (41%)	8 (35%)	0,727
Klinische Faktoren				
LVEF [%] ($M \pm SD$)	51 (± 11)	51 (± 11)	53 (± 9)	0,516
Kreatinin [mg/dl] ($M \pm SD$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,0 ($\pm 0,4$)	0,570
Aufnahmemedikation				
ASS	462 (55%)	450 (56%)	12 (52%)	0,713
Clopidogrel	103 (12%)	101 (12%)	2 (9%)	0,577
Prasugrel	17 (2%)	17 (2%)	0 (0%)	0,480
Ticagrelor	37 (4%)	37 (5%)	0 (0%)	0,292
Orale Antikoagulation	69 (8%)	69 (9%)	0 (0%)	0,142
ACE-Hemmer	356 (43%)	342 (42%)	14 (61%)	0,079
AT ₁ -Antagonisten	151 (18%)	150 (19%)	1 (4%)	0,080
Calciumkanalblocker	168 (20%)	162 (20%)	6 (26%)	0,483
Betablocker	473 (57%)	456 (56%)	17 (74%)	0,099

Statine	397 (48%)	387 (48%)	10 (43%)	0,664
Aufnahmediagnose				
ACS	411 (49%)	404 (50%)	7 (30%)	0,066
CCS	422 (51%)	406 (50%)	16 (70%)	0,066

Die Anzahl der Ereignisse für die einzelnen Endpunkte und die jeweiligen Inzidenzraten pro 100 Personen in einem Jahr, sind in *Tabelle 6* aufgelistet. Die Kohorte ist entsprechend ihrer genetischen Ausprägung von rs12237774 unterteilt.

Tabelle 6: Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=758), unterteilt nach dem Genotyp von rs12237774 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: CC = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote

	Anzahl der Ereignisse	IR/100 P-J	p	p
	Gesamt (CC/ CT)	Gesamt (CC/ CT)		adjustiert
KE	190 (189/1)	8,4 (8,5/1,7)	0,036	0,180
Mortalität	103 (102/1)	4,5 (4,6/1,7)	0,256	1
MI	95 (95/0)	4,2 (4,3/0,0)	0,086	0,430
Blutung	71 (68/3)	3,1 (3,1/5,0)	0,381	1

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmgenomics Pers Med.* 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Homozygote Träger des häufigeren Allels von rs12237774 zeigten ein schlechteres Ereignis-freies Überleben in Bezug auf den kombinierten Endpunkt, verglichen mit Heterozygoten ($p=0,050$), was allerdings nach der Adjustierung nach Bonferroni nicht mehr signifikant war (Bonferroni-adjustierter p -Wert = $0,250$). Für die sekundären Endpunkte ergab die univariable Analyse keinen Zusammenhang mit dem Genotyp von rs12237774. *Abbildung 8* zeigt die entsprechenden Kaplan-Meier-Kurven.

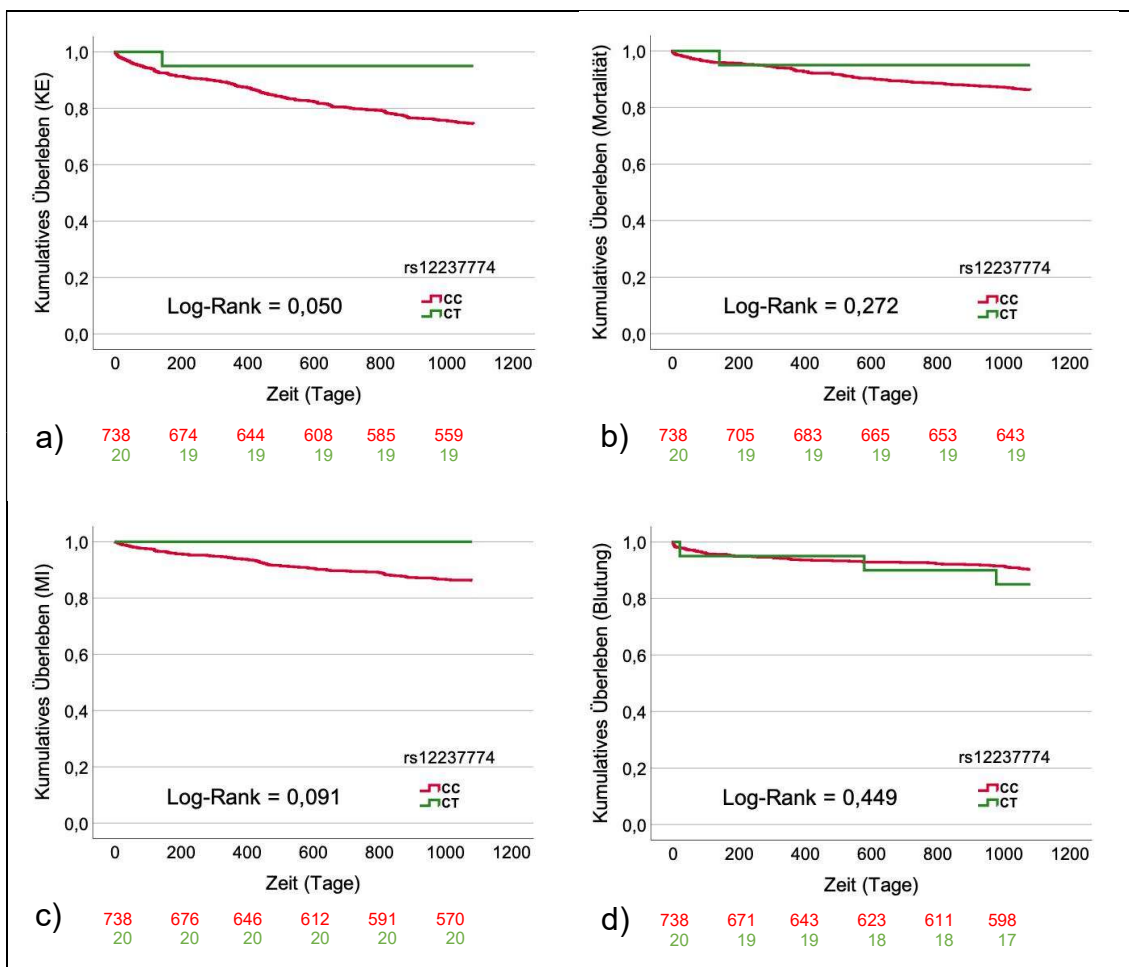


Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs12237774, mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung; jeweils mit Angabe der Anzahl der Patienten unter Risiko für die einzelnen Genotypen mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün)

Für rs12237774 ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen homozygoten und heterozygoten Trägern des häufigeren Allels, weder hinsichtlich der Konzentration von C5a noch hinsichtlich der Expression von C5aR durch Thrombozyten (*Abbildungen 9 und 10*).

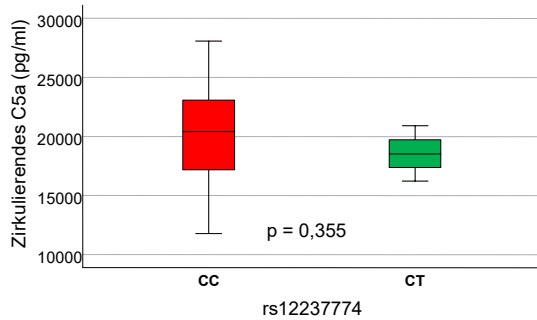


Abbildung 9: Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs12237774 mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün)
Median (25./ 75. Perzentile) [pg/ml] für CC: 20405 (17151/ 23140), n=113; für CT: 18504 (16215/ n. a.), n=3; mit p=0,355

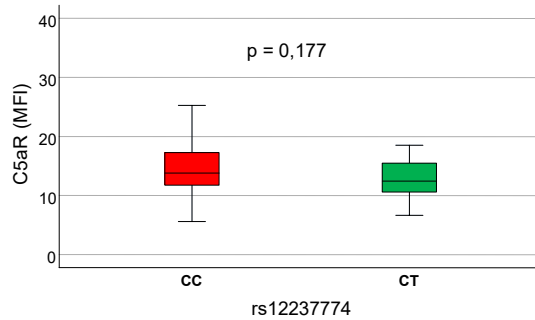


Abbildung 10: Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs12237774 mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün)
Median (25./ 75. Perzentile) (MFI) für CC: 13,8 (11,7/ 17,2), n=459; für CT: 12,4 (10,5/ 16,6), n=16; mit p=0,177

3.2.3 rs17611

Das häufigere Allel von rs17611 ist C und das seltenere Allel ist T. In der Gesamtkohorte gab es 240 homozygote Träger des häufigeren Allels, 389 Heterozygote und 197 HT des selteneren Allels. Für 7 Patienten konnte der Genotyp nicht bestimmt werden. Die Allelfrequenz des selteneren Allels betrug in unserer Kohorte daher 47,4%.

Tabelle 7 zeigt die Basischarakteristika der Gesamtkohorte, nach dem Genotyp von rs17611 in drei Gruppen unterteilt.

Tabelle 7: Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=826), unterteilt nach dem Genotyp von rs17611 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: CC = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, TT = HT des selteneren Allels

Basischarakteristika	Gesamt (n=826)	CC (n=240)	CT (n=389)	TT (n=197)	p
Alter ($M \pm SD$)	69 (± 12)	69 (± 12)	68 (± 12)	68 (± 11)	0,345
Männliches Geschlecht	585 (71%)	162 (68%)	285 (73%)	138 (70%)	0,306
CVRF					
Arterielle Hypertonie	688 (83%)	203 (85%)	326 (84%)	159 (81%)	0,604
Hyperlipidämie	480 (58%)	131 (55%)	233 (60%)	116 (59%)	0,398
Diabetes mellitus Typ 2	270 (33%)	85 (35%)	128 (33%)	57 (29%)	0,366
Raucher	336 (41%)	91 (38%)	163 (42%)	82 (42%)	0,562
Klinische Faktoren					
LVEF [%] ($M \pm SD$)	51 (± 11)	51 (± 10)	51 (± 11)	50 (± 11)	0,537
Kreatinin [mg/dl] ($M \pm SD$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,1 ($\pm 0,7$)	1,0 ($\pm 0,4$)	1,1 ($\pm 0,9$)	0,080
Aufnahmemedikation					
ASS	459 (56%)	130 (54%)	233 (60%)	96 (49%)	0,034
Clopidogrel	103 (12%)	29 (12%)	49 (13%)	25 (13%)	0,973
Prasugrel	16 (2%)	8 (3%)	6 (2%)	2 (1%)	0,162
Ticagrelor	37 (4%)	15 (6%)	15 (4%)	7 (4%)	0,289
Orale Antikoagulation	69 (8%)	22 (9%)	33 (8%)	14 (7%)	0,745
ACE-Hemmer	354 (43%)	101 (42%)	175 (45%)	78 (40%)	0,463
AT ₁ -Antagonisten	149 (18%)	51 (21%)	69 (18%)	29 (15%)	0,215
Calciumkanalblocker	167 (20%)	51 (21%)	78 (20%)	38 (19%)	0,886

Betablocker	471 (57%)	147 (61%)	223 (57%)	101 (51%)	0,125
Statine	394 (48%)	114 (48%)	192 (49%)	88 (45%)	0,590
Aufnahmediagnose					
ACS	406 (49%)	110 (46%)	189 (49%)	107 (54%)	0,201
CCS	420 (51%)	130 (54%)	200 (51%)	90 (46%)	0,201
Fehlende Werte	7 (0,8%)				

Die Anzahl der Ereignisse für die Endpunkte KE, Mortalität, MI und Blutung, sowie die dazugehörigen Inzidenzraten pro 100 Personen in einem Jahr, sind in *Tabelle 8* aufgelistet. Die Kohorte ist entsprechend der genetischen Ausprägung von rs17611 in Gruppen unterteilt.

Tabelle 8: Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=751), unterteilt nach dem Genotyp von rs17611 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: CC = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, TT = HT des selteneren Allels

	Anzahl der Ereignisse	IR/100 P-J	p	p adjustiert
	Gesamt (CC/ CT/ TT)	Gesamt (CC/ CT/ TT)		
KE	189 (50/86/53)	8,4 (7,4/8,2/9,9)	0,221	1
Mortalität	102 (27/43/32)	4,5 (4,0/4,1/6,0)	0,146	0,730
MI	95 (23/47/25)	4,2 (3,4/4,5/4,7)	0,433	1
Blutung	71 (26/24/21)	3,2 (3,9/2,3/3,9)	0,080	0,400

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Die univariable Analyse der Überlebenszeitdaten von Patienten mit symptomatischer KHK ergab weder für den kombinierten Endpunkt noch für die sekundären Endpunkte einen signifikanten Zusammenhang mit dem Genotyp von rs17611. Die dazugehörigen Kaplan-Meier-Kurven werden in *Abbildung 11* dargestellt.

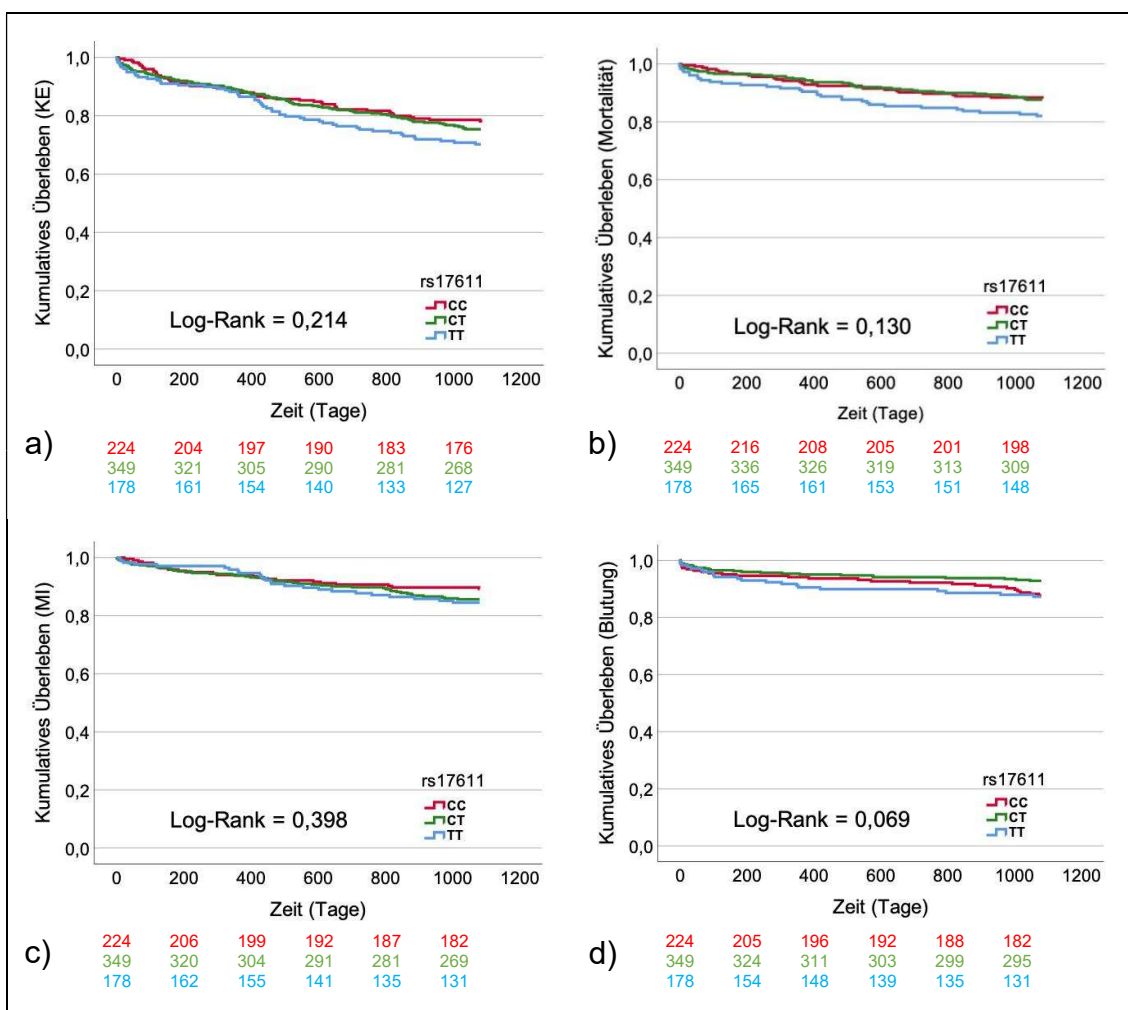


Abbildung 11: Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs17611 mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung; jeweils mit Angabe der Anzahl der Patienten unter Risiko für die einzelnen Genotypen mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), TT = HT des selteneren Allels (blau)

Für rs17611 konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Konzentration von C5a im Plasma zwischen den einzelnen Genotypen gefunden werden. HT des häufigeren Allels wiesen dabei die höchste Konzentration und HT des selteneren Allels die geringste Konzentration von C5a auf. Die Konzentration bei den Heterozygoten lag dazwischen (*Abbildung 12*). Hinsichtlich der thrombozytären Expression von C5aR konnte eine moderate Erhöhung bei Heterozygoten beobachtet werden (*Abbildung 13*).

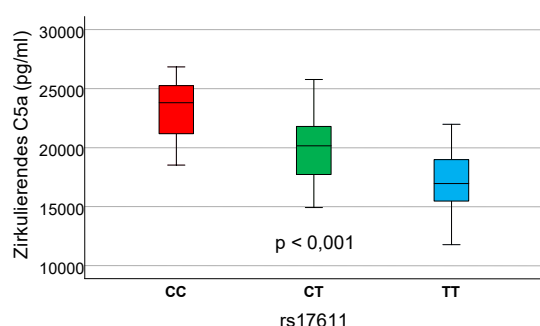


Abbildung 12: Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs17611 mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), TT = HT des selteneren Allels (blau)

Median (25./ 75. Perzentile) [pg/ml] für CC: 23804 (21028/ 25265), n=31; für CT: 20155 (17566/ 21935), n=54; für TT: 16950 (15442/ 19238), n=30; mit $p < 0,001$

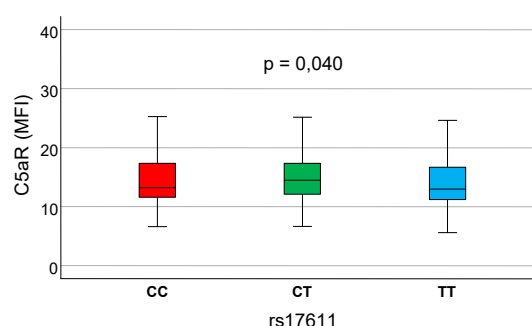


Abbildung 13: Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach der Allel-Zugehörigkeit von rs17611 mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), TT = HT des selteneren Allels (blau)

Median (25./ 75. Perzentile) (MFI) für CC: 13,2 (11,5/ 17,3), n=143; für CT: 14,5 (12,1/ 17,4), n=217; für TT: 13,0 (11,2/ 16,7), n=112; mit $p = 0,040$

3.2.4 rs17216529

Das häufigere Allel von rs17216529 ist C und das seltenere Allel ist T. In der Gesamtkohorte gab es 698 homozygote Träger des häufigeren Allels, 127 Heterozygote und 2 HT des seltenen Allels. Für 6 Patienten konnte der Genotyp nicht bestimmt werden. Die Allelfrequenz des seltenen Allels betrug in unserer Kohorte daher 7,9%.

Tabelle 9 zeigt die Basischarakteristika der Gesamtkohorte, die anhand der genetischen Ausprägung von rs17216529 in drei Gruppen eingeteilt wurde.

Tabelle 9: Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=827), unterteilt nach dem Genotyp von rs17216529 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: CC = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, TT = HT des seltenen Allels

Basischarakteristika	Gesamt (n=827)	CC (n=698)	CT (n=127)	TT (n=2)	p
Alter ($M \pm SD$)	69 (± 12)	68 (± 12)	69 (± 12)	80 (± 4)	0,369
Männliches Geschlecht	586 (71%)	498 (71%)	86 (68%)	2 (100%)	0,444
CVRF					
Arterielle Hypertonie	689 (83%)	579 (83%)	108 (85%)	2 (100%)	0,367
Hyperlipidämie	480 (58%)	405 (58%)	75 (59%)	0 (0%)	0,199
Diabetes mellitus Typ 2	271 (33%)	233 (33%)	37 (29%)	1 (50%)	0,674
Raucher	335 (41%)	285 (41%)	49 (39%)	1 (50%)	0,938
Klinische Faktoren					
LVEF [%] ($M \pm SD$)	51 (± 11)	51 (± 11)	51 (± 10)	38 (± 4)	0,194
Kreatinin [mg/dl] ($M \pm SD$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,1 ($\pm 0,5$)	1,6 ($\pm 1,0$)	0,370
Aufnahmemedikation					
ASS	459 (56%)	378 (54%)	79 (62%)	2 (100%)	0,111
Clopidogrel	103 (12%)	82 (12%)	20 (16%)	1 (50%)	0,128
Prasugrel	16 (2%)	15 (2%)	1 (1%)	0 (0%)	0,578
Ticagrelor	37 (4%)	33 (5%)	4 (3%)	0 (0%)	0,695
Orale Antikoagulation	69 (8%)	61 (9%)	8 (6%)	0 (0%)	0,587
ACE-Hemmer	354 (43%)	296 (42%)	57 (45%)	1 (50%)	0,885
AT ₁ -Antagonisten	150 (18%)	126 (18%)	24 (19%)	0 (0%)	0,785
Calciumkanalblocker	167 (20%)	136 (19%)	31 (24%)	0 (0%)	0,363

Betablocker	470 (57%)	388 (56%)	80 (63%)	2 (100%)	0,161
Statine	395 (48%)	332 (48%)	62 (49%)	1 (50%)	0,981
Aufnahmediagnose					
ACS	407 (49%)	349 (50%)	56 (44%)	2 (100%)	0,168
CCS	420 (51%)	349 (50%)	71 (56%)	0 (0%)	0,168
Fehlende Werte	6 (0,7%)				

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. Pharmgenomics Pers Med. 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Die Anzahl der Ereignisse der einzelnen Endpunkte und die jeweiligen Inzidenzraten pro 100 Personen in einem Jahr werden in *Tabelle 10* dargestellt. Das Patientenkollektiv ist entsprechend der genetischen Ausprägung von rs17216529 in Gruppen eingeteilt.

Tabelle 10: Anzahl Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=752), unterteilt nach dem Genotyp von rs17216529 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: CC = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, TT = HT des selteneren Allels

	Anzahl der Ereignisse	IR/100 PJ	p	p adjustiert
	Gesamt (CC/ CT/ TT)	Gesamt (CC/ CT/ TT)		
KE	189 (166/21/2)	8,4 (8,7/6,0/33,3)	0,009	0,045
Mortalität	103 (91/11/1)	4,6 (4,8/3,2/16,7)	0,122	0,610
MI	94 (82/11/1)	4,2 (4,3/3,2/16,7)	0,162	0,810
Blutung	71 (63/6/2)	3,1 (3,3/1,7/33,3)	<0,001	<0,001

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. Pharmgenomics Pers Med. 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

In der univariablen Analyse zeigte sich für homozygote Träger des selteneren Allels von rs17216529 ein signifikant schlechteres Überleben im Hinblick auf die Endpunkte KE, Myokardinfarkt und Blutung (Log-Rank <0,001; nach Bonferroni adjustierter p-Wert <0,001) (Abbildung 14). Allerdings können aus diesen Daten aufgrund der geringen Fallzahl homozygoter Träger des selteneren Allels (n=2) nur bedingt klinische Konsequenzen für diesen SNP gezogen werden.⁹⁹

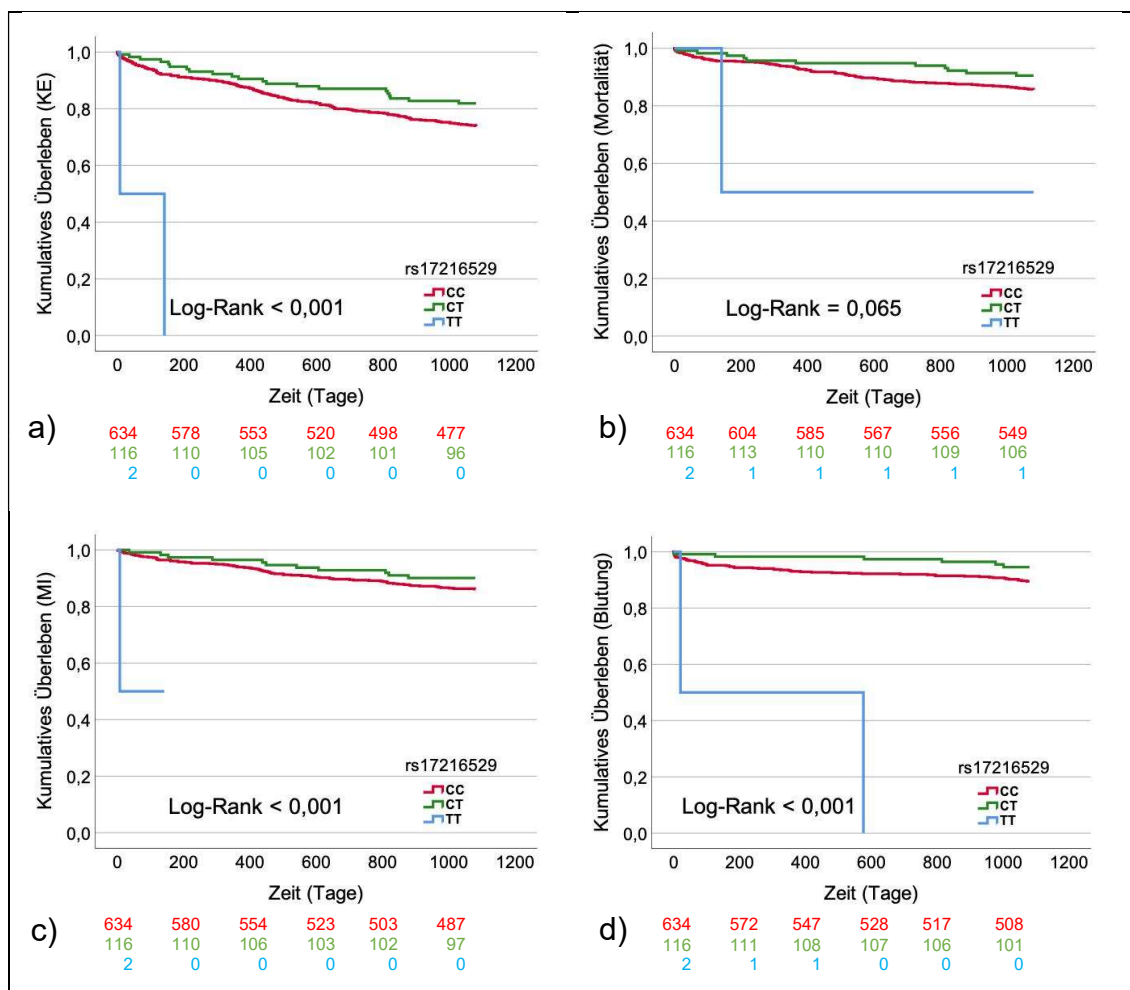


Abbildung 14: Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs17216529 mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung; jeweils mit Angabe der Anzahl der Patienten unter Risiko für die einzelnen Genotypen mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), TT = HT des selteneren Allels (blau)

Für rs17216529 ergab sich keine signifikante Assoziation des Genotyps mit der Konzentration von C5a im Plasma oder mit der Expression von C5aR durch Thrombozyten bei Patienten mit symptomatischer KHK. Die entsprechenden Box-Plots sind in den *Abbildungen 15 und 16* dargestellt.

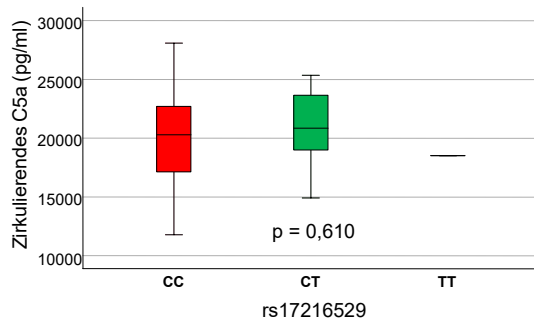


Abbildung 15: Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs17216529 mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), TT = HT des selteneren Allels (blau) Median (25./ 75. Perzentile) [pg/ml] für CC: 20278 (17102/ 22785), n=94; für CT: 20848 (18788/ 23848), n=20; für TT: n. a. (n. a./ n. a.), n=1; mit p=0,610

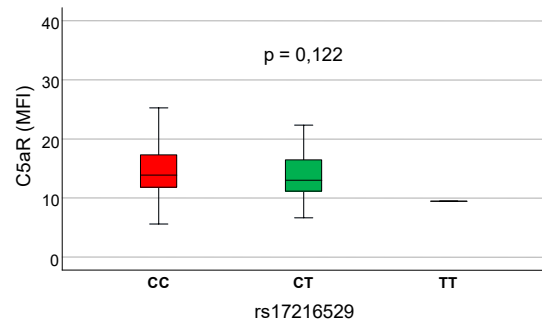


Abbildung 16: Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs17216529 mit: CC = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), TT = HT des selteneren Allels (blau) Median (25./ 75. Perzentile) (MFI) für CC: 13,9 (11,8/ 17,3), n=405; für CT: 13,0 (11,1/ 16,5), n=66; für TT: n. a. (n. a./ n. a.), n=1; mit p=0,122

3.2.5 rs41258306

Das häufigere Allel von rs41258306 ist T und das seltenere Allel ist C. In der Gesamtkohorte gab es 729 homozygote Träger des häufigeren Allels, 93 Heterozygote und 3 HT des selteneren Allels. Für 8 Patienten konnte der Genotyp nicht bestimmt werden. Die Allelfrequenz des selteneren Allels betrug in unserer Kohorte daher 6,0%.

Basischarakteristika der Kohorte, eingeteilt nach der Allel-Häufigkeit von rs41258306, sind in *Tabelle 11* aufgelistet.

Tabelle 11: Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=825), unterteilt nach dem Genotyp von rs41258306 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) fett gedruckt) mit: TT = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, CC = HT des selteneren Allels

Basischarakteristika	Gesamt (n=825)	TT (n=729)	CT (n=93)	CC (n=3)	p
Alter ($M \pm SD$)	69 (± 12)	68 (± 12)	69 (± 11)	67 (± 9)	0,702
Männliches Geschlecht	583 (71%)	512 (70%)	68 (73%)	3 (100%)	0,472
CVRF					
Arterielle Hypertonie	687 (83%)	605 (83%)	79 (85%)	3 (100%)	0,767
Hyperlipidämie	479 (58%)	427 (59%)	51 (55%)	1 (33%)	0,558
Diabetes mellitus Typ 2	271 (33%)	240 (33%)	30 (32%)	1 (33%)	0,957
Raucher	335 (41%)	300 (41%)	34 (37%)	1 (33%)	0,638
Klinische Faktoren					
LVEF [%] ($M \pm SD$)	51 (± 11)	51 (± 11)	51 (± 11)	62 (± 3)	0,226
Kreatinin [mg/dl] ($M \pm SD$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,0 ($\pm 0,6$)	1,0 ($\pm 0,4$)	0,9 ($\pm 0,2$)	0,928
Aufnahmemedikation					
ASS	459 (56%)	408 (56%)	51 (55%)	0 (0%)	0,139
Clopidogrel	103 (12%)	90 (12%)	12 (13%)	1 (33%)	0,552
Prasugrel	15 (2%)	13 (2%)	2 (2%)	0 (0%)	0,946
Ticagrelor	37 (4%)	32 (4%)	5 (5%)	0 (0%)	0,856
Orale Antikoagulation	69 (8%)	57 (8%)	11 (12%)	1 (33%)	0,130
ACE-Hemmer	353 (43%)	313 (43%)	39 (42%)	1 (33%)	0,917
AT ₁ -Antagonisten	150 (18%)	131 (18%)	17 (18%)	2 (67%)	0,095
Calciumkanalblocker	167 (20%)	146 (20%)	19 (20%)	2 (67%)	0,136

Betablocker	470 (57%)	416 (57%)	51 (55%)	3 (100%)	0,290
Statine	394 (48%)	349 (48%)	44 (47%)	1 (33%)	0,866
Aufnahmediagnose					
ACS	407 (49%)	361 (50%)	45 (48%)	1 (33%)	0,839
CCS	418 (51%)	368 (50%)	48 (52%)	2 (67%)	0,839
Fehlende Werte	8 (1%)				

Tabelle 12 zeigt die Anzahl der Ereignisse für die jeweiligen Endpunkte KE, Mortalität, MI und Blutung, sowie ihre dazugehörigen Inzidenzraten pro 100 Personen in einem Jahr. Die Kohorte ist nach der genetischen Ausprägung von rs41258306 unterteilt.

Tabelle 12: Anzahl der Ereignisse und Inzidenzraten (IR/100 P-J) in der Gesamtkohorte (n=750), unterteilt nach dem Genotyp von rs41258306 (signifikante p-Werte ($p < 0,050$) sind fett gedruckt) mit: TT = HT des häufigeren Allels, CT = Heterozygote, CC = HT des selteneren Allels

	Anzahl der Ereignisse	IR/100 PJ	p	p adjustiert
	Gesamt (TT/ CT/ CC)	Gesamt (TT/ CT/ CC)		
KE	190 (167/23/0)	8,4 (8,4/9,5/0)	0,486	1
Mortalität	103 (91/12/0)	4,6 (4,6/4,9/0)	0,756	1
MI	95 (82/13/0)	4,2 (4,1/5,3/0)	0,510	1
Blutung	71 (62/9/0)	3,2 (3,1/3,7/0)	0,745	1

Tabelle modifiziert nach: Henes JK et al. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. Pharmgenomics Pers Med. 2021. 14:893-903. Lizenz: CC BY-NC 3.0

Für rs41258306 ergab die univariable Analyse hinsichtlich des Überlebens von Patienten mit symptomatischer KHK keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Genotyp und dem kombinierten Endpunkt oder einem der sekundären Endpunkte (alle nach Bonferroni adjustierten p-Werte = 1). *Abbildung 17* zeigt die entsprechenden Kaplan-Meier-Kurven.

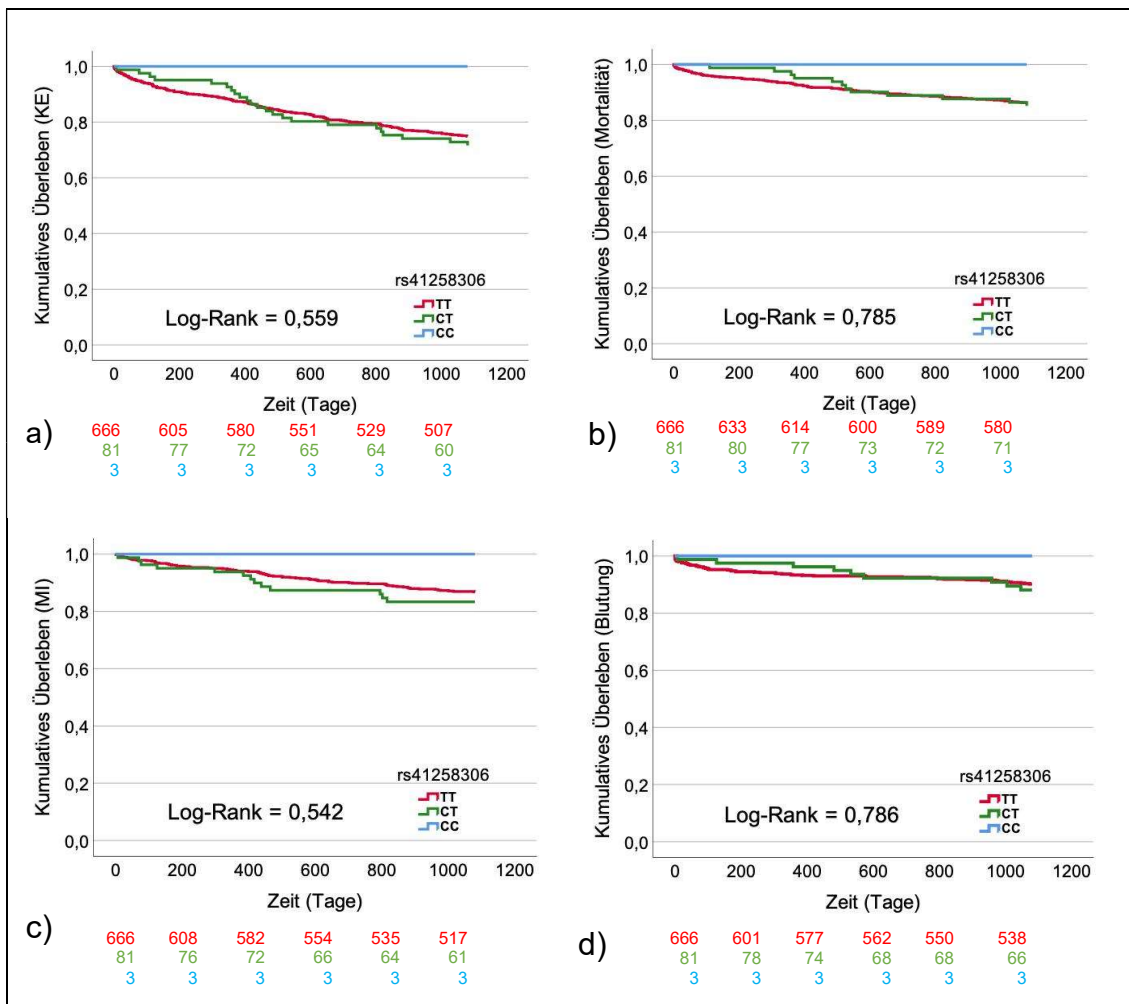


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurven, gruppiert nach Genotyp von rs41258306 mit den Endpunkten: a) KE, b) Mortalität, c) MI, d) Blutung; jeweils mit Angabe der Anzahl der Patienten unter Risiko für die einzelnen Genotypen mit: TT = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), CC = HT des selteneren Allels (blau)

Für rs41258306 ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang des Genotyps mit der Konzentration von C5a im Plasma oder mit der Expression von C5aR durch Thrombozyten bei Patienten mit symptomatischer KHK (Abbildungen 18 und 19).

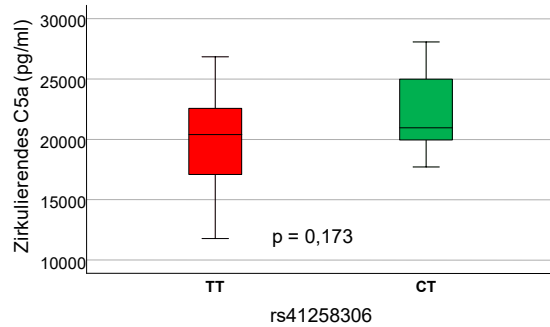


Abbildung 18: Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, gemessen durch ELISA, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs41258306 mit: TT = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün)

Median (25./ 75. Perzentile) [pg/ml] für TT: 20388 (17033/ 22692), n=107; für CT: 20952 (19888/ 25120), n=8; mit p=0,173

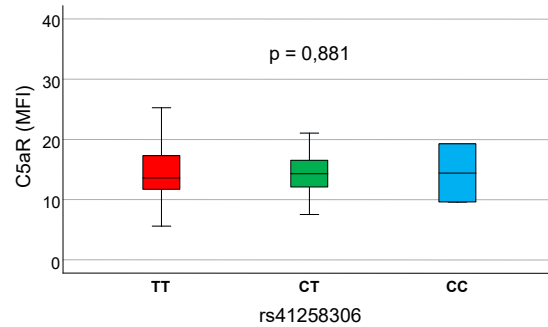


Abbildung 19: Thrombozytäre Expression von C5aR, gemessen durch FACS, aufgeteilt nach dem Genotyp von rs41258306 mit: TT = HT des häufigeren Allels (rot), CT = Heterozygote (grün), CC = HT des selteneren Allels (blau)

Median (25./ 75. Perzentile) (MFI) für TT: 13,6 (11,7/ 17,3), n=410; für CT: 14,3 (12,1/ 16,6), n=59; für CC: 14,4 (9,6/ n. a.), n=2; mit p=0,881

4. Diskussion

Zu den wichtigsten Erkenntnissen der vorliegenden Arbeit zählt, dass rs10985126, ein SNP des C5-Gens, signifikant und unabhängig mit der Mortalität von Patienten mit symptomatischer KHK assoziiert ist. Homozygote Träger des dieses Risiko-Allels, das heißt des selteneren Allels von rs10985126, weisen außerdem einen erhöhten Plasmaspiegel des zirkulierenden C5a, im Vergleich zu Trägern des häufigeren Allels, auf.⁹⁹

Es gibt bereits Hinweise, dass ein erhöhter Serumspiegel von C5a bei Patienten mit fortgeschrittener Atherosklerose mit einem erhöhten Risiko für schwere kardiale Komplikationen assoziiert ist.¹¹⁷ Außerdem scheint die Konzentration von C5a im Plasma bei Patienten mit subklinischer Atherosklerose erhöht zu sein und wird bereits als neuartiger Biomarker für subklinische Atherosklerose in Erwägung gezogen.¹¹⁸ Zudem wurden erhöhte Blutspiegel von C5a und C3a mit der Entwicklung von Restenosen bei medikamentenbeschichteten Stents nach PCI in Verbindung gebracht.¹¹⁹

Dem zugrundeliegenden Pathomechanismus, der die Bedeutung von C5a im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen erklären könnte, wurde bereits in diversen Studien auf den Grund gegangen: Das Komplementsystem spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungsprozessen und damit auch bei der Progression atherosklerotischer Läsionen. Als Schlüsselemente der Komplementkaskade weisen C5a und auch C5aR eine Reihe proinflammatorischer Eigenschaften auf. Untersuchungen zufolge werden die Rezeptoren C3aR und C5aR in atherosklerotischen Plaques menschlicher Koronargefäße durch verschiedene Zellarten exprimiert.¹²⁰ Im Mausmodell führte die Blockade von C5aR mit einem Rezeptorantagonisten außerdem zur Verkleinerung von atherosklerotischen Plaques in der Aorta.¹²¹ Die Expression von C5a war zudem bei der Untersuchung atherosklerotischer Plaques menschlicher Koronargefäße in lipidreichen, entzündlichen, und daher vulnerablen Plaques höher als in stabilen Plaques.¹²²

Es gibt außerdem experimentelle Erkenntnisse, dass das Komplementsystem durch Cholesterinkristalle innerhalb der Plaques aktiviert werden könnte, was wiederum die Ausschüttung inflammatorischer Zytokine, wie TNF und IL-1 β , nach sich ziehen soll,¹²³ welche schließlich auch die Aktivierung von Endothelzellen zu bewirken scheinen, die für die Rekrutierung von Leukozyten an den Entzündungsort notwendig ist.¹²⁴ Auch an der Ruptur atherosklerotischer Plaques scheint C5a kritisch beteiligt zu sein, möglicherweise durch Induktion der Apoptose in glatten Muskelzellen und Endothelzellen.¹²⁵ In lipidreichen Plaques von Koronargefäßen wurde eine Kolo-kalisation von C5a mit Matrix-Metalloproteasen (MMPs) vorgefunden. Außerdem konnte die Ausschüttung von MMPs *in vitro* durch C5a stimuliert werden.¹²² Bei der Untersuchung der Koronararterien von Patienten, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten, wurde eine deutlich vermehrte Ablagerung von proteolytisch gespaltenem C3b und Entzündungszellen in rupturierten Plaques, verglichen mit nicht-rupturierten Plaques, festgestellt. Hinsichtlich der Ablagerung von C5b-9 ergab sich in der genannten Studie jedoch kein signifikanter Unterschied.¹²⁶

Neben der starken proinflammatorischen Wirkung durch die Anaphylatoxine scheint das Komplementsystem außerdem eng mit Thrombozyten zu interagieren und an deren Aktivierung beteiligt zu sein, was ebenfalls von Relevanz für die Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen sein könnte. Bereits in den 80er-Jahren existierten Hinweise, dass Thrombozyten spezifische Rezeptoren für die Komplementproteine C5a und C3a besitzen, über welche sie aktiviert werden können: So konnte in Anwesenheit von C3a und C5a sowohl Thrombozytenaggregation¹²⁷, als auch die Sekretion von Serotonin experimentell nachgewiesen werden.¹²⁸

Die Expression von C5aR und C3aR auf der Oberfläche von Thrombozyten ist bei Patienten mit KHK, im Vergleich zu gesunden Probanden, erhöht. Außerdem korrelierte diese erhöhte Expression von C5aR und C3aR bei ACS-Patienten mit Markern für die Thrombozytenaktivierung, u.a. Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1).¹¹² SDF-1 scheint die Einwanderung endothelialer Vorläuferzellen in ischämische Gewebe zu fördern¹²⁹ und könnte durch diesen Beitrag zur

Regeneration ischämischer Gewebe protektiv auf myokardiales Gewebe nach Infarkt wirken.¹³⁰ Patienten mit ACS weisen eine höhere SDF-1-Expression auf der Oberfläche von Thrombozyten auf als Patienten mit stabiler AP.¹³¹ Interessanterweise könnten auch SNPs des für SDF-1 kodierenden Gens die Prognose von Patienten mit KHK beeinflussen¹⁰⁰, ähnlich wie der hier analysierte SNP des C5-Gens. Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass die Rezeptoren der Anaphylatoxine C5a und C3a durch aktivierte Thrombozyten exprimiert werden und deren Expression auch mit bereits bekannten thrombozytären Biomarkern, die ebenfalls zur Risikostratifizierung bei KHK-Patienten herangezogen werden könnten, korreliert.

Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass die Aktivierung des Komplementsystems und der Thrombozyten nicht nur parallel ablaufen, sondern dass die Bestandteile des Komplementsystems die Funktion der Thrombozyten sogar beeinflussen könnten: Im Mausmodell wiesen C3aR-Knockout-Mäuse verlängerte Blutungszeiten nach Verletzung auf. Zudem waren diese C3aR-Knockout-Mäuse weniger anfällig für einen experimentell herbeigefügten Myokardinfarkt oder Schlaganfall.¹³² Andererseits scheinen aktivierte Thrombozyten auch das Komplementsystem aktivieren zu können: In experimentellen Ansätzen kam es nach Aktivierung der Thrombozyten in plättchenreichem Plasma zur vermehrten Ausschüttung von C3a und C5b-9. Außerdem gab es Hinweise, dass dadurch auch die Expression bestimmter Rezeptoren durch Granulozyten und Monozyten hochreguliert werden konnte, was nach Inhibition des Komplementsystems wiederum ausblieb. Das bedeutet, dass das Komplementsystem durch aktivierte Thrombozyten aktiviert werden kann und dabei auch als Bindeglied zur Aktivierung der zellulären Immunantwort fungieren kann.¹³³ Auch C5a und C5aR wurden in Bezug auf deren Interaktion mit der Thrombozytenfunktion untersucht. In einer Arbeit wurde beschrieben, dass C5-defiziente Mäuse nach Injektion extrazellulärer Histone, welche in ausreichender Dosis Thrombosen hervorrufen, seltener letale thrombotische Ereignisse erlitten als der Wildtyp.¹³⁴ Andererseits jedoch war beispielsweise die Aktivierung und die Ablagerung der Thrombozyten an der Gefäßwand bei C3-defizienten Mäusen eingeschränkt, nicht jedoch bei C5-defizienten Mäusen, bei denen lediglich die Fibrinbildung und die Stabilität

der Thromben vermindert war. Bei C5-defizienten Mäusen war außerdem die Exposition von Phosphatidylserin, was für die Aktivierung der Gerinnungskaskade wichtig ist, auf der Zelloberfläche adhärenter Leukozyten reduziert.¹³⁵ C5aR steht überdies im Verdacht, wesentlich an der Schädigung von Gewebe nach einer myokardialen Ischämie beteiligt zu sein.¹³⁶

SNPs des C5-Gens könnten die Konzentration von C5a und C5aR im menschlichen Blut verändern und dadurch das Ausmaß der durch sie hervorgerufenen Entzündungsreaktion, sowie deren etwaige weitreichende Konsequenzen, beeinflussen. In dieser Studie konnten wir für homozygote Träger des selteneren Allels von rs10985126 erhöhte Plasmaspiegel des zirkulierenden C5a nachweisen. Im Gegensatz dazu ließ sich hinsichtlich des thrombozytären Expressionsmusters von C5aR keine Assoziation mit rs10985126 feststellen.⁹⁹ Auch für rs17611 konnten wir in dieser Studie, ähnlich wie bereits durch andere Autoren beschrieben⁹¹, signifikante Unterschiede hinsichtlich der Konzentration von C5a im Plasma feststellen. HT des häufigeren Allels von rs17611 wiesen dabei die höchste Konzentration an C5a im Plasma und HT des selteneren Allels die geringste Konzentration von C5a auf. Der Spiegel bei den Heterozygoten lag dazwischen. Für die anderen untersuchten SNPs ließ sich kein Zusammenhang des Plasmaspiegels von C5a mit dem Genotyp finden. Für C5aR wurden in dieser Studie keine signifikanten relevanten Beobachtungen gemacht, lediglich ein Trend zu einer erhöhten Expression bei Heterozygoten für rs17611.

Die Idee, inflammatorische Biomarker für die Risiko-Prädiktion bei kardiovaskulären Erkrankungen heranzuziehen, erwies sich bereits in diversen Patientenkollektiven als valide.¹³⁷ Ein Beispiel dafür ist der CD40-Ligand. Dabei handelt es sich um ein Membranprotein von T-Helferzellen, das zudem aber auch durch aktivierte Thrombozyten exprimiert wird und Endothelzellen, die ihrerseits CD40 exprimieren, zur Sekretion von Chemokinen und zur Expression von Adhäsionsmolekülen für die Rekrutierung von Leukozyten veranlasst.¹³⁸ Eine erhöhte Konzentration des löslichen CD40-Liganden kann bei Patienten mit ACS auf ein erhöhtes Risiko für erneute kardiovaskuläre Ereignisse hindeuten.

Außerdem zeigte sich, dass diese Patientengruppe besonders von einer Therapie mit dem Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Abciximab profitieren könnte.¹³⁹

Auch Bestandteile des Komplementsystems wurden bereits im Hinblick auf ihre prognostische Bedeutung für Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen untersucht. Bei Patienten mit ACS, erwies sich ein erhöhtes C3/C4-Verhältnis im Serum als ein von klassischen CVRF unabhängiger Risikofaktor für ein erneutes ischämisches kardiovaskuläres Ereignis im Beobachtungszeitraum.¹⁴⁰

Wir konnten in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation von rs10985126 mit der Mortalität von Patienten mit koronarer Herzerkrankung nachweisen. Homozygote Träger des selteneren Allels wiesen eine erhöhte Mortalität im Beobachtungszeitraum von 3 Jahren nach Aufnahme in die Studie auf. Wir konnten allerdings keinen Einfluss auf das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, feststellen.⁹⁹

Ein weiterer SNP des C5-Gens rs2269067, der teilweise mit rs10985126 korreliert ($r^2 \geq 0.86$), ist mit proliferativer diabetischer Retinopathie assoziiert, sowie mit einer gesteigerten Expression von C5a und mit der Produktion von IL-6.¹⁴¹ Die Inhibition von IL-6 reduzierte die Expression von C5aR bei Patienten mit NSTEMI, was mit einer abgeschwächten Freisetzung von Troponin T bei diesen Patienten einherging.¹⁴²

Für rs17611 wurde in vorherigen Studien bereits ein Zusammenhang mit dem Auftreten von ischämischen Schlaganfällen in der chinesischen Bevölkerung nachgewiesen.¹⁴³ In der vorliegenden Kohorte erlitten nur wenige Patienten einen ischämischen Schlaganfall im Beobachtungszeitraum, wobei rs17611 in unserer Kohorte jedoch nicht signifikant mit dem KE assoziiert ist, welcher auch ischämische Schlaganfälle einschließt.⁹⁹

Hoke et al. konnten in einer vorherigen Studie bereits eine erhöhte C5a-Konzentration im Plasma bei homozygoten Trägern des häufigeren Allels von rs17611 nachweisen, was in unserer Studie bestätigt werden konnte. C5 rs17611

war in dieser Studie signifikant mit dem Auftreten einer ersten schweren kardialen Komplikation bei Patienten mit asymptomatischer Atherosklerose der Karotiden assoziiert.⁹¹ In unserer Kohorte hingegen konnte für rs17611 kein signifikanter Zusammenhang mit dem Eintreten eines ischämischen Endpunktes nachgewiesen werden.⁹⁹ Hoke et al. untersuchten Patienten mit nachgewiesener Atherosklerose, die bei Studieneinschluss jedoch noch asymptomatisch waren, in Hinblick auf das erstmalige Auftreten eines kardiovaskulären Ereignisses.⁹¹ Währenddessen litten die Patienten in unserer Kohorte bereits bei Studieneinschluss unter einer symptomatischen koronaren Herzerkrankung. Eventuell könnte der Einfluss von C5a auf das weitere Fortschreiten der Erkrankung abhängig von der bereits vorliegenden Schwere der Erkrankung zum Messzeitpunkt sein.

Dennoch konnten in unserer Kohorte erhöhte Plasmaspiegel von C5a bei homozygoten Trägern desjenigen Allels von rs10985126 gefunden werden, welches mit einer schlechteren Prognose assoziiert war. Homozygote Träger des selteneren Allels von rs10985126, die ein signifikant schlechteres Überleben aufwiesen, waren mit erhöhten Plasmaspiegeln von C5a assoziiert.⁹⁹ Auch bei Hoke et al. war der Plasmaspiegel von C5a bei jener Patientengruppe signifikant erhöht, deren Genotyp von rs17611 mit einer schlechteren Prognose assoziiert war.⁹¹ Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass SNPs des C5-Gens mit der Konzentration von C5a im Plasma bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung assoziiert sein und außerdem deren Prognose beeinflussen könnten.

Für die anderen SNPs, die in dieser Studie untersucht wurden, konnten keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Überleben hinsichtlich der definierten Endpunkte festgestellt werden. Lediglich für rs17216529 konnten in der univariablen Analyse für die Endpunkte KE, MI und Blutung signifikant schlechtere Langezeitdaten erahnt werden. Aufgrund der Fallzahl von lediglich 2 HT des selteneren Allels sind diese Ergebnisse jedoch nur bedingt verwendbar, um klinische Konsequenzen daraus ziehen zu können.⁹⁹

Einige SNPs, unter anderem C5 rs10985126, wurden bereits zur Etablierung eines genetischen Modells zur Risikostratifizierung für die rheumatoide Arthritis herangezogen.¹⁴⁴ Da es sich bei der rheumatoiden Arthritis um einen potentiellen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen handelt,¹⁴⁵ wäre ein Zusammenhang von SNPs des C5-Gens und der rheumatoiden Arthritis ein interessanter Ansatz, um Parallelen zwischen verschiedenen inflammatorischen Erkrankungen ziehen zu können und so die zugrunde liegenden Pathomechanismen besser verstehen zu können. Generell könnten künftig verstärkt Parallelen zwischen einzelnen Erkrankungen, an deren Pathogenese C5 beteiligt ist, hergestellt werden. So könnten neue Ergebnisse eventuell auch auf andere Erkrankungen übertragen werden und somit den Erkenntnisgewinn in mehreren Bereichen der modernen Medizin exponentiell erhöhen.

Während andere SNPs bereits mit der Prognose von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen in Zusammenhang gebracht wurden¹⁴⁶, könnte auch rs10985126 des C5-Gens als möglicher prognostischer Marker bei diesen Patienten in Erwägung gezogen werden. Multi-locus genetic risk scores (GRS) bestehen aus verschiedenen genetischen Varianten, die mit kardiovaskulären Erkrankungen in Zusammenhang stehen könnten. Dieser Ansatz könnte dazu dienen, Personen zu identifizieren, speziell solche mit intermediärem Risikoprofil, die aufgrund ihrer genetischen Ausstattung ein erhöhtes Risiko haben, an KHK zu erkranken, unabhängig von klassischen CVRF.^{147,148}

Zusammenfassend bietet die vorliegende Studie erste Hinweise auf die prognostische Relevanz von C5 rs10985126 bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung. C5 rs10985126 könnte daher zur Risikostratifizierung und der daraus resultierenden maßgeschneiderten Therapien der jeweiligen Patienten herangezogen werden.⁹⁹

Klinische Studien bezüglich der Inhibition von C5a als therapeutisches Ziel bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt erzielten bisher widersprüchliche Ergebnisse.¹⁴⁹ In der COMMA-Studie konnte die Behandlung mit dem Anti-C5 - Antikörper Pexelizumab¹⁵⁰ zusätzlich zur PCI zu einer signifikanten Reduktion

der Mortalität bei Patienten mit STEMI führen, wobei die Größe des Infarktareals jedoch unbeeinflusst bleibt.¹⁵¹ Der Inhibitor von C5a Eculizumab wurde bereits in die Therapie der PNH etabliert.¹⁵² Jedoch sind derartige Biologicals für die Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen sehr kostspielig, weisen lediglich eine geringe Bioverfügbarkeit und metabolische Instabilität auf und erfordern wiederholte Injektionen. Die Entwicklung effektiver klein-molekularer Antagonisten von C5aR stellt dafür eine attraktive Alternative dar, mit denen in Tierversuchen bereits vielversprechende Ergebnisse im Hinblick auf die Entwicklung von neuen Therapien der KHK erzielt werden konnten.¹⁵³ So werden aktuell die C5aR-Antagonisten PMX53 und PMX205 am Mausmodell erprobt.¹⁵⁴

Auf lange Sicht könnte ein multimodaler Ansatz erstrebenswert sein, bei dem das individuelle kardiovaskuläre Risikoprofil eines Patienten unter Berücksichtigung klassischer CVRF, aber auch genetischer Faktoren und inflammatorischer Biomarker bestimmt werden könnte, um dessen Therapie dadurch optimal anpassen zu können. Sowohl der Plasmaspiegel von C5a als auch der hier näher beleuchtete SNP des C5-Gens rs10985126 könnten perspektivisch Einzug in derartige Systeme zur Risikostratifizierung für Menschen mit KHK gewinnen, um diesen eine maßgeschneiderte Therapie zukommen lassen zu können und damit letztlich die Prognose nachhaltig verbessern zu können.⁹⁹

5. Limitationen

Diese Studie hat gewisse Limitationen. Einerseits handelt es sich lediglich um eine Beobachtungsstudie, die aufgrund der fehlenden Randomisierung anfälliger für Verzerrung ist. Da es sich jedoch um eine Kohortenstudie mit prospektivem Design handelt, ist diese dennoch besser für das Auffinden von Risikofaktoren für häufige Erkrankungen geeignet als eine retrospektive Fall-Kontroll-Studie. Aufgrund der moderaten Größe der Gesamtkohorte und des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts gab es für SNPs mit einer geringen MAF teilweise nur wenige HT des selteneren Allels. Daher sind die Ergebnisse für diesen Genotyp wenig repräsentativ. Außerdem wiesen die einzelnen Gruppen, die verglichen wurden, erhebliche Unterschiede in der Stichprobengröße auf. Dies wurde jedoch durch die Anwendung geeigneter statistischer Tests adressiert.

Die Patienten in unserer Kohorte litten allesamt zum Zeitpunkt ihrer Aufnahme in die Studie bereits unter einer symptomatischen koronaren Herzerkrankung. Es gab keine gesunde Kontrollgruppe. Die Information, ob es hinsichtlich der prognostischen Bedeutung von C5 SNPs Unterschiede zwischen bereits symptomatisch erkrankten Patienten und gesunden, bzw. asymptomatischen Probanden gibt, wäre hilfreich für eine etwaige Implementierung genetischer Marker in der Risikostratifizierung. Praktisch könnte man also herausfinden, bei welchen Patienten, bzw. bei welchem Risikoprofil hinsichtlich klassischer Faktoren, das Heranziehen genetischer Marker, die beste Aussagekraft besitzt. Außerdem könnte der Vergleich zwischen symptomatischen Patienten mit gesunden Probanden Erkenntnisse hinsichtlich der Rolle von Anaphylatoxinen und deren Rezeptoren im Rahmen thrombotischer und atherosklerotischer Ereignisse der Herzkranzgefäße liefern und etwaige Regulationsmechanismen im Verlauf der Erkrankung aufdecken.

Da nicht für jeden Patienten der Kohorte der C5a-Spiegel und das C5aR-Expressionsmuster bestimmt werden konnten, sind die diesbezüglich gewonnenen Erkenntnisse nicht restlos auf die Gesamtkohorte und deren

Prognose zu übertragen. Dementsprechend besitzen die akquirierten Daten diesbezüglich eine geringere Aussagekraft.

Außerdem wurden C5a und C5aR nur einmalig bei Aufnahme in die Studie bestimmt. Verlaufparameter wurden nicht erhoben. Dementsprechend können keine fundierten Aussagen über dynamische Veränderungen der Biomarker im Verlauf, in Abhängigkeit vom Ausgangswert und eventuell sogar von der genetischen Ausstattung eines Patienten, und deren Einfluss auf seine weitere klinische Präsentation getroffen werden.

6. Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die häufigste Todesursache in Deutschland. Atherosklerose wird durch die Entzündung in der Gefäßwand vorangetrieben. Auch das Komplementsystem mit dem potenten Anaphylatoxin C5a scheint dabei eine Rolle zu spielen. Thrombozyten besitzen Rezeptoren für C5a und stellen damit eine potenzielle Schnittstelle zwischen Blutgerinnung und Immunsystem dar. Neben klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren sind auch genetische Faktoren in den Fokus moderner Forschung gerückt. SNPs, die das kardiovaskuläre Risiko beeinflussen können, wurden bereits erforscht. SNPs des C5-Genes könnten die Konzentration von C5a im Plasma, und eventuell sogar die Expression des C5a-Rezeptors durch Thrombozyten, beeinflussen und damit dessen Funktion im Rahmen einer Entzündungsreaktion modifizieren.

Die vorliegende Dissertation soll untersuchen, ob der Genotyp ausgewählter SNPs des C5-Gens mit der Prognose von Patienten mit koronarer Herzerkrankung assoziiert ist. Außerdem sollte untersucht werden, ob der Genotyp der SNPs die Konzentration des im Plasma zirkulierenden C5a, sowie die Expression des C5a-Rezeptors durch Thrombozyten beeinflusst

Dazu wurden 833 konsekutive Patienten mit symptomatischer KHK, also entweder ACS oder CCS, bei deren Aufnahme in die kardiologische Universitätsklinik eingeschlossen. Im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung wurde diesen Patienten einmalig Blut abgenommen. Die Genotypisierung hinsichtlich klinisch relevanter SNPs des C5-Gens (rs25681, rs17611, rs17216529, rs12237774, rs41258306 und rs10985126) erfolgte mithilfe von MALDI-TOF MS. Außerdem wurde im Blut der Patienten die Konzentration von C5a mittels ELISA und die thrombozytäre Expression von C5aR mittels FACS bestimmt. Klinische und epidemiologische Parameter, wie z.B. deren CVRF oder Medikation, wurden ebenfalls erfasst. Anschließend erfolgte ein Follow-up über 3 Jahre, in dem die Patienten hinsichtlich des Auftretens verschiedener klinischer Ereignisse verfolgt wurden. Als primärer Endpunkt diente dabei ein kombinierter ischämischer Endpunkt, der sich aus Mortalität, MI und ischämischem

Schlaganfall zusammensetzte. Sekundäre Endpunkte waren Mortalität, MI und Blutung. Für jeden SNP wurden die Genotypen hinsichtlich des Überlebens für die einzelnen Endpunkte verglichen. Sofern die univariable Analyse signifikante Ergebnisse erzielen konnte, wurde eine multivariable Cox-Regression ergänzt, bei der, neben dem jeweiligen SNP, epidemiologische Faktoren als Kovariaten verwendet wurden. Dadurch sollte überprüft werden, ob der SNP einen unabhängigen Risikofaktor für das Erreichen des Endpunktes darstellt.

Der SNP rs10985126 stellte sich in der Cox-Regression als signifikanter und unabhängiger Risikofaktor für die Mortalität von Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung heraus ($p=0,003$; adjustierter p -Wert= $0,015$). Für andere SNPs konnten keine signifikanten Ergebnisse erzielt werden. Anschließend wurde für jeden SNP überprüft, ob sich die Konzentration des zirkulierenden C5a und die thrombozytären Expression von C5aR zwischen den einzelnen Genotypen unterscheiden. Für rs10985126 konnten hinsichtlich der Konzentration von C5a signifikante Unterschiede gefunden werden ($p=0,016$). Auch bei rs17611 gab es hier Unterschiede ($p<0,001$).

Der C5 SNP rs10985126 könnte künftig als unabhängiger Parameter für die Risikostratifizierung bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung herangezogen werden und somit bei der Erstellung eines maßgeschneiderten Therapiekonzeptes mitwirken. Durch den Vergleich mit gesunden Probanden könnte noch genauer untersucht werden, bei welchen Personen die Aussagekraft dieses Parameters am besten ist. Außerdem sollte die Bedeutung von C5a und C5aR im Kontext der koronaren Herzerkrankung genauer beleuchtet werden. Dazu wäre es interessant, Verlaufparameter dieser Werte zu erstellen. Einerseits könnte die Konzentration von C5a, bzw. C5aR so ebenfalls als prognostischer Biomarker etabliert werden. Andererseits könnte die medikamentöse Blockade von C5a, bzw. C5aR künftig eventuell gezielter eingesetzt werden. Die Rolle von C5a auf molekularer Ebene, die in diesem Kontext noch nicht hinreichend geklärt ist, könnte außerdem genauer erforscht werden. Außerdem könnten auf lange Sicht Parallelen zu anderen Erkrankungen, in deren Pathogenese das Komplementsystem involviert ist, gezogen werden.

7. Literaturverzeichnis

¹ Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C, Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ. ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC), *European Heart Journal*. 2019. 41(3):407–477.

² Fox K, Garcia MAA, Ardissino D, Buszman P, Camici PG, Crea F, Daly C, De Backer G, Hjemdahl P, Lopez-Sendon J, Marco J, Morais J, Pepper J, Sechtem U, Simoons M, Thygesen K, Priori SG, Blanc JJ, Budaj A, Camm J, Dean V, Deckers J, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Morais J, Osterspey A, Tamargo J, Zamorano JL, Zamorano JL, Andreotti F, Becher H, Dietz R, Fraser A, Gray H, Hernandez Antolin RA, Huber K, Kremastinos DT, Maseri A, Nesser HJ, Pasierski T, Sigwart U, Tubaro M, Weis M. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*. 2006. 27(11):1341–1381.

³ Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, Dendale P, Dorobantu M, Edvardsen T, Folliguet T, Gale CP, Gilard M, Jobs A, Jüni P, Lambrinou E, Lewis BS, Mehilli J, Meliga E, Merkely B, Mueller C, Roffi M, Rutten FH, Sibbing D, Siontis GCM. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2020.

⁴ Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD. Fourth universal definition of myocardial infarction. *European Heart Journal*. 2018. 40(3):237–269.

⁵ Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz-und Kreislaufforschung e.V. (2019) ESC Pocket Guidelines. 4. Definition des Myokardinfarkt. Version 2018. Börm Bruckmeier Verlag GmbH, Grünwald. Kurzfassung des Joint ESC/ACC/AHA/WHF Expert Consensus Document on the 2018 Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. *European Heart Journal* 2018.

⁶ Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz-und Kreislaufforschung e.V. (2018) ESC Pocket Guidelines. Therapie des akuten Herzinfarktes bei Patienten mit ST-Streckenhebung (STEMI), Version 2017. Börm Bruckmeier Verlag GmbH, Grünwald Kurzfassung der "ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation" *European Heart Journal*.

⁷ Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz-und Kreislaufforschung e.V. (2016) ESC Pocket Guidelines. Akutes Koronarsyndrom ohne ST-Hebung (NSTEMI-ACS), Version 2015. Börm Bruckmeier Verlag GmbH, Grünwald Kurzfassung der "ESC Guidelines for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-segment Elevation". *European Heart Journal*, 2015.

⁸ Statistisches Bundesamt: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=previous&levelindex=1&step=1&titel=Ergebnis&levelid=1645976265832&acceptscookies=false#abreadcrumb> (Zugriff: 27.02.2022)

⁹ Robert Koch Institut (Hrsg) (2014) Koronare Herzkrankheit. Faktenblatt zu GEDA 2012: Ergebnisse der Studie »Gesundheit in Deutschland aktuell 2012«. RKI, Berlin.

- ¹⁰ Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *The lancet*. 2014. 383(9921), 999-1008.
- ¹¹ Kannel WB, McGee D, Gordon T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. *The American journal of cardiology*. 1976. 38(1):46-51.
- ¹² Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998. 97(18):1837-1847.
- ¹³ Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983. 67(5):968-977.
- ¹⁴ Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. *The American journal of medicine*. 1984. 76(2):4-12.
- ¹⁵ Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*. 1999. 99(9),1165-1172.
- ¹⁶ Kannel WB, Feinleib M, McNamara PM, Garrison RJ, Castelli WP. An investigation of coronary heart disease in families: the Framingham Offspring Study. *American journal of epidemiology*. 1979. 110(3), 281-290.
- ¹⁷ Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *New England Journal of Medicine*. 1991. 324(17), 1149-1155.
- ¹⁸ Hanke H, Lenz C, Finking G. The discovery of the pathophysiological aspects of atherosclerosis--a review. *Acta Chirurgica Belgica*. 2001. 101(4):162-169.
- ¹⁹ Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002. 105(9), 1135-1143.
- ²⁰ Corti R, Fuster V, Badimon JJ. Pathogenetic concepts of acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003. 41(4S)S7-S14.
- ²¹ Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis. *The American journal of pathology*. 1977. 86(3):675.
- ²² Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield J. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *The lancet*. 1992. 340(8828):1111-1115.
- ²³ Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999. 340(2):115-126.
- ²⁴ Morel DW, DiCorleto PE, Chisolm GM. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis*. 1984. 4(4):357-364.

- ²⁵ Khan BV, Parthasarathy SS, Alexander RW, Medford RM. Modified low density lipoprotein and its constituents augment cytokine-activated vascular cell adhesion molecule-1 gene expression in human vascular endothelial cells. *The Journal of clinical investigation*. 1995. 95(3):1262-1270.
- ²⁶ Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJH, Pigott R, Woolf N, Katz D, Kyriakopoulos A. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol*. 1993. 171:223-229.
- ²⁷ Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987. 84(9):2995-2998.
- ²⁸ Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995. 92(18):8264-8268.
- ²⁹ Frostegård J, Ulfgren AK, Nyberg P, Hedin U, Swedenborg J, Andersson U, Hansson GK. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis*. 1999. 145(1):33-43.
- ³⁰ Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, Ueda O, Sakaguchi H, Higashi T, Suzuki T, Takashima Y, Kawabe Y, Cynshi O, Wada Y, Honda M, Kurihara H, Aburatani H, Doi T, Matsumoto A, Azuma S, Noda T, Toyoda Y, Itakura H, Yazaki Y, Kodama T. A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature*. 1997. 386(6622):292-296.
- ³¹ Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull Jr W, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1994. 89(5):2462-2478.
- ³² Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell. *Science*. 1973. 180(4093):1332-1339.
- ³³ Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull Jr W, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995. 92(5):1355-1374.
- ³⁴ Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *New England journal of medicine*. 1992. 326(5):310-318.
- ³⁵ Gertz SD, Roberts WC. Hemodynamic shear force in rupture of coronary arterial atherosclerotic plaques. *American Journal of Cardiology*. 1990. 66(19):1368-1372.
- ³⁶ Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *The Journal of clinical investigation*. 1994. 94(6):2493-2503.
- ³⁷ Li ZY, Howarth SP, Tang T, Gillard JH. How critical is fibrous cap thickness to carotid plaque stability? A flow-plaque interaction model. *Stroke*. 2006. 37(5):1195-1199.

- ³⁸ Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001. 104(3):365-372.
- ³⁹ Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Heart*. 1993. 69(5):377-381.
- ⁴⁰ Richardson PD, Davies MJ, Born GV. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *The Lancet*. 1989. 334(8669):941-944.
- ⁴¹ Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, Borrico S, Gorlin R, Fuster V. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1988. 12(1):56-62.
- ⁴² Jurk K, Kehrel BE. Platelets: physiology and biochemistry. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2005. 31(4): 381-392.
- ⁴³ Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. *Thrombosis and haemostasis*. 2009. 102(08)248-257.
- ⁴⁴ Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annual review of biochemistry*. 1998. 67(1):395-424.
- ⁴⁵ Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *The Journal of clinical investigation*. 2005. 115(12):3378-3384.
- ⁴⁶ Kehrel B, Wierwille S, Clemetson KJ, Anders O, Steiner M, Knight CG, Farndale RW, Okuma M, Barnes MJ. Glycoprotein VI is a major collagen receptor for platelet activation: it recognizes the platelet-activating quaternary structure of collagen, whereas CD36, glycoprotein IIb/IIIa, and von Willebrand factor do not. *Blood*. 1998. 91(2):491-499.
- ⁴⁷ Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 2001. 12(5):261-273.
- ⁴⁸ Sim RB, Schwaeble W, Fujita T. Complement research in the 18th–21st centuries: Progress comes with new technology. *Immunobiology*. 2016. 221(10):1037-1045.
- ⁴⁹ Buchner H. Neuere Fortschritte in der Immunitätsfrage. *Munchener medizinische Wochenschrift* 41. 1894. 497-500.
- ⁵⁰ https://webext.pasteur.fr/archives/e_bdj0.html (Zugriff: 22.03.2020)
- ⁵¹ Ehrlich P, Morgenroth J. Zur Theorie der Lysinwirkung. *Berliner Klinische Wochenschrift* 1. 1899. 6-9.
- ⁵² Nesargikar PN, Spiller B, Chavez R. The complement system: history, pathways, cascade and inhibitors. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2012. 2(2):103-111.
- ⁵³ Pillemer L, Blum L, Lepow IH, Ross OA, Todd EW, Wardlaw AC. The Properdin System and Immunity: I. Demonstration and Isolation of a New Serum Protein, Properdin, and Its Role in Immune Phenomena. *Science*. 1954. 120(3112):279-85.

- ⁵⁴ Nelson Jr RA, Jensen J, Gigli I, Tamura N. Methods for the separation, purification and measurement of nine components of hemolytic complement in guinea-pig serum. *Immunochemistry*. 1966. 3(2):111-135.
- ⁵⁵ Alper CA, Rosen FS. Genetics of the complement system. *Advances in human genetics*. 1976. 141-188.
- ⁵⁶ Sarma JV, Ward PA. The complement system. *Cell and tissue research*. 2011. 343(1):227-235.
- ⁵⁷ Lepow IH, Naff GB, Todd EW, Pensky J, Hinz Jr CF. Chromatographic resolution of the first component of human complement into three activities. *The Journal of experimental medicine*. 1963. 117(6):983-1008.
- ⁵⁸ Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part I—molecular mechanisms of activation and regulation. *Frontiers in immunology*. 2015. 6:262.
- ⁵⁹ Rawal N, Pangburn MK. Formation of high affinity C5 convertase of the classical pathway of complement. *J Biol Chem*. 2003. 278(40):38476–38483.
- ⁶⁰ Wallis R. Interactions between mannose-binding lectin and MASPs during complement activation by the lectin pathway. *Immunobiology*. 2007. 212(4-5):289-299.
- ⁶¹ Endo Y, Matsushita M, Fujita T. The role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011. 43(5):705-712.
- ⁶² Hourcade DE. The role of properdin in the assembly of the alternative pathway C3 convertases of complement. *J Biol Chem*. 2006. 281(4):2128–2132.
- ⁶³ Muller-Eberhard HJ. The membrane attack complex of complement. *Annual review of immunology* 4.1. 1986. 503-528.
- ⁶⁴ Klos A, Tenner AJ, Johswich KO, Ager RR, Reis ES, Köhl J. The role of the anaphylatoxins in health and disease. *Molecular immunology*. 2009. 46(14):2753-2766.
- ⁶⁵ Gerard N, Gerard C. The chemotactic receptor for human C5a anaphylatoxin. *Nature*. 1991. 349:614–617.
- ⁶⁶ Chenoweth DE, Goodman MG. The C5a receptor of neutrophils and macrophages. *Agents and actions. Supplements*. 1983. 12:252-273.
- ⁶⁷ Gerard NP, Hodges MK, Drazen JM, Weller PF, Gerard C. Characterization of a receptor for C5a anaphylatoxin on human eosinophils. *J Biol Chem*. 1989. 264(3):1760–1766.
- ⁶⁸ Füreder W, Agis H, Willheim M, Bankl HC, Maier U, Kishi K, Müller MR, Czerwenka K, Radaszkiewicz T, Butterfield JH, Klappacher GW, Sperr WR, Oppermann M, Lechner K, Valent P. Differential expression of complement receptors on human basophils and mast cells. Evidence for mast cell heterogeneity and CD88/C5aR expression on skin mast cells. *The Journal of Immunology*. 1995. 155(6):3152-3160.
- ⁶⁹ Morelli A, Larregina A, Chuluyan E, Kolkowski E, Fainboim L. Expression and modulation of C5a receptor (CD88) on skin dendritic cells. Chemotactic effect of C5a on skin migratory dendritic cells. *Immunology*. 1996. 89(1):126-134.

- ⁷⁰ Laudes IJ, Chu JC, Huber-Lang M, Guo RF, Riedemann NC, Sarma JV, Mahdi F, Murphy HS, Speyer C, Lu KT, Lambris JD, Zetoune FS, Ward PA. Expression and function of C5a receptor in mouse microvascular endothelial cells. *J Immunol*. 2002. 169(10):5962–5970.
- ⁷¹ O’Barr SA, Caguioa J, Gruol D, Perkins G, Ember JA, Hugli T, Cooper NR. Neuronal expression of a functional receptor for the C5a complement activation fragment. *The Journal of Immunology*. 2001. 166(6):4154-4162.
- ⁷² Fayyazi A, Scheel O, Werfel T, Schweyer S, Oppermann M, Götze O, Radzun HJ, Zwirner J. The C5a receptor is expressed in normal renal proximal tubular but not in normal pulmonary or hepatic epithelial cells. *Immunology*. 2000. 99:38-45.
- ⁷³ Niederbichler AD, Hoesel LM, Westfall MV, Gao H, Ipaktchi KR, Sun L, Zetoune FS, Su GL, Arbabi S, Sarma JV, Wang SC. An essential role for complement C5a in the pathogenesis of septic cardiac dysfunction. *The Journal of experimental medicine*. 2006. 203(1):53-61.
- ⁷⁴ Levy LR, Lepow IH. Assay and Properties of Serum Inhibitor of C’1-Esterase. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1959. 101(4):608–611.
- ⁷⁵ Davis III AE, Mejia P, Lu F. Biological activities of C1 inhibitor. *Molecular immunology*. 2008. 45(16):4057-4063.
- ⁷⁶ Fujita T, Kamato T, Tamura N. Characterization of functional properties of C4-binding protein by monoclonal antibodies. *The Journal of Immunology*. 1985. 134(5):3320-3324.
- ⁷⁷ Meri S, Morgan BP, Davies A, Daniels RH, Olavesen MG, Waldmann H, Lachmann PJ. Human protectin (CD59), an 18,000-20,000 MW complement lysis restricting factor, inhibits C5b-8 catalysed insertion of C9 into lipid bilayers. *Immunology*. 1990. 71(1):1.
- ⁷⁸ Lambris JD, Ricklin D, Geisbrecht BV. Complement evasion by human pathogens. *Nature Reviews Microbiology*. 2008. 6(2):132-142.
- ⁷⁹ Petersen BH, Lee TJ, Snyderman R, Brooks GF. *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae* bacteremia associated with C6, C7, or C8 deficiency. *Annals of internal medicine*. 1979. 90(6):917–920.
- ⁸⁰ Cugno M, Zanichelli A, Foini F, Caccia S, Cicardi M. C1-inhibitor deficiency and angioedema: molecular mechanisms and clinical progress. *Trends in molecular medicine*. 2009. 15(2):69-78.
- ⁸¹ Walport MJ, Davies KA, Botto M. C1q and systemic lupus erythematosus. *Immunobiology*. 1998. 199(2):265-285.
- ⁸² Parker CJ. Molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Stem Cells*. 1996. 14(4):396-411.
- ⁸³ Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Nouredine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science*. 2005. 308(5720):419-421.
- ⁸⁴ Schaaf C, Johannes Z. *Basiswissen Humangenetik*. Springer-Verlag, 2018.

- ⁸⁵ <https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/human-genetic-variation-introduction/what-is-genetic-variation/what-are-variants-alleles-and-haplotypes/> (Zugriff: 16. April 2021)
- ⁸⁶ McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, Cox DR, Hinds DA, Pennacchio LA, Tybjaerg-Hansen A, Folsom AR, Boerwinkle E, Hobbs HH, Cohen JC. A Common Allele on Chromosome 9 Associated with Coronary Heart Disease. *Science*. 2007. 316(5830): 1488–1491.
- ⁸⁷ Almontashiri NAM. The 9p21.3 risk locus for coronary artery disease: A 10-year search for its mechanism. *J Taibah Univ Med Sci*. 2017. 12(3):199-204.
- ⁸⁸ Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *New England Journal of Medicine*. 1996. 334(17):1090-1094.
- ⁸⁹ Ganna A, Magnusson PK, Pedersen NL, de Faire U, Reilly M, Arnlöv J, Sundström J, Hamsten A, Ingelsson E. Multilocus genetic risk scores for coronary heart disease prediction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013. 33(9):2267-2272.
- ⁹⁰ Wetsel RA, Lemons RS, Le Beau MM, Barnum SR, Noack D, Tack BF. Molecular analysis of human complement component C5: localization of the structural gene to chromosome 9. *Biochemistry*. 1988. 27:1474-1482.
- ⁹¹ Hoke M, Speidl W, Schillinger M, Minar E, Zehetmayer S, Schönherr M, Wagner O, Mannhalter C. Polymorphism of the complement 5 gene and cardiovascular outcome in patients with atherosclerosis. *European journal of clinical investigation*. 2012. 42(9):921-926.
- ⁹² Guo L, Zheng L, Guo X, Chang Y, Zhou X, Sun Y. Single-Nucleotide Polymorphism rs17611 of complement component 5 shows association with ischemic stroke in Northeast Chinese population. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2016. 766-770.
- ⁹³ Yang MM, Wang J, Ren H, Sun YD, Fan JJ, Teng Y, Li YB. Genetic Investigation of Complement Pathway Genes in Type 2 Diabetic Retinopathy: an Inflammatory Perspective. *Mediators Inflamm*. 2016. 2016:1313027.
- ⁹⁴ Jeong JC, Hwang YH, Kim H, Ro H, Park HC, Kim YJ, Kim MG, Ha J, Park MH, Chae DW, Ahn C, Yang J. Association of complement 5 genetic polymorphism with renal allograft outcomes in Korea. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 2011. 26(10):3378-3385
- ⁹⁵ Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kamada F, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Tamura G, Matsubara Y, Shirakawa T, Suzuki Y. Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma. *Hum Genet*. 2004. 115(4):295-301.
- ⁹⁶ Chen Y, Zhao C, Li B, Sun X, Yang Z, Zhang K. Evaluation on the Association of the Variants in Complement Component 5 Gene and Age Related Macular Degeneration. *Invest. Ophthalmol Vis Sci*. 2009. 50(13):3440.
- ⁹⁷ Michaud DS, Siddiq A, Cox DG, Backes DM, Calboli FC, Sughrue ME, Gaziano JM, Ma J, Stampfer M, Tworoger SS, Hunter DJ, Camargo CA Jr, Parsa AT. Mannose-binding lectin 2 gene and risk of adult glioma. *PLoS One*. 2013;8(4):e61117.

- ⁹⁸ Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*. 2005. 352(16):1685-1695.
- ⁹⁹ Henes JK, Grogga-Bada P, Schaeffeler E, Winter S, Hack L, Zdanyte M, Mueller K, Droppa M, Stimpfle F, Gawaz M, Langer H, Schwab M, Geisler T, Rath D. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmgenomics Pers Med*. 2021. 14:893-903.
- ¹⁰⁰ Rath D, Schaeffeler E, Winter S, Hewer J, Müller K, Droppa M, Stimpfle F, Gawaz M, Schwab M, Geisler T. SDF1 Polymorphisms Influence Outcome in Patients with Symptomatic Cardiovascular Disease. *PLoS One*. 2016. 11(9):e0161933.
- ¹⁰¹ World Medical Association Declaration of Helsinki. Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. *Cardiovasc Res*. 1997. 35(1):2-3.
- ¹⁰² ICH Harmonised Tripartite Guideline: guideline for good clinical practice. *J Postgrad Med*. 2001. 47(2):121-30.
- ¹⁰³ Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council of 4 April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the member states relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use. *Med Etika Bioet*. 2002. 9(1-2):12-9.
- ¹⁰⁴ Burggraf GW, Parker JO. Prognosis in coronary artery disease. Angiographic, hemodynamic, and clinical factors. *Circulation*. 1975. 51(1):146-156.
- ¹⁰⁵ Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominiczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I. ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH), *European Heart Journal*, Volume. 2018. 39(33):3021–3104.
- ¹⁰⁶ Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith SC Jr, Stone NJ; National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004. 110(2):227-239.
- ¹⁰⁷ American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2010. Suppl 1: 62-9.
- ¹⁰⁸ Rath D, Schaeffeler E, Winter S, Levertov S, Müller K, Droppa M, Stimpfle F, Langer HF, Gawaz M, Schwab M, Geisler T. GP1a Polymorphisms Are Associated with Outcomes in Patients at High Cardiovascular Risk. *Front Cardiovasc Med*. 2017. 4:52.
- ¹⁰⁹ Justenhoven C, Hamann U, Pesch B, Harth V, Rabstein S, Baisch C, Vollmert C, Illig T, Ko YD, Brüning T, Brauch H. ERCC2 genotypes and a corresponding haplotype are linked with breast cancer risk in a German population. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2004. 13(12):2059-2064.

- ¹¹⁰ Gabriel S, Ziaugra L. SNP Genotyping using Sequenom MassARRAY 7K Platform. *Current Protocols in Human Genetics*. 2004. 42: 2.12.1-2.12.16.
- ¹¹¹ https://www.rndsystems.com/products/human-complement-component-c5a-duo-set-elisa_dy2037#product-details (Zugriff: 06.März 2022)
- ¹¹² Patzelt J, Mueller KA, Breuning S, Karathanos A, Schleicher R, Seizer P, Gawaz M, Langer HF, Geisler T. Expression of anaphylatoxin receptors on platelets in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 2015. 238(2):289-295.
- ¹¹³ Crowther JR. *The ELISA guidebook*. Springer Science & Business Media. 2001.
- ¹¹⁴ Sack U, Tárnok A, Rothe G. *Zelluläre Diagnostik. Grundlagen, Methoden und klinische Anwendungen der Durchflusszytometrie*. Basel, Karger. 2007. 27–70.
- ¹¹⁵ Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ, Culebras A, Elkind MS, George MG, Hamdan AD, Higashida RT, Hoh BL, Janis LS, Kase CS, Kleindorfer DO, Lee JM, Moseley ME, Peterson ED, Turan TN, Valderrama AL, Vinters HV; American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Peripheral Vascular Disease; Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2013. 44(7):2064-2089.
- ¹¹⁶ Mehran R, Rao SV, Bhatt DL, Gibson CM, Caixeta A, Eikelboom J, Kaul S, Wiviott SD, Menon V, Nikolsky E, Serebruany V, Valgimigli M, Vranckx P, Taggart D, Sabik JF, Cutlip DE, Krucoff MW, Ohman EM, Steg PG, White H. Standardized bleeding definitions for cardiovascular clinical trials: a consensus report from the Bleeding Academic Research Consortium. *Circulation*. 2011. 123(23):2736-2747.
- ¹¹⁷ Speidl WS, Exner M, Amighi J, Kastl SP, Zorn G, Maurer G, Wagner O, Huber K, Minar E, Wojta J, Schillinger M. Complement component C5a predicts future cardiovascular events in patients with advanced atherosclerosis. *European Heart Journal*. 2005. 26(21):2294-2299.
- ¹¹⁸ Martínez-López D, Roldan-Montero R, García-Marqués F. Complement C5 Protein as a Marker of Subclinical Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2020. 75(16):1926–1941.
- ¹¹⁹ Speidl WS, Katsaros KM, Kastl SP, Zorn G, Huber K, Maurer G, Wojta J, Christ G. Coronary late lumen loss of drug eluting stents is associated with increased serum levels of the complement components C3a and C5a. *Atherosclerosis*. 2010. 208 (1):285–289.
- ¹²⁰ Oksjoki R, Laine P, Helske S, Vehmaan-Kreula P, Mäyränpää MI, Gasque P, Kovanen PT, Pentikäinen MO. Receptors for the anaphylatoxins C3a and C5a are expressed in human atherosclerotic coronary plaques. *Atherosclerosis*. 2007. 195(1):90-99.
- ¹²¹ Manthey HD, Thomas AC, Shiels IA, Zerneck A, Woodruff TM, Rolfe B, Taylor SM. Complement C5a inhibition reduces atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *FASEB Journal*. 2011. 25(7):2447-2455.

- ¹²² Speidl WS, Kastl SP, Hutter R, Katsaros KM, Kaun C, Bauriedel G, Maurer G, Huber K, Badimon JJ, Wojta J. The complement component C5a is present in human coronary lesions in vivo and induces the expression of MMP-1 and MMP-9 in human macrophages in vitro. *FASEB Journal*. 2011. 25(1):35-44.
- ¹²³ Samstad EO, Niyonzima N, Nymo S, Aune MH, Ryan L, Bakke SS, Lappegård KT, Brekke OL, Lambris JD, Damás JK, Latz E, Mollnes TE, Espevik T. Cholesterol crystals induce complement-dependent inflammasome activation and cytokine release. *Journal of immunology*. 2014. 192(6):2837-2845.
- ¹²⁴ Nymo S, Niyonzima N, Espevik T, Mollnes TE. Cholesterol crystal-induced endothelial cell activation is complement-dependent and mediated by TNF. *Immunobiology*. 2014. 219(10):786-792.
- ¹²⁵ Wezel A, De Vries MR, Lagraauw HM, Foks AC, Kuiper J, Quax PH, Bot I. Complement factor C5a induces atherosclerotic plaque disruptions. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2014. 18(10):2020-2030.
- ¹²⁶ Laine P, Pentikäinen MO, Würzner R, Penttilä A, Paavonen T, Meri S, Kovanen PT. Evidence for complement activation in ruptured coronary plaques in acute myocardial infarction. *American Journal of Cardiology*. 2002. 90(4):404-408.
- ¹²⁷ Grossklaus C, Damerau B, Lemgo E, Vogt W. Induction of platelet aggregation by the complement-derived peptides C3a and C5a. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol*. 1976. 295:71–76.
- ¹²⁸ Meuer S, Ecker U, Hadding U, Bitter-Suermann D. Platelet-serotonin release by C3a and C5a: two independent pathways of activation. *The Journal of Immunology*. 1981. 126(4):1506-1509.
- ¹²⁹ Yamaguchi JI, Kusano KF, Masuo O, Kawamoto A, Silver M, Murasawa S, Bosch-Marce M, Masuda H, Losordo DW, Isner JM, Asahara T. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation*. 2003. 107(9):1322-1328.
- ¹³⁰ Hu X, Dai S, Wu WJ, Tan W, Zhu X, Mu J, Guo Y, Bolli R, Rokosh G. Stromal Cell-Derived Factor-1 α Confers Protection Against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Role of the Cardiac Stromal Cell-Derived Factor-1 α -CXCR4 Axis. *Circulation*. 2007. 116(6):654.
- ¹³¹ Wurster T, Stellos K, Haap M, Seizer P, Geisler T, Otton J, Indermuehle A, Ishida M, Schuster A, Nagel E, Gawaz M. Platelet expression of stromal-cell-derived factor-1 (SDF-1): an indicator for ACS? *International journal of cardiology*. 2013. 164(1):111-115.
- ¹³² Sauter RJ, Sauter M, Reis ES, Emschermann FN, Nording H, Ebenhöch S, Kraft P, Münzer P, Mauler M, Rheinlaender J, Madlung J, Edlich F, Schäffer TE, Meuth SG, Dürschmied D, Geisler T, Borst O, Gawaz M, Kleinschnitz C, Lambris JD, Langer HF. A functional relevance of the anaphylatoxin receptor C3aR for platelet function and arterial thrombus formation marks an intersection point between innate immunity and thrombosis. *Circulation*. 2018. 138(16):1720-1735.
- ¹³³ Hamad OA, Ekdahl KN, Nilsson PH, Andersson J, Magotti P, Lambris JD, Nilsson B. Complement activation triggered by chondroitin sulfate released by thrombin receptor-activated platelets. *J Thromb Haemost*. 2008. 6(8):1413-1421.

- ¹³⁴ Mizuno T, Yoshioka K, Mizuno M, Shimizu M, Nagano F, Okuda T, Tsuboi N, Maruyama S, Nagamatsu T, Imai M. Complement component 5 promotes lethal thrombosis. *Scientific reports*. 2017. 7(1):1-10.
- ¹³⁵ Subramaniam S, Jurk K, Hobohm L, Jäckel S, Saffarzadeh M, Schwierczek K, Wenzel P, Langer F, Reinhardt C, Ruf W. Distinct contributions of complement factors to platelet activation and fibrin formation in venous thrombus development. *Blood*. 2017. 129(16):2291–2302.
- ¹³⁶ Mueller M, Herzog C, Larmann J, Schmitz M, Hilfiker-Kleiner D, Gessner JE, Theilmeier G. The receptor for activated complement factor 5 (C5aR) conveys myocardial ischemic damage by mediating neutrophil transmigration. *Immunobiology*. 2013. 218 (9):1131–1138.
- ¹³⁷ Thomas MR, Lip GY. Novel Risk Markers and Risk Assessments for Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2017. 120:133-149.
- ¹³⁸ Henn V, Slupsky J, Gräfe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, Kroczeck RA. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature*. 1998. 391:591–594.
- ¹³⁹ Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Van Den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2003. 348(12):1104-1111.
- ¹⁴⁰ Palikhe A, Sinisalo J, Seppänen M, Haario H, Meri S, Valtonen V, Nieminen MS, Lokki ML. Serum complement C3/C4 ratio, a novel marker for recurrent cardiovascular events. *Am J Cardiol*. 2007. 99(7):890-895.
- ¹⁴¹ Xu D, Yi H, Yu S, Li X, Qiao Y, Deng W. Association of Complement C5 Gene Polymorphisms with Proliferative Diabetic Retinopathy of Type 2 Diabetes in a Chinese Han Population. *PLoS One*. 2016. 11(3):e0149704.
- ¹⁴² Orrem HL, Nilsson PH, Pischke SE, Kleveland O, Yndestad A, Ekholt K, Damås JK, Espevik T, Bendz B, Halvorsen B, Gregersen I, Wiseth R, Andersen GØ, Ueland T, Gullestad L, Aukrust P, Barratt-Due A, Mollnes TE. IL-6 Receptor Inhibition by Tocilizumab Attenuated Expression of C5a Receptor 1 and 2 in Non-ST-Elevation Myocardial Infarction. *Frontiers in Immunology*. 2018. 9:2035.
- ¹⁴³ Guo L, Zheng L, Guo X, Chang Y, Zhou X, Sun Y. Single-Nucleotide Polymorphism rs17611 of complement component 5 shows association with ischemic stroke in Northeast Chinese population. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2016. 20(12):766-770.
- ¹⁴⁴ Chang M, Rowland CM, Garcia VE, Schrodi SJ, Catanese JJ, van der Helm-van Mil AH, Ardlie KG, Amos CI, Criswell LA, Kastner DL, Gregersen PK, Kurreeman FA, Toes RE, Huizinga TW, Seldin MF, Begovich AB. A large-scale rheumatoid arthritis genetic study identifies association at chromosome 9q33.2. *PLoS Genet*. 2008. 4(6):e1000107.
- ¹⁴⁵ Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, Stampfer MJ, Curhan GC. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2003. 107(9):1303–1307.

- ¹⁴⁶ Casas JP, Cooper J, Miller GJ, Hingorani AD, Humphries SE. Investigating the genetic determinants of cardiovascular disease using candidate genes and meta-analysis of association studies. *Annals of human genetics*. 2006. 70(2):145-169.
- ¹⁴⁷ Bare LA, Morrison AC, Rowland CM, Shiffman D, Luke MM, Iakoubova OA, Kane JP, Malloy MJ, Ellis SG, Pankow JS, Willerson JT, Devlin JJ, Boerwinkle E. Five common gene variants identify elevated genetic risk for coronary heart disease. *Genetics in Medicine*. 2007. 9(10):682-689.
- ¹⁴⁸ Lluís-Ganella C, Subirana I, Lucas G, Tomás M, Muñoz D, Sentí M, Salas E, Sala J, Ramos R, Ordoñas JM, Marrugat J, Elosua R. Assessment of the value of a genetic risk score in improving the estimation of coronary risk. *Atherosclerosis*. 2012. 222(2):456-463.
- ¹⁴⁹ Pischke SE, Gustavsen A, Orrem HL, Egge KH, Courivaud F, Fontenelle H, Despont A, Bongoni AK, Rieben R, Tønnessen TI, Nunn MA, Scott H, Skulstad H, Barratt-Due A, Mollnes TE. Complement factor 5 blockade reduces porcine myocardial infarction size and improves immediate cardiac function. *Basic Research in Cardiology*. 2017. 112(3):20.
- ¹⁵⁰ Whiss PA. Pexelizumab Alexion. *Curr Opin Investig Drugs*. 2002. 3(6):870-877.
- ¹⁵¹ Granger CB, Mahaffey KW, Weaver WD, Theroux P, Hochman JS, Filloon TG, Rollins S, Todaro TG, Nicolau JC, Ruzyllo W, Armstrong PW. Pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction: the COMplement inhibition in Myocardial infarction treated with Angioplasty (COMMA) trial. *Circulation*. 2003. 108(10):1184-1190.
- ¹⁵² Zareba KM. Eculizumab: a novel therapy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Drugs Today (Barc)*. 2007. 43(8):539-546.
- ¹⁵³ Monk PN, Scola AM, Madala P, Fairlie DP. Function, structure and therapeutic potential of complement C5a receptors. *Br J Pharmacol*. 2007. 152(4):429-448.
- ¹⁵⁴ Kumar V, Lee JD, Clark RJ, Noakes PG, Taylor SM, Woodruff TM. Preclinical Pharmacokinetics of Complement C5a Receptor Antagonists PMX53 and PMX205 in Mice. *ACS Omega*. 2020. 5(5):2345-2354.

8. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinik für Kardiologie und Angiologie am Universitätsklinikum Tübingen unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. Dominik Rath und Prof. Dr. Tobias Geisler am Universitätsklinikum Tübingen, in Zusammenarbeit mit dem Dr. Margarete Fischer-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie (IKP Stuttgart) (Prof. Dr. Matthias Schwab, Dr. Stefan Winter, Dr. Elke Schäffeler).

Die Genotypisierung der C5-Varianten mittels MALDI-TOF MS, sowie FACS und ELISA wurden durch Dr. Elke Schäffeler und Dr. Stefan Winter am IKP Stuttgart durchgeführt.

Die Durchsicht der Patientenakten erfolgte durch Prof. Dr. Dominik Rath, der klinischen Studienzentrale der IM III und durch mich.

Die statistische Auswertung sämtlicher Daten in dieser Arbeit erfolgte nach Anleitung durch Herrn Prof. Dr. Rath und Beratung durch Dr. Stefan Winter vom IKP Stuttgart durch mich selbst.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig nach Anleitung durch Prof. Dr. Dominik Rath verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Das englischsprachige Manuskript, welches Teile dieser Arbeit enthält, wurde nach Anleitung von Prof. Dr. Dominik Rath und Dr. Patrick Grogan-Bada zum Großteil von mir geschrieben.

Tübingen, den 17. Oktober 2022

9. Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in folgender Publikation veröffentlicht:

Henes JK, Grogga-Bada P, Schaeffeler E, Winter S, Hack L, Zdanyte M, Mueller K, Droppa M, Stimpfle F, Gawaz M, Langer H, Schwab M, Geisler T, Rath D. C5 Variant rs10985126 is Associated with Mortality in Patients with Symptomatic Coronary Artery Disease. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2021. 14:893-903.

10. Danksagung

In erster Linie möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bei meinem Doktorvater und Betreuer, Herrn Professor Dr. Dominik Rath, für die ausgezeichnete Betreuung während der gesamten Zeit der Promotion bedanken. Herr Professor Dr. Rath war sowohl durch seine wissenschaftliche und klinische Expertise als auch durch unsere wertschätzende Kooperation zu jeder Zeit eine maßgebliche Unterstützung für mich. Herr Professor Dr. Rath erfüllte dadurch eine Vorbildfunktion bei meinen ersten Schritten in der kardiovaskulären Medizin, was mich hoffentlich auf meinem weiteren Weg stets prägen wird.

Ich bedanke mich auch herzlich bei Herrn Dr. Patrick Grogga-Bada, der mir bei Fragen und Problemen, auch über dieses Projekt hinaus, jederzeit behilflich war, für unsere kollegiale und unkomplizierte Zusammenarbeit.

Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Meinrad Gawaz für die freundliche Genehmigung, Patientendaten aus der Medizinischen Klinik III verwenden zu dürfen, sowie bei Herrn Prof. Dr. Tobias Geisler, der maßgeblich an der Konzeption des Projekts beteiligt war.

Darüber hinaus gilt mein Dank selbstverständlich allen Mitarbeitern der Klinik für Kardiologie und Angiologie am Universitätsklinikum Tübingen und des IKP Stuttgart, die an der Bereitstellung der Daten beteiligt waren, für ihre gewissenhafte Arbeit. Insbesondere bedanke ich mich an dieser Stelle auch bei Herrn Dr. Stefan Winter für seine Beratung bezüglich statistischer Fragen.

Nicht zuletzt möchte ich mich herzlich bei meiner Familie und meinen Freunden, die mir während der Erstellung dieser Arbeit und während des gesamten Medizinstudiums und der Schulzeit zur Seite gestanden haben, für ihren wertvollen Rückhalt in jeder Hinsicht bedanken.