

Aus dem Institut für Humangenetik  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Das primäre Krampfaderleiden, eine häufige Erbkrankheit - Stammbaumanalysen der  
Phänotypen unter besonderer Berücksichtigung komplizierter Verläufe**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Medizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Sotirios Katsandris  
aus Athen

Mainz, 2022

Wissenschaftlicher Vorstand: [REDACTED]

1. Gutachter: [REDACTED]

2. Gutachter: [REDACTED]

Tag der Promotion: 06. Dezember 2022

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	
1.1 Definition und Einteilung .....	S.9
1.2 Epidemiologie .....	S.9
1.3 Ziel der Dissertation .....	S.11
2. Literaturdiskussion	
2.1 Geschichte .....	S.11
2.2 Anatomie und Physiologie .....	S.12
2.3 Pathogenese und Ätiologie .....	S.14
2.4 Das <i>MTHFR</i> -Gen und <i>MTHFR</i> -Polymorphismen .....	S.16
2.5 „Heritability“ und Vererbung .....	S.18
2.6 Multifaktorielle Vererbung und Epigenetik .....	S.19
2.7 Homozystein: eine Verbindung zwischen DNA-Methylierung und Gefässerkrankung .....	S.21
2.8 CEAP-Klassifikation .....	S.22
2.9 Einfache und komplizierte Varikose .....	S.23
2.10 Komplikationen-Varikophlebitis, Ulcus cruris, Rezidiv-Varikose und Blutung	S.23
2.11 Diagnose .....	S.26
2.12 Therapie .....	S.27
2.13 Kopplungs- und Segregations-Analyse .....	S.28
2.14 Formel von Bayes .....	S.29
2.15 Autosomal-dominant vererbte Erkrankungen .....	S.30
3. Publikation .....	S.31
4. Material und Methoden	
4.1 Gewinnung des Materials .....	S.32
4.2 DNA-Extraktion und Genotypisierung .....	S.33
4.3 Erstellung von Stammbäumen .....	S.34
4.5. Angewendete Programme .....	S.36
5. Ergebnisse	
5.1 Beschreibung .....	S.36
5.1.1. Stammbäume mit Varikose .....	S.36
5.1.2. Komplizierte Verläufe .....	S.38

5.2 Demographische und epidemiologische Daten .....	S.39
5.3 Assoziationen (zwischen).....	S.41
5.3.1 Assoziationen zwischen Komplikationen der Indexpatienten und Komplikationen in den Stammbäumen.....	S.41
5.3.2 Assoziationen zwischen verschiedenen <i>MTHFR</i> c.677/c.1298- Genotypen der Indexpatienten und einem Vorkommen der Komplikationen Varikothrombose, CEAP C3-6 und Rezidiv in den Stammbäumen .....	S.42
5.3.3 Assoziationen zwischen den <i>MTHFR</i> c.677- und c.1298-Genotypen der Indexpatienten und dem Vorkommen der gleichen oder anderen Komplikationen in den Stammbäumen.....	S.44
5.3.4 Assoziationen zwischen demographischen Merkmalen und komplizierter versus unkomplizierter Varikose .....	S.46
5.4 Art der Vererbung .....	S.47
5.5 Sporadisches und mehrfaches (vererbtes) Auftreten.....	S.48
5.6 Homozystein .....	S.56
6. Diskussion	
6.1 Vorwort .....	S.57
6.2 Patientenbefragung, Probengewinnung und Stammbaumerstellung .....	S.57
6.3 Genotypische Korrelationen.....	S.58
6.3.1 Korrelation des <i>MTHFR</i> c.677C>T-Polymorphismus mit der komplizierten Varikose.....	S.58
6.3.2. Korrelation des <i>MTHFR</i> c.1298A>C-Polymorphismus mit der komplizierten Varikose.....	S.59
6.3.3 Keine Korrelation des <i>MTHFR</i> c.677C>T-Polymorphismus, des <i>MTHFR</i> c.1298A>C-Polymorphismus bzw. von kombinierten <i>MTHFR</i> c.677C>T- /1298A>C-Genotypen mit Komplikationen bei Familienangehörigen.....	S.59
6.4 Phänotypische Korrelationen und deren Relevanz für eine Vererbung der Varikose .....	S.59
6.4.1 Korrelationen von Alter, BMI bzw. Geschlecht und dem Auftreten von Varikose sowie ihrer komplizierten bzw. unkomplizierter Verlaufsform .....	S.59
6.4.2. Korrelation von mehrfachem familiärem Auftreten und dem Auftreten von Varikose bei bestimmten Familienangehörigen .....	S.60

6.4.3. Korrelation von Komplikationen der Indexpatienten und dem Auftreten von Varikose bei bestimmten Familienangehörigen .....	S.60
6.4.4. Keine Korrelation zwischen den Homozystein-Werten der Indexpatienten mit Varikose (mit und ohne Komplikationen) und den Kontrollindexpatienten .....	S.61
6.4.5. Bestimmung der Art der Vererbung.....	S.61
6.4.6. Einordnung der phänotypischen Korrelationsdaten und Vererbungsdaten in den Stand der Literatur. ....	S.61
6.5. Allgemeine Schlussfolgerung zur Pathogenese der Varikose.....	S.63
7. Zusammenfassung .....	S.65
8. Literaturverzeichnis .....	S.74
9. Anhang .....	S.85
9.1 Organigramm.....	S.85
9.2 Patienteninformation (Krampfaderleiden) .....	S.86
9.3 Einwilligungserklärung .....	S.88
9.4 Patientenfragebogen1 .....	S.90
9.5 Patientenfragebogen2.....	S.91
9.6 Patientenanamnesebogen .....	S.92
9.7 Weitere Stammbäume .....	S.96
9.8 Danksagung.....	S.103

## Tabellenverzeichnis

1. CEAP-Klassifikation .....	S.22
2. Dominierende Varizen-Morphologien und Komplikationen in Abhängigkeit von den c.677C>T/ c.1298A>C- <i>MTHFR</i> - Diplotypen .....	S.32
3. Anzahl untersuchter Personen und an Varikose Erkrankter in den Stammbäumen .....	S.37
4. Anzahl der Generationen pro Stammbaum (Varikosepatienten) .....	S.38
5. Anteil der Varikosepatienten mit weiteren Komplikationen in den Stammbäumen von Kontrollen bzw. Indexpatienten mit einer unkomplizierten oder einer komplizierten Varikose (Fragebogen 2) .....	S.39
6. Demographische Daten, Stammbaumcharakteristiken.....	S.40
7. a. Varikothrombose, b. Periphere Dekompensation CEAP C3-C6, c. Rezidiv ..	S.41-42
8. <i>MTHFR</i> -Genotyp c.677C>T bei Komplikationen .....	S.42
9. <i>MTHFR</i> -Genotyp c.1298A>C bei Komplikationen .....	S.43
10. Kombinierte <i>MTHFR</i> -Genotypen c.677C>T und c.1298A>C bei Komplikationen .	S.43
11. <i>MTHFR</i> -Genotyp c.677C>T bei gleicher oder anderer Komplikation.....	S.44
12. <i>MTHFR</i> -Genotyp c.1298A>C bei gleicher oder anderer Komplikation.....	S.45
13. Kombinierte <i>MTHFR</i> -Genotypen c.677C>T und c.1298A>C bei gleicher oder anderer Komplikation .....	S.45
14. <i>Body Mass-Index</i> (BMI) und Alter .....	S.46
15. Geschlecht.....	S.46
16. Häufigkeit von verschiedenen Komplikationen der Indexpatienten in Abhängigkeit von sporadischem oder potentiell vererbtem Auftreten .....	S.48
17. Wahrscheinlichkeit miterkrankter Familienmitglieder in Stammbäumen von Indexpatienten mit potentiell vererbtem Auftreten .....	S.49
18. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankter Mutter, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln .....	S.50
19. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkranktem Vater, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln .....	S.51
20. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankten Großeltern, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln .....	S.52

21. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankten Geschwistern, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln .....	S.53
22. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkranktem Kind, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln .....	S.54
23. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankten beiden Elternteilen, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln.....	S.55
24. Homozystein-Werte von Patienten mit komplizierter und unkomplizierter Varikose (Indexpatienten sowie Kontrollpatienten) unter Berücksichtigung einzelner Komplikationen und des Auftretens bei Familienangehörigen .....	S.56

### **Abbildungsverzeichnis**

1. Das tiefe und oberflächliche Venensystem.....	S.13
2. MTHFR als Schlüsselenzym des Folat-Stoffwechsels .....	S.17
3. Stammbaum-Beispiele .....	S.35
4. Anteil von männlichen und weiblichen Indexpatienten mit komplizierter bzw. unkomplizierter Varikose .....	S.47

## Abkürzungsverzeichnis

AdoMet - S-Adenosylmethionin  
AdoHcy - S-Adenosylhomocystein  
BMI - Body mass index  
CADASIL - Zerebral Autosomal Dominante Arteriopathie mit Subkortikalen Infarkten und Leukoenzephalopathie  
CEAP - Klinik, Ätiologie, Anatomie, Pathophysiologie  
CP - Chuvash Polycythaemia  
CVI - Chronische venöse Insuffizienz  
CVD - chronic venous disease  
DNA - deoxyribonucleic acid  
ECM - extracellular matrix  
GR - Glukokortikoid-Rezeptoren  
GWAS - Genomweite Assoziationsstudie  
H<sup>2</sup> - Heritability  
Hcy - Homocystein  
HHcy -Hyperhomocysteinämie  
IPVs - Inkompetente Perforatorvenen  
KTS - Klippel-Trenaunay-Syndrom  
LE - Lungenembolie  
LRR - Licht-Reflexions-Rheographie  
Mean - Mittelwert  
MMP - Matrix Metalloproteinasen  
MTHFR – Methylentetrahydrofolatreduktase  
n. Chr. – nach Christus  
NHS - National Health Service  
pAVK - Periphere arterielle Verschlusskrankheit  
PPARα - Peroxisome Proliferator-activated Receptor alpha  
PPG - Photoplethysmografie  
SAM - S-Adenosyl-Methionin  
SD - Standard Abweichung  
SMC - glatte Muskelzellen  
SNPs - Single Nucleotide Polymorphism  
TGF-β - Transforming Growth Factor beta  
TIMP - Tissue inhibitor of Metalloproteinase  
TM - Thrombomodulin  
TBVT - Tiefbeinvenenthrombose  
TVS – Tiefes Venensystem  
v. Chr. – vor Christus  
VSM - Vena saphena magna  
VSP - Vena saphena parva  
VP - Vena poplitea  
VV – Varikose-Venen  
VVP - Venenverschluss-Plethysmographie  
WHO - World Health Organization



# 1. Einleitung

## 1.1 Definition und Einteilung

Krampfadern (Varizen) sind aufgeweitete, oberflächliche Venen der Beine, die einen Durchmesser von >4mm haben (Naoum et al. 2007). Das Krampfaderleiden (Varikose) ist eine klinische Manifestation der chronischen venösen Insuffizienz (Naoum et al. 2007). Nach einer Definition der WHO sind Krampfadern sackförmig oder zylindrisch erweiterte, oberflächliche Venen, wobei die Venenerweiterung umschrieben oder streckenförmig sein kann und in der Regel mit einer Schlingelung oder Knäuelbildung assoziiert ist. Der Begriff „Krampfadern“ stammt nicht von dem Wort „Krampf“ sondern vom mittelhochdeutschen Begriff „krumpe Ader“ (= krumme Ader) ab, das Wort Varizen wiederum vom lateinischen Begriff „varis=Knoten“ ab (Lim et al. 2009). Es gibt zwei Formen der Varikose: die primäre Varikose, die eine idiopathische degenerative Erkrankung ist, und die sekundäre Varikose, die Folge anderer Grunderkrankungen, meist tiefer Beinvenenthrombose oder Dysplasien ist. Nach der Größe und anatomischen Verteilung werden 3 Typen von Krampfadern unterschieden: der trunk-/seitenast-/perforans-Typ, der retikuläre-Typ und der besenreiser-Typ (Lim et al. 2009).

## 1.2 Epidemiologie

Zur Epidemiologie der Krampfadern liegen ethnisch und geographisch ausgesprochenen unterschiedlichen Angaben vor. Die Prävalenz der Varikose differierte laut Lim et al. (2009) in epidemiologischen Studien von 1-73% bei Frauen und von 2-56% bei Männern. Widmer et al. (1981) berichteten von einer Prävalenz des Krampfaderleidens, die von 0,1% bei Frauen aus ländlichem Neuguinea bis 68% bei berufstätigen Frauen in Basel in der Schweiz reicht. In der Edinburgh Vein Study litten 25-33% der weiblichen und 10-20% der männlichen Erwachsenen an Varikose (Evans et al. 1999).

Eine Studie in Frankreich zeigte, dass erstgradige Verwandtschaft der wichtigste Risikofaktor für Varikose sowohl bei Männern als auch bei Frauen ist (Lim et al. 2009). In einer anderen Studie in Japan hatten 42% der Patienten mit Varikose eine positive Familienanamnese im Vergleich zu 14% der Patienten ohne Varikose (Lim et al. 2009). Die Framingham-Studie beobachtete eine Prävalenz von 1% bei Männern und 10% bei Frauen im Alter von weniger als 30 Jahren im Vergleich zu 57% bei Männern und 77% bei Frauen im

Alter von über 79 Jahren (Naoum et al. 2007). In der Edinburgh Vein Studie zeigten die Männer eine höhere Prävalenz von 9% hinsichtlich der CVI im Vergleich zu Frauen mit 7% (Evans et al. 1999). Die Prävalenz der Varikose steigt hier mit dem Alter. Der Sozialstatus hat keine Auswirkung auf die Entstehung der Varikose (Evans et al. 1999).

Ein Problem in der Semantik des „Krampfaderleidens“ ist die nosologische Abgrenzung des „primären“ Krampfaderleidens von anderen Formen venöser Erweiterungen/Verunstaltungen/Umgehungskreisläufe. Diese Abgrenzung wird in vielen Studien nicht vorgenommen, sodass die epidemiologische Beschreibung des „primären“ Krampfaderleidens in der Literatur unvollständig ist.

Patienten mit Krampfadern leiden allgemein unter Schmerzen, Jucken, Hautveränderungen, Blutungen, Ulzerationen oder an einem als störend empfundenen Erscheinungsbild (Lim et al. 2009). Nach Lim und Davies (2009) verbraucht die Therapie der Varikose und ihrer Komplikationen ca. 2% des Budgets des National Health Services (NHS) in Großbritannien. In Europa gehört die Varikose zur Gruppe der Volkskrankheiten und laut Jugenheimer entwickeln 35-50% der Einwohner in Europa eine leichte Form von Varikose (Jugenheimer 2004). Symptome einer ausgeprägten Varikose weisen hier nur 10-15% der europäischen Bevölkerung auf und die Prävalenz eines Ulcus cruris lag bei 3-4% der Bevölkerung (Jugenheimer 2004). An einer fortgeschrittenen chronischen venösen Insuffizienz leiden ca. 3-5% der Bevölkerung (Jugenheimer 2004).

Die volkswirtschaftliche Bedeutung der primären Varikose wird dadurch gesteigert, dass sie eine sowohl progrediente als auch rezidivierende Erkrankung ist (Jugenheimer 2004). Bei ca. 20-40% der operierten Patienten kommt es zu einem Rezidiv. Im Verlauf der unbehandelten Varikose ist mit Komplikationen zu rechnen. In Deutschland betragen die direkten Kosten auf Grund von Venenleiden im Jahr 2006 2,18 Mrd. Euro. Auf Grund eines Venenleidens kommt es jährlich zu einer Frühberentung von 2500 Personen. Pro Jahr gehen der Volkswirtschaft 2,8 Millionen Arbeitstage infolge Venenerkrankungen verloren (Jugenheimer 2004). In den USA sind 25 Millionen Menschen betroffen und die Kosten für die Behandlung von CVI-Komplikationen werden mit \$3 Milliarden pro Jahr veranschlagt (Oklu et al. 2012).

### 1.3 Ziel der Dissertation

Das Ziel dieser Arbeit war es, bereits vorhandene Vererbungsmuster der primären Varikose im Allgemeinen zu belegen oder zu korrigieren und Vererbungsmuster komplizierter Verlaufsformen im Speziellen herzuleiten. Als zusätzlicher Beleg für eine genetische Ursache der primären Varikose und deren komplizierter Verlaufsformen stehen bereits veröffentlichte Assoziationen mit den beiden *MTHFR*-Polymorphismen c.677C>T und c.1298A>C zur Verfügung, die unter maßgeblicher Beteiligung des Verfassers entstanden sind und daher an dieser Stelle nochmals wiedergegeben werden.

Die der Arbeit zu Grunde liegende Hypothese war:

- i) Das primäre Krampfaderleiden stellt ein Erbleiden dar.
- ii) Komplikationen des primären Krampfaderleidens wie Varikothrombose, peripheres Stauungssyndrom CEAP C3-6 und Rezidiv können an sich vererbt werden.

## 2. Literaturdiskussion

### 2.1 Geschichte

Schon in der Antike waren Krampfadern bekannt (Noppeney et al. 2010). Der Grieche Hippokrates (460-375 v. Chr.) schlug vor, Krampfadern anzustechen. In der Zeit des römischen Reichs wurde über die erste Krampfaderexstirpation von dem Arzt Aulus Cornelius Celsus berichtet. Ein anderer Mediziner, Aetius Amideus (550 n. Chr.), beschrieb die chirurgische Behandlung der Varikose. Dabei wurden Tierhäute häufig als Kompressionsverbände benutzt. 1589 veröffentlichte Fabricius Hildanus (1560-1634) die Umkehr des venösen Kreislaufs in erweiterten Venen (Noppeney et al. 2010).

Die Basis der heutigen Varizenchirurgie wurde von Otto Madelung (1846-1926) und Friedrich Trendelenburg (1844-1924) geschaffen (Noppeney et al. 2010). Otto Madelung berichtete 1884 über die Ausschälung „circoider Varicen“ an den unteren Extremitäten. Friedrich Trendelenburg wies 1891 erstmalig den venösen Reflux in die insuffizienten Vena saphena magna als pathophysiologische Grundlage nach, die Ligatur der Vena saphena magna als kurative Therapie. 1907 präsentierte Babcock das Stripping der Vena saphena magna von

der Leiste bis zum Innenknöchel mit Hilfe einer Sonde, gefolgt von Berichten über systematische Crossektomien durch Moro im Jahr 1910. Ein weiterer Meilenstein war neben der Entwicklung weiterer Operationstechniken 1927 die Veröffentlichung von Moszkowicz, in der er die Ligatur der VSM mit Sklerosierung der distalen Vene beschrieb (Noppeney et al. 2010).

## **2.2 Anatomie und Physiologie**

Aufgabe der Venen ist der Transport des nicht oxygenierten Blutes von der Peripherie zurück zum Herzen (Ströbel et al. 2010). Venen bestehen wie Arterien aus einer Tunica intima, Tunica media und einer Tunica Adventitia. Die Muskulatur in der Tunica media der Venen ist viel weniger ausgeprägt als die Muskulatur der Tunica media der Arterien. Venen sind daher elastischer und dünner als Arterien. Dies hat zur Folge, dass das venöse System eine viel größere Blutkapazität besitzt als das arterielle System (Ströbel et al. 2010).

Das Venensystem unterteilt sich in ein tiefes subfasziales Venensystem, ein oberflächliches epifasziales Venensystem sowie ein perforierendes transfasziales Venensystem (Ströbel et al. 2010). Das tiefe Venensystem ist verantwortlich für den Transport von 90% des venösen Blutes, wobei das oberflächliche Venensystem circa 10% des venösen Rückstroms transportiert. Die Vena saphena magna und parva zusammen mit den Perforansvenen sind Teil des oberflächlichen Venensystems der unteren Extremität. Die Venae perforantes wirken als eine Drainage beider Systeme, wobei die Flussrichtung beim Venengesunden von epifaszial nach subfaszial, vom oberflächlichen zum tiefen Venensystem, gerichtet ist (Ströbel et al. 2010).

Die Vena saphena magna stellt die längste oberflächliche Vene des Körpers dar (Ströbel et al. 2010). Sie beginnt als V. marginalis medialis am medialen Fußrand, zieht zur medialen Seite des Unterschenkels und Oberschenkels und mündet im Trigonum femorale in die V. femoralis (tiefe Vene). Als Crossen werden die Einmündung der V. saphena magna in die V. femoralis sowie die Einmündung der V. saphena parva in die V. poplitea bezeichnet (Ströbel et al. 2010, Abbildung 1).

Die Zirkulation des Blutes wird durch die Druckdifferenz zwischen rechtem und linkem Herzvorhof angetrieben (Wagner 2010). Durch Drucklücken während der Erschlaffung des

linken Vorhofes kommt es zu einem Sogeffekt auf das Blut. Die Muskulatur der Extremitäten wirkt durch Kontraktion und Erschlaffung bei intakter Klappenfunktion gleichzeitig wie eine Pumpe auf das venöse Blut. Dasselbe gilt für die Pulswellen der parallel mit den tiefen Venen verlaufenden großen Arterien. Die Venenklappen sorgen dafür, dass das Blut in die richtige Richtung fließt. Die Klappen der Venae perforantes spielen eine ebenfalls wichtige Rolle, da sie eine von der Oberfläche in die Tiefe gerichtete Drainage des venösen Flusses unterhalten. Im Falle einer Klappeninsuffizienz tritt Reflux mit allen später zu diskutierenden hämodynamischen Folgen für die Gewebe-Homöostase im Rahmen des sogenannten Stauungssyndroms auf (Ströbel et al. 2010).

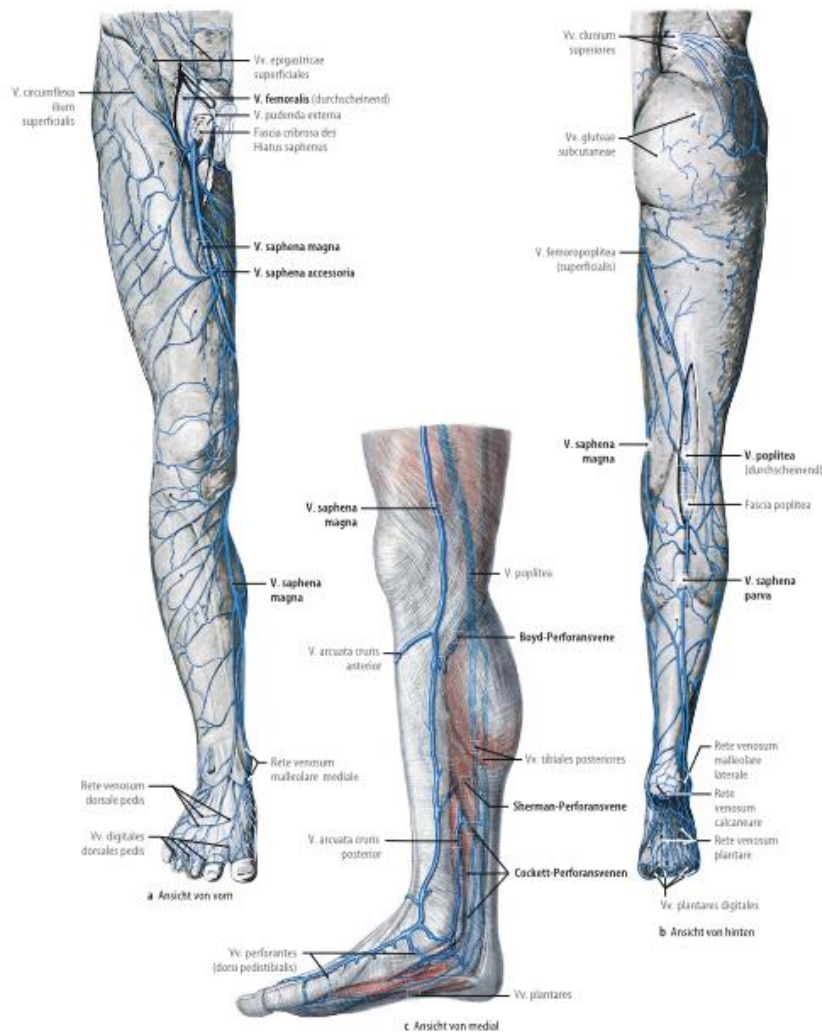


Abbildung 1: Das tiefe und oberflächliche Venensystem (Ströbel et al. 2010)

### 2.3 Pathogenese und Ätiologie

Im Falle einer Funktionsstörung der Venenklappen kommt es zum Reflux. Die genaue Ursache für den Reflux ist noch unklar (Lim et al. 2009). Die primäre Varikose geht mit einer Wandschwäche, einer Dilatation der betroffenen Venen, sowie einer Klappendysfunktion einher. Dabei ist noch nicht abschließend geklärt, ob die Klappeninsuffizienz primärer oder sekundärer (auf dem Boden der Dilatation) Natur ist. Die chronische venöse Hypertension kann zu Ischämie, Verletzungen und Infektionen der Venen und deren Umgebung führen, wodurch Symptome und klinische Ausprägungen der chronisch venösen Insuffizienz mit ausgelöst werden können (Lim et al. 2009).

Eine erste Hypothese besagt, dass die Reflux-verursachende Klappendysfunktion auf pathologische Wandveränderungen der primär varikösen Vene (pVV) zurückzuführen ist (Lim et al. 2009). Wandschwäche und venöse Atonie könnten von Defekten der zellulären und extrazellulären (ECM) Komponenten in der Venenwand herrühren. Areale mit unregelmäßiger Intimahyperplasie und Kollagenablagerungen, Infiltration der Zellen der glatten Muskulatur (SMC) und subendothelialen Plaques werden oft in VV gefunden. Auch Veränderungen der Tunica media, wie zum Beispiel Proliferation von glatten Muskelzellen (SMC) oder Abbau extracellulärer Matrix (ECM) werden häufiger beobachtet (Lim et al. 2009).

Eine zweite Hypothese beinhaltet, dass es durch den venösen Reflux und die Stase des venösen Blutes zu einer venösen Hypertension und einer daraus resultierenden Schädigung der Venenwand mit Dilatation und Wandschwäche kommt (Lim et al. 2009). Eine anterograde Progression könnte auf diese Weise von den Wandveränderungen herrühren und zur nach peripher fortschreitenden Klappeninsuffizienz beitragen. Die pVV müssen allerdings nicht immer am saphenofemorale/saphenopopliteale Übergang beginnen, sondern können im Rahmen der weiter zu diskutierenden Perforansvarikose auch retrograd durch venöse Stase im Rahmen von Perforansinsuffizienzen entstehen (Lim et al. 2009).

Die Homöostase der Extrazellulären Matrix (ECM) wird von einer Gruppe von antagonistischen Enzymen, den Matrix-Metalloproteinasen (MMPs-Peptidasen) und deren direkte Gegenspieler, den *tissue metallo proteinases* (TIMPs) kontrolliert (Lim et al. 2009). Eine gestörte Homöostase des MMP-TIMP-Gleichgewichtes konnte auch in varikösen Venen

nachgewiesen werden. Die Produktion der MMPs soll durch die venöse Hypertonie vermehrt sein, welche zu einem Zerfall der ECM und einer damit einhergehenden venösen Relaxation führt. Lim et al. (2009) haben eine Assoziation zwischen einem reduzierten Elastingehalt und einer venösen Waddilatation gefunden. Eine Modifikation des Quotienten des Kollagen I/III-Gehaltes könnte ebenfalls an der Wandschwäche und Elastizitätsminderung variköser Venen beteiligt sein (Naoum et al. 2007). Kollagenfasern Typ I regulieren die Rigidität von Geweben, während Kollagenfasern Typ III die Dehnbarkeit steuern (Naoum et al. 2007). In VV wurde eine Vermehrung von Kollagenfasern Typ I und eine verminderte Synthese von Kollagenfasern Typ III festgestellt (Oklu et al. 2012). Änderungen in der Proteinzusammensetzung des Bindegewebes sowie einer Zunahme der intrazellulären Proteolyse wird eine zentrale Bedeutung in der Pathogenese variköser Venen zugeschrieben (Oklu et al. 2012).

Die Zytokine der TGF- $\beta$ -Familie sind für Wachstum, Entwicklung und Proliferation der SMCs und Fibroblasten von hoher Bedeutung (Oklu et al. 2012). TGF- $\beta$ 1 hemmt die ECM-abbauenden MMPs. In VVs wurde eine erhöhte Expression von MMP1, MMP-9, MMP-13 beobachtet, die möglicherweise auf Veränderungen der TGFB1-Funktion zurückzuführen ist (Oklu et al. 2012).

Eine Änderung des BMIs während der Schwangerschaft und eine damit verbundene Erhöhung des intraabdominellen Drucks könnten für die häufig beobachtete Progression der primären Varikose bei Frauen während der Schwangerschaft verantwortlich sein (Lim et al. 2009). Eine Produktion von Hormonen wie Relaxin, Östrogenen und Progesteron während der Gravidität könnte eine zusätzliche Venenrelaxation und einen damit verbundenen Anstieg der venösen Kapazität zur Folge haben (Lim et al. 2009).

Mehrere angeborene Syndrome, davon einige mit bereits nachgewiesenem Gendefekt, gehen mit krampfaderartigen Venenveränderungen einher (Lim et al. 2009). Dazu zählt das Klippel-Trenaunay-Syndrom (KTS) bei dem es zu Venenveränderungen, einseitigen Extremitäten-Hypertrophien und Haemangiomen der Haut kommt. Die venösen Anomalien stellen sich hier in Form von Atresie, Agenesie, Klappeninsuffizienz und venöse Aneurysmen dar. Die meisten Fälle werden durch somatische Veränderungen des *PIK3CA*-Gens verursacht (Vahidnezhad et al 2016). 72% der Patienten mit einem KTS entwickeln

Krampfadern. Bei Patienten mit Chuvash Polycythaemia (CP) wurde ebenfalls eine erhöhte Häufigkeit von Krampfadern beobachtet. CP ist eine autosomal rezessive Erkrankung, die mit einer spezifischen Mutation (p.Arg200Trp) im *VHL*-Gen assoziiert ist. und zu einem Defekt der Sauerstoffhomöostase führt (Lim et al. 2009).

Weitere erbliche Erkrankungen, die mit Varikose assoziiert sind, sind das durch Mutationen im *FOXC2*-Gen verursachte, Lymphödem-Distichiasis-Syndrom und die durch Mutationen mit *NOTCH3*-Gen bedingte Cerebrale Autosomal Dominante Arteriopathie mit Subkortikalen Infarkten und Leukenzephalopathie (CADASIL, Lim et al. 2009). Andere Studien berichten über die Assoziation zwischen Krampfadern und Mutationen im Promoter des Thrombomodulin (*TM*)-Gens, im mit dem Norrie-Syndrom assoziierten *NDP*-Gen, sowie im *TGFBR2*-Gen (Oklu et al. 2012).

#### **2.4 Das *MTHFR*-Gen und *MTHFR*-Polymorphismen**

Das *MTHFR*-Gen ist beim Menschen auf dem Chromosom 1 in der chromosomalen Region 1p36.3 lokalisiert und kodiert ein 77-Kilodalton-Protein, die Methylentetrahydrofolatereduktase (MTHFR, Goyette et al. 1994). Als Schlüsselenzym des Folsäurestoffwechsels katalysiert MTHFR irreversibel die Reaktion von 5,10-Methylentetrahydrofolat zu 5-Methyltetrahydrofolat, wobei 5,10-Methylentetrahydrofolat als Methylgruppendonor für die Re-Methylierung von Homozystein zu Methionin durch das Enzym Methionin-Synthase fungiert (Hohmann et al. 1985). Vitamin B12 und Betain werden als Co-Enzyme dieser Reaktion benötigt. Methionin wird weiter zu S-Adenosyl-Methionin (SAM) verstoffwechselt, welches einen essenziellen Methyl-Donor im Rahmen der DNA-Methylierung darstellt. SAM bildet ein Vorläuferprodukt von Adenosin, einem Nucleosid der Desoxyribonukleinsäure (DNA) und wird dabei wiederum zu Homocystein verstoffwechselt. Homocystein schädigt auf Grund seiner oxydativen Wirkung das Endothel und die Tunica media der Gefäße und wird daher zu den pro-thrombotischen und pro-atherogenen Substanzen gerechnet. Die Remethylierung von Homocystein schützt die Zelle vor der Bildung toxischer Homocystein-Aggregate (Hohmann et al. 1985).



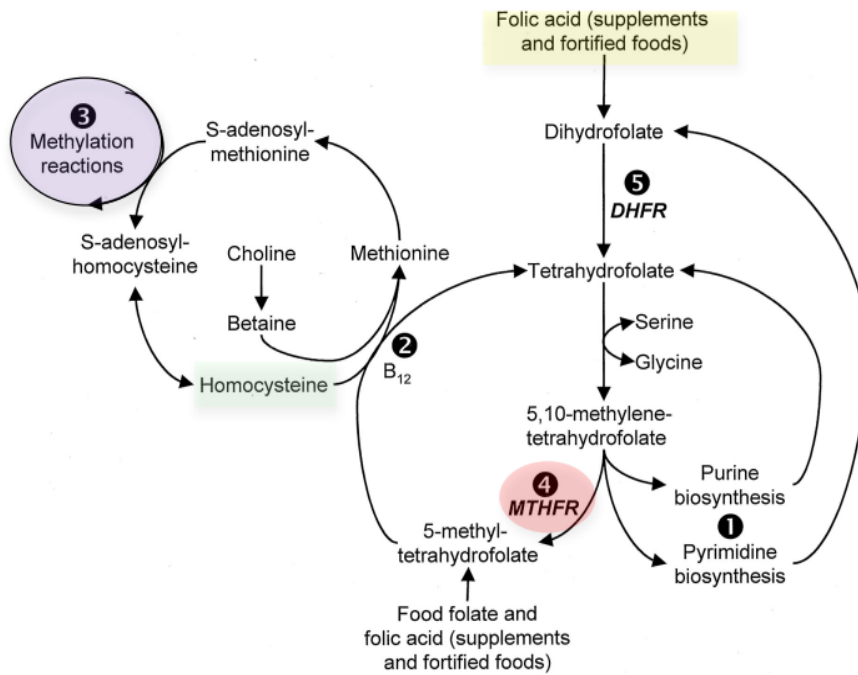


Abbildung 2: MTHFR als Schlüsselenzym des Folat-Stoffwechsels (Hohmann et al. 1985)

*MTHFR*-Mutationen wurden mit einer DNA-Hypomethylierung in Zusammenhang gebracht (Bezemer et al. 2007). Von den 70 bekannten Polymorphismen des *MTHFR*-Gens wurden insbesondere zwei, c.677C>T Polymorphismus und c.1298A>C, intensiv erforscht. Der c.677C>T Polymorphismus befindet sich in Exon 4 des *MTHFR*-Gens und führt zu einer Aminosäuresubstitution von Alanin zu Valin an Position 22 (p.Ala222Val) in der katalytischen Domäne des Proteins (Rozen 1997). Dieser Polymorphismus ist mit dem Vorkommen eines Myokardinfarkts, einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit und einem Schlaganfall assoziiert (Hertfelder et al. 2004). Sverdlova et al. (1998) berichteten über eine Assoziation zwischen dem c.677C>T- Polymorphismus und dem Vorkommen variköser Venen. In dieser Studie war der homozygot mutierte TT-Genotyp in 12% der Betroffenen im Vergleich zu 8% bei gesunden Kontrollen signifikant häufiger vertreten (Sverdlova 1998). Wilmanns et al. (2011) fanden eine erhöhte Prävalenz des TT- Genotyps bei 24% der Patienten mit einer epifaszialen Varikophlebitis verglichen mit 4% bei Patienten mit einer tiefen Beinvenenthrombose. Die MEGA-Studie konnte unter Patienten mit in erster Linie einer tiefen Beinvenenthrombose keine Assoziation zwischen dem *MTHFR* c.677C>T- Polymorphismus und einer venösen Thrombose finden (Bezemer et al. 2007). Stern et al. (2000) beschrieben, dass der TT-Genotyp protektiv gegen Karzinogenese wirkt. Das

Vorkommen des c.677C>T-*MTHFR*-Polymorphismus unterliegt einer ethnischen und geographischen Abhängigkeit (Wilcken et al. 2003). Die TT-Homozygotie kommt dabei häufig in Spanien (15%), weniger häufig in Zentral-Europa (11%) und seltener in Afrika (3%) vor (Wilcken et al. 2003). Eine hohe Frequenz der TT-Homozygotie wurde daneben in Mexiko, Nordchina und Suditalien beobachtet (Wilcken et al. 2003).

Der *MTHFR*-c.1298A>C Polymorphismus liegt in Exon 7 des *MTHFR*-Gens und führt zu einer Aminosäuresubstitution von Alanin zu Glutaminsäure an Position 429 (p.Glu429Ala) im C-terminalen Bereich der regulatorischen Domäne des Proteins (Viel et al. 1997). Für c.1298A>C- homozygote Individuen zeigen keinen höheren Homocysteinspiegel im Serum (Weisberg et al. 1998, Van der Put et al. 1998). Eine Homozygotie wurde bei 10% der Individuen aus der Allgemeinbevölkerung nachgewiesen (Weisberg et al. 1998). Zudem fanden Wilmanns et al. (2011) für die Homozygotie eine Prävalenz von 16% bei Patienten mit einer epifaszialen Varikophlebitis oder einer tiefen Beinvenenthrombose.

## **2.5 „Heritability“ und Vererbung**

Ein erster Bericht über die Erbllichkeit von Varikose wurde im Jahr 1934 von Ottley anhand von 50 Familienstammbäumen von Indexpatienten mit einer primären Varikose erstellt. In 36/50 Familien lagen Hinweise für eine Vererbung vor. In 26/36 Familien gab es Hinweise für eine einfach dominante Vererbung. In den restlichen 10/36 Familien wurde eine rezessive Vererbung oder eine dominante Vererbung mit reduzierter Penetranz postuliert (Ottley 1934).

Hach berichtete 1967 von einem Erkrankungsrisiko von 55-81%, wenn ein Elternteil betroffen ist, und von 78,6%, wenn beide Eltern betroffen sind. Er hatte über eine einfache Dominanz berichtet (Hach 1967).

Visscher et al. widmeten sich im Jahr 2008 dem Begriff „Heritability“ ( $H^2$ ) im aufkommenden Zeitalter vollständiger Genomanalysen. Das Konzept der Heritability zeigt, wie vererbbar der Phänotyp einer Erkrankung mit Hinblick auf die Familienähnlichkeit (Genotyp) ist. Die Bestimmung der  $H^2$  hängt von der Verteilung der beobachteten Variablen und unbeobachteten genetischen sowie ökologischen Faktoren ab (Visscher et al. 2008). Die  $H^2$  ist Bevölkerungs-spezifisch und nicht immer konstant, da sich die genetischen und ökologischen Merkmale ständig verändern. In der Medizin und Humangenetik wird die  $H^2$

benutzt, um Erkrankungen zu vergleichen und die genetischen und ökologischen Faktoren abzuschätzen. Eine große  $H^2$  bedeutet eine enge Beziehung zwischen Phänotyp und Genotyp. Allerdings liefert die  $H^2$  keine Information über die Lage eines Gens im Genom. Die durchschnittliche  $H^2$  der Genexpression für monozygotische Zwillinge beträgt 0,3 (Visscher et al. 2008).

Fiebig et al. untersuchten im Jahr 2010 an einem Patientenkollektiv von 2.701 Personen die  $H^2$  der Chronisch Venösen Insuffizienz (*chronic venous disease*, CVD). Für die gesamte CVD war die  $H^2$  17,3, für die Varikose C2-C3 18,5, für die Varikose C4 16,7 und für die Varikose C5-C6 9,2 (Fiebig et al. 2010).

## **2.6 Multifaktorielle Vererbung und Epigenetik**

Multifaktorielle Merkmale oder Erkrankungen werden durch eine Wechselwirkung mehrerer Gene (Polygenie) und verschiedener Umweltfaktoren bedingt (Tariverdian et al. 2004). Beispiele multifaktorieller Erkrankungen sind Volkskrankheiten wie arterielle Hypertonie, der Diabetes mellitus oder auch die angeborene Hüftgelenksluxation. Auch die Körpergröße und die mit einer Häufigkeit von 1:1000 auftretende Spina bifida sind multifaktoriell vererbt. Studien aus Schottland und Wales zeigen, dass Folsäuremangel eine Spina bifida mit auslösen kann. Daher wird Frauen in der Schwangerschaft empfohlen, Folsäure einzunehmen. Auch das Geschlecht kann bei der Entstehung eine Rolle spielen. Die hypertrophe Pylorusstenose beispielsweise tritt bei Jungen fünfmal häufiger als bei Mädchen auf. Dabei kommt der sogenannte Carter-Effekt zum Tragen: für eine Manifestation der Erkrankung benötigen Mädchen eine höhere Anzahl mutierter Gene als Jungen. Im Falle der angeborenen Hüftgelenksluxation sind wiederum Frauen häufiger betroffen als Männer. Multifaktorielle Vererbung ist nur ein Teil einer sogenannten komplexen Vererbung, bei der auch eine unvollständige Penetranz, eine variable Expressivität, eine Pleiotropie - ein Genotyp führt zu verschiedenen Phänotypen- einer Phänokopie -, sowie eine allelische Heterogenie berücksichtigt werden müssen (Tariverdian et al. 2004).

Epigenetische Mechanismen sind als vererbare Veränderungen definiert, die nicht die DNA-Sequenz selbst, sondern ihre Zugänglichkeit bzw. Ablesbarkeit modifizieren. Sie sind mit verantwortlich für die Vererbung komplexer Erkrankungen wie zum Beispiel Atherosklerose und metabolisches Syndrom. Die in Säugerzellen vorwiegend beobachtete epigenetische

Modifikation von DNA ist die kovalente Anheftung einer Methylgruppe an die C5-Position von Cytosin in CpG-Dinukleotiden. Diese CpG-Methylierung führt z.B. zur transkriptionellen Stilllegung von Gewebe-spezifischen Genen während der Entwicklung und Differenzierung. Einzelnukleotidpolymorphismen (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs), die CpG-Dinukleotide betreffen, können z.B. Ziele von epigenetischen Veränderungen sein, indem der durch den Basenaustausch bedingte Verlust eines CpGs die DNA-Methylierung verhindert (Handy et al. 2011).

Einige Studien fanden Evidenz für die Hypothese, dass Umwelt-Faktoren während kritischer früher Lebensphasen wie z.B. der foetalen Entwicklung das Risiko für kardiovaskuläre und metabolischen Krankheiten im späteren Leben erhöhen können. So hatten z.B. unter Individuen, die pränatal der Hungersnot während des niederländischen Hungerwinters (1944-1945) ausgesetzt waren, eine höhere Prävalenz für Adipositas und KHK (koronare Herzkrankheit) im Erwachsenenalter als Erwachsene, die vor oder nach diesem Zeitraum geboren wurden (Painter et al. 2005).

Godfrey und Barker (2004) zeigten, dass Säuglinge mit niedrigem Geburtsgewicht ein erhöhtes Risiko für eine KHK im späteren Leben hatten und mit steigendem Geburtsgewicht mit einer graduellen Verminderung des KHK-Risikos verbunden war (Handy et al. 2011). Daher wurde diskutiert, dass solche langandauernden Krankheitseffekte durch soziale und umweltbedingte Stressfaktoren und daraus resultierenden epigenetisch vermittelten Veränderungen der Genexpression sehr früh im Leben ausgelöst werden.

Evidenz für das Auftreten von solchen epigenetischen Veränderungen fand sich z.B. in Nachkommen von Ratten, die während der Schwangerschaft mit einer proteinarmen Diät gefüttert wurden. Sie wiesen eine zu einem niedrigeren Geburtsgewicht, Bluthochdruck und Funktionsstörungen des Endothels führende Dysfunktion des Renin-Angiotensin-Systems auf, die mit einer Hypomethylierung des Promoters und erhöhter adrener Expression des AT1b-Angiotensin-Rezeptors-Gens einherging (Handy et al. 2011). Andere Studien berichteten, dass eine proteinarme Diät während der Schwangerschaft von Ratten zu einer reduzierten Promotermethylierung und einer Überexpression der für den hepatischen Glukokortikoid-Rezeptor (GR) bzw. den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor alpha kodierenden Gene (PPARa) bei den Nachkommen führt. GR- und PPARa sind Schlüssel-

Transkriptionsfaktoren, deren veränderte Expression die Aktivität verschiedener metabolischer Signalwege und damit die Entstehung einer großen Anzahl von Erkrankungen wie Diabetes, Adipositas und Atherosklerose beeinflussen kann.

Es wurde zudem gezeigt, dass die Supplementation von Methylgruppen durch Zugabe von Folsäure oder Glycin zu einer proteinarmen Diät bei Ratten einen positiven Effekt im Sinne eines verminderten Bluthochdrucks, einer verbesserten Endothelium-abhängigen Vasodilatation, erhöhten endothelialen NO-Synthase-RNA-Spiegeln und einer Wiederherstellung der Expression und Promoter-Methylierung von GR und PPAR $\alpha$  bei den Nachkommen hat (Handy et al. 2011).

## **2.7 Homozystein: eine Verbindung zwischen DNA-Methylierung und Gefäßerkrankung**

Homozystein (Hcy) ist ein intermediäres Produkt des Aminosäurestoffwechsels, welches biochemisch mit der DNA-Methylierung in Verbindung steht. Die Methylgruppe, die für die Etablierung und Aufrechterhaltung von DNA-Methylierungsmustern, aber auch mehr als 100 andere zellulären Methyltransferase-Reaktionen essenziell ist, stammt von S-Adenosyl-Methionin (AdoMet), einem Intermediat des Hcy-Metabolismus. Durch den Transfer der Methylgruppe wird AdoMet in S-Adenosyl-Homozystein (AdoHcy) umgewandelt, aus dem durch Hydrolyse Hcy und Adenosin entsteht. Hcy kann wiederum nach MTHFR-vermittelter Reduktion von Methylentetrahydrofolat als Methylgruppendonor zurück zu Methionin verstoffwechselt werden (Handy et al. 2011, Abb. 2). Da MTHFR maßgeblich auch an der Purin- und Pyrimidinbiosynthese beteiligt ist (Abb. 2), führen ein Mangel an Folsäure und/oder Vitamin B12 sowohl zu einer Hemmung der Re-Methylierung und somit Anhäufung von Homozystein als auch zu einer verminderten DNA-Biosynthese wie im Falle der megaloblastären Anämie. Im Falle einer Akkumulation von Hcy oder AdoHcy werden Transmethylierungs-Reaktionen im Sinne einer Produkthemmung inhibiert (Handy et al. 2011).

Die Ergebnisse mehrerer Studien deuten darauf hin, dass DNA-Hypomethylierung und erhöhte Hcy-Spiegel mit Gefäß-Erkrankungen vergesellschaftet sind (Handy et al. 2011). So konnten z.B. Ingrosso et al.(2003) bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen am Menschen eine Assoziation zwischen erhöhten Serum-Hcy-Spiegeln und reduzierten globalen DNA-Methylierungsmustern in Lymphozyten nachweisen. Von Wilmanns et al. konnte 2011 jedoch

keine Assoziation zwischen dem Serum-Hcy-Spiegel und dem Vorliegen des *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus gefunden werden.

Neben AdoHcy können verschiedene andere Faktoren die DNA-Methylierung verändern. Dazu zählen das zelluläre Wachstum und die DNA-Replikation, die Zugänglichkeit des Chromatins, die lokale Verfügbarkeit von AdoMet, Ernährungsfaktoren wie die Folsäuresupplementation, die Dauer und der Grad der Hyperhomocysteinämie, Dyslipidämien, oxidativer Stress und das Altern (Handy et al. 2011).

## 2.8 CEAP-Klassifikation

Kistner et al. stellten 1996 die CEAP-Klassifikation für die *Chronic Venous Disease* (CVD) vor. Klinische (C), ätiologische (E), anatomische (A), und pathophysiologische (P) Eigenschaften der CVD werden dabei bestimmt und unterschieden (Hach et al. 2006). Die CEAP-Klassifikation wurde 2004 nochmals von Eklöf et al. (2004) aktualisiert und wird mittlerweile international als Standard wissenschaftlicher Verständigung genutzt (Hach et al. 2006).

Tabelle 1: Die CEAP-Klassifikation (Eklöf et al. 2004)

C0	keine sichtbaren oder tastbaren Zeichen einer Venenerkrankung	
C1	Besenreiser oder retikuläre Varizen	
C2	Krampfadern	
C3	Ödem	
C4a	Pigmentierung oder Ekzem	
C4b	Lipodermatosklerose oder Athrophie blanche	
C5	Abgeheiltes venöses Unterschenkelgeschwür (Ulcus cruris)	
C6	Aktives venöses Unterschenkelgeschwür (Ulcus cruris)	
Ätiologische Klassifikation	Anatomische Klassifikation	Pathophysiologie
Ec: angeboren	As: oberflächliche Venen	Pr: Reflux
Ep: primär	Ap: Perforansvenen	Po: Obstruktion
Es: sekundär	Ad: tiefe Venen	PR, O: Reflux und Obstruktion
En: keine venöse Ursache nachweisbar	An: keine venösen Veränderungen nachweisbar	Pn: keine venöse Pathophysiologie nachweisbar

## **2.9 Einfache und komplizierte Varikose**

Prinzipiell lässt sich die primäre Varikose in unkomplizierte und komplizierte Verläufe unterteilen. Komplikationen können dabei zu jedem Zeitpunkt, früh oder spät, auftreten. Die in der Regel immer tast- und sichtbare Varikose stellt für viele Betroffene zunächst einmal überhaupt kein Problem dar. Sie kann aber auch als kosmetisch störend empfunden werden oder aber auch durch venöse Vorwölbungen gerade im Bereich der Beugefalten wie auf Höhe des Kniegelenkes lokale Beschwerden verursachen. Trotzdem werden diese Verläufe als einfache oder unkomplizierte Varikose, CEAP C2, zusammengefasst. Komplizierte Verläufe im engeren Sinn treten durch Blutungskomplikationen, Thrombose oder ein peripheres Stauungssyndrom bis hin zum Ulcus CEAP C3-C6 auf. Während die unkomplizierten Verläufe eine relative Therapieindikation darstellen, stellen die komplizierten Verläufe, solange dies die lokalen Gewebeverhältnisse und die Ko-Morbiditäten des Patienten noch zulassen, eine absolute chirurgischen Therapieindikation dar. Ob sich komplizierte Verläufe anhand von Stammbaumanalysen und molekulargenetischer Untersuchungen vorhersagen lassen, ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit (Wilmanns et al. 2015). Aus molekulargenetischer Sicht kann möglicherweise auch das Rezidiv den komplizierten Verläufen zugerechnet werden (Wilmanns et al. 2015).

## **2.10 Komplikationen – Varikophlebitis, Ulcus cruris, Rezidiv-Varikose und Blutung**

Eine akute und wichtige Komplikation insbesondere der Stamm-Varikose vom VSM-/VSP-/Typ ist die Varikophlebitis-/ Varikothrombose. Hier handelt sich um eine Thrombose im oberflächlichen Venensystem in Kombination mit Infektion. Der Thrombus kann über die Mündungsregionen der Stammvenen in Leiste und Kniekehle oder über insuffiziente transfasziale Vv. perforantes in das tiefe Venensystem ascendieren und es kann eine Tiefe Beinvenenthrombose (TBVT) auftreten. Die Inzidenz einer Lungenembolie (LE) nach einer Oberschenkel-Varikophlebitis beträgt 10,1% (Zollinger et al. 1962). Das Risiko einer TBVT bei Varikophlebitis liegt in der Literatur zwischen 3-20%. Lutter et al. 1991 berichteten über 186 Patienten mit Varikophlebitis der Stammvenen, Perforansvenen und variköser Seitenäste, von denen 57 (31%) eine Komplikation hatten. Von diesen hatten 21,5% eine TBVT und 4% eine LE.

Die Ursache einer Phlebitis können externe Traumata sein (Verrel et al. 1999). Durch die Verletzung bilden sich ein Gefäßwandödem, eine Leukozyteninfiltration und eine Kollagen-Freilegung. Dadurch werden die betroffenen Endothelzellen abgestoßen und es kommt zur Entstehung einer Thrombose. Andere Ursachen für die Thrombophlebitis sind Wandinfiltrationen durch maligne Erkrankungen wie primäre Gefäßtumoren, hämatologische Erkrankungen, mangelnde fibrinolytische Aktivität des Plasmas und primäre Venenwandinfektionen (z.B. Thrombangitis obliterans, Verrel et al. 1999).

Die Varikophlebitis wird nach Steckmeier klassifiziert als: Typ I, wenn die Varikophlebitis keine Beteiligung mit den Mündungen der VSM und/oder VSP und des tiefen Venensystems hat, Typ II, wenn der kraniale Thrombusanteil die Einmündung des VSM und/oder VSP erreicht, Typ III, wenn der Thrombusanteil über die Mündung der VSM und/oder VSP in das TVS hineingeht und Typ IV, wenn der Thrombus das TVS transfaszial über insuffiziente V. Perforans erreicht (Verrel et al. 1999). Die Typen I und IV werden initial konservativ behandelt. Eine operative Versorgung erfolgt hier nach Abklingen der akuten Symptomatik. Die Typen II und III werden primär operiert, um eine potentiell lebensbedrohliche Lungenembolie zu vermeiden (Verrel et al. 1999).

Eine andere Komplikation der Varikose ist das chronische Ulcus (Stauungssyndrom, CEAP C3-6), das sogenannte Ulcus cruris oder „offene Bein“ im Volksmund (Noppeney-Nüllen 2010). Es handelt sich um einen Gewebsdefekt, der länger als 8 Wochen besteht. Durch die Hämostase und die Erhöhung des Drucks in den Venen kommt es zur Bildung eines Ödems (Noppeney et al. 2010). Das Ödem spannt anschließend die Haut, die irgendwann dem Druck nicht mehr Stand halten kann und platzt (Beebe-Dimmer et al. 2005; Thomsen et al. 2008). In der Arbeit von Labropoulos (1995) hatten 50% aller Patienten mit Ulcus einen venösen Reflux sowie 60% einen Reflux in der Perforansvenen. Die Prävalenz des Ulcus cruris liegt bei 0,12-1,1% unter Erwachsenen (Graham et al. 2003; Slezak et al. 2004). In der Tübingen Studie (1979) hatten 2,7% der deutschen Bevölkerung ein florides oder abgeheiltes Unterschenkelgeschwür (Fischer et al. 1981). Laut der Bonner Venenstudie (Rabe et al. 2003) mit 3072 Probanden lag die Häufigkeit des floriden oder abgeheilten Ulcus cruris bei 0,7%. 13,4% der Betroffenen wiesen ein prätibiales Ödem auf. Über 1 Milliarde Euro Kosten für die stationäre und 0,61 Milliarden Euro Kosten für die ambulante



Behandlung des Ulcus cruris muss die gesetzliche Krankenversicherung in Deutschland jährlich bezahlen (Noppeney et al. 2010).

Das Ulcus cruris hat große Auswirkungen auf die Lebensqualität und Mobilität der betroffenen Patienten (Klyscz et al. 1998). Bei ca. 50% der Patienten dauert es bis zur kompletten Heilung 1 Jahr, bei 20% 2 Jahre und bei 8% über 5 Jahre (Noppeney-Nüllen 2010). Aufgrund von Schmerzen wird das ulzerierte Bein nicht so viel belastet. Die kostenpflichtigen Maßnahmen der Wundversorgung sind in der Regel erfolglos, da die Wundheilung der Ulcus cruris auf Zellularebene geschädigt ist (Singh et al. 2010). Eine chirurgische Wundtoilette / ein Wunddebridement kombiniert mit einer Hauttransplantation (Mesh-Graft) ist in den meisten Fällen erforderlich (Gottrup 2004).

Bei der Rezidiv-Varikose als weitere Komplikation sind folgende Faktoren zu berücksichtigen: a) die inkomplette oder inadäquate Therapie durch eine nicht gut erkennbare Pathophysiologie oder das Versagen einer technisch radikalen operativen Versorgung und b) die Progression der primären Varikose (Perrin et al. 2000). Allerdings gibt es keine wissenschaftliche Basis bezüglich der Mechanismen der Progression. Empirische Daten weisen auf eine tragende Rolle des Geschlechts, des Alters, des Berufs, der Ernährung, der sportlichen Aktivität, des hormonellen Status, der genetischen Disposition und des venösen Refluxes hin (Perrin et al. 2000).

In der Arbeit von Perrin et al. (2000) wurden 145 Beine bei 105 Patienten mit symptomatischen Rezidiv-Varizen untersucht. Die Mehrheit der Patienten (82%) hatte eine primär operative Therapie gewünscht. Die Symptome waren Schmerzen (82%), kosmetisches Bild (52%), Ödem (48%) und Ulzeration (11%). Quigley et al. (1994) werteten 100 Beine bei 70 Patienten mit Rezidiv-Varizen aus. Die Hauptsymptomatik war die Hautveränderung (40% der Patienten), der Schmerz (37% der Patienten) und das Ödem (35% der Patienten). Die Ulzeration (29% der Patienten), das kosmetische Bild (20% der Patienten) und die Blutung (2% der Patienten) wurden seltener beobachtet (Quigley et al. 1994).

In unserer gemeinsamen Arbeit in EbioMedicine wurden Hinweise für eine genetische Assoziation der drei Komplikationen (Thrombose, Stauungssyndrom, Rezidiv) mit den beiden

häufigen *MTHFR*-Polymorphismen c.677C>T und c.1298A>C gefunden und für die Komplikation Stauungssyndrom (CEAP C3-6) auch belegt (weitere Ausführungen hierzu s.u.).

Eine vierte typische und gar nicht so seltene Komplikation ist die Krampfadernblutung. Diese tritt häufig bei Patienten mit einer Stammvarikose auf, oftmals auch bei Patienten ohne jedes Zeichen eines Stauungssyndroms; für einen genetischen Bezug liegen bisher keine Hinweise vor. Die Blutung tritt in erster Linie bei älteren Personen auf, die ihr Krampfadernleiden lebenslang ignoriert oder nicht behandeln lassen haben.

## **2.11 Diagnose**

Aus der Anamnese können Informationen wie familiäre Belastung, Dauer und Ausprägung der Erkrankung, Risikofaktoren, thromboembolische Ereignisse, vorausgegangene Operationen und Komplikationen gewonnen werden (Noppeney et al. 2010). Wie bei jeder Erkrankung ist die klinische Untersuchung mit Inspektion, Palpation und klinischen Funktionstesten (Trendelenburg, Perthes, Schwartz, Mahoner-Ochsner) von größter Bedeutung. Die (Farb-) Duplexsonografie ist heute als Standarddiagnostik anzuwenden. Mit der Duplexsonografie kann die Klappenfunktion sowohl des epi- als auch des subfaszialen Venensystem beurteilt werden. Die Duplexsonografie ist im Vergleich zur Phlebographie mit Kontrastmittel und den daraus erwachsenden Komplikationsmöglichkeiten nicht invasiv. Auch sind anhand der Duplexsonographie durch Flussmessung und Refluxbestimmung sämtliche hämodynamische Phänomene darstellbar, die bei der Phlebographie insbesondere im Bereich der nicht im direkten Abstromgebiet liegenden insuffizienten Perforansvenen mitunter verborgen bleiben. Die farbkodierte Duplexsonographie besitzt daher heutzutage in der Erfassung aller Qualitäten die höchste Sensitivität und Spezifität, während die Phlebographie lediglich noch als Reserveuntersuchung, beispielsweise bei sehr adipösen Patienten, Anwendung findet (Noppeney et al. 2010). Ein Reflux von mehr als 0,5 Sekunden in den oberflächlichen und tiefen Venen wird in der Dopplersonografie als pathologisch angesehen (Oklu et al. 2012), einer von mehr als einer Sekunde im Duplex wird als „cutoff point“ in den femoropoplitealen Venen betrachtet (Oklu et al. 2012). Für insuffiziente Perforansvenen (IPVs) wird ein pathologischer Reflux ab >350ms angegeben (Whiteley et al. 2014). Neben der Duplexsonografie hat die Photoplethysmographie (PPG), früher oft auch als Lichtreflexionsrheographie (LRR) benannt, eine große Akzeptanz im klinischen Alltag

gefunden (Noppeney et al. 2010). Durch dieses Verfahren wird die Muskelpumpenwirksamkeit bei CVI mit Hilfe eines photoplethysmographischen Imaging-Systems bestimmt (Noppeney et al. 2010). Die Venenverschluss-Plethysmographie (VVP) misst die Abflusskinetik von gestautem venösem Blut einer Extremität. Dadurch können Aussagen über die venöse Funktion gemacht werden. Die neuen Techniken MRT und CT werden zur Beurteilung der zentralen Venen, z.B. Vena cava, und zum Ausschluss einer Lungenembolie, Thrombose oder Dysplasie eingesetzt (Noppeney et al. 2010).

## **2.12 Therapie**

Zur Therapie der primären Varikose kommen prinzipiell konservative und operative Verfahren in Betracht. In den letzten Jahren haben zunehmend auch endovenöse und minimal-invasive Verfahren Eingang gefunden und teilweise klassische operative Techniken verdrängt. Die Therapieentscheidung wird nach Ausmaß und Beschwerdebild, sowie nach Patientenwunsch getroffen. Absolute Operations-Indikationen bestehen im Fall von Varizenblutungen, Ulcera cruris, oberflächlichen Thrombophlebitiden, Ekzemen, Indurationen und Stauungsbeschwerden (Jugenheimer 2004). Relative Kontraindikationen sind Bettlägerigkeit, Schwangerschaft oder Adipositas. Absolute Kontraindikationen sind eine pAVK, ein postthrombotisches Syndrom, ein Lymphödem oder lokale Infektionen (Jugenheimer 2004). Als konservative Therapieoptionen kommen die Kompressionstherapie und venotonische Maßnahmen wie Wechselbäder oder medikamentöser Art (Ödemprotektiva, Diuretika, Salben, Sprays, Gels) in Frage, als operative oder invasive Techniken die Sklerosierung / Verödung, die Crossektomie, das Stripping der Vena saphena magna / Vena saphena parva, die Perforansligatur, die Seitenastexhairese und endovenöse Verfahren (Radiofrequenzablation, Lasertherapie - Kluess et al. 2004). Wichtigster Eingriff in der Varizenchirurgie ist die Crossektomie und das Stripping der Stammvenen. Eine Rezidiv-Varikose kann auch nach unvollständiger Crossektomie auftreten (Jugenheimer 2004). Neuere Strippingverfahren werden durch die Invaginationstechnik oder ein Kryostripping repräsentiert (Jugenheimer 2004).

Die Seitenastexhairese ist zeitaufwendig und in ihrer funktionellen Bedeutung verhandelbar (Jugenheimer 2004). Komplikationsmöglichkeiten sind: allergische Reaktion, Flimmerskotome im Fall der Sklerosierungstherapie, Pigmentstörungen und Hautnekrosen

im Fall der endovenösen Verfahren sowie Schmerzen, Nachblutung, Thrombophlebitis, Nervenschädigung und venöse Thromboembolie im Falle aller invasiven Techniken (Kluess et al. 2004).

Für eine Krossektomie und Stripping der Vena saphena magna wird eine ca. 3-4 cm große Hautinzision an der Leiste durchgeführt. Die Vena saphena magna wird mit ihrer Mündung in das tiefe Venensystem dargestellt. Einmündende Seitäste werden zwischen Ligaturen durchtrennt. Die Vena saphena magna (VSM) wird abgesetzt. Meistens gibt es eine Vena accessoria medialis, die entsprechend mitentfernt werden sollte. Die Strippsonde wird in der Vena saphena magna bis infragenual vorgeschoben und über eine getrennte Inzision ausgeleitet. Die Seitenäste werden durch zusätzliche Stichinzision exhairiert. Es erfolgt das Strippen der Vena saphena magna unter Kompression des Magnabettes für die Dauer von 5 Minuten. Die entfernte Vena saphena magna wird auf Vollständigkeit überprüft. Eine Redondrainage kann in der Leiste eingelegt und im Magnabett platziert werden. Die Haut wird subkutan verschlossen und intrakutan genäht. Das operierte Bein wird mit einem Kompressionsstrumpf versorgt.

### **2.13 Kopplungs- und Segregations-Analyse**

Als Kopplungsanalyse bezeichnet man eine Methode zur Lokalisation und Identifizierung von mit monogenen Erkrankungen assoziierten Genen oder von mit komplexen Erkrankungen assoziierten Hauptgenen (Bickeböller et al. 2007). Sie verfolgt das Prinzip, dass sich ein zu identifizierendes Gen in enger Nachbarschaft des Markers befindet, wenn der genetische Marker und das krankheitsassoziierte Gen gemeinsam vererbt werden. Wichtige Verfahren der Kopplungsanalyse sind die genomweite Suche und die Analyse von Kandidatengenen. Bei der genomweiten Suche (*genome wide association studies*, GWAS) wird das gesamte Genom mit gleichmäßig verteilten Markern analysiert, um die Lokalisation des disponierenden Gens zu finden, soweit man keinen Hinweis auf die der Erkrankung zugrunde liegenden pathophysiologischen Abläufe hat. Bei Vorhandensein von Hinweisen auf eine funktionelle Verbindung zwischen bestimmten Genen und der Erkrankung, spricht man von sog. Kandidatengenen, die einzeln oder in Form von mehreren Genen in Kandidatengen-Regionen Risikofaktoren für die Erkrankung darstellen. Die ursächliche Assoziation des Kandidatengens mit der Erkrankung muss im Rahmen der Kandidatengenen-Analyse belegt werden. Bei genomweiten oder zum Teil auch bei

(Kandidaten-) regionsspezifischen Analysen werden die aussagekräftigen Genotypen (Mutationen) des disponierenden Gens nicht direkt sichtbar. In oder in enger Nachbarschaft des Kandidatengens lokalisierte Polymorphismen werden als genetische Marker für dessen Identifizierung verwendet (Bickeböller et al. 2007).

Genetisch-epidemiologische Studien betrachten eine positive Familienanamnese als Risikofaktor für die Expression der Krankheit (Bickeböller et al. 2007), um eine genetische oder eine gemeinsame nicht-genetische Ätiologie (Umwelt, soziale Faktoren) zu identifizieren. Es wird die sogenannte familiäre Aggregation, die Häufung der erkrankten Personen pro Familie, bestimmt und geprüft, ob diese höher als die Häufigkeit der Erkrankung in der Allgemeinbevölkerung ist. Anschließend wird die Segregation, die Aufspaltung und Verteilung der beiden Allele des jeweiligen Gens von den Eltern auf deren Kinder analysiert, um das Vorhandensein eines Mendelschen Hauptgens zu belegen. Die Segregationsanalyse kalkuliert die Wahrscheinlichkeit der vorliegenden Phänotypen unter Berücksichtigung der vorhandenen Familienstruktur und hypothetischer Parameter für das genetische Modell (Erbgang). Zur Identifizierung des Erbgangs erfolgt die Bestimmung des sogenannten Segregationsanteils (*segregation ratio*) in einer Stichprobe von Kernfamilien mit der Erkrankung im Vergleich zu dem bei einem konkreten Erbgang zu erwartenden Segregationsanteil. Der Segregationsanteil beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass ein Kind erkrankt, unter Berücksichtigung der Genotypen der Eltern ( $p_s = P(\text{Kind erkrankt} / \text{Genotypen der Eltern})$ ); Bickeböller et al. 2007).

#### 2.14 Formel von Bayes

Im Jahr 1763 legte der Philosoph, Theologe und Mathematiker Thomas Bayes aus Südengland mit seiner berühmten Formel die Grundlage für die Risikoberechnungen und das Konzept der Wahrscheinlichkeiten (Bickeböller et al. 2007).

$$P(A/B) = P(B/A) \cdot P(A) / P(B)$$

Hierbei ist  $P(A/B)$  die Wahrscheinlichkeit des Ereignisses A, wenn B eingetreten ist.  $P(B/A)$  die Wahrscheinlichkeit des Ereignisses B, wenn A eingetreten ist.  $P(A)$  die A-priori

Wahrscheinlichkeit des Ereignisses A und P(B) die A-priori Wahrscheinlichkeit des Ereignisses B (Bickeböllner et al. 2007).

Die sogenannte Penetranz definiert die Beziehung zwischen Genotyp und Phänotyp als die Wahrscheinlichkeit der Ausprägung eines Phänotyps bei Vorliegen eines bestimmten Genotyps (Bickeböllner et al. 2007). Für einen Genort D (mit den n Allelen  $D_1, D_2, \dots, D_n$ ) und einem Phänotyp erkrankt/nicht erkrankt wird die Penetranz unter Berücksichtigung der Allelhäufigkeit  $P(D_r)$  (mit  $r = 1, \dots, n$ ) durch folgende Formel beschrieben:

$$f_{rs} = P(\text{erkrankt} / D_r D_s) \text{ mit } r, s = 1, 2, 3 \dots n$$

Wenn alle Träger des disponierenden Allels erkrankt sind, ist die Penetranz vollständig. Im Falle einer unvollständigen oder reduzierten Penetranz erkranken nicht alle Personen, die den entsprechenden Genotyp tragen (Bickeböllner et al. 2007).

## **2.15 Autosomal-dominant vererbte Erkrankungen**

Wenn eine Erkrankung auf Grund einer einzelnen genetischen Information in voller Ausprägung auftritt, dann spricht man von einer dominanten Vererbung. Autosomal bedeutet, dass das Gen nicht auf einem Geschlechts (X- oder Y)- Chromosom, sondern auf einem Autosom liegt (Tariverdian et al. 2004). Kinder eines Patienten mit einer autosomal-dominanten Erkrankung haben ein Erkrankungsrisiko von 50%. Tritt das Merkmal bei Kindern gesunder Eltern auf, spricht man von einer sporadischen Mutation oder Neumutation. Neumutationen sind in der Natur nicht selten. Beispiele autosomal-dominant vererbter Erkrankungen sind die Chorea Huntington, die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP), das Lynch (HNPCC- (*hereditary non-polyposis colorectal cancer*)-Syndrom sowie das Marfan-Syndrom (Tariverdian et al. 2004).

### 3. Publikation

In der Januar-Ausgabe von *EbioMedicine* (Wilmanns et al. 2015) berichteten wir über 116 Patienten mit einer primären Varikose, darunter 53 mit einer Stammvarikose, 24 mit einer Perforansvarikose, 23 mit einer kombinierten Stamm- und Perforansvarikose sowie 36 Kontrollen mit einer Karotisstenose oder einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, bei denen wir eine signifikante Korrelation der Polymorphismen c.677C>T und c.1298A>C des *MTHFR*-Gens mit den Phänotypen Stamm- und/oder Perforansvarikose, sowie deren komplizierter Verläufe nachweisen konnten. Anhand eines logrank-Tests konnte der c.677C>T-Polymorphismus einer Mündungsklappeninsuffizienz mit axialem Reflux (Stammvarikose,  $p < 0,01$ ) und der c.1298A>C-Polymorphismus der Perforansvarikose ( $p < 0,01$ ) sowie einem Progress zu den komplizierten Verläufen CEAP C3-C6 ( $p < 0,01$ ) zugeordnet werden. Bei Patienten mit einem doppelt heterozygoten Genotyp c.677C>T und c.1298A>C trat eine kombinierte Stamm- und Perforansvarikose auf. Die Ergebnisse geben weiter Aufschluss über eine mögliche pathogenetische Zuordnung des Krampfaderrezidivs. Rezidive vom Mündungstyp waren eher mit dem c.677C>T-Polymorphismus und Rezidive vom Perforanstyp mit dem c.1298A>C-Polymorphismus vergesellschaftet. Ein Zusammenhang des c.677C>T-Polymorphismus mit der Varicophlebitis konnte anhand eines Vergleiches mit geeigneten Kontrollkollektiven in Voruntersuchungen belegt werden. Die Ergebnisse deuten auf eine umfassende Korrelation der *MTHFR*-Polymorphismen c.677C>T und c.1298A>C mit den beiden morphologischen Phänotypen der primären Varikose sowie deren Progression zu komplizierten Verlaufsformen hin. Eine Korrelation der Perforansvarikose mit den CEAP-Stadien C3-6 wird unterstellt (Tabelle 2).

Für diese Publikation habe ich bei 36 Patienten aus Duisburg die Familienanamnese erhoben sowie die körperliche Untersuchung und die Aufklärung über die Studie und die Operation durchgeführt. Im Johanniter-Krankenhaus in Duisburg-Rheinhausen im Operationssaal habe ich teilweise operiert und teilweise assistiert, um die Proben zu gewinnen. Zusammen mit Herrn [REDACTED] haben wir die Proben für die weiteren Laboranalysen ins Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz transportiert. Zudem war ich an der Sammlung, Sortierung und Analyse der für die Studie verwendeten Daten aus den Patientenakten des Maria-Hilf-Krankenhauses in Daun bzw. des Johanniter-Krankenhauses in Duisburg-Rheinhausen maßgeblich beteiligt.

Tabelle 2: Dominierende Varizen-Morphologien und Komplikationen in Abhängigkeit von den c.677C>T/c.1298A>C-MTHFR-Diplotypen (Wilmanns et al. 2015).

1298 677	AA	A C	CC
CC	Unkomplizierte Varikose	Perforans-Varikos	Perforansvar. CEAP C3-6, Rezidiv
CT	Stammvarikose	Stamm- und Perforans-Varikose	
TT	Stammvar. Varikophlebitis, CEAP C3-6 Rezidiv		

## 4. Material und Methoden

### 4.1 Gewinnung des Materials

Von April 2011 bis April 2014 wurden in zwei Krankenhäusern, dem Maria-Hilf-Krankenhaus in Daun und dem Johanniter-Krankenhaus Duisburg-Rheinhausen alle Patienten mit einem primären Krampfaderleiden befragt, ob sie an einer Studie zur genetischen Ursache des primären Krampfaderleidens teilnehmen möchten. In der präoperativen Sprechstunde wurden entsprechende Einwilligungsbögen (siehe Anhang) bereitgehalten, die den Patienten vorgelesen oder mitgegeben wurden. Nahezu alle Patienten haben mit Unterschrift



zugestimmt. Von 159 Patienten konnten Blutproben und Gewebeproben durch operative Entfernung der Krampfadern oder Konservierung von überschüssiger Vena saphena magna nach autologen Venenrekonstruktionen gewonnen werden. 36 Patienten kamen aus Duisburg und 123 aus Daun. Eine Blutprobe (5ml EDTA-Blut) aus der präoperativen Routinediagnostik und das Venenmaterial wurden bis zu 24 Stunden bei -20°C und danach bei -80°C in Daun in einem im Krankenhaus vorhandenen Tiefkühlaggregat und in Duisburg im Institut für Pathologie des Bethesda Krankenhauses in einem hier ebenfalls vorhandenen entsprechenden Tiefkühlaggregat gelagert. Mit dem Leiter des pathologischen Institutes wurde zuvor im Rahmen eines gemeinsamen Termines eine entsprechende Vereinbarung getroffen. Zusätzlich wurde ein genetischer Anamnesebogen zusammen mit den Patienten ausgefüllt. Der Homozystein-Spiegel wurde aus der Blutprobe der Patienten ebenfalls bestimmt.

Als Vergleichskollektiv dienten Patienten mit einer autologen venösen Patch- oder Bypass-Rekonstruktion im Rahmen von Revaskularisationen bei Carotisstenose oder bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit, falls überschüssiges Venenmaterial vorhanden war. Die Nutzung der Daten und die Lagerung des Probenmaterials im Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz erfolgten pseudonymisiert. Blutproben und Venenmaterial wurden unmittelbar nach Entnahme bei -20°C gelagert. Der Transport der Proben erfolgte jeweils auf Trockeneis.

#### **4.2 DNA-Extraktion und Genotypisierung**

Für die Extraktion von DNA aus tiefgefrorenem Venenmaterial wurde eine Standard-Aussalzmethode verwendet (Cooper 2012). Die Extraktion von DNA aus EDTA-Blut wurde mit Hilfe des Puregene-Kits (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach Protokoll durchgeführt (Cooper 2012).

Die Genotypisierung der Patienten für die beiden *MTHFR*-Polymorphismen *MTHFR*-c.677C>T und c.1298A>C wurde am Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) und anschließender Pyrosequenzierung durchgeführt (Cooper 2012).

### 4.3 Erstellung von Stammbäumen

Alle 159 Patienten erhielten entweder persönlich oder mit der Post einen Anamnesebogen (siehe Anhang) zur Erstellung der Stammbäume. An 30 Patienten wurden Fragebögen verschickt, 23 davon haben geantwortet. Bei 117 Patienten wurde ein Telefon-Interview durchgeführt. Sechs Patienten haben telefonisch die Auskunft verweigert, zwei Patienten waren bereits verstorben und bei einem Patienten war die Telefonnummer falsch. Damit konnten von 131 Patienten Stammbäume erstellt werden. Sechs Patienten wurden aufgrund diagnostischer Überlappungen (5) und einer systemischen Thrombophlebitis ohne Anzeichen einer primären Varikose (siehe dazu auch die EbioMedicine-Publikation 2015) von der weiteren Auswertung ausgenommen, sodass 125 Stammbäume für die weitere Analyse verblieben. 89 Stammbäume stammen aus Daun und 36 Stammbäume aus Duisburg. 30 Stammbäume stammen von einer unkomplizierten Varikose, 68 Stammbäume stammen von einer komplizierten Varikose und 27 von Kontrollen. In den ermittelten Stammbäumen sind Daten von 892 Personen enthalten, 225 in Stammbäumen von Patienten mit einer unkomplizierten, 484 in Stammbäumen von Patienten mit einer komplizierten Varikose und 183 in Stammbäumen von Kontrollen. Die Daten wurden über die P-/, F1-/, F2-/ und Großeltern-/ Generation erhoben. Es wurde nach Krampfadern, Operationen derselben, Ulcus, Verfärbung oder narbige Veränderungen der Unterschenkel und einer Krampfaderthrombose gefragt.

Die Teilnehmer wurden gefragt, ob sie eine familiäre Prädisposition für Krampfadern haben, ob Eltern Geschwister oder Kinder an Krampfadern leiden oder litten, oder ob es Verwandte 2. Grades (Enkel, Cousin/ Cousine, Tanten/Onkel und Großeltern) mit diesen Leiden gibt oder gab (Fragebogen 1 - siehe Anhang 9.4). Außerdem wurden die Krankheitsdauer bis zur Operation, bereits erfolgte Varizenoperationen, beidseitige oder einseitige Erkrankung der Venen, stattgehabte tiefe oder oberflächliche Thrombosen und Ulzerationen an den Unterschenkeln, sowie Symptome im Sinne einer Beinschwellung besonders am Abend mit morgendlicher Besserung erhoben (Fragebogen 2 - siehe Anhang 9.5).

Für die Bestätigung und Richtigkeit der angegebenen mündlichen Daten wurde eine CTA (chirurgische technische Assistentin)-Schülerin Frau [REDACTED], aus der chirurgischen Klinik I des Johanniter-Krankenhauses Duisburg-Rheinhausen eingesetzt.

Die Tatsache eines bereits für die Fragestellung vorhandenen Bewusstseins nach erfolgter Zustimmung zur Teilnahme an der *MTHFR*-Genanalyse hat wahrscheinlich zu realitätsgetreuen Angaben im Rahmen der Stammbaum-Erhebung beigetragen. 4 beispielhafte Stammbäume sind in Abbildung 3 dargestellt.

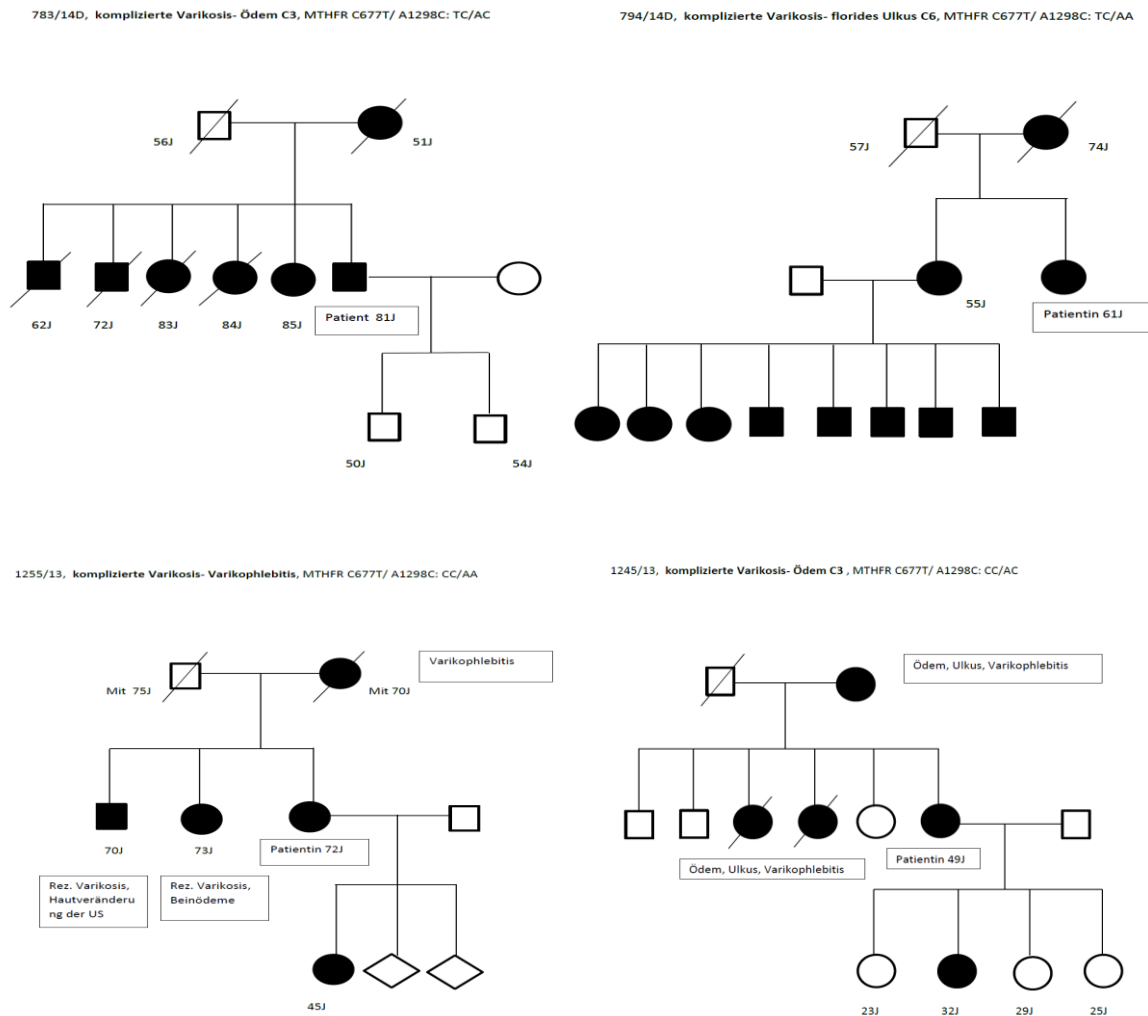


Abbildung 3: Stammbaum-Beispiele, Quadrat = männlich, Kreis = weiblich, Raute = Geschlecht unbekannt, schwarz schattiert = betroffen, nicht schattiert = nicht betroffen, schwarze diagonale Linie über dem Symbol = verstorben

#### **4.4 Angewendete Programme**

Die statistische Auswertung unserer Publikation (Korrelation des *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus mit der komplizierten Varikoseform CEAP 3-6,  $p < 0,001$ ) wurde mit dem R-Programm durchgeführt (Wilmanns et al. 2015). Die Art der Vererbung wurde mit Hilfe eines Programms, welches den Namen SAGE (Statistical Analysis for Genetic Epidemiology) trägt aus der Universität von Cleveland Ohio untersucht. Es wurde von Herrn Robert Elston im Jahr 2006 entwickelt (Bickeböller et al. 2007). Das Programm führt Segregations-, Kopplungs- und Assoziationsanalysen durch (Bickeböller et al. 2007). Die weiteren Analysen in dieser Doktorarbeit wurden mit dem Programm SPSS (englische Version 23) durchgeführt. Für den Vergleich der Anteile wurde der Pearson Chi-Quadrat-Test und im Falle kleinerer Gruppengrößen auch der Fisher's exact Test benutzt. Für den Vergleich der Mittelwerte zwischen zwei Gruppen, wurde der Student-t-Test benutzt. Alle Vergleiche erfolgten zweiseitig. Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert kleiner als 0,05 angenommen ( $p < 0,05$ ).

### **5. Ergebnisse**

Die Ergebnisse gliedern sich in einen deskriptiven und in einen statistischen Teil.

#### **5.1 Beschreibung**

##### **5.1.1 Stammbäume mit Varikose**

Pro Stammbaum wurden bei den Varikosepatienten im Median 7 [3;14] Personen dokumentiert. Davon wiesen im Median 3 [1;11] eine Varikose auf. Unter den Kontrollpatienten wurden im Median ebenfalls 7 [3;13] Personen erfasst, davon hatten im Median 0 [0;4] Personen eine Varikose (Tabelle 3).

Insgesamt wurden in den Stammbäumen der Varikosepatienten unter 709 Individuen 281 (25,8%) mit einer Varikose erfasst. Dagegen wurden in den Stammbäumen der Kontrollpersonen unter 183 Personen 19 (10,4%) mit einer Varikose gefunden (Tabelle 3). Der Unterschied im Auftreten von Varikosepatienten in den Stammbäumen von Varikose- und Kontrollpatienten jeweils ohne die Indexpatienten war mit  $p < 0,01$  signifikant.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass es sich um telefonische/schriftliche Angaben der Indexpatienten handelt, wird durch die Inzidenz der Varikose in den Stammbäumen der Kontrollpatienten annäherungsweise die natürliche Inzidenz der Varikose im geographischen Einzugsgebiet der behandelnden Krankenhäuser (Daun und Niederrhein) wiedergegeben.

Tabelle 3: Anzahl untersuchter Personen und an Varikose Erkrankter in den Stammbäumen

	Varikose	Kontrollen
Anzahl der Stammbäume	98	27
Gesamtanzahl Personen in den Stammbäumen	709	183
Ohne Indexpatienten	611	156
Gesamtanzahl Erkrankter in den Stammbäumen	281	19
Ohne Indexpatienten	183	19
Median [Spannweite] der Anzahl der Personen pro Stammbaum	7 [3;14]	7 [3;13]
Median [Spannweite] der Anzahl erkrankter Personen pro Stammbaum	3 [1;11]	0 [0;4]

Varikosepatienten in den Stammbäumen ohne Indexpatienten:  $\chi^2=12,9$ ,  $p<0,01$

In den Stammbäumen der Varikosepatienten wurden 26 Mal zwei Generationen, 64 Mal drei Generationen und drei mal vier Generationen erfasst. Informationen über Geschwister der Eltern wurden fünfmal dokumentiert, dreimal in Stammbäumen mit zwei und fünfmal in Stammbäumen mit drei Generationen. Hervorzuheben ist ein Stammbaum einer Indexpatientin mit komplizierter Varikose, in dem alle acht Kinder der Schwester der Indexpatientin betroffen waren. Ferner wurde eine Familie mit komplizierter Varikose

gefunden, in der alle Geschwister (drei weiblich, zwei männlich) des Indexpatienten erkrankt waren (Tabelle 4).

Tabelle 4. Anzahl der Generationen pro Stammbaum (Varikosepatienten)

Anzahl Generationen	Anzahl Stammbäume	Geschwister der Elterngeneration (Stammbäume)
2	26	3
3	64	5
4	4	-

### 5.1.2 Komplizierte Verläufe

Eine Varikose wurde in den Stammbäumen der 68 Indexpatienten mit komplizierten Verläufen bei 200 von 484 Personen (41,3%) dokumentiert, in den Stammbäumen der 30 Indexpatienten mit unkomplizierten Verläufen bei 85 von 225 Personen (37,7%), und in den Stammbäumen der 27 Kontrollpatienten bei 19 von 183 Personen (10,3%). Eine komplizierte Varikose (Rezidiv, Varikothrombose, CEAP C3-6) wurde bei 23 Personen in den 68 Stammbäumen (33,8%) der Indexpatienten mit komplizierter Varikose, bei 5 Personen in den 30 Stammbäumen (16,6%) Indexpatienten mit unkomplizierter Varikose und bei 2 Personen in den 27 Stammbäumen (7,4%) der Kontroll-Indexpatienten festgestellt. Diese Verteilung lässt eine Vererbung der Varikose mit höherer Penetranz im Falle der komplizierten Verläufe vermuten (Tabelle 5).

Tabelle 5. Anteil der Varikosepatienten mit weiteren Komplikationen in den Stammbäumen von Kontrollen bzw. Indexpatienten mit einer unkomplizierten oder einer komplizierten Varikose (Fragebogen 2).

	Anzahl Stammbäume	Anzahl Personen in den Stammbäumen	Personen mit Varikose in den Stammbäumen*	Personen mit Komplikationen <sup>†</sup>
Kontrollen	27	183	19 (10,3%)	2 (7,4%)
Unkomplizierte Varikose	30	225	85 (37,7%)	5 (16,6%)
Komplizierte Varikose	68	484	200 (41,3%)	23 (33,8%)

\*Prozent der Personen in den Stammbäumen, <sup>†</sup>Prozent der Stammbäume

## 5.2 Demographische und epidemiologische Daten

Die quantitativen Variablen wurden als Mittelwerte (SD) angegeben. Qualitative Variablen wurden als absolute und relative Frequenzen angegeben. Von 125 Index-Patienten mit einem Durchschnittsalter von 63,3 Jahren (SD = 14,3 Jahre) lagen Stammbäume vor. 98 (78,4%) waren Varikose-Patienten und 27 (21,6%) waren Kontrollen (pAVK, ACI-Stenose) (Tabelle 6).

Tabelle 6. Demographische Daten, Stammbaumcharakteristiken

		Gesamtprobe (N=125)	Gruppe		P-Wert Pearson's Chi- Quadrat- Test
			Kontroll- Index (N=27)	Index mit Varikose (N=98)	
			N (%)	N (%)	
<b>Alter, Mittelwert (SD)</b>		63.3 (14,3)	68.6 (10,9)	61.9 (14,8)	<b>0,029**</b>
<b>BMI, Mittelwert (SD)</b>		28.3 (5,8)	25.0 (4,5)	29.2 (5,8)	<b>0,005**</b>
<b>Geschlecht</b>	Männer	56 (44,8)	19 (70,4)	37 (37,8)	<b>0,003</b>
	Frauen	69 (55,2)	8 (29,6)	61 (62,2)	
<b>Varikose</b>	kompliziert	68 (69,4)	-	68 (69,4)	-*
	unkompliziert	30 (30,6)	-	30 (30,6)	
<b>Kompl. Varikose- Varikothrombose</b>	Nein	41 (60,3)	-	41 (60,3)	-*
	Ja	27 (39,7)	-	27 (39,7)	
<b>Kompl. Varikose-(CEAP 3-6)</b>	Nein	28 (41,2)	-	28 (41,2)	-*
	Ja	40 (58,8)	-	40 (58,8)	
<b>Kompl. Varikose-(CEAP)</b>	C3	23 (23,5)	-	23 (23,5)	-*
	C4	6 (6,1)	-	6 (6,1)	
	C6	11 (11,2)	-	11 (11,2)	
<b>Kompl. Varikose-Rezidiv</b>	Nein	49 (72,1)	-	49 (72,1)	-*
	Ja	19 (27,9)	-	19 (27,9)	
<b>Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen</b>	Nein	115 (92)	27 (100)	88 (89,8)	0,117 <sup>+</sup>
	Ja	10 (8)	0 (0)	10 (10,2)	
<b>Komplikation CEAP in den Stammbäumen</b>	Nein	102 (81,6)	25 (92,6)	77 (78,6)	0,158 <sup>+</sup>
	Ja	23 (18,4)	2 (7,4)	21 (21,4)	
<b>Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen</b>	Nein	119 (95,2)	26 (96,3)	93 (94,9)	1,000 <sup>+</sup>
	Ja	6 (4,8)	1 (3,7)	5 (5,1)	
<b>Potentielle Vererbung der gleichen Komplikation</b>	Nein	110 (88)	27 (100)	83 (84,7)	<b>0,040<sup>+</sup></b>
	Ja	15 (12)	0 (0)	15 (15,3)	
<b>Potentielle Vererbung anderer Komplikation</b>	Nein	110 (88)	25 (92,6)	85 (86,7)	0,521 <sup>+</sup>
	Ja	15 (12)	2 (7,4)	13 (13,3)	

\*nicht kalkulierbar wegen fehlender Verteilung, \*\*Student's t-Test, <sup>+</sup>Fisher's exact Test

Indexpatienten mit einer primären Varikose waren signifikant jünger und hatten einen signifikant höheren *Body Mass Index* (BMI) als die Kontroll-Indexpatienten. Frauen überwogen mit 55,2%. 30,6% der Indexpatienten mit Varikose litten an einer unkomplizierten Varikose und 69,4% an komplizierter Varikose. Von den Indexpatienten mit komplizierter Varikose zeigten 39,7% eine Varikothrombose, 58,8% CEAP 3 bis 6 und 27,9% ein Rezidiv.



In den Stammbäumen hatten 8,0% aller Indexpatienten eine Varikothrombose, 18,4% aller Indexpatienten periphere Stauungsbeschwerden CEAP C3-C6 und 4,8% aller Indexpatienten ein Rezidiv. 10,2% der Indexpatienten mit Varikose und 0% der Kontroll-Indexpatienten hatten eine Varikothrombose in den Stammbäumen, 21,4% der Indexpatienten mit Varikose und 7,4% der Kontroll-Indexpatienten eine CEAP in den Stammbäumen, sowie 5,1% der Indexpatienten mit Varikose und 3,7% der Kontroll-Indexpatienten ein Rezidiv in den Stammbäumen. Schließlich hatten jeweils 12% aller Indexpatienten die gleiche oder eine andere Komplikation in den Stammbäumen, dabei 15,3% der Indexpatienten mit Varikose und 0% der Kontroll-Indexpatienten mit gleicher Komplikation bzw. 13,3% der Indexpatienten mit Varikose und 7,4% der Kontroll-Indexpatienten mit einer anderen Komplikation (Tabelle 6).

### 5.3 Assoziationen

#### 5.3.1 Assoziationen zwischen Komplikationen der Indexpatienten und Komplikationen in den Stammbäumen

Tabelle 7a. Varikothrombose

		Kompl. Varikose-Varikothrombose				P Fisher's exact Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen	Nein	37	90,2	23	85,2	0,703
	Ja	4	9,8	4	14,8	

Bei 14,8% der Indexpatienten mit Varikothrombose fanden sich in den Stammbäumen eine oder mehrere Varikothrombosen. Verglichen damit fand sich bei 9,8% der Indexpatienten ohne Varikothrombose, eine Varikothrombose in den Stammbäumen ( $p=0,703$  - Tabelle 7a).

Tabelle 7b. Periphere Dekompensation CEAP C3-6

		Kompl. Varikose-(CEAP 3-6)				P Pearson's $\chi^2$ Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen	Nein	20	71,4	31	77,5	0,569
	Ja	8	28,6	9	22,5	

22,5% der Indexpatienten mit CEAP 3-6 als komplizierte Varikoseform hatten auch einen oder mehrere Fälle mit CEAP 3-6 in den Stammbäumen. Verglichen damit fand sich bei 28,6% der Indexpatienten ohne CEAP 3-6, ein oder mehrere Fälle mit CEAP 3-6 in den Stammbäumen ( $p=0,569$  - Tabelle 7b).

Tabelle 7c. Rezidiv

		Kompl. Varikose-Rezidiv				P Fisher's exact Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen	Nein	46	93,9	17	89,5	0,614
	Ja	3	6,1	2	10,5	

10,5% der Indexpatienten mit Rezidiv als komplizierte Varikoseform hatten auch einen oder mehrere Fälle mit Rezidiv in den Stammbäumen. Verglichen damit fand sich bei 6,1% der Indexpatienten ohne Rezidiv ein oder mehrere Fälle mit Rezidiv in den Stammbäumen ( $p=0,614$  - Tabelle 7c).

### 5.3.2 Assoziationen zwischen verschiedenen *MTHFR* c.677/c.1298-Genotypen der Indexpatienten und einem Vorkommen der Komplikationen Varikothrombose, CEAP C3-6 und Rezidiv in den Stammbäumen

Tabelle 8. *MTHFR*-Genotyp c.677C>T bei Komplikationen

		<i>MTHFR</i> c.677C>T -Genotyp						P Fisher's exact Test
		CC		TC		TT		
		N	%	N	%	N	%	
Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen	Nein	41	89,1	57	95,0	16	88,9	0,403
	Ja	5	10,9	3	5,0	2	11,1	
Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen	Nein	38	82,6	49	81,7	14	77,8	0,903*
	Ja	8	17,4	11	18,3	4	22,2	
Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen	Nein	43	93,5	58	96,7	17	94,4	0,628
	Ja	3	6,5	2	3,3	1	5,6	

\*Pearson's  $X^2$  Test

Voruntersuchungen hatten eine (annähernde) Assoziation (Wilmanns et al. 2011; Wilmanns et al. 2015) zwischen dem Vorliegen eines *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus und der Varikothrombose ergeben. Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen einem *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus unter den Indexpatienten und dem Vorkommen von Varikothrombose, CEAP C3-6 oder Rezidiv in den Stammbäumen (Tabelle 8).

Tabelle 9. *MTHFR*-Genotyp c.1298A>C bei Komplikationen

		<i>MTHFR</i> c.1298A>C-Genotyp						P Fisher's exact Test
		AA		AC		CC		
		N	%	N	%	N	%	
<b>Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen</b>	Nein	58	93,5	43	87,8	13	100,0	0,391
	Ja	4	6,5	6	12,2	0	0,0	
<b>Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen</b>	Nein	48	77,4	41	83,7	12	92,3	0,398*
	Ja	14	22,6	8	16,3	1	7,7	
<b>Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen</b>	Nein	59	95,2	46	93,9	13	100,0	1,000
	Ja	3	4,8	3	6,1	0	0,0	

\*Pearson's  $\chi^2$  Test

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen dem Vorliegen eines *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus unter den Indexpatienten und dem Vorkommen von Varikothrombose, CEAP C3-6 oder Rezidiv in den Stammbäumen (Tabelle 9).

Tabelle 10. Kombinierte *MTHFR*-Genotypen c.677C>T und c.1298A>C bei Komplikationen

		<i>MTHFR</i> c.1298A>C- und c.677C>T-Genotypen						P Fisher's exact test
		AA/TT		CC/CC		Andere Kombination		
		N	%	N	%	N	%	
<b>Vererbte Komplikation- Varikothrombose in den Stammbäumen</b>	Nein	16	88,9	13	100,0	85	91,4	0,632
	Ja	2	11,1	0	0,0	8	8,6	
<b>Vererbte Komplikation- (CEAP) in den Stammbäumen</b>	Nein	14	77,8	12	92,3	75	80,6	0,583
	Ja	4	22,2	1	7,7	18	19,4	
<b>Vererbte Komplikation- Rezidiv in den Stammbäumen</b>	Nein	17	94,4	13	100,0	88	94,6	1,000
	Ja	1	5,6	0	0,0	5	5,4	

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen einer Kombination der beiden *MTHFR*-Polymorphismen c.677C>T und c.1298A>C und dem Vorkommen von Varikothrombose, CEAP C3-6 oder Rezidiv in den Stammbäumen (Tabelle 10).

### 5.3.3 Assoziationen zwischen den *MTHFR* c.677- und c.1298-Genotypen der Indexpatienten und dem Vorkommen der gleichen oder anderen Komplikation in den Stammbäumen

Tabelle 11. *MTHFR*-Genotyp c.677C>T bei gleicher oder anderer Komplikation

		<i>MTHFR</i> c.677C>T-Genotyp						P Pearson's X2 Test
		CC		TC		TT		
		N	%	N	%	N	%	
<b>gleiche Komplikation in den Stammbäumen</b>	Nein	41	89,1	54	90,0	14	77,8	0,359
	Ja	5	10,9	6	10,0	4	22,2	
<b>andere Komplikation in den Stammbäumen</b>	Nein	39	84,8	53	88,3	17	94,4	0,561
	Ja	7	15,2	7	11,7	1	5,6	

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen einem *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus unter den Indexpatienten und dem Vorkommen der gleichen oder einer anderen Komplikation in den Stammbäumen (Tabelle 11).

Tabelle 12. *MTHFR*-Genotyp c.1298A>C bei gleicher oder anderer Komplikation

		<i>MTHFR</i> c.1298A>C-Genotyp						P Pearson's X2 Test
		AA		AC		CC		
		N	%	N	%	N	%	
gleiche Komplikation in den Stammbäumen	Nein	55	88,7	42	85,7	12	92,3	0,780
	Ja	7	11,3	7	14,3	1	7,7	
andere Komplikation in den Stammbäumen	Nein	54	87,1	42	85,7	13	100,0	0,359
	Ja	8	12,9	7	14,3	0	0,0	

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen einem *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus unter den Indexpatienten und dem Vorkommen der gleichen oder einer anderen Komplikation in den Stammbäumen (Tabelle 12).

Tabelle 13. Kombinierte *MTHFR*-Genotypen c.677C>T und c.1298A>C bei gleicher oder anderer Komplikation

		<i>MTHFR</i> c.1298A>C-Genotyp und c.677C>T-Genotyp						P Fisher's exact Test
		AA/TT		CC/CC		Andere Kombination		
		N	%	N	%	N	%	
gleiche Komplikation in den Stammbäumen	Nein	14	77,8	12	92,3	83	89,2	0,373
	Ja	4	22,2	1	7,7	10	10,8	
andere Komplikation in den Stammbäumen	Nein	17	94,4	13	100,0	79	84,9	0,294
	Ja	1	5,6	0	0,0	14	15,1	

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen einer Kombination der beiden *MTHFR*-Polymorphismen c.677C>T und c.1298A>C und dem Vorkommen der gleichen oder einer anderen Komplikation in den Stammbäumen (Tabelle 13).

### 5.3.4 Assoziationen zwischen demographischen Merkmalen und komplizierter versus unkomplizierter Varikose

Tabelle 14. *Body Mass-Index (BMI) und Alter*

	Gruppe						P Student's t-Test
	komplizierte Varikose			unkomplizierte Varikose			
	N	Mittelwert	SD	N	Mittelwert	SD	
<b>BMI</b>	42	30,2	6,2	21	27,3	4,4	0,055
<b>Alter</b>	68	63,1	12,8	30	59,1	18,4	0,216

Es gab keine signifikanten Unterschiede im Alter und BMI zwischen den Indexpatienten mit komplizierter bzw. unkomplizierter Varikose. Allerdings waren die Indexpatienten mit einer unkomplizierten Varikose jünger und deren BMI niedriger als Indexpatienten und deren BMI mit komplizierter Varikose (Tabelle 14).

Tabelle 15. *Geschlecht*

	Varikose				P Pearson's $\chi^2$ Test
	kompliziert		unkompliziert		
<b>Geschlecht</b>	N	%	N	%	
Index-Männer	26	70,3	11	29,7	0,883
Index-Frauen	42	68,9	19	31,1	
n	68	100	30	100	

Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen dem Anteil der männlichen bzw. weiblichen Indexpatienten mit komplizierter bzw. unkomplizierter Varikose gefunden (70,3% vs 68,9%) (Tabelle 15 bzw. Abbildung 4).

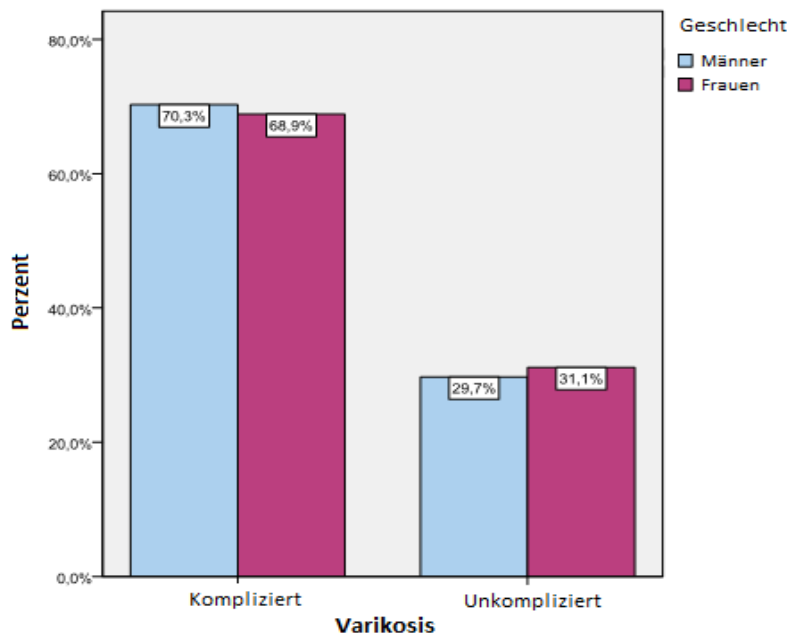


Abbildung 4. Anteil von männlichen und weiblichen Indexpatienten mit komplizierter bzw. unkomplizierter Varikose.

#### 5.4 Art der Vererbung

Die Stammbaum-Daten von 892 Personen wurden in das SAGE-Programm importiert. Das lineare Vererbungsmodell konnte für die Berechnungen nicht verwendet werden, da die Korrelation zwischen Geschwistern, im Vergleich zu der Korrelation zwischen Mutter/Vater und Kind, unterschiedlich ist. Stattdessen wurde ein gemischtes Vererbungsmodell eingesetzt, das bei der Berechnung eine Polygene-Komponente und eine Umweltkomponente unter Annahme eines Hauptgens mit einschließt. Es ließen sich 2 verschiedene Arten der Vererbung nachweisen:

1. eine dominante/rezessive Vererbung
2. eine kodominante/additive Vererbung

Dabei wurde pro Individuum im Stammbaum eine reduzierte oder inkomplette Penetranz ermittelt, die zwischen 0,3 und 0,5 lag.

## 5.5 Sporadisches und mehrfaches (vererbtes) Auftreten

125 Indexpatienten mit einem Mittelwert-Alter von 63,3 Jahre (SD=14,3 Jahre) und einem Mittelwert-BMI von 28,3 kg/m<sup>2</sup> (SD=5,8) haben an unserer Studie teilgenommen (Tabelle 6). In 84 Stammbäumen der Indexpatienten (67,2%) mit einer primären Varikose zeigte sich ein mehrfaches Auftreten der Varikose (Stammbäume mit mehreren Betroffenen), in 26 (20,8%) ein sporadisches Auftreten der Varikose und in 15 (12%) kein Auftreten der Varikose.

In Tabelle 16 wird die Häufigkeit von verschiedenen Komplikationen der Indexpatienten in Abhängigkeit von sporadischem oder potenziell vererbtem Auftreten präsentiert.

Tabelle 16. Häufigkeit von verschiedenen Komplikationen der Indexpatienten in Abhängigkeit von sporadischem oder potenziell vererbtem Auftreten

		Auftreten				P Pearson's X <sup>2</sup> Test
		mehrfach (N=84)		sporadisch (N=26)		
		N	%	N	%	
<b>Unkomplizierte Varikose</b>	Nein	60	75,0	20	25,0	0,583
	Ja	24	80,0	6	20,0	
<b>Kompl. Varikose- Varikothrombose</b>	Nein	63	75,9	20	24,1	0,842
	Ja	21	77,8	6	22,2	
<b>Kompl. Varikose- (CEAP)</b>	C3	20	87,0	3	13,0	0,531+
	C4	4	66,7	2	33,3	
	C6	9	81,8	2	18,2	
<b>Kompl. Varikose- Rezidiv</b>	Nein	68	74,7	23	25,3	0,555+
	Ja	16	84,2	3	15,8	
	Ja	10	100,0	0	0,0	
	Ja	22	95,7	1	4,3	
	Ja	5	83,3	1	16,7	

+Fisher's exact Test



Hinsichtlich des Auftretens der Komplikationen Varikothrombose, klinisches Stadium C3-6 nach CEAP und Rezidiv bei den Indexpatienten bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Familien mit mehreren Varikosepatienten (hier als vererbt bezeichnet) und den Familien mit ausschließlich betroffenem Indexpatienten (hier als sporadisch bezeichnet).

Tabelle 17. Wahrscheinlichkeit miterkrankter Familienmitglieder in Stammbäumen von Indexpatienten mit potenziell vererbtem Auftreten

		OR (95% CI) <sup>+</sup>	P
<b>Erkrankte Großeltern</b>	Nein (Referenz)		
	Ja	- <sup>++</sup>	-
<b>Erkrankter Vater</b>	Nein (Referenz)		
	Ja	2,89 (0,79 – 10,56)	0,108
<b>Erkrankte Mutter</b>	Nein (Referenz)		
	Ja	13,75 (4,29 – 44,12)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Erkrankte Geschwister</b>	Nein (Referenz)		
	Ja	21,67 (2,81 – 167,34)	<b>0,003</b>
<b>Erkranktes Kind</b>	Nein (Referenz)		
	Ja	- <sup>++</sup>	-
<b>Beide Eltern erkrankt</b>	Nein (Referenz)		
	Ja	- <sup>++</sup>	-

<sup>+</sup>Odds Ratio (95% Confidence Interval) <sup>++</sup>kann nicht kalkuliert werden wegen fehlender Verteilung

Indexpatienten mit erkrankter Mutter hatten eine signifikant 13,75-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für ein mehrfaches Auftreten der Erkrankung in der Familie. Indexpatienten mit erkrankten Geschwistern eine signifikant 21,67-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für ein mehrfaches Auftreten (Tabelle 17).

Tabelle 18. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankter Mutter, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln

		<u>Erkrankte Mutter</u>				<b>P</b> <b>Pearson's</b> <b>x<sup>2</sup> Test</b>
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Unkomplizierte Varikose	Nein	30	65,2	50	78,1	0,134
	Ja	16	34,8	14	21,9	
Kompl. Varikose-Varikothrombose	Nein	35	76,1	48	75	0,896
	Ja	11	23,9	16	25	
Kompl. Varikose-(CEAP)	C3	9	60	14	56	0,664+
	C4	3	20	3	12	
	C6	3	20	8	32	
Kompl. Varikose-Rezidiv	Nein	38	82,6	53	82,8	0,978
	Ja	8	17,4	11	17,2	
Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen	Nein	44	95,7	56	87,5	0,188+
	Ja	2	4,3	8	12,5	
Vererbte Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen	Nein	40	87	47	73,4	0,085
	Ja	6	13	17	26,6	
Vererbte Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen	Nein	44	95,7	60	93,8	>0,999+
	Ja	2	4,3	4	6,3	

+Fisher's exact Test

Es wurde keine signifikante Assoziation zwischen dem Vorliegen einer erkrankten Mutter und dem Auftreten einer Komplikation beim Indexpatienten gefunden. Für Indexpatienten mit erkrankter Mutter wurde allerdings ein tendenziell höherer Anteil an Fällen mit Auftreten der CEAP-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen nachgewiesen, (26,6% vs. 13%,  $p=0,085 < 0,100$  - Tabelle 18).

Tabelle 19. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkranktem Vater, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln

		Erkrankter Vater				P Pearson's x <sup>2</sup> Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Unkomplizierte Varikose	Nein	60	71,4	20	76,9	0,583
	Ja	24	28,6	6	23,1	
Kompl. Varikose-Varikothrombose	Nein	62	73,8	21	80,8	0,471
	Ja	22	26,2	5	19,2	
Kompl. Varikose-(CEAP)	C3	16	51,6	7	77,8	0,330+
	C4	6	19,4	0	0	
	C6	9	29	2	22,2	
Kompl. Varikose-Rezidiv	Nein	74	88,1	17	65,4	<b>0,015+</b>
	Ja	10	11,9	9	34,6	
Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen	Nein	75	89,3	25	96,2	0,447+
	Ja	9	10,7	1	3,8	
Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen	Nein	69	82,1	18	69,2	0,157
	Ja	15	17,9	8	30,8	
Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen	Nein	81	96,4	23	88,5	0,143+
	Ja	3	3,6	3	11,5	

+Fisher's exact Test

Bei Indexpatienten mit erkranktem Vater wurde ein signifikant erhöhter Anteil an Fällen mit Varikose-Rezidiven gefunden, jedoch keine weiteren Assoziationen zwischen dem Vorliegen eines erkrankten Vaters und dem Auftreten einer anderen Komplikation beim Indexpatienten bzw. von Komplikationen bei weiteren Familienangehörigen (34,6% vs. 11,9%, p=0,015 - Tabelle 19).

Tabelle 20. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankten Großeltern, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln

		<u>Erkrankte Großeltern</u>				P Fisher's exact Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Unkomplizierte Varikose	Nein	75	73,5	5	62,5	0,681
	Ja	27	26,5	3	37,5	
Kompl. Varikose-Varikohrombose	Nein	76	74,5	7	87,5	0,677
	Ja	26	25,5	1	12,5	
Kompl. Varikose-(CEAP)	C3	21	55,3	2	100	>0,999
	C4	6	15,8	0	0	
	C6	11	28,9	0	0	
Kompl. Varikose-Rezidiv	Nein	85	83,3	6	75	0,625
	Ja	17	16,7	2	25	
Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen	Nein	93	91,2	7	87,5	>0,999
	Ja	9	8,8	1	12,5	
Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen	Nein	85	83,3	2	25	<b>0,001</b>
	Ja	17	16,7	6	75	
Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen	Nein	96	94,1	8	100	>0,999
	Ja	6	5,9	0	0	

Bei Indexpatienten mit erkrankten Großeltern wurde ein signifikant erhöhter Anteil an Fällen mit Auftreten der CEAP-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen festgestellt, jedoch keine weiteren Assoziationen zwischen dem Vorliegen erkrankter Großeltern und dem Auftreten einer Komplikation beim Indexpatienten bzw. von anderen Komplikationen bei weiteren Familienangehörigen (CEAP 75% vs. 16,7%,  $p=0,001$  - Tabelle 20).

Tabelle 21. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankten Geschwistern, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln

		<u>Erkrankte Geschwister</u>				<b>P Pearson's x<sup>2</sup> Test</b>
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Unkomplizierte Varikose	Nein	51	72,9	29	72,5	0,948
	Ja	19	27,1	11	27,5	
Kompl. Varikose- Varikothrombose	Nein	56	80	27	67,5	0,143
	Ja	14	20	13	32,5	
Kompl. Varikose-(CEAP)	C3	12	57,1	11	57,9	0,533+
	C4	2	9,5	4	21,1	
	C6	7	33,3	4	21,1	
Kompl. Varikose-Rezidiv	Nein	56	80	35	87,5	0,317
	Ja	14	20	5	12,5	
Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen	Nein	66	94,3	34	85	0,165+
	Ja	4	5,7	6	15	
Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen	Nein	57	81,4	30	75	0,425
	Ja	13	18,6	10	25	
Komplikation Rezidiv in den Stammbäumen	Nein	66	94,3	38	95	>0,999+
	Ja	4	5,7	2	5	

+Fisher's exact Test

Es konnten keine statistisch signifikanten Assoziationen zwischen dem Vorliegen erkrankter Geschwister und dem Auftreten einer Komplikation beim Indexpatienten bzw. Komplikationen bei weiteren Familienangehörigen nachgewiesen werden (Tabelle 21).

Tabelle 22. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkranktem Kind, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln

		<u>Erkranktes Kind</u>				P Fisher's exact Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Unkomplizierte Varikose	Nein	67	72,8	13	72,2	>0,999
	Ja	25	27,2	5	27,8	
Kompl. Varikose- Varikothrombose	Nein	70	76,1	13	72,2	0,767
	Ja	22	23,9	5	27,8	
Kompl. Varikose-(CEAP)	C3	18	58,1	5	55,6	>0,999
	C4	5	16,1	1	11,1	
	C6	8	25,8	3	33,3	
Kompl. Varikose-Rezidiv	Nein	75	81,5	16	88,9	0,734
	Ja	17	18,5	2	11,1	
Vererbte Komplikation- Varikothrombose	Nein	87	94,6	13	72,2	<b>0,010</b>
	Ja	5	5,4	5	27,8	
Vererbte Komplikation- (CEAP)	Nein	72	78,3	15	83,3	0,760
	Ja	20	21,7	3	16,7	
Vererbte Komplikation-Rezidiv	Nein	87	94,6	17	94,4	>0,999
	Ja	5	5,4	1	5,6	

Bei Indexpatienten mit erkranktem Kind wurde ein signifikant erhöhter Anteil an Fällen mit Auftreten der Varikothrombose-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen festgestellt, jedoch keine weiteren Assoziationen zwischen dem Vorliegen eines erkrankten Kinds und dem Auftreten einer Komplikation beim Indexpatienten bzw. von anderen Komplikationen bei weiteren Familienangehörigen (27,8% vs. 5,4%,  $p=0,010$  - Tabelle 22).

Tabelle 23. Wahrscheinlichkeit von Indexpatienten mit an Varikose erkrankten beiden Elternteilen, eine der vererbten Komplikationen zu entwickeln

		<u>Beide Eltern erkrankt</u>				Fisher's exact Test
		Nein		Ja		
		N	%	N	%	
Unkomplizierte Varikose	Nein	73	73,7	7	63,6	0,487
	Ja	26	26,3	4	36,4	
Kompl. Varikose-Varikothrombose	Nein	73	73,7	10	90,9	0,288
	Ja	26	26,3	1	9,1	
Kompl. Varikose-(CEAP)	C3	20	55,6	3	75	>0,999
	C4	6	16,7	0	0	
	C6	10	27,8	1	25	
Kompl. Varikose-Rezidiv	Nein	84	84,8	7	63,6	0,095
	Ja	15	15,2	4	36,4	
Vererbte Komplikation-Varikothrombose	Nein	89	89,9	11	100	0,594
	Ja	10	10,1	0	0	
Vererbte Komplikation- (CEAP)	Nein	79	79,8	8	72,7	0,696
	Ja	20	20,2	3	27,3	
Vererbte Komplikation-Rezidiv	Nein	94	94,9	10	90,9	0,477
	Ja	5	5,1	1	9,1	

Es konnten keine statistisch signifikanten Assoziationen zwischen dem Vorliegen von 2 erkrankten Elternteilen und dem Auftreten einer Komplikation beim Indexpatienten bzw. Komplikationen bei weiteren Familienangehörigen nachgewiesen werden (Tabelle 23).

## 5.6 Homozystein

Tabelle 24. Homozystein-Werte von Patienten mit komplizierter und unkomplizierter Varikose (Indexpatienten sowie Kontrollpatienten) unter Berücksichtigung einzelner Komplikationen und des Auftretens bei Familienangehörigen

		Homozystein ( $\mu\text{mol/l}$ )			P Student's t-Test
		N	Mittelwert	SD	
<b>Gesamtprobe</b>		28	14,6	5,8	-
<b>Gruppe</b>	Kontrollen	3	16,7	8,0	0,507
	Indexpatienten	25	14,3	5,6	
<b>Varikose<sup>1</sup></b>	kompliziert	16	15,5	6,1	0,164
	unkompliziert	9	12,2	4,1	
<b>Kompl. Varikose- Varikothrombose<sup>1</sup></b>	Nein	21	14,6	5,2	0,308
	Ja	4	18,3	8,6	
<b>Kompl. Varikose-(CEAP)<sup>1</sup></b>	C3	10	14,7	5,2	0,993
	C6	2	14,7	6,4	
<b>Kompl. Varikose-(CEAP 3-6)<sup>1</sup></b>	Nein	13	17,8	9,0	0,411
	Ja	12	14,7	5,1	
<b>Kompl. Varikose-Rezidiv<sup>1</sup></b>	Nein	19	15,2	6,4	0,811
	Ja	6	16,0	6,1	
<b>Varikose<sup>2</sup></b>	kompliziert	16	15,7	6,2	0,139
	unkompliziert	9	12,2	4,1	
<b>Kompl. Varikose- Varikothrombose<sup>2</sup></b>	Nein	21	13,9	5,2	0,169
	Ja	4	18,3	8,6	
<b>Kompl. Varikose-(CEAP 3-6)<sup>2</sup></b>	Nein	13	14,4	6,4	0,894
	Ja	12	14,7	5,1	
<b>Kompl. Varikose-Rezidiv<sup>2</sup></b>	Nein	19	14,2	5,8	0,506
	Ja	6	16,0	6,1	
<b>Komplikation Varikothrombose in den Stammbäumen</b>	Nein	23	14,6	6,0	0,900
	Ja	2	14,1	2,2	
<b>Komplikation (CEAP) in den Stammbäumen</b>	Nein	18	15,4	6,1	0,198
	Ja	7	12,1	4,2	
<b>Komplikation-Rezidiv in den Stammbäumen</b>	Nein	23	14,3	5,7	0,435
	Ja	2	17,7	8,5	
<b>gleiche Komplikation in den Stammbäumen</b>	Nein	21	14,1	5,8	0,342
	Ja	4	17,2	5,7	
<b>andere Komplikation in den Stammbäumen</b>	Nein	19	15,4	6,1	0,122
	Ja	6	11,3	3,1	

<sup>1</sup>Analyse nur in der Gruppe der Indexpatienten durchgeführt; <sup>2</sup> Analyse in der Gesamtprobe (Indexpatienten mit Varikose und Kontrollpatienten, Kontrollen ohne Komplikation) durchgeführt



Der Mittelwert für Homozystein in der Gesamtprobe betrug 14,6  $\mu\text{mol/l}$  ( $\text{SD}=5,8$ ). Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Homozystein-Werten der Indexpatienten mit Varikose (mit und ohne Komplikationen) und den Kontrollpatienten nachgewiesen.

## **6. Diskussion**

### **6.1 Vorwort**

Das primäre Krampfaderleiden stellt eines der häufigsten Krankheitsbilder für jeden Allgemeinmediziner, Internist, Chirurgen, Gefäßchirurgen, Phlebologen, Angiologen und Dermatologen dar (Wilmanns et al. 2015). Die Therapie kann kosmetischer, konservativer und chirurgisch/interventioneller Art sein (Wilmanns et al. 2015). Die Krankheitskosten durch Venenleiden sind eine große Belastung für das deutsche Gesundheitssystem (ca. 2 Mrd. Euro jährlich, Jungenheimer 2004).

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit molekulargenetischen und genealogischen Untersuchungen zur Aufklärung der Ursachen und Vererbung des primären Krampfaderleidens.

### **6.2 Patientenbefragung, Probengewinnung und Stammbaumerstellung**

Die Studie lief vom April 2011 bis April 2014 in zwei Krankenhäusern, dem Maria-Hilf-Krankenhaus in Daun und dem Johanniter-Krankenhaus Rheinhausen in Duisburg. Dort konnten über die jeweilige Sprechstunde 159 Patienten rekrutiert werden. 36 Patienten stammen aus Duisburg und 123 aus Daun. Als Kontroll-Patienten dienten Carotis-/ oder pAVK-/ Patienten mit überschüssigem Venenmaterial. Von 159 Patienten konnten Blutproben und Gewebeproben durch die präoperative Diagnostik und operative Sanierung der Varizen gewonnen werden. Homozystein im Blut der Patienten wurde laborchemisch bestimmt. Unter Tiefkühlung ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) wurden die Blutproben und Gewebeproben zum Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz zur genetischen Analyse transportiert. 125 Stammbäume konnten durch telefonische und postalische Befragung erstellt werden. 36

Stammbäume stammen aus Duisburg und 89 aus Daun. Insgesamt konnten Stammbaumdaten von 892 Personen erhoben werden, 225 von Patienten mit einer unkomplizierten Varikose, 484 von Patienten mit einer komplizierten Varikose und 183 von Kontrollen. 4 Generationen wurden befragt, die P-/ F1-/ und F2-/ Generation und die Großelterngeneration.

Ein großes Problem bei der Erstellung von Stammbäumen durch Anamneseerhebung generell ist die Sicherheit der erhaltenen Befunde. Anamnestische Unsicherheiten betreffen dabei das Erinnerungsvermögen befragter Personen, die Enge familiärer Beziehungen, das Schamgefühl Betroffener, sowie verschiedene Formen der Bias, welche aus Erwartungen, Emotionen und Tendenzen herrühren. Krampfadern stellen verglichen mit anderen Erbkrankheiten mitunter ein relativ geringfügiges Leiden dar, sodass eine positive Auskunft mehr zählt als eine negative (Ottley 1934). Hinzu kommt, dass die jüngeren Generationen auf Grund von sportlichen Aktivitäten, kurzer Kleidung etc. Krampfadern mitunter mehr wahrnehmen als ältere (Ottley 1934). Weiter erschwerend kommt für die Stammbaumerhebung die definitorische Abgrenzung der Krampfadern von anderen Venenerkrankungen hinzu, sodass ein weiterer subjektiver Faktor ins Spiel kommt (Cornu-Thenard 1994). Somit lässt sich eine ganze Liste von Faktoren erstellen, die es im Rahmen der Anamneseerhebung bei der Erstellung von Stammbäumen zur Fehlervermeidung zu berücksichtigen gilt. Diese Faktoren wurden im Fragenbogen (siehe Anhang) sowie im Rahmen von Telefoninterviews mit möglichst genauer Beschreibung von Krampfadern als „typisch-geschlängelte Venen“ zu berücksichtigen versucht.

## **6.3 Genotypische Korrelationen**

### **6.3.1 Korrelation des *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus mit der komplizierten Varikose**

Wilmanns et. al berichteten bereits im Jahr 2010 über eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus und der Varikophlebitis (Wilmanns et al., 2010). Als Kontrollen dienten in dieser Studie Patienten mit einer tiefen Beinvenenthrombose. Unsere 2015 in *EbioMedicine* veröffentlichte Studie (Wilmanns et al., 2015) eines anderen Patientenkollektivs mit primärer Varikose sowie mit Patienten mit einer

Carotisstenose oder einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit als Kontrollgruppe konnte diese Korrelation nur tendenziell bestätigen. Grund dafür könnte die an sich hohen Prävalenz des *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus in dieser Patientengruppe sein. Der *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus war in der neuen Studie allerdings signifikant mit der Stammvarikose als Erstmanifestation und tendenziell mit dem Krossenrezidiv und nicht mit der Perforans-Varikose oder dem Perforansrezidiv assoziiert (Wilmanns et al. 2015).

### **6.3.2 Korrelation des *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus mit der komplizierten Varikose**

In der in R durchgeführten statistischen Analyse gab es eine statistisch signifikante Korrelation des *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus mit der komplizierten Varikoseform CEAP 3-6 ( $p < 0,001$ ). Die homozygote CC-Mutante wurde in 100,0% der Patienten mit CEAP 3-6 Komplikation gefunden (Wilmanns et al. 2015).

### **6.3.3 Keine Korrelation des *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus, des *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus bzw. von kombinierten *MTHFR* c.677C>T-/1298A>C-Genotypen mit Komplikationen bei Familienangehörigen**

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf eine Assoziation zwischen dem Vorliegen des *MTHFR* c.677C>T-Polymorphismus, des *MTHFR* c.1298A>C-Polymorphismus bzw. von kombinierten *MTHFR* c.677C>T-/1298A>C-Genotypen unter den Indexpatienten und dem Vorkommen von Varikothrombose, CEAP C3-6 oder Rezidiv bei Familienangehörigen der Indexpatienten, insbesondere auch nicht unter Berücksichtigung gleicher oder anderer Komplikationen bei Familienangehörigen.

## **6.4 Phänotypische Korrelationen und deren Relevanz für eine Vererbung der Varikose**

### **6.4.1 Korrelationen von Alter, BMI bzw. Geschlecht und dem Auftreten von Varikose sowie ihrer komplizierten bzw. unkomplizierter Verlaufsform**

Bei Indexpatienten mit einer primären Varikose wurde im Vergleich zu den Kontroll-Indexpatienten ein signifikant niedrigeres Alter sowie ein signifikant höherer BMI

nachgewiesen (Tabelle 6). Keine signifikanten Unterschiede im Alter wurden zwischen den Indexpatienten mit komplizierter bzw. unkomplizierter Varikose beobachtet. Der BMI war bei den Indexpatienten mit unkomplizierter Varikose tendenziell, aber nicht signifikant, niedriger als bei den Indexpatienten mit komplizierter Varikose (Tabelle 14). Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen dem Anteil der männlichen bzw. weiblichen Indexpatienten mit komplizierter bzw. unkomplizierter Varikose gefunden (Tabelle 15).

#### **6.4.2 Korrelation von mehrfachem familiärem Auftreten und dem Auftreten von Varikose bei bestimmten Familienangehörigen**

Bei Indexpatienten mit erkrankter Mutter bzw. erkrankten Geschwistern, nicht aber denen mit erkranktem Vater wurde eine signifikant 13,75-fach bzw. 21,67-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für ein mehrfaches Auftreten der Erkrankung in der Familie beobachtet (Tabelle 17).

#### **6.4.3 Korrelation von Komplikationen der Indexpatienten und dem Auftreten von Varikose bei bestimmten Familienangehörigen**

Hinsichtlich des Auftretens der Komplikationen Varikothrombose, klinisches Stadium C3-6 nach CEAP und Rezidiv bei den Indexpatienten bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Familien mit mehreren Varikosepatienten und den Familien mit ausschließlich betroffenem Indexpatienten. Interessanterweise konnten in dieser Arbeit allerdings verschiedene Korrelationen zwischen dem Vorliegen einer erkrankten Mutter, erkrankter beider Elternteile bzw. eines erkrankten Kindes und dem signifikant häufigeren Auftreten einer Komplikation beim Indexpatienten bzw. Familienangehörigen nachgewiesen werden. Dies betrifft einen tendenziell höheren Anteil an Fällen mit Auftreten der CEAP-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen bei Vorliegen einer erkrankten Mutter, einen signifikant erhöhtem Anteil an Fällen mit Auftreten der CEAP-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen bei Vorliegen erkrankter Großeltern sowie einen signifikant erhöhten Anteil an Fällen mit Auftreten der Varikothrombose-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen bei Vorliegen eines erkrankten Kindes (Tabellen 18-23).

#### **6.4.4 Keine Korrelation zwischen den Homozystein-Werten der Indexpatienten mit Varikose (mit und ohne Komplikationen) und den Kontrollindexpatienten**

Bzgl. der gemessenen Homozystein-Werte wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Indexpatienten mit Varikose (mit und ohne Komplikationen) und den Kontroll-Indexpatienten nachgewiesen (Tabelle 24).

#### **6.4.5 Bestimmung der Art der Vererbung**

Mit Hilfe des SAGE-Programms wurden auf Basis eines gemischten Vererbungsmodells unter Berücksichtigung einer Polygene-Komponente und einer Umweltkomponente mit Annahme eines Hauptgens zwei verschiedene mögliche Arten der Vererbung ermittelt: (i) eine dominante/rezessive Vererbung (ii) eine kodominante/additive Vererbung. Zudem ergab sich pro Individuum im Stammbaum eine reduzierte oder inkomplette Penetranz zwischen 0,3 und 0,5.

#### **6.4.6 Einordnung der phänotypischen Korrelationsdaten und Vererbungsdaten in den Stand der Literatur**

Obwohl Umweltfaktoren, wie Alter, Geschlecht, Übergewicht und Beruf für die Entstehung der Varikose eine große Rolle spielen, ist eine Varikose bei jungen Patienten häufig nicht mit einer positiven Anamnese für Umweltfaktoren assoziiert (Anwar et al. 2012). Neue Studien deuten auf eine enge Korrelation von positiver Familienanamnese und primärer Varikose hin (Anwar et al. 2012).

Mehrere Studien haben sich bereits mit der Heritabilität und den Vererbungsarten der Varikose befasst. In der Arbeit von Fiebig et al. (2010) wurde der Einfluss von genetischen und umweltbedingten Faktoren auf die Pathogenese der chronisch venösen Erkrankung untersucht. Dabei wurde eine Heritabilität der chronisch venösen Erkrankung von 17,3 % ermittelt.

Stammbaumanalysen von Ottley (1934) lieferten in der Mehrzahl der Familien Hinweise für eine einfach dominante Vererbung sowie in den restlichen Familien Belege für eine rezessive Vererbung oder eine dominante Vererbung mit reduzierter Penetranz. Dies deckt sich im Wesentlichen mit den möglichen Vererbungsarten, die in der vorliegenden Arbeit mit dem SAGE-Programm nachgewiesen wurden.

In einer weiteren Arbeit von Kroeger et al. (2004) wurden 9935 Probanden untersucht und 3 hauptsächlich relevante Risikofaktoren festgestellt: das Alter, das Geschlecht und die Heritabilität. Dabei wurden folgende *Odds Ratios* ermittelt: weibliches Alter: 6,5; männliches Alter: 3,4; Geschlecht: 2,3. Heritabilität für Varikose bei beiden Elternteilen: 5,2.

Cornu-Thenard et al. (1994) berichteten in ihrer Arbeit über eine Wahrscheinlichkeit von 90% für das Auftreten von Varikose, wenn beide Eltern an Krampfadern erkrankt waren, von 25% für männliche Individuen und 62% für die weibliche Individuen, wenn ein Elternteil erkrankt war und von 20%, wenn kein Elternteil erkrankt war.

Die Korrelation der primären Varikose mit Geschlecht, BMI und Alter wurde ebenfalls bereits in anderen Studien untersucht. In der Framingham Studie zeigten Frauen eine höhere Leidens-Prävalenz (10%) als die Männer (1%-Brand et al. 1988). Auf der anderen Seite erkrankten in der Edinburgh Vein Study Männer häufiger an Krampfadern als Frauen (Evans et al. 1999). Laut der Bonner Venen-Studie (Rabe et al. 2003) litten mehr Männer an einer komplizierten Varikose (CEAP C4-C6) als Frauen. In einer Studie von Labropoulos et al. (2003) wurde dieser Unterschied wiederum als eher gering beschrieben. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass Frauen nach einer Studie von Madar et al. (1986) häufiger medizinische Hilfe suchen und sich dreimal häufiger operieren lassen als Männer. In unserer Studiengruppe mit 56 männlichen (44,8%) und 69 weiblichen (55,2%, Tabelle 6) Indexpatienten wurde lediglich ein tendenzieller Unterschied nachgewiesen. Eine Generalisierung kann aus unserem begrenzten Patientenkollektiv daher nicht abgeleitet werden.

Mehrere Studien berichteten bereits, dass ein hoher BMI zur Entstehung der primären Varikose beitragen kann (De Backer 1997, Fowkes et al. 1999, Fiebig et al., 2010). Fiebig et al. (2010) ermittelten für die Index-Patienten einen mittleren BMI von 26,8. Weitere Studien zeigten, dass für die Entwicklung der Varikose der BMI bei Frauen eine größere Rolle spielt als bei Männern (De Backer 1997, Evans et al. 1999). Allerdings konnte dieses Ergebnis nicht von Fiebig et al. (2010) bestätigt werden. Es wurde lediglich ein signifikanter Einfluss des Übergewichts auf die Entstehung fortgeschrittener Formen der Varikose nachgewiesen (Fiebig et al. 2010), mit einem signifikanten Einfluss des Geschlechts und des BMIs Effekt auf den CEAP-Grad ( $p=0,00078$  und  $p=0,000000000000000022$ , respektive, Fiebig et al.

2010). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit einem signifikant höheren BMI der Index-Patienten mit Varikose im Vergleich zu den Kontroll-Indexpatienten sowie einem deutlich, aber nicht ganz signifikant erhöhten BMI bei Indexpatienten mit komplizierter Varikose im Vergleich zu denen mit unkomplizierter Varikose können dies tendenziell bestätigen.

Carpentier et al. (2004) beschrieben eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem Alter der Patienten und fortgeschrittenen Formen der Varikose. Laut Fiebig et al. (2010) lag die durchschnittliche Krankheitsdauer (Zeit zwischen dem Auftreten der Erkrankung und dem Auftreten peripherer Veränderungen) für die C2-Varikose bei 20,1 Jahren, für die C3-Varikose bei 23,4 Jahren, für die C4-Varikose bei 25,3 Jahren und für die C5-6-Varikose bei 29,8 Jahren und das durchschnittliche Alter bei der Erfassung der Patienten bei 52,0 Jahren für die C2-Varikose, 56,4 Jahren für die C3-Varikose, 58,3 Jahren für die C4-Varikose und 60,9 Jahren für die C5-6-Varikose (Fiebig et al. 2010). Geschlechtsspezifisch betragen das Alter bei Krankheitsbeginn bzw. Erfassung bei Frauen durchschnittlich 30,8 bzw. 56,1 Jahre und bei Männern durchschnittlich 36,8 bzw. 56,2 Jahre und die Krankheitsdauer bei Frauen durchschnittlich 25,1 Jahre und bei Männern durchschnittlich 19,3 Jahre (Fiebig et al. 2010). Auch in der vorliegenden Studie wurde das Alter als nicht signifikanter Risikofaktor bestätigt. Das mittlere Alter bei Erfassung betrug bei Patienten mit einer unkomplizierten Varikose 59,1 Jahre und bei Patienten mit einer komplizierten Varikose 63,1 Jahre (Tabelle 14).

## **6.5 Allgemeine Schlussfolgerung zur Pathogenese der Varikose**

Zur Pathogenese der Varikose gibt es verschiedene Theorien. Eine plausible Erklärung für die Progression der Erkrankung sind ein hoher BMI und das fortgeschrittene Alter. Unsere Untersuchungen deuten jedoch auch auf genetische Ursachen der Krankheitsprogression hin. Der BMI korreliert mit dem Alter, da sich mit zunehmendem Lebensalter der Metabolismus verändert und dies zu einer Erhöhung des BMI beiträgt. Mit zunehmendem BMI ändert sich der hämostatische und der intravenöse Druck, was auch erklärt, warum Schwangere häufiger über Krampfaderbeschwerden klagen und thrombotische Komplikationen entwickeln. Ein zunehmender BMI geht während der Schwangerschaft

zudem mit veränderten Östrogen- und Progesteronspiegeln einher, die wiederum einen Einfluss auf die Angiogenese haben können.

Das MTHFR-Enzym ist ein Schlüsselprotein, welches für die Katalyse der irreversiblen Reaktion von 5,10-Methylen tetrahydrofolat zu 5-Methyltetrahydrofolat zuständig ist. Bei dieser Reaktion werden Methylgruppen produziert, die über nachfolgende Reaktionen für die Methylierung von DNA und Histonen zur Verfügung gestellt werden. Der c.677C>T Polymorphismus führt zu einer Substitution von Alanin durch Valin an der Kodon-Position 222 (p.Ala222Val) im katalytischen Bereich des MTHFR-Proteins, der c.1298A>C Polymorphismus wiederum resultiert in einer Substitution von Glutaminsäure durch Alanin an der Kodon-Position 429 (p.Glu429Ala) im regulatorischen Bereich des MTHFR-Proteins (Van der Put et al. 1998). Beide *MTHFR*-Polymorphismen, c.677C>T und c.1298A>C wurden mit der arteriellen Verschlusskrankheit, dem Kolonkarzinom und Neuralrohrdefekten assoziiert (Van der Put et al. 1998, Ilhan et al. 2008, Fernandez-Peralta et al. 2015). Die molekulare Grundlage dieser Assoziationen ist nicht bekannt, Assoziationen mit komplizierten Formen oder einem Progress dieser Erkrankungen wurden bisher nicht beschrieben. Eine verminderte Enzymaktivität der Methylen tetrahydrofolatereduktase im Falle beider Polymorphismen geht zudem mit einer verminderten DNA-Methylierung oder einer Hyperhomozysteinämie einher (Castro et al. 2004, Sam et al. 2003). Eine verminderte DNA-Methylierung kann zu einer aberranten Expression von Struktur- und Matrix-Proteinen sowie reduzierter DNA-Integrität führen. Hierdurch kann es zu einer frühzeitigen Alterung des Venengewebes kommen, die einen wesentlichen Faktor bei der Pathogenese der primären Varikose darstellt. Das komplette Fehlen von Individuen mit dem doppelt homozygoten c.677/c.1298 *MTHFR*-Genotypen TTCC zeigt, dass beide homozygoten Mutanten in der Natur gleichzeitig nicht überlebensfähig sind und das dem MTHFR-Enzym eine entsprechende evolutionäre Bedeutung zukommt. Dies spricht es für eine komplementäre Funktion der beiden *MTHFR*-Polymorphismen, möglicherweise auch bei der Entstehung der primären Varikose, auch wenn sicher weitere genetische und epigenetische Veränderungen an deren Pathogenese beteiligt sind (Wilmanns et al. 2015).

Zusammenfassend gehen wir davon aus, dass die primäre Varikose multifaktoriell durch ein Zusammenspiel von vererbten genetischen Veränderungen und umweltbedingten epigenetischen Veränderungen verursacht wird. Die beiden von uns untersuchten *MTHFR*-



Polymorphismen spielen als genetische Veränderungen eine wichtige ätiologische Rolle und wurden in der Literatur am häufigsten im Zusammenhang mit der primären Varikose untersucht. Komplexe Zusammenhänge wie eine Beteiligung an der Entstehung verschiedener Unterformen sowie deren Progression wurden von unserer Arbeitsgruppe für die primäre Varikose allerdings erstmals beschrieben.

## 7. Zusammenfassung

Die primäre Varikose ist möglicherweise die häufigste Erbkrankheit weltweit. Früherkennung und die richtige Therapie, je nach Ausprägung, können die Morbidität des Patienten und die Kosten der Behandlung senken. In der Literatur gibt es keine konkrete genetische und epigenetische Erklärung zur Pathogenese der Varikose. Die vorliegende Arbeit liefert einen wichtigen Beitrag zur Erweiterung des gemeinsamen Verständnisses von molekularer Pathogenese, Vererbungsmodus, phänotypischer Expression und Progression der Erkrankung.

Ein erster Zusammenhang der Varikose mit der Variante c.677C>T des *MTHFR*-Gens wurde bereits von Sverdlova et al. (1998) beschrieben. Es folgte die einen Teil der vorliegenden Arbeit umfassende Studie unserer Arbeitsgruppe, die eine direkte Assoziation zwischen der Varikothrombose und der *MTHFR*-Variante c.677C>T darstellen konnte (Wilmanns et al. 2011). Wir konnten dabei zudem eine statistisch signifikante Korrelation der c.677C>T-Variante mit dem Stamm-Typ der Varikose ( $p < 0,01$ ) und einer weiteren *MTHFR*-Variante, c.1298A>C, mit dem Perforans-Typ der primären Varikose ( $p < 0,01$ ) beobachten. Bei Nachweis von beiden Varianten in heterozygoter Form konnten wir überdies eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Manifestation von beiden Phänotypen feststellen. Darüber hinaus wurde die c.1298A>C-Variante mit der komplizierten Varikoseform CEAP C3-C6 assoziiert ( $p < 0,01$ - Wilmanns et al. 2015).

Die Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Stammbaumanalyse lieferten in erster Linie Hinweise auf eine autosomal dominante/kodominante Vererbung mit reduzierter Penetranz (0,3-0,5). Weiterhin ist das Ergebnis hervorzuheben, dass bei einer erkrankten Mutter ein 13,75-fach erhöhtes Risiko für ein mehrfaches Auftreten der Varikose in der Familie beobachtet wurde, zudem bei erkrankten Geschwistern ein 21,67-fach erhöhtes Risiko. Außerdem wurde ein tendenziell höherer Anteil an Fällen mit Auftreten der CEAP-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen bei Vorliegen einer erkrankten Mutter, ein signifikant erhöhter Anteil an Fällen mit Auftreten der CEAP-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen bei Vorliegen erkrankter Großeltern sowie ein signifikant erhöhter Anteil an Fällen mit Auftreten der Varikothrombose-Komplikation bei weiteren Familienangehörigen bei Vorliegen eines erkrankten Kindes festgestellt.

Schließlich konnte die vorliegende Arbeit die Ergebnisse früherer Studien nicht bestätigen, in denen der BMI, das Geschlecht und das Alter als Risikofaktoren für die Varikose beschrieben wurden. Es wurde bei den Indexpatienten mit unkomplizierter Varikose ein tendenziell, aber nicht signifikant niedrigerer BMI als bei den Indexpatienten mit komplizierter Varikose gefunden.

Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 158

Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 159

Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 160

Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 161

Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 162

Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 163



Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. *EbioMedicine*, 2, 158-164, Seite 164

## 8. Literaturverzeichnis

- Abramson J.H. et al., 1981. The epidemiology of varicose veins. A survey in western Jerusalem. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 35, 213–217.
- Adams J. et al., 2012. A novel role for relaxin-2 in the pathogenesis of primary varicosis. *Public Library of Science one*, 7 ,e39021.
- Anwar M. et al., 2012. A review of familial, genetic, and congenital aspects of primary varicose vein disease. *Circulation. Cardiovascular Genetics*, 5, 460-466.
- Baker S.R. et al., 1991. Epidemiology of chronic venous ulcers. *The British journal of surgery*, 78, 864–867.
- Barker DJ., 2004. The developmental origins of well-being. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 359,1359-1366.
- Beaglehole R. et al., 1975. Varicose veins in the South Pacific. *International journal Epidemiology*, 4, 295–299.
- Beebe-Dimmer J.L. et al., 2005. The epidemiology of chronic venous insufficiency and varicose veins. *Annals of epidemiology*, 15, 175–84.
- Bergan J.J. et al., 2008. Pathogenesis of primary chronic venous disease: Insights from animal models of venous hypertension. *Journal of vascular surgery*, 47, 183–192.
- Bezemer I. et al., 2007. No association between the common MTHFR 677C-T Polymorphism and venous thrombosis. Results from the MEGA Study, *Archives of internal medicine*, 167, 497-501.
- Bickeböller H. et al., 2007. *Einführung in die Genetische Epidemiologie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Blount B.C. et al., 1997. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 3290–5.
- Blundell G. et al., 1996. Homocysteine mediated endothelial cell toxicity and its amelioration. *Atherosclerosis*, 122, 163–172.
- Botto L.D. et al., 2000. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *American journal of epidemiology* 151, 862-877.

- Brand F.N. et al., 1988. The epidemiology of varicose veins: the Framingham Study. *American journal of preventive medicine*, 4, 96–101.
- Carpentier P.H. et al., 2004. Prevalence, risk factors, and clinical patterns of chronic venous disorders of lower limbs: a population-based study in France. *Journal of vascular surgery*, 40, 650–9.
- Castro R. et al., 2004. 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T and 1298A>C mutations are associated with DNA hypomethylation. *Journal of medical genetics* 41, 454-458.
- Chiesa R. et al., 2005. Chronic venous insufficiency in Italy: the 24-cities Cohort Study. *European journal of vascular and endovascular surgery: the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 30,422-429.
- Clarke G.H. et al., 1992. Venous wall function in the pathogenesis of varicose veins. *Surgery*, 111, 402–408.
- Clarke H. et al., 1989. Role of venous elasticity in the development of varicose veins. *The British journal of surgery*, 76, 577–580.
- Claus E. et al., 1994. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. *Cancer*, 73, 643-51.
- Cooper A., 2012. Methylierungsuntersuchungen zur Aufklärung der molekularen Pathogenese des primären Krampfaderleidens sowie dessen thrombophiler Komplikation. Diplomarbeit Johannes Gutenberg – Universität Mainz, Institut für Humangenetik.
- Cornu-Thenard A. et al., 1994. Importance of the familial factor in varicose disease. *Clinical study of 134 families. The journal of dermatologic surgery and oncology*, 20,318-26.
- Criqui M.H., 2003. Chronic Venous Disease in an Ethnically Diverse Population: The San Diego Population Study. *American Journal of Epidemiology*, 158, 448–456.
- Daskalos A. et al., 2009. Hypomethylation of retrotransposable elements correlates with genomic instability in non-small cell lung cancer. *International journal of cancer*, 124, 81–87.
- De Backer, 1997. Epidemiology of chronic venous insufficiency. *Angiology*, 48,569-76.
- De Moerloose P. et al., 1998. Superficial vein thrombosis of lower limbs: influence of factor V Leiden, factor II G20210A and overweight. *Thrombosis and haemostasis*, 80, 239-41.
- Dierkes J. et al., 2001. Factors explaining the difference of total homocysteine between men and women in the european investigation into cancer and nutrition Potsdam study. *Metabolism: clinical and experimental*, 50, 640-645.

- Egger G. et al., 2004. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, 429, 457–63.
- Eklöf B. et al., 2004. Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: Consensus statement. *Journal of vascular surgery*, 40,1248-1252.
- El-Baz R. et al., 2012. MTHFR c.677C>T, c.1298A>C and ACE I/D polymorphisms as risk factors for diabetic nephropathy among type 2 diabetic patients. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS*, 13, 472–7.
- Evans C.J. et al., 1994. Epidemiology of varicose veins. A review. *International angiology: a journal of the International Union of Angiology*, 13, 263–270.
- Evans C.J. et al., 1999. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburgh Vein Study. *Journal of epidemiology and community health*, 53, 149-153.
- Feinberg A.P., 2008. Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *Journal of the American Medical Association*, 299, 1345–1350.
- Fernandez-Peralta A. et al., 2015. MTHFR polymorphisms in primary varicose vein disorder. *Ebiomedicine*, 2,104.
- Fiebig A. et al., 2010. Heritability of chronic venous disease. *Human genetics*,127, 669-674.
- Fischer H., 1981. Venenleiden - eine repräsentative Untersuchung in der Bundesrepublik Deutschland (Tübinger Studie). Verlag: Urban und Schwarzenberg München, Wien, Baltimore.
- Franco R. F. et al.,1998. Analysis of the 677C→T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups. *Thrombosis and Haemostasis*, 79, 119-121.
- Franks P.J. et al., 1992. Prevalence of venous disease: a community study in west London. *The European journal of surgery = Acta chirurgica*, 158,143–147.
- Frost P. et al., 1995. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature genetics*, 10, 111-113.
- Gibney E.R. et al., 2010. Epigenetics and gene expression. *Heredity*, 105, 4–13.
- Glaser N., 2013. Molekulare Untersuchungen zur Ätiologie der primären Stammvarikose und ihrer Komplikationen. Masterarbeit Johannes Gutenberg – Universität Mainz, Institut für Humangenetik.
- Gottrup F., 2004. A specialized wound-healing center concept: importance of a multidisciplinary department structure and surgical treatment facilities in the treatment of chronic wounds. *American journal of surgery*, 187, 38S–43S.

- Gourgou S. et al., 2002. Lower limb venous insufficiency and tobacco smoking: a case-control study. *American journal of epidemiology*, 155, 1007–1015.
- Goyette, P. et al., 1994. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping und mutation identification. *Nature genetics*, 7 , 195-200.
- Graham I.D. et al., 2003. Prevalence of lower-limb ulceration: a systematic review of prevalence studies. *Advances in skin & wound care*, 16, 305–316.
- Grant Y. et al., 2017. Genetics in chronic venous disease. *Phlebology*, 32, 3-5.
- Hach W., 1967. Ätiologie und Pathogenese der primären Varikose. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 92, 1400-1404.
- Hach W. et al., 2006. Leitfaden für Gefäßchirurgen, Angiologen, Dermatologen und Phlebologen. *Venenchirurgie 2. Auflage* Schattauer Verlag.
- Handy Diane et al., 2011. Epigenetic Modifikations: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease. *Circulation*, 123, 2145-2156.
- Hanrahan L. et al., 1991. Distribution of valvular incompetence in patients with venous stasis ulceration. *Journal of vascular Surgery*, 13, 805-812.
- Heijmans B.T. et al., 1999. Mortality risk in men is associated with a common mutation in the methylene-tetrahydrofolate reductase gene (MTHFR). *European journal of human genetics*, 7, 197–204.
- Heijmans B.T. et al., 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 17046–17049.
- Hertfelder H-J. et al., 2004. MTHFR-Polymorphismus c.677C>T Sinn und Unsinn der Diagnostik. *Deutsches Ärzteblatt*, Jg.101, Heft 46, A3101-3105.
- Hirai M. et al., 1990. Prevalence and risk factors of varicose veins in Japanese women. *Angiology*, 41, 228–232.
- Hohmann R. J. et al., 1985. Inactivation of S-adenosyl-L- homocysteine hydrolase by cAMP results from dissociation of enzyme bound NAD+. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82, 4578-4581.
- Hoskins K. et al., 1995. Assessment and counseling for women with a family history of breast cancer. *Journal of the American Medical Association*, 273, 577-585.
- Ibrahim S. et al., 1996. Chronic venous insufficiency: mechanisms and management. *American heart journal*, 132, 856–860.

- Ingrosso D. et al., 2003. Folate treatment and unbalanced methylation and changes of allelic expression induced by hyperhomocysteinaemia in patients with uraemia. *Lancet*, 361, 1693-1699.
- Ilhan N. et al., 2008. The 677C/T MTHFR polymorphism is associated with essential hypertension, coronary artery disease, and higher homocysteine levels. *Archives of medical research*, 39, 125-130.
- Isotalo P.A. et al., 2000. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of c.677C>T and c.1298A>C mutations. *American journal of human genetics*, 67, 986–90.
- Isotalo P.A. et al., 2000. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase mutations in patients with venous thrombosis. *Molecular diagnosis: a journal devoted to the understanding of human disease through the clinical application of molecular biology*, 5, 59–66.
- Jiao J. et al., 2012. Multiplex time-reducing quantitative polymerase chain reaction assay for determination of telomere length in blood and tissue DNA. *Analytical und bioanalytical Chemistry*, 403,157-66.
- Joutel A. et al., 1997. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients. *Lancet*, 350, 1511-15.
- Joutel A. et al., 2000. The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients. *Journal of clinical investigation*, 105, 597–605.
- Joutel A et al., 1996. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature*, 383, 707–10.
- Jugenheimer M., 2004. Primäre Varikose. *Chirurg* 75, 241-247.
- Kang S.S. et al., 1991. Intermediate hyperhomocysteinemia resulting from compound heterozygosity of methylenetetrahydrofolate reductase mutations. *American journal of human genetics*, 48, 546-551.
- Karathanos C. et al., 2013. Factors associated with the development of superficial vein thrombosis in patients with varicose veins. *Thrombosis research*, 132, 47-50.
- Kim D. et al., 2005. Identification of Differentially Expressed Genes in Primary Varicose Veins. *Journal of surgical research* 123, 222-226.
- Kistner R.L. et al., 1996. Diagnosis of chronic venous disease of the lower extremities: the “CEAP” classification. *Mayo Clinic proceedings*, 71, 338-345.

- Klerk M. et al. and the MTHFR Studies Collaboration Group, 2002. MTHFR 677C>T Polymorphism and risk of coronary heart disease. *Journal of American Medical Association*, 288, 2023-2032.
- Kluess H.G. et al., 2004. Leitlinie zur Diagnostik und Therapie des Krampfaderleidens. *Phlebologie* 6, 33, 211-21.
- Klyszcz T. et al., 1998. Quality of life in chronic venous insufficiency (CVI). Results of a study with the newly developed Tübingen Questionnaire for measuring quality of life of patients with chronic venous insufficiency. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie und verwandte Gebiete*, 49, 372-81.
- Knudson A., 1971. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68, 820-823.
- Koch M.C. et al., 1998. Evaluation of the MTHFR c.677C>T allele and the MTHFR gene locus in a German spina bifida population. *European Journal of Pediatrics*, 157, 487-492.
- Kroeger K. et al., 2004. Risk factors for varicose veins. *International Angiology: a journal of the International Union of Angiology*, 23, 29-34.
- Krysa J. et al., 2012. Evidence for a genetic role in varicose veins and chronic venous insufficiency. *Phlebology*, 27, 329-335.
- Kumar J. et al., 2005. Homocysteine levels are associated with MTHFR c.1298A>C polymorphism in Indian population. *Journal of Human Genetics*, 50, 655-663.
- Labropoulos N. et al., 1995. Venous hemodynamic abnormalities in patients with leg ulceration. *American Journal of Surgery*, 169, 572-574.
- Lacobazzi V. et al., 2014. Hyperhomocysteinemia: related genetic diseases and congenital defects, abnormal DNA methylation and newborn screening issues. *Molecular Genetics and Metabolism*, 113, 27-33.
- Lawson N. et al., 2001. Notch signaling is required for arterial-venous differentiation during embryonic vascular development. *Development (Cambridge, England)*, 128, 3675-3683.
- Lee S. et al., 2005. Gene expression profiles in varicose veins using complementary DNA microarray. *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery*, 31, 391-395.
- Lewis S.J. et al., 2006. The thermolabile variant of MTHFR is associated with depression in the British Women's Heart and Health Study and a meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, 11, 352-360.

- Lim C.S. et al., 2009. Pathogenesis of primary varicose veins. *British Journal of Surgery*, 96, 1231-1242.
- Lutter K.S. et al., 1991. Superficial thrombophlebitis diagnosed by duplex scanning. *Surgery* 110, 42-46.
- Maffei F.H. et al., 1986. Varicose veins and chronic venous insufficiency in Brazil: prevalence among 1755 inhabitants of a country town. *International journal of epidemiology*, 15, 210–217.
- Matouk C. et al., 2008. Epigenetic Regulation of Vascular Endothelial Gene Expression. *Circulation research*, 102, 873-887.
- Matousek V. et al., 1974. A contribution to the problem of the inheritance of primary varicose veins. *Human heredity*, 24, 225–235.
- Milio G. et al., 2008. Superficial venous thrombosis: prevalence of common genetic risk factors and their role on spreading to deep veins. *Thrombosis Research*, 123, 194-199.
- Moore H.M. et al., 2013. The european burden of primary varicose veins. *Phlebology*, 28, 141-147.
- Morita H. et al., 1997. Gene Polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a coronary risk factor. *Journal of cardiology*, 29, 309-315.
- Naess I. et al., 2008. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population – results from the HUNT 2 study. *British journal of haematology* 141, 529-535.
- Naik B. et al., 2016. Clinico-histopathological study of varicose vein and role of matrix metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in varicose vein formation. *Indian journal of pathology & microbiology*, 59, 25-30.
- Naoum J. et al., 2007. Current Advances in the Pathogenesis of Varicose Veins. *Journal of Surgical research*, 141, 311-316.
- Noppeney T. et al., 2010. Geschichte der Varizenbehandlung. In: Noppeney T, Nüllen H (Hrsg) *Varikose*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
- Oberstein L. S. et al., 2003. Evaluation of diagnostik NOTCH3 immunostaining in CADASIL. *Acta neuropathologica*, 106, 107-111.
- Okano, M. et al., 1999. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* , 99, 247-257.



- Oklu R. et al., 2012. Pathogenesis of Varicose Veins. *Journal of vascular and interventional radiology: JVIR*, 23, 33-39.
- Ottley C., 1934. Heredity and Varicose Veins. *British medical journal*, 24, 528.
- Painter R.C. et al., 2005. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 20, 345–352.
- Parmigiani G. et al., 1998. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. *American journal of human genetics*, 62, 145-158.
- Pelisek J. et al., 2012. DNA- und Histon-Methylierung in atherosklerotischen Läsionen bei Patienten mit hochgradigen Carotisstenosen. *Gefäßchirurgie*, 5, 457.
- Perrin M. et al. and the REVAS group, 2000. Recurrent varices after surgery (REVAS), a consensus document. *Cardiovascular Surgery*, 8, 233-245.
- Pschyrembel, 2002. *Klinisches Wörterbuch*, de Gruyter Verlag, 259. Auflage.
- Quigley F.G. et al., 1994. Duplex ultrasonography of recurrent varicose veins. *Cardiovascular surgery (London, England)*, 2, 775-777.
- Rabe E. et al., 2013. Therapy with compression stockings in Germany- results from the Bonn Vein Studies. *Journal der deutschen dermatologischen Gesellschaft*, 11, 257-261.
- Rabe E. et al., 2003. Bonner Venenstudie der Deutschen Gesellschaft für Phlebologie. *Phlebologie*, 32, 1-14.
- Raffeto J. D., 2011. Superficial thrombophlebitis in varicose vein disease: the particular role of methylenetetrahydrofolate reductase. *Phlebology*, 26, 133-134.
- Ragno M. et al., 2011. Shorter telomeres in patients with autosomal dominant arteriopathy and leukoencephalopathy (CADASIL). *Neurogenetics*, 12, 337-43.
- Rees M. et al., 1993. Homocysteinemia: association of a metabolic disorder with vascular disease and thrombosis. *Thrombosis research*, 71, 337-359.
- Roaldsen K.S. et al., 2006. Functional ability in female leg ulcer patients--a challenge for physiotherapy. *Physiotherapy research international: the journal for researchers and clinicians in physical therapy*, 11, 191–203.
- Roaldsen K.S. et al., 2011. Physical activity in patients with venous leg ulcer--between engagement and avoidance. A patient perspective. *Clinical rehabilitation*, 25, 275–286.
- Rodgers G. et al., 1986. Activation of endogenous Factor V by a Homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *The journal of clinical investigation*, Volume 77, 1909-1916.

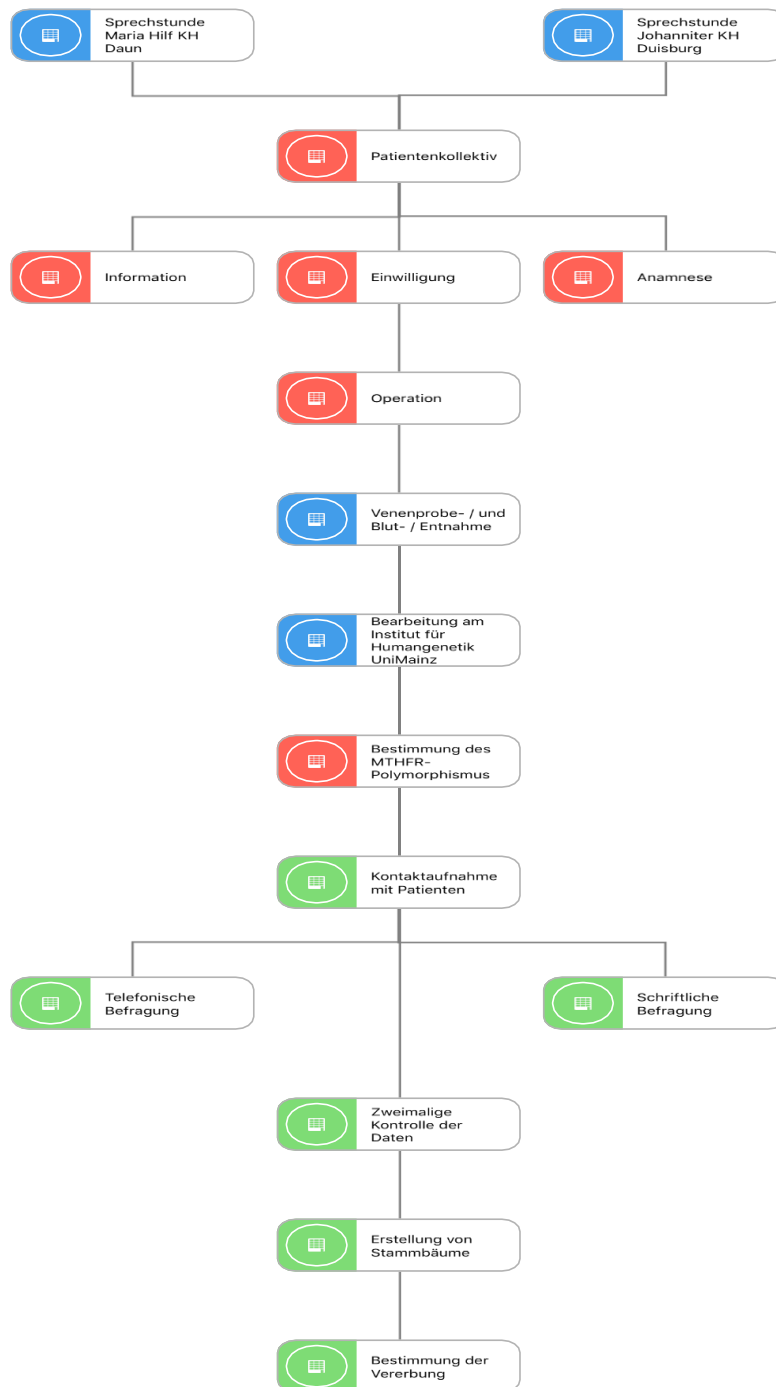
- Rodriguez S. et al., 2009. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *American journal of epidemiology*, 169, 505–514.
- Rosendaal F.R., 1999. Risk factors for venous thrombotic disease. *Thrombosis and haemostasis*, 82, 610-619.
- Rozen R., 1997. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thrombosis and haemostasis* 78, 523-526.
- Ruchoux M.M. et al., 1995. Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Acta Neuropathologica*, 89, 500–512.
- Saiki S. et al., 2006. Varicose veins associated with CADASIL result from a novel mutation in the Notch3 gene. *Neurology* 67, 337-9.
- Sam R. et al., 2003. The prevalence of hyperhomocysteinemia methylene tetrahydrofolate reductase c.677C>T mutation, and vitamin B12 and folate deficiency in patients with chronic venous insufficiency. *Journal of vascular surgery*, 38, 904-908.
- Serra R. et al., 2016. From varices to venous ulceration: the story of chronic venous disease described by metalloproteinases. *International wound journal*, 14, 233-240.
- Singh A.V. et al., 2010. Interplay of iron metallobiology, metalloproteinases, and FXIII, and role of their gene variants in venous leg ulcer. *The international journal of lower extremity wounds*, 9,166–79.
- Slezak A. et al., 2004. Evaluation of the efficiency of venous leg ulcer treatment with a membrane dressing. *Medical engineering & physics*, 26, 53-60.
- Sohn K-J. et al., 2009. The methylenetetrahydrofolate reductase c.677C>T mutation induces cell-specific changes in genomic DNA methylation and uracil misincorporation: a possible molecular basis for the site-specific cancer risk modification. *International journal of cancer*, 124, 1999–2005.
- Stansfield W. et al., 2004. Pedigree Analysis. *The american biology teacher*, 66, 177-182.
- Stern L.L. et al., 2000. Genomic DNA Hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the c.677C>T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer epidemiology, Biomarkers & Prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 9, 849-853.

- Ströbel P. et al., 2010. Anatomie und pathologische Anatomie des epifaszialen Venensystems. In: Noppeney T, Nüllen H (Hrsg) Varikose. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- Svejcar J. et al., 1963. Content of collagen, Elastin, and Hexosamine in primary varicose veins. *Clinical Science*, 24, 325-330.
- Sverdlova A.M. et al., 1998. Prevalence of the MTHFR c.677C>T mutation in patients with varicose veins of lower limbs. *Molecular genetics and metabolism*, 63, 35-36.
- Tariverdian G. et al., 2004. Humangenetik, Springer Medizin Verlag Heidelberg, 3. Auflage.
- Thomsen T.R. et al., 2008. The bacteriology of chronic venous leg ulcer examined by cultureindependent molecular methods. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 18, 38–49.
- Vahidnezhad H. et al., 2016. Trenaunay syndrome belongs to the PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS). *Experimental dermatology*, 25,17-19.
- Van der Put N.M. et. al., 1998. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *American journal of human genetics*, 62, 1044-1051.
- Verrel F. et al., 1999. Die ascendierende Varikophlebitis, Klassifikation und Therapie. *Gefäßchirurgie*, 4, 13-19.
- Viel A. et al., 1997. Loss of heterozygosity at the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase locus in human ovarian carcinomas. *British journal of cancer*, 75, 1105-1110.
- Visscher P. et al., 2008. Heritability in the genomics era-concepts and misconceptions. *Nature Reviews. Genetics*, 9, 225-266.
- Wagner A.H., 2010. Physiologie und Pathophysiologie der venösen Hämodynamik. In: Noppeney T, Nüllen H (Hrsg) Varikose. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
- Wang H. et al., 1997. Inhibition of growth and p21ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. *The journal of biological chemistry*, 272, 25380-25385.
- Weisberg I. et al., 1998. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Molecular genetics and metabolism*, 64, 169-172.
- Whiteley M. et al., 2014. Debate whether venous perforator surgery reduces recurrences. *Journal of vascular surgery*, 60, 796-803.

- Widmer L.K. et al., 1981. Venen-, Arterien- Krankheiten, koronare Herzkrankheit bei Berufstätigen. Prospektiv-epidemiologische Untersuchung. Basler Studie I-III 1959-1978. Bern, Stuttgart, Wien: Huber: 57-136.
- Wilcken B. et al., 2003. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. Journal of medical genetics, 40, 619-625.
- Wilmanns C. et al., 2015. Morphology and Progression in Primary Varicose Vein Disorder Due to 677C>T and 1298A>C Variants of *MTHFR*. EbioMedicine, 2, 158-164.
- Wilmanns C. et al., 2011. Superficial thrombophlebitis in varicose vein disease: the particular role of methylenetetrahydrofolate reductase. Phlebology 26, 135-139.
- Woodside K.J. et al., 2003. Morphologic characteristics of varicose veins: possible role of metalloproteinases. Journal of vascular surgery, 38, 162–169.
- Yang A. et al., 2004. A simple method for estimating global DNA methylation using bisulfite PCR of repetitive DNA elements. Nucleic acids Research, Vol. 32 ,No.3, e38 1-6.
- Zechner U. et al., 2009. Comparative methylation profiles and telomerase biology of mouse multipotent adult germline stem cells and embryonic stem cells. Molecular human reproduction, 15, 345-353.
- Zollinger R.W. et al., 1962. Problems in the diagnosis and treatment of thrombophlebitis. Archives of surgery, 85, 34-40.

## 9. Anhang

### 9.1 Organigramm



## 9.2 Patienteninformation (Krampfaderleiden)

### **Studie: Untersuchungen zur molekularen Pathogenese des primären Krampfaderleidens sowie dessen thrombophiler Komplikationen**

Studienleiter/lokal verantwortlicher Prüfer/lokale Prüfstelle: [REDACTED],  
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie, Johanniter-Krankenhaus, Kreuzacker 1-7,  
47228 Duisburg, e-mail: [REDACTED]

Ort der Durchführung: Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Mainz, Institut für  
Humangenetik, verantwortlich: Herr [REDACTED],  
[REDACTED]

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Zur Erforschung der molekularen Ursache des primären Krampfaderleidens sowie dessen thrombotischer Komplikationen führen wir gemeinsam mit dem Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz eine experimentelle, medizinische Studie durch. Wir möchten Ihnen im Folgenden diese Studie vorstellen und Sie fragen, ob Sie an der Studie teilnehmen wollen. Die Teilnahme an der Studie erfolgt freiwillig. Die Einwilligung zur Teilnahme kann jederzeit und ohne Angaben von Gründen widerrufen werden, ohne dass Ihnen daraus Nachteile entstehen.

Die Ursache des primären (vererbten) Krampfaderleidens ist nach wie vor unbekannt. Erste Untersuchungen haben Hinweise ergeben, dass häufig in der Bevölkerung auftretende Varianten eines Enzyms des Folsäurestoffwechsels, der sogenannten Methylentetrahydrofolatreduktase (abgekürzt: MTHFR), ursächlich an der Ausbildung des primären Krampfaderleidens sowie der ihm eigenen Ausbildung von Blutgerinnseln beteiligt sein könnten. Zur weiteren Abklärung werden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz im Blut von Patienten mit einem primären Krampfaderleiden genetische Untersuchungen zur Bestimmung der Varianten der MTHFR, sowie der bekannten Auslöser von tiefen Beinvenenthrombosen, der sogenannten Faktor V- und II-Mutationen, durchgeführt. Hierfür wird eine Blutprobe aus der präoperativen Routine-

Blutentnahme benötigt. In einem weiteren Schritt werden am Überschuss der bei Ihrer Operation entnommenen erkrankten Vene (Krampfadern) Untersuchungen zur vorzeitigen Zellalterung (der Krampfadern) auf der Ebene der Erbinformation durchgeführt. Ziel der Untersuchungen ist ein verbessertes Verständnis der genetischen Ursachen des Krampfaderleidens sowie dessen thrombotischer Komplikationen.

Die Lagerung des Probenmaterials im Institut für Humangenetik erfolgt mindestens bis zum Ende der Studie (voraussichtliche Dauer: ca. 3-5 Jahre) pseudonymisiert (d.h. ohne Angabe des Namens, der Anschrift, Initialen oder Ähnliches) unter einer von der Studienleitung vergebenen Kodierung, damit auf Wunsch jederzeit eine gezielte Vernichtung der Proben möglich ist. Die Speicherung der erhobenen Daten auf Datenträgern (mindestens bis zum Ende der Studie) und die Auswertung der Ergebnisse und Befunde erfolgen ebenfalls pseudonymisiert, eine Weitergabe an Dritte einschließlich Veröffentlichung erfolgt ausschließlich in anonymisierter Form.

Die Ergebnisse der Blutuntersuchungen werden Ihnen und/oder Ihrem Hausarzt in jedem Falle unter Beachtung der Vorgaben des Gendiagnostikgesetzes zugänglich gemacht. Auf einem gesonderten Formular werden Sie um Ihr Einverständnis zur Durchführung der Untersuchungen, sowie zur pseudonymisierten Aufbewahrung Ihrer Blut- und Gewebeprobe gebeten.

Wenn Sie an der Studie nicht teilnehmen möchten, entstehen Ihnen daraus keine irgendwie gearteten Nachteile. Wenn Sie noch Fragen zur Studie haben beantworten wir Ihnen diese jederzeit gerne.

### 9.3 Einwilligungserklärung

#### **Studie: Untersuchungen zur molekularen Pathogenese des primären Krampfaderleidens sowie dessen thrombophiler Komplikationen**

Studienleiter: [REDACTED], Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie, Johanniter-Krankenhaus, Kreuzacker 1-7, 47228 Duisburg, e-mail: [REDACTED]

Ort der Durchführung: Universitätmedizin Mainz, Institut für Humangenetik, verantwortlich: Herr [REDACTED], [REDACTED]

Ich erkläre mich bereit an der o. g. Studie freiwillig teilzunehmen. Ich bin in einem persönlichen Gespräch ausführlich und verständlich über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der Studie aufgeklärt worden. Ich hatte die Gelegenheit zu einem Beratungsgespräch. Alle meine Fragen wurden zufriedenstellend beantwortet, ich kann jederzeit neue Fragen stellen. Ich habe darüber hinaus den Text der Studienaufklärung gelesen und verstanden.

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Mir ist bekannt, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie zurückziehen kann (mündlich oder schriftlich) ohne dass mir daraus Nachteile entstehen.

**Ich habe verstanden und bin damit einverstanden, dass meine studienbezogenen Gesundheitsdaten pseudonymisiert (d. h. kodiert ohne Angabe von Namen, Anschrift, Initialien oder ähnliches) erhoben, auf Datenträgern gespeichert und vom Auftraggeber der Studie ausgewertet werden; die Weitergabe an Dritte einschließlich Publikation erfolgt ausschließlich in anonymisierter Form, d. h. kann nicht meiner Person zugeordnet werden.**

Ein Exemplar der Studieninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten, gelesen und verstanden.



Im Falle, dass für meine Gesundheit bedeutsame Befunde bekannt werden, treffe ich folgende Entscheidung:

- Die Befunde sollen an mich persönlich weitergegeben werden.
- Die Befunde sollen an meinen Hausarzt ..... weitergeleitet werden.

.....  
(Ort, Datum)

.....  
(Patientenname in Druckbuchstaben)

.....  
(Unterschrift Patient)

.....  
(Arztnahme in Druckbuchstaben)

.....  
(Unterschrift Arzt)

Ich habe das Aufklärungsgespräch geführt und die Einwilligung des Teilnehmers eingeholt.

## 9.4 Patientenfragebogen 1

Sehr geehrte/r Patient/in,

vielen Dank für Ihre Teilnahme in unserer Krampfaderstudie. Für die Komplettierung der genetischen Analyse benötigen wir zusätzliche Informationen. Bitte antworten Sie folgende Fragen:


a. Leidet jemand in Ihrer Familie an Krampfadern? Wie viele Kinder haben Sie und in welchem Alter? Hat jemand von den Kindern Krampfader?


b. Leben Ihre Eltern noch? Wenn nicht, in welchem Alter sind die verstorben? Litten Ihre Eltern an Krampfadern?

c. Haben Sie Geschwister? Leiden Ihre Geschwister an Krampfadern? Wie alt sind Ihre Geschwister?

d. Gibt es in Ihrer Familie weitere Personen mit einem Krampfaderleiden? (Enkel, Cousin/ Cousine, Tanten/ Onkel und Großeltern)

Mit freundlichen Grüßen

  
Studienleiter

  
Laborleiter  
Diplom-Biologe

## 9.5 Patientenfragebogen 2

Sehr geehrte/r Patient/in,

vielen Dank für Ihre Teilnahme in unserer Krampfaderstudie, sowie für die bereits zur Verfügung gestellten Informationen zur familiären Belastung. Für die Komplettierung der genetischen Analyse benötigen wir zusätzliche Informationen. Für eine Beantwortung der folgenden Frage wären wir Ihnen daher sehr dankbar.

Wer von den betroffenen und bereits genannten Familienangehörigen hatte ebenfalls abendlich dicke Beine, Verfärbungen oder narbige Veränderungen der Unterschenkel, ein Geschwür, wiederholte Krampfaderoperationen, oder eine Krampfaderthrombose?

Für eine Beantwortung und Ihre Unterstützung danken wir Ihnen sehr herzlich. Ein frankierter Rückumschlag liegt dem Schreiben bei. Sie tragen durch Ihre Auskunft zur Klärung einer wichtigen Volkskrankheit bei. Wir wünschen Ihnen für Ihr Wohlergehen alles Gute.

Mit freundlichen Grüßen

  
Studienleiter

  
Laborleiter  
Fachhumangenetiker (GfH)

## Genetischer Einfluss beim primären Krampfaderleiden. Erfassungsbogen

### Demographische Daten

Name: .....

Vorname: .....

Geschlecht: .....

Anschrift: .....

Telefon: .....

E-mail: .....

Geburtsdatum: .....

Gewicht bei Aufnahme: .....

Größe bei Aufnahme: .....

Beruf: .....

Berufstätig: 1) ja  2) nein



**Familie**

	Alter oder Jahrgang	lebt		Todesursache / Erkrankungen	Krampfaderleiden	
		ja	nein		Ja	Nein
Vater						
Mutter						

**Geschwister**

Geschlecht?	Alter	Erkrankungen	Krampfaderleiden	
			Ja	Nein

**Kinder**

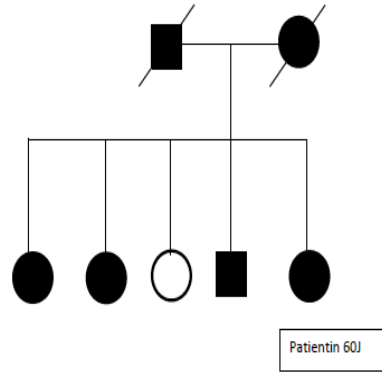
Geschlecht?	Alter	Erkrankungen	Krampfaderleiden	
			Ja	Nein



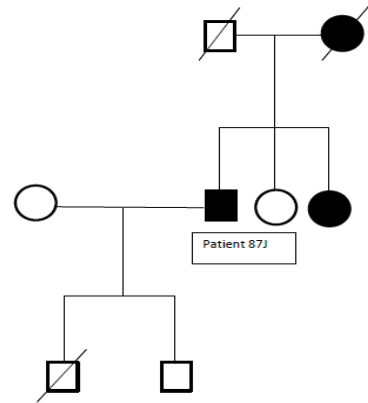




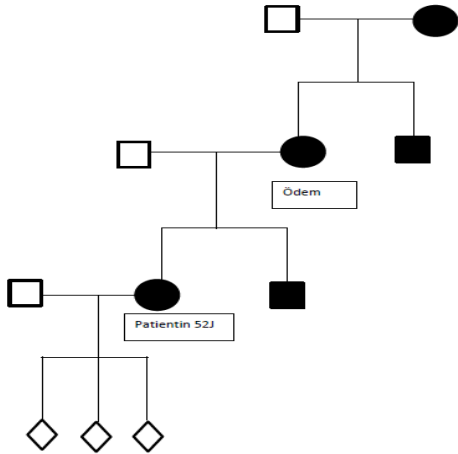
1643/12, komplizierte Varikosis-Varikophlebitis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AA



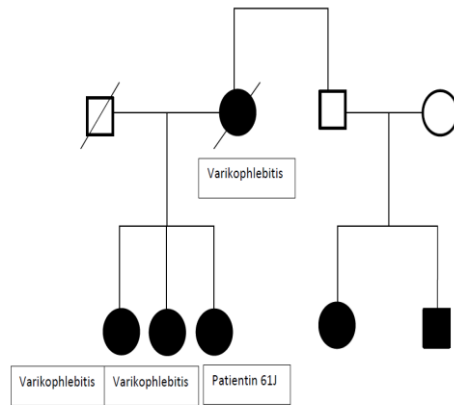
1645/12, komplizierte Varikosis-Varikophlebitis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AA



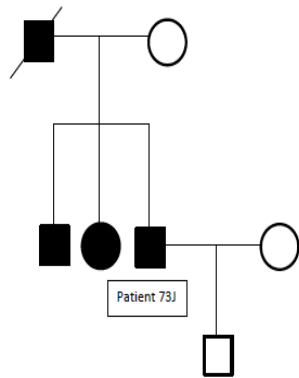
423/13, komplizierte Varikosis-Ödem C3, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



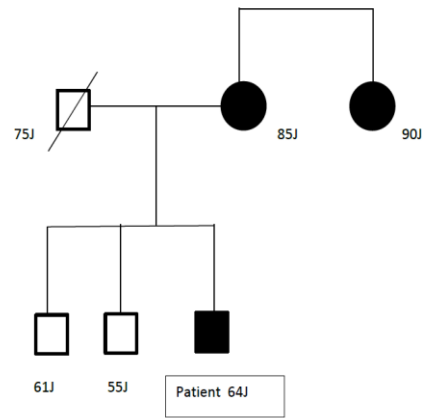
425/13, komplizierte Varikosis-Ödem C3, MTHFR C677T/ A1298C: CC/AC



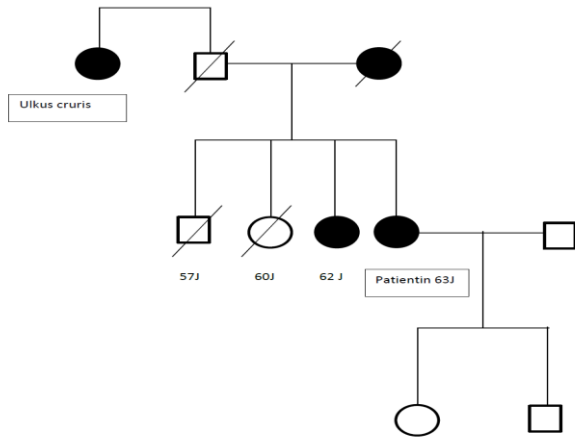
417/13, komplizierte Varikosis- Ödem C3 und Krossen-Rezidiv-Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AA



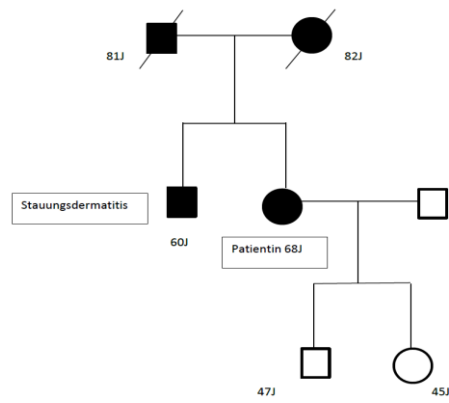
123/13, komplizierte Varikosis- Perforans-Rezidiv, MTHFR C677T/ A1298C: TT/AA



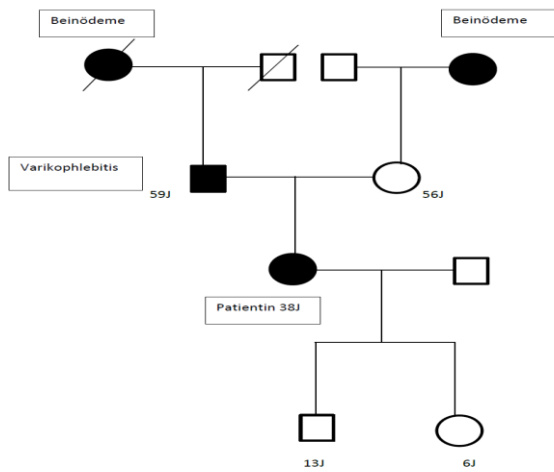
792/14D, komplizierte Varikosis- Varikophlebitis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AA



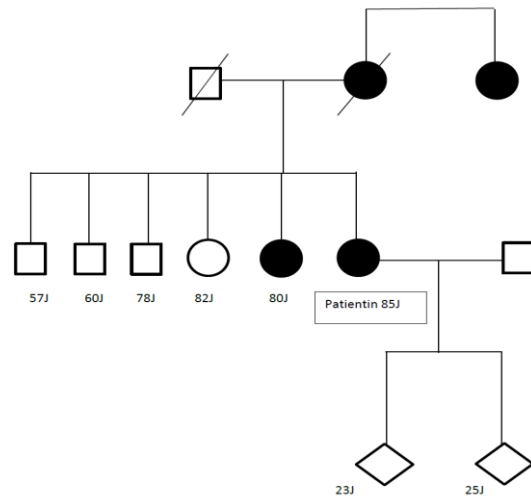
790/14D, komplizierte Varikosis-Ödem C3 und Krossen-Rezidiv-Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TT/AA



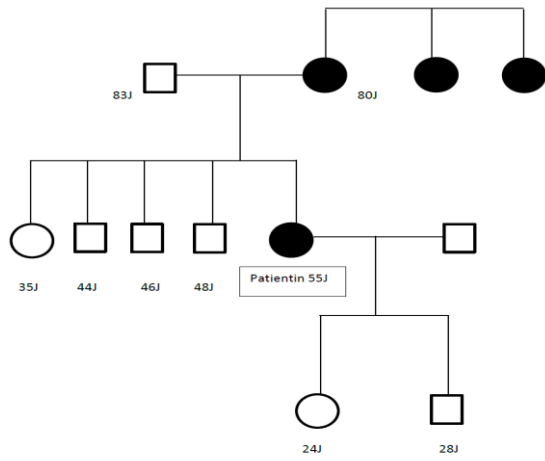
120/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: CC/AC



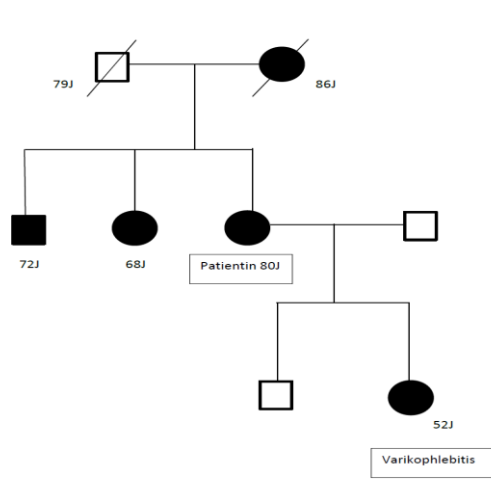
122/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: CC/AA



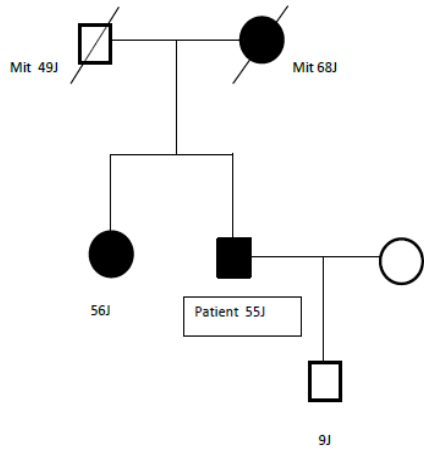
127/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TT/AA



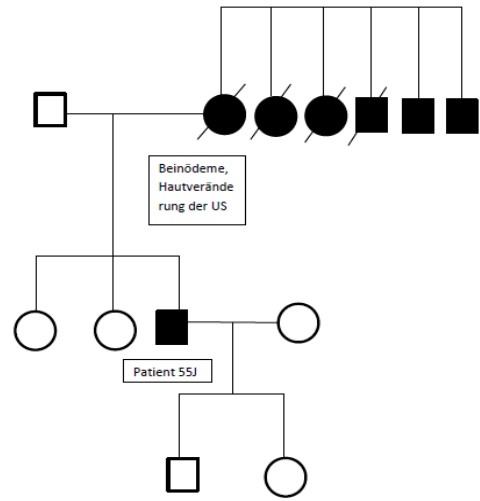
129/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: CC/AC



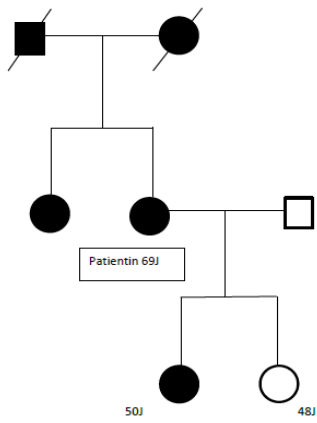
321/12, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: CC/AA



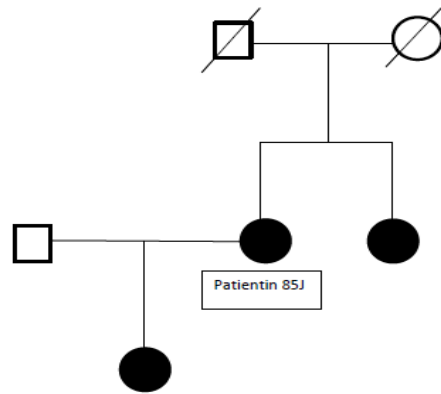
424/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AA



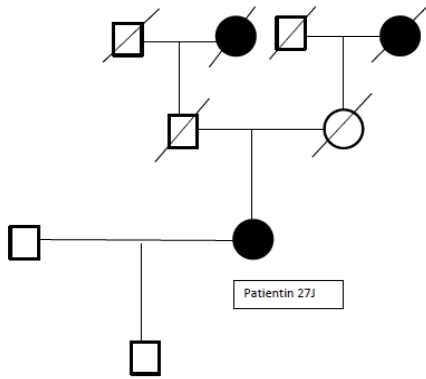
428/14, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



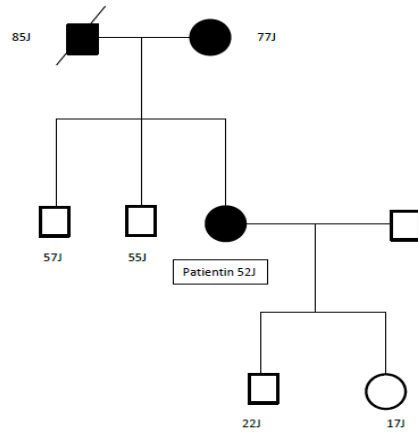
422/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: CC/AA



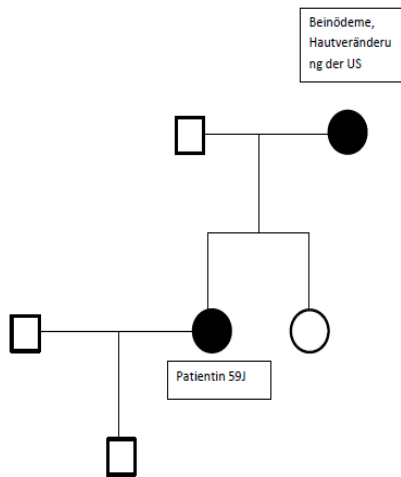
886/12, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



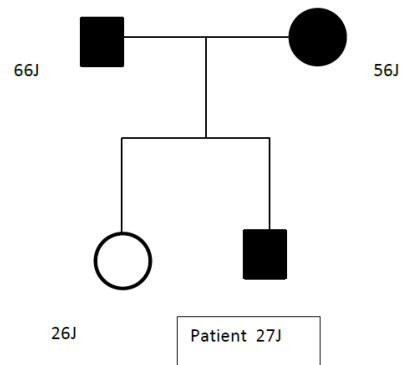
916/13, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



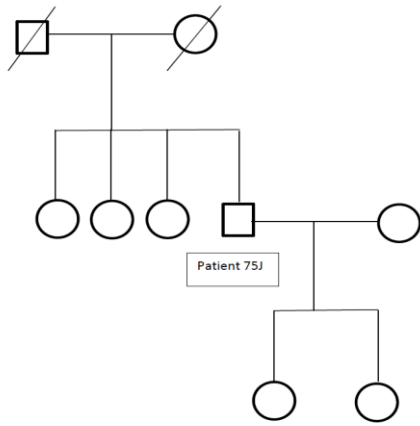
1639/12, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



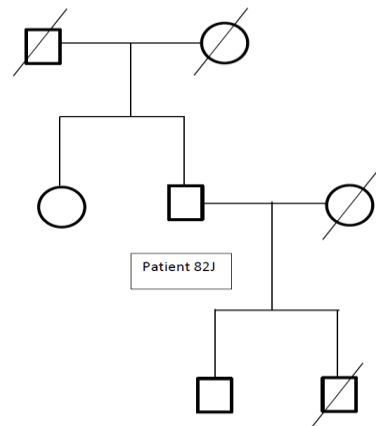
782/14D, unkomplizierte Varikosis, MTHFR C677T/ A1298C: CC / AC



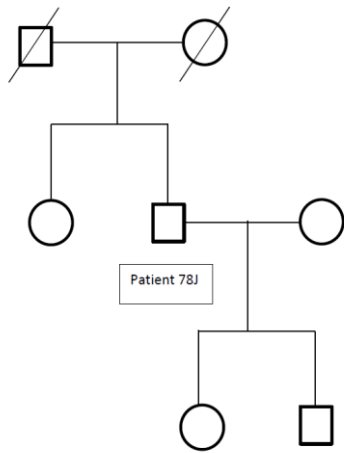
871/12, Kontrolle, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



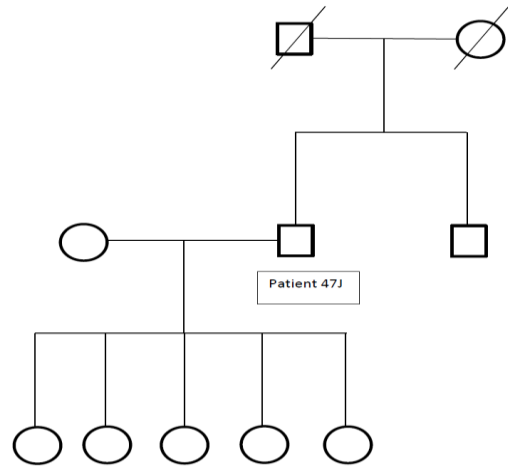
872/12, Kontrolle, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AC



877/12, Kontrolle, MTHFR C677T/A1298C: CC/AC



881/12, Kontrolle, MTHFR C677T/ A1298C: TC/AA



## 9.8. Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn [REDACTED] dafür bedanken, dass er mir ermöglicht hat, diese Arbeit anzufertigen und mir somit sehr wertvolle Einblicke in die Humangenetik und Epigenetik gewährte. Ich bedanke mich für seine Unterstützung und Betreuung.

Herrn [REDACTED] danke ich ganz herzlich für die Korrektur der Doktorarbeit, die gute Zusammenarbeit bei der Proben-Sammlung, die Patientenselektion und die investierte Zeit und Mühe.

Herrn [REDACTED] danke ich, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat, Patienten über die Sprechstunden zu rekrutieren. Herrn [REDACTED] danke ich für die Einlagerung der Proben. Frau [REDACTED] danke ich für die Kontrolle der angegebenen mündlichen Informationen.

Ich bedanke mich außerdem bei den Kooperationspartnern dieser Arbeit, Herrn [REDACTED], Herrn [REDACTED], Herrn [REDACTED], Frau [REDACTED], Frau [REDACTED], Frau [REDACTED] für den Ideen-Austausch, die professionelle Hilfe bei der Analyse und die akademische Führung der Doktorarbeit.

Anschließend möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie dafür bedanken, dass sie stets hinter mir steht und mich nach Kräften unterstützt. Meiner Frau danke ich für ihre Geduld und ihre mentale Unterstützung.

