

Aus der Klinik für Geburtsmedizin

der Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Bedeutung des Intron 4-Polymorphismus im  
eNOS-Gen bei hypertensiven  
Schwangerschaftserkrankungen**

Zur Erlangung des medizinischen Grades Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der

Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Katrin Thomas

aus Königs Wusterhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. J. W. Dudenhausen  
2. Prof. Dr. med. H. Haller  
3. Prof. Dr. med. F. C. Luft

Datum der Promotion: 22.02.2008

**FÜR OMA**

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>6</b>
1.1 Epidemiologie und Definition der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen	6
1.2 Präeklampsie als genetische Erkrankung	7
1.3 Kandidatengene	8
1.4 Das eNOS-Gen	9
1.4.1 Der normale eNOS-Regulationsmechanismus	9
1.4.2 Das eNOS-Gen und assoziierte Krankheiten	10
1.4.3 eNOS in der Schwangerschaft	11
1.5 eNOS-Polymorphismen	12
1.6 Intron 4	14
1.6.1 Struktur	14
1.6.2 eNOS Intron 4 assoziierte Krankheiten	14
1.6.3 Theorien zur Wirkungsweise eines Introns	15
1.6.4 Intron 4 und Präeklampsie	16
<b>2. HERLEITUNG EINER AUFGABENSTELLUNG/ ZIELSETZUNG DER ARBEIT</b>	<b>17</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>18</b>
3.1 Patientinnenrekrutierung / Blutgewinnung	18
3.2 DNA- Extraktion aus Vollblut	20
3.3 Amplifizierung des DNA-Abschnittes	21
3.4 Sichtbarmachen des PCR-Produktes	23
3.5 Kontrollsequenzierung des amplifizierten Genabschnittes	24
3.6 Statistische Auswertung	26
3.7 Verwendete Puffer und Lösungen	27
3.8 Verwendete Reagenzien	29
3.9 Verwendete Hilfsmittel und technische Geräte	30
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>31</b>
4.1 Vergleich der Genotyphäufigkeiten	31
4.2 Kontrollsequenzierung	34
4.3 Vergleich der klinischen Daten zwischen den Gruppen	35
4.4 Vergleich klinischer Daten zwischen den Genotypgruppen	39

<b>5. DISKUSSION</b>	<b>40</b>
<b>5.1 Vergleich unserer Ergebnisse mit anderen Studien</b>	<b>40</b>
5.1.1 Vergleich der klinischen Daten	40
5.1.2 Vergleich der Genotypenhäufigkeiten	41
<b>5.2 Problem der genetischen Pathogenese</b>	<b>45</b>
<b>5.3 Prädiktion von Präeklampsie</b>	<b>47</b>
5.3.1 Doppler-Ultraschall	47
5.3.2 Kombinationsteste	47
5.3.3 Genetische Marker	48
<b>5.4 Prävention</b>	<b>48</b>
5.4.1 Aspirin	48
5.4.2 Calcium	49
5.4.3 Antioxidantien	49
<b>5.5 Therapie der Präeklampsie</b>	<b>49</b>
<b>5.6 Langzeitprognose für Mütter und Kinder</b>	<b>50</b>
<b>5.7 Ausblick</b>	<b>51</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>53</b>
<b>7. DANKSAGUNG</b>	<b>55</b>
<b>8. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>56</b>
<b>LEBENS LAUF VON KATRIN THOMAS</b>	<b>66</b>

## 6. Zusammenfassung

Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen stellen weltweit immer noch einen der häufigsten Gründe für kindliche und mütterliche Morbidität und Mortalität dar.

Eine Endothelzell dysfunktion wird als Ursache der klinischen Symptome postuliert, wobei aber die Pathogenese dieser Dysfunktion noch ungeklärt und wohl nur multimodal zu erklären ist. Ein Erklärungsversuch beruht auf der unzweifelhaft zumindest partiell genetischen Basis der Erkrankung. In der hier vorliegenden Untersuchung wurde versucht, einen häufig im Zusammenhang mit kardiovaskulären und metabolischen Erkrankungen beschriebenen Polymorphismus im eNOS-Gen mit einem erhöhten Risiko für hypertensive Schwangerschaftserkrankungen, vor allem für Präeklampsie, zu assoziieren.

238 Frauen wurden in drei Gruppen (Präeklampsie, SIH und Kontrollgruppe) eingeordnet und ihre DNA wurde auf einen bekannten VNTR-Polymorphismus im Intron 4 des eNOS-Gens untersucht. Dabei wurden vier verschiedene Genotypen mit drei verschiedenen Allelen entdeckt: homozygot B/B, heterozygot A/B, homozygot A/A und heterozygot C/B. Die Häufigkeiten der Genotypen in den drei Gruppen wurde bestimmt.

Wir konnten keine signifikante Häufung des Auftretens der verschiedenen Allele bei an schwangerschaftsinduzierter Hypertonie oder an Präeklampsie erkrankten Frauen feststellen. Wir konnten lediglich tendenziell ein häufigeres Vorkommen des heterozygoten A/B-Genotypes bei Frauen mit Präeklampsie im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe beobachten.

Die in unserer Untersuchung erhobenen klinischen Variablen verhalten sich wie bekannt. Die von präeklampsischen Frauen geborenen Kinder werden nach signifikant kürzerer Schwangerschaftsdauer geboren, sind signifikant leichter und haben einen geringeren APGAR-Wert nach der ersten Minute ( $p < 0,001$ ). Die präeklampsischen Frauen sind häufiger Erstpara ( $p < 0,001$ ), haben einen höheren prägraviden BMI und nehmen in der Schwangerschaft stärker an Gewicht zu ( $p < 0,001$ ).

Das Alter der Frauen und die Rauchgewohnheiten in den drei Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Auch die verschiedenen Ethnien sind in den Gruppen gleich verteilt. Die Genotypenverteilung differiert nicht signifikant in den verschiedenen Ethnien.

Frauen, die rauchen, gebären ihre Kinder nach kürzerer Schwangerschaftsdauer und mit geringerem Geburtsgewicht. Diese Unterschiede erreichen aber in unserer Untersuchung bei insgesamt kleiner Fallzahl keine Signifikanz.

Während es zwischen den drei oben näher bezeichneten Patientinnengruppen ganz klare Unterschiede in den klinischen Parametern gibt, werden keine Unterschiede in der Ausprägung klinischer Parameter in den drei Genotypgruppen festgestellt. Der nur einmal vorkommene CB-Genotyp wird dabei nicht als eigenständige Gruppe betrachtet.

Die ungeklärte Rolle der eNOS-Gen-Polymorphismen bei der Pathogenese der Präeklampsie konnte auch durch diese Untersuchung nicht endgültig geklärt werden. Eine multizentrische Wiederholung der Studie könnte die erforderliche Fallzahl sichern, um die in dieser Untersuchung beobachtete Tendenz zu bestätigen, welche in wenigen außereuropäischen Studien teilweise Signifikanz erreicht, teilweise aber auch gar nicht auftritt.

Die Bedeutung dieser genetischen Alteration liegt in ihrem möglichen Wert als Prädiktionsfaktor, in ihrer daraus folgenden Rolle in der Prävention und in den Möglichkeiten neuer Therapieansätze der bis heute nur unbefriedigend behandelbaren Präeklampsie z.B. mit NO-Donatoren.

Diese Bedeutung aber wäre nur gegeben, wenn der Polymorphismus im Intron selbst einen biologischen Effekt aufwiese oder über Interaktionen einen genetischen Effekt vermitteln würde. Ob aber die Bedeutung der Genetik in der Präeklampsie weiterhin in „einfachen“ Genotyp-Phänotyp-Assoziationsstudien oder aber in komplexeren Gen-Gen-Interaktionsstudien auch mit Berücksichtigung der einwirkenden Umweltfaktoren oder zumindest in Haplotyp- oder Genomanalysen erfolgen sollte, bleibt Gegenstand kontroverser Diskussionen.

## 7. Danksagung

In erster Linie möchte ich mich bei allen Frauen bedanken, die uns eine Blutprobe zur Verfügung gestellt und geduldig unsere Fragen beantwortet haben.

Ich bedanke mich bei der Klinik für Geburtsmedizin des Virchow-Klinikums, besonders bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen und bei meiner Betreuerin Frau Dr. Annette Schmider-Ross. Ich bedanke mich bei Frau Prof. Dr. Heidemarie Neitzel und den MTA des Institut für Humangenetik des Virchow-Klinikums für ihre Hilfe, bei Prof. Dr. A. Plagemann der AG „Experimentelle Geburtsmedizin“ für die Mitbenutzung seines Labors und des PCR-Automaten.

Schließlich bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden, vor allem bei Seppl, Kathrine, meinem Freund Thomas und meiner Schwester Anke, die mir immer mit Unterstützung in ihren unterschiedlichsten Spezialgebieten zur Seite standen. Ein besonderer Dank geht an Lena und ihren Freund Nils, welche unermüdlich an den Korrekturen gearbeitet haben und immer ein offenes Ohr hatten.

Ganz besonders bedanke ich mich bei der Stiftung „Sonnenfeld“ für die großzügige finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Der größte Dank und die Widmung dieser Arbeit aber gilt meiner Oma, welche die fertige Doktorarbeit leider nicht mehr in ihren Händen halten konnte, ohne die ich es aber nie bis hierhin geschafft hätte.



## **Lebenslauf von Katrin Thomas**

**„Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.“**

## Erklärung

Ich, Katrin Thomas, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Titel: „ Die Bedeutung des Intron 4-Polymorphismus des eNOS-Gens bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Vielitz, den 07.07.2007