

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie  
des Deutschen Herzzentrums München  
Klinik der Technischen Universität München

Einfluss des Catechol-O-Methyltransferase-Val158Met-  
Polymorphismus auf die postoperative Nierenfunktion nach  
kardiochirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation

Matthias Kornek

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. Priv.-Doz. Dr. B. J. Voss  
2. Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. U. Heemann

Die Dissertation wurde am 06.07.2012 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 02.04.2014 angenommen.

*Meinen Eltern*

## Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abkürzungen .....	4
1. Einleitung.....	6
1.1 Extrakorporale Zirkulation und Nierenversagen .....	6
1.2 Pathophysiologie des SIRS und des Nierenversagens nach EKZ .....	8
1.3 Genetische Variabilität.....	12
1.4 Funktion der Catechol-O-Methyltransferase und Bedeutung des COMT- Val158Met-Polymorphismus.....	14
1.5 COMT-Val158Met-Polymorphismus-assoziierte Krankheitsbilder.....	16
1.6 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	18
2. Material und Methoden .....	19
2.1 Studiendesign und Patientenkollektiv.....	19
2.2 DNA-Extraktion .....	19
2.3 Real-Time-PCR und Schmelzkurvenanalyse .....	21
2.4 Statistische Analyse .....	26
3. Ergebnisse.....	27
3.1 Demographische Parameter .....	27
3.2 Laborparameter bei Aufnahme .....	29
3.3 Operationsabhängige Parameter und Verweildauer .....	30
3.4 Retentionsparameter .....	31
3.5 Korrelationen .....	36
4. Diskussion .....	41
5. Zusammenfassung .....	53
6. Literaturverzeichnis .....	54
7. Danksagung.....	65

## Verzeichnis der Abkürzungen

A	Adenin
BSA	bovines Serumalbumin
C	Cytosin
CSA-AKI	<i>cardiac-surgery-associated-acute-kidney-injury</i>
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
COMT(LL)	Catechol-O-Methyltransferase ( <i>low/low</i> )
COMT(HH)	Catechol-O-Methyltransferase ( <i>high/high</i> )
dl	Deziliter
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
ET-1	Endothelin-1
FiO <sub>2</sub>	Sauerstoffanteil der Atemluft
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer
g	9,81m/s <sup>2</sup>
G	Guanin
HCl	Salzsäure
HLM	Herz-Lungen-Maschine
IL	Interleukin
KCl	Kaliumchlorid
kbp	Kilobasenpaare
kDa	Kilodalton
kPa	Kilopascal
L-Dopa	Levo-Dopa, 3,4-Dihydroxy-Phenylalanin
MB-COMT	<i>membranbound-catechol-o-methyl-transferase</i>
Met	Methionin
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
mM	Millimolar
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
NF-kB	<i>nuclear factor „kappa-light-chain-enhancer“ of activated B-cells</i>
nM	Nanomolar
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
paCO <sub>2</sub>	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
paO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
rSNP	<i>regulatory single nucleotide polymorphism</i>
S-COMT	<i>soluble-catechol-o-methyl-transferase</i>
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i>
SIRS	<i>systemic inflammatory response syndrome</i>
T	Thymin
TEE	transösophageales Echokardiogramm
Tm	Schmelztemperatur

TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
rpm	Umdrehungen pro Minute
U	Unit
Val	Valin
ZVD	zentraler Venendruck

# 1. Einleitung

## 1.1 Extrakorporale Zirkulation und Nierenversagen

Herzchirurgische Eingriffe unter Verwendung der extrakorporalen Zirkulation (EKZ) weisen als häufige Komplikation ein akutes Nierenversagen auf. Dieses geht mit einer erhöhten Mortalität einher [78, 90, 125, 129]. Im Hinblick auf ein stets älter werdendes Patientenkollektiv wurden bislang viele Anstrengungen unternommen, das perioperative Risiko elektiver herzchirurgischer Patienten zu ermitteln und gleichzeitig durch individuelle Therapieplanung zu minimieren. Hierzu werden verschiedene Scoring-Systeme wie der EuroSCORE (*European system for cardiac operative risk evaluation*), der seit dem Oktober 2011 in einer zweiten modifizierten Fassung vorliegt, oder der STS-Score (*Society of thoracic surgeons-Score*) eingesetzt.

Herzchirurgische Patienten werden in der Regel einer sehr ausführlichen präoperativen Diagnostik zugeführt. Dennoch gibt es nach wie vor große interindividuelle Unterschiede im perioperativen Verlauf, deren Ursache unklar bleibt. Klinische und biochemische Faktoren, die bislang für die Entwicklung des akuten Nierenversagens identifiziert worden sind, erklären das individuelle Risiko nur teilweise. Ein Ansatz zur Prädiktion und präoperativen Risikostratifizierung stellt die Identifikation möglicher genetischer Risikofaktoren dar.

Eine diskutierte Ursache für das postoperative Nierenversagen nach EKZ stellt eine vasomotorische Dysregulation dar. Das Enzym, welches maßgeblich am Katecholaminmetabolismus beteiligt ist und infolgedessen auch einen konsekutiven Einfluss auf den Gefäßtonus ausübt, ist die Catechol-O-Methyltransferase [4]. Dieses Enzym weist einen Einzelnukleotid-Polymorphismus auf. Durch einen Austausch der

Aminosäure Valin durch Methionin im Codon 158 des COMT-Gens entstehen je nach Allelverteilung drei verschiedene Gruppen mit unterschiedlicher Enzymaktivität. Der sogenannte COMT-Val158Met-Polymorphismus ist bislang mit mehreren Krankheitsmerkmalen und Krankheitsassoziationen in Verbindung gebracht worden. In dieser Arbeit wird der Einfluss dieses Einzelnukleotidpolymorphismus auf die postoperative Nierenfunktion bei 1741 Patienten nach Operationen mit kardiopulmonalem Bypass untersucht.

Herzchirurgische Eingriffe mit EKZ zählen mit weltweit pro Jahr mehr als einer Million durchgeführter Operationen zu den häufigsten chirurgischen Verfahren. Die Anwendung der EKZ ist heute ein Standardverfahren, pro Jahr erfährt sie allein in Deutschland circa 80.000 Einsätze [18]. Eine bis heute bestehende Komplikation stellt das Auftreten eines systemischen Entzündungssyndroms durch Anwendung der EKZ dar [58]. Diese verläuft in unterschiedlichen Schweregraden. Bei nahezu einem Viertel aller herzchirurgischen Patienten kommt es zum sogenannten „Post-Perfusions-Syndrom“, die klinische Ausprägung ist jedoch gering und zeitlich limitiert. Allerdings entwickeln 2-10 % dieser Patienten das Vollbild des sogenannten *systemic-inflammatory-response-syndrom* (SIRS). Dieses kann in verschiedenen Schweregraden auftreten, im Extremfall führt es zum Multiorganversagen.

Die Pathophysiologie des SIRS ist nach wie vor nicht vollständig verstanden, viele Faktoren während der EKZ werden in Zusammenhang mit diesem Syndrom gebracht. Zum einen materialabhängige Faktoren wie der Kontakt des Patientenblutes mit nicht physiologischen Oberflächen, die Kardioplegie, Hämodilution, der intrapulmonale Rechts-Links-Shunt und die Hypothermie durch die

Anwendung der EKZ, zum anderen materialunabhängige Faktoren wie das operative Trauma mit Ischämie-Reperfusionsschäden und die Freisetzung von Endotoxinen [55, 71].

## **1.2 Pathophysiologie des SIRS und des Nierenversagens nach EKZ**

Bekannt ist seit längerem, dass inflammatorische Prozesse im Körper nicht nur durch Infektionen, sondern auch traumatisch, toxisch, immunologisch und ischämisch ausgelöst werden können. Das Ziel ist hierbei eigentlich die Einleitung reparativer Prozesse. Durch Aktivierung zellulärer und humoraler Mediatorsysteme kann es allerdings auch zu überschießenden Reaktionen mit Schädigung körpereigener Strukturen bis hin zur manifesten Organschädigung kommen.

Bei allen herzchirurgischen Eingriffen mit EKZ kommt es zu einer individuellen Immunantwort mit Komplementaktivierung, Freisetzung von Zytokinen, Aktivierung von Leukozyten mit konsekutiver Expression von Adhäsionsmolekülen sowie der Freisetzung von Sauerstoffradikalen, Arachidonsäuremetaboliten, plättchenaktivierendem Faktor, Endothelin und Stickstoffoxid (NO) [15, 41, 134]. Das Komplementsystem wird durch den Fremdoberflächenkontakt des Blutes über den alternativen Weg mit Bildung von C3a und C5a aktiviert, die Protaminase zur Heparinantagonisierung aktiviert den klassischen Weg und erhöht die Gefäßpermeabilität.

Die Induktion spezifischer Adhäsionsmoleküle (Selektine, Integrine und Immunglobuline) zusammen mit der Aufregulation leukozytärer Adhäsionsrezeptoren führt zur Infiltration verschiedener Gewebe durch zirkulierende Leukozyten. Diese sogenannte Diapedese stellt einen der grundlegenden Pathomechanismen des SIRS

dar [15, 123]. Die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten führt zur Freisetzung von Sauerstoffradikalen. Diese erhöhen durch Reaktion mit Lipiden die Membranpermeabilität. Beteiligt sind zusätzlich Endotoxine, durch Endothelischämie nach Vasokonstriktion mesenterialer Gefäße werden diese freigesetzt und führen über den alternativen Weg zur Aktivierung des Komplementsystems und zur weiteren Freisetzung von Zytokinen und TNA-alpha sowie zur gesteigerten Bildung von NO durch Endothelzellen mit nachfolgender Vasodilatation.

In der Frühphase nach EKZ überwiegen pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6, IL-8 und TNA-alpha, anschließend anti-inflammatorische Faktoren wie IL-4, IL-10 und IL-13 [70, 72, 73, 86, 122, 126, 136]. Das Verhältnis von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen sowie zwischen vasodilatativen und vasokonstriktorischen Faktoren nach und während der EKZ ist somit verantwortlich für die komplexe Dynamik und die klinische Ausprägung der Immunantwort.

Die aufgeführten inflammatorischen Reaktionen führen allesamt zu Veränderungen des Vasotonus und der mikrovaskulären Permeabilität. Hierbei kommt es zu Beeinträchtigungen der Mikrozirkulation bis hin zum Vollbild des Capillary-Leakage-Syndroms und des Multiorganversagens. Nahezu alle Patienten weisen nach EKZ eine temporäre Vasodilatation mit vermindertem peripherem Gefäßwiderstand auf. Zur Aufrechterhaltung eines suffizienten Blutdruckes nach der Entwöhnung von der Herz-Lungen-Maschine ist daher perioperativ trotz ausreichender Volumengabe und suffizientem Herzzeitvolumen regelmäßig die Gabe von Vasopressoren notwendig [10, 90].

Eine Hauptkomplikation des SIRS ist in der klinischen Praxis die Nierenschädigung. Bis zu 50 % der Patienten nach kardiopulmonalem Bypass erleiden ein akutes Nierenversagen, welches mit deutlich erhöhter Mortalität einhergeht [1, 22, 24, 82, 116, 124]. Hierbei muss unterschieden werden zwischen einer subklinischen renalen Schädigung, welche mitunter laborchemisch gar nicht nachweisbar ist, bis hin zur permanenten postoperativen Dialysepflichtigkeit. Durchgesetzt für die Einteilung der Nierenschädigung haben sich die 2004 festgelegten RIFLE-Kriterien [6, 9, 36] (siehe Tabelle 1).

**Tabelle 1:** In folgender Tabelle ist die Klassifikation des akuten Nierenversagens nach RIFLE-Kriterien (*Risk – Injury – Failure – Loss – ESRD (end stage renal disease)*) aufgeführt. Der Grad der Organinsuffizienz wird anhand des Serumkreatinins und der Urinausscheidung definiert.

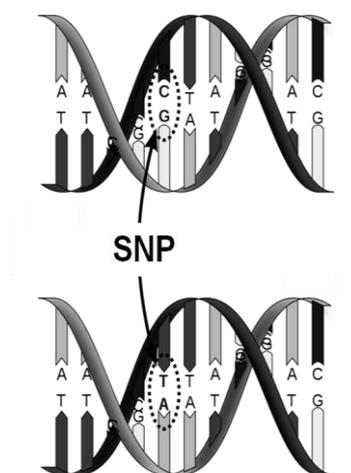
<b>RIFLE-Kriterium</b>	<b>Serumkreatinin</b>	<b>Urin-Ausscheidung</b>
<b><i>Risk</i></b>	1,5- bis 2-facher Kreatininanstieg	<0,5 ml/kg/h für 6 h
<b><i>Injury</i></b>	2- bis 3-facher Kreatininanstieg	<0,5 ml/kg/h für 12 h
<b><i>Failure</i></b>	> 3-facher Kreatininanstieg oder Serumkreatinin > 4 mg/dl mit einem akuten Anstieg $\geq 0,5$ mg/dl	<0,3 ml/kg/h für 24 h oder fehlende Urinausscheidung (Anurie) für 12 h
<b><i>Loss</i></b>	Dauerhaftes Nierenversagen für > 4 Wochen	
<b><i>ESRD</i></b>	Dauerhaftes Nierenversagen für > 3 Monate	

Als gesicherte präoperative Risikofaktoren für das postoperative Nierenversagen nach EKZ gelten Diabetes mellitus, eingeschränkte linksventrikuläre Funktion, hohes Lebensalter, Rauchen und insbesondere ein erhöhtes Serumkreatinin. Im perioperativen Verlauf konnten weitere Risikofaktoren identifiziert werden, dazu gehören operationsabhängige Parameter der EKZ wie die Bypass- und die Aortenabklemmzeit, die Gabe von Diuretika und hypotensive Kreislaufphasen. Als postoperative Risikofaktoren werden angegeben: Erythrozytentransfusion, Vasokonstriktorengabe, Gabe von Inotropika, Diuretika und Antiarrhythmika [85, 103].

Trotz dieser bekannten Pathomechanismen ist das Auftreten und die individuelle Ausprägung des Nierenversagens nach herzchirurgischen Eingriffen (*cardiac surgery associated acute kidney injury*, CSA-AKI) nach wie vor kaum vorhersehbar. In jüngster Zeit wird daher auch der Einfluss genetischer Faktoren auf das postoperative Nierenversagen nach EKZ diskutiert.

### 1.3 Genetische Variabilität

Im Hinblick auf eine personalisierte Medizin gewinnt die Untersuchung der genetischen Variabilität von Patienten zusehends an Bedeutung. In genomweiten Assoziationsstudien konnte gezeigt werden, dass für verschiedene Einzelnukleotid-Polymorphismen, sogenannte SNPs (*single nucleotide polymorphisms*), eine Korrelation zu bestimmten Krankheitsmerkmalen besteht, sodass deren Analyse aktuell sehr an Bedeutung gewinnt [130]. In Abbildung 1 ist ein SNP schematisch dargestellt.

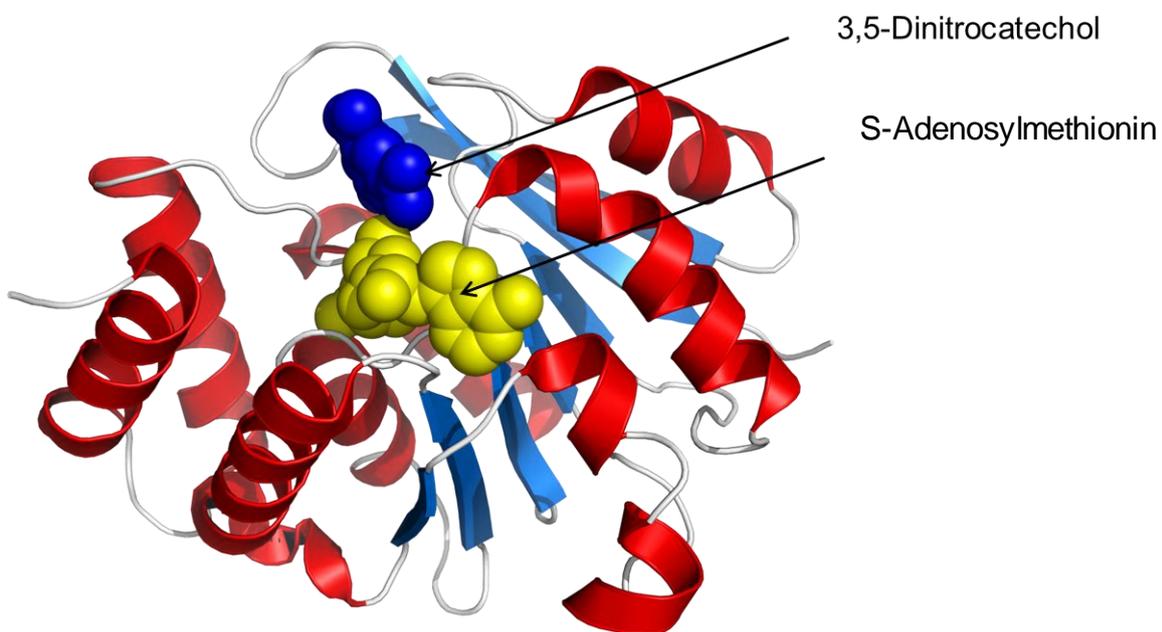


**Abbildung 1: Single Nucleotide Polymorphismus (mod. nach Hall 2007). Das obere DNA-Molekül unterscheidet sich vom unteren DNA-Molekül lediglich in einem Basenpaar. Das Basenpaar ist durch eine punktförmige Ellipse markiert.**

Das menschliche Genom enthält circa 3 Milliarden Basenpaare. Als SNPs werden Variationen einzelner Basenpaare der DNA bezeichnet, die mit einer Frequenz von mehr als 1 % in einer Population vorkommen. Deren Anzahl wird auf circa 6 Millionen geschätzt [130]. Sie sind mitverantwortlich für die hohe Variabilität des menschlichen Genoms und damit auch des Phänotyps. Circa 90 % aller genetischen Varianten des menschlichen Genoms sind auf SNPs zurückzuführen, dabei sind diese nicht gleichverteilt, sondern treten in bestimmten Gen-Regionen mit unterschiedlicher Häufigkeit auf. Bei zwei Dritteln aller SNPs wird Cytosin durch Thymin (sog. Transition Pyrimidin- zu Pyrimidinbase) ausgetauscht. Hierbei kann es je nach Basenaustausch zu einer Informationsveränderung des Codons kommen. Bei einem sogenannten synonymen SNP codiert das Triplett weiterhin für dieselbe Aminosäure, bei einem nicht-synonymen SNP erfolgt ein Aminosäureaustausch. Liegt dieser in einer codierenden Region, kann es durch eine veränderte Polypeptidsequenz zu physiologischen Defekten kommen.

## **1.4 Funktion der Catechol-O-Methyltransferase und Bedeutung des COMT-Val158Met-Polymorphismus**

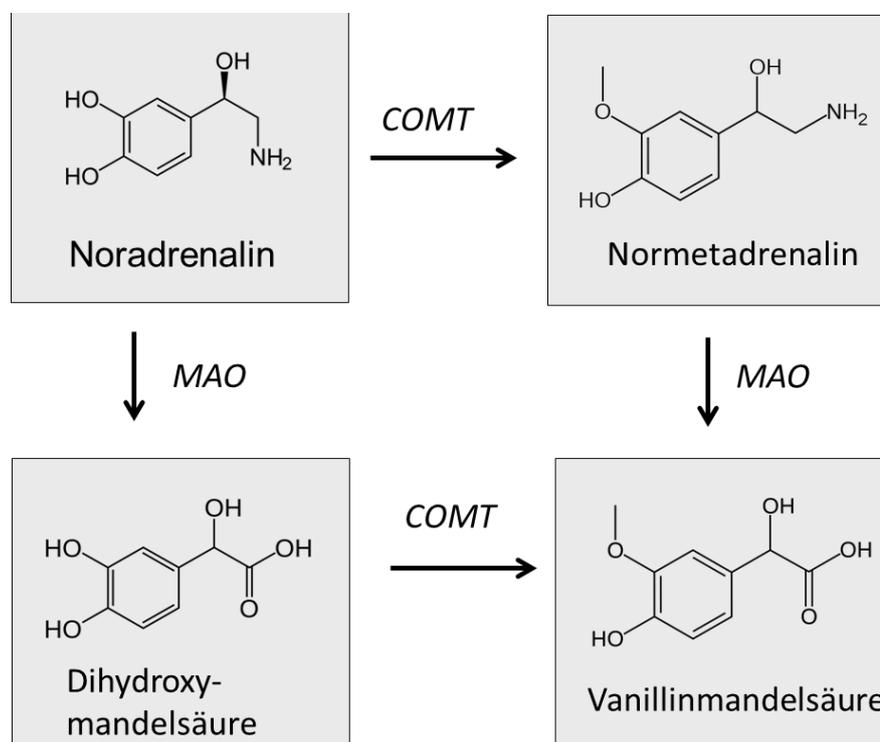
Einer der bislang sehr gut untersuchten SNPs ist der COMT-Val158Met-Polymorphismus. Durch einen Austausch der Nukleinbasen Guanin zu Adenin im Codon 158 des COMT-Gens entsteht ein Austausch von Valin durch Methionin. Dieser Polymorphismus resultiert in drei verschiedenen Genotypen (Val/Val, Val/Met, Met/Met) mit je nach Allelverteilung unterschiedlicher Aktivität der Catechol-O-Methyltransferase (COMT), einem Enzym, welches eine wichtige Rolle bei der Metabolisierung von Neurotransmittern und Katecholaminen spielt. Abbildung 2 zeigt ein Bändermodell der humanen S-COMT (*soluble*-COMT).



**Abbildung 2: Bändermodell von menschlicher S-COMT im Komplex mit 3,5-Dinitrocatechol (blau) und S-Adenosylmethionin (gelb), modifiziert nach Rutherford K, 2008, J Mol Biol**

In vorangegangenen Arbeiten konnten vor allem Krankheiten des psychiatrischen und neurologischen Formenkreises mit diesem SNP in Zusammenhang gebracht werden. Die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) ist bei der enzymatisch katalysierten Methylierung von Katecholaminen beteiligt. Ende der 1950er-Jahre wurde das Enzym von Axelrod und Kollegen erstmalig isoliert und charakterisiert.

Durch die COMT wird der Transfer einer Methylgruppe von S-Adenosyl-L-Methionin (AdoMet) zu einer Hydroxylgruppe des Katecholsubstrates katalysiert und dieses dadurch in eine inaktive Form überführt [49]. Abbildung 3 zeigt die Beteiligung der COMT beim Abbau von Noradrenalin.



**Abbildung 3: Schematische Darstellung des Noradrenalin-Metabolismus.**  
 Die Abbildung zeigt schematisch die Aufgabe von COMT (Catechol-O-Methyltransferase) und MAO (Monoaminoxidase) bei der Metabolisierung von Noradrenalin.

Durch den Austausch von Guanin gegen Adenin im Codon 108/158 wird die Aminosäure Valin durch Methionin an Position 108 der S-COMT (*soluble*) bzw. 158 der MB-COMT (*membran bound*) substituiert. Hierdurch resultiert eine trimodale Enzymverteilung, verursacht durch autosomal-codominante Allele, mit einer COMT(LL)-Form (COMT(Low/Low), Met/Met-Genotyp); einer COMT(HH)-Form (COMT(High/High), Val/Val-Genotyp) und einer heterozygoten COMT(HL)-Form (COMT(High/Low), Val/Met-Genotyp). Dieser Polymorphismus führt zu einer 3-4fach reduzierten Enzymaktivität bei der COMT(LL)-Form [75].

Scanlon et al. konnten 1979 zeigen, dass dieser Unterschied durch eine Thermolabilität der LL-Form bedingt ist [111]. Die COMT(LL)-Form verursacht einen erhöhten Plasmakatecholaminspiegel durch verminderte Metabolisierung. Für die Noradrenalinmetabolisierung im synaptischen Spalt ist die COMT von untergeordneter Bedeutung, diese geschieht durch die Monoaminoxidase und ein spezifisches Transportsystem [34].

### **1.5 COMT-Val158Met-Polymorphismus-assoziierte Krankheitsbilder**

Im Bereich psychiatrischer und neurologischer Krankheitsbilder konnten Auswirkungen des verschiedenen COMT-Genotyps auf die Krankheitsausprägung bzw. das Vorhandensein bestimmter Verhaltensmuster nachgewiesen werden. Volavka et al. konnten 2004 zeigen, dass der LL-Genotyp bei psychiatrischen Patienten in Zusammenhang mit gesteigertem aggressiven Verhalten steht [131]. Strous et al. konnten sowohl gesteigertes aggressives, als auch selbst- und fremdgefährdendes Verhalten bei Patienten mit Schizophrenie, die homozygote L-Allel-Träger waren, nachweisen [118]. Diese Hinweise wurden von anderen

Arbeitsgruppen bestätigt [97, 119]. Weitere Studien zeigten einen Bezug des COMT-Genotyps auf individuelle Persönlichkeitsmerkmale wie Neugierverhalten (*novelty seeking*), Problemvermeidung (*harm avoidance*), sowie Schmerzverarbeitung und Anfälligkeit für Gefühle wie Angst und Niedergeschlagenheit [37, 93, 107, 108, 112, 128]. In Verbindung mit erhöhter Koffeinzufuhr sowie erhöhtem Serumhomocysteinspiegel ergab sich in Verbindung mit dem COMT-Val158Met-Polymorphismus eine vermehrte Rate an akuten Koronarereignissen [54, 133].

2009 wurde im Rahmen einer Pilotstudie publiziert, dass der COMT(LL)-Genotyp einen Einfluss auf die Häufigkeit eines Nierenversagens nach Operationen mit extrakorporaler Zirkulation habe [50]. Die Autoren vermuten, dass ein erhöhter Plasmakatecholaminspiegel zur vermehrten Vasodilatation durch Herabregulation und Desensibilisierung der Alpha-Adrenorezeptoren führt. In einer Studie mit 260 Patienten zeigte sich ein COMT(LL)-Genotyp als unabhängiger Risikofaktor für Schock, Krankenhausverweildauer und akutes Nierenversagen.

## **1.6 Fragestellung und Ziel der Arbeit**

In der vorliegenden Arbeit soll der Einfluss des COMT-Val158Met-Polymorphismus auf die postoperative Nierenfunktion bei herzchirurgischen Patienten nach Operationen mit EKZ im Hinblick auf ein vermutetes erhöhtes Risiko des Met/Met-Genotyps im Vergleich zum Wildtypgenotyp untersucht werden.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign und Patientenkollektiv**

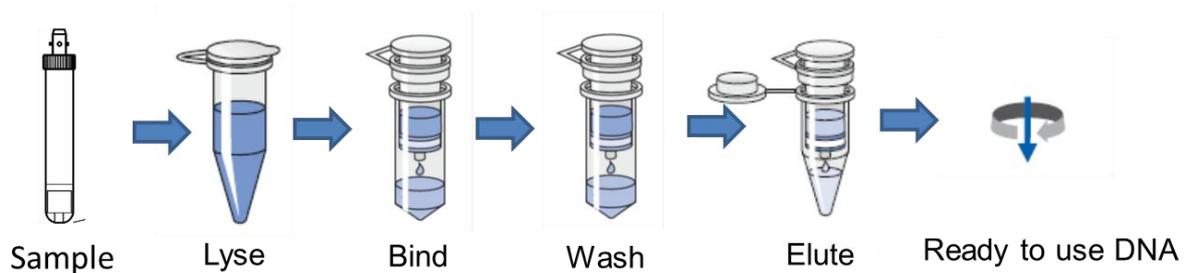
Im Zeitraum zwischen Dezember 2006 und Juli 2009 wurden in der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie im Deutschen Herzzentrum München, Klinik der Technischen Universität München, 1741 Patienten vor elektiven kardiochirurgischen Eingriffen unter Verwendung der extrakorporalen Zirkulation nach vorliegendem Ethikantrag genotypisiert. Bei Patienten, die sich mehreren Operationen mit HLM unterzogen, wird nur jeweils die Probe des ersten Eingriffes in die Datenbank mit eingeschlossen. Exkludiert werden 23 Patienten mit Endokarditis, 3 Patienten nach Nierentransplantation, 2 Patienten nach Nephrektomie, sowie 12 Patienten mit präoperativer Dialysepflichtigkeit.

### **2.2 DNA-Extraktion**

Im Rahmen der Aufnahmelaboruntersuchung wird nach erfolgter Aufklärung eine zusätzliche Gerinnungs-Monovette (S-Monovette Gerinnung Citrat 5,0 ml) abgenommen und aus dieser mittels des DNeasy-Blood-and-Tissue-Kits (Qiagen, Hilden, Deutschland) genomische DNA extrahiert. Hierzu werden 20 µl Proteinase K (40 mAU/mg Protein) in ein Eppendorfröhrchen pipettiert und 200 µl Vollblut zugeführt. Es werden 200 µl Pufferlösung AL zugefügt, die Probe wird ausgiebig gevortext und 10 min bei 56° C inkubiert. Danach werden 200 µl Ethanol (96-100 %) zugefügt und erneut für 15 Sekunden gevortext. Anschließend wird der Probeninhalt in das DNeasy-Mini-Spin-Column-Probengefäß überführt, bei 8000 Umdrehungen pro Minute (6500 x g) zentrifugiert und der Durchfluss verworfen. Danach wird die

Spin-Column jeweils mit einem neuen Probengefäß mit 500 µl AW1-Pufferlösung bei 8000 rpm für 1 Minute und mit 500 µl AW2-Pufferlösung 3 min bei 14.000 rpm gewaschen, wobei der Durchfluss jeweils verworfen wird. Anschließend wird die Säule erneut für 1 min bei 14.000 rpm zentrifugiert. Dieser Schritt dient dazu, einen Übertrag von Ethanol zu verhindern, der nachfolgende PCR-Analysen inhibiert.

Danach wird die Säule auf ein frisches Eppendorfröhrchen gesetzt. Zur Elution der DNA werden 200 µl AE Pufferlösung direkt auf die Membran der Säule pipettiert und diese für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die aufgereinigte DNA wird durch Zentrifugation für 1 Minute bei 8000 rpm eluiert und die Konzentration photometrisch bestimmt. Die aufgereinigte DNA kann direkt in nachfolgenden PCR-Reaktionen eingesetzt werden. Das Prinzip der DNA-Extraktion ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.



**Abbildung 4:** Dargestellt sind die Schritte der DNA-Aufreinigung der Blutprobe bei Verwendung des Qiagen DNEasy Blood & Tissue Kits (mod. nach Qiagen, 2006).

### **2.3 Real-Time-PCR und Schmelzkurvenanalyse**

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) ist eine Methode zur spezifischen, exponentiellen Amplifikation eines definierten DNA-Abschnittes (*template*). Dieser kann eine Länge von bis zu mehreren Tausend Basenpaare (*base pairs*, bp) aufweisen. Die Spezifität wird durch zwei Primer gewährleistet. PCR-Primer sind circa 18 bis 25 bp lange künstlich synthetisierte Oligonukleotide, die komplementäre Basensequenzen zu den Enden der Zielsequenz aufweisen. In drei Reaktionsschritten geschieht mittels einer hitzestabilen *Taq*-Polymerase die exponentielle Vervielfältigung der DNA unter definierten Reaktionsbedingungen.

Im ersten Schritt erfolgt bei etwa 94 °C die Denaturierung der DNA zu Einzelsträngen. Anschließend binden bei Temperaturen zwischen 55 und etwa 64 °C die Primer an die entsprechende Zielsequenz (*annealing*). Unter Verwendung der im Reaktionsansatz enthaltenen Desoxyribonukleosid-Triphosphate synthetisiert die *Taq*-Polymerase neue, zum vorliegenden Einzelstrang komplementäre DNA-Stränge (Extension) bei einer Temperatur von 72 °C. Durch mehrfache Wiederholung dieser drei Reaktionsschritte (im Allgemeinen 40 Zyklen) wird der zwischen den Primern liegende DNA-Abschnitt exponentiell amplifiziert.

Die LightCycler-Technologie basiert auf dem Prinzip der konventionellen PCR und bietet zusätzlich den Vorteil, dass die Dauer der Temperaturprogramme deutlich verkürzt und der Verlauf der PCR anhand von Fluoreszenzsignalen direkt verfolgt werden kann. Durch Hybridisierungssonden ist außerdem die sofortige Detektion von Mutationen der untersuchten DNA nach dem FRET-Prinzip (Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer) möglich. Diese Hybridisierungssonden sind zwei sequenzspezifische Oligonukleotide, welche dem Standard-PCR-Ansatz zugefügt

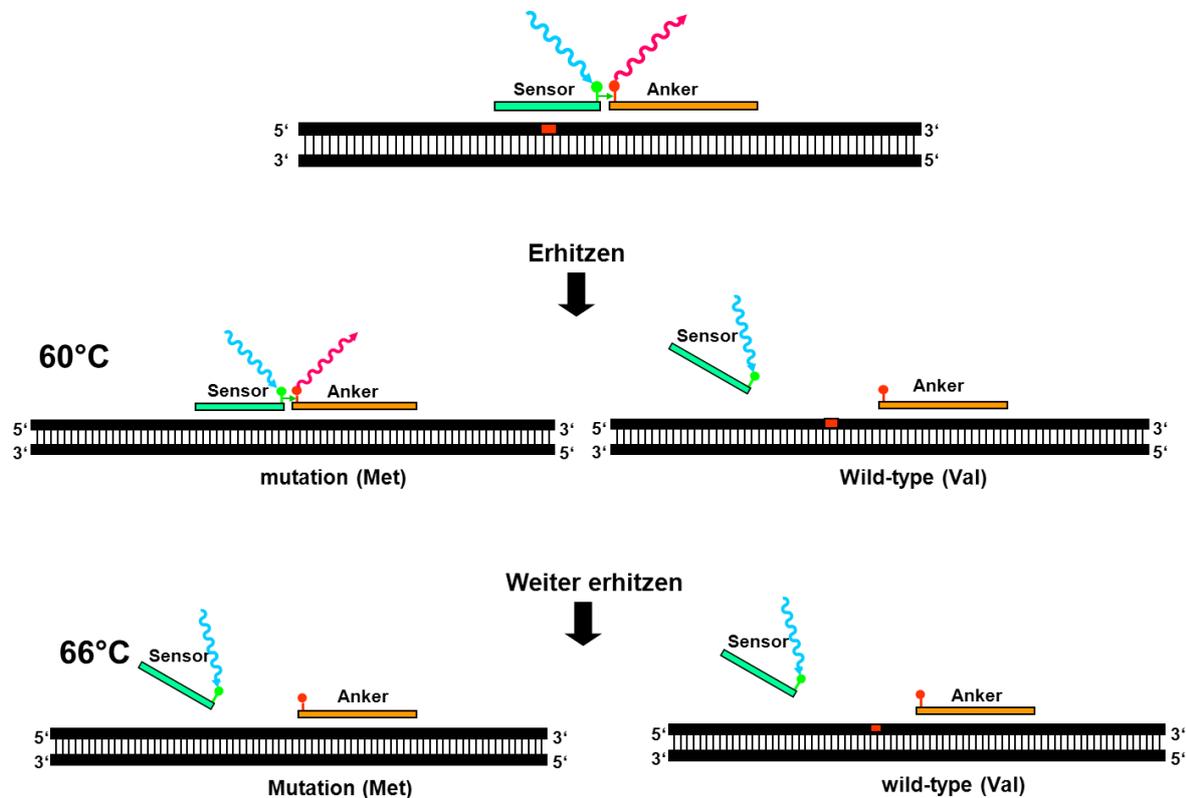
werden. Sie binden in räumlicher Nähe zwischen den beiden Primern an die Ziel-DNA. Die Sonden (Sensor, Anker, s. Abb. 5) sind mit zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert (Fluorescein und LC-Red 640), das Fluorescein wird mit einer 470-nm-Leuchtdiode des LightCyclers™ angeregt und überträgt bei Bindung beider Hybridisierungssonden an die DNA Energie auf das benachbarte rote Fluorophor, welches daraufhin eine rote Fluoreszenz bei 640 nm emittiert. Diese rote Fluoreszenz wird während der Amplifikation als Signal detektiert.

Im Anschluss an die PCR erfolgt die Detektion der Mutationen in der sogenannten Schmelzkurvenanalyse. Nach dem letzten Zyklus wird das Reaktionsgemisch auf 40 °C abgekühlt, sodass alle Komponenten an ihre komplementären DNA-Sequenzen binden. Dabei erfolgt eine schrittweise, langsame Erhöhung der Temperatur, wobei das emittierte Fluoreszenzsignal kontinuierlich gemessen wird. Abhängig von der Bindungsaffinität und Sequenz der Sonden lösen diese sich nun bei einer spezifischen Temperatur von der DNA ab und das FRET-Signal verschwindet. Bei Ableitung des FRET-Wertes gegen die Temperatur erhält man ein Maximum bei der stärksten Abnahme des FRET-Signals pro Temperaturdifferenz, dies ist der Schmelzpunkt.

Beim Einsatz einer Wildtyp-Hybridisierungssonde im Bereich der gesuchten Mutation (Basensequenz komplementär zum Wildtyp-Allel) löst diese sich beim Vorhandensein einer Punktmutation bei niedrigerer Temperatur von der DNA ab als beim Vorliegen einer Wildtyp-Sequenz. Dadurch ergeben sich in der Schmelzkurvenanalyse je nach Genotyp der untersuchten Probe verschiedene Schmelzpunkte, einer bei niedriger Temperatur für die Mutation, einer bei höherer Temperatur für den Wildtyp. Die Detektion des COMT-Val158Met-Polymorphismus

erfolgt durch eine fluoreszenzbasierte Real-Time-PCR-Analyse mit anschließender Schmelzkurvenanalyse mit einem LightCycler 1.5 (Roche, Mannheim, Deutschland).

Abbildung 5 zeigt das Prinzip der fluoreszenzbasierten Real-Time-PCR.



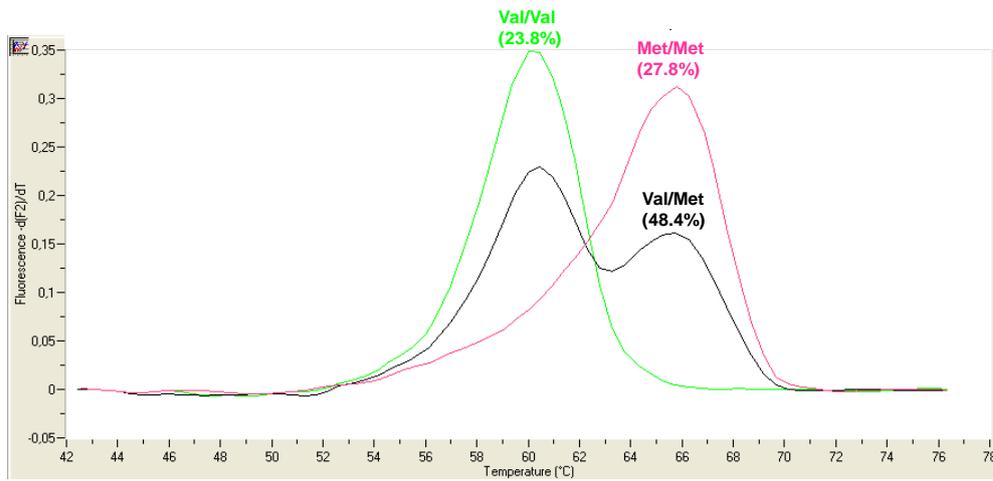
**Abbildung 5: Prinzip der fluoreszenzbasierten Real-Time-PCR, die erfolgreiche Amplifizierung wird durch die gemessene Fluoreszenz detektiert.**

Es wurden die folgenden Primer und Sensor-Proben benutzt (TIBMOLBIOL, Berlin, Deutschland): Forward-Primer 5' GGG CCT ACT GTG GCT ACT CA 3', Reverse-Primer 5' GGC CCT TTT TCC AGG TCT G 3', Sensor-Probe 5' ATT TCG CTG GCA TGA AGG ACA AG-Fluorescein (spezifisch für das 158Met-Allel), Anchor-Probe 5' LC640-TGT GCA TGC CTG ACC CGT TGT CA 3'.

Die genomische DNA (1 µl) wird in einem Gesamtvolumen von 10 µl mit 0,4 U FastStart Taq-Polymerase (ROCHE) unter Zugabe folgender Reagenzien amplifiziert: 50 mM Tris/HCl, 10 mM KCl, 5 nM (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, pH-Wert 8,3; 2,5 mM

MgCl<sub>2</sub>, BSA (0,5 mg/ml), dNTPs (jeweils 0,2 mM), jeweils 650 nM für Forward- und Reverse-Primer und jeweils 188 nM Sensor- bzw. Anchor-Proben. Das Reaktionsgemisch wird 10 min bei 95 °C erhitzt, um die Taq-Polymerase zu aktivieren, gefolgt von 35 Zyklen bei 95 °C für 0 Sekunden, 57 °C für 10 Sekunden und 72 °C für 10 Sekunden. Die Detektion der erfolgreichen Amplifikation erfolgt in jedem Zyklus durch die Messung der roten Fluoreszenz während der Annealingphase.

Nach der Amplifizierung wird das PCR-Fragment einer Schmelzkurvenanalyse unterzogen. Es erfolgt ein erneutes Erhitzen auf 95 °C für 0 Sekunden, danach wird das Gemisch für 2 Minuten auf 40 °C heruntergekühlt und danach langsam (Aufwärmrate 0,1 °C/s) auf 80 °C erhitzt. Dabei wird kontinuierlich das Fluoreszenzsignal aufgezeichnet. Nach Abschluss der Schmelzkurvenanalyse werden mittels der LightCycler-Software die Schmelzpunkte (T<sub>m</sub>) der beiden Genotypen errechnet und graphisch gegenüber der Fluoreszenz aufgetragen. Hierbei zeigen sich die spezifischen Schmelzpunkte (T<sub>m</sub>) beider Allele, Valin (ca. 60,5 °C) und Methionin (ca. 66,5 °C). Abbildung 6 zeigt die Schmelzkurven für Val/Val, Val/Met und Met/Met.



**Abbildung 6: Die Abbildung zeigt die verschiedenen Schmelzkurven der COMT-Isoformen, diese können anhand unterschiedlicher Schmelzpunkte unterschieden werden.**

## **2.4 Statistische Analyse**

Alle statistischen Tests wurden mit IBM SPSS Statistics (Version 20; IBM, Armonk, NY) vorgenommen. Für kontinuierliche Variablen wurden Mittelwerte  $\pm$  eine Standardabweichung angegeben, im Falle ordinal skaliertes Variablen Anzahl und die dazugehörigen Prozentwerte. Für Mittelwertvergleiche zwischen den Gruppen wurde ein gepaarter T-Test nach Student bzw. eine unifaktorielle ANOVA herangezogen, für den Vergleich kategorialer Variablen ein  $\chi^2$ -Test verwendet. Für die Evaluierung bivariater Korrelationen wurde ein Korrelationskoeffizient nach Pearson errechnet. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde für alle Ergebnisse als signifikant angesehen.

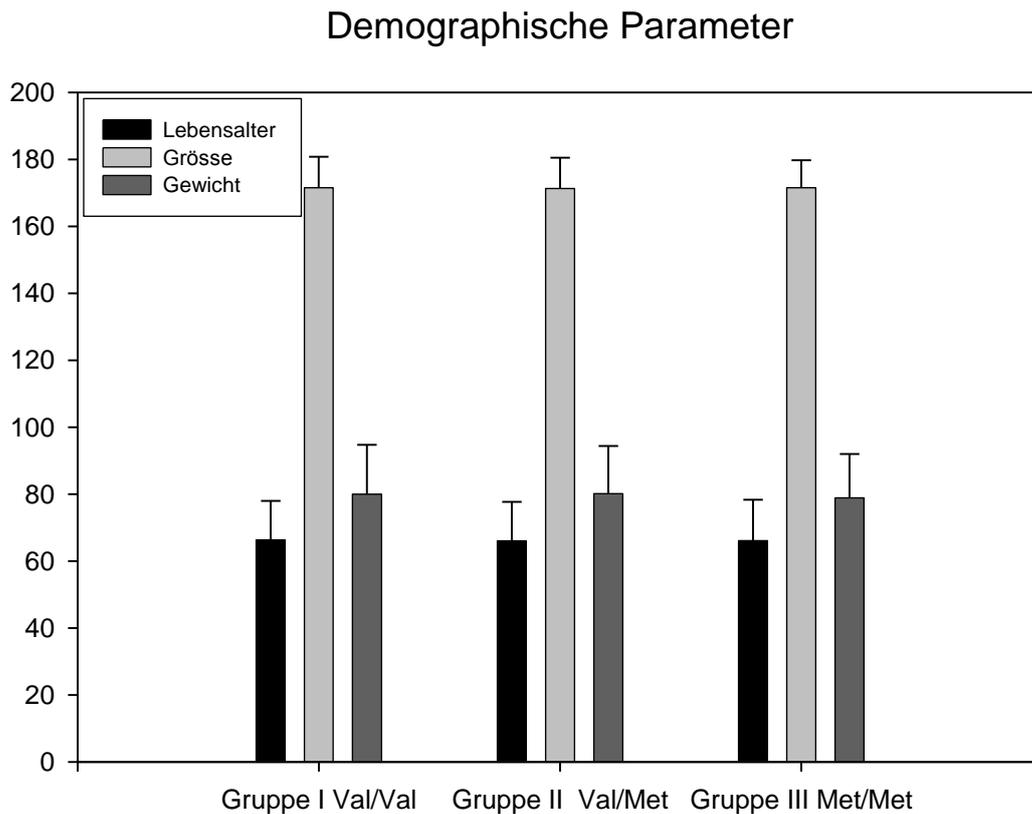
## 3. Ergebnisse

### 3.1 Demographische Parameter

In die Studie wurden 1741 Patienten eingeschlossen. Die Allel-Verteilung der Patienten zwischen homozygot und heterozygot entsprach annähernd dem Hardy-Weinberg-Equilibrium: Gruppe I (Val/Val) 417 Patienten (23,95 %), Gruppe II (Val/Met) 850 Patienten (48,82 %), Gruppe III (Met/Met) 474 Patienten (27,26 %). Die Geschlechterverteilung männlich/weiblich gesamt entsprach 1214 (69,73 %) zu 527 (30,27 %). Die Verteilung männlich/weiblich der einzelnen Gruppen war in Gruppe I 295 (70,75 %) zu 122 (29,25 %), in Gruppe II 596 (70,12 %) zu 254 (29,88 %), in Gruppe III 323 (68,14 %) zu 151 (31,86 %). Der Altersmittelwert betrug in Gruppe I  $66,33 \pm 11,62$  Jahre, in Gruppe II  $66,01 \pm 11,67$  Jahre, in Gruppe III  $66,08 \pm 12,28$  Jahre. Das Gewicht in Gruppe I betrug  $80,00 \pm 14,74$  kg, in Gruppe II  $80,16 \pm 14,21$  kg, in Gruppe III  $78,87 \pm 13,11$  kg. Die Größe der Probanden in Gruppe I betrug  $171,54 \pm 9,23$  cm, in Gruppe II  $171,30 \pm 9,3$  cm, in Gruppe III  $171,50 \pm 8,2$  cm. Die demographischen Unterschiede waren innerhalb der Gruppen nicht signifikant.

**Tabelle 2: Die Tabelle zeigt die demographische Verteilung des untersuchten Patientenkollektivs. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der in die Untersuchung einbezogenen Patienten (n.s.= nicht signifikant).**

Parameter	Gruppe I Val/Val	Gruppe II Val/Met	Gruppe III Met/Met	Signifikanz
Lebensalter [Jahre]	66,33 ± 11,62	66,01 ± 11,67	66,08 ± 12,28	n.s.
Gewicht [kg]	80,00 ± 14,74	80,16 ± 14,21	78,87 ± 13,11	n.s.
Größe [cm]	171,54 ± 9,23	171,3 ± 9,3	171,5 ± 8,2	n.s.
Harnstoff [mg/dl]	45,82 ± 24,78	43,01 ± 22,03	43,17 ± 23,67	n.s.
Hämoglobin [g/dl]	13,59 ± 1,56	13,59 ± 1,52	13,64 ± 1,53	n.s.
Kreatinin präop. [mg/dl]	1,01 ± 0,38	1,0 ± 0,38	0,98 ± 0,31	n.s.
Kreatininmaximum [mg/dl]	1,22 ± 0,83	1,20 ± 0,84	1,17 ± 0,74	n.s.
Bypasszeit [min]	109,3 ± 44,24	106,6 ± 38,2	108,57 ± 42,4	n.s.
Aortenabklemmzeit [min]	75,08 ± 29,64	72,2 ± 27,3	74,2 ± 29,45	n.s.
Noradrenalingabe [d]	2,73 ± 6,25	2,61 ± 5,64	2,36 ± 3,66	n.s.
Fremdblut Summe [ml]	624,23 ± 1408,58	609,9 ± 1340,5	575,8 ± 1085,7	n.s.
Leukozyten [G/l]	7,18 ± 1,81	7,4 ± 2,41	7,70 ± 5,8	n.s.
Verweildauer [d]	16,9 ± 2,94	16,86 ± 2,95	16,88 ± 3,09	n.s.
Arterielle Hypertonie	289 (77,1 %)	586 (75,9 %)	327 (75,9 %)	n.s.
Diabetes mellitus	79 (24,5 %)	156 (22,6 %)	97 (24,9 %)	n.s.
Diuretikaehinnahme	154 (37,5 %)	324 (38,8 %)	184 (39,6 %)	n.s.
ACE-Hemmer- Einnahme	101 (24,6 %)	225 (27,0 %)	145 (31,2 %)	n.s.

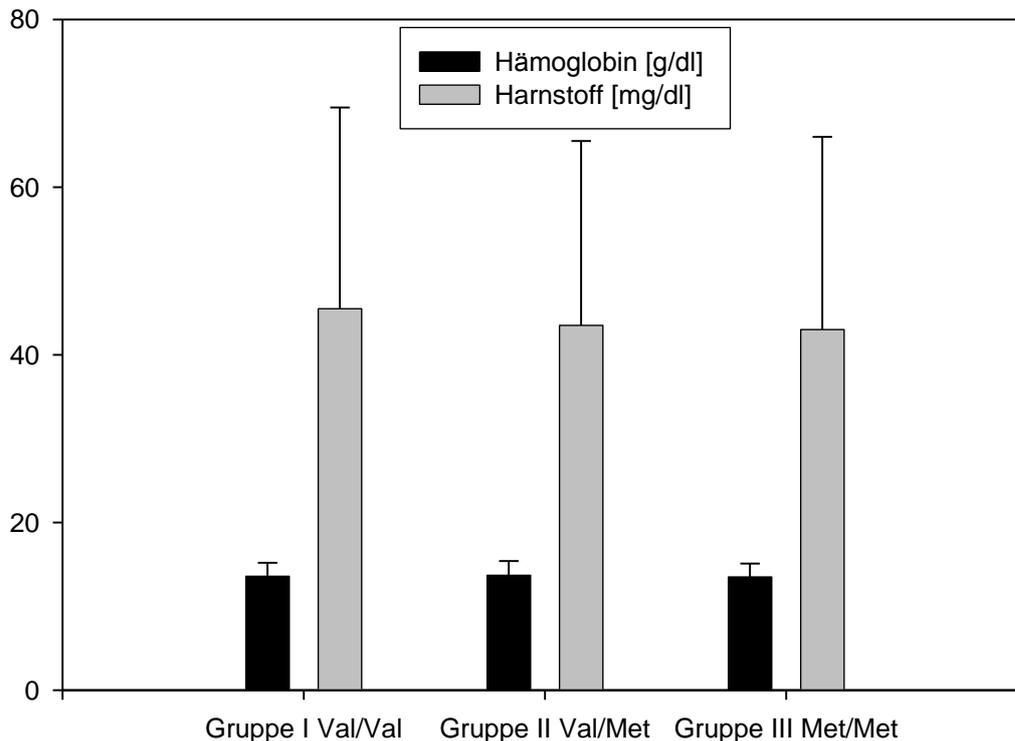


**Abbildung 7:** Die Abbildung zeigt die demografische Verteilung von Lebensalter (Jahre), Größe (cm) und Gewicht (kg) des untersuchten Kollektivs (Mittelwerte und Standardabweichung). Die einzelnen Gruppen sind homogen verteilt, zwischen den Gruppen kann kein signifikanter Unterschied der Parameter ermittelt werden.

### **3.2 Laborparameter bei Aufnahme**

Der Hämoglobinwert bei Aufnahme betrug in Gruppe I  $13,59 \pm 1,56$  g/dl, in Gruppe II  $13,59 \pm 1,52$  g/dl, in Gruppe III  $13,64 \pm 1,53$  g/dl. Der Harnstoffwert bei Aufnahme betrug in Gruppe I  $45,82 \pm 24,78$  mg/dl, in Gruppe II  $43,01 \pm 22,03$  mg/dl, in Gruppe III  $43,17 \pm 23,67$  mg/dl; der Leukozytenwert bei Aufnahme lag in Gruppe I bei  $7,18 \pm 1,81$  G/l, in Gruppe II bei  $7,4 \pm 2,41$  G/l, in Gruppe III bei  $7,70 \pm 5,8$  G/l. Die Unterschiede für Hämoglobinwert, Harnstoffwert und Leukozytenzahl innerhalb der Gruppen waren nicht signifikant, Abbildung 8 zeigt die Verteilung der erhobenen Werte bei Aufnahme.

## Laborparameter bei Aufnahme



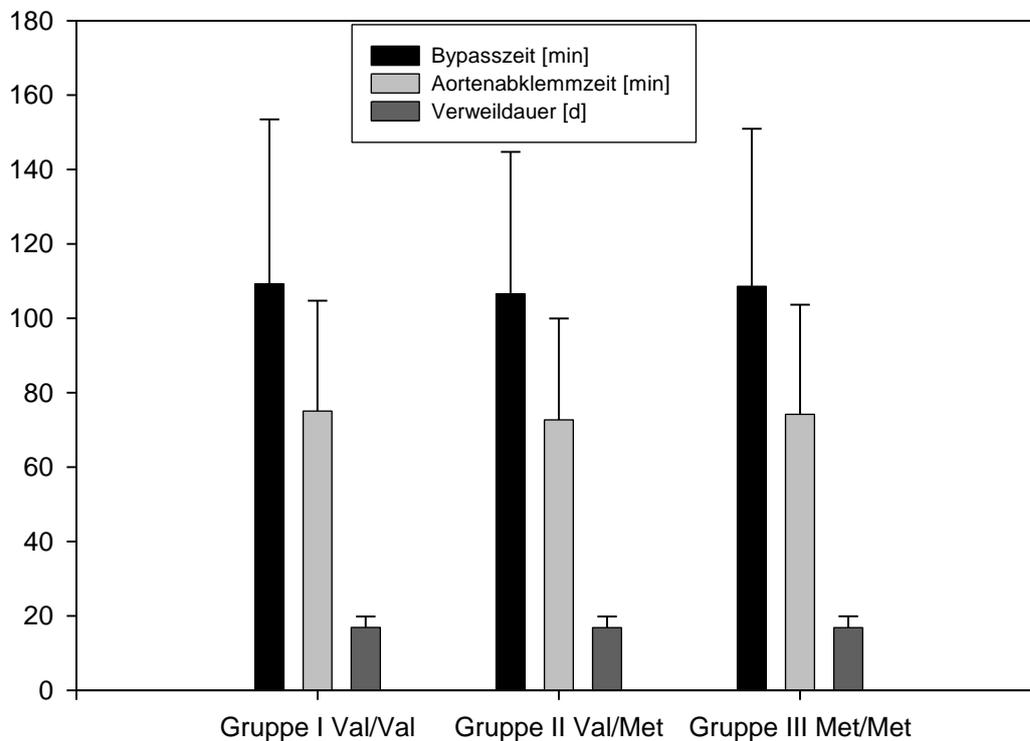
**Abbildung 8:** Die Abbildung zeigt die demografische Verteilung des Hämoglobinwertes und des Harnstoffwertes des untersuchten Kollektivs (Mittelwerte und Standardabweichung). Die einzelnen Gruppen sind homogen verteilt, zwischen den Gruppen kann kein signifikanter Unterschied der Parameter ermittelt werden.

### 3.3 Operationsabhängige Parameter und Verweildauer

Intraoperativ erhobene Parameter waren die Bypasszeit und die Aortenabklemmzeit. Die Bypasszeit betrug für Gruppe I  $109,3 \pm 44,24$  min, für Gruppe II  $106,6 \pm 38,2$  min, für Gruppe III  $108,57 \pm 42,4$  min; die Aortenabklemmzeit für Gruppe I betrug  $75,08 \pm 29,64$  min, für Gruppe II  $72,2 \pm 27,3$  min, für Gruppe III  $74,2 \pm 29,45$  min. Die Verweildauer für Gruppe I betrug  $16,9 \pm 2,94$  Tage, für Gruppe II  $16,86 \pm 2,95$  Tage, für Gruppe III  $16,88 \pm 3,09$  Tage. Die Unterschiede für Bypasszeiten,

Aortenabklemmzeiten und Verweildauer innerhalb der Gruppen waren nicht signifikant, die Zeiten sowie die Verweildauer sind in Abbildung 9 aufgeführt.

### Operationsabhängige Parameter

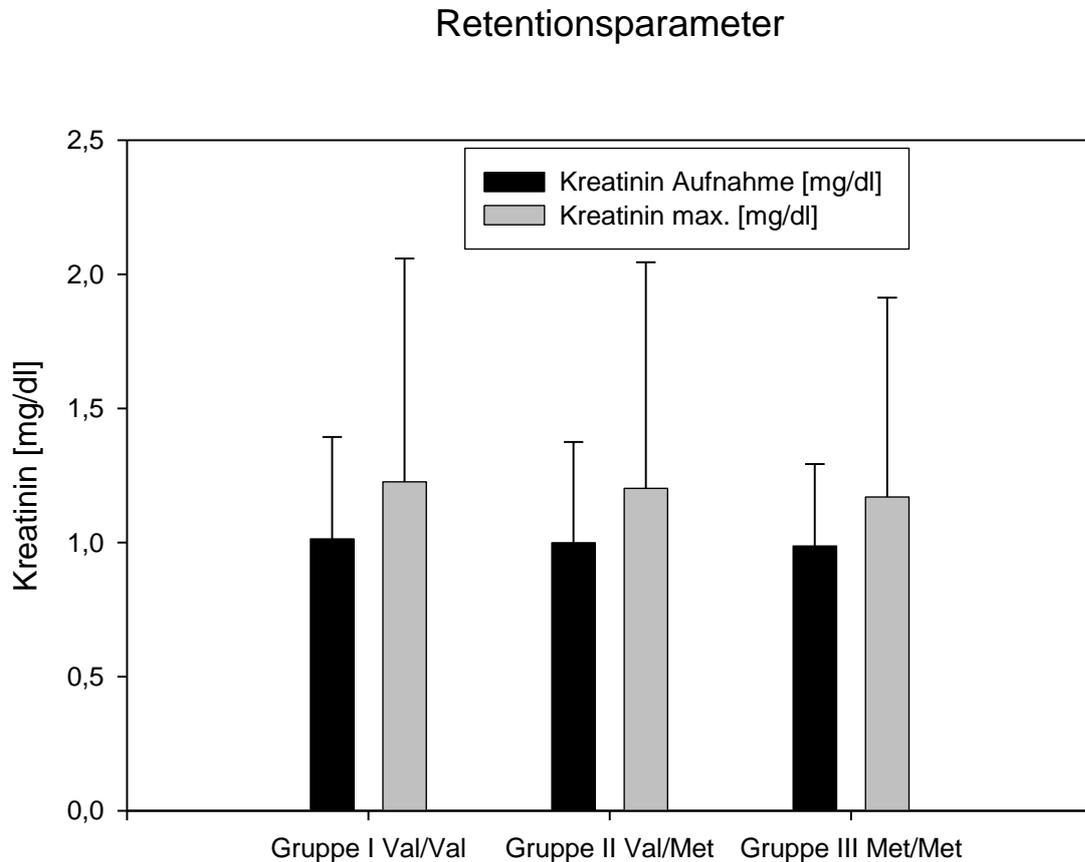


**Abbildung 9:** Die Abbildung zeigt die durchschnittliche Bypasszeit in Minuten, die Aortenabklemmzeit in Minuten sowie die Verweildauer in Tagen des untersuchten Kollektivs (Mittelwerte und Standardabweichung). Die einzelnen Gruppen sind homogen verteilt, zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied der Parameter ermittelt werden.

### 3.4 Retentionsparameter

Der Kreatininwert bei Aufnahme betrug in Gruppe I  $1,01 \pm 0,38$  mg/dl, in Gruppe II  $1,00 \pm 0,38$  mg/dl, in Gruppe III  $0,98 \pm 0,31$  mg/dl; der maximale Kreatininwert während des Klinikaufenthaltes betrug in Gruppe I  $1,22 \pm 0,83$  mg/dl, in Gruppe II  $1,20 \pm 0,84$  mg/dl, in Gruppe III  $1,17 \pm 0,74$  mg/dl. Die Unterschiede für den

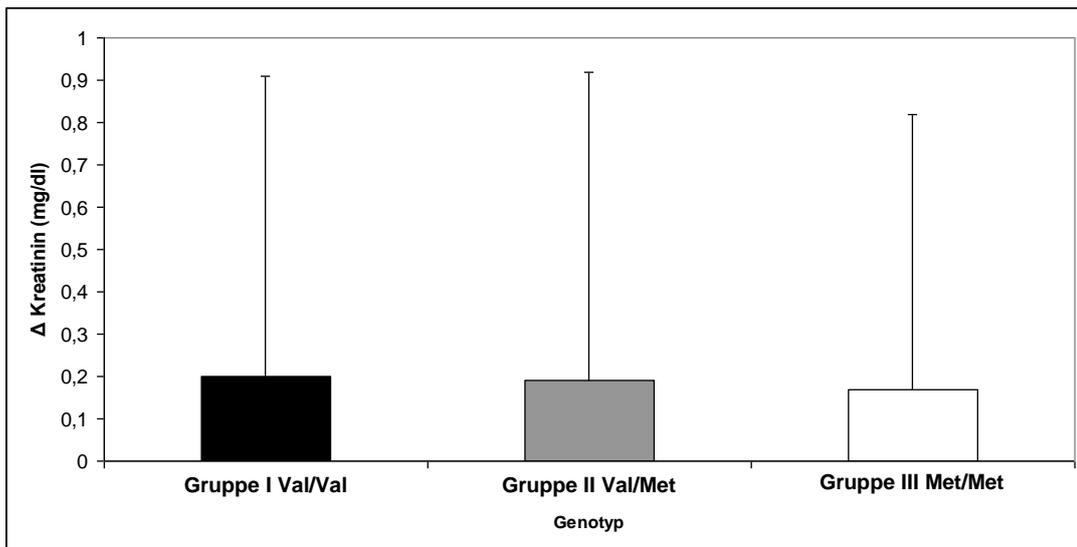
präoperativen sowie den maximalen Kreatininwert innerhalb der Gruppen waren nicht signifikant, Abbildung 10 zeigt die Werte der einzelnen Gruppen.



**Abbildung 10:** Die Abbildung zeigt den Kreatininwert bei Aufnahme und den maximalen Kreatininwert in mg/dl während des Klinikaufenthaltes im untersuchten Kollektiv (Mittelwerte und Standardabweichung). Die einzelnen Gruppen sind homogen verteilt, zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied der Parameter ermittelt werden.

Der postoperative Anstieg des Kreatininwertes betrug in Gruppe I  $0,20 \pm 0,71$  mg/dl, in Gruppe II  $0,19 \pm 0,73$  mg/dl, in Gruppe III  $0,17 \pm 0,65$  mg/dl. Die Unterschiede innerhalb der Gruppen waren nicht signifikant. Abbildung 11 zeigt die Werte der einzelnen Gruppen.

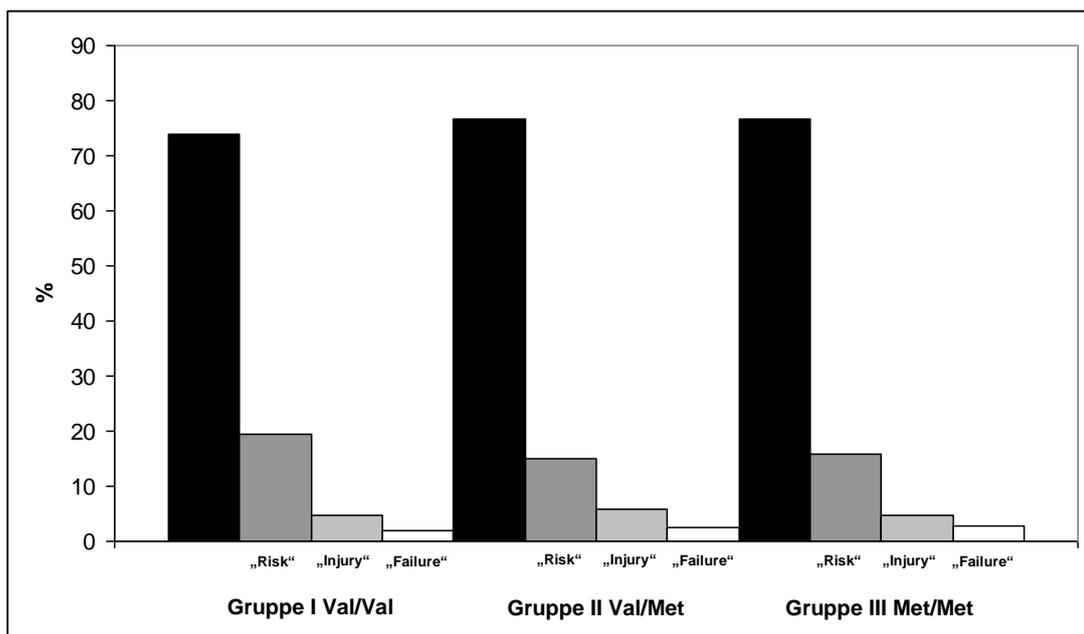
### $\Delta$ Kreatinin (mg/dl)



**Abbildung 11:** Die Abbildung zeigt den postoperativen Anstieg des Kreatininwertes in mg/dl im untersuchten Patientenkollektiv (Mittelwerte und Standardabweichung). Zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden.

Innerhalb der Genotypgruppe I zeigten 291 (73,9 %) der Patienten keine Nierenfunktionsstörung im Sinne der RIFLE-Kategorien. 77 (19,5 %) der Patienten konnten der RIFLE-Kategorie „Risk“, 18 (4,6 %) Patienten der Kategorie „Injury“ und 8 (2,0 %) der Kategorie „Failure“ zugeordnet werden. Innerhalb der Genotypgruppe II zeigten 622 (76,6 %) der Patienten keine Nierenfunktionsstörung im Sinne der RIFLE-Kategorien. 123 (15,1 %) der Patienten konnten der RIFLE-Kategorie „Risk“, 46 (5,7 %) Patienten der Kategorie „Injury“ und 21 (2,6 %) der Kategorie „Failure“ zugeordnet werden. Innerhalb der Genotypgruppe III zeigten 346 (76,7 %) der Patienten keine Nierenfunktionsstörung im Sinne der RIFLE-Kategorien. 71 (15,7 %) der Patienten konnten der RIFLE-Kategorie „Risk“, 21 (4,7 %) Patienten der Kategorie „Injury“ und 13 (2,9 %) der Kategorie „Failure“ zugeordnet werden. Die Unterschiede für das Auftreten einer Nierenfunktionsstörung nach RIFLE-Kriterien waren innerhalb der Genotypgruppen nicht signifikant. Abbildung 13 zeigt die Verteilung der RIFLE-Gruppen nach Genotyp.

### Auftreten eines postoperativen Nierenversagens nach RIFLE-Klassifikation nach Genotyp

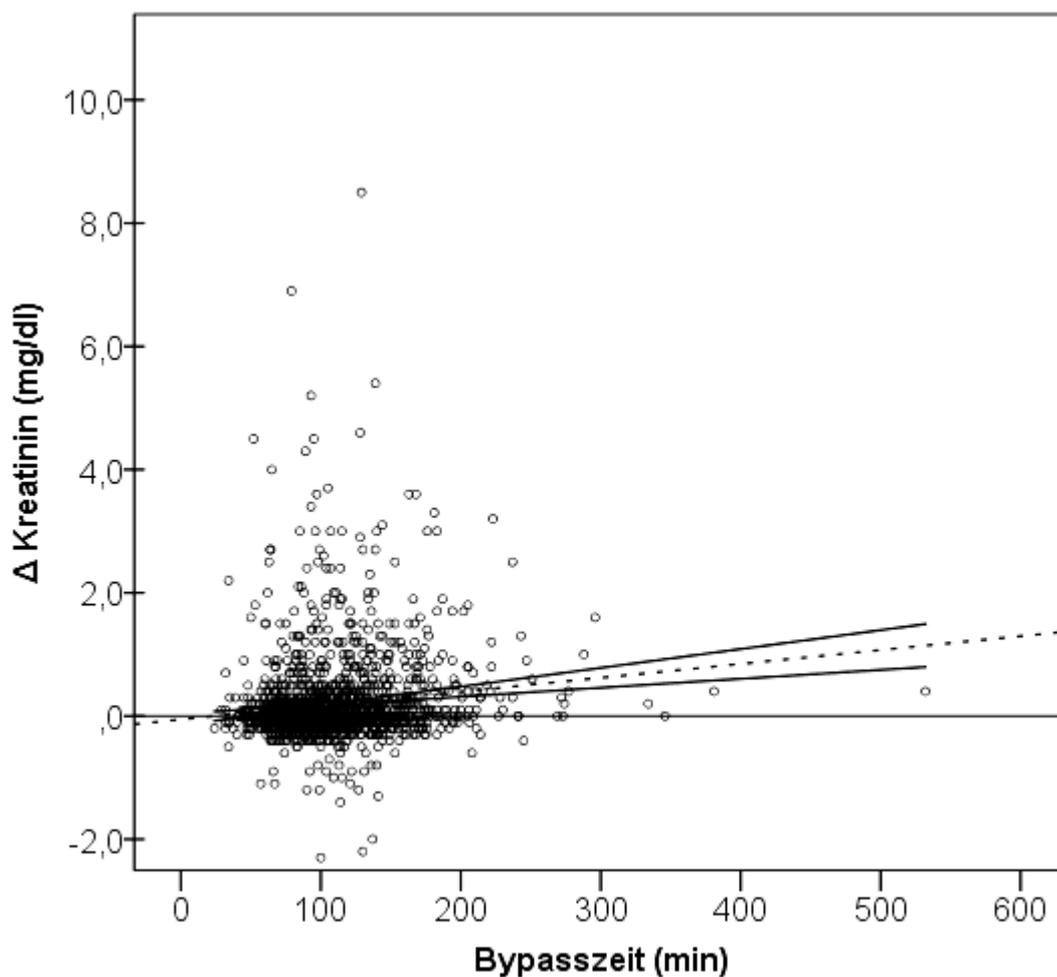


**Abbildung 12:** Die Abbildung zeigt die Verteilung der RIFLE-Gruppen nach Genotyp. Zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Aufgeführt sind die Gruppen Risk, Injury, Failure, gegenüber den Patienten ohne Nierenfunktionsstörung (schwarz markiert).

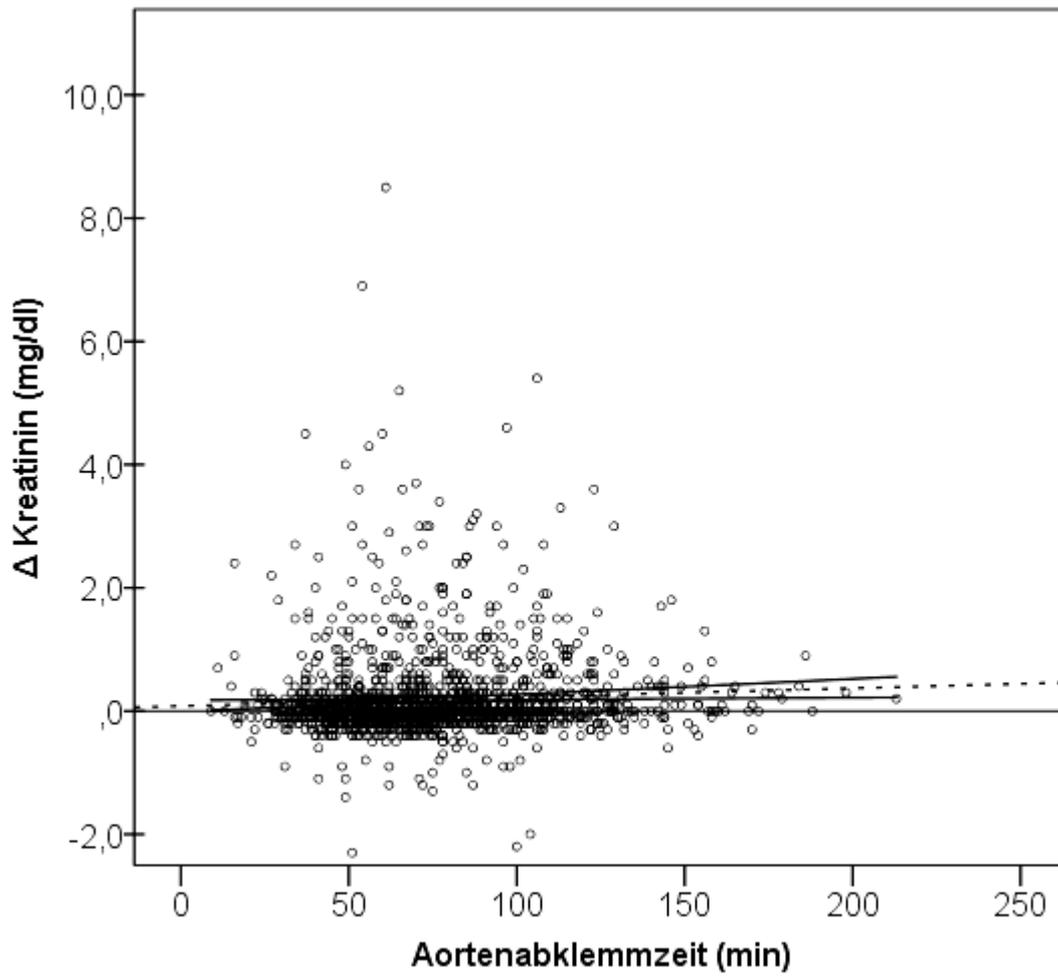
Es konnte kein signifikanter Zusammenhang des Genotyps mit dem postoperativen Anstieg des Kreatininwertes sowie dem Auftreten eines Nierenversagens nach RIFLE-Kriterien gezeigt werden.

### 3.5 Korrelationen

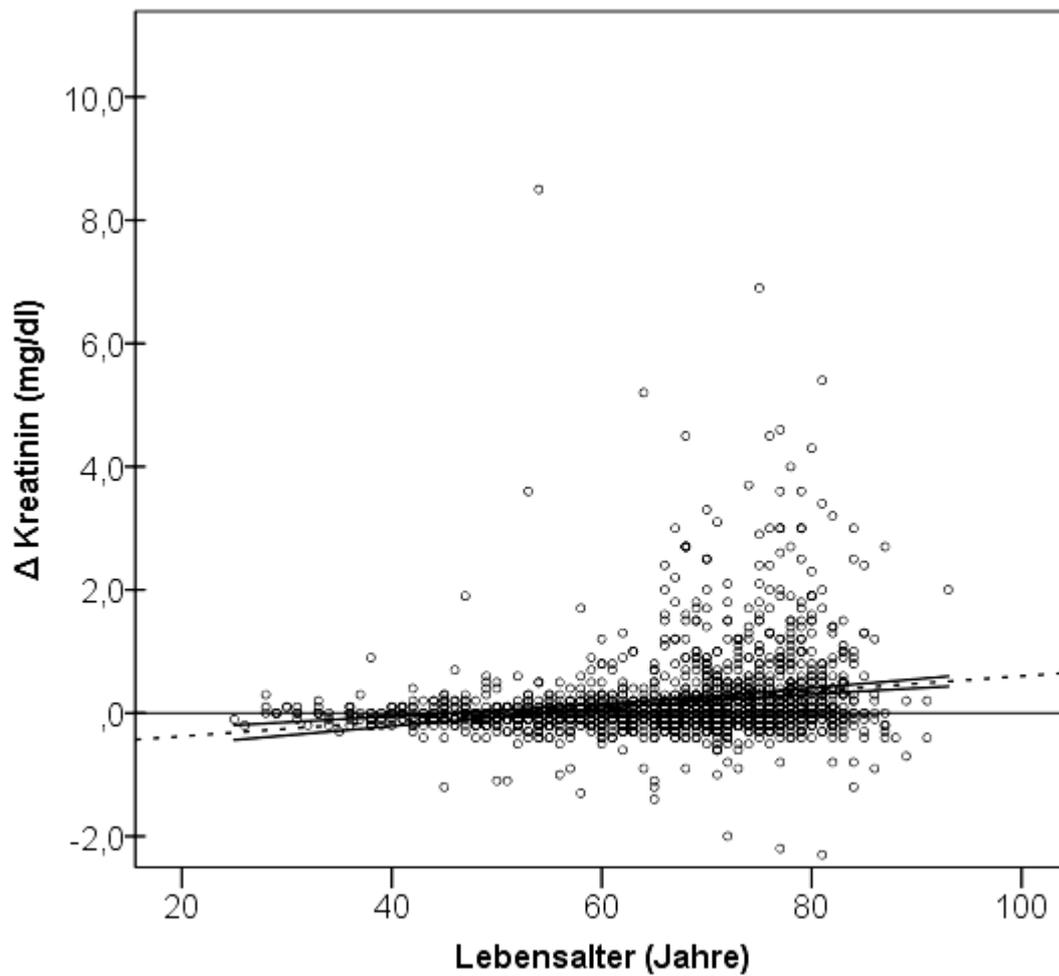
Korrelationen mit dem postoperativen Kreatininwertanstieg zeigen sich im vorliegenden Kollektiv für folgende Parameter (Korrelation auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant): Lebensalter (Korrelationskoeffizient nach Pearson  $r=0,205$ ;  $p<0,001$ ), Bypasszeit ( $r=0,131$ ;  $p<0,001$ ), Aortenabklemmzeit ( $r=0,058$ ;  $p=0,017$ ), die Summe an verabreichtem Noradrenalin ( $r=0,469$ ;  $p<0,001$ ), Summe an transfundiertem Fremdblut ( $r=0,450$ ;  $p<0,001$ ).



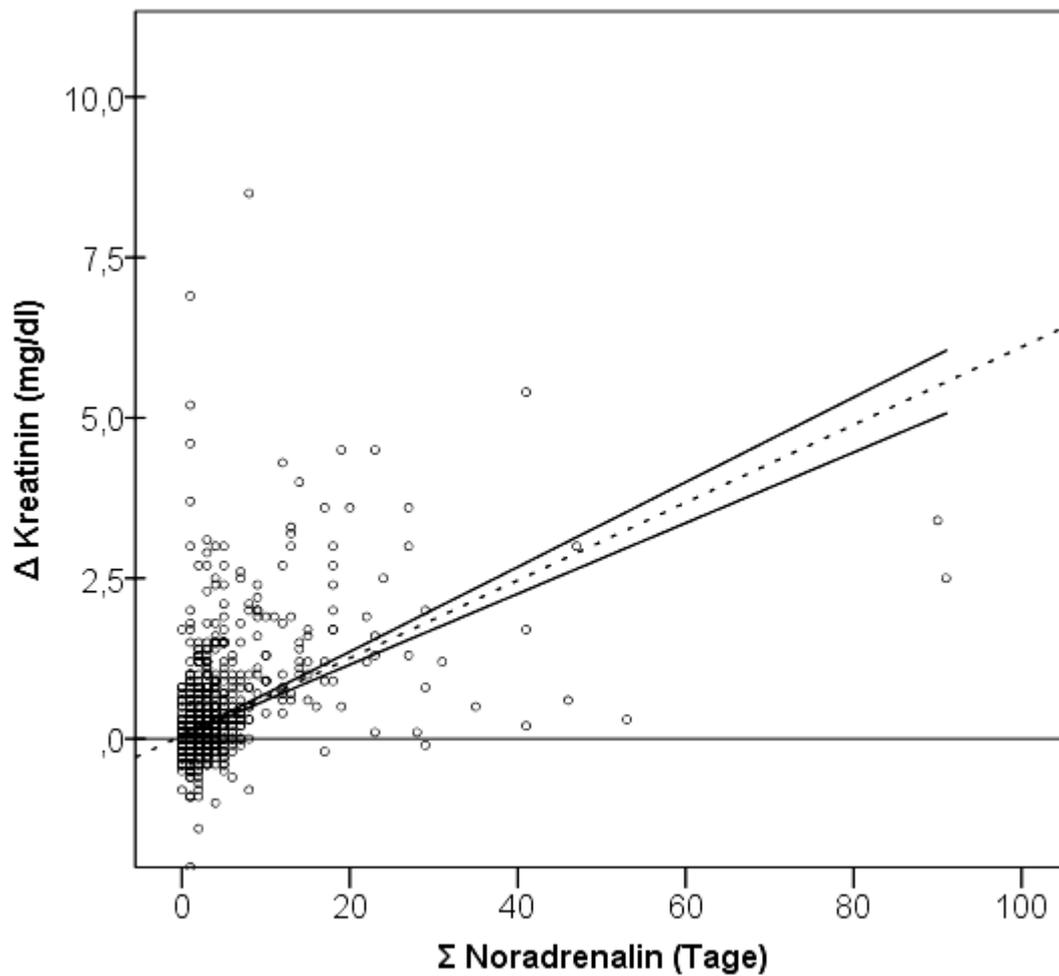
**Abbildung 13:** Die Abbildung zeigt die Korrelation des Kreatininwertanstiegs mit der Bypasszeit in Minuten (gestrichelte Linie: lineare Interpolationslinie, durchgezogene Linie: 95 %-Konfidenzintervall).



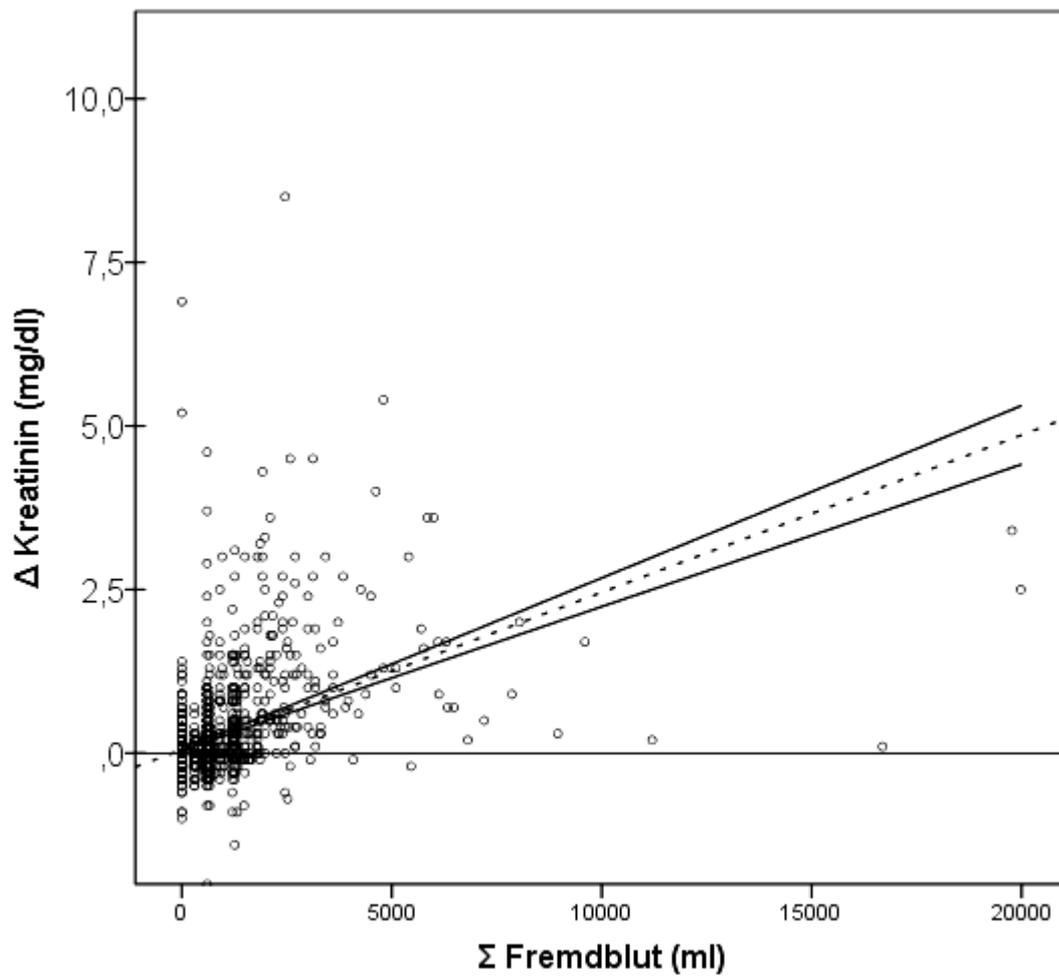
**Abbildung 14:** Die Abbildung zeigt die Korrelation des Kreatininwertanstiegs mit der Aortenabklemmzeit in Minuten (gestrichelte Linie: lineare Interpolationslinie, durchgezogene Linie: 95 %-Konfidenzintervall).



**Abbildung 15:** Die Abbildung zeigt die Korrelation des Kreatininwertanstiegs mit dem Lebensalter in Jahren (gestrichelte Linie: lineare Interpolationslinie, durchgezogene Linie: 95 %-Konfidenzintervall).



**Abbildung 16:** Die Abbildung zeigt die Korrelation des Kreatininwertanstiegs mit der Noradrenalingabe in Tagen (gestrichelte Linie: lineare Interpolationslinie, durchgezogene Linie: 95 %-Konfidenzintervall).



**Abbildung 17:** Die Abbildung zeigt die Korrelation des Kreatininwertanstiegs mit der Fremdblutgabe in Millilitern (gestrichelte Linie: lineare Interpolationslinie, durchgezogene Linie: 95 %Konfidenzintervall).

## **4. Diskussion**

Für das Nierenversagen nach EKZ sind mehrere Einflussfaktoren entscheidend. Als relevant gelten der Einfluss endogener und exogener Toxine, metabolische Faktoren, Ischämie und Reperfusionsschäden, Schädigung durch Sauerstoffradikale, neurohumorale Prozesse sowie eine generelle inflammatorische Aktivierung [8]. Mehrere Faktoren innerhalb des untersuchten Kollektivs haben einen Einfluss auf die Nierenfunktion.

### ***Noradrenalingabe***

Für die Aufrechterhaltung eines suffizienten renalen Perfusionsdrucks ist in der postoperativen Phase herzchirurgischer Eingriffe unter Verwendung der EKZ regelmäßig die Gabe von Vasopressoren wie Noradrenalin notwendig [7]. Die Noradrenalingabe bei systemischer Hypotension wird gleichzeitig jedoch auch als Risikofaktor für das Auftreten einer Nierenschädigung diskutiert [110]. Die Summe an postoperativ verabreichtem Noradrenalin unterschied sich innerhalb unserer Patientengruppen nicht.

### ***Hämoglobinwert und Transfusion***

Als nephroprotektiv gilt die Aufrechterhaltung eines suffizienten perioperativen Hämatokritwertes, zu niedrige Werte erhöhen durch konsekutive Ischämie das Risiko für Nierenschäden, gleichzeitig stellt die Gabe von Fremdblut ebenso ein Risiko dar. Durch vermehrte Hämolyse und Rhabdomyolyse während herzchirurgischer Eingriffe kommt es zu erhöhten Plasmaspiegeln von Hämoglobin und Myoglobin, diese wirken über ihre Häm-Gruppe in höherer Konzentration toxisch und führen unter Vermittlung

von Endothelin und durch NO-Inhibierung zu einer ausgeprägten renalen Vasokonstriktion mit konsekutiver Ischämie. Durch tubuläre Präzipitation von freiem Hämoglobin und Myoglobin werden vermehrt Sauerstoffradikale freigesetzt, diese führen über die Oxidation von Lipiden und über eine gesteigerte renale Zytokinfreisetzung zu Zellschäden [51, 52, 64, 67, 94]. Die Gruppen der vorliegenden Arbeit unterschieden sich nicht im Hinblick auf den präoperativen Hämoglobin-Wert sowie die Menge des transfundierten Fremdblutes.

### ***Nephrotoxine***

Zu den exogenen Nephrotoxinen zählen verschiedene Pharmazeutika, insbesondere nichtsteroidale Antiphlogistika und Aminoglykoside sowie Röntgenkontrastmittel [102]. Diese Substanzen wurden im untersuchten Patientenkollektiv präoperativ abgesetzt. Die Applikation von Kontrastmittel führt zu einer Ischämie juxtamedullärer Nephrone durch eine Einschränkung des renalen Blutflusses, bei Patienten mit vorbestehender renaler Dysfunktion oder Anämie ist die Ischämie besonders ausgeprägt [25, 59, 92, 96, 106].

### ***Blutzuckerspiegel***

Unter den metabolischen Faktoren, die ein CSA-AKI (*cardiac surgery associated acute kidney injury*) begünstigen, ist besonders die Rolle des Blutzuckerspiegels gut untersucht. Diabetes mellitus ist eine häufige Komorbidität unter kardiochirurgischen Patienten und bereits für sich allein ein unabhängiger Risikofaktor für Nierenfunktionsstörungen [21]. Hyperglykämie ist durch Störungen der glomerulären Membranfunktion und Tubulusschäden mit Nierenfunktionsstörungen assoziiert, von prognostischer Bedeutung ist hier nicht nur der präoperative, sondern insbesondere

der perioperative Blutzuckerspiegel, dieses gilt auch für Patienten ohne vorbestehenden Diabetes mellitus [3, 29, 30, 53, 100]. Im untersuchten Kollektiv wurde bei allen Patienten perioperativ eine intensivierete Insulintherapie mit Zielblutzuckerwerten von unter 120 mg/dl durchgeführt.

***Ischämie-/Reperfusionsschäden:***

Einen weiteren Faktor in der Genese des akuten Nierenversagens bilden Ischämie- und Reperfusionsschäden während der EKZ. Diese können auf mehrere grundsätzliche pathophysiologische Mechanismen zurückgeführt werden. Dazu gehören die arterielle Hypotonie, der reduzierte systemische Blutfluss und embolische Ereignisse [80]. Wird in Phasen absoluter bzw. relativer arterieller Hypotonie die Autoregulationsschwelle der glomerulären Perfusion unterschritten, sinkt konsekutiv die glomeruläre Filtrationsrate. Ursachen für Hypotonie während der EKZ sind Hypovolämie durch Vasodilatation oder Blutverlust, Einflüsse von Anästhetika, mechanische Beatmung mit positivem Atemwegsdruck sowie die Reaktion auf Protamin [2, 39, 62, 63, 69, 115]. Das hämodynamische Monitoring sowie die Anästhesieverfahren waren innerhalb der untersuchten Gruppen gleichwertig.

In den letzten Jahren konnte in Autopsiestudien gezeigt werden, dass auch embolische Ereignisse in Zusammenhang mit CSA-AKI gebracht werden können. Hierbei zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Schweregrad der aortalen arteriosklerotischen Veränderungen und renalen Schäden, ein weiteres Risiko stellten intrakardiale Thromben und Luft dar. [13, 26, 113, 114]. Der Schweregrad der aortalen Gefäßveränderungen wurde nicht erhoben, die Entlüftung des Ventrikels erfolgte stets, sofern technisch möglich, unter TEE-Kontrolle.

Die Niere hat eine zentrale Rolle in der Regulation des Blutvolumens und damit des Blutdruckes. Bei schweren Störungen der Hämodynamik kommt es zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems über eine gesteigerte renale sympathische Aktivierung. Es erfolgt eine gesteigerte tubuläre Reabsorption von Natrium und Wasser, der renale Blutfluss und damit auch die Urinausscheidung nimmt ab [57]; um einen Einfluss auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System zu minimieren, wurden ACE-Hemmer bei Patienten dieser Studie präoperativ abgesetzt. Ein weiterer Einflussfaktor ist der Volumenstatus der Patienten. Bereits geringe Volumenänderungen, die klinisch durch ein Routinemonitoring mitunter noch gar nicht detektierbar sind, können zu renalen Perfusionsveränderungen durch Sympathikusaktivierung führen [109]. Im untersuchten Kollektiv erfolgte das hämodynamische Monitoring durch arterielle Blutdruckmessung und durch Herzzeitvolumen-Messung mittels Pulmonalkatheter.

### **Steroide**

Von Bedeutung ist weiterhin die Zytokinkonzentration. Durch verminderten tubulären Abbau und verminderte Ausscheidung von TNF-alpha und IL-1 und IL-6 kommt es bei einer Nierenfunktionsstörung zu einer erhöhten Gesamtzytokinbelastung bei bereits primär durch die EKZ erhöhten Plasmaspiegeln [5, 127]. Einen Einfluss auf die Immunantwort durch Steroide können wir in unserem Kollektiv nicht ausschließen. Steroide wurden zwar präoperativ abgesetzt, jedoch erhielten einzelne Patienten bei therapierefraktärer Noradrenalingabe Hydrokortison sowie Methylenblau und Vasopressin. Eine weitere Untersuchung dieser Patienten im Hinblick auf ihren COMT-Genotyp ist anzustreben, dafür sind jedoch größere Patientenzahlen als in unserem Kollektiv notwendig.

### ***Antifibrinolytika***

Die perioperative Gabe von Antifibrinolytika wurde in den letzten Jahren kontrovers diskutiert [17], in der vorliegenden Studie zeigte die Gabe von Aprotinin keinen signifikanten Einfluss auf den Kreatininwertanstieg.

### ***Diuretika***

Die Gesamtsumme der verabreichten Diuretika wurde bei den untersuchten Patienten nicht berücksichtigt, eine Analyse des nephrotoxischen Effektes hoher Dosen an Schleifendiuretika wurde daher in dieser Arbeit nicht durchgeführt.

### ***COMT-Hemmer/MAO-Hemmer***

Ein Einfluss von COMT-Hemmern und Monoaminoxidasehemmern kann im untersuchten Kollektiv ausgeschlossen werden, da Medikamente dieser Substanzklassen von keinem der eingeschlossenen Patienten eingenommen wurden.

### **Genetische Variabilität und Krankheitssuszeptibilität**

Derzeit wird zusätzlich versucht, einen Zusammenhang zwischen genetischen Veränderungen, Krankheitsausprägungen und Krankheitssuszeptibilität herzustellen. Hierbei konnte vor allem eine besondere Bedeutung der eingangs erwähnten SNPs nachgewiesen werden. Durch immer fortgeschrittenere und leichter durchzuführende Sequenzierungsmethoden ist es heute möglich, den Einfluss dieser Polymorphismen in großem Umfang auf Korrelationen zu komplexen Erkrankungen, Verträglichkeit bestimmter Medikamente und Veranlagungen für Krankheitsanfälligkeiten zu untersuchen.

Ein angestrebtes Ziel ist es, durch Genotypisierung das individuelle Risiko einzelner Patienten immer besser einschätzen und therapeutisch reagieren zu können. Genetische Polymorphismen konnten bislang mit einer Vielzahl postoperativer Komplikationen in Verbindung gebracht werden. Ihre Relevanz konnte bei postoperativen Myokardschädigungen [38], Rhythmusstörungen [44], Venengraftstenosierung [99], Transplantatabstoßung [65], neurokognitiver Dysfunktion [87, 121], Insult-Rate [48] und Mortalität [137] gezeigt werden. Nachweise konnten ebenfalls erbracht werden für perioperative Komplikationen wie Blutungsneigung [32, 135], thrombotische Ereignisse [31] und vaskuläre Reaktivität [77]. Veränderungen im Haptoglobin- und Angiotensin-I-Converting-Enzym-Gen gehen mit Myokardschäden bei isolierten aortokoronaren Bypassoperation einher [28, 132]. Polymorphismen im Interleukin-6 (IL-6), Apolipoprotein-E und TNF-Gen haben einen signifikanten Einfluss auf die Immunantwort nach kardiochirurgischen Eingriffen mit EKZ [14, 19, 47, 68] und sind mit erhöhter Krankenhausverweildauer assoziiert [20]. Für IL-10 konnte ebenfalls eine Mutation gefunden werden, die mit postoperativer kardialer Dysfunktion einhergeht [42].

### **Genetische Polymorphismen und Auswirkung auf Nierenfunktionsstörungen**

Der Untersuchung von SNPs im Hinblick auf Nierenfunktionsstörungen nach herzchirurgischen Operationen kommt momentan eine besondere Bedeutung zu, beschrieben wurde hierfür bislang der Einfluss mehrerer Polymorphismen: Ein Polymorphismus in der Promotorregion des IL-6-Gens an Position 174 (Guanin zu Cytosin) konnte 2003 in einer prospektiven Studie mit 111 Bypass-Patienten in Verbindung mit einem vermehrten Anstieg des perioperativen Kreatinins gebracht werden [43]. Stafford-Smith et al. untersuchten zwölf Polymorphismen in sieben Kandidatengenomen, die Allele IL-6 (572C) und Angiotensinogen (842C) waren mit akutem Nierenversagen assoziiert, die Kombination beider Polymorphismen zeigte einen Kreatininanstieg um 121 %, Zusammenhänge mit AKI (*acute kidney injury*) konnten auch für Polymorphismen der Gene von Angiotensin, eNOS (T-786C), Erythropoetin (rs1617640) und des Angiotensin-Rezeptor 1 gezeigt werden [116]. Chew et al. konnten einen Einfluss der Apo-E-Allele (Apolipoprotein-E) auf postoperatives Serumkreatinin zeigen, das E4-Allel zeigte einen geringeren Anstieg als die E2 und E3-Allele [23, 104, 105].

In einer Pilotstudie untersuchten Haase-Fielitz et al. 2009 in einem Kollektiv von 260 Patienten den Einfluss des Catechol-O-Methyltransferase-Genotyps auf das postoperative Nierenversagen nach herzchirurgischen Eingriffen. Die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) ist entscheidend an der Metabolisierung des Noradrenalins beteiligt, damit kommt ihr eine wichtige Rolle in der Steuerung des Gefäßtonus zu.

In ihrer Studie beschreiben die Autoren für den COMT(LL)-Genotyp ein signifikant höheres Risiko für das Auftreten eines vasodilatatorischen Schockzustandes, die Schockdauer und die Häufigkeit eines akuten Nierenversagens [50]. Sie stellen die

Hypothese auf, dass der COMT-Met/Met-Genotyp durch verminderte Noradrenalinmetabolisierung zu erhöhten Katecholaminplasmaspiegeln und damit zu einer persistierenden Vasodilatation führt.

Verantwortlich hierfür ist die Herunterregulation von Alpha-Adrenorezeptoren mit konsekutiver Wirkungsinderung des exogen zugeführten Noradrenalins, die Aktivierung ATP-abhängiger Kalium-Kanäle in glatten Gefäßmuskelzellen sowie eine verminderte endogene Vasopressin-Synthese [27, 50, 76]. Der COMT-Genotyp bestimmt die Enzymaktivität im Cytosol und ist verantwortlich für den Katecholaminabbau im distalen Anteil des proximalen Tubulus und aufsteigenden Teil der Henle-Schleife [33, 89].

Postoperativ konnte von Haase-Fielitz et al. ein gruppenspezifischer Unterschied in der NoradrenalinKonzentration beobachtet werden, auf den präoperativen Katecholaminspiegel bei gesunden Probanden zeigt ein unterschiedlicher COMT-Genotyp jedoch keine Auswirkung [11]. Sie berichten gleichzeitig in der LL-Gruppe von einer erhöhten intraneuronalen Konzentration von 3,4-Dihydroxyphenolglykol, einem Metaboliten von Noradrenalin, als Indikator für eine kompensatorische Katecholamindeaktivierung durch die Monoaminoxidase, einem Effekt, der auch bei der Anwendung von COMT-Hemmern z.B. bei Morbus Parkinson auftritt [120].

Vermehrte Plasmakatecholaminspiegel führen zu einem vermehrten nicht-enzymatischen autooxidativen Abbau, hierbei fallen vermehrt Sauerstoffradikale an, die durch Alkylierung und Sulfonierung von Makromolekülen zu Zellschäden am renalen Tubulusepithel beitragen können [12, 16, 117].

Superoxid-Anionen, die unter den Bedingungen einer septischen Kreislaufsituation entstehen, reagieren wiederum mit endogen sezernierten und exogen zugeführten Katecholaminen und tragen damit zur generalisierten Erniedrigung des

vasomotorischen Tonus bei; die Verabreichung einer Superoxid-Dismutase konnte diesen Prozess im Tiermodell unterbinden [81]. Im Gegenzug konnte bei COMT-Knockout-Mäusen kein vermehrter oxidativer Stress in Leber oder neuronalem Gewebe nachgewiesen werden [40].

Im Myokard führt ein Knockout jedoch zur Akkumulation von Katecholaminen mit erhöhter Zellschädigung [74], die Knockout-Tiere zeigten im Vergleich zum Wildtyp eine vermehrte Gefäßrelaxation sowie eine Resistenz gegenüber natriuminduzierter Hypertonie [35].

Die Ergebnisse dieser Pilotstudie von Haase-Fielitz et al. können in der vorliegenden Arbeit nicht reproduziert werden, ein Einfluss des COMT-Genotyps auf das postoperative Nierenversagen nach EKZ zeigt sich im vorliegenden Kollektiv nicht.

### ***Ausblick und Limitationen***

Herzchirurgische Operationen mit kardiopulmonalem Bypass gehören bekannterweise zu den häufigsten Ursachen für das akute Nierenversagen. Bislang ist es jedoch nicht befriedigend möglich, das Risiko für diese Komplikation vorherzusagen bzw. zu verhindern.

Die mögliche Vorhersage des akuten Nierenversagens ist von großer Bedeutung, um rechtzeitig nephroprotektive Maßnahmen einzuleiten. Das in der klinischen Praxis etablierte Serumkreatinin ist dafür jedoch nur eingeschränkt nutzbar, da ein Anstieg erst vorliegt, wenn die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) um mehr als 50 % des Normalwertes gefallen ist. Untersucht werden neue Marker wie NGAL und Cystatin C. Diese gelten als vielversprechend zur Prädiktion eines AKI bei pädiatrischen Patienten, abschließende Untersuchungen stehen jedoch noch aus [56, 91].

Sollten sich Hinweise auf einen Einfluss genetischer Polymorphismen auf das postoperative Nierenversagen ergeben, muss erwogen werden, eine präoperative Genotypisierung routinemäßig im Hinblick auf die individuelle Therapieplanung vorzunehmen. Als nephroprotektiv haben sich bislang folgende Faktoren erwiesen: die intensivierte Volumengabe mit einem Ziel-ZVD von 8-12 mmHg, die suffiziente Oxygenierung mit einem Ziel-Hämatokrit von über 30 %, Vermeidung von Hyperglykämien und Diuretika, die frühzeitige Hämofiltration bei postoperativen Kreatininwerten von über 2 mg/dl, sowie, wenn möglich, die Umstellung auf Offpump-Verfahren. [45, 61, 79, 88, 95, 98, 101].

Die Verwendung von Vasopressin anstelle von Noradrenalin zur Aufrechterhaltung des Blutdruckes bei COMT-Met/Met-Allel-Trägern muss in weiteren Studien genauer untersucht werden. In Betracht gezogen werden muss auch die Verwendung miniaturisierter EKZ-Systeme mit geringerem Füllvolumen und heparinisierten Oberflächen. Durch Verringerung des Blut-Luft-Kontaktes kommt es hier zu einer geringeren zellulären Blutaktivierung mit Verminderung möglicher Organstörungen [60]. Anzustreben ist weiterhin, sofern möglich, ein zeitlicher Abstand zwischen der Applikation von Röntgenkontrastmitteln bei diagnostischen Herzkatheteruntersuchungen und Eingriffen mit EKZ.

Im Gegensatz zu der Arbeit von Haase-Fielitz et al. wurden bei unseren Patienten keine Plasmakatecholaminspiegel gemessen, das vorliegende Kollektiv ist mit 1741 im Gegensatz zu 260 Patienten jedoch deutlich größer.

Weitere Untersuchungen in größeren, multizentrischen Studien mit homogeneren Kollektiven und sensitiveren Parametern für Retentionsstörungen sind anzustreben. Untersuchungen des COMT-Genotyps im Hinblick auf renale Dysfunktion bei Sepsis-

Patienten im Allgemeinen sind denkbar, das Erreichen größerer Fallzahlen ist hier eher möglich.

Das menschliche Genom gilt seit 2003 im Rahmen des Human Genome Projects als vollständig entschlüsselt. Mit der Entwicklung neuer, sogenannter NextGeneration-Sequenzierungsverfahren ist es heute möglich, die gesamte genomische Information eines Menschen in kurzer Zeit und mit relativ geringen Kosten im Vergleich zu den letzten Jahren zu ermitteln. Die Möglichkeit, die individuelle genetische Information von Patienten in kurzer Zeit und mit niedrigen Kosten zu ermitteln und damit in der klinischen Routine anwenden zu können, ist ein angestrebtes Ziel der Humangenetiker, das in den kommenden Jahren wahrscheinlich erreicht wird [84]. Die Hoffnungen, hierdurch ein besseres Verständnis von Erkrankungen auf biologischer und molekularer Ebene zu erlangen und letztlich daraus therapeutische Ansätze entwickeln zu können, sind enorm.

In den letzten Jahren wurden eine Vielzahl genomweiter Assoziationsstudien (*genome-wide-association-studies*, GWAS) durchgeführt. In diesen konnte der Einfluss genetischer Faktoren insbesondere auf monogenetische Krankheitsbilder, sogenannte „*rare diseases*“, gezeigt werden [83]. Es wird angenommen, dass innerhalb des nächsten Jahrzehnts alle verantwortlichen Gene für diese monogenetisch vererbaren Krankheiten gefunden sein werden [46].

Große Fortschritte wurden auch im Bereich der Pharmakogenomik erreicht, erste klinisch anwendbare genetische Tests für Medikamente stehen bereits zur Verfügung. Ein Beispiel hierfür ist ein Test für eine Variation des CYP2C19-Gens, mit dem Patienten mit verminderter Clopidogrel-Metabolisierungsrate erkannt werden können [66].

Die Identifikation von Varianten, die in Verbindung mit multigenetisch vererbaren Krankheiten gebracht werden können, steht im Gegensatz dazu noch am Anfang und gestaltet sich weitaus schwieriger. Die potenzielle Beteiligung mehrerer verschiedener Varianten in mehreren verschiedenen Genen in der Genese komplexer Erkrankungen birgt immense statistische und analytische Herausforderungen.

Der Einfluss eines einzelnen genetischen Polymorphismus wie des COMT-Val158Met-SNP auf ein derart komplexes multifaktorielles Krankheitsbild wie das des postoperativen Nierenversagens bei einem multimorbiden und nicht vollständig homogenen Patientenkollektiv scheint zu gering.

Trotz dieser Schwierigkeiten ist das Feld der perioperativen Genomik vielversprechend. Die Zukunft wird zeigen, ob dieses Versprechen eingelöst werden kann.

## 5. Zusammenfassung

Die Catechol-O-Methyltransferase (COMT) ist beteiligt an der Metabolisierung zirkulierender Plasmakatecholamine. Ein Polymorphismus (Guanin zu Adenin Transition) im vierten Exon des COMT-Gens resultiert in einem Austausch der Aminosäure Valin zu Methionin im Codon 158. Dieses führt zu einer Thermolabilität des Enzyms mit verminderter Enzymaktivität und einem damit einhergehenden Anstieg der Serumcatecholaminkonzentration. Wir untersuchten 1741 Patienten nach herzchirurgischen Operationen mit extrakorporaler Zirkulation im Hinblick auf einen Zusammenhang zwischen COMT-Genotyp und postoperativem Nierenversagen. Wir identifizierten 417 homozygote Patienten mit hoher Enzymaktivität (Val/Val), 850 heterozygote Patienten mit intermediärer Enzymaktivität (Val/Met) und 474 homozygote Patienten mit niedriger Enzymaktivität (Met/Met). Für den Anstieg des postoperativen Kreatininwertes sowie das Auftreten eines Nierenversagens nach RIFLE-Kriterien konnte kein signifikanter Unterschied innerhalb der Gruppen gezeigt werden. Im vorliegenden Kollektiv zeigte sich beim vermuteten homozygoten Risikogenotyp kein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer postoperativen Nierenschädigung.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Abu-Omar, Y., and Ratnatunga, C. (2006) Cardiopulmonary bypass and renal injury. *Perfusion* 21, 209-213
2. Abuelo, J.G. (2007) Normotensive ischemic acute renal failure. *The New England journal of medicine* 357, 797-805
3. Ascione, R., Rogers, C.A., Rajakaruna, C., and Angelini, G.D. (2008) Inadequate blood glucose control is associated with in-hospital mortality and morbidity in diabetic and nondiabetic patients undergoing cardiac surgery. *Circulation* 118, 113-123
4. Axelrod, J., and Tomchick, R. (1958) Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *The Journal of biological chemistry* 233, 702-705
5. Baker, R.C., Armstrong, M.A., Allen, S.J., and McBride, W.T. (2002) Role of the kidney in perioperative inflammatory responses. *British journal of anaesthesia* 88, 330-334
6. Bellomo, R., Ronco, C., Kellum, J.A., Mehta, R.L., and Palevsky, P. (2004) Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 8, R204-212
7. Bellomo, R., Wan, L., and May, C. (2008) Vasoactive drugs and acute kidney injury. *Critical care medicine* 36, S179-186
8. Bellomo, R., Auremma, S., Fabbri, A., D'Onofrio, A., Katz, N., McCullough, P.A., Ricci, Z., Shaw, A., and Ronco, C. (2008) The pathophysiology of cardiac surgery-associated acute kidney injury (CSA-AKI). *The International journal of artificial organs* 31, 166-178
9. Bellomo, R., Kellum, J.A., Mehta, R., Palevsky, P.M., and Ronco, C. (2002) Acute Dialysis Quality Initiative II: the Vicenza conference. *Current opinion in critical care* 8, 505-508
10. Benedict, C.R., and Rose, J.A. (1992) Arterial norepinephrine changes in patients with septic shock. *Circulatory shock* 38, 165-172
11. Best, J.D., and Halter, J.B. (1982) Release and clearance rates of epinephrine in man: importance of arterial measurements. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 55, 263-268
12. Bindoli, A., Rigobello, M.P., and Deeble, D.J. (1992) Biochemical and toxicological properties of the oxidation products of catecholamines. *Free radical biology & medicine* 13, 391-405
13. Blauth, C.I., Cosgrove, D.M., Webb, B.W., Ratliff, N.B., Boylan, M., Piedmonte, M.R., Lytle, B.W., and Loop, F.D. (1992) Atheroembolism from the ascending aorta. An emerging problem in cardiac surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 103, 1104-1111; discussion 1111-1102
14. Boehm, J., Hauner, K., Grammer, J., Dietrich, W., Wagenpfeil, S., Braun, S., Lange, R., and Bauernschmitt, R. (2011) Tumor necrosis factor-alpha -863 C/A promoter polymorphism affects the inflammatory response after cardiac surgery. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* 40, e50-54
15. Boldt, J., Kumle, B., Papsdorf, M., and Hempelmann, G. (1998) Are circulating adhesion molecules specifically changed in cardiac surgical patients? *The Annals of thoracic surgery* 65, 608-614

16. Bolton, J.L., Trush, M.A., Penning, T.M., Dryhurst, G., and Monks, T.J. (2000) Role of quinones in toxicology. *Chemical research in toxicology* 13, 135-160
17. Bosman, M., and Royston, D. (2008) Aprotinin and renal dysfunction. *Expert opinion on drug safety* 7, 663-677
18. Bruckenberger (2010) Herzbericht.
19. Brull, D.J., Montgomery, H.E., Sanders, J., Dhamrait, S., Luong, L., Rumley, A., Lowe, G.D., and Humphries, S.E. (2001) Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 21, 1458-1463
20. Burzotta, F., Iacoviello, L., Di Castelnuovo, A., Glieca, F., Luciani, N., Zamparelli, R., Schiavello, R., Donati, M.B., Maseri, A., Possati, G., and Andreotti, F. (2001) Relation of the -174 G/C polymorphism of interleukin-6 to interleukin-6 plasma levels and to length of hospitalization after surgical coronary revascularization. *The American journal of cardiology* 88, 1125-1128
21. Carson, J.L., Scholz, P.M., Chen, A.Y., Peterson, E.D., Gold, J., and Schneider, S.H. (2002) Diabetes mellitus increases short-term mortality and morbidity in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Journal of the American College of Cardiology* 40, 418-423
22. Chertow, G.M., Lazarus, J.M., Christiansen, C.L., Cook, E.F., Hammermeister, K.E., Grover, F., and Daley, J. (1997) Preoperative renal risk stratification. *Circulation* 95, 878-884
23. Chew, S.T., Newman, M.F., White, W.D., Conlon, P.J., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Landolfo, K., Grocott, H.P., and Stafford-Smith, M. (2000) Preliminary report on the association of apolipoprotein E polymorphisms, with postoperative peak serum creatinine concentrations in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 93, 325-331
24. Conlon, P.J., Stafford-Smith, M., White, W.D., Newman, M.F., King, S., Winn, M.P., and Landolfo, K. (1999) Acute renal failure following cardiac surgery. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 14, 1158-1162
25. Dangas, G., Iakovou, I., Nikolsky, E., Aymong, E.D., Mintz, G.S., Kipshidze, N.N., Lansky, A.J., Moussa, I., Stone, G.W., Moses, J.W., Leon, M.B., and Mehran, R. (2005) Contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in relation to chronic kidney disease and hemodynamic variables. *The American journal of cardiology* 95, 13-19
26. Davila-Roman, V.G., Kouchoukos, N.T., Schechtman, K.B., and Barzilai, B. (1999) Atherosclerosis of the ascending aorta is a predictor of renal dysfunction after cardiac operations. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 117, 111-116
27. Day, T.A., Randle, J.C., and Renaud, L.P. (1985) Opposing alpha- and beta-adrenergic mechanisms mediate dose-dependent actions of noradrenaline on supraoptic vasopressin neurones in vivo. *Brain research* 358, 171-179
28. Delanghe, J., Cambier, B., Langlois, M., De Buyzere, M., Neels, H., De Bacquer, D., and Van Cauwelaert, P. (1997) Haptoglobin polymorphism, a genetic risk factor in coronary artery bypass surgery. *Atherosclerosis* 132, 215-219
29. Doddakula, K., Al-Sarraf, N., Gately, K., Hughes, A., Tolan, M., Young, V., and McGovern, E. (2007) Predictors of acute renal failure requiring renal replacement therapy post cardiac surgery in patients with preoperatively normal renal function. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery* 6, 314-318

30. Doenst, T., Wijeyesundera, D., Karkouti, K., Zechner, C., Maganti, M., Rao, V., and Borger, M.A. (2005) Hyperglycemia during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for mortality in patients undergoing cardiac surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 130, 1144
31. Donahue, B.S. (2004) Factor V Leiden and perioperative risk. *Anesthesia and analgesia* 98, 1623-1634, table of contents
32. Donahue, B.S., Gailani, D., Higgins, M.S., Drinkwater, D.C., and George, A.L., Jr. (2003) Factor V Leiden protects against blood loss and transfusion after cardiac surgery. *Circulation* 107, 1003-1008
33. Doyle, A.E., Goodman, J.E., Silber, P.M., and Yager, J.D. (2004) Catechol-O-methyltransferase low activity genotype (COMTLL) is associated with low levels of COMT protein in human hepatocytes. *Cancer letters* 214, 189-195
34. Eisenhofer, G., and Finberg, J.P. (1994) Different metabolism of norepinephrine and epinephrine by catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 268, 1242-1251
35. Eklof, A.C., Holtback, U., Sundelof, M., Chen, S., and Aperia, A. (1997) Inhibition of COMT induces dopamine-dependent natriuresis and inhibition of proximal tubular Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. *Kidney international* 52, 742-747
36. Englberger, L., Suri, R.M., Li, Z., Casey, E.T., Daly, R.C., Dearani, J.A., and Schaff, H.V. Clinical accuracy of RIFLE and Acute Kidney Injury Network (AKIN) criteria for acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery. *Critical care (London, England)* 15, R16
37. Enoch, M.A., Xu, K., Ferro, E., Harris, C.R., and Goldman, D. (2003) Genetic origins of anxiety in women: a role for a functional catechol-O-methyltransferase polymorphism. *Psychiatric genetics* 13, 33-41
38. Faraday, N., Martinez, E.A., Scharpf, R.B., Kasch-Semenza, L., Dorman, T., Pronovost, P.J., Perler, B., Gerstenblith, G., Bray, P.F., and Fleisher, L.A. (2004) Platelet gene polymorphisms and cardiac risk assessment in vascular surgical patients. *Anesthesiology* 101, 1291-1297
39. Fischer, U.M., Weissenberger, W.K., Warters, R.D., Geissler, H.J., Allen, S.J., and Mehlhorn, U. (2002) Impact of cardiopulmonary bypass management on postcardiac surgery renal function. *Perfusion* 17, 401-406
40. Forsberg, M.M., Juvonen, R.O., Helisalmi, P., Leppanen, J., Gogos, J.A., Karayiorgou, M., and Mannisto, P.T. (2004) Lack of increased oxidative stress in catechol-O-methyltransferase (COMT)-deficient mice. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 370, 279-289
41. Galea, J.L., Manche, A., and Finn, A.R. (1998) Circulating adhesion molecules in cardiac surgical patients. *The Annals of thoracic surgery* 66, 1469
42. Galley, H.F., Lowe, P.R., Carmichael, R.L., and Webster, N.R. (2003) Genotype and interleukin-10 responses after cardiopulmonary bypass. *British journal of anaesthesia* 91, 424-426
43. Gaudino, M., Di Castelnuovo, A., Zamparelli, R., Andreotti, F., Burzotta, F., Iacoviello, L., Gliuca, F., Alessandrini, F., Nasso, G., Donati, M.B., Maseri, A., Schiavello, R., and Possati, G. (2003) Genetic control of postoperative systemic inflammatory reaction and pulmonary and renal complications after coronary artery surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 126, 1107-1112
44. Gaudino, M., Andreotti, F., Zamparelli, R., Di Castelnuovo, A., Nasso, G., Burzotta, F., Iacoviello, L., Donati, M.B., Schiavello, R., Maseri, A., and Possati, G. (2003) The -174G/C interleukin-6 polymorphism influences postoperative interleukin-

- 6 levels and postoperative atrial fibrillation. Is atrial fibrillation an inflammatory complication? *Circulation* 108 Suppl 1, II195-199
45. Goudeau, J.J., Clermont, G., Guillery, O., Lemaire-Ewing, S., Musat, A., Vernet, M., Vergely, C., Guiguet, M., Rochette, L., and Girard, C. (2007) In high-risk patients, combination of antiinflammatory procedures during cardiopulmonary bypass can reduce incidences of inflammation and oxidative stress. *Journal of cardiovascular pharmacology* 49, 39-45
46. Green, E.D., and Guyer, M.S. Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside. *Nature* 470, 204-213
47. Grocott, H.P., Newman, M.F., El-Moalem, H., Bainbridge, D., Butler, A., and Laskowitz, D.T. (2001) Apolipoprotein E genotype differentially influences the proinflammatory and anti-inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 122, 622-623
48. Grocott, H.P., White, W.D., Morris, R.W., Podgoreanu, M.V., Mathew, J.P., Nielsen, D.M., Schwinn, D.A., and Newman, M.F. (2005) Genetic polymorphisms and the risk of stroke after cardiac surgery. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 36, 1854-1858
49. Guldberg, H.C., and Marsden, C.A. (1975) Catechol-O-methyl transferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacological reviews* 27, 135-206
50. Haase-Fielitz, A., Haase, M., Bellomo, R., Lambert, G., Matalanis, G., Story, D., Doolan, L., Buxton, B., Gutteridge, G., Luft, F.C., Schunck, W.H., and Dragun, D. (2009) Decreased catecholamine degradation associates with shock and kidney injury after cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol* 20, 1393-1403
51. Haase, M., Haase-Fielitz, A., Bagshaw, S.M., Ronco, C., and Bellomo, R. (2007) Cardiopulmonary bypass-associated acute kidney injury: a pigment nephropathy? *Contributions to nephrology* 156, 340-353
52. Haase, M., Haase-Fielitz, A., Bellomo, R., Devarajan, P., Story, D., Matalanis, G., Reade, M.C., Bagshaw, S.M., Seevanayagam, N., Seevanayagam, S., Doolan, L., Buxton, B., and Dragun, D. (2009) Sodium bicarbonate to prevent increases in serum creatinine after cardiac surgery: a pilot double-blind, randomized controlled trial. *Critical care medicine* 37, 39-47
53. Halkos, M.E., Puskas, J.D., Lattouf, O.M., Kilgo, P., Kerendi, F., Song, H.K., Guyton, R.A., and Thourani, V.H. (2008) Elevated preoperative hemoglobin A1c level is predictive of adverse events after coronary artery bypass surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 136, 631-640
54. Happonen, P., Voutilainen, S., Tuomainen, T.P., and Salonen, J.T. (2006) Catechol-o-methyltransferase gene polymorphism modifies the effect of coffee intake on incidence of acute coronary events. *PloS one* 1, e117
55. Hensel, M., Volk, T., Docke, W.D., Kern, F., Tschirna, D., Egerer, K., Konertz, W., and Kox, W.J. (1998) Hyperprocalcitonemia in patients with noninfectious SIRS and pulmonary dysfunction associated with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 89, 93-104
56. Herget-Rosenthal, S., Marggraf, G., Husing, J., Goring, F., Pietruck, F., Janssen, O., Philipp, T., and Kribben, A. (2004) Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney international* 66, 1115-1122
57. Heringlake, M. (2002) [Cardio-renal-axis--physiology, pathophysiology, and clinical relevance?]. *Anesthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie : AINS* 37, 250-257

58. Hess, P.J., Jr. (2005) Systemic inflammatory response to coronary artery bypass graft surgery. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists* 62, S6-9
59. Heyman, S.N., Rosenberger, C., and Rosen, S. (2005) Regional alterations in renal haemodynamics and oxygenation: a role in contrast medium-induced nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 20 Suppl 1, i6-11
60. Hilker M., S.F., Philipp A., Arlt M., Birnbaum D. (2007) Optimales Management der Herz-Lungen-Maschine zur Schonung der Nierenfunktion *Clin Res Cardiol Suppl* 2007, 2
61. Hix, J.K., Thakar, C.V., Katz, E.M., Yared, J.P., Sabik, J., and Paganini, E.P. (2006) Effect of off-pump coronary artery bypass graft surgery on postoperative acute kidney injury and mortality. *Critical care medicine* 34, 2979-2983
62. Hobbhahn, J., Habazettl, H., Conzen, P., and Peter, K. (1991) [Complications caused by protamine. 1: Pharmacology and pathophysiology]. *Der Anaesthetist* 40, 365-374
63. Hobbhahn, J., Habazettl, H., Conzen, P., and Peter, K. (1991) [Complications caused by protamine. 2. Therapy and prevention]. *Der Anaesthetist* 40, 421-428
64. Holt, S., and Moore, K. (2000) Pathogenesis of renal failure in rhabdomyolysis: the role of myoglobin. *Experimental nephrology* 8, 72-76
65. Holweg, C.T., Weimar, W., Uitterlinden, A.G., and Baan, C.C. (2004) Clinical impact of cytokine gene polymorphisms in heart and lung transplantation. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* 23, 1017-1026
66. Hudson, K.L. Genomics, health care, and society. *The New England journal of medicine* 365, 1033-1041
67. Huerta-Alardin, A.L., Varon, J., and Marik, P.E. (2005) Bench-to-bedside review: Rhabdomyolysis -- an overview for clinicians. *Crit Care* 9, 158-169
68. Jouan, J., Golmard, L., Benhamouda, N., Durrleman, N., Golmard, J.L., Ceccaldi, R., Trinquart, L., Fabiani, J.N., Tartour, E., Jeunemaitre, X., and Menasche, P. (2012) Gene polymorphisms and cytokine plasma levels as predictive factors of complications after cardiopulmonary bypass. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*
69. Kaczmarczyk, G., Vogel, S., Krebs, M., Bunger, H., and Scholz, A. (1996) Vasopressin and renin-angiotensin maintain arterial pressure during PEEP in nonexpanded, conscious dogs. *The American journal of physiology* 271, R1396-1402
70. Kats, S., Schonberger, J.P., Brands, R., Seinen, W., and van Oeveren, W. (2011) Endotoxin release in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: pathophysiology and possible therapeutic strategies. An update. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* 39, 451-458
71. Kilger, E., Pichler, B., Goetz, A.E., Rank, N., Welte, M., Morstedt, K., Vetter, H.O., Godje, O., Schmitz, C., Lamm, P., Engelschalk, E., Muehlbeyer, D., and Frey, L. (1998) Procalcitonin as a marker of systemic inflammation after conventional or minimally invasive coronary artery bypass grafting. *The Thoracic and cardiovascular surgeon* 46, 130-133
72. Kudlova, M., Kolackova, M., Kunes, P., Andrys, C., Jankovicova, K., Mand'ak, J., Lonsky, V., and Krejsek, J. (2007) [Cardiac surgery operations and their influence

- on serum level of antiinflammatory cytokine interleukin-10]. *Casopis lekaru ceskych* 146, 48-55; discussion 55-46
73. Kunes, P., Lonsky, V., Mand'ak, J., Brtko, M., Kolackova, M., Andrys, C., Kudlova, M., and Krejsek, J. (2007) The inflammatory response in cardiac surgery. An up-to-date overview with the emphasis on the role of heat shock proteins (HSPs) 60 and 70. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 50, 93-99
74. Kuroko, Y., Fujii, T., Yamazaki, T., Akiyama, T., Ishino, K., Sano, S., and Mori, H. (2005) Contribution of catechol O-methyltransferase to the removal of accumulated interstitial catecholamines evoked by myocardial ischemia. *Neuroscience letters* 388, 61-64
75. Lachman, H.M., Morrow, B., Shprintzen, R., Veit, S., Parsia, S.S., Faedda, G., Goldberg, R., Kucherlapati, R., and Papolos, D.F. (1996) Association of codon 108/158 catechol-O-methyltransferase gene polymorphism with the psychiatric manifestations of velo-cardio-facial syndrome. *American journal of medical genetics* 67, 468-472
76. Landry, D.W., and Oliver, J.A. (2001) The pathogenesis of vasodilatory shock. *The New England journal of medicine* 345, 588-595
77. Lasocki, S., Iglarz, M., Seince, P.F., Vuillaumier-Barrot, S., Vicaut, E., Henrion, D., Levy, B., Desmots, J.M., Philip, I., and Benessiano, J. (2002) Involvement of renin-angiotensin system in pressure-flow relationship: role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. *Anesthesiology* 96, 271-275
78. Lassnigg, A., Schmidlin, D., Mouhieddine, M., Bachmann, L.M., Druml, W., Bauer, P., and Hiesmayr, M. (2004) Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol* 15, 1597-1605
79. Lassnigg, A., Donner, E., Grubhofer, G., Presterl, E., Druml, W., and Hiesmayr, M. (2000) Lack of renoprotective effects of dopamine and furosemide during cardiac surgery. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 11, 97-104
80. Legrand, M., Mik, E.G., Johannes, T., Payen, D., and Ince, C. (2008) Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Mol Med* 14, 502-516
81. Macarthur, H., Westfall, T.C., Riley, D.P., Misko, T.P., and Salvemini, D. (2000) Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 9753-9758
82. Mangano, C.M., Diamondstone, L.S., Ramsay, J.G., Aggarwal, A., Herskowitz, A., and Mangano, D.T. (1998) Renal dysfunction after myocardial revascularization: risk factors, adverse outcomes, and hospital resource utilization. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *Annals of internal medicine* 128, 194-203
83. Manolio, T.A. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *The New England journal of medicine* 363, 166-176
84. Marian, A.J. Molecular genetic studies of complex phenotypes. *Transl Res* 159, 64-79
85. Mariscalco, G., Lorusso, R., Dominici, C., Renzulli, A., and Sala, A. (2011) Acute kidney injury: a relevant complication after cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery* 92, 1539-1547
86. Markewitz, A., Lante, W., Franke, A., Marohl, K., Kuhlmann, W.D., and Weinhold, C. (2001) Alterations of cell-mediated immunity following cardiac operations: clinical implications and open questions. *Shock* 16 Suppl 1, 10-15

87. Mathew, J.P., Rinder, C.S., Howe, J.G., Fontes, M., Crouch, J., Newman, M.F., Phillips-Bute, B., and Smith, B.R. (2001) Platelet PIA2 polymorphism enhances risk of neurocognitive decline after cardiopulmonary bypass. Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. *The Annals of thoracic surgery* 71, 663-666
88. Mehta, R.L., Pascual, M.T., Soroko, S., and Chertow, G.M. (2002) Diuretics, mortality, and nonrecovery of renal function in acute renal failure. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 288, 2547-2553
89. Meister, B., Bean, A.J., and Aperia, A. (1993) Catechol-O-methyltransferase mRNA in the kidney and its appearance during ontogeny. *Kidney international* 44, 726-733
90. Mekontso-Dessap, A., Houel, R., Soustelle, C., Kirsch, M., Thebert, D., and Loisançe, D.Y. (2001) Risk factors for post-cardiopulmonary bypass vasoplegia in patients with preserved left ventricular function. *The Annals of thoracic surgery* 71, 1428-1432
91. Mishra, J., Dent, C., Tarabishi, R., Mitsnefes, M.M., Ma, Q., Kelly, C., Ruff, S.M., Zahedi, K., Shao, M., Bean, J., Mori, K., Barasch, J., and Devarajan, P. (2005) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 365, 1231-1238
92. Mockel, M., Radovic, M., Kuhnle, Y., Combe, V., Waigand, J., Schroder, S., Dietz, R., Frei, U., and Eckardt, K.U. (2008) Acute renal haemodynamic effects of radiocontrast media in patients undergoing left ventricular and coronary angiography. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 23, 1588-1594
93. Montag, C., Buckholtz, J.W., Hartmann, P., Merz, M., Burk, C., Hennig, J., and Reuter, M. (2008) COMT genetic variation affects fear processing: psychophysiological evidence. *Behavioral neuroscience* 122, 901-909
94. Moore, K.P., Holt, S.G., Patel, R.P., Svistunenko, D.A., Zackert, W., Goodier, D., Reeder, B.J., Clozel, M., Anand, R., Cooper, C.E., Morrow, J.D., Wilson, M.T., Darley-Usmar, V., and Roberts, L.J., 2nd (1998) A causative role for redox cycling of myoglobin and its inhibition by alkalinization in the pathogenesis and treatment of rhabdomyolysis-induced renal failure. *The Journal of biological chemistry* 273, 31731-31737
95. Morales, D.L., Garrido, M.J., Madigan, J.D., Helman, D.N., Faber, J., Williams, M.R., Landry, D.W., and Oz, M.C. (2003) A double-blind randomized trial: prophylactic vasopressin reduces hypotension after cardiopulmonary bypass. *The Annals of thoracic surgery* 75, 926-930
96. Nikolsky, E., Mehran, R., Lasic, Z., Mintz, G.S., Lansky, A.J., Na, Y., Pocock, S., Negoita, M., Moussa, I., Stone, G.W., Moses, J.W., Leon, M.B., and Dangas, G. (2005) Low hematocrit predicts contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions. *Kidney international* 67, 706-713
97. Nolan, K.A., Volavka, J., Czobor, P., Cseh, A., Lachman, H., Saito, T., Tiihonen, J., Putkonen, A., Hallikainen, T., Kotilainen, I., Rasanen, P., Isohanni, M., Jarvelin, M.R., and Karvonen, M.K. (2000) Suicidal behavior in patients with schizophrenia is related to COMT polymorphism. *Psychiatric genetics* 10, 117-124
98. Oliver, W.C., Jr., Nuttall, G.A., Orszulak, T.A., Bamlet, W.R., Abel, M.D., Ereth, M.H., and Schaff, H.V. (2004) Hemofiltration but not steroids results in earlier tracheal extubation following cardiopulmonary bypass: a prospective, randomized double-blind trial. *Anesthesiology* 101, 327-339

99. Ortlepp, J.R., Janssens, U., Bleckmann, F., Lauscher, J., Merkelbach-Bruse, S., Hanrath, P., and Hoffmann, R. (2001) A chymase gene variant is associated with atherosclerosis in venous coronary artery bypass grafts. *Coronary artery disease* 12, 493-497
100. Ouattara, A., Lecomte, P., Le Manach, Y., Landi, M., Jacqueminet, S., Platonov, I., Bonnet, N., Riou, B., and Coriat, P. (2005) Poor intraoperative blood glucose control is associated with a worsened hospital outcome after cardiac surgery in diabetic patients. *Anesthesiology* 103, 687-694
101. Ozal, E., Kuralay, E., Yildirim, V., Kilic, S., Bolcal, C., Kucukarslan, N., Gunay, C., Demirkilic, U., and Tatar, H. (2005) Preoperative methylene blue administration in patients at high risk for vasoplegic syndrome during cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery* 79, 1615-1619
102. Pannu, N., and Nadim, M.K. (2008) An overview of drug-induced acute kidney injury. *Critical care medicine* 36, S216-223
103. Parolari, A., Pesce, L.L., Pacini, D., Mazzanti, V., Salis, S., Sciacovelli, C., Rossi, F., and Alamanni, F. (2012) Risk factors for perioperative acute kidney injury after adult cardiac surgery: role of perioperative management. *The Annals of thoracic surgery* 93, 584-591
104. Popov, A.F., Schulz, E.G., Schmitto, J.D., Coskun, K.O., Tzvetkov, M.V., Kazmaier, S., Zimmermann, J., Schondube, F.A., Quintel, M., and Hinz, J. (2010) Relation between renal dysfunction requiring renal replacement therapy and promoter polymorphism of the erythropoietin gene in cardiac surgery. *Artificial organs* 34, 961-968
105. Popov, A.F., Hinz, J., Schulz, E.G., Schmitto, J.D., Wiese, C.H., Quintel, M., Seipelt, R., and Schoendube, F.A. (2009) The eNOS 786C/T polymorphism in cardiac surgical patients with cardiopulmonary bypass is associated with renal dysfunction. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* 36, 651-656
106. Ranucci, M., Ballotta, A., Kunkl, A., De Benedetti, D., Kandil, H., Conti, D., Mollicelli, N., Bossone, E., and Mehta, R.H. (2008) Influence of the timing of cardiac catheterization and the amount of contrast media on acute renal failure after cardiac surgery. *The American journal of cardiology* 101, 1112-1118
107. Reuter, M., Schmitz, A., Corr, P., and Hennig, J. (2006) Molecular genetics support Gray's personality theory: the interaction of COMT and DRD2 polymorphisms predicts the behavioural approach system. *Int J Neuropsychopharmacol* 9, 155-166
108. Reuter, M., and Hennig, J. (2005) Association of the functional catechol-O-methyltransferase VAL158MET polymorphism with the personality trait of extraversion. *Neuroreport* 16, 1135-1138
109. Riddez, L., Hahn, R.G., Brismar, B., Strandberg, A., Svensen, C., and Hedenstierna, G. (1997) Central and regional hemodynamics during acute hypovolemia and volume substitution in volunteers. *Critical care medicine* 25, 635-640
110. Rosner, M.H., and Okusa, M.D. (2006) Acute kidney injury associated with cardiac surgery. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 1, 19-32
111. Scanlon, P.D., Raymond, F.A., and Weinshilboum, R.M. (1979) Catechol-O-methyltransferase: thermolabile enzyme in erythrocytes of subjects homozygous for allele for low activity. *Science* 203, 63-65

112. Schmahl, C., Ludascher, P., Greffrath, W., Kraus, A., Valerius, G., Schulze, T.G., Treutlein, J., Rietschel, M., Smolka, M.N., and Bohus, M. (2012) COMT val158met Polymorphism and Neural Pain Processing. *PloS one* 7, e23658
113. Scolari, F., Tardanico, R., Zani, R., Pola, A., Viola, B.F., Movilli, E., and Maiorca, R. (2000) Cholesterol crystal embolism: A recognizable cause of renal disease. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 36, 1089-1109
114. Scolari, F., Ravani, P., Pola, A., Guerini, S., Zubani, R., Movilli, E., Savoldi, S., Malberti, F., and Maiorca, R. (2003) Predictors of renal and patient outcomes in atheroembolic renal disease: a prospective study. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 14, 1584-1590
115. Shanmugam, G. (2005) Vasoplegic syndrome--the role of methylene blue. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* 28, 705-710
116. Stafford-Smith, M., Podgoreanu, M., Swaminathan, M., Phillips-Bute, B., Mathew, J.P., Hauser, E.H., Winn, M.P., Milano, C., Nielsen, D.M., Smith, M., Morris, R., Newman, M.F., and Schwinn, D.A. (2005) Association of genetic polymorphisms with risk of renal injury after coronary bypass graft surgery. *Am J Kidney Dis* 45, 519-530
117. Stokes, A.H., Hastings, T.G., and Vrana, K.E. (1999) Cytotoxic and genotoxic potential of dopamine. *Journal of neuroscience research* 55, 659-665
118. Strous, R.D., Bark, N., Parsia, S.S., Volavka, J., and Lachman, H.M. (1997) Analysis of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenia: evidence for association with aggressive and antisocial behavior. *Psychiatry research* 69, 71-77
119. Strous, R.D., Nolan, K.A., Lapidus, R., Diaz, L., Saito, T., and Lachman, H.M. (2003) Aggressive behavior in schizophrenia is associated with the low enzyme activity COMT polymorphism: a replication study. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics* 120B, 29-34
120. Sundberg, S., Scheinin, M., Illi, A., Akkila, J., Gordin, A., and Keranen, T. (1993) The effects of the COMT inhibitor entacapone on haemodynamics and peripheral catecholamine metabolism during exercise. *British journal of clinical pharmacology* 36, 451-456
121. Tardiff, B.E., Newman, M.F., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Blumenthal, J.A., White, W.D., Croughwell, N.D., Davis, R.D., Jr., Roses, A.D., and Reves, J.G. (1997) Preliminary report of a genetic basis for cognitive decline after cardiac operations. The Neurologic Outcome Research Group of the Duke Heart Center. *The Annals of thoracic surgery* 64, 715-720
122. Terry, C.F., Loukaci, V., and Green, F.R. (2000) Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *The Journal of biological chemistry* 275, 18138-18144
123. Toft, P., Tonnesen, E., Zulow, I., Nielsen, C.H., and Hokland, M. (1997) Expression of adhesion and activation molecules on lymphocytes during open-heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Scandinavian cardiovascular journal : SCJ* 31, 91-95
124. Tolpin, D.A., Collard, C.D., Lee, V.V., Virani, S.S., Allison, P.M., Elayda, M.A., and Pan, W. (2011) Subclinical changes in serum creatinine and mortality after coronary artery bypass grafting. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*

- 
125. Tolpin, D.A., Collard, C.D., Lee, V.V., Virani, S.S., Allison, P.M., Elayda, M.A., and Pan, W. Subclinical changes in serum creatinine and mortality after coronary artery bypass grafting. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 143, 682-688 e681
126. Tomasdottir, H., Hjartarson, H., Ricksten, A., Wasslavik, C., Bengtsson, A., and Ricksten, S.E. (2003) Tumor necrosis factor gene polymorphism is associated with enhanced systemic inflammatory response and increased cardiopulmonary morbidity after cardiac surgery. *Anesthesia and analgesia* 97, 944-949, table of contents
127. Tripepi, G., Mallamaci, F., and Zoccali, C. (2005) Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 16 Suppl 1, S83-88
128. Tsai, S.J., Yu, Y.W., Chen, T.J., Chen, J.Y., Liou, Y.J., Chen, M.C., and Hong, C.J. (2003) Association study of a functional catechol-O-methyltransferase-gene polymorphism and cognitive function in healthy females. *Neuroscience letters* 338, 123-126
129. Uchino, S., Kellum, J.A., Bellomo, R., Doig, G.S., Morimatsu, H., Morgera, S., Schetz, M., Tan, I., Bouman, C., Macedo, E., Gibney, N., Tolwani, A., and Ronco, C. (2005) Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *Jama* 294, 813-818
130. Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P., Ballew, R.M., Huson, D.H., Wortman, J.R., Zhang, Q., Kodira, C.D., Zheng, X.H., Chen, L., Skupski, M., Subramanian, G., Thomas, P.D., Zhang, J., Gabor Miklos, G.L., Nelson, C., Broder, S., Clark, A.G., Nadeau, J., McKusick, V.A., Zinder, N., Levine, A.J., Roberts, R.J., Simon, M., Slayman, C., Hunkapiller, M., Bolanos, R., Delcher, A., Dew, I., Fasulo, D., Flanigan, M., Florea, L., Halpern, A., Hannenhalli, S., Kravitz, S., Levy, S., Mobarry, C., Reinert, K., Remington, K., Abu-Threideh, J., Beasley, E., Biddick, K., Bonazzi, V., Brandon, R., Cargill, M., Chandramouliswaran, I., Charlab, R., Chaturvedi, K., Deng, Z., Di Francesco, V., Dunn, P., Eilbeck, K., Evangelista, C., Gabrielian, A.E., Gan, W., Ge, W., Gong, F., Gu, Z., Guan, P., Heiman, T.J., Higgins, M.E., Ji, R.R., Ke, Z., Ketchum, K.A., Lai, Z., Lei, Y., Li, Z., Li, J., Liang, Y., Lin, X., Lu, F., Merkulov, G.V., Milshina, N., Moore, H.M., Naik, A.K., Narayan, V.A., Neelam, B., Nusskern, D., Rusch, D.B., Salzberg, S., Shao, W., Shue, B., Sun, J., Wang, Z., Wang, A., Wang, X., Wang, J., Wei, M., Wides, R., Xiao, C., Yan, C., Yao, A., Ye, J., Zhan, M., Zhang, W., Zhang, H., Zhao, Q., Zheng, L., Zhong, F., Zhong, W., Zhu, S., Zhao, S., Gilbert, D., Baumhueter, S., Spier, G., Carter, C., Cravchik, A., Woodage, T., Ali, F., An, H., Awe, A., Baldwin, D., Baden, H., Barnstead, M., Barrow, I., Beeson, K., Busam, D., Carver, A., Center, A., Cheng, M.L., Curry, L., Danaher, S., Davenport, L., Desilets, R., Dietz, S., Dodson, K., Doup, L., Ferriera, S., Garg, N., Gluecksmann, A., Hart, B., Haynes, J., Haynes, C., Heiner, C., Hladun, S., Hostin, D., Houck, J., Howland, T., Ibegwam, C., Johnson, J., Kalush, F., Kline, L., Koduru, S., Love, A., Mann, F., May, D., McCawley, S., McIntosh, T., McMullen, I., Moy, M., Moy, L., Murphy, B., Nelson, K., Pfannkoch, C., Pratts, E., Puri, V., Qureshi, H., Reardon, M., Rodriguez, R., Rogers, Y.H., Romblad, D., Ruhfel, B., Scott, R., Sitter, C., Smallwood, M., Stewart, E., Strong, R., Suh, E., Thomas, R., Tint, N.N., Tse, S., Vech, C., Wang, G., Wetter, J., Williams, S., Williams, M., Windsor, S., Winn-Deen, E., Wolfe, K., Zaveri, J., Zaveri, K., Abril, J.F., Guigo, R., Campbell, M.J., Sjolander, K.V., Karlak, B., Kejariwal, A., Mi, H., Lazareva, B.,
-

- Hatton, T., Narechania, A., Diemer, K., Muruganujan, A., Guo, N., Sato, S., Bafna, V., Istrail, S., Lippert, R., Schwartz, R., Walenz, B., Yooseph, S., Allen, D., Basu, A., Baxendale, J., Blick, L., Caminha, M., Carnes-Stine, J., Caulk, P., Chiang, Y.H., Coyne, M., Dahlke, C., Mays, A., Dombroski, M., Donnelly, M., Ely, D., Esparham, S., Fosler, C., Gire, H., Glanowski, S., Glasser, K., Glodek, A., Gorokhov, M., Graham, K., Gropman, B., Harris, M., Heil, J., Henderson, S., Hoover, J., Jennings, D., Jordan, C., Jordan, J., Kasha, J., Kagan, L., Kraft, C., Levitsky, A., Lewis, M., Liu, X., Lopez, J., Ma, D., Majoros, W., McDaniel, J., Murphy, S., Newman, M., Nguyen, T., Nguyen, N., Nodell, M., Pan, S., Peck, J., Peterson, M., Rowe, W., Sanders, R., Scott, J., Simpson, M., Smith, T., Sprague, A., Stockwell, T., Turner, R., Venter, E., Wang, M., Wen, M., Wu, D., Wu, M., Xia, A., Zandieh, A., and Zhu, X. (2001) The sequence of the human genome. *Science* 291, 1304-1351
131. Volavka, J., Bilder, R., and Nolan, K. (2004) Catecholamines and aggression: the role of COMT and MAO polymorphisms. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1036, 393-398
132. Volzke, H., Engel, J., Kleine, V., Schwahn, C., Dahm, J.B., Eckel, L., and Rettig, R. (2002) Angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and cardiac mortality and morbidity after coronary artery bypass graft surgery. *Chest* 122, 31-36
133. Voutilainen, S., Tuomainen, T.P., Korhonen, M., Mursu, J., Virtanen, J.K., Happonen, P., Alftan, G., Erlund, I., North, K.E., Mosher, M.J., Kauhanen, J., Tiihonen, J., Kaplan, G.A., and Salonen, J.T. (2007) Functional COMT Val158Met polymorphism, risk of acute coronary events and serum homocysteine: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *PLoS one* 2, e181
134. Wan, S., LeClerc, J.L., and Vincent, J.L. (1997) Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. *Chest* 112, 676-692
135. Welsby, I.J., Podgoreanu, M.V., Phillips-Bute, B., Mathew, J.P., Smith, P.K., Newman, M.F., Schwinn, D.A., and Stafford-Smith, M. (2005) Genetic factors contribute to bleeding after cardiac surgery. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 3, 1206-1212
136. Zellner, J.L., Kribbs, S.B., Dorman, B.H., and Spinale, F.G. (1998) Cardiopulmonary bypass in a gravid patient: perioperative changes in endothelin levels. *The Annals of thoracic surgery* 66, 268-270
137. Zotz, R.B., Klein, M., Dauben, H.P., Moser, C., Gams, E., and Scharf, R.E. (2000) Prospective analysis after coronary-artery bypass grafting: platelet GP IIIa polymorphism (HPA-1b/PIA2) is a risk factor for bypass occlusion, myocardial infarction, and death. *Thrombosis and haemostasis* 83, 404-407

## 7. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Rüdiger Lange und Herrn Priv.-Doz. Dr. Bernhard Voss für die Überlassung des Themas und dass ich die Arbeit in ihrer Abteilung durchführen konnte.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Harald Lahm und Herrn Dr. Johannes Böhm danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Herrn Marcus-André Deutsch, Herrn Dr. Stefan Eichhorn und Herrn Rouven Reiff, die mir stets zur Seite standen.

Bedanken möchte ich mich zudem bei allen Mitarbeitern der Abteilung für Experimentelle Chirurgie und der Abteilung für Klinische Chemie des Deutschen Herzzentrums München, die bei der Auswertung der Proben beteiligt waren.