

Aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik
der Universität zu Lübeck

Direktor: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Andreas Ziegler

Robuste Teststatistiken für autosomale und X-chromosomale Assoziationsanalysen

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

– Aus der Sektion Medizin –

vorgelegt von

Christina Loley

aus Münster

Lübeck 2013

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. rer. biol. hum. Inke R. König
2. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Meike Kasten
3. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Nothnagel

Tag der mündlichen Prüfung: 05.03.2014

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 05.03.2014

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
Assoziationstests für X-chromosomale Marker – Ein Vergleich der verschiedenen Teststatistiken ..	2
Robuste Assoziationstests, Effektschätzung und Modellselektion mit Hilfe von verallgemeinerten linearen Modellen.....	11
Anwendung der untersuchten Verfahren auf eine genomweite Assoziationsstudie zur schweren Malaria	17
Diskussion und Ausblick.....	22
Danksagung.....	24
Lebenslauf.....	25
Publikationsverzeichnis.....	26

Einleitung

Um die genetischen Ursachen von Krankheiten oder den Einfluss genetischer Varianten auf quantitative Phänotypen wie Blutdruck oder Cholesterinwerte zu untersuchen, haben sich in den letzten Jahren genomweite Assoziationsstudien (GWAs) als Standardverfahren etabliert. Hierbei werden mehrere 100 000 bis Millionen Einzelnukleotidpolymorphismen (englisch: single nucleotide polymorphisms, SNPs) auf Assoziation mit einem Phänotyp getestet. Obwohl in der Regel Daten zum gesamten menschlichen Genom erhoben werden, wird das X-Chromosom zumeist nicht ausgewertet. Ein Grund hierfür ist die geschlechtsspezifische Datenstruktur des X-Chromosoms, wodurch die Verfahren für das Autosom nicht ohne Weiteres anwendbar sind. So tragen Männer auf dem X-Chromosom nur ein statt der autosomal üblichen zwei Allele pro SNP. Zusätzlich tritt das Phänomen der Inaktivierung auf, welches bewirkt, dass bestimmte X-chromosomale Regionen bei der Frau schwächer exprimiert werden, als bei zwei Kopien des X-Chromosoms zu erwarten wäre.

Diese Besonderheiten erfordern die Konstruktion spezieller Testverfahren. Die bisher vorhandenen Tests für das X-Chromosom werden in der ersten vorliegenden Arbeit vorgestellt und miteinander verglichen. Es zeigt sich hierbei, dass keiner der Tests unter allen betrachteten Szenarien gute Ergebnisse erzielt. Obwohl Empfehlungen gemacht werden, wann welcher Test sinnvoll anzuwenden ist, stellt dies im Rahmen einer GWA ein erhebliches Problem dar. Bei der Vielzahl zu testender Varianten ist die Formulierung von Vorwissen oder Annahmen über das zu Grunde liegende Vererbungsmodell (englisch: mode of inheritance, MOI) kaum möglich, und modellabhängige Empfehlungen für einen Test sind somit nicht hilfreich.

Daher wird in der zweiten vorgelegten Arbeit ein Testverfahren konstruiert, das unter den verschiedenen MOI gute Eigenschaften hat. Das Verfahren ist ein sogenannter MAX-Test, der hier mit Hilfe der verallgemeinerten linearen Modelle konstruiert wird und auf eine Reihe verschiedener Phänotypen und Datenstrukturen anwendbar ist. Außerdem ermöglicht das Verfahren gleichzeitig die Auswahl des wahrscheinlichsten MOI.

In der dritten Arbeit werden schließlich die Ergebnisse der ersten beiden Arbeiten in einer GWA zur schweren Malaria genutzt. Hier wurden sowohl autosomale als auch X-chromosomale Varianten untersucht, mit Hilfe des MAX-Tests das wahrscheinlichste MOI identifiziert und zur Replikation in zwei unabhängigen Stichproben verwendet. Auf diese Weise konnten zwei neue Risikogene entdeckt und das zu Grunde liegende MOI bestimmt werden.

Assoziationstests für X-chromosomale Marker – Ein Vergleich der verschiedenen Teststatistiken

Loley, C., Ziegler, A., und König, I. R. (2011) Association tests for X-chromosomal markers – A comparison of different test statistics. *Hum Hered* **71**, 23-36.

Einleitung

Mit Hilfe von genomweiten Assoziationsstudien (GWAs) wurde erfolgreich eine Vielzahl von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) entdeckt, die einen wichtigen Einfluss auf das Risiko verschiedener Krankheiten oder auf andere Phänotypen zeigt. Während für die Autosome hunderte solcher SNPs gefunden wurden, sind für das X-Chromosom vergleichsweise wenige bekannt. Beispielsweise wurden auf Chromosom 7 bis Juli 2012 127 Assoziationen gefunden, auf Chromosom X jedoch nur 21, obwohl beide etwa die gleiche Länge haben (Abbildung 1). Ein wesentlicher Grund hierfür ist, dass es für die statistische Analyse des X-Chromosoms bisher kein Standardvorgehen gibt. Es gibt weder allgemein akzeptierte Teststatistiken, noch etablierte Grenzwerte für die Qualitätskontrolle. In den meisten GWAs wird das X-Chromosom daher gar nicht ausgewertet. Hierdurch geht wertvolle genetische Information verloren, die insbesondere für Krankheiten mit geschlechtsspezifischen Verläufen oder Risiken interessant wäre.

Bei der Analyse X-chromosomaler SNPs sind im Wesentlichen zwei Besonderheiten zu beachten. Zum einen besitzen (außerhalb der pseudoautosomalen Regionen) männliche Probanden nur eine Kopie des X-Chromosoms und damit auch nur ein mögliches Allel pro SNP, während Frauen zwei Kopien und damit auch zwei mögliche Alle-

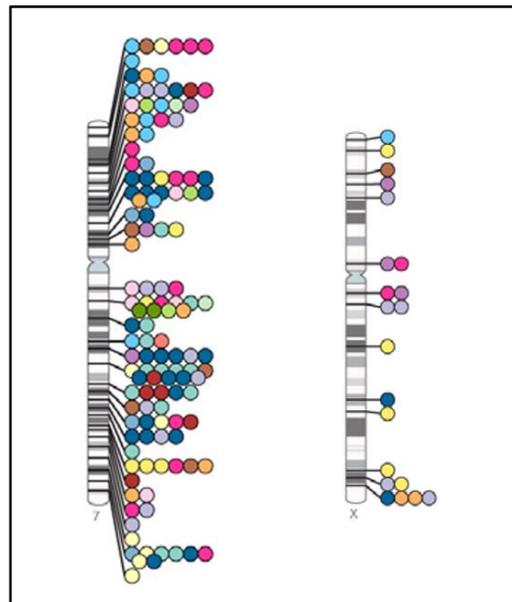


Abbildung 1: Publierte, genomweit signifikante Assoziationen für Chromosom 7 (links) und Chromosom X (rechts) aller GWAs bis einschließlich Juli 2012 laut NHGRI GWA Catalog (www.genome.gov/GWAStudies).

le aufweisen. Die zweite Besonderheit ist die sogenannte Inaktivierung eines der beiden X-Chromosome der Frau. Hierbei wird zufällig pro Zelle jeweils eine der beiden Kopien des X-Chromosoms ganz oder teilweise stillgelegt, sodass nur eine stark reduzierte Genexpression stattfindet. Dieser Mechanismus wird häufig als Dosiskompensation bezeichnet und meint die Anpassung des Expressionsniveaus der Frau an das des Mannes, welches auf Grund der einzelnen Kopie des X-Chromosoms naturgemäß nur halb so groß ausfallen würde. Die Inaktivierung betrifft jedoch nicht das komplette X-Chromosom. Vielmehr werden einige Gene oder Regionen nur teilweise oder auch gar nicht inaktiviert. Außerdem werden sowohl zellspezifische als auch individuelle Unterschiede beobachtet.

Um diesen Besonderheiten des X-Chromosoms gerecht zu werden, sind für alle Stichproben, die sowohl Männer als auch Frauen beinhalten, spezielle Tests nötig, um Assoziationen X-chromosomaler Varianten mit einem interessierenden Phänotyp untersuchen zu können.

Material und Methoden

Je nachdem, ob für eine Region Inaktivierung vorliegt oder nicht, können unterschiedliche Teststatistiken betrachtet werden. Der Unterschied dieser Teststatistiken liegt in der Kodierung der Genotypen der Männer (Abbildung 2). Wenn keine Inaktivierung vorliegt, so hat ein Risikoallel bei Frauen den gleichen Einfluss wie ein Risikoallel bei Männern. Das bedeutet, dass Männer mit einem Risikoallel genauso behandelt werden wie heterozygote Frauen (Abbildung 2a). Geht man jedoch von der Inaktivierung eines X-Chromosoms aus, so hat ein Risikoallel des Mannes dieselbe Wirkung wie zwei Risikoallele bei der Frau, was bedeutet, dass Männer wie homozygote Frauen behandelt werden (Abbildung 2b).

(a) Modell ohne Inaktivierung		(b) Model mit Inaktivierung	
♀ AA ♀ A	≅ 0 Risikoallele	♀ AA ♀ A	≅ 0 Risikoallele
♀ Aa ♀ a	≅ 1 Risikoallel	♀ Aa	≅ 1 Risikoallel
♀ aa	≅ 2 Risikoallele	♂ aa ♀ a	≅ 2 Risikoallele

Abbildung 2: (Additive) Kodierung der Genotypen von Männern und Frauen (a) ohne und (b) mit Inaktivierungsannahme. a: Risikoallel, A: Anderes Allel.

Teststatistiken, die keine Inaktivierung annehmen, wurden von Zheng et al. vorgestellt, solche, die Inaktivierung voraussetzen, wurden von Clayton und Ziegler und König beschrieben. Die wichtigsten Eigenschaften der verschiedenen Tests werden in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Eigenschaften der vorgestellten statistischen Tests.

Test	Inaktivierung	Modell	FG	SG	Kombination
Z_A^2	nein	allelbasiert	1	nein	--
Z_C^2	nein	genotypbasiert	2	ja	einfache Summe
Z_{mfA}^2	nein	allelbasiert	1	ja	gewichtete Summe
Z_{mfG}^2	nein	genotypbasiert	1	ja	gewichtete Summe
T_A	ja	additiv	1	nein	--
S_A	ja	additiv	1	ja	gewichtete Summe
T_{AD}	ja	additiv und dominant	2	nein	--
T_{AD}^s	ja	additiv und dominant	3	ja	einfache Summe

FG: Freiheitsgrade der χ^2 -Verteilung, SG: Stratifizierung des Tests nach Geschlecht.

Teststatistiken für Modelle ohne Inaktivierungsannahme

Zheng et al. stellen zunächst eine Teststatistik für die gemeinsame Analyse von Männern und Frauen bereit (Z_A^2). Da diese gleiche Allelfrequenzen sowie Effektstärken in den männlichen und weiblichen Teilstichproben impliziert, werden außerdem separate Statistiken für Frauen und Männer vorgeschlagen. Diese können in unterschiedlicher Weise zu Tests für die Analyse beider Geschlechter kombiniert werden. Für Frauen können sowohl genotypbasierte als auch allelbasierte Teststatistiken konstruiert werden. Durch einfache Addition der Tests für Männer und Frauen entsteht ein χ^2 -Test (Z_C^2) mit zwei Freiheitsgraden (FG), durch gewichtete Summation der Statistiken kann ein Freiheitsgrad eingespart werden und es ergeben sich Tests mit einem FG (Z_{mfA}^2 , Z_{mfG}^2).

Teststatistiken für Modelle mit Inaktivierungsannahme

Zum Testen unter der Annahme der Inaktivierung wurden sogenannte Score-Tests vorgeschlagen. Als erstes wird ein additiver Test (T_A) berechnet, der dem gewöhnlichen Trendtest ähnelt. Im Gegensatz zum allgemeinen Trendtest erfordert hier jedoch das Fehlen heterozygoter Männer eine separate Berechnung der Varianzen der weiblichen und männlichen Teilstichproben. Eine geschlechtsstratifizierte Variante (S_A) dieses Tests ergibt sich wiederum, indem die Teststatistik separat für Männer und Frauen berechnet und eine gewichtete Summe dieser Statistiken gebildet wird.

Weiterhin wird ein Test (T_{AD}) vorgeschlagen, der zusätzlich zum additiven auch auf ein dominantes Vererbungsmodell testet. Die stratifizierte Variante (T_{AD}^s) ergibt sich, indem die Statistik separat für Männer und Frauen berechnet und anschließend addiert wird.

Simulationsstudie

Alle vorgestellten Tests wurden in einer Monte-Carlo-Simulationsstudie hinsichtlich der statistischen Macht und der Fehler erster Art miteinander verglichen. Anhand von 10000 Replikaten wurde eine Stichprobe von 400 Personen simuliert, die sich je nach gewünschtem Szenario unterschiedlich zusammensetzt. Es wurde ein binärer Phänotyp, genauer gesagt eine Krankheit mit einer Prävalenz von 10% in der allgemeinen Bevölkerung simuliert. Es wurden additive, rezessive und dominante Vererbungsmodelle sowohl mit als auch ohne Inaktivierungsannahme simuliert. Die relative Häufigkeit des seltenen Allels (englisch: minor allele frequency, MAF) wurde zwischen 5% und 50% variiert. Außerdem wurden Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (englisch: Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) sowie Unterschiede zwischen Männern und Frauen in der Prävalenz der Krankheit, den Allelfrequenzen und den Effektstärken untersucht. Weiterhin wurden Stichproben mit unterschiedlichen Anteilen von Männern und Frauen in Fällen und Kontrollen betrachtet.

Morbus Crohn Analyse

Zusätzlich wurden sämtliche Teststatistiken auf einen realen Datensatz von 300 Patientinnen und Patienten mit Morbus Crohn und 432 gesunden, nicht verwandten Kontrollen angewendet. Beide Gruppen entstammen einer jüdischen Population und weisen dieselbe Alters- und Geschlechtsstruktur auf. Mit Hilfe des Illumina HumanHapmap300 Genotyping BeadChip wurden 8706 X-chromosomale SNPs außerhalb der pseudo-autosomalen Regionen genotypisiert. Zur Qualitätskontrolle wurden Individuen mit mehr als 10% fehlenden Genotypen oder nicht eindeutiger Übereinstimmung von berichtetem und genotypischem Geschlecht aus der Analyse ausgeschlossen. Ebenso wurden SNPs mit einer MAF von kleiner als 1%, mehr als 2% fehlenden Werten oder einem p -Wert für die Abweichung vom HWE von kleiner 0.0001 ausgeschlossen. Bei Männern wurden SNPs, die als heterozygot angegeben waren, als fehlend gesetzt und, falls dies bei mehr als 2% der Genotypen vorkam, ausgeschlossen.

Ergebnisse

Fehler erster Art

Unter der Annahme von HWE und gleichen Allelfrequenzen für Männer und Frauen lagen die Typ-I-Fehlerfrequenzen aller Tests nahe am vorgegebenen Niveau von 5%. Unter Abweichungen vom HWE zeigten die allelbasierten Tests Z_A^2 und $Z_{m,fA}^2$ erhöhte Fehlerfrequenzen, falls ein Überschuss an Heterozygoten vorlag und ansonsten verringerte Fehlerfrequenzen. Unter geschlechts-spezifischen Allelfrequenzen wiesen die nicht geschlechtsstratifizierten Teststatistiken T_A und T_{AD} deutliche Abweichungen vom vorgeschriebenen Niveau auf, mit Abweichungen nach oben, falls die Allelfrequenzen der Männer höher waren als die der Frauen. Besonders stark erhöhte Fehlerfrequenzen traten auf, wenn zusätzlich der Anteil der Frauen in Fällen und Kontrollen unterschiedlich war. In diesem Fall zeigte auch die Teststatistik Z_A^2 erhöhte Typ-I-Fehlerfrequenzen.

Statistische Macht

Abbildung 3 zeigt die statistische Macht der Tests für die verschiedenen Simulationsszenarien bei einer MAF von 30% und einem relativen Homozygotenrisiko von 2. Hierbei ist das relative Homozygotenrisiko die Wahrscheinlichkeit einer Person zu erkranken, falls sie homozygot für das Risikoallel ist, geteilt durch die Wahrscheinlichkeit zu erkranken, wenn sie homozygot für das andere Allel ist. Die Ergebnisse für andere Effektstärken und MAF sowie unter Abweichungen von HWE sehen im Wesentlichen sehr ähnlich aus.

Balancierte und unbalancierte Stichprobendesigns

Unter einem balancierten Stichprobendesign (Abbildung 3a) und ansonsten gleichen Parametern für Männer und Frauen zeigt der Test T_A die höchste Macht unter allen Modellen mit Inaktivierung, wobei die Unterschiede zu den übrigen Tests jedoch gering sind. Nur die Tests mit zwei oder drei FG zeigen in der Regel eine geringere Macht. Unter dem rezessiven Modell ohne Inaktivierung weist jedoch der Test T_{AD}^s , der gleichzeitig auf additive sowie dominante Modelle testet, eine höhere statistische Macht als alle übrigen Tests auf.

Die Unterschiede in der statistischen Macht steigen, sobald unbalancierte Stichproben betrachtet werden. Ist der Anteil der Frauen in den Fällen (67%) deutlich größer als in den Kontrollen (33%), so ist die statistische Macht des Tests T_A vor allem im rezessiven Modell deutlich reduziert, und der Test $Z_{m,fG}^2$ ist jetzt überlegen. Im Modell ohne Inaktivierung hat nun statt T_{AD}^s der Test Z_A^2 die größte statistische Macht.

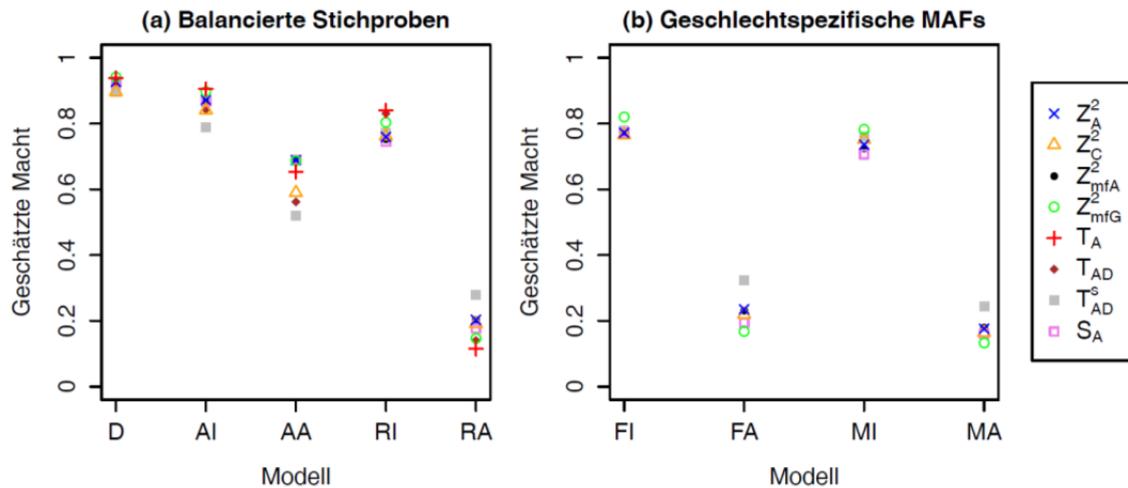


Abbildung 3: Statistische Macht der Tests für ein relatives Homozygotenrisiko von 2. (a) Balancierte Stichproben, Frequenz des seltenen Allels (MAF) bei 30%; D: Dominantes Modell (unabhängig von Inaktivierung), AI: Additives Modell mit Inaktivierung, AA: Additives Modell ohne Inaktivierung, RI: Rezessives Modell mit Inaktivierung, RA: Rezessives Modell ohne Inaktivierung. (b) Geschlechtsspezifische Allelfrequenzen, rezessives Modell; FI: MAF von 27.5% in Frauen und 32.5% in Männern, Inaktivierung, FA: MAF von 27.5% in Frauen und 32.5% in Männern, keine Inaktivierung, MI: MAF von 32.5% in Frauen und 27.5% in Männern, Inaktivierung, MA: MAF von 32.5% in Frauen und 27.5% in Männern, keine Inaktivierung.

Geschlechtsspezifische Prävalenzen, Effektstärken und Allelfrequenzen

Ist die Effektstärke bei den Frauen deutlich größer als bei den Männern, so haben die Teststatistiken Z_A^2 , Z_{mfA}^2 und S_A in den meisten Situationen die größte Macht. Ist die Effektstärke bei den Männern größer als bei den Frauen, so hat die Teststatistik T_A die höchste statistische Macht unabhängig vom genetischen Modell und der MAF. Unter geschlechtsspezifischen Allelfrequenzen (Abbildung 3b) sind die Teststatistiken T_A , T_{AD} und Z_A^2 nicht einsetzbar, da sie erhöhte Typ-I-Fehlerfrequenzen aufweisen. Unter den verbleibenden Tests ist der Test Z_{mfG}^2 für die meisten Situationen am besten geeignet. Nur unter einem rezessiven Modell ohne Inaktivierung sind die Tests Z_C^2 und T_{AD}^s besser geeignet.

Morbus Crohn Analyse

Nach Qualitätskontrolle verblieben 294 Fälle und 431 Kontrollen zur Analyse von 7546 SNPs. Eine konservative Bonferroni-Korrektur für multiples Testen ergab ein chromosomweites Signifi-

kanzniveau von $5 \cdot 10^{-6}$. Hiermit ergaben sich zwei Regionen mit signifikanten Assoziationen. Da für keinen der SNPs in diesen Regionen wesentliche Abweichungen vom HWE oder geschlechts-spezifische Allelfrequenzen beobachtet wurden, können alle Teststatistiken verwendet werden. Abbildung 4 zeigt die Geninformation, die Rekombinationsraten, das Kopplungsungleichgewicht und jeweils für die Teststatistik mit dem kleinsten p -Wert der Region die logarithmierten p -Werte.

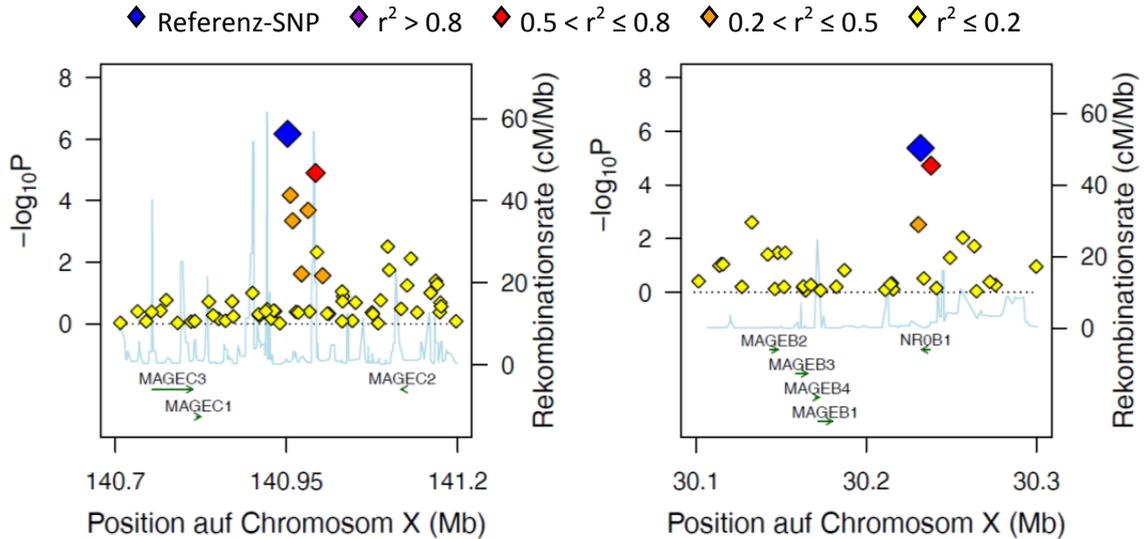


Abbildung 4: Logarithmierte p -Werte für die Assoziation, Geninformation, Kopplungsungleichgewicht (gemessen durch r^2) sowie Rekombinationsraten der Varianten der zwei neu entdeckten Regionen. Links: p -Werte der Teststatistik T_{AD}^s ; rechts: p -Werte der Teststatistik S_A .

Die erste Region (Abbildung 4, links) liegt bei etwa 141 Megabasenpaaren (Mb) in der Nähe der Gene *MAGEC1*, *MAGEC2* und *MAGEC3*. Der SNP rs2038265 liefert hier für alle Teststatistiken ein signifikantes Ergebnis, wobei der Test T_{AD}^s den kleinsten p -Wert aufweist ($p = 2.0 \cdot 10^{-7}$). Die Genotypverteilung dieses SNPs legt ein rezessives Modell mit Inaktivierung nahe, für welches der Test T_{AD}^s auch in den Simulationen eine gute Macht aufgewiesen hatte. Die zweite Region (Abbildung 4, rechts) liegt bei etwa 30 Mb in der Nähe der Gene *NR0B1* sowie *MAGEB1* bis *MAGEB4*. Den kleinsten p -Wert in dieser Region zeigt der SNP rs4829424, für welchen ein geschlechtsspezifischer Effekt der Frauen vorzuliegen scheint ($Z_{fG}^2: p = 3.3 \cdot 10^{-6}$, $Z_m^2: p = 0.22$), der einzig von der Teststatistik S_A nachgewiesen wurde ($p = 4.2 \cdot 10^{-6}$).

Diskussion

Obwohl in der Literatur bereits einige Tests für Assoziationen auf dem X-Chromosom beschrieben wurden, fehlte bisher ein systematischer Vergleich der verschiedenen Statistiken. Deshalb wurde in dieser Arbeit eine breitangelegte Simulationsstudie durchgeführt, welche die vorhandenen Tests in verschiedenen praxisrelevanten Situationen vergleicht. Zusätzlich wurden alle Tests zur Analyse eines Morbus Crohn Datensatzes verwendet. Sowohl die Simulationsergebnisse als auch die Ergebnisse der Realdatenanalyse haben gezeigt, dass kein Test über alle Szenarien die beste statistische Macht aufweisen kann. Unter der Annahme der Inaktivierung zeigt der Test T_A unter den meisten Modellen eine gute statistische Macht, zusätzlich weist er aber auch ohne Inaktivierungsannahme eine hohe Macht auf, falls die Effektstärke bei den Frauen im Vergleich zu den Männern reduziert ist. Der Test Z_A^2 zeigt in vielen Modellen ohne Annahme von Inaktivierung die höchste Macht. Falls Unterschiede in den Allelfrequenzen von Männern und Frauen vorhanden sind, hat der Test $Z_{m,fG}^2$ die beste Macht unter allen zulässigen Tests.

Die Analyse der Morbus Crohn Daten ergab zwei potentiell interessante neue Regionen. Die erste Region liegt zwischen drei Genen der Melanom-Antigen Familie (*MAGEC1*, *MAGEC2*, und *MAGEC3*), welche überwiegend in verschiedenen Tumorgeweben exprimiert werden. Die zweite Region liegt in unmittelbarer Nähe des Gens *NR0BI*, welches ein DNA-bindendes Protein kodiert, das wiederum die Transkription reguliert. Der funktionelle Zusammenhang dieser Gene zu Morbus Crohn ist jedoch unklar und sollte in weiteren Studien untersucht werden. Auch sollten die Varianten in einer weiteren, nicht jüdisch-stämmigen Population repliziert werden, um Rückschlüsse auf eine allgemeinere Population zu ermöglichen.

Ziel dieser Arbeit war es, der Forschung Richtlinien an die Hand zu geben, um für die Analyse X-chromosomaler Daten einen geeigneten Test auszuwählen. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, zuerst die Voraussetzungen des HWE und der gleichen Allelfrequenzen zu überprüfen. Letzteres ist besonders relevant, wenn sich die Anteile an Frauen in Fällen und Kontrollen unterscheiden. Dies ist häufig bei Erkrankungen mit geschlechtsspezifischen Prävalenzen wie beispielsweise dem Herzinfarkt der Fall. In diesem Falle können auch kleine Abweichungen in den Allelfrequenzen zu einer erheblichen Erhöhung des Fehlerniveaus führen.

Sind die entsprechenden Voraussetzungen erfüllt, so sollte der Test T_A benutzt werden, falls in der interessierenden Region Inaktivierung vermutet wird, und der Test Z_A^2 , falls keine Inaktivierung zu

erwarten ist. Sind die Voraussetzungen nicht erfüllt, kann der Test $Z_{m,fG}^2$ als robuste Variante verwendet werden.

Eine wichtige Limitation aller vorgestellten Tests ist jedoch, dass keine zusätzlichen Einflussfaktoren bei der Analyse des Phänotyps berücksichtigt werden können. In vielen Situationen ist dies aber essentiell, um unverzerrte Ergebnisse zu erlangen, beispielsweise wenn Populationsstratifikation vorliegt, oder wenn sich Fall- und Kontrollgruppen hinsichtlich bestimmter Faktoren unterscheiden, die Wechselwirkungen mit genetischen Varianten aufweisen. Diesem Problem kann begegnet werden, indem die vorgestellten Tests in logistische Regressionsmodelle überführt werden, welche für die Integration zusätzlicher Einflussgrößen geeignet sind. Solche Modelle sind beispielsweise in der später vorgestellten GWA zur schweren Malaria notwendig, wo eine Vernachlässigung der Populationsstratifikation zu einer erheblichen Inflation der p -Werte und damit zu falsch positiven Ergebnissen führen könnte.

Obwohl obige Empfehlungen bei der Auswahl eines Tests helfen können, sind sie im Rahmen einer GWA nicht völlig befriedigend. Keiner der Tests hat über alle untersuchten Szenarien gleich gute statistische Macht gezeigt. Daher scheint insbesondere im Rahmen von GWAs die Suche nach einem Test geboten, der weitestgehend unabhängig von Modellannahmen ist und für alle SNPs einer GWA gleichermaßen eingesetzt werden kann. Dies könnte zum Beispiel durch einen sogenannten MAX-Test geschehen, der robust unter den verschiedenen genetischen Modellen ist und idealerweise ohne die Voraussetzung des HWE oder der gleichen Allelfrequenzen für Männer und Frauen auskommt.

Aus diesem Grunde wird in der nächsten Arbeit ein neuer MAX-Test vorgestellt, der sich durch seine universellen Einsatzmöglichkeiten auszeichnet. Dieser MAX-Test kann auf eine Vielzahl unterschiedlicher Phänotypen angewendet werden, egal ob binär oder quantitativ, ob Zählraten oder auch Überlebenszeiten. Der Test wird sowohl für unabhängige als auch gepaarte Stichproben sowie für Familiendaten formuliert und erlaubt die Adjustierung für zusätzliche Einflussfaktoren. Obwohl zunächst für das Autosom beschrieben, lässt sich der vorgeschlagene MAX-Test problemlos für X-chromosomale Daten anpassen.

Robuste Assoziationstests, Effektschätzung und Modellselektion mit Hilfe von verallgemeinerten linearen Modellen

Loley, C., König, I. R., Hothorn, L., und Ziegler, A. (2013) A unifying framework for robust association testing, estimation, and genetic model selection using the generalized linear model. *Eur J Hum Genet*, im Druck (DOI: 10.1038/ejhg.2013.62).

Einleitung

Wie bereits beschrieben sind Genomweite Assoziationsstudien (GWAs) das Standardverfahren, mit dem die meisten Zusammenhänge zwischen Krankheiten oder anderen Phänotypen und genetischen Varianten aufgeklärt wurden. Der am häufigsten verwendete Test ist hier der Cochran-Armitage Trendtest oder, analog hierzu, ein logistisches Regressionsmodell mit additiver Kodierung der Genotypen. Obwohl dies häufig eine gute Wahl darstellt, ist die statistische Macht stark reduziert, wenn statt eines additiven ein rezessives Modell vorliegt. Alternativ bietet sich Pearsons χ^2 -Test mit zwei Freiheitsgraden (FG) an, der lediglich auf einen allgemeinen Unterschied der Genotyphäufigkeiten von Fällen und Kontrollen prüft. Er gibt aber keinerlei Information über das zu Grunde liegende genetische Vererbungsmodell (englisch: mode of inheritance, MOI). Als Alternative bieten sich daher sogenannte MAX-Testverfahren an. Hier werden simultan die drei Hypothesen für das dominante, additive und rezessive Modell getestet und ein multipler p -Wert angegeben.

Die bislang bekannten MAX-Tests unterscheiden sich in vielerlei Hinsicht und sind in der Regel limitiert auf bestimmte Anwendungen. So können p -Werte häufig nicht asymptotisch sondern nur über Permutationsverfahren bestimmt werden, was sich für die Anwendung in GWAs als zu rechenintensiv herausstellt. Viele Verfahren erlauben zudem nur die Analyse unabhängiger Probandinnen und Probanden, sind auf binäre Endpunkte beschränkt oder ermöglichen nicht die Einbeziehung von Kovariaten, wie es beispielsweise zur Adjustierung für Populationsstratifikation notwendig wäre. Auch die Angabe von Punktschätzern und Konfidenzintervallen ist häufig nicht möglich.

Das hier vorgestellte Verfahren hebt sich von anderen MAX-Tests ab, da es keiner der obigen Einschränkungen unterliegt. Der MAX-Test wird hier mit Hilfe der verallgemeinerten linearen Modelle (englisch: generalized linear models, GLM) hergeleitet. Mittels linearer Kontraste werden Bedingungen für die zu schätzenden Parameter eingeführt und dadurch die drei MOI konstruiert. Über

eine multivariate Normalverteilung werden p -Werte für jedes der drei Modelle bestimmt, und die Modellwahl geschieht anhand des kleinsten der drei p -Werte.

Durch die Verwendung der GLM ist der Ansatz extrem flexibel und erlaubt die Analyse verschiedener Phänotypen, die Einbeziehung von Kovariaten, die Analyse unabhängiger und abhängiger Stichproben sowie die Berechnung asymptotischer p -Werte. Die Eigenschaften dieses neuen MAX-Tests werden mit Hilfe einer Monte-Carlo-Simulationsstudie untersucht. Außerdem wird der Test in einer GWA zur Malaria und zur Reanalyse mehrerer bereits veröffentlichter GWAs eingesetzt.

Material und Methoden

Wir betrachten zunächst eine Stichprobe von n unabhängigen Individuen. Es sei y_i die Ausprägung des Phänotyps und z_i der Vektor der Kovariaten des i -ten Individuums. Die zu untersuchende genetische Variante sei ein autosomaler SNP mit den Allelen a und A . Die drei möglichen Genotypen (AA , aA , aa) des SNPs werden durch die drei Dummy-Variablen $x_{i,0}$, $x_{i,1}$ und $x_{i,2}$ definiert, die jeweils den Wert 1 annehmen, falls der Genotyp vorliegt, und, falls nicht, den Wert 0. Über die Maximum-Likelihood-Methode wird nun das GLM

$$g(\mathbb{E}(y_i)) = \beta_0 x_{i,0} + \beta_1 x_{i,1} + \beta_2 x_{i,2} + \boldsymbol{\gamma}' \mathbf{z}_i$$

geschätzt, wobei g die Link-Funktion, $\boldsymbol{\beta} = (\beta_0, \beta_1, \beta_2)'$ die genetischen Parameter und $\boldsymbol{\gamma}$ den Parametervektor der Kovariaten (z_i) darstellt. Die Link-Funktion g wird abhängig vom Phänotyp gewählt. Beispielsweise wird für einen binären Phänotyp die logistische Funktion, für einen quantitativen Phänotyp die Identität gewählt. Für familienbasierte oder gepaarte Stichproben wird zur Schätzung der Parameter statt der gewöhnlichen die bedingte Maximum-Likelihood-Methode verwendet.

Durch Beschränkung des Parameterraums können nun die drei genetischen Modelle formuliert werden. Wir benutzen hierzu standardisierte lineare Kontraste. Unter einem dominanten Modell sollten Individuen mit ein und zwei a -Allelen denselben Effekt aufweisen, solche mit null a -Allelen jedoch einen geringeren. Diese Bedingung wird durch den Kontrast $(-1, +\frac{1}{2}, +\frac{1}{2})$ erfüllt. Bei einem additiven MOI sollte der Effekt mit jedem zusätzlichen a -Allel steigen. Dies wird durch den Kontrast $(-1, 0, +1)$ erfüllt. Für das rezessive Modell sollten zwei a -Allele einen erhöhten Effekt gegenüber null oder einem a -Allel aufweisen, was durch den Kontrast $(-\frac{1}{2}, -\frac{1}{2}, +1)$ gewährleistet wird. Durch Transformation des Parametervektors $\hat{\boldsymbol{\beta}}$ mit Hilfe obiger Kontraste können nun die drei MOI simultan getestet werden und der MAX-Test ergibt sich als das Maximum

der Teststatistiken der drei Modelle. Der p -Wert des MAX-Tests wird anhand einer dreidimensionalen Normalverteilung berechnet, und das plausibelste MOI wird über die größte Teststatistik unter den drei Modellen bestimmt.

Simulationsstudie

Um die Fehlerfrequenzen, die statistische Macht und die Modellselektion des MAX-Tests bewerten zu können, wurde dieser in einer Monte-Carlo-Simulation mit anderen üblichen Tests verglichen. Dazu wurden 10000 Replikate einer Stichprobe von 1500 Fällen und 1500 unabhängigen Kontrollen simuliert. Variiert wurden die MAF des untersuchten SNP (zwischen 0.1 und 0.5), die Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (englisch: Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) sowie das zu Grunde liegende MOI (dominant, additiv, rezessiv). Der MAX-Test wurde mit dem allelbasierten χ^2 -Test mit einem FG sowie mit Pearsons genotypbasierten χ^2 -Test mit zwei FG verglichen. Außerdem wurde jeweils ein logistisches Regressionsmodell für das dominante, additive und rezessive Modell angepasst. In ähnlicher Weise wurden auch quantitative Phänotypen sowie Trios aus einem erkrankten Kind und den beiden Elternteilen simuliert.

Um die Güte der Modellselektion zu bewerten, wurden die Wahrscheinlichkeiten berechnet, ein bestimmtes MOI auszuwählen, wenn in Wahrheit ein 1. dominantes, 2. additives oder 3. rezessives Modell vorliegt. Weiterhin wurden die positiven prädiktiven Werte (englisch: positive predictive value, ppV) der drei Modelle berechnet. Letztere beschreiben die Wahrscheinlichkeit, dass ein bestimmtes MOI das wahre Modell ist, wenn dieses MOI durch den MAX-Test ausgewählt wurde.

Anwendung auf reale Datensätze

Der MAX-Test wurde außerdem in einer GWA zur schweren Malaria angewendet, die in der dritten vorgelegten Arbeit ausführlich beschrieben wird. Weiterhin wurden signifikante Ergebnisse bereits veröffentlichter Studien mit Hilfe des MAX-Tests reanalysiert. Hierbei wurde der MAX-Test auf Fall-Kontrollstudien zu Diabetes, altersbedingter Makuladegeneration, Prostatakrebs, Brustkrebs und Bluthochdruck angewendet. Außerdem wurde die Methode bei einer alters- und geschlechtsgepaarten Studie zur Sarkoidose sowie bei einer GWA eines quantitativen Phänotyps, des Body-Mass-Indexes, angewendet.

Ergebnisse

Im Folgenden werden nur die Simulationsergebnisse des binären Phänotyps beschrieben. Für die quantitativen Phänotypen sowie die Trio-Daten ergeben sich ähnliche Ergebnisse.

Simulationsstudie – Fehler erster Art

Die Fehler erster Art lagen für alle Teststatistiken nahe dem vorgegebenen Signifikanzniveau von 5%. Nur für eine MAF von 10% zeigte der MAX-Test leicht konservative Ergebnisse, und der allelbasierte χ^2 -Test zeigte Abweichungen vom 5%-Niveau, falls kein HWE vorlag.

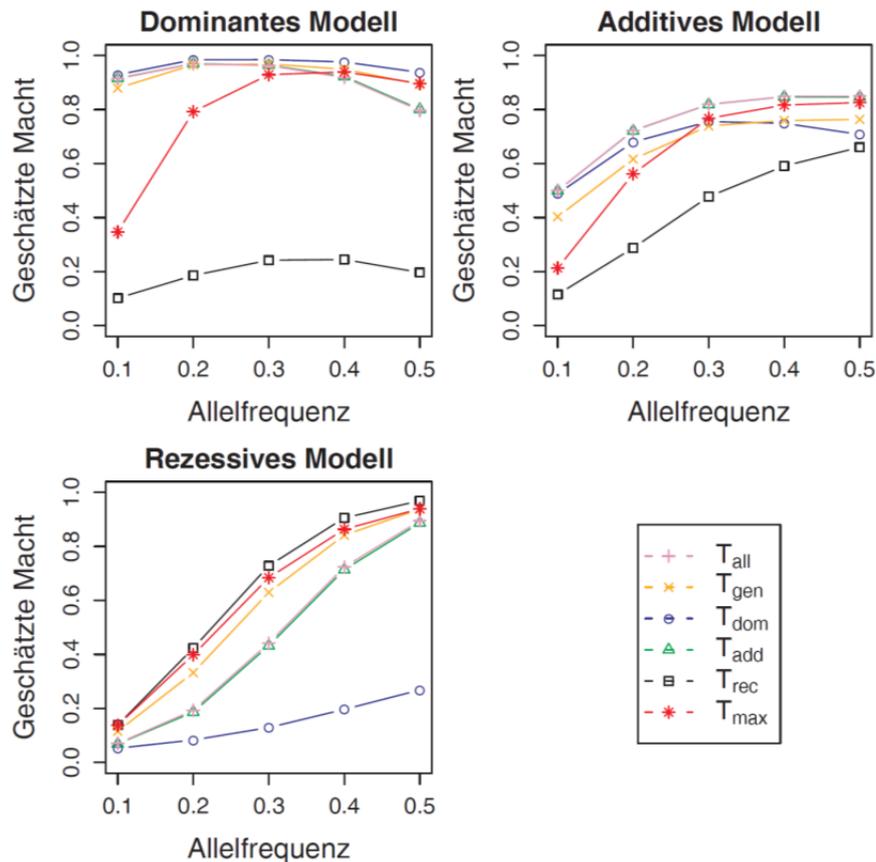


Abbildung 5: Geschätzte statistische Macht der Teststatistiken unter den drei genetischen Vererbungsmodellen für ein relatives Homozygotenrisiko von 1.3.

Simulationsstudie – Statistische Macht

Abbildung 5 zeigt die statistische Macht der Tests unter den drei MOI in Abhängigkeit von der MAF. Der auf das zu Grunde liegende MOI angepasste Test zeigt jeweils die größte statistische Macht. Die Macht des MAX-Tests ist stark abhängig von der MAF des untersuchten SNP. Für MAFs von etwa 50% hat der MAX-Test die höchste Macht mit Ausnahme des für das entsprechende MOI konzipierten Tests. Für eine MAF von etwa 30% zeigt im dominanten Modell auch der additive Test eine größere Macht als der MAX-Test und für noch kleinere MAFs sinkt die statistische Macht des MAX-Tests auch im dominanten Modell erheblich. Nur im rezessiven Modell

zeigt er eine beinahe ebenso gute Macht wie der Test für das rezessive Modell. Für MAFs kleiner als 30% ist nur Pearsons χ^2 -Test mit zwei FG robust unter allen MOI.

Simulationsstudie – Modellselektion

Für eine MAF von etwa 50% ist die Wahrscheinlichkeit, dass der MAX-Test das richtige MOI auswählt, für alle drei Modelle groß und nähert sich mit steigender Effektstärke 100% an. Gleiches gilt für den ppV. Die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Wahl sinkt jedoch mit der MAF. Bei einer MAF von 30% und kleiner ist beispielsweise unter einem additiven Modell die Wahrscheinlichkeit für die Wahl eines dominanten MOI größer als die Wahrscheinlichkeit der korrekten Wahl des additiven MOI. Da für diese MAFs die Entscheidung des MAX-Tests für ein additives oder dominantes MOI häufig falsch ist, sinkt entsprechend auch der ppV dieser Modelle. Nur der ppV des rezessiven MOI liegt noch deutlich oberhalb von 50%, und auch die Wahrscheinlichkeit, das rezessive Modell korrekt zu identifizieren, liegt bei etwa 50%.

Anwendung auf reale Datensätze

In der GWA zur schweren Malaria wurde die plausibelste Assoziation im Gen *ATP2B4* durch den SNP rs10900589 beschrieben. Für diesen wurde mit Hilfe des MAX-Tests ein rezessives MOI ausgewählt und für die Replikation in einer weiteren ghanaischen sowie einer gambischen Stichprobe verwendet. Bei einer MAF von 36% und einem Odds Ratio von 0.58 liegt der ppV für diese Wahl bei annähernd 100%, sodass die Wahl mit sehr großer Wahrscheinlichkeit als richtig angesehen werden kann. Dies bestätigt sich auch in der gambischen Replikationsgruppe, wo allein das rezessive Modell ein signifikantes Ergebnis liefert. Auch die Betrachtung der genotypischen Odds Ratios von null im Vergleich zu einem (OR_{01}) beziehungsweise zwei Risikoallelen (OR_{02}) unterstützt die Annahme eines rezessiven Modells, da $OR_{01} \approx 1$ und $OR_{02} \ll 1$.

Die Reanalyse der veröffentlichten Fall-Kontrollstudien zeigt, dass der MAX-Test in fast allen Situationen ähnlich gute Ergebnisse erzielt wie Pearsons χ^2 -Test, der robuste Ergebnisse unter allen MOI liefert. Die Betrachtung der genotypischen Odds Ratios ergab eine meist plausible Modellselektion. Dies gilt auch für die alters- und geschlechtsgepaarte Studie zur Sarkoidose sowie für die Studie des quantitativen Phänotyps, des Body-Mass-Indexes.

Diskussion

Frühere Arbeiten haben gezeigt, dass es keinen Test gibt, der über alle MOI die beste statistische Macht hat. In GWAs wird meist ein additiver Test verwendet, der jedoch unter einem rezessiven

MOI erheblich an Macht verliert. Als modellunabhängige Alternativen wurden Pearsons χ^2 -Test und verschiedene MAX-Tests vorgeschlagen. Der hier vorgestellte MAX-Test ist jedoch einzigartig in seiner breiten Anwendbarkeit. Er hält das vorgegebene Fehlerniveau gut ein und zeigt für eine MAF von 30% und höher gute statistische Macht sowie eine zuverlässige Modellselektion. Für MAFs von 20% und kleiner sind jedoch sowohl die Macht als auch die Güte der Modellwahl stark reduziert. In diesem Fall ist die Gruppe der Homozygoten für das seltene Allel zu schwach besetzt und es bedarf deutlich größerer Stichproben, um zuverlässige Schätzungen der Modellparameter zu erhalten und damit eine gute statistische Macht und eine zuverlässige Modellselektion zu erzielen. In großen Studienkonsortien werden jedoch mitunter Fallzahlen von mehreren 10000 Individuen erzielt, sodass der MAX-Test auch für kleinere MAFs eingesetzt werden könnte.

Mit den neuen Sequenzierungsverfahren können funktionelle Varianten genauer lokalisiert werden. Dies steigert die Wahrscheinlichkeit eines nicht additiven MOI und damit wächst auch die Bedeutung von robusten Verfahren wie dem MAX-Test. Andererseits werden hier auch sehr häufig seltene Varianten betrachtet, sodass zusätzliche Forschung nötig wird, um Verfahren mit guten Eigenschaften unter sehr kleinen MAFs zu entwickeln. Um eine von der MAF unabhängige Alternative zum MAX-Test mit ähnlicher Flexibilität zu erhalten, könnte beispielsweise eine linearisierte, auf den hier verwendeten Kontrasten beruhende Variante des sogenannten MIN2 konstruiert werden.

Der MAX-Test wurde hier nur für das Autosom formuliert. Eine Erweiterung auf das X-Chromosom ist jedoch einfach zu erzielen. Allein durch die Integration der zusätzlichen Kovariaten Geschlecht kann ein Test konzipiert werden, der für das X-Chromosom geeignet ist. Durch Anpassungen der zu testenden MOI kann auch dem Problem der Inaktivierung X-chromosomaler Regionen Rechnung getragen werden. Die statistische Macht dieser X-chromosomalen Variante des MAX-Tests sollte jedoch in einer separaten Simulationsstudie überprüft werden.

In der dritten Arbeit wird nun eine GWA zur schweren Malaria vorgestellt, in der die Methoden und Erkenntnisse aus den ersten beiden Arbeiten angewendet wurden. In dieser Studie wurden sowohl das Autosom als auch das X-Chromosom auf Assoziation zur Malaria untersucht. Für die SNPs mit den kleinsten p -Werten wurde mit Hilfe des MAX-Tests das MOI bestimmt und zur Replikation in unabhängigen Studiengruppen verwendet.

Anwendung der untersuchten Verfahren auf eine genomweite Assoziationsstudie zur schweren Malaria

Timmann, C., Thye, T., Vens, M., Evans, J., May, J., Ehmen, C., Sievertsen, J., Muntau, B., Ruge, G., Loag, W., Ansong, D., Antwi, S., Asafo-Adjei, E., Nguah, S. B., Kwakye, K. O., Akoto, A. O., Sylverken, J., Brendel, M., Schuldt, K., **Loley, C.**, Franke, A., Meyer, C. G., Agbenyega, T., Ziegler, A., und Horstmann, R. D. (2012) Genome-wide association study indicates two novel resistance loci for severe malaria. *Nature* **489**, 443-446.

Einleitung

Malaria ist eine hauptsächlich in den Tropen und Subtropen auftretende Krankheit, die durch Parasiten der Gattung Plasmodium hervorgerufen wird. Die Malaria tropica wird durch den Erreger Plasmodium falciparum verursacht und umfasst meist eine Vielzahl klinischer Symptome. Typisch sind vermehrt, teils regelmäßig auftretende Fieberschübe aber auch Komplikationen wie schwere Anämien, neurologische Störungen, Azidose oder Atemnot. In der Vergangenheit wurde bereits gezeigt, dass bestimmte genetische Varianten die Schwere des Krankheitsverlaufs beeinflussen können. Um den genetischen Hintergrund der Krankheit weiter aufzudecken, wurde eine genomweite Assoziationsstudie (GWA) an 1325 Patientinnen und Patienten mit schwerem Verlauf der Malaria tropica (SM) und 828 nicht erkrankten Kontrollen durchgeführt.

Material und Methoden

Eingeschlossen in die Fallgruppe der Studie wurden nur Patientinnen und Patienten, die nach den Richtlinien der World Health Organization (WHO) einen schweren Verlauf der Krankheit aufwiesen. Die hier vorgestellte GWA umfasst 1325 ghanaische Patientinnen und Patienten mit obigem Krankheitsbild und 828 nicht erkrankte Kontrollen derselben ghanaischen Population. Die qualitätskontrollierten Daten wurden zunächst unter Annahme eines additiven genetischen Vererbungsmodells (englisch: mode of inheritance, MOI) auf Assoziationen getestet. Hierzu wurde ein logistisches Regressionsmodell angepasst, das mit Hilfe von Kovariaten für Alter, Geschlecht und Populationsstratifikation adjustiert wurde.

Für die Replikation in einer unabhängigen ghanaischen Stichprobe von 1320 Fällen mit SM und 2222 Kontrollen derselben Population sowie einer gambischen Stichprobe von 909 Fällen und 1304 Kontrollen wurde aus unabhängigen Regionen jeweils der SNP mit dem kleinsten p -Wert ausge-

wählt ($p < 5 \cdot 10^{-5}$ für genotypisierte und $p < 10^{-5}$ für imputierte SNPs). Mit Hilfe des in der vorherigen Arbeit beschriebenen MAX-Tests wurde das wahrscheinlichste MOI bestimmt und ein entsprechendes Regressionsmodell mit den obigen Kovariaten angepasst.

Um in den bisher unbekanntenen Regionen die kausale Variante zu identifizieren, wurde für diese eine Feinkartierung durchgeführt. Hierzu wurden für jede neue Region alle SNPs untersucht, die zu dem SNP mit dem kleinsten p -Wert in der Region ein Kopplungsungleichgewicht von $r^2 > 0.5$ hatten oder ein $r^2 > 0.05$ und einen p -Wert für das ausgewählte MOI von kleiner 10^{-3} aufwiesen. Des Weiteren wurden alle Exone der interessierenden Gene sowie eine Region von einem Kilobasenpaar (Kb) strangaufwärts des Gens auf zusätzliche kodierende oder Promotorvarianten untersucht.

Ergebnisse

Nach Qualitätskontrolle standen 4 205 739 SNPs für die weitere Analyse zur Verfügung. 41 unabhängige Regionen wurden für die Replikation ausgewählt, von denen vier in der gemeinsamen Analyse der beiden ghanaischen Stichproben ein genomweit signifikantes Ergebnis zeigten ($p < 5 \cdot 10^{-8}$). Drei dieser Regionen konnten auch in der gambische Population bestätigt werden (Tabelle 2). Zwei der gefundenen Regionen bestätigen bereits bekannte Assoziationen, die übrigen zwei Regionen waren bislang unbekannt.

Tabelle 2: Übersicht der vier genomweit signifikanten Regionen.

SNP	Gen	Chr	Position	MAF	Ghanaische Gruppen		Gambier
					OR [95%-KI]	p -Wert	p -Wert
rs10900585	ATP2B4	1	203 654 024	0.43	0.65 [0.56–0.75]	$6.1 \cdot 10^{-9}$	$5.2 \cdot 10^{-3}$
rs8176719	ABO	9	136 132 908	0.29	1.67 [1.50–1.86]	$1.1 \cdot 10^{-20}$	$5.0 \cdot 10^{-4}$
rs334	HBB	11	5 248 232	0.07	0.11 [0.08–0.15]	$1.4 \cdot 10^{-38}$	$1.3 \cdot 10^{-28}$
rs2334880	MARVELD3	16	71 653 637	0.40	1.24 [1.15–1.34]	$3.9 \cdot 10^{-8}$	0.60

Chr: Chromosom, MAF: Frequenz des seltenen Allels, OR: Odds Ratio, KI: Konfidenzintervall.

Die erste neue Region (Abbildung 6, oben) liegt im Gen *ATP2B4* (ATPase Ca^{2+} -transporting plasma membrane 4), welches das Enzym PMCA4 (Plasmamembran-Kalzium-ATPase) kodiert, das wiederum den Kalziumtransport aus den Zellen katalysiert. In dieser Region weist der SNP rs4961074 den kleinsten p -Wert auf. Mit Hilfe des MAX-Tests wurde für diesen SNP ein rezessives MOI bestimmt. Für die Feinkartierung der Region wurden 73 SNPs ausgewählt. Unter diesen hatte die Variante rs10900585 den kleinsten p -Wert. Sie liegt im zweiten Intron von *ATP2B4* und

hat keine offensichtliche Funktion. Alle vier SNPs, die sowohl in der ghanaischen als auch der gambischen Gruppe genotypisiert vorlagen, zeigten dieselben Risikoallele und ähnliche ORs wie die Variante rs10900585 sowie einen p -Wert kleiner als 0.05 in der gambischen Gruppe.

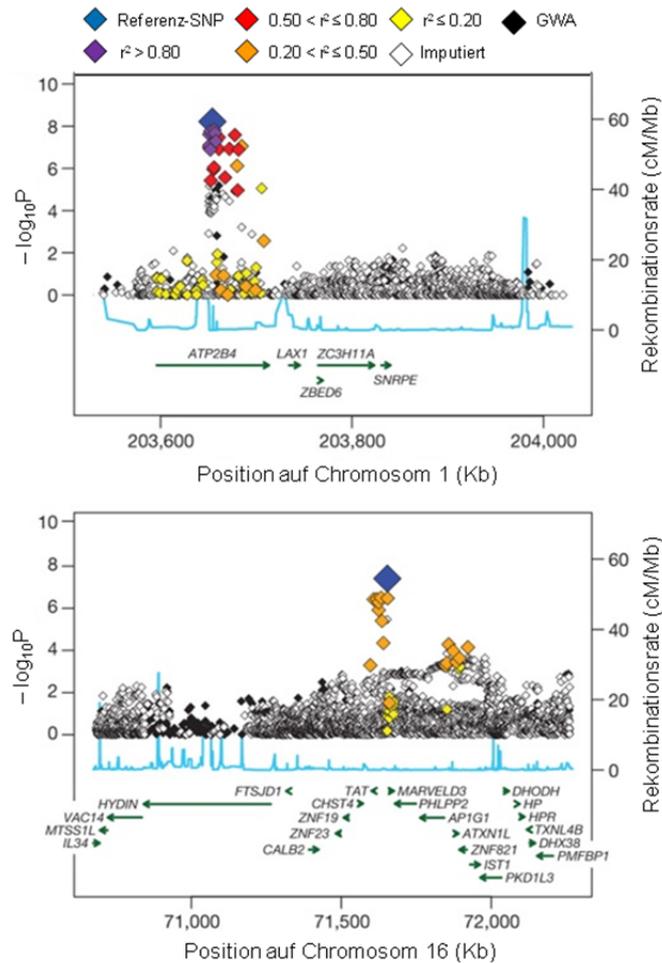


Abbildung 6: Logarithmierte p -Werte für die Assoziation, Geninformation, Kopplungsungleichgewicht (gemessen durch r^2) sowie Rekombinationsraten der Varianten der zwei neu entdeckten Regionen.

Der zweite neue Locus (Abbildung 6, unten) wurde durch Imputation entdeckt, konnte jedoch durch Genotypisierung der Variante rs2334880 bestätigt werden. Der SNP liegt in einer intergenetischen Region, 42.6 Kb strangaufwärts des Gens *TAT* (*Tyrosin-Aminotransferase*), welches ein House-Keeping-Enzym kodiert, und 6.4 Kb strangaufwärts des Gens *MARVELD3* (*MARVEL Domain Containing Protein 3*), dessen Produkte die Abdichtung der Gefäßwände unterstützen. In der gambischen Studiengruppe konnte dieser SNP nicht bestätigt werden, was sich womöglich durch

das Fehlen des protektiven Allels oder eine andere Struktur des Kopplungsungleichgewichts in dieser Population erklären lässt. Für die Feinkartierung der Region wurden 35 SNPs untersucht, von denen jedoch keiner eine stärkere Assoziation als die Variante rs2334880 zeigte.

Die beiden übrigen Regionen wurden bereits in früheren Studien berichtet. Zum einen wurde eine Assoziation im Gen *HBB* beobachtet, welche sich auch in der Gambischen Population bestätigte. Zum anderen zeigte sich eine Assoziation im Gen *ABO*, welche eine bereits früher berichtete protektive Wirkung der Blutgruppe 0 bezüglich eines schweren Verlaufs der Krankheit untermauert.

Diskussion

Durch die hier präsentierte GWA konnten zwei neue potentielle Risikogene zur SM entdeckt und zwei weitere, bereits bekannte Regionen bestätigt werden.

Das erste potentielle Risikogen ist *ATP2B4*, welches in das Enzym PMCA4 translatiert wird. Da PMCA4 die wichtigste Ca^{2+} -Quelle der Erythrozyten ist, können Veränderungen in dessen Struktur oder Expression das Gleichgewicht der intraerythrozytischen Ca^{2+} Konzentration stören. Dies kann die Entwicklung und die Struktur der intraerythrozytischen Stadien des Parasiten beeinflussen. So konnte gezeigt werden, dass eine geringere Ca^{2+} -Konzentration in dem Kompartiment, das den Parasiten von seinem Wirtererythrozyt isoliert, zu einer deutlich geringeren Reproduktion und Ausreifung des Parasiten führt. Außerdem werden sowohl Thrombozyten als auch Endothelzellen durch intrazelluläres Ca^{2+} aktiviert. Aus früheren Arbeiten geht hervor, dass die Aktivierung von Thrombozyten die Tötung des Parasiten begünstigt, während die Aktivierung der Endothelzellen die Adhäsion der mit dem Parasiten infizierten Erythrozyten fördert. Dies wiederum ist ein zentraler Faktor in der Pathogenese der SM. Diese verschiedenen Ca^{2+} -abhängigen Zellfunktionen bestätigen die Relevanz von *ATP2B4* für den Verlauf der SM und machen PMCA4 zu einem interessanten Kandidaten für funktionelle Studien.

Als zweites Risikogen kommt *MARVELD3* in Frage, dessen Proteinprodukte einen Teil der Tight-Junction-Struktur der Epithel- und Endothelzellen bilden. Die Funktion von *MARVELD3* im Endothel könnte interessant sein, da die Adhäsion von infizierten Erythrozyten an das Endothel von besonderer Bedeutung für die Pathologie der SM ist. Strukturelle Varianten des von *MARVELD3* generierten Proteins oder Veränderungen in seiner Expression könnten die Barrierefunktion sowie die inflammatorische Reaktion des Endothels und dadurch den Verlauf der Krankheit beeinflussen. Da die Variante mit der stärksten Assoziation jedoch außerhalb des Gens liegt und auch eine Feinkartierung der Region keine deutlichere Assoziation zu dem Gen aufzeigte, bleibt der kausale Zu-

sammenhang zu *MARVELD3* unklar und könnte möglicherweise über ein weiter entferntes Gen vermittelt werden.

Es sei bemerkt, dass für die Analyse der X-chromosomalen Varianten keiner der bisher für das X-Chromosom vorgeschlagenen Tests verwendet werden konnte, da keiner dieser Tests die Integration von Kovariaten zulässt. Dies ist aber erforderlich, um die Populationsstratifikation abzubilden, die in der verwendeten ghanaischen Stichprobe nicht vernachlässigbar war. Darum wurden die von Zheng et al. und Clayton vorgestellten Tests in zwei logistische Regressionsmodelle überführt, eines unter Inaktivierungsannahme und eines ohne diese Annahme. Eine Unabhängigkeit von geschlechtsspezifischen Allelfrequenzen konnte durch die Integration der Kovariaten Geschlecht gewährleistet werden. Es konnten jedoch keine X-chromosomale Assoziationen aufgedeckt werden.

Die Ergebnisse der hier vorgestellten GWA geben neue Einblicke in die Genetik der SM, die Anhaltspunkte für weitere funktionelle Studien bieten und in Zukunft neue Möglichkeiten für die Behandlung von Patienten aufweisen könnten. Sie bestätigen außerdem die Nützlichkeit des MAX-Testverfahrens, da nur durch diesen die Replikation des *ATP2B4*-Locus in der gambischen Population möglich war.

Diskussion und Ausblick

In der ersten hier vorgelegten Arbeit wurden verschiedene Tests für die Analyse X-chromosomaler SNPs vorgestellt und miteinander verglichen. Es zeigte sich, dass keiner der Tests in allen relevanten Szenarien gute statistische Eigenschaften hat. Deshalb wurde in der zweiten Arbeit ein MAX-Test hergeleitet, der robust unter den verschiedenen genetischen Vererbungsmodellen (englisch: mode of inheritance, MOI) ist. Obwohl der MAX-Test zunächst für autosomale SNPs formuliert wurde, lässt er sich unter Einbeziehung des Geschlechts auch für das X-Chromosom anwenden. Auch die Inaktivierung eines weiblichen X-Chromosoms kann über die Modifikation der zu testenden MOI berücksichtigt werden. In der letzten Arbeit wurden die Methoden der ersten beiden Arbeiten in einer genomweiten Assoziationsstudie (GWA) zur schweren Malaria angewendet, in der auch das X-Chromosom analysiert wurde. Es konnten zwei neue Assoziationen in den Genen *ATP2B4* und *MARVELD3* entdeckt werden und das MOI anhand des MAX-Tests bestimmt werden. Die Nützlichkeit des MAX-Tests konnte in dieser Studie insbesondere dadurch belegt werden, dass nur nach Identifikation eines rezessiven MOI die Replikation der Variante im Gen *ATP2B4* in der gambischen Population möglich war. Unter Verwendung des typischerweise benutzten additiven Modells wäre diese Variante in der gambischen Population unentdeckt geblieben.

Auch wenn der oben vorgestellte MAX-Test auf das X-Chromosom anwendbar ist, muss die statistische Macht des Tests noch in einer separaten Simulationsstudie untersucht werden. Durch die mögliche Inaktivierung eines X-Chromosoms sind zusätzliche genetische Modelle möglich. In der ersten vorgestellten Arbeit wurden entsprechend fünf verschiedene MOI für das X-Chromosom betrachtet. All diese Modelle zu testen, könnte aber die statistische Macht des MAX-Tests stark reduzieren. Eine geschickte Reduktion der zu testenden MOI erzielt möglicherweise eine höhere Macht ohne die Robustheit des Verfahrens zu gefährden. Auch sollte der MAX-Test mit den bisher bekannten Tests für das X-Chromosom verglichen werden.

Die Simulationen haben zudem gezeigt, dass sowohl die statistische Macht als auch die Zuverlässigkeit der Modellselektion des MAX-Tests unter kleineren Allelfrequenzen nachlässt. Im Falle seltener Allele ist die entsprechende Homozygotengruppe nur schwach besetzt, wodurch die Schätzungen der Modellparameter ungenauer werden. Da das Interesse an seltenen Varianten jedoch steigt, sollte eine Modifikation des MAX-Tests entwickelt werden, die eine stabilere Parameterschätzung unter kleinen Allelfrequenzen erlaubt.

In der Studie zur schweren Malaria konnten keine X-chromosomalen Varianten bestätigt werden. Allerdings wurde das X-Chromosom im Gegensatz zu den Autosomen nicht imputiert. Zum Zeitpunkt der Datenauswertung stand für das verwendete Imputationsprogramm noch keine Funktion für die Imputation des X-Chromosoms zur Verfügung. Da heute eine Imputation des X-Chromosoms problemlos möglich ist, könnte eine Reanalyse des X-Chromosoms nach Imputation neuen Aufschluss über mögliche Risikovarianten geben. Dies erscheint insbesondere deshalb sinnvoll, da die Abdeckung des X-Chromosoms durch die genotypisierten SNPs sogar geringer ist als für die Autosome. Dennoch ist auch der Negativbefund ein wichtiges Ergebnis, welches gegenüber einer generellen Nichtbeachtung des X-Chromosoms einen wichtigen Fortschritt darstellt.

Die hier vorgestellten Arbeiten liefern Aufschluss darüber, wie das X-Chromosom analysiert werden kann und wie unter verschiedenen genetischen Modellen der beste Test auszuwählen ist. Auch wenn der MAX-Test für das X-Chromosom noch genauer untersucht werden sollte, bieten die vorliegenden Arbeiten einen guten Leitfaden, um bisher nicht untersuchte X-chromosomale Daten zu analysieren und unentdeckte genetische Zusammenhänge zum X-Chromosom aufzuzeigen.

Danksagung

Mein Dank gilt zu allererst meiner Doktormutter, Frau Univ.-Prof. Dr. Inke R. König. Ich danke ihr, dass sie sich stets die Zeit genommen hat, mir bei allen auftauchenden Problemen mit zahlreichen Ideen, gutem Rat und viel Geduld zur Seite zu stehen. Die wissenschaftliche Zusammenarbeit an den dieser Arbeit zu Grunde liegenden Manuskripten hat mir viel Freude bereitet und war äußerst konstruktiv. Ebenso gilt mein Dank Herrn Univ.-Prof. Dr. Andreas Ziegler, der die grundlegende Idee zu dieser Doktorarbeit lieferte und bei der Lösung vieler mathematischer Probleme von größter Hilfe war. Von den zahlreichen Diskussionen mit ihm und der hervorragenden Zusammenarbeit hat diese Dissertationsschrift sehr profitiert.

Desweiteren danke ich den Co-Autoren dieser Arbeiten für die fruchtbare Zusammenarbeit sowie Frau Univ.-Prof. Dr. Jeanette Erdmann für die gute Kooperation, die mir einen intensiven Einblick in die medizinischen Anwendungsgebiete der Statistik ermöglicht hat. Mein Dank gilt außerdem meinen Kollegen am Institut für Medizinische Biometrie und Statistik, insbesondere Herrn Dr. rer. hum. biol. Jochen Kruppa und Frau Dipl.-Math. Theresa Holste, die mir bei vielen kleinen Problemen wissenschaftlicher oder technischer Art hilfreich zur Seite standen.

Für intensives Korrekturlesen und die persönliche Unterstützung danke ich Herrn Dipl.-Biophys. Patrick Stüber. Für das Ausbessern der letzten Rechtschreibfehler bedanke ich mich bei Frau B. Eng. Linda Schittenhelm.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Christina Loley

Geburtsjahr 1982



Beruflicher Werdegang

Seit 01/2013 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universität zu Lübeck, Institut für Integrative und Experimentelle Genomik

Seit 03/2009 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universität zu Lübeck, Institut für Medizinische Biometrie und Statistik

03/2009 – 12/2012 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Medizinische Klinik II

01/2008 – 02/2009 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universität zu Köln, Seminar für Wirtschafts- und Sozialstatistik, Lehrstuhl für Statistik und Ökonometrie

Studium

Seit 04/2009 Promotionsstudium an der Medizinischen Sektion der Universität zu Lübeck

04/2008 – 03/2009 Promotionsstudium an der Wirtschafts- und Sozialwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln

10/2002 – 11/2007 Studium der Mathematik, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Schwerpunkt: Statistik

Nebenfach: Psychologie

Diplomarbeit: Bootstrap-Methoden in der Statistik

Abschluss: Diplom

09/2005 – 01/2006 Auslandssemester an der University of Bath, England

10/2001 – 09/2005 Studium der Psychologie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

Abschluss: Vordiplom

Publikationsverzeichnis

Zeitschriftenartikel

2013

1. Dastani, Z., Johnson, T., Kronenberg, F., Nelson, C. P., Assimes, T. L., März, W., **CARDIoGRAM Consortium**¹, ADIPOGen Consortium, Richards, J. B. (2013) The shared allelic architecture of adiponectin levels and coronary artery disease. *Atherosclerosis* **229**, 145-148.
2. Lieb, W., Jansen, H., **Loley, C.**, Pencina, M. J., Nelson, C. P., Newton-Cheh, C., Kathiresan, S., Reilly, M. P., Assimes, T. L., Boerwinkle, E., Hall, A. S., Hengstenberg, C., Laaksonen, R., McPherson, R., Thorsteinsdottir, U., Ziegler, A., Peters, A., Thompson, J. R., König, I. R., Erdmann, J., Samani, N. J., Vasani, R. S., und Schunkert, H. im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2013) Genetic predisposition to higher blood pressure increases coronary artery disease risk. *Hypertension* **61**, 995-1001.
3. **Loley, C.**, König, I. R., Hothorn, L. und Ziegler, A. (2013) A unifying framework for robust association testing, estimation, and genetic model selection using the generalized linear model. *Eur J Hum Genet*, im Druck.
4. Randall, J. C., Winkler, T. W., Kutalik, Z., Berndt, S. I., Jackson, A. U., Monda, K. L., Kilpeläinen, T. O., Esko, T., Mägi, R., Li, S., Workalemahu, T., Feitosa, M. F., Croteau-Chonka, D. C., Day, F. R., Fall, T., Ferreira, T., Gustafsson, S., Locke, A. E., Mathieson, I., Scherag, A., Vedantam, S., Wood, A. R., Liang, L., Steinthorsdottir, V., Thorleifsson, G., Dermizakis, E. T., Dimas, A. S., Karpe, F., Min, J. L., Nicholson, G., Clegg, D. J., Person, T., Krohn, J. P., Bauer, S., Buechler, C., Eisinger, K., DIAGRAM Consortium, Bonnefond, A., Froguel, P., MAGIC Investigators, Hottenga, J.-J., Prokopenko, I., Waite, L., Harris, T. B., Smith, A. V., Shuldiner, A. R., McArdle, W. L., Caulfield, M. J., Munroe, P. B., Grönberg, H., Chen, Y. I., Li, G., Beckmann, J. S., Johnson, T., Thorsteinsdottir, U., Teder-Laving, M., Khaw, K.-T., Wareham, N. J., Zhao, J. H., Amin, N., Oostra, B. A., Kraja, A. T., Province, M. A., Cupples, L. A., Heard-Costa, N. L., Kaprio, J., Ripatti, S., Surakka, I., Collins, F. S., Saramies, J., Tuomilehto, J., Jula, A., Salomaa, V., Erdmann, J., Hengstenberg, C., **Loley, C.**, Schunkert, H., Lamina, C., Wichmann, H-E., Albrecht, E., Gieger, C., Hicks, A. A., Johansson, A., Pramstaller, P. P., Kathiresan, S., Speliotes, E. K., Penninx, B., Hartikainen, A.-L., Jarvelin, M.-R., Gyllensten, U., Boomsma, D. I., Campbell, H.,

Wilson, J. F., Chanock, S. J., Farrall, M., Goel, A., Medina-Gomez, C., Rivadeneira, F., Estrada, K., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., Zillikens, M. C., den Heijer, M., Kiemeneij, L. A., Maschio, A., Hall, P., Tyrer, J., Teumer, A., Völzke, H., Kovacs, P., Tönjes, A., Mangino, M., Spector, T. D., Hayward, C., Rudan, I., Hall, A. S., Samani, N. J., Attwood, A. P., Sambrook, J. G., Hung, J., Palmer, L. J., Lokki, M.-L., Sinisalo, J., Boucher, G., Huikuri, H., Lorentzon, M., Ohlsson, C., Eklund, N., Eriksson, J. G., Barlassina, C., Rivolta, C., Nolte, I. M., Snieder, H., Van der Klauw, M. M., Van Vliet-Ostaptchouk, J. V., Gejman, P. V., Shi, J., Jacobs, K. B., Wang, Z., Bakker, S. J. L., Leach, I. M., Navis, G., van der Harst, P., Martin, N. G., Medland, S. E., Montgomery, G. W., Yang, J., Chasman, D. I., Ridker, P. M., Rose, L. M., Lehtimäki, T., Raitakari, O., Absher, D., Iribarren, C., Basart, H., Hovingh, K. G., Hyppönen, E., Power, C., Anderson, D., Beilby, J. P., Hui, J., Jolley, J., Sager, H., Bornstein, S. R., Schwarz, P. E. H., Kristiansson, K., Perola, M., Lindström, J., Swift, A. J., Uusitupa, M., Atalay, M., Lakka, T. A., Rauramaa, R., Bolton, J. L., Fowkes, G., Fraser, R. M., Price, J. F., Fischer, K., KrjutAikov, K., Metspalu, A., Mihailov, E., Langenberg, C., Luan, J., Ong, K. K., Chines, P. S., Keinanen-Kiukaanniemi, S. M., Saaristo, T. E., Edkins, S., Franks, P. W., Hallmans, G., Shungin, D., Morris, A. D., Palmer, C. N. A., Erbel, R., Moebus, S., Nöthen, M. M., Pechlivanis, S., Hveem, K., Narisu, N., Hamsten, A., Humphries, S. E., Strawbridge, R. J., Tremoli, E., Grallert, H., Thorand, B., Illig, T., Koenig, W., Müller-Nurasyid, M., Peters, A., Boehm, B. O., Kleber, M. E., März, W., Winkelmann, B. R., Kuusisto, J., Laakso, M., Arveiler, D., Cesana, G., Kuulasmaa, K., Jarmo Virtamo, J., Yarnell, J. W. G., Kuh, D., Wong, A., Lind, L., de Faire, U., Gigante, B., Magnusson, P. K. E., Pedersen, N. L., Dedoussis, G., Dimitriou, M., Kolovou, G., Kanoni, S., Stirrups, K., Bonnycastle, L. L., Njolstad, I., Wilsgaard, T., Ganna, A., Rehnberg, E., Hingorani, A., Kivimäki, M., Kumari, M., Assimes, T. L., Barroso, I., Boehnke, M., Borecki, I. B., Deloukas, P., Fox, C. S., Frayling, T., Groop, L. C., Haritunians, T., Hunter, D., Ingelsson, E., Kaplan, R., Mohlke, K. L., O'Connell, J. R., Schlessinger, D., Strachan, D. P., Stefansson, K., van Duijn, C. M., Abecasis, G. R., McCarthy, M. I., Hirschhorn, J. N., Qi, L., Loos, R. J. F., Lindgren, C. M., North, K. E., and Heid, I.M. (2013) Sex-stratified genome-wide association studies including 270,000 individuals show sexual dimorphism in genetic loci for anthropometric traits. *PLOS Genet*, im Druck.

5. Boraska, V., Jeronicic, A., Colonna, V., Southam, L., Nyholt, D. R., Rayner, N. W., Perry, J. R., Toniolo, D., Albrecht, E., Ang, W., Bandinelli, S., Barbalic, M., Barroso, I., Beckmann, J. S., Biffar, R., Boomsma, D., Campbell, H., Corre, T., Erdmann, J., Esko, T., Fischer, K., Franceschini, N., Frayling, T. M., Girotto, G., Gonzalez, J. R., Harris, T. B., Heath, A. C., Heid, I. M., Hoffmann, W., Hofman, A., Horikoshi, M., Zhao, J. H., Jackson, A. U., Hottenga, J. J., Jula, A., Kähönen, M., Khaw, K. T., Kiemeny, L. A., Klopp, N., Kutalik, Z., Lagou, V., Launer, L. J., Lehtimäki, T., Lemire, M., Lokki, M. L., **Loley, C.**, Luan, J., Mangino, M., Mateo, Leach, I., Medland, S. E., Mihailov, E., Montgomery, G. W., Navis, G., Newnham, J., Nieminen, M. S., Palotie, A., Panoutsopoulou, K., Peters, A., Pirastu, N., Polasek, O., Rehnström, K., Ripatti, S., Ritchie, G. R., Rivadeneira, F., Robino, A., Samani, N. J., Shin, S. Y., Sinisalo, J., Smit, J. H., Soranzo, N., Stolk, L., Swinkels, D. W., Tanaka, T., Teumer, A., Tönjes, A., Traglia, M., Tuomilehto, J., Valsesia, A., van Gilst, W. H., van Meurs, J. B., Smith, A. V., Viikari, J., Vink, J. M., Waeber, G., Warrington, N. M., Widen, E., Willemsen, G., Wright, A. F., Zanke, B. W., Zgaga, L., Wellcome Trust Case Control Consortium, Boehnke, M., d'Adamo, A. P., de Geus, E., Demerath, E. W., den Heijer, M., Eriksson, J. G., Ferrucci, L., Gieger, C., Gudnason, V., Hayward, C., Hengstenberg, C., Hudson, T. J., Järvelin, M. R., Kogevinas, M., Loos, R. J., Martin, N. G., Metspalu, A., Pennell, C. E., Penninx, B. W., Perola, M., Raitakari, O., Salomaa, V., Schreiber, S., Schunkert, H., Spector, T. D., Stumvoll, M., Uitterlinden, A. G., Ulivi, S., van der Harst, P., Vollenweider, P., Völzke, H., Wareham, N. J., Wichmann, H. E., Wilson, J. F., Rudan, I., Xue, Y., und Zeggini, E. (2012) Genome-wide meta-analysis of common variant differences between men and women. *Hum Mol Genet* **21**, 4805-4815.
6. Davies, R. W., Wells, G. A., Stewart, A. F., Erdmann, J., Shah, S. H., Ferguson, J. F., Hall, A. S., Anand, S. S., Burnett, M. S., Epstein, S. E., Dandona, S., Chen, L., Nahrstaedt, J., **Loley, C.**, König, I. R., Kraus, W. E., Granger, C. B., Engert, J. C., Hengstenberg, C., Wichmann, H. E., Schreiber, S., Tang, W. H., Ellis, S. G., Rader, D. J., Hazen, S. L., Reilly, M. P., Samani, N. J., Schunkert, H., Roberts, R., und McPherson, R. (2012) A genome-wide association study for coronary artery disease identifies a novel susceptibility locus in the major histocompatibility complex. *Circ Cardiovasc Genet* **5**, 217-225.
7. Demirkan, A., van Duijn, C. M., Ugocsai, P., Isaacs, A., Pramstaller, P. P., Liebisch, G., Wilson, J. F., Johansson, A., Rudan, I., Aulchenko, Y. S., Kirichenko, A. V., Janssens, A. C., Jansen, R. C., Gnewuch, C., Domingues, F. S., Pattaro, C., Wild, S. H., Jonasson, I.,

- Polasek, O., Zorkoltseva, I. V., Hofman, A., Karssen, L. C., Struchalin, M., Floyd, J., Igl, W., Biloglav, Z., Broer, L., Pfeufer, A., Pichler, I., Campbell, S., Zaboli, G., Kolcic, I., Rivadeneira, F., Huffman, J., Hastie, N. D., Uitterlinden, A., Franke, L., Franklin, C. S., Vitart, V., DIAGRAM Consortium, Nelson, C. P., Preuss, M., **CARDIoGRAM Consortium**¹, Bis, J. C., O'Donnell, C. J., Franceschini, N., CHARGE Consortium, Witteman, J. C., Axenovich, T., Oostra, B. A., Meitinger, T., Hicks, A. A., Hayward, C., Wright, A. F., Gyllenstein, U., Campbell, H., Schmitz, G., und EUROSPAN Consortium (2012) Genome-wide association study identifies novel loci associated with circulating phospho- and sphingolipid concentrations. *PLOS Genet* **8**, e1002490.
8. **IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration**², Sarwar, N., Butterworth, A. S., Freitag, D. F., Gregson, J., Willeit, P., Gorman, D. N., Gao, P., Saleheen, D., Rendon, A., Nelson, C. P., Braund, P. S., Hall, A. S., Chasman, D. I., Tybjaerg-Hansen, A., Chambers, J. C., Benjamin, E. J., Franks, P. W., Clarke, R., Wilde, A. A., Trip, M. D., Steri, M., Witteman, J. C., Qi, L., van der Schoot, C. E., de Faire, U., Erdmann, J., Stringham, H. M., Koenig, W., Rader, D. J., Melzer, D., Reich, D., Psaty, B. M., Kleber, M. E., Panagiotakos, D. B., Willeit, J., Wennberg, P., Woodward, M., Adamovic, S., Rimm, E. B., Meade, T. W., Gillum, R. F., Shaffer, J. A., Hofman, A., Onat, A., Sundström, J., Wassertheil-Smoller, S., Mellström, D., Gallacher, J., Cushman, M., Tracy, R. P., Kauhanen, J., Karlsson, M., Salonen, J. T., Wilhelmsen, L., Amouyel, P., Cantin, B., Best, L. G., Ben-Shlomo, Y., Manson, J. E., Davey-Smith, G., de Bakker, P. I., O'Donnell, C. J., Wilson, J. F., Wilson, A. G., Assimes, T. L., Jansson, J. O., Ohlsson, C., Tivesten, A., Ljunggren, Ö., Reilly, M. P., Hamsten, A., Ingelsson, E., Cambien, F., Hung, J., Thomas, G. N., Boehnke, M., Schunkert, H., Asselbergs, F. W., Kastelein, J. J., Gudnason, V., Salomaa, V., Harris, T. B., Kooner, J. S., Allin, K. H., Nordestgaard, B. G., Hopewell, J. C., Goodall, A. H., Ridker, P. M., Holm, H., Watkins, H., Ouwehand, W. H., Samani, N. J., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Harari, O., und Danesh, J. (2012) Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet* **379**, 1205-1213.
9. Lu, X., Wang, L., Chen, S., He, L., Yang, X., Shi, Y., Cheng, J., Zhang, L., Gu, C. C., Huang, J., Wu, T., Ma, Y., Li, J., Cao, J., Chen, J., Ge, D., Fan, Z., Li, Y., Zhao, L., Li, H., Zhou, X., Chen, L., Liu, D., Chen, J., Duan, X., Hao, Y., Wang, L., Lu, F., Liu, Z., Yao, C., Shen, C., Pu, X., Yu, L., Fang, X., Xu, L., Mu, J., Wu, X., Zheng, R., Wu, N., Zhao, Q., Li, Y., Liu, X., Wang, M., Yu, D., Hu, D., Ji, X., Guo, D., Sun, D., Wang, Q., Yang, Y., Liu, F., Mao, Q., Liang, X., Ji, J., Chen, P., Mo, X., Li, D., Chai, G., Tang, Y., Li, X., Du, Z.,

Liu, X., Dou, C., Yang, Z., Meng, Q., Wang, D., Wang, R., Yang, J., Schunkert, H., Samani, N. J., Kathiresan, S., Reilly, M. P., Erdmann, J., **CARDIoGRAM Consortium**¹, Peng, X., Wu, X., Liu, D., Yang, Y., Chen, R., Qiang, B., and Gu, D. (2012) Genome-wide association study in Han Chinese identifies four new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet* **44**, 890-894.

10. Timmann, C., Thye, T., Vens, M., Evans, J., May, J., Ehmen, C., Sievertsen, J., Muntau, B., Ruge, G., Loag, W., Ansong, D., Antwi, S., Asafo-Adjei, E., Nguah, S. B., Kwakye, K. O., Akoto, A. O., Sylverken, J., Brendel, M., Schuldt, K., **Loley, C.**, Franke, A., Meyer, C. G., Agbenyega, T., Ziegler, A., and Horstmann, R. D. (2012) Genome-wide association study indicates two novel resistance loci for severe malaria. *Nature* **489**, 443-446.

2011

11. Erdmann, J., Willenborg, C., Nahrstaedt, J., Preuss, M., König, I. R., Baumert, J., Linsel-Nitschke, P., Gieger, C., Tennstedt, S., Belcredi, P., Aherrahrou, Z., Klopp, N., **Loley, C.**, Stark, K., Hengstenberg, C., Bruse, P., Freyer, J., Wagner, A. K., Medack, A., Lieb, W., Grosshennig, A., Sager, H. B., Reinhardt, A., Schäfer, A., Schreiber, S., El Mokhtari, N. E., Raaz-Schrauder, D., Illig, T., Garlich, C. D., Ekici, A. B., Reis, A., Schrezenmeir, J., Rubin, D., Ziegler, A., Wichmann, H. E., Doering, A., Meisinger, C., Meitinger, T., Peters, A., and Schunkert, H. (2011) Genome-wide association study identifies a new locus for coronary artery disease on chromosome 10p11.23. *Eur Heart J* **32**, 158-168.
12. Herder, C., Peeters, W., Illig, T., Baumert, J., de Kleijn, D. P., Moll, F. L., Poschen, U., Klopp, N., Müller-Nurasyid, M., Roden, M., Preuss, M., **CARDIoGRAM Consortium**¹, Karakas, M., Meisinger, C., Thorand, B., Pasterkamp, G., Koenig, W., Assimes, T. L., Deloukas, P., Erdmann, J., Holm, H., Kathiresan, S., König, I. R., McPherson, R., Reilly, M. P., Roberts, R., Samani, N. J., Schunkert, H., and Stewart, A. F. (2011) RANTES/CCL5 and risk for coronary events: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort, Athero-Express and CARDIoGRAM studies. *PLOS One* **6**, e25734.
13. **IBC 50K CAD Consortium**³ (2011) Large-scale gene-centric analysis identifies novel variants for coronary artery disease. *PLOS Genet* **7**, e1002260.
14. International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies, Ehret, G. B., Munroe, P. B., Rice, K. M., Bochud, M., Johnson, A. D., Chasman, D. I., Smith, A. V., Tobin, M. D., Verwoert, G. C., Hwang, S. J., Pihur, V., Vollenweider, P., O'Reilly, P. F., Amin, N., Bragg-Gresham, J. L., Teumer, A., Glazer, N. L., Launer, L., Zhao, J. H., Aulchenko, Y., Heath, S., Söber, S., Parsa, A., Luan, J., Arora, P., Dehghan, A., Zhang, F.,

Lucas, G., Hicks, A. A., Jackson, A. U., Peden, J. F., Tanaka, T., Wild, S. H., Rudan, I., Igl, W., Milaneschi, Y., Parker, A. N., Fava, C., Chambers, J. C., Fox, E. R., Kumari, M., Go, M. J., van der Harst, P., Kao, W. H., Sjögren, M., Vinay, D. G., Alexander, M., Tabara, Y., Shaw-Hawkins, S., Whincup, P. H., Liu, Y., Shi, G., Kuusisto, J., Tayo, B., Seielstad, M., Sim, X., Nguyen, K. D., Lehtimäki, T., Matullo, G., Wu, Y., Gaunt, T. R., Onland-Moret, N. C., Cooper, M. N., Platou, C. G., Org, E., Hardy, R., Dahgam, S., Palmen, J., Vitart, V., Braund, P. S., Kuznetsova, T., Uiterwaal, C. S., Adeyemo, A., Palmas, W., Campbell, H., Ludwig, B., Tomaszewski, M., Tzoulaki, I., Palmer, N. D., **CARDIoGRAM consortium**¹, CKDGen Consortium, KidneyGen Consortium, EchoGen consortium, CHARGE-HF consortium, Aspelund, T., Garcia, M., Chang, Y. P., O'Connell, J. R., Steinle, N. I., Grobbee, D. E., Arking, D. E., Kardia, S. L., Morrison, A. C., Hernandez, D., Najjar, S., McArdle, W. L., Hadley, D., Brown, M. J., Connell, J. M., Hingorani, A. D., Day, I. N., Lawlor, D. A., Beilby, J. P., Lawrence, R. W., Clarke, R., Hopewell, J. C., Ongen, H., Dreisbach, A. W., Li, Y., Young, J. H., Bis, J. C., Kähönen, M., Viikari, J., Adair, L. S., Lee, N. R., Chen, M. H., Olden, M., Pattaro, C., Bolton, J. A., Köttgen, A., Bergmann, S., Mooser, V., Chaturvedi, N., Frayling, T. M., Islam, M., Jafar, T. H., Erdmann, J., Kulkarni, S. R., Bornstein, S. R., Grässler, J., Groop, L., Voight, B. F., Kettunen, J., Howard, P., Taylor, A., Guarrera, S., Ricceri, F., Emilsson, V., Plump, A., Barroso, I., Khaw, K. T., Weder, A. B., Hunt, S. C., Sun, Y. V., Bergman, R. N., Collins, F. S., Bonnycastle, L. L., Scott, L. J., Stringham, H. M., Peltonen, L., Perola, M., Vartiainen, E., Brand, S. M., Staessen, J. A., Wang, T. J., Burton, P. R., Soler Artigas, M., Dong, Y., Snieder, H., Wang, X., Zhu, H., Lohman, K. K., Rudock, M. E., Heckbert, S. R., Smith, N. L., Wiggins, K. L., Doumatey, A., Shriner, D., Veldre, G., Viigimaa, M., Kinra, S., Prabhakaran, D., Tripathy, V., Langefeld, C. D., Rosengren, A., Thelle, D. S., Corsi, A. M., Singleton, A., Forrester, T., Hilton, G., McKenzie, C. A., Salako, T., Iwai, N., Kita, Y., Ogiwara, T., Ohkubo, T., Okamura, T., Ueshima, H., Umemura, S., Eyheramendy, S., Meitinger, T., Wichmann, H. E., Cho, Y. S., Kim, H. L., Lee, J. Y., Scott, J., Sehmi, J. S., Zhang, W., Hedblad, B., Nilsson, P., Smith, G. D., Wong, A., Narisu, N., Stancakova, A., Raffel, L. J., Yao, J., Kathiresan, S., O'Donnell, C. J., Schwartz, S. M., Ikram, M. A., Longstreth, W. T. Jr, Mosley, T. H., Seshadri, S., Shrine, N. R., Wain, L. V., Morken, M. A., Swift, A. J., Laitinen, J., Prokopenko, I., Zitting, P., Cooper, J. A., Humphries, S. E., Danesh, J., Rasheed, A., Goel, A., Hamsten, A., Watkins, H., Bakker, S. J., van Gilst, W. H., Janipalli, C. S., Mani, K. R., Yajnik, C. S., Hofman, A., Mattace-Raso, F. U., Oostra, B.

- A., Demirkan, A., Isaacs, A., Rivadeneira, F., Lakatta, E. G., Orru, M., Scuteri, A., Ala-Korpela, M., Kangas, A. J., Lyytikäinen, L. P., Soininen, P., Tukiainen, T., Würtz, P., Ong, R. T., Dörr, M., Kroemer, H. K., Völker, U., Völzke, H., Galan, P., Hercberg, S., Lathrop, M., Zelenika, D., Deloukas, P., Mangino, M., Spector, T. D., Zhai, G., Meschia, J. F., Nalls, M. A., Sharma, P., Terzic, J., Kumar, M. V., Denniff, M., Zukowska-Szzechowska, E., Wagenknecht, L. E., Fowkes, F. G., Charchar, F. J., Schwarz, P. E., Hayward, C., Guo, X., Rotimi, C., Bots, M. L., Brand, E., Samani, N. J., Polasek, O., Talmud, P. J., Nyberg, F., Kuh, D., Laan, M., Hveem, K., Palmer, L. J., van der Schouw, Y. T., Casas, J. P., Mohlke, K. L., Vineis, P., Raitakari, O., Ganesh, S. K., Wong, T. Y., Tai, E. S., Cooper, R. S., Laakso, M., Rao, D. C., Harris, T. B., Morris, R. W., Dominiczak, A. F., Kivimaki, M., Marmot, M. G., Miki, T., Saleheen, D., Chandak, G. R., Coresh, J., Navis, G., Salomaa, V., Han, B. G., Zhu, X., Kooner, J. S., Melander, O., Ridker, P. M., Bandinelli, S., Gyllenstein, U. B., Wright, A. F., Wilson, J. F., Ferrucci, L., Farrall, M., Tuomilehto, J., Pramstaller, P. P., Elosua, R., Soranzo, N., Sijbrands, E. J., Altshuler, D., Loos, R. J., Shuldiner, A. R., Gieger, C., Meneton, P., Uitterlinden, A. G., Wareham, N. J., Gudnason, V., Rotter, J. I., Rettig, R., Uda, M., Strachan, D. P., Witteman, J. C., Hartikainen, A. L., Beckmann, J. S., Boerwinkle, E., Vasani, R. S., Boehnke, M., Larson, M. G., Jarvelin, M. R., Psaty, B. M., Abecasis, G. R., Chakravarti, A., Elliott, P., van Duijn, C. M., Newton-Cheh, C., Levy, D., Caulfield, M. J., and Johnson, T. (2011) Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* **478**, 103-109.
15. **Loley, C.**, Ziegler, A., and König, I. R. (2011) Association tests for X-chromosomal markers – A comparison of different test statistics. *Hum Hered* **71**, 23-36.
16. Lucas, G., Lluís-Ganella, C., Subirana, I., Senti, M., Willenborg, C., Musameh, M. D., Schwartz, S. M., O'Donnell, C. J., Melander, O., Salomaa, V., Elosua, R., and **CARDIOGRAM Consortium**¹ (2011) Post-genomic update on a classical candidate gene for coronary artery disease: ESR1. *Circ Cardiovasc Genet* **4**, 647-654.
17. O'Donnell, C. J., Kavousi, M., Smith, A. V., Kardia, S. L., Feitosa, M. F., Hwang, S. J., Sun, Y. V., Province, M. A., Aspelund, T., Dehghan, A., Hoffmann, U., Bielak, L. F., Zhang, Q., Eiriksdottir, G., van Duijn, C. M., Fox, C. S., de Andrade, M., Kraja, A. T., Sigurdsson, S., Elias-Smale, S. E., Murabito, J. M., Launer, L. J., van der Lugt, A., Kathiresan, S., **CARDIOGRAM Consortium**¹, Krestin, G. P., Herrington, D. M., Howard, T. D., Liu, Y., Post, W., Mitchell, B. D., O'Connell, J. R., Shen, H., Shuldiner, A. R., Altshuler, D., Elosua, R., Salomaa, V., Schwartz, S. M., Siscovick, D. S., Voight, B. F.,

- Bis, J. C., Glazer, N. L., Psaty, B. M., Boerwinkle, E., Heiss, G., Blankenberg, S., Zeller, T., Wild, P. S., Schnabel, R. B., Schillert, A., Ziegler, A., Münzel, T. F., White, C. C., Rotter, J. I., Nalls, M., Oudkerk, M., Johnson, A. D., Newman, A. B., Uitterlinden, A. G., Massaro, J. M., Cunningham, J., Harris, T. B., Hofman, A., Peyser, P. A., Borecki, I. B., Cupples, L. A., Gudnason, V., und Witteman, J. C. (2011) Genome-wide association study for coronary artery calcification with follow-up in myocardial infarction. *Circulation* **124**, 2855-2864.
18. Schunkert, H., König, I. R., Kathiresan, S., Reilly, M. P., Assimes, T. L., Holm, H., Preuss, M., Stewart, A. F., Barbalic, M., Gieger, C., Absher, D., Aherrahrou, Z., Allayee, H., Altshuler, D., Anand, S. S., Andersen, K., Anderson, J. L., Ardissino, D., Ball, S. G., Balmforth, A. J., Barnes, T. A., Becker, D. M., Becker, L. C., Berger, K., Bis, J. C., Boekholdt, S. M., Boerwinkle, E., Braund, P. S., Brown, M. J., Burnett, M. S., Buyschaert, I., Cardiogenics, Carlquist, J. F., Chen, L., Cichon, S., Codd, V., Davies, R. W., Dedoussis, G., Dehghan, A., Demissie, S., Devaney, J. M., Diemert, P., Do, R., Doering, A., Eifert, S., Mokhtari, N. E., Ellis, S. G., Elosua, R., Engert, J. C., Epstein, S. E., de Faire, U., Fischer, M., Folsom, A. R., Freyer, J., Gigante, B., Girelli, D., Gretarsdottir, S., Gudnason, V., Gulcher, J. R., Halperin, E., Hammond, N., Hazen, S. L., Hofman, A., Horne, B. D., Illig, T., Iribarren, C., Jones, G. T., Jukema, J. W., Kaiser, M. A., Kaplan, L. M., Kastelein, J. J., Khaw, K. T., Knowles, J. W., Kolovou, G., Kong, A., Laaksonen, R., Lambrechts, D., Leander, K., Lettre, G., Li, M., Lieb, W., **Loley, C.**, Lotery, A. J., Mannucci, P. M., Maouche, S., Martinelli, N., McKeown, P. P., Meisinger, C., Meitinger, T., Melander, O., Merlini, P. A., Mooser, V., Morgan, T., Mühleisen, T. W., Muhlestein, J. B., Münzel, T., Musunuru, K., Nahrstaedt, J., Nelson, C. P., Nöthen, M. M., Olivieri, O., Patel, R. S., Patterson, C. C., Peters, A., Peyvandi, F., Qu, L., Quyyumi, A. A., Rader, D. J., Rallidis, L. S., Rice, C., Rosendaal, F. R., Rubin, D., Salomaa, V., Sampietro, M. L., Sandhu, M. S., Schadt, E., Schäfer, A., Schillert, A., Schreiber, S., Schrezenmeir, J., Schwartz, S. M., Siscovick, D. S., Sivavanathan, M., Sivapalaratnam, S., Smith, A., Smith, T. B., Snoop, J. D., Soranzo, N., Spertus, J. A., Stark, K., Stirrups, K., Stoll, M., Tang, W. H., Tennstedt, S., Thorgeirsson, G., Thorleifsson, G., Tomaszewski, M., Uitterlinden, A. G., van Rij, A. M., Voight, B. F., Wareham, N. J., Wells, G. A., Wichmann, H. E., Wild, P. S., Willenborg, C., Witteman, J. C., Wright, B. J., Ye, S., Zeller, T., Ziegler, A., Cambien, F., Goodall, A. H., Cupples, L. A., Quertermous, T., März, W., Hengstenberg, C., Blankenberg, S., Ouwehand, W. H., Hall, A. S., Deloukas, P., Thompson, J. R., Stefansson, K., Roberts, R., Thorsteinsdottir,

- U., O'Donnell, C. J., McPherson, R., Erdmann, J., CARDIoGRAM Consortium, und Samani, N. J. (2011) Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet* **43**, 333-338.
19. Strawbridge, R. J., Dupuis, J., Prokopenko, I., Barker, A., Ahlqvist, E., Rybin, D., Petrie, J. R., Travers, M. E., Bouatia-Naji, N., Dimas, A. S., Nica, A., Wheeler, E., Chen, H., Voight, B. F., Taneera, J., Kanoni, S., Peden, J. F., Turrini, F., Gustafsson, S., Zabena, C., Almgren, P., Barker, D. J., Barnes, D., Dennison, E. M., Eriksson, J. G., Eriksson, P., Eury, E., Folkersen, L., Fox, C. S., Frayling, T. M., Goel, A., Gu, H. F., Horikoshi, M., Isomaa, B., Jackson, A. U., Jameson, K. A., Kajantie, E., Kerr-Conte, J., Kuulasmaa, T., Kuusisto, J., Loos, R. J., Luan, J., Makrilakis, K., Manning, A. K., Martinez-Larrad, M. T., Narisu, N., Nastase Mannila, M., Ohrvik, J., Osmond, C., Pascoe, L., Payne, F., Sayer, A. A., Sennblad, B., Silveira, A., Stancakova, A., Stirrups, K., Swift, A. J., Syvänen, A. C., Tuomi, T., van 't Hooft, F. M., Walker, M., Weedon, M. N., Xie, W., Zethelius, B., DIAGRAM Consortium, GIANT Consortium, MuTHER Consortium, **CARDIoGRAM Consortium**¹, C4D Consortium, Ongen, H., Mälarstig, A., Hopewell, J. C., Saleheen, D., Chambers, J., Parish, S., Danesh, J., Kooner, J., Ostenson, C. G., Lind, L., Cooper, C. C., Serrano-Rios, M., Ferrannini, E., Forsen, T. J., Clarke, R., Franzosi, M. G., Seedorf, U., Watkins, H., Froguel, P., Johnson, P., Deloukas, P., Collins, F. S., Laakso, M., Dermitzakis, E. T., Boehnke, M., McCarthy, M. I., Wareham, N. J., Groop, L., Pattou, F., Gloyn, A. L., Dedoussis, G. V., Lyssenko, V., Meigs, J. B., Barroso, I., Watanabe, R. M., Ingelsson, E., Langenberg, C., Hamsten, A., und Florez, J. C. (2011) Genome-wide association study identifies nine common variants associated with fasting proinsulin levels and provides new insights into the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetes* **60**, 2624-2634.
20. Suhre, K., Shin, S. Y., Petersen, A. K., Mohny, R. P., Meredith, D., Wägele, B., Altmaier, E., **CARDIoGRAM Consortium**¹, Deloukas, P., Erdmann, J., Grundberg, E., Hammond, C. J., de Angelis, M. H., Kastenmüller, G., Köttgen, A., Kronenberg, F., Mangino, M., Meisinger, C., Meitinger, T., Mewes, H. W., Milburn, M. V., Prehn, C., Raffler, J., Ried, J. S., Römisch-Margl, W., Samani, N. J., Small, K. S., Wichmann, H. E., Zhai, G., Illig, T., Spector, T. D., Adamski, J., Soranzo, N., und Gieger, C. (2011) Human metabolic individuality in biomedical and pharmaceutical research. *Nature* **477**, 54-60.
21. Wain, L. V., Verwoert, G. C., O'Reilly, P. F., Shi, G., Johnson, T., Johnson, A. D., Bochud, M., Rice, K. M., Henneman, P., Smith, A. V., Ehret, G. B., Amin, N., Larson, M. G., Mooser, V., Hadley, D., Dörr, M., Bis, J. C., Aspelund, T., Esko, T., Janssens, A. C., Zhao,

J. H., Heath, S., Laan, M., Fu, J., Pistis, G., Luan, J., Arora, P., Lucas, G., Pirastu, N., Pichler, I., Jackson, A. U., Webster, R. J., Zhang, F., Peden, J. F., Schmidt, H., Tanaka, T., Campbell, H., Igl, W., Milaneschi, Y., Hottenga, J. J., Vitart, V., Chasman, D. I., Trompet, S., Bragg-Gresham, J. L., Alizadeh, B. Z., Chambers, J. C., Guo, X., Lehtimäki, T., Kühnel, B., Lopez, L. M., Polasek, O., Boban, M., Nelson, C. P., Morrison, A. C., Pihur, V., Ganesh, S. K., Hofman, A., Kundu, S., Mattace-Raso, F. U., Rivadeneira, F., Sijbrands, E. J., Uitterlinden, A. G., Hwang, S. J., Vasan, R. S., Wang, T. J., Bergmann, S., Vollenweider, P., Waeber, G., Laitinen, J., Pouta, A., Zitting, P., McArdle, W. L., Kroemer, H. K., Völker, U., Völzke, H., Glazer, N. L., Taylor, K. D., Harris, T. B., Alavere, H., Haller, T., Keis, A., Tammesoo, M. L., Aulchenko, Y., Barroso, I., Khaw, K. T., Galan, P., Herceberg, S., Lathrop, M., Eyheramendy, S., Org, E., Söber, S., Lu, X., Nolte, I. M., Penninx, B. W., Corre, T., Masciullo, C., Sala, C., Groop, L., Voight, B. F., Melander, O., O'Donnell, C. J., Salomaa, V., d'Adamo, A. P., Fabretto, A., Faletra, F., Ulivi, S., Del Greco, F., Facheris, M., Collins, F. S., Bergman, R. N., Beilby, J. P., Hung, J., Musk, A. W., Mangino, M., Shin, S. Y., Soranzo, N., Watkins, H., Goel, A., Hamsten, A., Gider, P., Loitfelder, M., Zeginigg, M., Hernandez, D., Najjar, S. S., Navarro, P., Wild, S. H., Corsi, A. M., Singleton, A., de Geus, E. J., Willemsen, G., Parker, A. N., Rose, L. M., Buckley, B., Stott, D., Orru, M., Uda, M., LifeLines Cohort Study, van der Klauw, M. M., Zhang, W., Li, X., Scott, J., Chen, Y. D., Burke, G. L., Kähönen, M., Viikari, J., Döring, A., Meitinger, T., Davies, G., Starr, J. M., Emilsson, V., Plump, A., Lindeman, J. H., Hoen, P. A., König, I. R., EchoGen consortium, Felix, J. F., Clarke, R., Hopewell, J. C., Ongen, H., Breteler, M., Debette, S., Destefano, A. L., Fornage, M., AortaGen Consortium, Mitchell, G. F., CHARGE Consortium Heart Failure Working Group, Smith, N. L., KidneyGen consortium, Holm, H., Stefansson, K., Thorleifsson, G., Thorsteinsdottir, U., CKDGen consortium, Cardiogenics consortium, **CARDIoGRAM consortium**¹, Samani, N. J., Preuss, M., Rudan, I., Hayward, C., Deary, I. J., Wichmann, H. E., Raitakari, O. T., Palmas, W., Kooner, J. S., Stolk, R. P., Jukema, J. W., Wright, A. F., Boomsma, D. I., Bandinelli, S., Gyllenstein, U. B., Wilson, J. F., Ferrucci, L., Schmidt, R., Farrall, M., Spector, T. D., Palmer, L. J., Tuomilehto, J., Pfeufer, A., Gasparini, P., Siscovick, D., Altshuler, D., Loos, R. J., Toniolo, D., Snieder, H., Gieger, C., Meneton, P., Wareham, N. J., Oostra, B. A., Metspalu, A., Launer, L., Rettig, R., Strachan, D. P., Beckmann, J. S., Witteman, J. C., Erdmann, J., van Dijk, K. W., Boerwinkle, E., Boehnke, M., Ridker, P. M., Jarvelin, M. R., Chakravarti, A., Abecasis, G. R., Gudnason, V., Newton-Cheh, C., Levy, D., Munroe, P. B., Psaty, B. M.,

Caulfield, M. J., Rao, D. C., Tobin, M. D., Elliott, P., und van Duijn, C. M. (2011) Genome-wide association study identifies six new loci influencing pulse pressure and mean arterial pressure. *Nat Genet* **43**, 1005-1011.

¹Das Mitwirken an den gekennzeichneten Manuskripten geschah als Mitglied des *Coronary ARtery Disease Genome-Wide Replication And Meta-Analysis (CARDIoGRAM) Consortium*, welches stellvertretend für die Mitglieder in den Zitierungen genannt wird.

²Das Mitwirken an den gekennzeichneten Manuskripten geschah als Mitglied des *IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration*, welches stellvertretend für die Mitglieder in den Zitierungen genannt wird.

³Das Mitwirken an den gekennzeichneten Manuskripten geschah als Mitglied des *IBC 50K CAD Consortium*, welches stellvertretend für die Mitglieder in den Zitierungen genannt wird.

Kongressbeiträge

Publizierte Kurzfassungen

1. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Auftrag des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) Association of X chromosomal variants with coronary heart disease: Results from a meta-analysis. *Abstracts from the annual meeting of the International Genetic Epidemiology Society*, Portland, USA. *Genet Epidemiol* **36**, 720-777.
2. **Loley, C.**, König, I. R., Hothorn, L., und Ziegler, A. (2012) Testing and genetic model selection in genome-wide association studies. *European Mathematical Genetics Meeting*, Göttingen, Deutschland. *Ann Hum Genet* **76**, 410 – 433.
3. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Auftrag des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) Association of X chromosomal variants with coronary heart disease: First results from a meta-analysis. *European Mathematical Genetics Meeting*, Göttingen, Deutschland. *Ann Hum Genet* **76**, 410 – 433.
4. **Loley, C.**, König, I. R., Hothorn, L., und Ziegler, A. (2011) Testing and genetic model selection in genome-wide association studies. *Annual meeting of the International Genetic Epidemiology Society*, Heidelberg, Deutschland. *Genet Epidemiol* **36**, 118-171.
5. **Loley, C.**, Ziegler, A., König, I. R. (2010) Association tests for X-chromosomal markers – A comparison of different test statistics. *Abstracts from the nineteenth annual meeting of the International Genetic Epidemiology Society*. Boston, USA. *Genet Epidemiol* **34**, 917-992.

Vorträge¹

1. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) Association of X chromosomal variants with coronary heart disease: Results from a meta-analysis. *National Genome Research Network*, Heidelberg, Deutschland.
2. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) X chromosome and susceptibility to coronary artery disease: Genomewide association analyses. *American Heart Association*, Los Angeles, USA.
3. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und **König, I. R.** im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) Association of X chromosomal variants with coronary heart disease: Results from a meta-analysis. *International Genetic Epidemiology Society*, Portland, USA.

4. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) Assoziation von X-chromosomalen Varianten mit koronarer Herzerkrankung: Erste Ergebnisse aus einer Meta-Analyse. *Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiology*, Braunschweig, Deutschland.
5. **Loley, C.**, König, I. R., Hothorn, L., und Ziegler, A. (2012) Testing and genetic model selection in genome-wide association studies. *European Mathematical Genetics Meeting*, Göttingen, Deutschland.
6. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2012) Association of X chromosomal variants with coronary heart disease: First results from a meta-analysis. *European Mathematical Genetics Meeting*, Göttingen, Deutschland.
7. **Loley, C.**, König, I. R., Hothorn, L., und Ziegler, A. (2011) Testing and genetic model selection in genome-wide association studies, *Central European Network*, Zürich, Schweiz.
8. **Loley, C.**, Ziegler, A., und König, I. R. (2011) Association tests for X-chromosomal markers - A comparison of different test statistics. *European Mathematical Genetics Meeting*, London, Großbritannien.
9. **Loley, C.**, Schunkert, H., Erdmann, J., und König, I. R. im Namen des CARDIoGRAM Konsortiums (2011) X-chromosome and CAD/MI. *Cardiogenics Meeting*, Lübeck, Deutschland.
10. Ziegler, A., **Loley, C.**, und König, I. R. (2010) Association tests for X-chromosomal markers - A comparison of different test statistics. *International Biometrics Conference*, Florianopolis, Brasilien.
11. **Loley, C.**, Ziegler, A., und König, I. R. (2010) Association tests for X-chromosomal markers - A comparison of different test statistics. *Deutsche Arbeitsgemeinschaft Statistik*, Dortmund, Deutschland.

¹Vortragender unterstrichen

Poster

1. **Loley, C.**, König, I. R., Hothorn, L., und Ziegler, A. (2011) Testing and genetic model selection in genome-wide association studies. *International Genetic Epidemiology Society*, Heidelberg, Deutschland.

2. **Loley, C., Ziegler, A., und König, I. R. (2010)** How to test for association on the X chromosome – A comparison of suggested test statistics. *National Genome Research Network*, Berlin, Deutschland.
3. **Loley, C., Ziegler, A., König, I. R. (2010)** Association tests for X-chromosomal markers – A comparison of different test statistics. *International Genetic Epidemiology Society*, Boston, USA.
4. **Loley, C., Ziegler, A., König, I. R. (2010)** Association tests for X-chromosomal markers – A comparison of different test statistics. *Cardiogenics Meeting*, Varenna, Italien.