

1. Einleitung

1.1 *Epidemiologie und Definition der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen*

Hypertensive Störungen stellen weltweit immer noch einen der häufigsten Gründe für maternale Mortalität, Frühgeburten, intrauterine Wachstumsretardierung, perinatale Morbidität und Mortalität dar. Sie werden unterteilt in vorbestehenden Bluthochdruck, schwangerschaftsinduzierten Bluthochdruck (SIH) und Präeklampsie (PE). Die Inzidenz variiert zwischen verschiedenen Krankenhäusern, Regionen und Ethnien.

In Deutschland tritt bei 5-7% der Schwangeren eine hypertensive Schwangerschaftserkrankung auf ¹. Die Inzidenz von Präeklampsie und Eklampsie weltweit beträgt laut WHO-Report des Jahres 2005 3,2% aller Lebendgeburten. Bei 12% der mütterlichen Todesfälle ist die Eklampsie ursächlich ².

Nach der Klassifikation der „International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy“ ist der schwangerschaftsinduzierte Bluthochdruck definiert als eine neu aufgetretene Hypertension nach der 20. Schwangerschaftswoche (SSW). Die meisten Autoren empfehlen als diagnostisches Kriterium einen systolischen Blutdruckanstieg auf 140 mmHg und mehr und/oder diastolisch auf 90 mmHg und mehr (bei mindestens zweimaliger Messung im Abstand von 4-6 Stunden). Andere definieren ihn als diastolischen Blutdruckanstieg um 15 mmHg oder einen systolischen Druckanstieg um über 30 mmHg, wobei letztgenanntere Diagnostikkriterien in neueren Veröffentlichungen als zu unspezifisch diskutiert werden ³.

Die Präeklampsie ist definiert als das Auftreten eines schwangerschaftsinduzierten Bluthochdrucks (wie oben definiert) mit Proteinurie (mehr als 0,3g Eiweiß im 24-h-Sammelurin bzw. 1g/l im Mittelstrahlurin [Teststreifen]). Viele Organe wie Nieren, Leber, Gehirn und das Gerinnungssystem sind in das Krankheitsbild involviert.

Schwere und akute Komplikationen sind die Eklampsie (Krampfanfälle oder Koma bei Patientinnen meist mit Präeklampsie) oder das HELLP-Syndrom. Diese lebensgefährliche Multiorgandysfunktion ist definiert als **H**ämolyse, **E**levated **L**iver enzymes, **L**ow **P**latelets. Im Labor zeigen sich ein Abfall des Haptoglobins und ein Abfall der Thrombozyten unter 115/nl, die Leberenzyme Alaninaminotransferase (ALAT) und Aspartataminotransferase (ASAT) steigen an, später kommt es zum Anstieg des Bilirubin-Spiegels und zu Störungen der Blutgerinnung. Das klinische Leitsymptom ist der meist rechtsseitige auftretende Oberbauchschmerz.

Die Pathophysiologie der hypertensiven Störungen in der Schwangerschaft wurde in vielen Studien untersucht und ist noch immer nicht geklärt, sodass die Präeklampsie auch die „Krankheit der Theorien“ genannt wird. Es gibt eine Vielzahl von Erklärungstheorien. Die Grundlage der klinischen Symptomatik bildet wohl aber die generalisierte Endothelzelldysfunktion als ein Resultat von pathologischen Veränderungen in der plazentalen Entwicklung. Eine multifaktorielle Genese dieser Endothelzelldysfunktion ist anzunehmen. Dabei gibt es vier Hauptfaktoren, die nach Dekker et al. ⁴ für die hypertensiven Störungen verantwortlich gemacht werden:

1. immunologische Maladaptation
2. plazentare Ischämie
3. oxidativer Stress
4. genetische Suszeptibilität

Diese vier Punkte stehen dabei nicht eigenständig, sondern als Kombination, wobei auch Umwelteinflüsse und mütterliche Risikofaktoren eine Rolle spielen. Dabei kann die genetische Prädisposition an jedem der drei erstgenannten ätiologischen Faktoren mitwirken.

Duckitt et al. fassen in einer Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2005 ⁵ die Risikofaktoren für die Entwicklung einer Präeklampsie zusammen:

Alter der Mutter über 34, Nulliparität, vorherige Präeklampsie, positive Familienanamnese für Präeklampsie, Mehrlingsgravidität, präexistente medizinische Bedingungen wie insulinabhängiger Diabetes mellitus, Hypertonus, Nierenerkrankungen, Autoimmunerkrankungen und Antiphospholipidsyndrom. Außerdem steigt das Risiko, umso mehr Zeit zwischen mehreren Schwangerschaften liegt und umso höher der prägravide Body Mass Index (BMI) der Mutter ist.

1.2 Präeklampsie als genetische Erkrankung

Es ist unwahrscheinlich, dass ein pathophysiologisch derart komplexes Krankheitsbild auf der Mutation nur eines mütterlichen Gens beruht. Eine genetische Disposition für die Entwicklung einer hypertensiven Schwangerschaftserkrankung ist aber unstrittig ⁶.

Bereits 1968 postulierten Chesley et al. ⁷ eine genetische Ursache der Präeklampsie.

In einer isländischen Studie wurde festgestellt, dass erstgradige Verwandte betroffener Frauen ein fünffach höheres Präeklampsierisiko, zweitgradig Verwandte von Frauen, welche an

Präeklampsie während einer Schwangerschaft litten, noch ein zweifach höheres Erkrankungsrisiko als Frauen ohne positive Familienanamnese hatten⁸.

In einer 10-jährigen schwedischen Studie mit über 1 100 000 Geburten hatten Frauen, deren Schwestern an Präeklampsie litten, ein mehr als dreimal größeres Erkrankungsrisiko als Frauen, deren Schwestern nicht an Präeklampsie erkrankten. Auch Töchter von Müttern mit Präeklampsie hatten ein signifikant höheres Risiko als Töchter von Müttern ohne Präeklampsie⁹. Carr et al. bestätigten in einer großen amerikanischen Studie mit insgesamt über 10 000 Frauen, dass eine positive Familienanamnese ein Prädiktor für das Auftreten von hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen ist; so ist das Risiko von Schwestern betroffener Frauen mit schwangerschaftsinduzierter Hypertonie 1,6-mal, bei Frauen mit Präeklampsie sogar 2,3-mal höher¹⁰ als bei Frauen ohne positive Familienanamnese.

Es wird also vermutet, dass die Suszeptibilität für hypertensive Schwangerschaftserkrankungen durch komplexe Interaktionen zwischen mehreren mütterlichen Genen und einer Vielzahl von Umweltfaktoren entsteht. Auch einen fetalen und einen paternalen Einfluß via Fetus bei der Krankheitsentwicklung belegen die folgenden Beispiele.

Der Einfluss des fetalen Genoms wird durch die bestehende Assoziation zwischen dem Auftreten einer Präeklampsie und fetalen Aneuploidien wie z.B. der Triploidie, der Trisomie 13¹¹ oder einer Blasenmole¹² offensichtlich.

Frauen, die von einem Mann schwanger wurden, dessen vorherige Partnerin eine präeklampsische Schwangerschaft hatte, haben ein zweifach höheres Risiko für eine Präeklampsie¹³ als Frauen, deren Mann in einer Schwangerschaft mit der vorherigen Partnerin keine Präeklampsie erlebte. Auch Schwägerinnen von Präeklampsiepatientinnen zeigten eine signifikante Häufung von Präeklampsie¹⁴ als Schwägerinnen gesunder Frauen.

Männer, die nach einer präeklampsischen Schwangerschaft geboren wurden, waren häufiger Vater einer präeklampsischen Schwangerschaft¹⁵ als Männer, die nach einer normalen Schwangerschaft geboren wurden .

1.3 Kandidatengene

Wie schon erwähnt, bestimmt nicht ein Gen allein das genetische Risikoprofil der Frau, sondern Alterationen verschiedener Gene. Dabei kann die genetische Prädisposition an jedem der drei ätiologischen Faktoren mitwirken. Gene, die eine Rolle spielen in der Blutdruckkontrolle, bei kardiovaskulären Krankheiten, Dyslipidämie etc. scheinen gute Kandidaten für die Entwicklung

der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen zu sein. Hierzu liegen zahlreiche Untersuchungen vor (Tabelle 1).

Tabelle 1: Beispiele für untersuchte Gene in Bezug auf Präeklampsie

Gen	Mutation	Autor (Jahr)	Fallzahlen PE/ K	p- Wert
Angiotensinogen (AGT)	p.Thr235Met	Ward et al. (1993) ¹⁶	48 28 Ip	p=0,05 p=0,26
Prothrombin	g.20210G>A	Kupferminc et al. (1999) ¹⁷	34/ 110	p=0,03
Faktor V Leiden	g.1691G>A	Dizon-Townson et al. (1996) ¹⁸	158/ 403	p=0,03
Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF)	g.405G>C	Kupferminc et al. (1999) ¹⁷	34/ 110	p=0,03
Lipoprotein Lipase (LPL)	g.-93T>G	Banyasz et al. (2006) ¹⁹	84/ 96	p=0,039
		Kim et al. (2001) ²⁰	245/ 253	p=0,74

PE=Präeklampsie, K=Kontrollen, Ip=Primipara

Eines der am häufigsten untersuchten Gene in Bezug auf hypertensive Schwangerschaftserkrankungen ist das eNOS-Gen, welches auch Thema der vorliegenden Arbeit ist.

1.4 Das eNOS-Gen

1.4.1 Der normale eNOS-Regulationsmechanismus

Das endotheliale Nitritoxidsynthase-Gen (NOS 3-Gen oder eNOS-Gen) liegt auf Chromosom 7q35-36, besteht aus 26 Exons, welche mehr als 21 Kilobasen des menschlichen Genoms umfassen. Es wurde erstmalig von Marsden et al. vollständig dargestellt²¹.

Nitritoxid oder Stickoxid (NO) wird bei der Oxidation von L-Arginin zu L-Citrullin durch die Familie der drei Nitritoxidsynthasen synthetisiert. Diese besteht aus der konstitutiven neuronalen NOS (NOS, NOS-I) und der endothelialen NOS (eNOS, NOS-III), welche beide calciumabhängig sind, sowie der induzierbaren NOS (iNOS, NOS-II).

NO spielt eine bedeutende Rolle bei der Regulation des Gefäßtonus²².

Die eNOS im Endothel stellt NO nach Rezeptorstimulation (z.B. durch Acetylcholin, Katecholamine, Bradykinin und Histamin, Endothelin, Substanz P) oder bei Scherstress durch den Blutfluss her. In der Gefäßwand gelangt NO vom Endothel zu den glatten Gefäßmuskelzellen, wo es durch Bindung die lösliche Guanylatcyclase stimuliert. Daraus resultiert eine gesteigerte Umwandlung von Guanosintriphosphat zu zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP). Die intrazelluläre Bindung von freiem Calcium wird gesteigert und führt zur Relaxation der Muskelzellen.

Außerdem inhibiert NO die Proliferation der glatten Muskelzelle und die Plättchenadhäsion und -aggregation an Gefäßmuskelzellen²³.

eNOS wird gehemmt durch Argininanaloga, L-Nitro-arginine-methyl-ester (L-NAME) und asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA)³.

Aus der hier dargestellten physiologischen Rolle der endothelialen NOS wird nachvollziehbar, dass durch ein fehlerhaftes eNOS-System Krankheitsprozesse ausgelöst werden könnten.

1.4.2 Das eNOS-Gen und assoziierte Krankheiten

Es gibt viele Studien zur Untersuchung der Relevanz von Polymorphismen des eNOS-Gens in Bezug auf kardiovaskuläre Krankheiten. Diese lieferten oftmals widersprüchliche Ergebnisse. Unter anderem wurden koronare Herzkrankheit^{24, 25, 26, 27}, Myokardinfarkt^{28,29}, essentielle Hypertonie^{30,31,32}, Schlaganfall^{33,34}, Nierenerkrankungen³⁵ und Aneurysmata³⁶ mit eNOS – Polymorphismen assoziiert.

Weil NO die Gefäße dilatiert und die Plättchenadhäsion und –aggregation verhindert, wurden eNOS–Polymorphismen besonders intensiv im Zusammenhang mit Bluthochdruck studiert. So ist die endothelabhängige Vasodilatation bei Patienten mit essentiellen Bluthochdruck³⁷ genauso wie in Tiermodellen des Bluthochdrucks³⁸ verschlechtert. Shesely et al. erzeugten Mäuse, welche entweder homozygot (-/-) oder heterozygot (-/+) für das dysfunktionale eNOS-Gen waren. Die Inaktivierung des eNOS-Gens bei Mäusen, welche homozygot (-/-) für die Unterbrechung des eNOS-Gens waren, resultierte in einem signifikant erhöhten Blutdruck. Bei heterozygoten (-/+) Mutanten konnte eine nicht-signifikante Erhöhung des Blutdruckes festgestellt werden. Die Erklärungshypothese ist, dass den eNOS-negativen Mäusen der vasorelaxierende Effekt des vom Endothel freigesetzten NO im glatten Gefäßmuskel fehlt³⁹.

Durch Injektion von L-NMMA, einem spezifischen Antagonisten der NO-Synthase, steigt der Blutdruck -sowohl bei Tieren^{40,41}- als auch bei Menschen⁴².

1.4.3 eNOS in der Schwangerschaft

Da diese Mechanismen der Bluthochdruckentstehung wahrscheinlich auch bei den hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft eine Rolle spielen, gibt es viele Untersuchungen zur Rolle von eNOS und NO bei der Präeklampsie.

Während der normalen Schwangerschaft kommt es zu bedeutenden hämodynamischen und kardiovaskulären Veränderungen, um die metabolischen Erfordernisse der Mutter und des Fötus zu erfüllen. Das mütterliche Herz-Zeit-Volumen und das Plasmavolumen steigen während der Schwangerschaft an, wohingegen der totale Gefäßwiderstand und der arterielle Blutdruck leicht abfallen.

Im Rahmen der Präeklampsie aber kommt es zur Steigerung des Gefäßwiderstands und des mütterlichen Blutdrucks, sowie zu einer gesteigerten Reaktivität der Druckrezeptoren gegenüber vasokonstriktorisches Reizen und zur Reduktion des renalen Plasmaflusses⁶.

Seligman et al. zeigten 1994 erstmalig in vivo, dass die Konzentration von NO im Serum präeklampsischer Frauen vermindert war. Sie bemerkten eine negative Korrelation zwischen Serum-Nitrit und dem systolischen Blutdruck²³.

Schon vorher hatten Studien ergeben, dass NO bei der Blutdruckregulation und der physiologischen Vasodilatation in der Schwangerschaft eine große Bedeutung hat.

Conrad et al. stellten fest, dass der Plasmalevel und die Urinexkretion von cGMP, dem Botenstoff für NO, bei schwangeren Ratten gesteigert waren⁴³.

Später wies er nach, dass die Produktion von endogenem NO bei schwangeren Ratten erhöht ist. Daher wird vermutet, dass NO eine große Bedeutung für die vasodilatatorische Antwort auf eine normale Schwangerschaft hat⁴⁴.

In den humanen uterinen Arterien gibt es einen Schwangerschafts-assoziierten Anstieg der Calcium-abhängigen NO-Synthasen, der eNOS-Protein-Expression und des NO-abhängigen cGMP-Niveaus. Dabei ist die Synthase-Aktivität achtmal höher in Arterien schwangerer Frauen als bei Nichtschwangeren⁴⁵.

Yallampalli et al. zeigten, dass die Hemmung von Stickoxid durch L-NAME während der Schwangerschaft von Ratten in Symptomen ähnlich denen der Präeklampsie mündet. Kontinuierliche Infusion dieses Inhibitors ab dem 17. Tag der Schwangerschaft bewirkten einen

systolischen Blutdruckanstieg, Proteinurie, eine fetale Wachstumsretardierung und eine erhöhte fetale Mortalität⁴⁶.

Die endotheliale NOS ist in der Plazenta aktiv und wird sowohl vom Synzytiotrophoblasten als auch vom Endothel der Blutgefäße im mütterlichen Myometrium gebildet.

Mehrere Arbeitsgruppen zeigten eine Reduktion der eNOS-Genaktivität in präeklampsischen Plazenten^{47,48}.

Kublickiene et al. entdeckten, dass sich die uterinen Arterien bei präeklampsischen Frauen sogar genau gegensätzlich denen gesunder Schwangerer verhielten: Kleine Arterien des Uterus werden bei präeklampsischen Frauen nicht durch Scherstress am Endothel dilatiert, im Gegensatz, sie konstringieren. Die gleiche Reaktion der Gefäße bei Inhibition der NOS könnte von Abwesenheit jedweder flussinduzierten NO-Synthese in diesen Arterien bei Präeklampsie zeugen und demzufolge zu Vasokonstriktion und einem Anstieg des Gefäßwiderstandes bei Präeklampsie führen⁴⁹.

Mehrere Pathomechanismen könnten hierfür verantwortlich zeichnen: eine reduzierte Synthese von NOS oder gesteigerte Konzentrationen von endogenen Inhibitoren der NOS²³.

Folgende drei Hauptmechanismen der Dysfunktion des NOS-Weges werden vermutet⁵⁰:

- I. Geminderte NO-Produktion,
unter anderem durch Alterationen der Michaeliskonstante (K_M) von NOS, z.B. durch DNA-Polymorphismen,
Alterationen in der Expression von NOS, z.B. durch geminderte Gentranskription oder reduzierte Halbwertszeit der eNOS-mRNA
- II. Gesteigerte Verstoffwechslung von NO
- III. Geminderte Sensibilität gegenüber NO

1.5 eNOS-Polymorphismen

Als genetischer Polymorphismus wird das regelmäßige Auftreten von zwei oder mehr Allelen eines Gens bezeichnet.

Die untersuchten Polymorphismen im eNOS-Gen reichen vom Promotor bis hin zum Intron 23.

Meist handelt es sich hierbei um einen Austausch einzelner Basen („single nucleotide polymorphism“ oder SNP), welche in einer Vielzahl von Introns und Exons gefunden wurden,

z.B. in der Promotorregion^{28,51}, in den Introns 2²⁸, 6⁵², 18⁵², 23⁵³ und in den Exons 6 und 7²¹.

Tandem Repeat Regionen wurden in folgenden Introns gefunden:

1. Intron 2 (32bp repeats)
- 2. Intron 4 (27bp repeats)**²¹
3. Intron 8 (32bp repeats) und
4. Intron 13 (CA repeats)²¹.

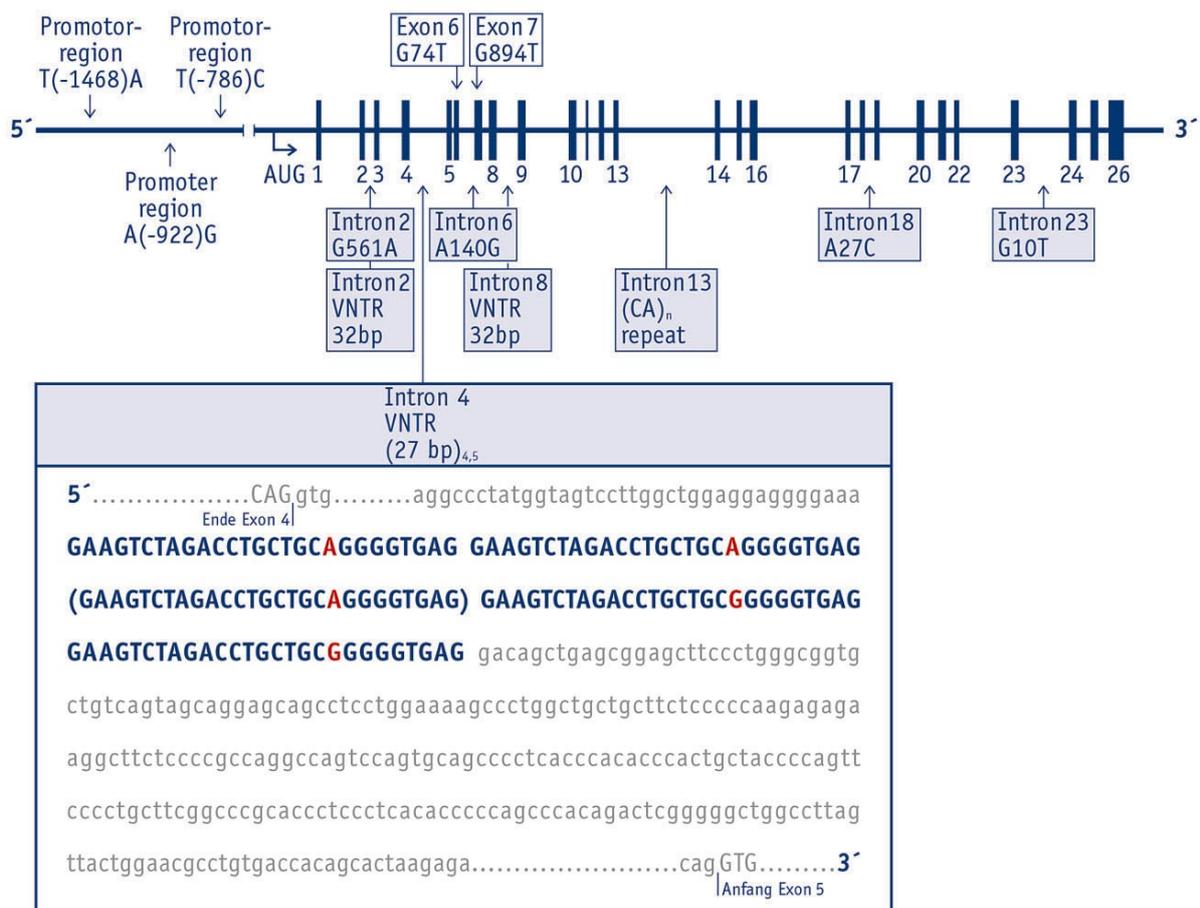


Abbildung 1: Struktur des eNOS-Gens mit besonderer Beachtung des Intron 4.

Die sich fünfmal im mit B oder viermal im mit A bezeichneten Allel wiederholenden Sequenzen aus 27 Basen sind mit dunkelblauen Großbuchstaben gekennzeichnet. Rot gekennzeichnet mit A: Adenin-Base an 19. Stelle des VNTR, Rot gekennzeichnet mit G: Guanin-Base an 19. Stelle des VNTR (siehe nachfolgende Struktur Erläuterung auf Seite 14, Kapitel 1.6.1)

1.6 Intron 4

1.6.1 Struktur

Im Intron 4 des eNOS-Gens befindet sich an Stelle der Basenpaare 5111 bis 5530 der genomischen Sequenz ein jeweils 27 Basenpaare umfassender Tandem-Repeat-Polymorphismus, welcher entweder aus 4x27 oder 5x27 Basenpaaren (bp) besteht. Diese Sequenzen werden als „variable number of tandem repeats“ (VNTR) bezeichnet ^{54,55,56}.

Das häufige Allel ist das längere B-Allel (420 bp), das seltenere das A-Allel (393 bp) mit viermaliger Wiederholung.

Die Abfolge der 27 Basen ist nachfolgend nochmals dargestellt:

GAAGTCTAGACCTGCTGC(A/G)GGGGTGAG.

Im B-Allel haben die ersten drei Wiederholungssequenzen eine Adenin-Base an der 19. Stelle, die letzten zwei eine Guaninbase an Position 19. Das kleinere A-Allel jedoch hat nur in seinen ersten beiden Repeatsequenzen ein A, in den letzten beiden ein G an dieser Stelle.

In neueren Publikationen wurde eine größere Variabilität der Tandem-Repeats beobachtet. So entdeckte eine deutsche Arbeitsgruppe in einer Studie mit 1043 Personen bei fünf von ihnen ein C-Allel (447 bp) mit 6 Repeats ²⁷. Eine amerikanische Studie unter Afro-Amerikanern fand in geringer Anzahl ebenfalls dieses C-Allel, bei einer Person aber auch ein 339-bp-Allel, welches nur zweimal die beschriebene Abfolge der 27 Basenpaare aufwies, wenn auch mit leichten Veränderungen ³⁵. Hooper et al. fanden bei einer Studie unter afrikanischen Amerikanern neben diesen beiden Allelen auch ein 366-bp-Allel (3 Repeats) und beschrieben insgesamt sieben verschiedene Genotypen: 420/420, 420/393, 420/447, 420/339, 447/393, 366/393, 393/393, wobei die ersten beiden am häufigsten vorkommen ⁵⁷.

Generell schwanken die Häufigkeitsangaben der Allele stark in den verschiedenen Ethnien, wobei sich die meisten Veröffentlichungen auf die oben beschriebenen A- und B-Allele beziehen.

1.6.2 eNOS Intron 4 assoziierte Krankheiten

Das Vorhandensein des selteneren A-Allel-Polymorphismus im Intron 4 wurde in verschiedenen Ethnien sowohl positiv als negativ mit koronarer Herzkrankheit ^{27, 24}, intrakraniellen Aneurysmen ³⁶, essentieller Hypertonie ³¹ und Präeklampsie ^{58,59} assoziiert.

1998 fanden Tsukada et. al im Plasma von gesunden Personen, welche homozygot für das kürzere A-Allel waren, fast 20% geringere NOx-Level als bei Personen mit dem B-Allel ⁶⁰, während Wang XL et al. einen signifikanten Zusammenhang herstellten zwischen dem A-Allel und höheren NOx (NOx: Nitrit und Nitrat)-Werten ⁶¹.

Desweiteren wurde von dieser Arbeitsgruppe eine mehr als fünffach höhere eNOS-Enzymaktivität in der heterozygoten A-Allel-Gruppe im Vergleich zur B-Allel-Gruppe beschrieben. Die eNOS-mRNA- und Proteinexpression aber waren signifikant geringer in der heterozygoten A-Allel-Gruppe. Das Zigarettenrauchen reduzierte die Proteinhöhe in beiden Gruppen. Die Enzymaktivität wurde in der A-Allel-Gruppe sogar auf weniger als die Hälfte der Nichtraucher gesenkt. Diese Studie zeigt ein Genotyp-abhängiges und umweltspezifisches Modell der Regulation der eNOS-Expression und Enzymaktivität ⁶².

Zwei weitere Studien fanden keinen Zusammenhang zwischen Intron 4-Polymorphismen und ischämischer Herzkrankheit ^{29,63}.

1.6.3 Theorien zur Wirkungsweise eines Introns

Die Lokalisation des beschriebenen Polymorphismus in einem Intron schließt seine funktionelle Relevanz für die Transkriptionsregulation nicht aus ⁶⁴. Durch Vorliegen eines Polymorphismus auch im Intron kann die Gentranskription beeinflusst werden, obwohl die Intron-Sequenzen bei der Herstellung der mRNA entfernt werden (Spleißen). Unklar ist aber, ob diese intronischen Polymorphismen selbst eine kausale Wirkung haben oder nur Marker sind für andere funktionelle Varianten. Tempfer et al. ⁶⁵ beschreiben vier mögliche Mechanismen, welche die Beziehung zwischen einem Polymorphismus im Intron und einer Variation im Phänotyp erklären könnten:

- a. Assoziation (linkage disequilibrium) des Polymorphismus im Intron mit einer Mutation in einer kodierenden Region oder im Promotor
- b. Einfluß eines benachbarten Gens, welches zur Ausbildung der Präeklampsie beiträgt
- c. Alterationen eines noch unbekanntes Enhancer-/Suppressorelementes
- d. Verändertes Spleißen oder Verarbeiten des primären Transkriptionsproduktes

Tatsächlich wird das Vorhandenseins des A-Allels im Intron 4 mit einem T→C Polymorphismus (g.-786T>C) in der Promotorregion assoziiert. Hierdurch wird die Transkription des Gens beeinflusst. Bei C-Allel-Trägern ist die Promotoraktivität weniger als halb so stark wie bei T-Allel-Trägern ⁵⁶.

Einer koreanischen Arbeitsgruppe zufolge zeigte der T→C-Promotor-Polymorphismus des eNOS-Gens die gleiche Allel-Verteilung wie der Intron 4-Polymorphismus in kultivierten humanen Endothelzellen (HUVEC). Der mittlere eNOS-Proteinlevel der kultivierten HUVEC-Zellen mit dem 4A/4B-Genotyp war signifikant niedriger als der der 4B/4B-Zellen. Auch die Enzymaktivität war in der 4A/4B-Gruppe geringer ⁶⁶.

Wang J et al. zeigten 2002 einen Haplotyp-abhängigen cis-regulatorischen Effekt des Polymorphismus im Intron 4 auf den Promotor und damit auf die Transkriptionseffektivität ⁶⁷.

Ou et al. untersuchten die funktionelle Bedeutung von endothelialen nukleären Proteinen als Bindungsfaktoren in der eNOS-Regulation. Endotheliales nukleäres β-Actin ist eines dieser Bindungsproteine. Es stimuliert als Transkriptionsfaktor die eNOS-Expression. Dieser regulatorische Effekt aber ist abhängig von der Anwesenheit des 27-bp-Elementes als Enhancer ⁶⁸.

1.6.4 Intron 4 und Präeklampsie

Auch in Bezug auf Präeklampsie wurde das Vorhandensein des Intron 4-Polymorphismus mit kontroversen Ergebnissen erforscht: Serrano et al. fanden bei kolumbianischen Frauen mit Präeklampsie keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Auftreten des Intron 4-Polymorphismus, wohl aber mit dem Auftreten des Asp-298-Polymorphismus im Exon 7 ⁵⁹.

In einem kleineren amerikanischen Kollektiv wiederum war der Intron 4-Polymorphismus mit einem signifikant größeren Risiko verbunden, an Präeklampsie zu erkranken. Außerdem war er assoziiert mit einem höheren Blutdruck ⁵⁸. Auch Bashford et al. fanden einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Intron 4 und der Präeklampsie bei texanischen Frauen ⁷⁰.

Die einzige europäische Studie aus Italien fand keinen Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus im Intron 4 und dem Auftreten von Präeklampsie oder schwangerschaftsassoziierter Hypertonie ⁷¹.

Bislang gibt es noch keine deutsche Studie zur Assoziation des Intron 4-Polymorphismus im eNOS-Gen und der Entwicklung von hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen.