
Aus der Abteilung Anaesthesiologie II- Operative Intensivmedizin
(Prof. Dr. med. M. Quintel)
im Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin
der medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Der Einfluss des eNOS- Polymorphismus 894 G/T auf das
Auftreten und den Schweregrad eines Lungenversagens

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Gesine Janssen
aus
Göttingen

Göttingen 2010

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

1. Berichterstatter: PD Dr. med. J. Hinz

2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. H. Bickeböller

3. Berichterstatter/in: Prof. Dr. C.- P. Criée

Tag der mündlichen Prüfung: 08.06.2010

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Stickstoffmonoxid (NO)	1
1.2	Die NO- Synthasen	4
1.2.1	Die endotheliale NO- Synthase	7
1.2.2	Regulation der eNOS	8
1.3	ARDS (acute respiratory distress syndrome)	9
1.3.1	Definition und Diagnosekriterien des ARDS	11
1.3.2	Pathophysiologie des ARDS	12
1.4	Zielsetzung	15
2	Material und Methoden	19
2.1	Probandenkollektiv	19
2.2	Datenerhebung	20
2.2.1	Allgemeine Patientendaten	20
2.2.2	Präoperative Daten	21
2.2.3	Intraoperative Daten	25
2.2.4	Postoperative intensivmedizinische Überwachung	27
2.3	Analyse des Polymorphismus eNOS 894 G/T	31
2.3.1	DNA- Isolierung	32
2.3.2	Polymerasekettenreaktion (PCR)	33
2.3.3	Gelelektrophorese	36
2.3.4	Statistische Auswertung	38
3	Ergebnisse	40
3.1	Häufigkeitsverteilung der Allele	40
3.2	Vergleich der demographischen und klinischen Daten	41
3.3	Pulmonale Parameter	43
3.4	Perioperative Parameter	46
3.5	Postoperative Parameter im Vergleich	48
3.6	Mortalität	49
4	Diskussion	52

4.1	Lungenversagen.....	55
4.2	Mortalität	57
4.3	Erklärungen zum Abweichen vom HWG.....	59
4.4	Einschränkungen der Studie.....	61
5	Zusammenfassung	64
6	Literaturverzeichnis	66
7	Abbildungsverzeichnis	74
8	Tabellenverzeichnis	75
	Danksagung.....	76
	Lebenslauf	77

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin converting enzyme
Ach	Acetylcholin
ACVB	Aorto- koronarer Venenbypass
ALI	Akutes Lungenversagen
AP	Angina pectoris
Ap- Röntgen	Anterior- posterior Röntgen
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
ASD	Atrium- Septumdefekt
AT- 1	Angiotensin- 1
AV- Block	Atrioventrikulärer Block
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
BMI	Body- Mass- Index
cGMP	Zyklisches Guanosinmonophosphat
CI	Cardiac index
cNOS	Konstitutive NO- Synthase
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CSS	Canadian cardiovascular society
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
EDRF	Endothelium derived relaxing factor
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
ELWI	Extravasaler Lungenwasserindex
eNOS	Endotheliale NO- Synthase
FAD	Flavinadenindinukleotid
F _i O ₂	Sauerstoffkonzentration (inspiratorisch)
FMN	Flavinmononukleotid
HLM	Herzlungenmaschine
HOCM	Hypertroph obstruktive Kardiomyopathie
HWG	Hardy- Weinberg- Gesetz
HZV	Herzzeitvolumen
IABP	Intraaortale Ballonpumpe
IFN	Interferon
IL	Interleukin
iNOS	Induzierbare NO- Synthase
ITBV	Intrathorakales Blutvolumen

LAP	Linksatrialer Druck
L- NMMA	N- Methyl- L- Arginin
MAP	Mittlerer arterieller Druck
mRNA	Messenger- Ribonukleinsäure
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat
nNOS	Neuronale NO- Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NO ₃ ⁻	Nitrat
NO ₂ ⁻	Nitrit
NOS	NO- Synthase
NTG	Nitroglyzerin
NYHA	New York Heart Association
O ₂	Sauerstoff
ONOO ⁻	Peroxynitrit
PAP	Pulmonalarterieller Druck
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PCR	Polymerasekettenreaktion
PCWP	Pulmocapillary wedge pressure
PEEP	Positiv endexpiratorischer Druck
PICCO	Pulscontour continuous cardiac output
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PRIND	Prolongierte reversible Ischämie mit neurologischem Defizit
PTCA	Perkutane transluminale koronare Angioplastie
PVRI	Pulmonary vascular resistance index
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SVI	Schlagvolumenindex
SVRI	Systemic vascular resistance index
TGF	Tumor growth factor
TIA	Transitorisch ischämische Attacken
TNF	Tumornekrosefaktor
VSD	Ventrikel- Septumdefekt
ZVD	Zentraler Venendruck
ZVK	Zentraler Venenkatheter

1 Einleitung

1.1 Stickstoffmonoxid (NO)

Lange war man der Überzeugung, dass Stickstoffmonoxid ein Umweltgift, beispielsweise ein Abgas von Kraftfahrzeugen sei. Eine Wirkung im menschlichen Organismus konnte jahrelang nicht nachgewiesen werden. Dies änderte sich, als die beiden Wissenschaftler Furchgott und Zawadski im Jahre 1980 eine Substanz entdeckten, die eine Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen zur Folge hatte (Furchgott und Zawadski, 1980). Dieser Vorgang wurde durch Acetylcholin (ACh) induziert und konnte nur in Anwesenheit einer intakten endothelialen Zellschicht ablaufen. Bezogen auf den Ursprung dieser neu entdeckten Substanz und ihrer Wirkung nannten sie diese Substanz zunächst *endothelium derived relaxing factor* (EDRF). Einige Jahre später, 1987, konnten dann englische Wissenschaftler beweisen, dass es sich bei dieser Substanz um Stickstoffmonoxid (NO) handelte (Palmer et al., 1987).

NO ist ein farbloses, wasserlösliches Gas mit einer sehr kurzen Halbwertszeit von etwa 3 Sekunden. Aufgrund seiner geringen Größe und seiner elektrischen Neutralität kann NO leicht die produzierende Zelle verlassen, um in benachbarte Zellen zu diffundieren und dort seine Wirkung zu entfalten. Freies NO ist im Blut nicht nachweisbar, da es sehr schnell metabolisiert wird. Dies geschieht entweder durch Bindung an Hämoglobin oder durch Oxidation zu Nitrit und anschließend zu Nitrat. Über die Niere wird das NO dann als stabiles Abbauprodukt ausgeschieden.

Die Entstehung von Stickstoffmonoxid hängt entscheidend von einem speziellen Enzym ab. Hierbei handelt es sich um die NO-Synthase (NOS), welche die Bildung von NO katalysiert. In Anwesenheit von Sauerstoff und NADPH setzt die NOS die Aminosäure L-Arginin zu L-Citrullin und NO um (Groves und Wang, 2000). Als Zwischenprodukt

entsteht Hydroxy- L- Arginin. NO selbst wiederum wird in eine Reihe stabiler Endprodukte oxydiert, wie Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) und Peroxynitrit (ONOO^-). Sowohl das Stickstoffmonoxid als auch dessen Reaktionsprodukte sind an einigen entscheidenden physiologischen und pathophysiologischen Prozessen beteiligt. Die NO- Synthase kann die Umwandlung von Arginin zu Citrullin jedoch nur dann katalysieren, wenn sie sich im aktiven dimeren Zustand befindet. Für die Aufrechterhaltung ihrer Enzymaktivität benötigt die NO-Synthase Sauerstoff (O_2) und Nikotinsäureamidadenindinukleotidphosphat (NADP^+) als Kosubstrate und 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH_4), Flavinadenindinukleotid (FAD), Flavinmononukleotid (FMN), Calmodulin und weitere Verbindungen als Kofaktoren (Asano et al., 1994; Moncada und Higgs, 1993; Nathan und Xie, 1994).

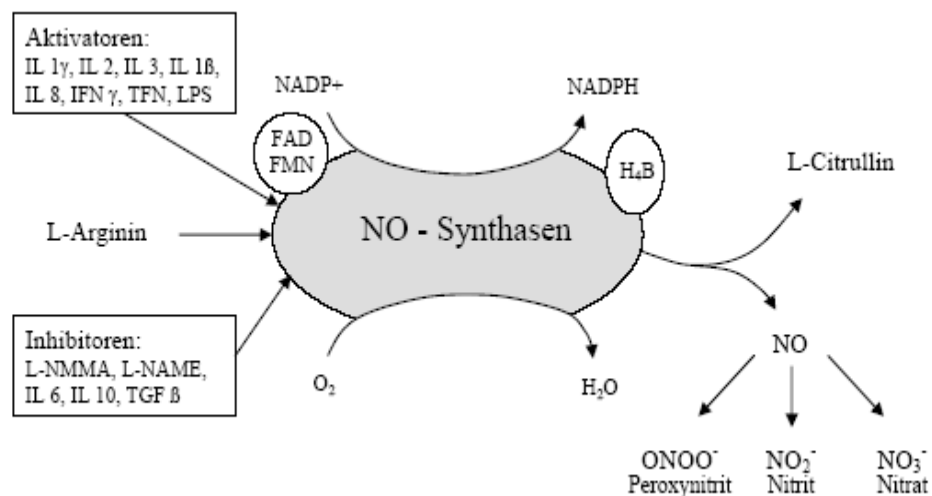


Abb. 1: NO-Synthase durch NOS (abgewandelt aus Kharitonov und Barnes, 2002, S.12)

Stickstoffmonoxid entsteht durch die Oxidation von L-Arginin zu L-Citrullin. Diese Reaktion wird durch NO-Synthasen katalysiert. Die Argininderivate L-

NMMA (N^G-Monomethyl-L-Arginin) und L-NAME (N^G- Nitro-L-Arginin Methylester) fungieren als Inhibitoren der NO-Synthasen so wie auch der TGF β (transforming growth factor beta) und die Interleukine IL 6 und IL 10. Als Aktivatoren der NO-Synthasen gelten die Interleukine IL 1 β , IL 2, IL 3, IL 8 sowie Interferon γ (IFN- γ), Tumornekrosefaktor (TNF alpha und beta) und bakterielle Lipopolysaccharide (LPS).

NO erfüllt beim Menschen eine Vielzahl von Funktionen. Als wichtigstes Zielenzym des Stickstoffmonoxids wird die lösliche Guanylylzyklase angesehen. Zunächst gelangt das in der Endothelzelle gebildete NO über die Zellmembran in die glatten Gefäßmuskelzellen und aktiviert hier die lösliche Isoform der Guanylylzyklase, indem es an deren Häm- Gruppe bindet. Diese Aktivierung bewirkt einen Anstieg des intrazellulären zyklischen Guanosinmonophosphats (cGMP), was wiederum über die Aktivierung der Proteinkinase G zu einer Abnahme der intrazellulären Calciumkonzentration führt. Diese Konzentrationsveränderung hat dann schließlich die Relaxation der glatten Muskelzellen venöser sowie arterieller Gefäße zur Folge (Wang T et al., 2003).

Weitere zelluläre Wirkorte von endotheliale NO sind sowohl Thrombozyten und Granulozyten, als auch glatte Muskelzellen und Endothelzellen. NO wird als ein hochdiffusibles Gas vom Endothel nicht nur in die Gefäßwand abgegeben, sondern auch nach luminal, wo es eine hemmende Rolle bei der Aggregation der Blutplättchen auszuüben scheint (Wang T et al., 2003). Des Weiteren hat NO auch eine Reduktion der Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen zur Folge (Forth et al., 2001). Aufgrund dieser Funktionen nimmt NO eine entscheidende Rolle in der physiologischen Gefäßprotektion ein und wirkt somit den vasokonstriktischen Effekten des sympathischen Nervensystems sowie einer Thrombosebildung entgegen. Ebenfalls eine wichtige Rolle spielt die lokale NO- Konzentration bei an Atherosklerose erkrankten Patienten (Oemar et al., 1998). Hier konnte in einer Studie eine erniedrigte NO-

Produktion und –Freisetzung in von Atherosklerose betroffenen Gefäßarealen nachgewiesen werden. Somit ist anzunehmen, dass bei normalen NO- Konzentrationen auch hier eine gefäßprotektive Wirkung des Stickstoffmonoxids zum Tragen kommt.

In der Lunge besitzt NO ebenso diese dilatatorische Wirkung auf Muskel- und Gefäßtonus, allerdings nur, wenn es in relativ hohen Konzentrationen vorhanden ist (Sanna et al., 1994). Zudem wird NO ein positiver Effekt auf die körpereigene Abwehr zugeschrieben. Es steigert beispielsweise die Motilität der respiratorischen Zilien. Dies betrifft auch den nasalen Zilienschlag (Lindberg et al., 1997).

1.2 Die NO- Synthesen

Bisher sind drei Gene bekannt, die jeweils für eine NOS- Isoform kodieren. Diese drei Isoformen unterscheiden sich in ihrem Aktivierungsmuster und ihrer Lokalisation in Geweben:

- neuronale NOS (nNOS, NOS I)
- induzierbare NOS (iNOS, NOS II)
- endotheliale NOS (eNOS, NOS III).

Des Weiteren wird eine Differenzierung zwischen induzierbarer NOS (iNOS) und konstitutiver NOS (cNOS) vorgenommen. Nur die cNOS ist calcium- und calmodulinabhängig. Bei erhöhten Calciumkonzentrationen bindet das Calmodulin an die cNOS und aktiviert diese, während die induzierbare NO- Synthase auch bei normaler Calciumkonzentration an das Calmodulin gebunden ist. Es sind einige Mechanismen bekannt, die einen Einfluss auf die intrazelluläre Calciumkonzentration und somit auch indirekt auf die NOS haben. Über eine Öffnung von Ionenkanälen kommt es z.B. durch Acetylcholin und andere Ca^{2+} - mobilisierende Substanzen zu einem Einstrom von Calcium in die Zelle und dadurch über eine Komplexbildung mit Calmodulin auch zu einer Aktivierung der NO- Synthase (Michel et al.,

1997). Auch Serotonin, welches bei Aggregation von Blutplättchen frei wird, sowie die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes können einen Eintritt von Calcium in die Zelle bewirken und haben darüber ebenso einen indirekten Einfluss auf die Aktivität der NO- Synthase.

Zu der konstitutiven NOS zählen die nNOS sowie die eNOS. Diese beiden Formen bewirken eine kontinuierliche Synthese relativ geringer Mengen von NO, wobei dieser Prozess wie bereits genannt calciumabhängig verläuft. Im Gegensatz dazu wird die iNOS als Folge eines Entzündungsreizes in Effektorzellen des Immunsystems exprimiert (Makrophagen und Granulozyten) und vermag NO über Stunden bis Tage in großer Menge zu produzieren. Sie ist unabhängig von der intrazellulären Calciumkonzentration aktiv.

	NOS 1 (nNOS)	NOS 2 (iNOS)	NOS 3 (eNOS)
Entdeckt in	Neuronen	Makrophagen	Endothelzellen
Lokalisation	12q24.2-31	17q11.2-12	7q35-36
Regulations- mechanismen	Überwiegend konstitutive Expression, Ca ²⁺ -abhängig	transkriptionale Regulation, stimulierbar, Ca ²⁺ -unabhängig	Überwiegend konstitutive Expression, Ca ²⁺ -abhängig
Aktivierungs- muster	kontinuierliche Synthese relativ geringer Mengen von NO	Produktion großer (100-1000facher) Mengen NO erst als Folge eines Entzündungsreizes	kontinuierliche Synthese relativ geringer Mengen von NO

Tab. 1: Schlüsselmerkmale der NOS-Isoformen (abgewandelt aus Guzik et al., 2003, S. 472)

Alle drei Isoformen weisen trotz ihrer unterschiedlichen Lokalisation, Regulation und Hemmbarkeit eine ähnliche Struktur auf. Sie alle sind funktionell durch eine homologe Calmodulin- Bindungsstelle in eine Oxygenase- und eine Reduktasedomäne aufgeteilt (Abb. 2). Hier finden die entsprechenden oxidativen und reduktiven Schritte der Reaktion statt, über die L- Arginin zu Citrullin umgewandelt wird. Die Oxygenasedomäne ist N-terminal gelegen, wo auch die Bindungsstellen für Häm, L- Arginin und Tetrahydrobiopterin (BH₄) gelegen sind. Die bereits genannten notwendigen Co- Faktoren FAD, FMN, NADPH und Calmodulin binden an die Reduktasedomäne der NO- Synthase und ermöglichen so den Transfer der Elektronen. Der Aufbau der verschiedenen NO- Synthasen ist in der folgenden Abbildung nachzuvollziehen.

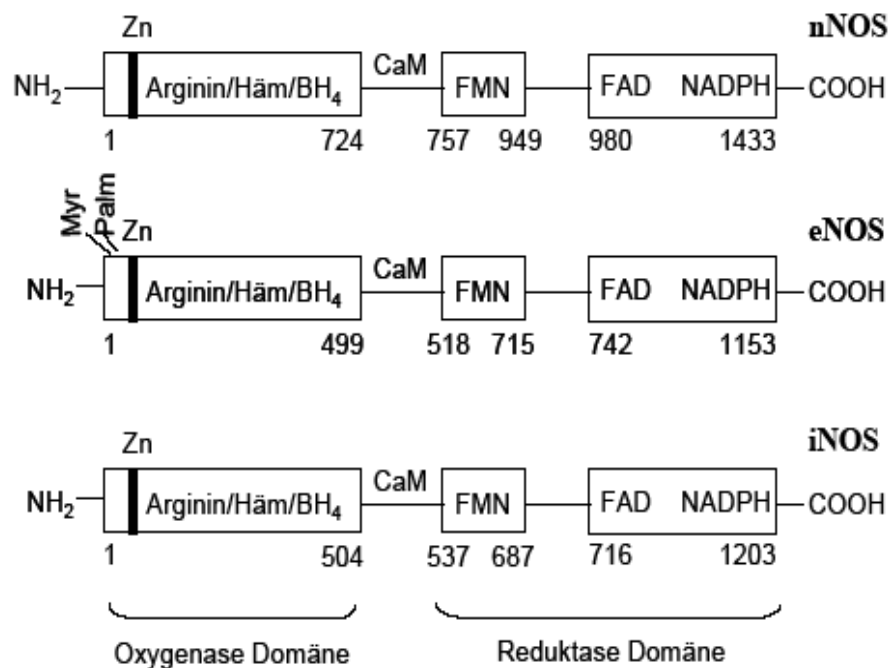


Abb. 2: Schematischer Aufbau der menschlichen nNOS, eNOS und iNOS
(Alderton et al., 2001, S. 595)

1.2.1 Die endotheliale NO- Synthase

Die endotheliale NO- Synthase reguliert über die Bildung von NO die vaskuläre Homöostase. Wie bereits oben erwähnt, nimmt die eNOS unter anderem für die Vasodilatation aller Blutgefäße eine entscheidende Rolle ein.

In Anbetracht der vielfältigen Funktionen innerhalb des Gefäßsystems ist es leicht zu erklären, dass eine Störung der eNOS- bedingten NO- Produktion mit vielen pathophysiologischen Prozessen und damit auch mit vielen kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung steht. Die Aktivität der eNOS und somit die Menge des gebildeten Stickstoffmonoxids wird unter anderem von physiologischen Stimuli gesteuert. Innerhalb eines Gefäßes können z.B. so genannte Scherkräfte die Aktivität der endothelialen NO- Synthase beeinflussen. Diese Scherkräfte entstehen durch den Blutfluss in einem Gefäß und bewirken nicht nur eine vermehrte Freisetzung von NO, sondern führen auch zu einer gesteigerten eNOS- Expression. Auf diesen Mechanismus kann z.B. durch vermehrtes körperliches Training Einfluss genommen werden, da hierdurch die Scherkräfte innerhalb eines Gefäßes zunehmen (Sessa et al., 1994).

Aber nicht nur im Gefäßsystem kann die Aktivität der eNOS- Synthase gesteuert werden. Auch die Östrogen- Konzentration hat einen Einfluss auf die Aktivität der eNOS: hohe Konzentrationen von Östrogenen führen zu einer gesteigerten Expression von eNOS- mRNA sowie von eNOS- Protein und damit zu einer gesteigerten Synthese von NO (Kleinert et al., 1998). Unter hypoxischen Bedingungen dagegen kommt es zu einer geringeren Transkription und mRNA- Stabilität von eNOS im Endothel und damit auch zu einer verminderten NO- Synthase (McQuillan et al., 1994).

1.2.2 Regulation der eNOS

Noch bis Mitte der neunziger Jahre galt die eNOS als rein calcium-/calmodulinabhängig reguliertes Enzym (Förstermann, 1994). Mittlerweile konnten mehrere Faktoren identifiziert werden, die auf die Induktion bzw. Reduktion der Genexpression der eNOS Einfluss nehmen. Calcium spielt für die Funktionsfähigkeit der endothelialen NO- Synthase eine ganz entscheidende Rolle. Normalerweise wird NO durch die eNOS ab einer intrazellulären Calciumkonzentration von 10^{-7} mol/L synthetisiert. Bei einer Erhöhung dieser Konzentration kommt es auch zu einer gesteigerten Aktivität der NO- Synthase mit einer daran gebundenen vermehrten Bildung von NO.

Wie bereits erwähnt ist die endotheliale NO- Synthase nicht nur von der vorherrschenden intrazellulären Calciumkonzentration, sondern auch von ihrer Bindung an Calmodulin abhängig. Zusammen mit Calcium bildet Calmodulin einen Komplex, welcher an die Reduktasedomäne der eNOS bindet und schließlich damit den Transfer der Elektronen gewährleistet.

Um eine Balance zwischen Aktivität und Hemmung der eNOS zu halten, sind weitere Regulatoren notwendig. Eine inhibierende Funktion nimmt z.B. das Membranprotein Caveolin- 1 ein, welches einen direkten Antagonisten von Calcium/ Calmodulin darstellt und mit diesem Komplex um die Bindungsstelle an der eNOS konkurriert. Durch Bindung des Caveolins an die Reduktasedomäne der eNOS wird die enzymatische Aktivität der eNOS gehemmt. Die Aktivität der endothelialen NOS wird somit durch das Verhältnis von Calcium/ Calmodulin- gebundener NOS und Caveolin- gebundener NOS bestimmt (Govers und Rabelink, 2001).

Des Weiteren besteht eine direkte Verbindung zwischen der lokalen NO- Konzentration und der NO- Synthese. Bei zu hohen NO- Konzentrationen bindet das NO an die Häm- Gruppe der NO- Synthase und hemmt somit die Aktivität des Enzyms, so dass kein zusätzliches NO gebildet werden kann.

Während der letzten Jahre konnte zudem bewiesen werden, dass auch eine Phosphorylierung der eNOS Einfluss auf deren Aktivität nehmen kann. Die Phosphorylierung von eNOS- Ser1177 bewirkt eine Aktivitätssteigerung, wogegen die Phosphorylierung von Thyreonin 495 die Aktivität hemmt (Michell et al., 2001).

Eine weitere entscheidende Rolle spielt der Cofaktor BH₄. Alle Isoformen der NOS haben die Fähigkeit, insbesondere in Abwesenheit von L- Arginin und BH₄, O₂⁻ zu produzieren. O₂⁻ wirkt vasokonstriktorisch und kann mit NO zu dem extrem potenten oxidativen Peroxynitrit reagieren. Das Peroxynitrit ist in der Lage, Aminosäuren, Lipide und Basen der Nukleinsäure zu oxidieren und besitzt eine zytotoxische Wirkung auf Endothelzellen, Gefäßmuskelzellen und Makrophagen. Gehemmt werden kann die Entstehung von O₂⁻ nur durch die Anwesenheit von BH₄, da dieses eine höhere Affinität zur NO- Synthase hat. Ob also nun NO oder O₂⁻ durch die NOS gebildet wird, hängt ganz entscheidend von der lokalen BH₄-Konzentration ab.

1.3 ARDS (acute respiratory distress syndrome)

Der Begriff des ARDS wurde erstmalig im Jahre 1967 eingeführt (Ashbaugh et al., 1967). Diese schwere, meist letal endende pulmonale Erkrankung kann bei einer vorbestehenden Primärschädigung des Lungensystems schnell durch das Auftreten bestimmter Faktoren ausgelöst werden. Diese Faktoren werden in zwei Kategorien unterteilt, solche, die eine direkte Lungenschädigung auslösen, und solche, die über einen indirekten Weg ebenfalls zu einer schweren und häufig irreversiblen Zerstörung des Lungengewebes führen.

Direkte Lungenschädigung	Indirekte Lungenschädigung
Pneumonie	Sepsis
Aspiration	Schock
Rauchgas	Polytrauma
Thoraxtrauma	Massenbluttransfusionen
	Drogenintoxikation

Tab. 2: Ursachen des ARDS, U. S. Department of health and human services (abgewandelt aus Ashbaugh et al., 1967, S. 321)

Die Diagnosestellung erfolgt gestützt auf die Klinik, sowie auf typische radiologische und pathophysiologische Veränderungen der Lunge. Das typische Bild des akuten Lungenversagens beinhaltet eine anhaltende, ausgeprägte Störung des Gasaustauschs, welche sich meist in Form einer Tachypnoe, Atemnot und Zyanose äussert, sowie einer schweren, therapierefraktären Hypoxämie, welche infolge eines intrapulmonalen Rechts- Links- Shunts auftritt. Zusätzlich kommt es zu einem Abfall der Dehnbarkeit des respiratorischen Systems (Compliance), welche letztendlich eine deutlich erschwerte Atemarbeit nach sich zieht. Des Weiteren steigt die Totraumventilation deutlich an. Dies wiederum hat zur Folge, dass die bereits vorhandene Störung des Gasaustausches noch verstärkt wird und dem gesamten Organismus zu wenig Sauerstoff zu Verfügung steht.

Die Röntgenaufnahmen zeigen ein interstitielles, alveoläres Lungenödem mit diffusen bilateralen Infiltraten, wobei hier differenzialdiagnostisch ein Linksherzversagen sicher ausgeschlossen werden muss, um die Diagnose eines akuten Lungenversagens stellen zu können. Pathophysiologisch liegt eine Störung des alveolären

Surfactantsystems sowie eine Erhöhung des pulmonalvaskulären Widerstandes vor (Bernard et al., 1994; Ware und Matthay, 2000).

1.3.1 Definition und Diagnosekriterien des ARDS

Nach mehreren verschiedenen, z.T. sehr verwirrenden Definitionen kam es 1994 durch die amerikanisch- europäische Konsensus- Konferenz schließlich zur international gültigen Definition des ARDS (Bernard et al., 1994). Anhand des Schweregrades der Oxygenierungsstörung wird ein akutes Lungenversagen (ALI) von der schwereren Form des akuten respiratorischen Lungenversagen (ARDS) unterschieden. Bei beiden Formen müssen die gleichen Kriterien bezüglich des Verlaufs, des jeweiligen Röntgenbefundes sowie des Lungenkapillarverschlussdrucks (PCWP) erfüllt sein. Das Verhältnis zwischen $\text{PaO}_2/ \text{F}_i\text{O}_2$ ist für die Unterscheidung der beiden Formen allerdings von Bedeutung. Bei beiden Formen wird der gemessene Wert PEEP- unabhängig betrachtet, allerdings muss zur Diagnose eines ALI das Verhältnis $\text{PaO}_2/ \text{F}_i\text{O}_2 \leq 300\text{mmHg}$ sein, während die schwerere Form bei einem Wert von $\leq 200\text{mmHg}$ diagnostiziert wird.

	Verlauf	Oxygenierung PaO ₂ /F _i O ₂	Röntgen- thorax	Lungenkapillar- verschlussdruck
ALI	akut	≤ 300mmHg (PEEP unabhängig)	Bilaterale Infiltrate	≤ 18mmHg oder keine klin. Anzeichen einer links- kardialen Funktionsstörung
ARDS	akut	≤ 200mmHg (PEEP unabhängig)	Bilaterale Infiltrate	≤ 18mmHg oder keine klin. Anzeichen einer links- kardialen Funktionsstörung

Tab. 3: Kriterien des ALI/ ARDS laut Konsensus- Definition (Bernard et al., 1994, S. 821)

1.3.2 Pathophysiologie des ARDS

Ein akutes Lungenversagen kann durch direkte Schädigung des Lungengewebes wie z.B. durch Pneumonie oder Aspiration, oder aber durch eine indirekte Schädigung wie z.B. Sepsis oder Polytrauma ausgelöst werden. Bei der indirekten pulmonalen Schädigung ist die Primärerkrankung also in einem anderen Organ lokalisiert und führt erst sekundär über eine systemische Inflammation zur Schädigung der Lunge. Obwohl sich die Ätiologie stark unterscheidet, zeigt die Entstehung des ARDS stets einen einheitlichen pathophysiologischen Verlauf, an dem verschiedene Zell- und Mediatorsysteme beteiligt sind (Adrie und Pinsky, 2000). Diese Vielzahl von beteiligten Systemen gestaltet bis heute eine erfolgreiche Therapie des schweren akuten Lungenversagens sehr schwierig.

Sowohl durch die direkte als auch durch die indirekte Schädigung des pulmonalen Gewebes kommt es zu einer Mediatorenanflutung. Hierzu zählen die Stimulierung des körpereigenen Komplementsystems sowie die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen. Diese Anflutung wird als unkontrollierte immunologische Reaktion angesehen, welche im weiteren Verlauf durch eine maschinelle Beatmung noch verstärkt werden kann. Die neutrophilen Granulozyten lagern sich an das Endothel an und bewirken hier eine beginnende Störung der Membranpermeabilität (Gadek und Pacht, 1996). Des Weiteren schütten diese aktivierten Granulozyten histotoxische Substanzen wie z. B. Prostaglandinmetabolite und Sauerstoffradikale aus, welche eine Schädigung der Kapillaren bewirken. Durch diese Schädigung wird die Wand zwischen Lungenbläschen und Blutbahn durchgängig für Makromoleküle (Eiweiße) und (Blut-) Zellen sowie für vermehrte Flüssigkeit. In der Folge kommt es zur Ausbildung eines intraalveolären proteinreichen Ödems, welches zu einer Bildungsstörung sowie einer Inaktivierung des Surfactant führt. Ebenso kann es im weiteren Verlauf durch die kapilläre Schädigung zu einer pulmonalen Hypertonie kommen (Villar et al., 1989).

In einer zweiten Phase zeigen sich mehr und mehr die bereits erwähnten klinischen und radiologischen Zeichen. Es kann zu einer vermehrten Atemarbeit und damit zu einer Tachypnoe sowie einer Zyanose kommen. Im ap- Röntgenbild stellen sich die bilateralen Verschattungen dar, welche als pulmonale Infiltrate gedeutet werden müssen. Als Reaktion auf die Veränderungen wird das Gerinnungssystem aktiviert, wodurch es zur Bildung von Mikrothromben kommt, was wiederum eine lokale Verbrauchssymptomatik und Nekrosen der Alveolarzellen Typ II nach sich zieht. Da die Alveolarzellen Typ II für die Synthese des Surfactant zuständig sind, kommt es bei einer Zerstörung dieser Zellen zu einer zusätzlichen Surfactant- Reduktion, wodurch die Kollapsneigung mit

multipler Atelektasenbildung erhöht wird. In diesem Stadium wird das klinische Oxygenierungsversagen manifest (Kiiski et al., 1992).



Abb. 3: Röntgenverlaufsaufnahmen bei ARDS

Hier abgebildet sind die zunehmenden pulmonalen Infiltrate im ap-Röntgenbild. Zu sehen ist ein Ausschnitt eines linken apikalen Lungenabschnittes mit zu Beginn noch relativ wenig eingeschränkter Ventilation der Alveolen. Im zweiten und dritten Bild dann eine immer ausgeprägtere Verschattung der Lunge mit immer weiter abnehmender Belüftung und langsamem fibrinösen Umbau des Lungengewebes, welches dann zu den Symptomen einer starken Dyspnoe und weiter durch die Minderversorgung mit O₂ zu einem Multiorganversagen führt. Das dritte Bild stellt das komplizierte, irreversible Stadium eines ARDS dar.

In der nachfolgenden „proliferativen Phase“ erfolgt durch die Stimulierung von Wachstumsfaktoren ein bindegewebiger Umbau sowie die Bildung von hyalinen Membranen mit einer Fixierung der Lunge. Dies führt zu einer schweren interstitiellen Fibrose und einer erheblichen Abnahme der Compliance. Es kommt in Folge dessen zu einer Perfusions- und Diffusionsverschlechterung. Dieses Stadium nimmt häufig einen tödlichen Verlauf und ist in der Regel irreversibel. Meist entsteht eine komplizierte

Superinfektion mit einem Multiorganversagen, da eine ausreichende Sauerstoffversorgung sämtlicher Organe nicht mehr gewährleistet ist. Dieser Prozess hat einen entscheidenden Einfluss auf die Letalität.

1.4 Zielsetzung

Faktoren, die das Auftreten und den Schweregrad des ALI/ ARDS beeinflussen, konnten bisher nicht vollständig identifiziert werden. Jedoch besteht die Vermutung, dass genetische Faktoren in diesem Prozess eine entscheidende Rolle spielen.

Die endotheliale NO- Synthase katalysiert die Entstehung von NO aus dem Endothel. NO übernimmt einige wichtige Funktionen, die unter anderem für die Blutdruck- und Gefäßtonusregulation essentiell sind. Eine verminderte Aktivität der eNOS und damit eine geringere NO- Synthase haben einen direkten Einfluss auf die Gefäßwand. Dieser Einfluss kann besonders in der Lungenstrombahn eine wichtige Rolle spielen. Sowohl das akute Lungenversagen als auch seine schwere Form das „acute respiratory distress syndrome“ (ARDS) sind eine oft tödlich verlaufende Erkrankung der Lunge, bei der unter anderem eine Schädigung der Gefäßwände innerhalb der Lunge auftritt.

In früheren Studien konnte bereits nachgewiesen werden, dass während bzw. nach einer Bypass- Operation die NO- Konzentration deutlich erhöht ist (Ruvolo et al., 1994). Die enorme Belastung des gesamten Organismus während eines solchen Eingriffs und die dabei entstehenden Endotoxine bewirken die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, welche wiederum die iNOS induzieren und damit eine erhöhte NO- Produktion bewirken (Hill, 1998). Die vermehrte NO- Freisetzung durch die Induktion der iNOS führt damit nicht nur zu einer verminderten eNOS- Aktivität, sondern ebenfalls zu einer gesteigerten vaskulären Permeabilität und zu weiteren systemischen Entzündungsreaktionen (Fischer et al., 2007).

Demnach lässt sich sagen, dass schon kleinste Veränderungen der NO-Konzentration sowie der Bioverfügbarkeit von NO nach herzchirurgischen Eingriffen zu vasomotorischen Abnormalitäten und damit zu Beeinträchtigungen der kardialen und pulmonalen Perfusion mit Ödembildung führen können.

Unter einem Polymorphismus versteht man das gleichzeitige Vorkommen unterschiedlicher Phänotypen (Genvarianten) in einer Population. Bei einem genetischen Polymorphismus gibt es für ein Gen mehrere Zustandsformen (Allele) mit den entsprechenden Ausprägungen, von denen bereits für den Menschen mehr als zwei Millionen bekannt sind. Per definitionem muss dabei die Häufigkeit des Auftretens der Genvariante größer als ein Prozent sein. Ist dies nicht der Fall wird von einer Mutation gesprochen. Es gibt drei verschiedene Arten dieser Variationen, zu denen einmal die Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs), die Insertions- und Deletionspolymorphismen sowie die Multiplikationen gehören. Die Variationen, die am häufigsten vorkommen, sind die *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). Hierbei kommt es zu einem Austausch eines Nukleotides im DNA- Molekül. Liegt dieser Austausch in einem kodierenden Bereich einer Gensequenz, kann dies in der Folge einen Aminosäureaustausch bewirken und sich somit auch letztlich auf das Protein auswirken. Dies trifft aber nicht immer zu, da die meisten Aminosäuren von mehreren Basentriplets kodiert werden und somit nicht jeder Basenaustausch in der DNA einen Aminosäureaustausch und im weiteren Auswirkungen auf das Protein hat.

Das eNOS- Gen ist auf dem Chromosom 7q35-36 lokalisiert und umspannt 21 Kilobasen, die 26 Exons und 25 Introns enthalten (Marsden et al., 1993). Für die eNOS konnten bisher einige häufige genetische Varianten (Polymorphismen) nachgewiesen werden. Hierzu zählt unter anderem der Polymorphismus eNOS 894 G/T. Dieser SNP im Exon 7 an Position 894 des eNOS- Gens wurde erstmals 1993 von Marsden et al. beschrieben. In diesem Fall findet ein Austausch von Guanin zu Thymin an Nukleotid 894

des für die eNOS codierenden Gens statt, welcher zu einem anderen Basentriplett führt. Statt GAG entsteht das Triplett GAT. Dies wiederum hat einen Aminosäureaustausch von Glutamat zu Aspartat zur Folge. Dieser Austausch führt dann zu einer verminderten Enzymaktivität (Wang XL et al., 2000) sowie zu einer verminderten basalen NO- Konzentration (Veldman et al., 2002). Die folgende Abbildung zeigt die Struktur sowie die Lokalisation des eNOS- Gens mit einigen eingezeichneten Polymorphismen, die für diese Studie von Bedeutung sind.

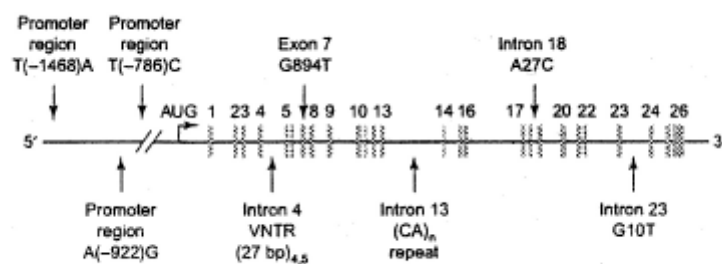


Abb. 4: Polymorphismen des eNOS- Gens (abgewandelt aus Wattanapitayakul et al., 2001)

Bislang konnte nachgewiesen werden, dass bei homozygoten TT-Genotypen eine erhöhte Anfälligkeit für eine schnellere Spaltung des eNOS-Proteins vorliegt, welche ebenfalls in einer verminderten NO- Freisetzung resultiert (Tesauro et al., 2000). In anderen Studien wurde die Vermutung geäußert, dass dieser Polymorphismus bei TT- Allelträgern mit einem Hypertonus assoziiert sei (Miyamoto et al., 1998). Ebenso wurde entdeckt, dass diese genetische Variante mit Koronarspasmen (Yoshimura et al., 1998) sowie einem erhöhten Risiko für Herzinfarkte in Zusammenhang steht (Shimasaki et al., 1998).

Mit diesen pathophysiologischen Veränderungen und den vermuteten Einflüssen einer verminderten NO- Produktion auf den gesamten Organismus im Hintergrund, war es Ziel dieser Studie, den

genetischen Einfluss des Polymorphismus eNOS 894 G/T auf die Entstehung und den Schweregrad eines Lungenversagens zu untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Probandenkollektiv

Ziel der Studie war es, den Einfluss des genetischen Polymorphismus eNOS 894 G/T auf die Entstehung und den Schweregrad des Lungenversagens (ALI/ ARDS) zu untersuchen. Hierzu wurden Patienten mit dem Risiko gesucht, dass sie aufgrund ihrer Erkrankung bzw. der erforderlichen therapeutischen Maßnahmen evtl. ein primäres oder sekundäres Lungenversagen entwickeln würden.

In die Studie wurden insgesamt 500 männliche und weibliche Probanden im Alter von 18- 80 Jahren eingeschlossen, die sich in stationärer Behandlung im Universitätsklinikum Göttingen befanden. Die Patienten, die für diese Studie in Frage kamen, wurden in zwei Gruppen mit jeweils unterschiedlichem Risikoprofil eingeteilt:

- Herzoperation mit Anschluss an die Herz- Lungen-Maschine (HLM) oder
- Langzeitbeatmung.

Sowohl langzeitbeatmete Patienten als auch Patienten nach HLM-Operation wurden auf den Intensivstationen 0117/ 0118 der Universitätsklinik Göttingen betreut, wobei eine tägliche Überwachung der Hämodynamik und der Lungenfunktion der Patienten durchgeführt wurde. Die gesammelten Daten der Patienten wurden dann in eine Datenbank eingetragen, anhand derer später die Auswertungen der einzelnen Ergebnisse durchgeführt wurde.

Die Aufklärung der Patienten umfasste die Ziele der Studie, die einmalige studienspezifische Blutentnahme von 5 ml, die Auswertung der Daten und die Freiwilligkeit der Teilnahme an der Studie. Bei HLM- Patienten erfolgte

dies präoperativ. Bei den meisten langzeitbeatmeten Patienten war dies jedoch nicht möglich. Daher erfolgte im Falle einer vom zuständigen Vormundschaftsgericht bestellten Betreuung die Einwilligung nach eingehender Information des Betreuers. Wurde kein Betreuer gerichtlich bestellt, so wurde der mutmaßliche Wille des Patienten durch die nächsten Angehörigen erfragt. Erst nach der schriftlichen Einwilligung wurde mit der Datenerhebung begonnen und die Blutabnahme durchgeführt.

2.2 Datenerhebung

Die gesammelten Daten der Probanden wurden in vier verschiedene Abschnitte unterteilt:

1. Allgemeine Patientendaten
2. Präoperative Daten
3. Intraoperative Daten
4. Postoperative intensivmedizinische Überwachung.

Die gesamten Daten wurden anhand von Arztbriefen der Hausärzte, Verlegungsberichten von externen Häusern sowie anhand der Operationsberichte und der täglichen Visiten der Intensivstationen 0117/0118 im Universitätsklinikum Göttingen zusammengetragen und in die bereits genannte Datenbank eingetragen.

2.2.1 Allgemeine Patientendaten

Zu den allgemeinen Patientendaten zählten Name, Adresse, Geburtsdatum, sowie Größe, Gewicht und Geschlecht des Patienten. Diese

Daten wurden bei beiden Patientengruppen (HLM- Patienten und langzeitbeatmete Patienten) gleichermaßen anhand von früheren Arztbriefen und Aufnahmeberichten gesammelt. Des Weiteren wurden relevante Daten wie Zeitpunkt der Krankenhaus- und Intensivstationsaufnahme sowie der jeweiligen Entlassung und gegebenenfalls der Todeszeitpunkt festgehalten.

Studien-Nr.	<input type="text" value="19"/>	KH Aufnahme	
Patienten-Nr	<input type="text" value="10982981"/>	Datum:	<input type="text" value="18.11.2005"/>
Risikogruppe:	<input type="text" value="Herzlungenmaschin"/>	Uhrzeit:	<input type="text" value="17:49"/>
Station:	<input type="text" value="0118"/>	ICU Aufnahme	
Bettenplatz:	<input type="text" value="A3"/>	Datum	<input type="text" value="19.11.2005"/>
Name	<input type="text"/>	Uhrzeit	<input type="text" value="22:49"/>
Vorname	<input type="text"/>	ICU Entlassung	
Geschlecht:	<input type="text" value="männlich"/>	Datum	<input type="text" value="28.12.2005"/>
Geburtsdatum	<input type="text" value="24.06.1939"/>	Uhrzeit	<input type="text" value="21:50"/>
Strasse	<input type="text"/>	KH Entlassung	
PLZ	<input type="text"/>	Datum	<input type="text" value="28.12.2005"/>
Ort	<input type="text"/>	Uhrzeit:	<input type="text" value="21:50"/>
Telefon	<input type="text"/>	Tod	
Grösse [cm]	<input type="text" value="180"/>	Datum	<input type="text" value="28.12.2005"/>
Gewicht [kg]	<input type="text" value="80"/>		

Abb. 5: Allgemeine Patientendaten

2.2.2 Präoperative Daten

Die relevanten präoperativen Daten wurden wie bereits erwähnt anhand von früheren Arztbriefen aus peripheren Krankenhäusern sowie durch Befragung des jeweiligen Patienten selbst zusammengestellt. Besonders wichtig waren hierbei die Daten zu einer bestehenden kardialen

oder pulmonalen Vorbelastung sowie zum persönlichen Risikoprofil. Dazu wurden folgende Risikofaktoren mit einbezogen:

- Positive Familienanamnese: kardiale Ereignisse bei Verwandten 1. Grades
- Arterieller Hypertonus: systolischer Blutdruck von > 140 mmHg und/oder diastolischer Blutdruck von > 90 mmHg
- Hyperlipoproteinämie: Serumcholesterin von > 240mg/dl (nüchtern)
- Nikotinabusus: Patienten die über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten geraucht hatten
- Diabetes mellitus: Blutzuckerwerte > 140 mg/dl bei zweimaliger Blutentnahme
- Zerebrale Ereignisse: Apoplex, transitorisch ischämische Attacken (TIA), prolongierte reversible Ischämie mit neurologischem Defizit (PRIND)
- Koronare Herzerkrankung: abgelaufener Myokardinfarkt mit ggf. therapeutischer Versorgung (PTCA, Bypass- Operation), Herzkatheterbefund mit interventionsbedürftigem Ergebnis
- Herzinsuffizienz: NYHA- Klassifikation
 - I: Beschwerdefreiheit auch bei normaler körperlicher Belastung
 - II: Beschwerden bei stärkerer körperlicher Belastung
 - III: Beschwerden schon bei leichter körperlicher Belastung
 - IV: Beschwerden in Ruhe
- Pulmonale Hypertonie
- COPD: Chronische Lungenkrankheit mit progredienter, nach Gabe von Bronchodilatoren

nicht vollständig reversibler Atemwegsobstruktion auf dem Boden einer chronischen Bronchitis und/ oder eines Lungenemphysems

- Niereninsuffizienz
- pAVK
- Angina pectoris (AP): CCS- Klassifikation
 - 0: Stumme Ischämie
 - I: Keine AP bei normaler körperlicher Belastung, AP bei schwerer körperlicher Anstrengung
 - II: Geringe Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität durch AP
 - III: Erhebliche Beeinträchtigung der normalen körperlichen Aktivität durch AP
 - IV: AP bei geringster körperlicher Belastung oder Ruheschmerzen
- Bestehendes Krebsleiden

Zusätzlich war die Medikation vor der Hospitalisierung von Bedeutung. Hierbei wurde gesondert auf die Einnahme folgender Medikamente geachtet: β - Blocker, ACE- Hemmer, Koronartherapeutika (z. B. Molsidomin, Nitrate), andere Hypertensiva (z. B. AT- 1 Blocker), Diuretika, Antidiabetika, Lipidsenker, Antikoagulanzen (Einnahme innerhalb der letzten 6 Monate), Bronchodilatoren sowie Antiarrhythmika.

Studien-Nr.	
	1
Betablocker	<input checked="" type="checkbox"/>
ACE-Hemmer	<input checked="" type="checkbox"/>
Koronartherapeutika	<input type="checkbox"/> z.B. Molsidomin, Nitrate
Lipidsenker	<input checked="" type="checkbox"/>
Antidiabetika	<input type="checkbox"/>
Diuretika	<input checked="" type="checkbox"/>
Brochodilatoren	<input type="checkbox"/>
Antihypertensiva andere	<input type="checkbox"/>
Antiarrhythmika	<input checked="" type="checkbox"/>
Antikoagulation (letzte 6 Monate)	<input checked="" type="checkbox"/>

Abb. 6: Vormedikation

Des Weiteren wurde im präoperativen Verlauf in der Universitätsklinik Göttingen eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt, deren Befund in die Datenbank aufgenommen wurde. Waren bereits Ergebnisse von früheren Katheteruntersuchungen anderer Krankenhäuser vorhanden, wurden diese ebenfalls berücksichtigt. Bei bereits vorbehandelten Herzkranzgefäßen (z. B. durch Einsetzen eines Stents oder einer bereits erfolgten Myokardrevaskularisierung durch einen ACVB) konnte deren erneuter Verschluss angegeben werden. Die jeweilige Funktion der einzelnen Herzklappen war ebenso relevant. Hierbei ging es im Besonderen um eine bestehende Klappeninsuffizienz oder aber eine Stenose bzw. deren verbliebene Klappenöffnungsfläche - angegeben in cm^2 . Abschließend wurde die Ejektionsfraktion nach Simpson ermittelt, um das verbliebene Pumpvermögen des Herzens beurteilen zu können.

StudienNr:

Anamneseart:

Datum des Befund:

Koronargefäß [%]	Stent	In-Stent-Stenose [%]	ACVB	In-ACVB-Stenose [%]
RCA: <input type="text" value="100"/>	RCA: <input type="text" value="kein"/>	RCA: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> RCA	RCA (%): <input type="text"/>
iPLA: <input type="text"/>	iPLA: <input type="text" value="kein"/>	iPLA: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> iPLA	iPLA (%): <input type="text"/>
RDP/RVP: <input type="text"/>	RDP/RVP: <input type="text" value="kein"/>	RDP/RVP: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> RDP/RVP	RDP/RVP (%): <input type="text"/>
Hauptstamm: <input type="text" value="60"/>	Hauptstamm: <input type="text" value="kein"/>		<input checked="" type="checkbox"/> RIVA	RIVA (%): <input type="text" value="90"/>
RIVA: <input type="text" value="100"/>	RIVA: <input type="text" value="kein"/>	RIVA: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> RD1	RD1 (%): <input type="text"/>
RD1: <input type="text"/>	RD1: <input type="text" value="kein"/>	RD1: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> RIM	RIM (%): <input type="text"/>
RIM: <input type="text" value="80"/>	RIM: <input type="text" value="kein"/>	RIM: <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Cx	Cx (%): <input type="text"/>
Cx: <input type="text" value="100"/>	Cx: <input type="text" value="kein"/>	Cx: <input type="text"/>	<input checked="" type="checkbox"/> PLA	PLA (%): <input type="text" value="100"/>
PLA: <input type="text"/>	PLA: <input type="text" value="kein"/>	PLA: <input type="text"/>		

Herzcho-Befund	
Mitralklappen-Insuffizienz (Grad):	<input type="text" value="0"/>
Mitralklappen-Stenose (Öffnungsfläche cm ²):	<input type="text"/>
Aortenklappen-Insuffizienz (Grad):	<input type="text" value="0"/>
Aortenklappen-Stenose (Öffnungsfläche cm ²):	<input type="text"/>
Trikuspidalklappen-Insuffizienz (Grad):	<input type="text" value="0"/>
Ejektionsfraktion (%):	<input type="text" value="50"/>

Abb. 7: Präoperativer Herzkatheterbefund

2.2.3 Intraoperative Daten

Die intraoperativen Daten waren hauptsächlich bei HLM- Patienten von Bedeutung, da hier die chirurgische Versorgung der stenosierten Koronarien mit ACVBs oder aber ein Ersatz bzw. eine Rekonstruktion der Herzklappen bei Insuffizienz oder ebenfalls einer Stenosierung im Vordergrund standen. Die Notwendigkeit der jeweiligen Operation wurde hierbei in drei Stufen unterteilt: elektiver Eingriff, dringlicher Eingriff und Notfall. Die Aortenklammzeit sowie die Anschlussdauer an die Herz-Lungen- Maschine spielten in jeder der zwei Gruppen eine Rolle. Von

besonderer Wichtigkeit waren die intraoperativ verabreichten Medikamente zur Kreislaufunterstützung. Dazu zählten: Nitroglyzerine, Nitroprusside, NO, Kortison, Trasyolol, Tranexamsäure, Suprarenin, Perfalan, Arterenol, Levosimendan und Cordarex.

Komplikationen, die während des Eingriffs entstehen konnten, wie z.B. eine notwendige Reanimation, Defibrillation, Asystolie, Implantation eines Herzschrittmachers oder der Einbau einer intraaortalen Ballonpumpe (IABP) zur Entlastung des Herzens wurden ebenfalls notiert.

Operationen, wie eine Resektion von myokardialem Gewebe bei hypertroph obstruktiver Kardiomyopathie (HOCM), Ersatz bzw. Teilersatz des Aortenbogens sowie der Verschluss eines Vorhof- oder Kammerseptumdefekts (ASD/ VSD) waren seltener, wurden aber dennoch in die Datenbank miteinbezogen.

Abschließend wurde die Anzahl der verbrauchten Erythrozyten- bzw. Thrombozytenkonzentrate oder Frischplasmen aufgenommen.

Studien-Nr.	<input type="text" value="916"/>
OP-Datum	<input type="text" value="07.12.2006"/>
Dringlichkeit	<input type="text" value="elektiv"/>
Aortenklemmzeit (Minuten)	<input type="text" value="73"/>
HLM-Zeit (Minuten)	<input type="text" value="98"/>
Operateur:	<input type="text" value="Trilomis"/>

ACB	
RCA	<input type="text" value="Nein"/>
iPLA	<input type="text" value="Nein"/>
RDP/RVP	<input type="text" value="Nein"/>
RIVA	<input type="text" value="Arterie"/>
RD1	<input type="text" value="Vene"/>
RIM	<input type="text" value="Nein"/>
Cx	<input type="text" value="Nein"/>
PLA	<input type="text" value="Vene"/>

Herzklappen	
Mitralklappe	<input type="text" value="Keine"/>
Aortenklappe	<input type="text" value="Keine"/>
Trikuspidalklappe	<input type="text" value="Keine"/>
Pulmonalklappe	<input type="text" value="Keine"/>

Sonstiges	
Morrow-Resektion (HDCM)	<input type="checkbox"/>
Aortenersatz	<input type="text"/>
ASD/VSD-Verschluss	<input type="checkbox"/>

Blutprodukte	
Erythrozytenkonzentrate (ml)	<input type="text" value="0"/>
Frischplasma (ml)	<input type="text" value="0"/>
Thrombozytenkonzentrate (ml)	<input type="text" value="0"/>

HLM-Abgang	
Nitro	<input type="checkbox"/>
Nipruss	<input type="checkbox"/>
NO	<input type="checkbox"/>
Kortison	<input type="checkbox"/>
Trasyfol	<input type="checkbox"/>
Tranexamsäure	<input type="checkbox"/>
Suprarenin	<input checked="" type="checkbox"/>
Perfan	<input type="checkbox"/>
Arterenol	<input type="checkbox"/>
Levosimendan	<input type="checkbox"/>
Cordarex	<input type="checkbox"/>
IABP	<input type="checkbox"/>
Reanimation	<input type="checkbox"/>
Herzschrittmacher	<input type="checkbox"/>

Carotis-Operation

Abb. 8: Intraoperativer Befund

2.2.4 Postoperative intensivmedizinische Überwachung

Die postoperative Überwachung der Patienten erfolgte durch eine tägliche retrospektive Visite über die jeweils letzten 24 Stunden während des Aufenthalts auf einer der beiden chirurgischen Intensivstationen 0117 oder 0118. Hämodynamische Messwerte wurden über die routinemäßig benutzten bettseitigen Monitoring-Systeme der Intensivstation elektronisch gespeichert. Von kontinuierlich gemessenen Werten wie Herzfrequenz, Blutdruck und Atemfrequenz wurde täglich der jeweilige Mittelwert erfasst.

Bei den relevanten Kreislaufparametern handelte es sich um:

- **Elektrokardiogramm (EKG):** Aus dem EKG können Herzfrequenz, Herzrhythmus und der Lagetyp (elektrische Herzachse) bestimmt und die elektrische Aktivität von Herzvorhöfen und -kammern abgelesen werden. Für die Diagnostik von Herzrhythmusstörungen wie Extraschlägen (Extrasystolen) und Störungen der Erregungsleitung und -ausbreitung (z.B. Schenkelblock und AV-Block) ist das EKG ebenso unverzichtbar wie zur Erkennung eines Infarktes. Die für die Studie relevanten Daten aus dem EKG beinhalteten die Herzfrequenz und den Herzrhythmus, welcher in Sinusrhythmus, Tachyarrhythmia absoluta, Bradyarrhythmia absoluta, Kammerflimmern und Asystolie unterteilt wurde.
- **Arterielle Blutdruckmessung:** entweder nicht- invasiv mit einer Blutdruckmanschette nach Riva-Rocci oder aber invasiv durch eine arterielle Kanüle, meist in der A. radialis gelegen. Erfasst wurden hierbei der systolische und der diastolische Wert sowie der arterielle Mitteldruck.
- **Zentraler Venendruck (ZVD):** gemessen über einen zentralen Venenkatheter (ZVK), der in die obere Hohlvene vorgeschoben wird und vor dem rechten Vorhof zu liegen kommt. Hier wird dann über den Katheter der Druck gemessen und somit die Vorlast des Herzens bestimmt.
- **Pulmonalkatheter (Swan-Ganz-Katheter):** Ein Katheter, der über den rechten Vorhof und die rechte Herzkammer in den Stamm der Pulmonalarterie geschoben wird und dort Drücke im rechten Herzen misst. Dazu zählt der Pulmonalarterienverschlussdruck (PCWP) zur Messung des Drucks, welcher beim vorübergehenden Verschließen (Blocken) der Pulmonalarterie mittels des

Pulmonalkatheters distal des geblockten Ballons gemessen wird, der *Cardiac Index* (CI, Herzminutenvolumen bezogen auf die Körperoberfläche), SVI (Schlagvolumenindex [l/m²]), Systemischer Gefäßwiderstandsindex (SVRI, *systemic vascular resistance index* [dyn*s/cm⁵*m²]), Pulmonaler Gefäßwiderstandsindex (PVRI, *pulmonary vascular resistance index* [dyn*s(cm⁵*m²)), linksatrialer Druck (LAP) sowie der pulmonalarterielle Druck (PAP), gemessen in der Systole und in der Diastole, sowie der sich daraus ergebende pulmonalarterielle Mitteldruck.

- *Pulscontour Continuous Cardiac Output* (PICCO): eine geringinvasive Methode zur Messung des HZV mittels einer Pulscontouranalyse über einen zentralen Venenkatheter. Hierbei wird zentral ein Kältebolus in das System appliziert. Anschließend wird die zeitliche Dauer, bis dieser Kältebolus einen in einer Femoralarterie gelegenen weiteren Katheter erreicht, gemessen. Hierdurch lassen sich dann kontinuierlich das HZV, das intrathorakale Blutvolumen (ITBV) und der extravasale Lungenwasser- Index (ELWI) als Vorlastparameter des Herzens berechnen.

Blutdruck		Herzfrequenz (Minute) <input type="text" value="88"/>	
Systolisch (mmHg)		<input type="text" value="115"/>	
Diastolisch (mmHg)		<input type="text" value="60"/>	
Mitteldruck (mmHg)		<input type="text" value="78"/>	
ZVD (mmHg)		<input type="text" value="11"/>	

Sinusrhythmus	<input checked="" type="checkbox"/>
Absolute tachycard	<input type="checkbox"/>
Absolute bradycard	<input type="checkbox"/>
Kammerflimmern	<input type="checkbox"/>
Asystolie	<input type="checkbox"/>

Herzschiitmacher	<input type="checkbox"/>
IABP	<input type="checkbox"/>
ECMO	<input type="checkbox"/>
Kardioversion	<input type="checkbox"/>

Pulmonalkatheter <input type="checkbox"/> PICCO <input type="checkbox"/>	
CI (l/Minute/m ²)	<input type="text"/>
SVI (ml/m ²)	<input type="text"/>
SVV (%)	<input type="text"/>
SVRI (dyn*s*cm ⁻⁵ /m ²)	<input type="text"/>
PCwP (mmHg)	<input type="text"/>
LAP (mmHg)	<input type="text"/>
PAP systolisch (mmHg)	<input type="text"/>
PAP diastolisch (mmHg)	<input type="text"/>
PAP Mitteldruck (mmHg)	<input type="text"/>
PVRI (dyn*s*cm ⁻⁵ /m ²)	<input type="text"/>
ITBVI (ml/m ²)	<input type="text"/>
EVLWI (ml/kg)	<input type="text"/>

Suprenin (mg/Tag)	<input type="text" value="0,12"/>
Arterenol (mg/Tag)	<input type="text"/>
Dobutamin (mg/Tag)	<input type="text"/>
Perfan (mg/Tag)	<input type="text"/>
Vasopressin (IU/Tag)	<input type="text"/>
Syndax (mg/Tag)	<input type="text"/>
Nipruss (mg/Tag)	<input type="text"/>
Nitro (mg/Tag)	<input type="text" value="14"/>
Kortison (mg/Tag)	<input type="text"/>
Cordarex (mg/Tag)	<input type="text"/>

Abb. 9: Hämodynamische Parameter

Im Hinblick auf das potenzielle Risiko ein primäres (pulmonales) oder sekundäres (extrapulmonales) Lungenversagen zu entwickeln, lag die Aufmerksamkeit besonders auf dem Organsystem Lunge. Es wurde zunächst auf die Art der Beatmung geachtet. Hierbei war von Bedeutung, ob es sich um eine Spontanatmung, eine nicht- invasive Beatmung durch Nasensonden oder Sauerstoffmasken handelte, oder aber eine invasive Beatmung über einen endobronchialen Tubus vorlag. Zur Beurteilung der Lungenfunktion waren folgende Parameter von Bedeutung:

- F_iO_2 (Sauerstoffkonzentration)
- Positiv endexpiratorischer Druck (PEEP in mbar)
- Plateaudruck in mbar
- Tidalvolumen in ml

- Atemfrequenz pro Minute
- Arterieller pH
- Arterieller $p\text{CO}_2$ in mmHg
(Kohlendioxidpartialdruck)
- Arterieller PaO_2 in mmHg (Sauerstoffpartialdruck)
- Lung injury score nach Murray:

	Punkte		Punkte
Röntgenthorax (bildgebendes Verfahren)		PEEP-Score (cm H_2O)	
keine Verschattung	0	PEEP < 6	0
alveoläre Verschattung in 1 Quadrant	1	PEEP 6-8	1
alveoläre Verschattung in 2 Quadranten	2	PEEP 9-11	2
alveoläre Verschattung in 3 Quadranten	3	PEEP 12-14	3
alveoläre Verschattung in 4 Quadranten	4	PEEP > 14	4
Hypoxämie Score (mmHg)		Lungenmechanik (ml /cm H_2O)	
$\text{paO}_2 / \text{FiO}_2 > 300$	0	Compliance > 80	0
$\text{paO}_2 / \text{FiO}_2 225-299$	1	Compliance 60-79	1
$\text{paO}_2 / \text{FiO}_2 175-224$	2	Compliance 40-59	2
$\text{paO}_2 / \text{FiO}_2 100-174$	3	Compliance 20-39	3
		Compliance > 19	4

Tabelle 4: *Lung injury score* (abgewandelt aus Murray et al., 1988, S. 722)

2.3 Analyse des Polymorphismus eNOS 894 G/T

Um den Polymorphismus aus der DNA bestimmen zu können, wurden jedem Patienten postoperativ 5 ml Blut entnommen. Die Entnahme erfolgte entweder über einen zentralen Venenzugang oder aber über einen in der A. radialis liegenden Zugang. Die gewonnene Blutprobe wurde dann bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren und so konserviert. Im weiteren

Verlauf wurde dann die DNA aus dem Blut isoliert, in einer Polymerasekettenreaktion (PCR) in zwei Stränge geteilt und anschließend durch die Gelelektrophorese der Größe nach in ihre einzelnen Fragmente aufgetrennt. Die jeweiligen Schritte werden im Folgenden genauer beschrieben.

2.3.1 DNA- Isolierung

Zur Analyse der DNA wurde diese aus EDTA-gepuffertem peripheren Blut gewonnen und mit Hilfe des DNA-Mini Kits der Firma Qiagen® regelrecht isoliert.

Aus 200µl EDTA- Blut mit 20µl Proteinkinase- K wurden Leukozyten in ein E- Cup pipettiert und vermischt. Dieser Vorgang bewirkte eine Auflösung der Zellmembran. In einem weiteren Schritt wurden dem Gemisch dann 200µl AL-Buffer beigefügt und anschließend alles zusammen für 15 Sekunden in einem MS2-Minishaker von IKA-Schütt® gevortext. Nach Ablauf der 15 Sekunden wurde das ganze Gemisch bei 56°C über Nacht inkubiert.

Am folgenden Tag wurde die Lösung in einer Eppendorf-Zentrifuge® kurz anzentrifugiert und zur Fällung der DNA mit 200µl 100%igem Ethanol versetzt, um eine eventuelle Kreuzkontamination zu vermeiden. Diese Mischung musste nun gut durchgemischt und wiederum kurz anzentrifugiert werden.

Das gesamte Gemisch wurde nun auf eine Säule aufgetragen, die in einer Collectiontube stand. Diese sollte als Auffanggefäß dienen. Zusätzlich wurden drei weitere Collectiontubes (Sammeltube) sowie ein steriles E- Cup benötigt. Dann wurden 700µl dieser Lösung auf die Säule aufgetragen und dann eine Minute lang bei 8000rpm in der Eppendorf- Zentrifuge® zentrifugiert. Nach Ablauf der Minute wurde die Säule auf ein neues

Collectiontube gestellt und mit 500µl AW1- Puffer versetzt, um anschließend wieder bei 8000rpm für eine Minute zentrifugiert zu werden. Wie bereits nach der ersten Zentrifugierung wurde ein neues Auffanggefäß benötigt. In einem nächsten Schritt wurden 500µl eines AW2- Puffer zu der Säule hinzugegeben und anschließend bei nun 13000rpm für 3 Minuten zentrifugiert. Nach diesem Vorgang wurde die Säule auf das letzte bereitstehende Auffanggefäß pipettiert und 1,5 Minuten bei 13000rpm trocken zentrifugiert. Nach Beenden dieser Zentrifugierung wurde die Säule auf das sterile E- Cup gestellt.

Nach Ablauf der eineinhalb Minuten wurden der Säule 50µl eines AE- Puffer zugeführt, ohne dabei die Membran zu berühren. Dies diente der Elution der DNA. Darauf folgte eine Inkubation der Säule bei Raumtemperatur für wiederum eine Minute, um anschließend zum letzten Mal bei 8000rpm für eine weitere Minute zentrifugiert zu werden. Die nun eluierte DNA konnte entweder über eine relativ lange Zeit bei -20°C stabil gelagert werden oder direkt in der PCR weiter verwendet werden.

Im Rahmen dieser Studie wurden 5µl des DNA-Template mit 45µl HPLC- H₂O gemischt und im Anschluss kurz gevortext und anzentrifugiert. Die photometrische Konzentrationsbestimmung wurde bei den Wellenlängen 260nm und 280nm am Spektralphotometer BIOMATe5® durchgeführt. Das Verhältnis 260/ 280nm sollte im Bereich zwischen 1,5 und 2,0 liegen, um sicher eine reine DNA vorliegen zu haben.

2.3.2 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die Polymerasekettenreaktion (PCR, polymerase chain reaction) ist eine chemische Methode, bei der ausgehend von einem gewonnenen DNA-Extrakt selektiv ein bestimmter Genabschnitt in vitro vervielfacht (amplifiziert) werden kann. Es handelt sich hierbei um ein zyklisches

Verfahren, wobei sich im Idealfall in jedem Zyklus die Anzahl der DNA-Kopien verdoppelt. Diese Vervielfältigung ermöglicht es, mit den üblichen Labormethoden die Sequenzierung der DNA, also die Abfolge der einzelnen Bausteine zu erkennen.

Im Rahmen dieser Studie wurde bei jeder PCR neben den Patientenproben zusätzlich eine Negativkontrolle hinzugefügt, die anstatt der isolierten DNA Wasser enthält. Mit Hilfe dieser Kontrolle konnten sich Kontaminationen mit fremder DNA bei der anschließenden Gel-Elektrophorese ausschließen lassen.

Die Polymerasekettenreaktion läuft normalerweise in drei Schritten ab:

1. Denaturierung:

Die isolierte Doppelstrang-DNA (dsDNA) wird auf 94- 96 °C erhitzt. Diese Temperaturveränderung trennt die Wasserstoffbrückenbindungen auf, über die die beiden DNA- Stränge sonst miteinander verbunden sind.

2. Hybridisierung:

Nachdem die DNA in ihre Einzelstränge aufgetrennt wurde, erfolgt eine Temperatursenkung auf 55° C, so dass die für die gesuchte DNA-Sequenz spezifischen Primer an die Einzelstränge binden können. Diese Primer sind für das gesuchte DNA- Anfangsstück zum jeweiligen Einzelstrang komplementär („forward and revers primers“).

3. Verlängerung:

In diesem Schritt wird die Temperatur erneut auf diesmal 72° C erhöht und eine Taq- DNA- Polymerase zugesetzt, welche nun die Verlängerung der von den Primern markierten DNA-Sequenzen mit freien Nukleotiden (Desoxynukleosidtriphosphat = dNTP) katalysiert. Sie beginnt

am 3'- Ende des angelagerten Primers und folgt dem DNA-Strang in Richtung des 5'- Endes. Durch die ständige Wiederholung dieser drei Schritte verdoppelt sich jedes Mal die Anzahl an kopierten DNS-Molekülen. Nach 20 Zyklen entstehen auf diese Weise aus einem einzigen DNS- Doppelstrang etwa eine Million Moleküle.

Reaktionsansatz der PCR:

Wie bereits erwähnt ist die Polymerasekettenreaktion eine schnelle und effektive Möglichkeit, Kopien spezifischer Gensequenzen herzustellen. Den größten Stellenwert bei dieser Reaktion nimmt die hitzestabile DNA-Polymerase (Taq- Polymerase) ein, die zusammen mit den Primern eine enzymatische Amplifikation eines DNA-Segmentes ermöglicht. Die Primer sind dabei so zu wählen, dass sie an den Strang bzw. den Gegenstrang der zu amplifizierenden DNA hybridisieren. Die Taq-Polymerase bindet an die freien 3'- Hydroxylenden der Primer und verlängert diese. Durch diese Verbindung kann dann ein komplementärer Strang synthetisiert werden.

In Rahmen dieser Studie wurde zur Durchführung der PCR der Standard- Master- Mix verwendet. Das Gesamtvolumen umfasste 25µl, worauf 1µl auf die isolierte DNA fiel. Der Probeneinsatz betrug 1µl. Dies entspricht ca. 50ng.

Verdünnung der Primer:

Primerstammlösung Firma Biomers.net®, 89077 Ulm

Lyophilisierter Primer 894- GT- S mit 1375µl HPLC-H₂O versetzen
(= 100pmol)

Lyophilisierter Primer 894- GT AS mit 1952µl HPLC-H₂O versetzen
(= 100pmol)

Ansatz Master Mix für 1 Probe:

10× Puffer	2,5µl
Primer 894- GT- S	0,5µl (12,5pmol)
Primer 894- GT AS	0,5µl (12,5pmol)
dNTP's	2µl (0,8mM)
Taq- Polymerase	0,5µl (2,5 unit)
HPLC- H ₂ O	18µl
24µl + 1µl Probe (50ng)	
Gesamtvolumen	24µl

Die gesamte Probe wurde dann vorsichtig gemischt und kurz in der Zentrifuge anzentrifugiert.

Die Amplifikation der DNA wurde bei dieser Studie mit einem Mastercycler der Firma Eppendorf® in 30 Zyklen durchgeführt. Die Denaturierung der doppelsträngigen DNA erfolgte bei 94° C und über eine Laufzeit von 1 Minute. Bei 58° C wurden die Primer hybridisiert. Die Verlängerung der Primer durch die hitzestabile Taq- Polymerase fand bei 72° C und über eine Laufzeit von 1,5 Minuten statt. Zusätzlich erfolgte eine „Vorlaufzeit“ von 5 Minuten bei 94° C sowie eine „Nachlaufzeit“ von 5 Minuten bei 72° C.

2.3.3 Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese ist eine analytische Methode, bei der verschiedene Moleküle ihrer Größe und Ladung nach aufgeteilt werden. Dabei wandern die aufzutrennenden Moleküle unter Einfluss eines elektrischen Feldes durch ein Gel, z.B. Agarosegel. Aufgrund ihrer

molekularen Größe und ihrer Ladung wandern die Moleküle unterschiedlich schnell durch das Gel, welches somit eine Art „Sieb“ bildet. Dabei wandern positiv geladene Moleküle am schnellsten in Richtung der negativ geladenen Kathode und negativ geladene Moleküle am schnellsten in Richtung der positiv geladenen Anode. Durch die unterschiedlichen Geschwindigkeiten werden die Moleküle getrennt und können nach einiger Zeit durch ein spezielles fotografisches Verfahren sichtbar gemacht werden. Bestimmte Gene hinterlassen aufgrund ihrer Größe und Ladung typische Abfolgen von Banden.

Die elektrophoretische Auftrennung der PCR- Produkte erfolgte in einem 3%- Agarosegel (MetaPhor- Agarose der Firma Biozym®). Der gesamte Gelansatz wurde in einer horizontalen Kammer von Biometra® zusammengesetzt. Dazu wurden 3g des Agarosegels mit 100ml eines 1- fach TAE- Puffers gemischt. Aus diesem Gemisch wurden dann 80ml entnommen und mit 8µl Ethidiumbromid (Roth®) versetzt. Dies entsprach einer Gesamtgelmenge von 80,008ml. Elektrophoretisch aufgetrennt wurde das PCR- Produkt bei 100 Volt, bis eine ausreichende Trennung der Moleküle erfolgt war. Die Geltasche wurde mit 1µl Ladepuffer (Roth®) und 2µl der DNA- Probe beladen. Zusätzlich wurde ein Längenstandard von 100bp (Roth®) sowie eine Negativkontrolle von 6µl, welche keine DNA beinhaltete, aufgetragen. Anschließend wurde für eine halbe Stunde Strom mit der Stärke von 100 Volt angelegt, wodurch sich die Nukleinsäuren im elektrischen Feld der Größe nach auftrennten. Das in der Gelmenge enthaltene Ethidiumbromid interkaliert in die DNA und fluoresziert unter UV-Licht. Die fotografische Erfassung erfolgte in einem Transilluminator (Biometra®) mit einer CCD-Kamera und wurde von dem Programm BioDocAnalyse (Biometra®) auf dem Computer ausgewertet.

DpnII Restriktionsverdau:

Die Reagenzien der Firma BioLabs® wurden für den Verdau bei

-85° C gelagert. Vor Beginn des Vorgangs wurde das Eppendorf-Thermostat® auf 37° C vorgeheizt, um die optimale Arbeitstemperatur zu erreichen. Dann wurde das notwendige Material aus der 894- GT- PCR entnommen.

MasterMix für eine Probe:

10x DpnII- Puffer	2,5 µl
Restriktionsenzym DpnII	0,125µl (2.5 units)
HPLC- H ₂ O	17,375µl
	<hr/>
	20 µl

Zu diesem gesamten Mix wurden nun noch 5µl PCR- Template (894- GT- PCR) hinzugegeben. Dies wurde gut gevortext und anschließend kurz an zentrifugiert, um danach für 2 Stunden bei 37° C inkubiert zu werden.

Für den Gelansatz wurden 80ml eines 4%igen Agarosegels (Metaphor Fa. Biozym®) mit 1x TAE Puffer sowie 8µl Ethidiumbromid (Roth®) verwendet. Darauf wurden wiederum zwei Proben aufgetragen- 1µl 6x Ladepuffer (Roth®) mit 6µl einer Kontrollprobe, sowie 1µl 6x Ladepuffer (Roth®) mit 2µl der DNA- 20 bp.

2.3.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit der Software STATISTIKA^R (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Bei allen statistischen Verfahren wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ für den alpha-

Fehler als signifikant angenommen. Die Überprüfung der Ergebnisse auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test. Bei Annahme der Normalverteilung wurde die deskriptive Statistik als Mittelwert \pm Standardabweichung ermittelt. Bei Ablehnung der Normalverteilung durch den Kolmogorov-Smirnov-Test wurde die deskriptive Statistik als Median und Bereich angegeben. Bei nicht normalverteilten Daten wurde der Wilcoxon- matched- pair, Mann-Whitney-U- Test oder der Kruskal- Wallis- Test angewendet. Bei normalverteilten Werten wurde der T- Test verwendet. Multiples Testen wurde hier nicht durchgeführt. Bei kategorialen Variablen erfolgte die Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in einer Feldertafel mit dem einseitigen Chi-Quadrat-Test. Für kleine Fallzahlen wurde mit dem FisherZs exact- Test untersucht.

Bei einer solchen Studie war es notwendig, die Genotypverteilung über das Hardy- Weinberg- Gesetz zu ermitteln, um zu überprüfen, ob die Ergebnisse auf eine Normalbevölkerung übertragbar sind. Trotzdem das Hardy- Weinberg- Gesetz nur einen modellhaften Charakter innehat, wird es dennoch sehr häufig verwendet, um populationsgenetische Gesichtspunkte vom Modell auf die Realität zu übertragen. Insbesondere bei sich im Gleichgewicht befindenden Populationen mit relativ großer Größe lässt sich dieses Modell realistisch anwenden. Die beiden Formeln für das Hardy-Weinberg Gleichgewicht lauten: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ und $p + q = 1$. Dabei entspricht „p“ der relativen Häufigkeit des Auftretens des Allels A. „q“ entspricht der Allelfrequenz des zu A komplementären Allels a. Die Genotypfrequenz eines Genpools ist in einer Idealpopulation konstant. Zur Berechnung der einzelnen Häufigkeiten der Genotypen wurden die folgenden Formeln verwendet: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, $p^2 = h(AA)$, $2pq = h(Aa)$ und $q^2 = h(aa)$.

Aufgrund der Fragestellung dieser Arbeit wurden nur das jeweilige 95%-Konfidenzintervall für die relevanten, nämlich die pulmonalen Parameter berechnet. Diese finden sich in Tabelle 8 in runden Klammern.

3 Ergebnisse

3.1 Häufigkeitsverteilung der Allele

Alle 500 in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden genotypisiert. Durch die PCR konnte der Polymorphismus 894 G/T lokalisiert und bestimmt werden, wobei drei Untergruppen für die jeweilige Allelverteilung gebildet wurden: homozygote Träger des G- Allels (GG), heterozygote Träger des G-Allels und des T- Allels (GT) sowie homozygote Träger des T- Allels (TT). Davon fielen 260 (52%) der 500 Patienten auf die Gruppe mit den Allelen GG, 226 (45,2%) auf die Gruppe GT und 14 (2,8%) auf die Gruppe mit den Allelen TT.

Insgesamt betrachtet ergab sich eine höhere Anzahl an G- Allelen (74,6%) als an T- Allelen (25,4%). Die Aufteilung der Genotypen des eNOS- Polymorphismus 894 G/T entspricht nicht den erwarteten Zahlen unter dem Hardy- Weinberg- Gleichgewicht. Unter HWG würde für GG 55,7%, für GT 37,9% und für TT 6,5% erwartet werden. Dies ist bei dieser Untersuchung nicht der Fall. Hier ist der Anteil der heterozygoten GT-Träger deutlich größer. Im Gegensatz dazu fällt die Gruppe der erwarteten TT- Allelträger deutlich kleiner aus. Die Verteilung der Genotypen wurde berechnet, wobei sich für GG eine Häufigkeit von 52%, für GT eine Häufigkeit von 45,2% und für TT eine Häufigkeit von 2,8% ergab. Im Vergleich mit den erwarteten Werten einer Normalbevölkerung unter HWG ergab sich ein hochsignifikanter p- Wert von $p < 0,000009$, wonach die Verteilung dieser Studie nicht der Verteilung unter Hardy- Weinberg entsprach.

Für dieses Ergebnis gibt es mehrerer Erklärungsmöglichkeiten, die in der Diskussion noch einmal aufgearbeitet werden.

894G/T	GG	GT	TT	G-Allel	T-Allel
n = 500 (%)	260 (52%)	226 (45,2%)	14 (2,8%)	746 (74,6%)	254 (25,4%)

Tabelle 5: Allelverteilung

3.2 Vergleich der demographischen und klinischen Daten

Die allgemeinen und präoperativen Daten bezogen auf die unterschiedlichen Genotypen (GG, GT, TT) sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Bei dem Vergleich der drei Gruppen konnten im Bezug auf Alter, Geschlecht und BMI keine Unterschiede festgestellt werden. Ebenso war bei den verschiedenen Dringlichkeitsstufen der Operation (elektiv, dringlich, Notfall) kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen auszumachen. Hinsichtlich der einbezogenen Risikofaktoren (Nikotinabusus, arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus, Ejektionsfraktion, COPD, Niereninsuffizienz, pulmonaler Hochdruck und zerebrale Ereignisse) konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen dem jeweiligen Genotyp und den ermittelten Werten beobachtet werden. Bezogen auf die Aortenklammzeit und die gesamte Dauer der Bypass- Operation war ebenfalls kein signifikanter Unterschied auszumachen.

Auffällig war einzig eine erhöhte Signifikanz in der Gruppe der homozygoten T- Allelträger hinsichtlich einer positiven Familienanamnese. Von 14 Patienten mit dem Genotyp TT hatten 6 von ähnlichen Krankheitsbildern in der Familie zu berichten. Hieraus ergab sich ein p-Wert von 0,02 und war damit als signifikant zu betrachten.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p- Wert
Alter (Jahre)	67,5 ± 10,1	67,2 ± 11,2	68,2 ± 9,3	0,91
Männlich/ Weiblich	166/94	149/77	8/6	0,75
Body mass index (kg/m ²)	27,8 ± 4,6	27,4 ± 5,2	28,1 ± 5,2	0,45
Dringlichkeit der Operation				
Elektiv (n= 396)	211	175	10	0,9
Dringend (n=41)	21	18	2	0,7
Notfall (n=63)	28	33	2	0,5
Risikofaktoren				
Nikotinabusus	87	75	5	0,98
Arterieller Hypertonus	190	160	5	0,45
Hyperlipoproteinämie	124	110	7	0,96
Diabetes mellitus	78	70	6	0,59
Positive Familienanamnese	40	33	6	0,02
Ejektionsfraktion (%)	53 ± 14	52 ± 15	62 ± 10	0,07
Niereninsuffizienz	34	33	1	0,68
pAVK	18	16	1	0,99
Zerebrale Ereignisse	36	29	1	0,75
Pulmonaler Hypertonus	21	16	3	0,15
COPD	25	14	1	0,37
Operative Charakteristika				
HLM- Zeit (min)	95 ± 41	91 ± 35	104 ± 27	0,35
Kardiopulmonale Bypass- Zeit (min)	145 ± 8	140 ± 52	177 ± 68	0,07

Tabelle 6: Vergleich der demographischen und klinischen Daten

Die gesammelten Daten bezüglich der präoperativ eingenommenen Medikation wurden ebenfalls in die statistische Analyse mit einbezogen. Die relevanten Medikamente sind in Tabelle 7 zu sehen. Hinsichtlich eines signifikant erhöhten Verbrauchs dieser Medikamente innerhalb einer oder mehrerer der drei Genotyp- Gruppen ließ sich kein Unterschied feststellen.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p-Wert
β-Blocker	168 (65%)	139 (61%)	9 (64%)	0,77
ACE- Hemmer	135 (52%)	118 (52%)	10 (71%)	0,35
Koronartherapeutika	50 (19%)	39 (17%)	4 (29%)	0,53
Antiarrhythmika	7 (3%)	11 (5%)	1 (7%)	0,37
Diuretika	104 (40%)	89 (39%)	6 (43%)	0,96
Statine	116 (45%)	115 (51%)	7 (50%)	0,37
Antidiabetika	46 (18%)	45 (20%)	3 (21%)	0,79
Antihypertensiva	53 (20%)	56 (25%)	2 (14%)	0,39
Bronchodilatatoren	7 (3%)	8 (4%)	0 (0%)	0,68
Antikoagulanzen	169 (65%)	160 (71%)	8 (57%)	0,28

Tabelle 7: Präoperative Medikation

3.3 Pulmonale Parameter

Im Hinblick auf die Entstehung und den Schweregrad eines Lungenversagens wurden die pulmonalen Parameter besonders sorgfältig untersucht. Neben dem arteriellen pH, dem Kohlenstoffdioxidpartialdruck (PaCO_2), dem Herzindex (CI) und dem pulmonalvaskulären Gefäßwiderstand (PVRI) waren die Werte, die für die Diagnosestellung eines ALI/ ARDS notwendig sind, von Bedeutung. Dazu zählten neben dem Oxygenierungsindex ($\text{PaO}_2/\text{F}_i\text{O}_2$), den pulmonalen Infiltraten und dem pulmonalkapillären Verschlussdruck (PCWP) auch der positiv-endexpiratorische Druck (PEEP) sowie der pulmonalarterielle Druck (PAP). Zusätzlich wurden noch die Werte des *Lung injury score* ermittelt.

Beim Betrachten des $\text{PaO}_2/\text{F}_i\text{O}_2$ waren erniedrigte Werte im Vergleich zu den Normalwerten an gesunden Probanden auffällig. Während

sich bei Gesunden Werte des $\text{PaO}_2/\text{F}_1\text{O}_2$ von bis zu 550 mmHg finden, konnte in der Gruppe der homozygoten G- Allelträger ein Quotient von 256 ± 13 mmHg, in der Gruppe der heterozygoten G- und T- Allelträger 265 ± 16 mmHg und in der Gruppe der homozygoten T- Allelträger 231 ± 18 mmHg festgestellt werden. Diese Werte waren erniedrigt und gehörten laut Definition zu einem der vier Diagnosekriterien für ein akutes Lungenversagen ($\text{ALI} = \text{PaO}_2/\text{F}_1\text{O}_2 \leq 300$ mmHg). Da diese Werte aber zwischen den verschiedenen Genotypen annähernd identisch waren, lag der p- Wert erwartungsgemäß nicht unter 0,05 und war somit nicht signifikant. Ähnlich verhielt es sich mit den Werten des PEEP. Hier waren zwischen den Ergebnissen der einzelnen Gruppen kaum Unterschiede auszumachen (GG- Gruppe: 8 ± 3 mbar, GT- Gruppe: 7 ± 2 mbar, TT- Gruppe: 9 ± 3 mbar), weshalb auch hier der p- Wert mit 0,06 unterhalb des gewählten Signifikanzniveaus blieben.

Ein weiteres Diagnosekriterium eines akuten Lungenversagens war durch die Zahl der Infiltrate in den Lungen gegeben. Im Einzelnen waren in der GG- Gruppe $1,21 \pm 1$ Infiltrate vorhanden, in der GT- Gruppe $1,31 \pm 1$ und in der TT- Gruppe mit $1,86 \pm 1$ etwas mehr Infiltrate aufgetreten. Allerdings war auch dieser kleine Unterschied nicht über dem Signifikanzniveau. Der p-Wert entsprach hier nur 0,07.

Als drittes Kriterium wurde ebenfalls der pulmonalkapilläre Verschlussdruck (PCWP) in die Auswertung einbezogen. Dieser war in allen drei Gruppen unter dem Wert von 18 mmHg. Für die Diagnose eines ALI/ ARDS wäre allerdings ein Wert von über 18 mmHg notwendig gewesen. In der homozygoten GG- Gruppe betrug der PCWP 15 ± 4 mmHg, in der GT- Gruppe 14 ± 4 mmHg und in der homozygoten TT- Gruppe 15 ± 1 mmHg. Beim Betrachten aller relevanten pulmonalen Werte konnte festgestellt werden, dass hier kein Linksherzversagen als Ursache für ein Lungenversagen vorlag. Zwischen den drei Genotypen konnten keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden. Die hier beschriebenen Werte sind aus Tabelle 8 zu entnehmen.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p-Wert
P _a O ₂ /F _i O ₂	256 ± 13 (243 - 268)	265 ± 16 (251 - 279)	231 ± 18 (173 - 287)	0,31
PEEP (mbar)	8 ± 3	7 ± 2	9 ± 3	0,06
Infiltrate	1,24 ± 1	1,31 ± 1	1,86 ± 1	0,07
PCWP(mmHg)	15 ± 4 (14 - 17)	14 ± 4 (12 - 15)	15 ± 1 (13 - 16)	0,24
Arterieller pH	7,39 ± 0,47	7,39 ± 0,05	7,39 ± 0,05	0,59
Compliance (ml/mbar)	45 ± 20 (41 - 49)	46 ± 19 (42 - 50)	61 ± 37 (30 - 91)	0,38
Lung injury score	1,32 ± 1 (1,23 - 1,41)	1,28 ± 1 (1,18 - 1,38)	1,57 ± 1 (1,12 - 2,03)	0,37
PAP (mmHg)	26 ± 9 (24 - 29)	25 ± 4 (24 - 27)	22 ± 4 (15 - 29)	0,45
PVRI (dyn·s·1·m ² ·cm ⁻⁵)	201 ± 167 (115 - 252)	227 ± 157 (181 - 274)	110 ± 67 (51 - 216)	0,05

Tabelle 8: Pulmonale Parameter (Mittelwert ± Standardabweichung, in runden Klammern ± 95% Konfidenzintervall)

Wie bereits oben erwähnt wurden neben den vier für die Diagnosestellung notwendigen pulmonalen Parameter auch noch fünf weitere Messwerte berücksichtigt. Dazu zählte unter anderem der arteriell gemessene pH, der bei allen drei Gruppen bei 7,39 lag und mit einem p-Wert von 0,59 nicht signifikant war. Ähnlich verhielt es sich mit der Compliance in den einzelnen Gruppen. Auch hier war kein bedeutender Unterschied zwischen den drei Genotypen zu erkennen, was durch den p-Wert von 0,38 bestätigt wurde.

Hinsichtlich des *Lung injury score* waren die Werte in den drei Gruppen ähnlich verteilt (GG: 1,32 ± 1, GT: 1,28 ± 1, TT: 1,57 ± 1). Auch

hier erreichte der ermittelte p-Wert mit 0,37 nicht das Signifikanzniveau. Als vorletzter pulmonaler Parameter wurde der pulmonalarterielle Mitteldruck (PAP) auf Unterschiede zwischen den Genotypen untersucht. In allen drei Gruppen wurde der Normalwert von im Mittel 8- 19 mmHg überschritten. In der homozygoten G- Allelgruppe betrug der Wert 26 ± 9 mmHg, in der heterozygoten GT- Gruppe 25 ± 4 mmHg und in der homozygoten TT- Gruppe 22 ± 4 mmHg. Allerdings waren die Unterschiede zwischen den Gruppen nicht groß genug, so dass es hier ebenfalls zu keinem signifikanten Ergebnis kam. Der p-Wert betrug hier 0,45.

Der einzige Parameter, der hier das Signifikanzniveau erreichte, war der pulmonalvaskuläre Widerstand. In der GG- Gruppe betrug der Wert 201 ± 167 und in der GT- Gruppe 227 ± 157 . Ein deutlicher Unterschied bestand zu der TT-Gruppe, in der der Wert nur 110 ± 67 betrug. Dieser Unterschied schlug sich in dem ermittelten p- Wert nieder, der mit 0,05 signifikant war.

3.4 Perioperative Parameter

Bezogen auf die in den ersten 24 Stunden gemessenen hämodynamischen Werte, konnten bei Herzfrequenz, mittlerem arteriellem Druck (MAP), zentralem Venendruck (ZVD) sowie dem Herzindex (CI) keine bedeutenden Differenzen festgestellt werden. Die Werte in allen drei Genotyp- Gruppen entsprachen weitestgehend den Normalwerten. Ähnlich verhielt es sich mit den Werten des *Acute physiology and chronic health evaluation II score* (APACHE II) und des *Simplified acute physiology II score* (SAPS II). Bei den ermittelten Werten war keine signifikante Korrelation zwischen Genotyp und erreichter Punktzahl im jeweiligen Score zu erkennen.

Auffällig in diesem Bereich war allerdings der systemische Gefäßwiderstandsindex. In der GG- Gruppe betrug der Wert 991 ± 433 , in

der GT- Gruppe 966 ± 352 und in der TT- Gruppe 695 ± 87 . Diese Werte waren zum Teil im Normbereich, allerdings war der Unterschied zur TT- Gruppe signifikant groß, was sich auch durch den p- Wert bestätigen ließ. Dieser lag hier bei 0,05. Alle hier genannten Werte sind in Tabelle 9 nachzuvollziehen.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p- Wert
Herzfrequenz (bpm)	86 ± 2	87 ± 3	90 ± 3	0,09
MAP (mmHg)	80 ± 9	81 ± 8	80 ± 9	0,24
CVP (mmHg)	11 ± 3	11 ± 4	11 ± 2	0,84
CI (l/min/m ²)	3 ± 3	3 ± 1	3 ± 0	0,64
SVRI (dyn·s·1·m ² ·cm ⁻⁵)	991 ± 433	966 ± 352	695 ± 87	0,05
Scores				
APACHE II Score	15 ± 6	16 ± 7	16 ± 6	0,35
SAPS II Score	24 ± 7	25 ± 8	26 ± 6	0,13

Tabelle 9: Hämodynamische Parameter

In die statistische Auswertung einbezogen wurden ebenfalls die jeweils benötigten inotrop wirkenden Medikamente. Dazu gehörten unter anderem Epinephrin, Norepinephrin, Levosimendan, Enoximon sowie Dobutamin. In allen drei Genotyp- Gruppen konnten hinsichtlich der Menge dieser Medikamente keine Unterschiede festgestellt werden. Ähnlich verhielt es sich bei weiteren verabreichten Medikamenten wie z. B. Nitroglyzerin (NTG), Amiodaron, Vasopressin und Kortison. Zwischen den drei Allel- Gruppen konnten hier ebenfalls keine Differenzen beobachtet

werden. Alle hier beschriebenen Ergebnisse sind in Tabelle 10 dargestellt.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p-Wert
<i>Inotropika</i>				
Epinephrin (mg/d)	10,72 ± 128	1,37 ± 4,57	1,53 ± 2,5	0,86
Norepinephrin (mg/d)	3,14 ± 15,7	2,2 ± 10,3	0,6 ± 1,53	0,85
Levosimendan (mg/d)	0,09 ± 0,89	0	0	0,24
Enoximon (mg/d)	27 ± 195	13,9 ± 79	0	0,63
Dobutamin (mg/d)	10 ± 49	13 ± 65	11,7 ± 44,1	0,99
<i>Andere Medikamente</i>				
NTG (mg/d)	10 ± 25	11,5 ± 32	13,5 ± 22	0,69
Amiodaron (mg/d)	52 ± 233	79 ± 310	0	0,24
Kortison (mg/d)	36 ± 328	44 ± 273	0	0,33
Vasopressin (iU/d)	0,28 ± 3	0,36 ± 0,53	0	0,64

Tabelle 10: Verwendete Inotropika

3.5 Postoperative Parameter im Vergleich

Wie in Tabelle 11 zusammengestellt, waren bei den postoperativen Parametern im Hinblick auf Erythrozytentransfusionen, der Gabe von gefrorenen Frischplasmen, einer Resternotomie bei Nachblutung sowie der Gabe von Prothrombinkomplekonzentraten kein Zusammenhang zwischen den ermittelten Werten und dem jeweiligen Genotyp festzustellen. Vergleichbar waren ebenfalls die Werte bei Einsatz einer intraaortalen Ballonpumpe (IABP) sowie einer extrakorporalen Membranoxygenierung

(ECMO).

Bezogen auf das Auftreten eines perioperativen Herzinfarktes sowie einer postoperativen sternalen Wundinfektion war kein signifikanter Unterschied erkennbar. Die mittlere Aufenthaltsdauer auf einer der beiden Intensivstationen betrug in der homozygoten GG- Gruppe $6,8 \pm 11,8$ Tage, in der heterozygoten GT- Gruppe $8,3 \pm 14,6$ Tage und in der homozygoten TT-Gruppe $20,4 \pm 36,8$ Tage. Die mittlere Gesamtaufenthaltsdauer im Krankenhaus betrug in der GG- Gruppe 25 ± 20 Tage, in der GT- Gruppe 25 ± 19 Tage und in der TT-Gruppe 34 ± 37 Tage.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p- Wert
Erythrozytenkonzentrate (ml/d)	270 ± 728	243 ± 436	130 ± 265	0,50
Fresh frozen Plasma (ml/d)	110 ± 712	40 ± 203	0	0,67
Prothrombin- Komplex- Konzentrate (iU/d)	19 ± 190	0	0	0,25
Resternotomie bei Nachblutung	4	5	0	0,75
IABP	18	18	1	0,90
ECMO	1	0	0	0,63
Perioperativer Myokardinfarkt	0	3	0	0,16
Sternale Wundinfektion	0	2	0	0,29
Intensivstationaufenthalt(d)	$6,8 \pm 11,8$	$8,3 \pm 14,6$	$20,4 \pm 36,8$	
Krankenhausaufenthalt (d)	25 ± 20	25 ± 19	34 ± 37	

Tabelle 11: Postoperatives Outcome

3.6 Mortalität

Die Gesamtmortalität bezogen auf alle einbezogenen 500 Patienten betrug 8,2%. Verteilt auf die einzelnen Gruppen bedeutete dies in der GG-

Gruppe 24/260 (9,2%), in der GT- Gruppe 14/226 (6,2%) und in der TT- Gruppe 3/14 (21,4%).

Von den insgesamt 500 Patienten war bei 396 Patienten ein elektiver Eingriff durchgeführt worden, bei 41 eine dringende operative Intervention und bei 63 Patienten eine notfallmäßige Operation. Stellt man diese Ergebnisse in Zusammenhang mit den unterschiedlichen Genotypen, kann man aus Tabelle 12 entnehmen, dass bei den dringenden operativen Interventionen keine Unterschiede hinsichtlich der Mortalität zwischen den drei Gruppen bestehen (GG- Gruppe: 4/21 (19%), GT- Gruppe: 2/18 (11%), TT- Gruppe: 0/2). Daraus ergab sich ein p- Wert von 0,60 und somit keine Signifikanz. Ähnlich verhielt es sich bei den notfallmäßig durchgeführten Operationen im Bezug auf die Mortalität. In der GG- Gruppe betraf dies 6/28 Patienten (21%), in der GT- Gruppe 3/33 (9,1%) und in der TT- Gruppe 0/2. Der daraus ermittelte p- Wert betrug 0,32 und erreichte damit ebenso keine Signifikanz.

Variable	GG (n=260)	GT (n=226)	TT (n=14)	p- Wert
Gesamt (8,2 %) (n= 500)	24 (9,2%)	14 (6,2%)	3 (21,4 %)	0,09
Elektive Eingriffe (n= 396)	14/211 (6,6%)	9/175 (5,1%)	3/10 (30%)	0,008
Dringende Eingriffe (n= 41)	4/21 (19%)	2/18 (11%)	0/2	0,60
Notfälle (n= 63)	6/28 (21%)	3/33 (9.1%)	0/2	0,32

Tabelle 12: Mortalität

Anders verhielt es sich mit den elektiv geplanten Eingriffen. Von den insgesamt 396 Patienten, die sich einer elektiven Operation unterzogen, waren 10 homozygote Träger des T- Allels. Von diesen 10 starben 3 an Herz- Kreislaufversagen: entweder direkt während der Operation oder im Verlauf des weiteren postoperativen Aufenthalts auf einer der beiden

Intensivstationen. Mit einem p- Wert von 0,008 kann von einer signifikant erhöhten Korrelation zwischen Genotyp und einer elektiven Operation gesprochen werden.

In den beiden anderen Gruppen war keine erhöhte Signifikanz festzustellen. In der GG- Gruppe betrug die Mortalität nach elektiver Operation 6,6% (14/ 211 Patienten) und in der GT- Gruppe 5,1% (9/ 175 Patienten).

4 Diskussion

Ziel dieser Studie war es zu ermitteln, ob zwischen dem Polymorphismus eNOS 894 G/T und dem Auftreten eines Lungenversagens nach einer Operation mit Anschluss an eine Herz- Lungen- Maschine ein Zusammenhang besteht. Dazu wurden drei Gruppen mit jeweils unterschiedlichem Genotyp gebildet (eine Gruppe mit homozygoten G- Allelträgern, eine heterozygote GT- Gruppe und eine Gruppe mit homozygoten T- Allelträgern), wobei das Hauptaugenmerk auf der Gruppe der homozygoten T- Allelträger lag, da hier eine stärkere Ausprägung im Falle eines Zusammenhangs zwischen dem Eingriff und dem Auftreten eines Lungenversagens erwartet wurde.

In anderen Studien wurde bereits die Vermutung geäußert, dass T- Allelträger mit einem erhöhten Risiko für Herz- Kreislauferkrankungen belastet seien. Unter anderem gab es dazu 1998 eine Studie, in der nachgewiesen wurde, dass ein Austausch vom G- Allel zum T- Allel zu vermehrten koronaren Spasmen führen kann (Yoshimura et al., 1998). Dieses Erkenntnis wurde durch eine interventionelle Studie an 213 Patienten erlangt, von denen 113 der Patienten T- Allelträger für den Polymorphismus eNOS 894 G/T und 100 Patienten homozygot für das G- Allel waren. Nach intrakoronarer Injektion von Acetylcholin konnte gezeigt werden, dass die T- Allelträger im Gegensatz zu der Vergleichsgruppe mit den G- Allelträgern ein signifikant höheres Risiko für Koronarspasmen haben. In einer weiteren Studie wurde der Zusammenhang zwischen dem T- Allel und dem Risiko für das Auftreten eines Myokardinfarktes untersucht (Shimasaki et al., 1998). Es waren in dieser Studie 285 Patienten, die einen Myokardinfarkt erlitten hatten, mit einer Kontrollgruppe von 607 Patienten verglichen worden. Die Ergebnisse bewiesen auch hier einen

Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und dem Auftreten von Herz- Kreislauferkrankungen. Es konnte gezeigt werden, dass die T- Allelträger im Vergleich zu den G- Allelträgern ein 1,73 fach erhöhtes Risiko für Myokardinfarkte haben.

Hierdurch wurde für unsere Studie deutlich, dass beim Vorliegen eines homozygoten Genotyps mit schlechteren Ergebnissen bzw. einem vermehrten Risiko für das Auftreten eines Lungenversagens zu rechnen war. Die Ergebnisse unserer Studie zeigten, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus 894 G/T und dem Auftreten eines Lungenversagens bestand. Allerdings konnte eine Assoziation des Polymorphismus mit einer erhöhten Mortalität bewiesen werden. In der Gruppe der homozygoten T- Allelträger war eine signifikant erhöhte Sterblichkeit nach elektiven Eingriffen aufgetreten.

Bereits in früheren Studien wurde der Einfluss des Stickstoffmonoxid auf die Endothelfunktionen nachgewiesen. Eine Störung im endothelialen NO-System kann wie bereits genannt weitreichende Folgen für den gesamten Organismus haben und das endotheliale System nachhaltig schädigen (Moncada und Higgs, 1993). Unter anderem zählt dazu bei zu niedrigen NO- Konzentrationen die fehlende protektive Wirkung bei der Entstehung von Atherosklerose. Aber nicht nur die Entstehung verschiedenster Krankheiten wird durch eine Störung im NO-System begünstigt. Vielmehr kann es ebenso intravaskulär zu einer Thrombenbildung kommen, die zu Thrombosen oder Embolien führen kann und dadurch letztlich lebensbedrohliche Situationen hervorgerufen werden können.

Bisher wurden in der Literatur zwei verschiedene genetische Varianten für die endotheliale NO-Synthase diskutiert. Dazu zählt einmal der eNOS Polymorphismus 786T/C und der eNOS Polymorphismus 894 G/T. Der für diese Studie ausgewählte Polymorphismus eNOS 894 G/T war dabei mit einer einer verminderten eNOS- Enzymaktivität assoziiert (Wang

XL et al., 2000). Anhand dieser Ergebnisse wurde in einer weiteren Studie nachgewiesen, dass dieser Polymorphismus auch mit einer erniedrigten basalen NO- Konzentration assoziiert ist (Veldman et al., 2002). Hier wurde 41 gesunden Patienten der NOS- Inhibitor L- NMMA injiziert. Nach der genetischen Analyse wurden dann die verschiedenen Gruppen der Genotypen miteinander verglichen, woraus sich ergab, dass die T- Allelträger dieses Polymorphismus eine geringere Antwort auf die Injektion lieferten. Daraus ließ sich schließen, dass hier eine weniger NO- Synthesen aktiv waren und damit auch eine verminderte basale NO- Konzentration vorliegen musste.

Für die homozygote Ausprägung (TT- Allele) dieses Polymorphismus konnte bisher nachgewiesen werden, dass eben diese genetische Variante die Ansprechbarkeit auf eine alpha- adrenerge Stimulation entscheidend beeinflussen kann (Philip et al., 1999). Hier wurden 68 Patienten mit dem Polymorphismus 894 G/T untersucht, die sich einer Bypass- oder Herzklappenoperation unterziehen mussten. Aus den Ergebnissen wurde deutlich, dass die T- Allelträger des Polymorphismus eNOS 894 G/T eine höhere Ansprechbarkeit auf eine α - adrenerge Stimulation bei hämodynamischer Verschlechterung aufwiesen, als die Patienten in der Kontrollgruppe.

Insgesamt gibt es, wie bereits genannt, wesentlich mehr Studien, die sich mit diesem Polymorphismus und dem kardiovaskulären System befassen, als solche, bei denen die Lungen und mögliche Einflüsse des Polymorphismus auf das gesamte pulmonale System im Mittelpunkt stehen. Bisher konnte in diesem Bereich erforscht werden, dass der Polymorphismus eNOS 894 G/T einen Einfluss auf die Lungenfunktion bei Patienten mit α_1 - Antitrypsinmangel ausübt (Novoradovsky et al., 1999). Hier wurden insgesamt 345 Patienten mit eben diesem Polymorphismus und einem α_1 - Antitrypsinmangel in verschiedene Gruppen hinsichtlich ihrer Lungenfunktion und der Schwere der Erkrankung eingeteilt und anschließend mit einer Kontrollgruppe von 93 asymptomatischen Patienten im Alter zwischen 18 und 55 Jahren verglichen. Die hierbei angewendeten

Methoden zur Identifizierung der jeweiligen Genotypen waren mit denen unserer Studie im Wesentlichen vergleichbar. Dabei ergab sich, dass in der Gruppe der schwer an dem α_1 - Antitrypsinmangel Erkrankten auch eine hohe Anzahl an Trägern des Polymorphismus 894 G/T vertreten war. Dies war ein Hinweis darauf, dass diese genetische Variante einen entscheidenden Einfluss auf den Ausprägungsgrad der Erkrankung mit α_1 -Antitrypsinmangel hat.

Eine weitere Studie beschäftigte sich ebenfalls mit diesem Polymorphismus und einer anderen Erkrankung. Hierbei wurden 70, nicht miteinander verwandte Patienten im Alter zwischen 4 und 40 Jahren untersucht, die den Polymorphismus 894 G/T aufwiesen und an cystischer Fibrose erkrankt waren (Grasemann et al., 2003). Auffällig war ein Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Patienten. Bei den weiblichen T- Allelträgerinnen wurden im Gegensatz zu den Patientinnen mit dem Wildtyp erhöhte NO- Konzentrationen in der Ausatemluft gemessen. Des Weiteren ergab sich aus den Messungen, dass diese Patientinnen wesentlich seltener von dem Keim *Pseudomonas aeruginosa* befallen waren als die Patienten, die das G- Allel trugen. Dies ließ die Schlussfolgerung zu, dass dieser Polymorphismus, bzw. das T- Allel einen Einfluss auf die NO- Konzentration bei Patienten mit cystischer Fibrose in den Atemwegen hat.

4.1 Lungenversagen

Primär wurde aus den Ergebnissen dieser Studie deutlich, dass zwischen den drei verschiedenen Genotyp- Gruppen (GG, GT, TT) im Hinblick auf ein Lungenversagen kein Unterschied auszumachen war. In allen drei Gruppen erlitten Patienten ein Lungenversagen, allerdings war kein einzelner Genotyp signifikant mehr betroffen als die anderen Genotypen.

In dieser Studie waren bei allen drei Gruppen die Kriterien für ein ALI erfüllt. Die jeweiligen Ergebnisse des Oxygenierungsindex $\text{PaO}_2/\text{F}_i\text{O}_2$, die Anzahl der bilateralen Infiltrate im ap- Röntgenbild sowie die Werte für den PCWP waren insgesamt im Bereich der für die Definition eines akuten Lungenversagens notwendigen Werte. In der Gruppe der homozygoten T-Allelträger waren diese Werte zwar tendenziell schlechter als in den beiden anderen Gruppen, allerdings nicht oberhalb des Signifikanzniveaus. Ein signifikantes Ergebnis trat allerdings bei Betrachten des pulmonalvaskulären Widerstands auf. Hier waren die Werte innerhalb der TT- Gruppe nach der Operation mit der Herz- Lungen- Maschine deutlich erniedrigt und unterschieden sich damit von den Werten der beiden anderen Gruppen.

Erklärbar sind diese Ergebnisse unter anderem damit, dass bei hämodynamischer Verschlechterung der Patienten eine sofortige medikamentöse Therapie durch das zuständige Personal der Intensivstation eingeleitet wurde, die sich an hämodynamischen Parametern wie dem pulmonalen und systemischen Widerstand sowie dem Herzzeitvolumen orientierte und eine Normalisierung dieser Werte als primäres Behandlungsziel hatte. Dies könnte erklären warum die Schwere des ALI in alle drei Patientengruppen gleich war und damit ein größerer Schaden bzw. die Entwicklung in Richtung eines ARDS verhindert werden konnte.

Bisher konnte nachgewiesen werden, dass Eingriffe wie z. B. eine Bypass- Operation deutlichen Einfluss auf die Lungenfunktion haben und eine enorme Belastung für den gesamten Organismus darstellen (Ando et al., 2008). Dies betrifft besonders junge Patienten. Dabei kann eine solche Operation bei bereits vorerkrankten Patienten oder bei ungünstigen Verläufen ein Lungenversagen (ALI) verursachen, welches sich dann in einigen Fällen auch zu der schwereren Form (ARDS) entwickeln kann. Demnach ergab sich die Frage, ob das entwickelte Lungenversagen aufgrund der belastenden Operation und eventuell vorher bestehender Risikofaktoren entstand oder vielmehr der Polymorphismus einen Einfluss auf die Entstehung des Lungenversagens hatte. Beim Betrachten der

individuellen Risikofaktoren wurde jedoch deutlich, dass auch hier zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede vorhanden waren. Einzig eine positive Familienanamnese war in der homozygoten Gruppe häufiger aufgetreten. Dennoch muss man sagen, dass die gewählten Risikofaktoren nicht nur auf das Lungensystem bezogen sondern allgemeiner gefasst waren. Hier wären spezifischere Risikofaktoren vielleicht aussagekräftiger gewesen.

Somit war insgesamt kein direkter Einfluss des Polymorphismus auf ein Lungenversagen erkennbar.

4.2 Mortalität

Die berechneten Werte ergaben deutliche Unterschiede hinsichtlich der postoperativen Mortalität. Hier gab es eine 30%- ige Mortalität in der Gruppe der homozygoten T- Allelträger nach elektiv durchgeführten Eingriffen am offenen Herzen. Innerhalb der beiden anderen Gruppen (GG und GT) lag die Mortalität bei nur 6,6% bzw. 5,1%.

Dementsprechend lässt sich sagen, dass ein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus eNOS 894 G/T und der postoperativen Mortalitätsrate besteht. Insgesamt waren nicht mehr Patienten verstorben als erwartet. Allerdings konnte in einer anderen Studie ermittelt werden, dass die postoperative Sterblichkeit entscheidend von dem jeweiligen Krankenhaus und dessen postoperativer Versorgung abhängt (Osswald et al., 1999). Es wurden im Rahmen dieser Studie insgesamt 4985 Patienten im Zeitraum von 1988 bis 1997 untersucht, die aufgrund ihrer Symptomatik eine Bypass- Operation benötigten. Hier wurde die Vermutung geäußert, dass im Allgemeinen die frühe postoperative Mortalitätsrate eher zu niedrig angegeben wird und die Aussagekraft der 30- Tage- Mortalität geprüft. In dieser Studie lag die mittlere Aufenthaltsdauer im Krankenhaus bei $13,5 \pm 9,6$ Tagen und die 30- Tage- Mortalität bei 5,6%. Die gesamte

Mortalitätsrate lag hier bei 5,3%. Dieses Ergebnis war somit mit der Sterblichkeit in unserer Studie vergleichbar. Allerdings trat bei elektiv durchgeführten Operationen in der Gruppe der homozygoten T- Allelträger eine erhöhte Sterblichkeit auf. Von insgesamt 10 homozygoten Patienten starben 3 nach einem elektiven Eingriff, woraus sich die Mortalitätsrate von 30% ergab. Dies erscheint im ersten Moment viel, ist aber aufgrund der kleinen Anzahl der homozygoten Genotypen zu relativieren. Um einen definitiven Zusammenhang feststellen zu können, müsste man dieselbe Untersuchung noch einmal mit einer größeren Anzahl dieser homozygoten Genotypen durchführen. Dennoch scheint der Polymorphismus 894 G/T einen Einfluss auf die Mortalität zu haben.

In den beiden anderen Genotyp- Gruppen konnte im Hinblick auf die Mortalität nach elektiven Eingriffen kein signifikantes Ergebnis beobachtet werden. Im Gegensatz dazu war die Zahl der verstorbenen Patienten bei dringend oder notfallmäßig durchgeführten Eingriffen in allen drei Gruppen erhöht. Dies ist jedoch nicht verwunderlich, da schon immer notfallmäßig durchgeführte Operationen mit einer erhöhten Sterblichkeitsrate verbunden waren (Ferrari et al., 2008). In dieser Studie waren 290 Patienten untersucht worden, von denen sich 25 Patienten (8,6%) aufgrund eines akuten Koronarsyndroms oder einer instabilen Angina pectoris in einem lebensbedrohlichen Zustand befanden und dementsprechend in eine Hochrisikogruppe eingeteilt wurden. Nach der Bypass- Operation mit Einsatz der Herz- Lungen- Maschine wurden die Patienten überwacht und im Hinblick auf ihr postoperatives Outcome untersucht. Auffällig war eine im Gegensatz zu den Vergleichsgruppen erhöhte postoperative Mortalität in eben dieser Hochrisikogruppe mit notfallmäßig durchgeführtem Eingriff.

Bereits in früheren Studien war bei herzchirurgischen Eingriffen ein Zusammenhang zwischen einer verlängerten Aortenklemmzeit, der Dauer der gesamten Operation und einer damit verbundenen höheren Mortalität entdeckt worden (Doenst et al., 2008). In dieser Studie wurden über den Zeitraum von 1990 bis 2003 insgesamt 27215 Patienten untersucht, die eine

herzchirurgische Operation mit einem Abklemmen der Aorta erhielten. Patienten mit extrem langen Aortenklemmzeiten ($> 120\text{min}$) wurden ausgeschlossen, um den Einfluss von intraoperativen Schwierigkeiten und einer daraus resultierenden Verlängerung der Aortenklemmzeit zu minimieren. Die Ergebnisse zeigten, dass die Aortenklemmzeit durchaus eine vorhersehbare Einflussgröße auf die Mortalität bei Patienten mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion von $>40\%$ darstellt. In unserer Studie waren allerdings keine Abhängigkeit zwischen einer verlängerter Aortenklemmzeit und dem jeweiligen Genotyp festzustellen. In der Gruppe der homozygoten T- Allelträger waren die Gesamtdauer der Operationen sowie die Aortenklemmzeiten nicht signifikant länger als in den anderen beiden Gruppen.

4.3 Erklärungen zur Abweichung vom HWG

Wie bereits genannt entsprach die Genotypenverteilung dieser Studie nicht den erwarteten Werten, welche unter HWG gelten. Dies kann verschiedene Ursachen haben.

Zuvor muss man jedoch einige Limitierungen des HWG beachten, die durchaus auch Einfluss auf die Ergebnisse dieser Studie haben können. Hierbei spielen die Kennzeichen einer idealen Population eine große Rolle. Bei einer sehr großen Individuenzahl verändert der zufällige Verlust eines Individuums oder ein Gendrift praktisch nicht die Häufigkeit der Allele. Bei einer sehr kleinen Population würde ein solcher Verlust oder Gendrift jedoch eine große Auswirkung haben. Zudem finden bei einer idealen Population keine Mutationen sowie keine Ab- oder Zuwanderung statt, die die einen Einfluss auf die Allelfrequenz haben könnten. Ebenso gibt es bei einer idealen Population keine Selektion. Das bedeutet, dass es weder Vor- noch Nachteile für Träger bestimmter Gene gibt. So gesehen ist die ideale Population ein theoretisches Konstrukt. In der Realität wird mindestens eine

dieser Bedingungen nicht erfüllt, da fast alle dieser Bedingungen Evolutionsfaktoren darstellen.

Bezogen auf diese Studie muss man also einen Einfluss von Selektion in Betracht ziehen, da ja das Kollektiv an Patienten aufgrund spezieller Faktoren ausgewählt worden ist. Fast alle eingeschlossenen Patienten waren an einer koronaren Herzkrankheit erkrankt und mussten sich deswegen einer operativen Therapie unterziehen. Dementsprechend muss man sagen, dass eine Selektion der teilnehmenden Probanden stattgefunden hat und somit eine Auswirkung auf die Verteilung der Genotypen nicht auszuschließen ist.

Abgesehen davon gibt es jedoch noch weitere Umstände, die zu berücksichtigen sind. Zunächst einmal muss man die Möglichkeit des Zufalls heranziehen. Danach würde sich die Diskrepanz zwischen den Werten alleine durch eine zufällig andere Verteilung erklären. Diese Möglichkeit würde sich schwer weder bestätigen noch ausschließen lassen, da man bei derartigen Berechnungen immer die zufällige Beeinflussung als eine mögliche Erklärung heranziehen muss. Die Probanden dieser Studie wurden zufällig ausgewählt und unterlagen keiner Vorselektion nach z.B. Geschlecht oder Herkunft. Demnach sollte man als mögliche Erklärung für das Abweichen vom Hardy-Weinberg-Gesetz eine zufällige Verteilung heranziehen.

Eine andere Erklärung für das Abweichen der Werte würde ein Fehler im Genotypisierungsverfahren abgeben. Hierbei müsste ein systematischer Fehler in der Aufarbeitung der Proben bzw. im eigentlichen PCR-Verfahren vorgelegen haben. Nach Prüfung des Verfahrens lässt sich allerdings ein systematischer Fehler als Erklärung ausschließen, da in den verschiedenen Untersuchungen keine durchgängige Fehlberechnung zu finden war. Dennoch lassen sich kleinere Fehler im Ablauf und der Durchführung der verschiedenen Untersuchungen nicht völlig ausschließen und demnach sollte man auch dieses als mögliche Erklärung für das Abweichen der Genotypverteilung gelten lassen.

Des Weiteren muss man einen anderen Punkt mit in die Überlegungen einbeziehen. Da es sich bei dem Patientenkollektiv um Personen aus dem Raum Göttingen und aus der weiteren Umgebung handelt und sich in dieser Gegend durch die große Universität nicht nur Personen kaukasischen Ursprungs aufhalten, muss ebenfalls beachtet werden, dass eventuell auch Nicht- Kaukasier in der Studienpopulation enthalten sein können, die letztlich eine Änderung der Genotypverteilung bewirkt haben könnten. Die Werte dieser Studie (G 74,6%) entsprechen bei einem Vergleich tendenziell eher den Werten für Asiaten (G ~80%) oder Afrikaner (G ~90%). Dies könnte also eine Erklärung für das Abweichen der Verteilung darstellen. Bei der Überprüfung der Studienteilnehmer konnte diese Möglichkeit jedoch weitgehend ausgeschlossen werden, allerdings konnte ein eventueller Einfluss auf die Verteilung der Genotyphäufigkeit durch nicht- kaukasische Vorfahren dabei nicht beurteilt werden. Demnach müsste man bei allen eingeschlossenen 500 Patienten eine Untersuchung der Familien und Vorfahren durchführen, um jegliche Einflüsse durch ausländische bzw. nicht- kaukasische Vorfahren ausschliessen zu können.

Eine weitere Möglichkeit wäre ein Nichterfüllen der Voraussetzungen für das HWG durch zum Beispiel den Einfluss von Inzucht im Raum Göttingen. Bei der Berechnung des Einflusses durch Inzucht konnte aber schnell festgestellt werden, dass diese Situation hier keine Rolle spielt, da die Voraussetzungen dafür nicht erfüllt sind.

Abschließend bleibt zu sagen, dass es verschiedene Ursachen geben kann, die zum signifikanten Abweichen der Genotypverteilung geführt haben können. Was letztlich ursächlich für diese Situation ist, bleibt schwer nachzuweisen.

4.4 Einschränkungen der Studie

Insgesamt unterlag die Studie einigen Einschränkungen. Zum einen war die Anzahl der Patienten innerhalb der homozygoten Gruppe sehr klein.

Hier waren von den insgesamt 500 prospektiv einbezogenen Studienteilnehmern nur 14 Patienten homozygote Träger des T- Allels. Diese Anzahl war zu klein, um eine repräsentative Aussage treffen zu können. Demnach wäre zu empfehlen, die Untersuchung nochmal mit einer größeren Gruppe an homozygoten T- Allelträgern durchzuführen und das Ergebnis dann mit unseren Ergebnissen zu vergleichen, um eventuell auftretende Unterschiede oder Parallelen beschreiben zu können.

Des Weiteren war die Gesamtzahl der einbezogenen Patienten auf 500 limitiert. Im Vergleich zu anderen Studien ist das eine relativ kleine Zahl. Allerdings waren hier Patienten, die sich einem herzchirurgischen Eingriff unterziehen mussten, von Bedeutung und nicht Patienten mit allgemeinen kardialen Erkrankungen. Studien, die sich mit kardialen Erkrankungen beschäftigen, beziehen meist ein größeres Patientenkollektiv ein, da innerhalb der Bevölkerung eine wesentlich größere Anzahl von Menschen mit kardialen Erkrankungen vorhanden ist, als Patienten, die einen herzchirurgischen Eingriff benötigen.

Eine vor der Studie durchgeführte statistische Poweranalyse ergab, dass die Anzahl von 500 Patienten ausreichen würde, um Unterschiede in der Schwere des Lungenversagens zwischen den Genotypen zu finden. Hier waren jedoch keine signifikanten Ergebnisse erzielt worden. Die Poweranalyse wurde primär nicht durchgeführt, um Unterschiede in der Mortalität zwischen den Genotypen nachzuweisen. Um genauere Angaben bezüglich der Mortalität machen zu können, müsste eine prospektive Studie mit bis zu 2000 Patienten durchgeführt werden.

Ein weiterer Schwachpunkt in dieser Studie war die Einteilung der einzelnen Dringlichkeitsstufen. Zwar wurde zwischen elektivem Eingriff, dringend notwendiger Intervention und einem Notfall unterschieden, allerdings kamen hier assoziierte operative Probleme wie z. B. eine intraoperativ aufgetretene Asystolie, eine notwendige Defibrillation oder eine Reanimation nicht zur Geltung.

Neben dem in dieser Studie untersuchtem Polymorphismus konnte bereits ein weiterer Polymorphismus auf diesem Gen in derselben Region entdeckt werden. Dieser ist an der Position 768 in der Umgebung der 5' Region lokalisiert (Nakayama et al., 1999). Ein Einfluss dieses Polymorphismus auf die gesamten Ergebnisse ist deshalb nicht auszuschließen und eine vergleichende Studie wäre somit empfehlenswert.

Durch das Abweichen vom Hardy-Weinberg-Gesetz ergibt sich eine weitere Einschränkung der Studie. Da die Genotypverteilung dieser 500 Probanden nicht der erwarteten Verteilung unter HWG entspricht, können die Ergebnisse nicht unmittelbar auf eine Normalbevölkerung übertragen werden. Da jedoch letztlich schwer zu klären sein wird, warum es zu einer solchen Genotypverteilung gekommen ist, müsste man noch einmal alle möglichen Fehlerquellen eruieren und anschließend mögliche Ursachen für die Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gesetz beseitigen. Zudem gilt Hardy-Weinberg-Gesetz strenggenommen nur für Populationen unbegrenzter Größe in denen keine Selektion wirkt. Dies ist für das Probandenkollektiv aber nicht zutreffend. Dieser Zustand kann letztlich für Abweichungen sorgen.

5 Zusammenfassung

Viele Funktionen im menschlichen Körper stehen in entscheidendem Zusammenhang mit dem Stickstoffmonoxid- System. NO reguliert über komplexe Wege die Relaxation glatter Gefäßmuskelzellen in arteriellen sowie venösen Gefäßen im gesamten Körper. Des Weiteren nimmt es eine gefäßprotektive Funktion ein und kann somit beispielsweise einer Thrombosebildung entgegenwirken. Es konnte bisher nachgewiesen werden, dass Veränderungen in der NO- Konzentration die Entstehung einiger Krankheiten, im Besonderen kardiovaskuläre Erkrankungen, beeinflussen. So konnte unter anderem eine Beziehung zwischen Stickstoffmonoxid und der Pathogenese der Atherosklerose hergestellt werden. Aber die vielfältigen Funktionen des NO sind nicht nur auf das kardiovaskuläre System beschränkt. Speziell in der Lunge hat NO ähnlich relaxierende Wirkungen auf die Gefäßmuskelzellen, allerdings erst in wesentlich höheren Konzentrationen.

In früheren Studien wurde bereits der Polymorphismus eNOS 894 G/T untersucht. Hier konnte festgestellt werden, dass diese genetische Variante einen entscheidenden Einfluss auf das NO- System hat. Beim Vorliegen dieses Polymorphismus war eine verminderte NOS- Enzymaktivität und daraus resultierend eine erniedrigte basale NO- Konzentration nachgewiesen worden. Diese Veränderungen im NO- System können den gesamten Organismus demnach beeinflussen und die Entstehung bestimmter Erkrankungen fördern.

Ziel dieser Studie war es, den Einfluss des Polymorphismus eNOS 894 G/T auf das Auftreten bzw. den Schweregrad eines Lungenversagens nach einer Operation mit Anschluss an die Herz- Lungen- Maschine zu untersuchen. Dazu wurden insgesamt 500 Patienten in die Studie einbezogen und nach ihrem herzchirurgischen Eingriff auf einer der beiden

Intensivstationen der Universitätsklinik Göttingen im Hinblick auf ein Lungenversagen überwacht. Zusätzlich wurde der jeweilige Genotyp jedes Patienten bestimmt. Die Ergebnisse zeigten deutlich, dass kein direkter Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus 894 G/T und dem Auftreten eines Lungenversagens besteht. Zwar erlitten fast alle Patienten ein mehr oder weniger stark ausgeprägtes Lungenversagen, allerdings hatte der jeweilige Genotyp keinen Einfluss auf das Ergebnis. Keine der drei Genotypgruppen erzielte ein gegenüber den anderen Gruppen signifikantes Ergebnis. Im Bezug auf die postoperative Mortalität war jedoch ein Zusammenhang zu erkennen. Patienten, die homozygote Träger des T-Allels waren, unterlagen einer 30%igen Mortalität nach elektiven Eingriffen. Diese Mortalitätsrate war im Gegensatz zu den anderen Gruppen signifikant erhöht.

Diese Ergebnisse sind allerdings mit einigen Einschränkungen besetzt. Da die Patienten bei pulmonaler Verschlechterung sofort therapiert wurden, bleibt ein möglicher Zusammenhang zwischen dem untersuchten Polymorphismus und dem Auftreten eines Lungenversagens noch offen. Des Weiteren kann auch ein direkter Einfluss eines benachbarten Polymorphismus nicht völlig ausgeschlossen werden. Es bleibt also weiteren Studien überlassen, dies noch einmal genauer zu prüfen.

6 Literaturverzeichnis

Adrie C, Pinsky MR (2000): The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med* 26(4), 364- 75.

Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG (2001): Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 357(Pt 3), 593-615.

Ando M, Murai T, Takahashi Y (2008): The effect of sivelestat sodium on post-cardiopulmonary bypass acute lung injury in a neonatal piglet model. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 7(5), 785- 8.

Asano K, Chee CB, Gaston B, Lilly CM, Gerard C, Drazen JM, Stamler JS (1994): Constitutive and inducible nitric oxide synthase gene expression, regulation, and activity in human lung epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(21), 10089-93.

Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE (1967): Acute respiratory distress in adults. *Lancet* 1967, 2, 319- 23.

Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R (1994): The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 149(3 Pt 1), 818- 24.

Bland JM, Altman DG (1986): Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986, 2, 307- 10.

Doenst T, Borger MA, Wiesel RD, Yau TM, Maganti M, Rao V (2008): Relation between aortic cross- clamp time and mortality- not as straightforward as expected. *Eur J Cardiothorac Surg* 33(4), 660-5.

Ferrari E, Stalder N, von Segesser LK (2008): On-pump beating heart coronary surgery for high risk patients requiring emergency multiple coronary artery bypass grafting. *J Cardiothorac Surg* 3, 38.

Fischer UM, Schindler R, Brixius K, Mehlhorn U, Bloch W (2007): Extracorporeal circulation activates endothelial nitric oxide synthase in erythrocytes. *Ann Thorac Surg* 84, 2000- 3.

Förstermann U (1994): Biochemistry and molecular biology of nitric oxide synthases. *Arzneimittelforschung* 44(3A), 402- 7.

Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Starke K: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 8. Ausgabe, Urban& Fischer, München 2001, S. 230- 5.

Furchgott RF, Zawadski JV (1980): The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288(5789), 373- 6.

Gadek JE, Pacht ER (1996): The interdependence of lung antioxidants and antiprotease defense in ARDS. *Chest* 110(6 Suppl), 273- 7.

Govers R, Rabelink TJ (2001): Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol* 280(2), F193- 206.

Grasemann H, Storm van's Gravesande K, Buscher R, Knauer N, Silverman ES, Palmer LJ, Drazen JM, Ratjen F (2003): Endothelial nitric oxide synthase variants in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 167(3), 390- 4.

Groves JT, Wang CC (2000): Nitric oxide synthase: models and mechanisms. *Curr Opin Chem Biol* 4(6), 687- 95.

Guzik TJ, Korbust R, Adamek-Guzik T (2003): Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol* 54(4), 469- 87.

Hill GE (1998): Cardiopulmonary bypass-induced inflammation: is it important? *J Cardiothorac Vasc Anaesth* 12, 21- 25.

Kharitonov SA, Barnes PJ (2002): Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. *Biomarkers* 7(1), 1- 32.

Kiiski R, Takala J, Kari A, Milic- Emili J (1992): Effect of tidal volume on gas exchange and oxygen transport in the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 146, 1131- 5.

Kleinert H, Wallerath T, Euchenhofer C, Ihrig- Biedert I, Li H, Förstermann U (1998): Estrogens increase transcription of the human endothelial NO synthase gene: analysis of the transcription factors involved. *Hypertension* 31(2), 582- 8.

Lindberg S, Cervin A, Runer T (1997): Low levels of nasal nitric oxide (NO) correlate to impaired mucociliary function in the upper airways. *Acta Otolaryngol* 117(5), 728- 34.

McQuillan LP, Leung GK, Marsden PA, Kostyk SK, Kourembanas S (1994): Hypoxia inhibits expression of eNOS via transcriptional and posttranscriptional mechanisms. *Am J Physiol* 267(5 Pt 2), H1921- 7.

Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM, Tsui LC, Schappert KT (1993): Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 268(23), 17478- 88.

Michel JB, Feron O, Sacks D, Michel T (1997): Reciprocal regulation of endothelial nitric-oxide synthase by Ca^{2+} - calmodulin and caveolin. *J Biol Chem* 272(25), 15583- 6.

Michell BJ, Chen Z, Tiganis T, Stapleton D, Katsis F, Power DA, Sim AT, Kemp BE (2001): Coordinated control of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by protein kinase C and the cAMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 276(21), 17625- 8.

Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, Kamitani S, Harada M, Ishikawa M, Kuwahara K, Ogawa E, Hamanaka I, Takahashi N, Kaneshige T, Teraoka H, Akamizu T, Azuma N, Yoshimasa Y, Yoshimasa T, Itoh H, Masuda I, Yasue H, Nakao K (1998): Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 32, 3- 8.

Moncada S, Higgs A (1993): The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329(27), 2002- 12.

Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR (1988): An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 138, 720- 23.

Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H, Motoyama T, Saito Y, Ogawa Y, Miyamoto Y, Nakao K (1999): T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation* 99, 2864- 70.

Nathan C, Xie QW (1994): Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 269(19), 13725- 8.

Novoradovsky A, Brantly ML, Waclawiw MA, Chaudhary PP, Ihara H, Qi L, Eissa NT, Barnes PM, Gabriele KM, Ehrmantraut ME, Rogliani P, Moss J (1999): Endothelial nitric oxide synthase as a potential susceptibility gene in the pathogenesis of emphysema in alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20(3), 441- 7.

Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N, Brovkovich V, Malinski T, Lüscher TF (1998): Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis. *Circulation* 97(25), 2494- 8.

Osswald BR, Blackstone EH, Tochtermann U, Thomas G, Vahl CF, Hagl S (1999): The meaning of early mortality after CABG. *Eur J Cardiothorac Surg* 15(4), 401- 7.

Palmer RM, Ferrige AJ, Moncada S (1987): Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327(6122), 524- 6.

Philip I, Plantefevre G, Vuillaumier-Barrot S, Vicaut E, LeMarie C, Henrion D, Poirier O, Levy BI, Desmonts JM, Durand G, Benessiano J (1999): G894T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an enhanced vascular responsiveness to phenylephrine. *Circulation* 99(24), 3096- 8.

Ruvolo G, Greco E, Speziale G, Tritapepe L, Marino B, Mollace V, Nisticò G (1994): Nitric oxide formation during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 57, 1055- 57.

Sanna A, Kurtansky A, Veriter C, Stanescu D (1994): Bronchodilator effect of inhaled nitric oxide in healthy men. *Am J Respir Crit Care Med* 150(6 Pt 1), 1702- 4.

Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH (1994): Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res* 74(2), 349-53.

Shimasaki Y, Yasue H, Yoshimura M, Nakayama M, Kugiyama K, Ogawa H, Harada E, Masuda T, Koyama W, Saito Y, Miyamoto Y, Ogawa Y, Nakao K (1998): Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 31, 1506- 10.

Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J (2000): Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 2832- 35.

Veldman BA, Spiering W, Doevendans PA, Vervoort G, Kroon AA, de Leeuw PW, Smits P (2002): The Glu298Asp polymorphism of the NOS 3 gene as a determinant of the baseline production of nitric oxide. *Hypertension* 20, 2023- 27.

Villar J, Blazquez MA, Lubillo S, Quintana J, Manzano JL (1989): Pulmonary hypertension in acute respiratory failure. *Crit Care Med* 17(6), 523- 6.

Wang T, El Kebir D, Blaise G (2003): Inhaled nitric oxide in 2003: a review of its mechanisms of action. *Can J Anaesth* 50, 791- 5.

Wang XL, Sim AS, Wang MX, Murrell GA, Trudinger B, Wang J (2000): Genotype dependent and cigarette specific effects on endothelial nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *FEBS Lett* 471, 45- 50.

Ware LB, Matthay MA (2000): The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342(18), 1334- 49.

Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA (2001): Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 22(7), 361-8.

Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, Kugiyama K, Ogawa H, Ogawa Y, Saito Y, Miyamoto Y, Nakao K (1998): A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. *Hum Genet* 103, 65- 6.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: NO-Synthese durch NOS	2
Abbildung 2: Schematischer Aufbau der menschlichen nNOS, eNOS und iNOS	6
Abbildung 3: Röntgenaufnahmen des Verlaufs bei ARDS	14
Abbildung 4: Polymorphismen des eNOS- Gens	17
Abbildung 5: Allgemeine Patientendaten	21
Abbildung 6: Vormedikation	24
Abbildung 7: Präoperativer Herzkatheterbefund	25
Abbildung 8: Intraoperativer Befund	27
Abbildung 9: Hämodynamische Parameter	30

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Schlüsselmerkmale der NOS- Isoformen	5
Tabelle 2:	Ursachen des ARDS	10
Tabelle 3:	Kriterien des ALI/ ARDS	12
Tabelle 4:	Lung injury score	31
Tabelle 5:	Allelverteilung	41
Tabelle 6:	Vergleich der demographischen und klinischen Daten	42
Tabelle 7:	Präoperative Medikation	43
Tabelle 8:	Pulmonale Parameter	45
Tabelle 9:	Hämodynamische Parameter	47
Tabelle 10:	Verwendete Inotropika	48
Tabelle 11:	Postoperatives Outcome	49
Tabelle 12:	Mortalität	50

Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei der Abteilung Anaesthesiologie II- Operative Intensivmedizin der Universität Göttingen und dem Direktor Prof. Dr. med. M. Quintel für die Ermöglichung dieser Dissertation und die Bereitstellung der benötigten Materialien sehr herzlich bedanken. Weiterhin gilt mein Dank meinem Doktorvater und Betreuer Priv.- Doz. Dr. med. José- Maria Hinz, DEAA, EDIC, der mir über die gesamte Zeit stets beratend und unterstützend zur Seite stand und wesentlich zur Vollendung meiner Arbeit beigetragen hat.

Auch möchte ich meinem zweiten Betreuer Dr. med. Aron Popov danken, der mir ebenfalls sehr behilflich war und immer für Fragen zur Verfügung stand. Des Weiteren möchte ich mich ebenfalls bei unserer Studienassistentin Frau Andrea Kernchen bedanken. Sie war über die ganze Zeit für uns Doktoranden da und hat nicht nur durch fachliche Unterstützung zu unserer Motivation beigetragen. Vielen Dank dafür. Unserer MTA Frau R. Waldmann- Beushausen möchte ich ebenfalls meinen Dank aussprechen, da sie uns bei der Laborarbeit viel erklärt hat und uns somit auch eine große Stütze war.

Nicht unerwähnt möchte ich auch meine Mitdoktoranden Christian Henker, Daniel Schöndorf und Sinisa Milenovic lassen. Nur in diesem Team war die Erfassung der gesamten Daten überhaupt möglich und durch die gegenseitige Unterstützung und Motivation konnten wir nun unsere Arbeiten zum Abschluss bringen.

Lebenslauf

Ich wurde am 23.09.1983 in Göttingen geboren. Ich bin die Tochter von Peter und Doris Janssen und habe die deutsche Staatsangehörigkeit. Ich bin ledig und habe keine Kinder.

Von 1989 bis 1993 habe ich die Grundschule Eddigehausen besucht. Darauf folgten von 1993 bis 1995 zwei Jahre an der Orientierungsstufe Bovenden. Mit der Gymnasialempfehlung besuchte ich dann von 1995 bis 2002 das Theodor- Heuss- Gymnasium in Göttingen. Im Jahr 1999 besuchte ich das College in Truro, Cornwall UK. Wieder zurück in Deutschland legte ich dann im Sommer 2002 am THG das Abitur ab.

Nach der Bewerbung für einen Studienplatz für Humanmedizin erhielt ich im Herbst 2002 die Zulassung und begann mein Studium an der Philipps- Universität in Marburg. Nach den regelhaften 4 vorklinischen Semestern legte ich dort im August 2004 das Physikum ab. Danach erfolgte ein Studienplatzwechsel an die Georg- August- Universität Göttingen. Im Herbst 2005 begann ich mit meiner Doktorarbeit in der Abteilung von PD Dr. med. José Hinz.

Nach Abschluss der regulären weiteren 6 klinischen Semester begann ich mein praktisches Jahr an der Georg- August- Universität Göttingen in der Abteilung für Kinder- und Jugendpsychiatrie. Im Anschluss daran folgte das zweite Tertial an der University of the West Indies. Das letzte Tertial leistete ich wiederum in Göttingen in der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie ab.

Zur Zeit bereite ich mich auf das Staatsexamen im April vor. Die mündliche Prüfung ist für Mai/ Juni geplant.

