

**Untersuchungen zum Auftreten genetischer Varianten im Gen für den  
Serotoninrezeptor 5-HT<sub>3A</sub> (HTR3A) bei Patienten mit postoperativem Erbrechen**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Dr. med.

---

an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von:

Astrid Bergmann-Arnold geb. Bergmann  
geboren am 09. August 1979 in Oschatz

angefertigt an:

Universität Leipzig, Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie

Betreuer: Prof. Dr. med. habil. H. Rüffert

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 19.02.2013

## **Bibliografische Beschreibung**

Bergmann-Arnold, Astrid

Untersuchungen zum Auftreten genetischer Varianten im Gen für den Serotoninrezeptor 5-HT<sub>3A</sub> (HTR3A) bei Patienten mit postoperativem Erbrechen

Universität Leipzig, Dissertation

89 S., 125 Lit., 31 Abb., 13 Tab., 4 Anlagen

### **Referat**

Immer noch leiden ca. ein Drittel aller Patienten unter PONV (Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen). Von den Betroffenen wird PONV häufig als noch belastender empfunden als die postoperativen Schmerzen. Es kann zu schweren postoperativen Komplikationen führen, und damit verbunden ergeben sich nicht unerhebliche Kosten für das Gesundheitssystem.

Zur medikamentösen PONV-Prophylaxe stehen zahlreiche Substanzen ganz unterschiedlicher Medikamentengruppen zur Verfügung, eine davon sind die 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten. Ziel dieser Arbeit war es, nach Unterschieden im Auftreten von Varianten im Gen für den Serotoninrezeptor Subtyp A bei PONV- und Kontrollgruppenpatienten zu suchen, um so Rückschlüsse auf mögliche genetische Dispositionen ziehen zu können und effektivere therapeutische Angriffsmöglichkeiten (5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten) zu finden.

In diese Studie wurden 189 Patienten, davon 95 in der POV-Gruppe und 94 in der Kontrollgruppe, eingeschlossen. Von allen in die Studie eingeschlossenen Patienten wurde das vermeintliche Risiko PONV zu entwickeln nach dem Risikoscore von Apfel bewertet.

Bei allen PONV-Patienten wurde das gesamte 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (kodierende Sequenz, Promotorregion, angrenzende Exon- und Intron Bereiche) mittels PCR amplifiziert und anschließend durch direkte Sequenzierung analysiert. In der Kontrollgruppe erfolgte mittels dHPLC oder durch Sequenzierung eine Überprüfung der gefundenen genetischen Varianten. Mit Hilfe einer logistischen Regression erfolgte dann eine Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen.



---

# Inhaltsverzeichnis

Bibliografische Beschreibung.....	2
Abkürzungsverzeichnis .....	7
1 Einleitung .....	9
1.1 Fragestellung .....	9
1.2 Postoperative Nausea and Vomiting .....	9
1.2.1 Definition.....	9
1.2.2 Inzidenzen und Risikofaktoren für die Entwicklung von PONV .....	11
1.2.2.1 Inzidenzen.....	11
1.2.2.2 Patientenspezifische Risikofaktoren.....	12
1.2.2.2.1 Geschlecht .....	12
1.2.2.2.2 Nichtraucherstatus .....	12
1.2.2.2.3 PONV-Anamnese oder Reisekrankheit .....	13
1.2.2.2.4 Alter .....	13
1.2.2.2.5 Body Mass Index .....	14
1.2.2.2.6 Menstruationszyklus .....	14
1.2.2.3 Anästhesiologische Risikofaktoren .....	14
1.2.2.3.1 Anästhesieverfahren .....	14
1.2.2.3.2 Postoperative Opioidgabe .....	15
1.2.2.3.3 Postoperative Bewegungsreize .....	15
1.2.2.3.4 Erfahrungen des Anästhesisten.....	16
1.2.2.4 Operative Risikofaktoren.....	16
1.2.2.4.1 Operationsdauer.....	16
1.2.2.4.2 Operationstechnik und Fachabteilung .....	16
1.2.2.4.3 Magensonde.....	17
1.2.2.3 Modell zur Risikoeinschätzung .....	17
1.2.4 Prophylaxe und Therapie von PONV .....	18
1.3 Serotonin.....	20
1.3.1 Serotoninbiosynthese.....	20
1.3.2 Orte der Serotoninbildung .....	22
1.3.3 Serotoninwirkung .....	22
1.4 Serotoninrezeptoren.....	22
1.4.1 Der 5-HT <sub>3</sub> -Rezeptor .....	22
1.4.2 Die 5-HT <sub>3A</sub> -Untereinheit des 5-HT <sub>3</sub> -Rezeptors .....	25
1.4.3 Verteilung der 5-HT <sub>3</sub> -Rezeptoren im Zentralnervensystem.....	26
1.5 Das 5-HT <sub>3A</sub> -Gen .....	26



---

1.6 5-HT <sub>3A</sub> -Gen assoziierte Erkrankungen.....	27
2 Material und Methoden .....	28
2.1 Patientenauswahl .....	28
2.2 Molekulargenetische Methoden .....	29
2.2.1 DNA-Isolation aus Vollblut.....	29
2.2.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR) .....	30
2.2.2.1 Prinzip der PCR.....	30
2.2.2.2 PCR-Reagenzien und Reaktionsansätze.....	31
2.2.2.3 Thermocycler-Programme.....	32
2.2.3 Elektrophorese der PCR-Produkte.....	33
2.2.4 Reinigung der PCR-Produkte .....	34
2.2.5 Sequenzieransatz .....	34
2.2.6 Fällung des Sequenzieransatzes.....	35
2.2.7 DNA-Sequenzierung nach Sanger.....	36
2.2.8 Denaturing high performance liquid chromatography (dHPLC) .....	37
2.2.8.1 Grundlagen dHPLC .....	37
2.2.8.2 PCR-Reagenzien und Reaktionsansätze für die dHPLC .....	38
2.2.9 Verwendete Geräte .....	40
2.3 Statistik.....	40
3 Ergebnisse.....	41
3.1 Patientencharakterisierung .....	41
3.2 Resultate innerhalb der Gruppen .....	41
3.3 Ergebnisse der Genotypisierung des 5-HT <sub>3A</sub> -Rezeptors .....	44
3.4 Prädiktoren für ein erhöhtes POV-Risiko.....	56
4 Diskussion .....	57
4.1 PONV und der 5-HT <sub>3A</sub> -Rezeptor .....	57
4.2 Stellenwert bekannter PONV-Risikofaktoren in den untersuchten Gruppen.....	58
4.3 Bezüge zwischen den ermittelten Resultaten innerhalb der Gruppen und bereits bekannten Risikofaktoren .....	59
5 Zusammenfassung .....	63
Tabellenverzeichnis .....	65
Abbildungsverzeichnis .....	66
Literaturverzeichnis .....	68
Internetquellen .....	81
Anhang .....	82

---

Danksagung .....	86
Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit.....	87

---

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AF	Allelfrequenz
Aqua dest.	Aqua destillata (destilliertes Reinstwasser)
ASA	American Society of Anesthesiologists
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
bp	Basenbpaar
BPS	Bathophenanthrolindisulfonsäure
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
cDNA	komplementäre (kodierende) DANN
CTZ	Chemosensorische Triggerzone
D	Deutschland
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
dHPLC	Denaturing high performance liquid chromatography
dNTP	Desoxynucleosidtriphosphat
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EK	Endkonzentration
g	Gramm
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GP	Genposition
h	Stunde
HCL	Chlorwasserstoff
he	heterozygot
HGVS	Human Genome Variation Society
ho	homozygot
HT	Hydroxytryptamin

i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
kb	Kilobyte
M	molar
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
min.	Minuten
ml	Milliliter
n	Anzahl
NaOH	Natriumhydroxid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng	Nanogramm
NK	Neurokinin
nm	Nanometer
o.g.	oben genannt
PBS	phosphat gepufferte Salzlösung
PONV	Postoperative Nausea and Vomiting
POV	Postoperative Vomiting
sec.	Sekunde
Tab.	Tabelle
TE	Tris-EDTA-Puffer
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
Tris	Trishydroxymethyl-Aminomethan
TIVA	total intravenöse Anästhesie
U	Unit
UV	Ultraviolett
V	Volt

# 1 Einleitung

## 1.1 Fragestellung

Vor dem Hintergrund einer möglichen genetischen Disposition sowie effektiver therapeutischer Angriffsmöglichkeiten (5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten) sollte nach Unterschieden im Auftreten von Varianten im Gen für den Serotoninrezeptor Subtyp A bei PONV- und Kontrollgruppenpatienten gefahndet werden.

Hierzu wurde bei PONV-Patienten die gesamte kodierende Sequenz, die Promotorregion sowie die angrenzenden Exon- und Intron- Bereiche des Gens mittels PCR amplifiziert und anschließend durch direkte Sequenzierung analysiert. Die nachweisbaren genetischen Varianten wurden in der Kontrollgruppe über die denaturierende HPLC (Denaturing high performance liquid chromatography) oder mittels Sequenzierung geprüft. Die Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen erfolgte über eine logistische Regression.

## 1.2 Postoperative Nausea and Vomiting

Trotz moderner Verfahren der Allgemeinanästhesie, die eine gute Verträglichkeit für den Patienten gewährleisten können, steht das Auftreten von postoperativer(m) Übelkeit und Erbrechen (PONV) immer noch an vorderer Stelle bei den unerwünschten Nebenwirkungen.

### 1.2.1 Definition

Definiert ist Übelkeit als ein unangenehmes, nicht schmerzhaftes Ereignis, das zumeist auf den Pharynx oder den oberen Gastrointestinaltrakt projiziert wird. Übelkeit kann nur wenige Sekunden anhalten, sich über Stunden hinziehen oder, im Fall von schwerer Übelkeit, mit Erbrechen einhergehen (Apfel et al., 2004; Andrews 1992).

Erbrechen ist ein komplexer Vorgang, bei dem nach Verschluss des Pylorus und einer Relaxation von Fundus und Kardie Mageninhalt durch Kontraktionen der Bauch- und Zwerchfellmuskulatur entleert wird. Das Zwerchfell wird dabei in Inspirationsstellung fixiert und die Bauchmuskulatur zur Kontraktion stimuliert. Da sich gleichzeitig das Duodenum kontrahiert und die Ösophagusphinkter erschlaffen,

wird durch den hohen Druck auf den Magen dessen Inhalt via Ösophagus nach oral gepresst (Andrews 1992; Hildebrandt 1998; Silbernagel 2001).

Übelkeit, Würgen und Erbrechen dienen dem Schutz vor endogenen oder exogenen Schadstoffen oder sollen zur Beendigung emetogener Bedingungen beitragen. Sie entsprechen somit physiologischen Reaktionen des Körpers. Durch den emetischen Reflex kommt es zur Expulsion von Mageninhalt, und gleichzeitig wird die weitere Nahrungsaufnahme verhindert. Übelkeit und Erbrechen sind Warnsymptome von körperlichen Störungen oder Erkrankungen und treten in den verschiedensten klinischen Situationen auf (Kochs et al., 2001).

Das Brechzentrum liegt in der Medulla oblongata im Bereich der Formatio reticularis und wird über afferente Fasern aktiviert. Diese Afferenzen stammen aus der Chemorezeptortriggerzone (v.a. dopaminerg), aus dem Vestibularorgan (v.a. histaminerg) und vom Nervus vagus (v.a. serotoninerg). Schließlich werden sympathovagale und motorische Kerngebiete erregt, und es treten vegetative Reaktionen wie Kaltschweißigkeit, periorale Blässe und Erbrechen auf (Apfel et al., 2004).

PONV (Postoperative nausea and vomiting) bezeichnet Übelkeit und/oder Erbrechen nach einer Anästhesie. Das Maximum von Übelkeit und/oder Erbrechen liegt gewöhnlich in den ersten zwei Stunden nach einer Operation. Generell ist diese Komplikation aber bis 24 Stunden postoperativ möglich (Larsen 2002; Wurglics et al., 2007).

Ein im Anschluss an eine Narkose auftretendes Erbrechen wird von den betroffenen Patienten belastender als der postoperative Schmerz beschrieben. Des Weiteren erhöht es die Gefahr von Aspiration und kann zu Komplikationen wie Nahtdehiszenz, Ösophagusruptur, subcutanem Emphysem und bilateralem Pneumothorax führen (Apfel et al., 2004).

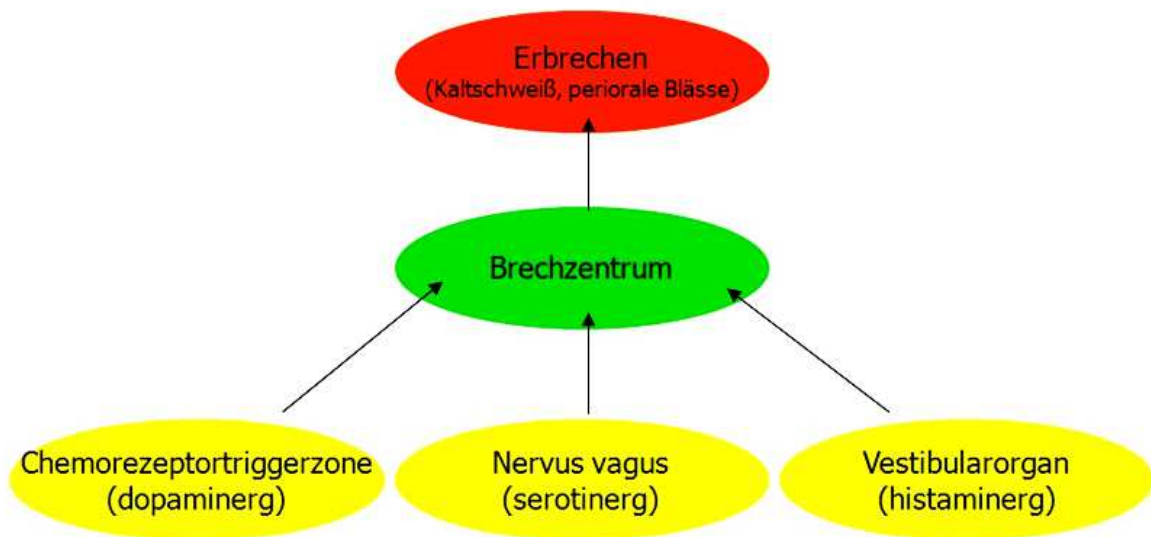


Abbildung 1: Darstellung der Pathophysiologie von PONV: Afferenzen aktivieren das Brechzentrum in der Medulla oblongata, es kommt zu vegetativen Reaktionen wie Übelkeit und Erbrechen

## 1.2.2 Inzidenzen und Risikofaktoren für die Entwicklung von PONV

### 1.2.2.1 Inzidenzen

Auch heute noch liegt die Inzidenz von PONV im Bereich von 25–30%. Dafür werden zahlreiche Risikofaktoren verantwortlich gemacht. Im Folgenden werden die Risikofaktoren nicht nach pathophysiologischer Plausibilität, sondern gemäß der Datenlage und ihrer klinischen Relevanz dargestellt (Apfel et al., 2004).

Tabelle 1: Risikofaktoren für PONV, klassifiziert nach der Evidenz und klinischer Bedeutung (I = moderat, II = stark, III = sehr stark) (Bellville et al., 1960)

Gesichert und klinisch besonders bedeutsam	
	III weibliches Geschlecht
	II Nichtraucherstatus
	II Anamnese von PONV oder Reisekrankheit
	III Allgemeinanästhesie
	II volatile Anästhetika
	II Narkosedauer
	II postoperative Opioide
Gesichert, aber klinisch weniger bedeutsam	
	junges Alter und ASA Status 1 oder 2

	Lachgas
	Neostigmin, Pyridostigmin
<b>Kontroverse Datenlage</b>	
	Chirurgischer Eingriff
	Erfahrung des Anästhesisten
	Routinemäßige Magensonde
<b>Unzureichende Daten</b>	
	Schmerzen
	Bewegungen
<b>Widerlegt</b>	
	Adipositas (Body mass index)
	Menstruationszyklus
	Angst und Persönlichkeit

### **1.2.2.2 Patientenspezifische Risikofaktoren**

#### **1.2.2.2.1 Geschlecht**

Ältere und neuere Studien zeigen, dass Frauen ein zwei- bis dreifach höheres Risiko für Übelkeit und/oder Erbrechen nach Narkosen haben (Apfel et al., 2004; Apfel et al., 2000; Bellville et al., 1960). Allerdings wird dieses Risiko erst mit dem Eintreten der Geschlechtsreife deutlich, so dass spezifische hormonelle Ursachen in Betracht gezogen werden können (Apfel et al., 2000; Bellville 1961; Palazzo et al., 1984).

#### **1.2.2.2.2 Nichtraucherstatus**

Nichtraucher leiden ca. zweimal häufiger unter Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen als Raucher. Dies konnte u. a. Cohen et al. in einer großen epidemiologischen Multicenterstudie mit ca. 16000 Patienten zeigen (Apfel et al., 2004; Apfel et al., 2000; Apfel et al., 1998; Cohen et al., 1994). Noch gibt es keine einheitliche Erklärung für die pathophysiologischen Mechanismen der protektiven Wirkung des Nikotins. Zum einen könnte die Beeinflussung des dopaminergen Systems eine Rolle spielen: Im GABA-ergen-System hemmt Nikotin die Dopaminfreisetzung, folglich steigt die synaptische Dopaminkonzentration, und dies



führt schließlich zur Downregulierung der Dopaminrezeptoren am synaptischen Spalt. Kommt es also bei chronischen Rauchern im Verlauf einer Narkosevorbereitung und einer Narkose zu einem Nikotinentzug, so wäre eine niedrigere Inzidenz von PONV durch einen relativen Dopaminmangel erklärbar (Apfel et al., 2004; Apfel et al., 2000; Serhan et al., 1995). Sweeney kommt in seiner Studie zu dem Ergebnis, dass die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe des Zigarettenrauchs über Beeinflussung der Cytochromoxidaseenzyme den Abbau von Medikamenten in der Leber verändern. Auch dies könnte möglicherweise einen Einfluss auf postoperative Übelkeit und/oder Erbrechen haben (Sweeney, 2002).

#### ***1.2.2.2.3 PONV-Anamnese oder Reisekrankheit***

Patienten, die nach früheren Operationen Übelkeit und Erbrechen entwickelten, haben ein generell zwei- bis dreifach höheres Risiko für PONV. Dies gilt auch für Personen, die in ihrer Anamnese eine Reisekrankheit angeben (Apfel et al., 2000; Apfel et al., 1998). Von einigen Autoren wird dieser Zusammenhang auf psychische Faktoren zurückgeführt und als Beleg für psychische Einflüsse im Sinne einer Konditionierung interpretiert (Apfel et al., 2000; Bardenheuer et al., 1997). Allerdings ist es wahrscheinlicher, von einer individuell unterschiedlich ausgeprägten Empfindlichkeit des Brechreflexes auszugehen (Palazzo et al., 1984; Palazzo et al., 1993). Möglich ist auch die generelle Disposition zu Übelkeit und Erbrechen, diese scheint sich in einer Zwillingsstudie zu bestätigen (Andrews, 1992; Reavley et al., 1999).

Auf der anderen Seite wird davon ausgegangen, dass bestimmte Personen eine gewisse Disposition zu Übelkeit und Erbrechen besitzen. Dieser Ansatz basiert u. a. auf Zwillingsstudien und war auch Grundlage der vorliegenden Arbeit.

#### ***1.2.2.2.4 Alter***

Als gesicherter Risikofaktor für postoperative Übelkeit und/oder Erbrechen gilt auch das Alter. Allerdings ist es sinnvoll, zwischen Erwachsenen und Kindern zu unterscheiden. Mit ca. 5% erbrechen Säuglinge relativ selten und haben damit die niedrigste PONV-Wahrscheinlichkeit. Schulkinder und Jugendliche im Alter von 6–16 Jahren haben mit 34–51% die höchste PONV-Wahrscheinlichkeit. Im

Erwachsenenalter bleibt die Häufigkeit konstant bei ca. 14–40%, sinkt aber ab der 7. Lebensdekade wieder ab (Apfel et al., 2004; Apfel et al., 2000; Cohen et al., 1990).

#### **1.2.2.2.5 Body Mass Index**

Obwohl im Jahre 1960 in einer Studie von Bellville et al. ein Zusammenhang zwischen Adipositas und Übelkeit und Erbrechen beschrieben wurde, gilt dieser Zusammenhang heute als widerlegt. Damals vermutete man, dass sich die Anästhetika im Fettgewebe festsetzen und über eine langsame Wiederabgabe PONV induzieren können (Bellville et al., 1960). Inzwischen wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass der BMI eindeutig keinen Einfluss auf Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen hat (Cohen et al., 1994).

#### **1.2.2.2.6 Menstruationszyklus**

In verschiedenen Studien wurde wiederholt ein Zusammenhang mit den verschiedenen Zyklusphasen und Übelkeit und Erbrechen beschrieben. So zeigte zum Beispiel eine retrospektive Analyse von Beattie et al. eine erhöhte Inzidenz von Übelkeit und Erbrechen während der Menstruationsphase (Beattie et al., 1991). Honkavaara et al. und Bellville et al. konnten in ihren Untersuchungen zeigen, dass die Inzidenz von Übelkeit und Erbrechen vor allem in der Lutealphase (Tag 20-24) erhöht ist (Bellville 1961; Honkavaara et al., 1991). Allerdings konnte letztlich fast jeder Zyklusphase ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko für Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen zugeordnet werden. Mittlerweile wird davon ausgegangen, dass die spezifischen Zyklusphasen nicht mit einer veränderten PONV-Inzidenz assoziiert sind, sondern dass allgemein das Geschlecht das Risiko beeinflusst (Goepfert et al., 1997; Goepfert et al., 1998; Gratz et al., 1996).

#### **1.2.2.3 Anästhesiologische Risikofaktoren**

##### **1.2.2.3.1 Anästhesieverfahren**

Für Allgemeinanästhesien ist ein höheres PONV Risiko beschrieben als für Regionalanästhesien, wobei hier wiederum die epidurale Anästhesie ein etwas

geringeres Risiko für PONV aufweist als die Spinalanästhesie (Palazzo et al., 1984; Borgeat et al., 2003; Clark 1984; Koller et al., 1994; Rabey et al., 1992; Watcha 2000). Je nach Untersuchung schwanken die Inzidenzen zwischen 11 und 21% (Bonica et al., 1958; Dent et al., 1955).

Die Allgemeinanästhesie geht mit einem doppelt so hohen PONV-Risiko einher wie eine Regionalanästhesie (Cohen et al., 1994; Larrson et al., 1995; Quinn et al., 1994). Nach Inhalationsanästhesien traten bei 23,5% der Patienten Übelkeit und bei 13,5% Erbrechen auf, die Inzidenzen nach Propofolanästhesie betrug hingegen nur 8,2% bzw. 4,2%. Dies zeigte eine Metaanalyse von Sneyd et al. (Send et al., 1998). Somit lag das relative Risiko im Vergleich zu Propofolanästhesien zwischen 2,9 und 3,2. Auch Lachgas ist ein nachgewiesener Risikofaktor für PONV, wenngleich das relative Risiko mit ca. 1,3 im Vergleich zu anderen Risikofaktoren eher gering ist. Lachgas löst als Monosubstanz unter hyperbaren Bedingungen regelmäßig Übelkeit und Erbrechen aus, die pathophysiologische Mechanismen sind allerdings bisher nicht geklärt (Hornbein et al., 1982; Russell et al., 1990).

#### ***1.2.2.3.2 Postoperative Opioidgabe***

Postoperativ zugeführte Opioide scheinen das Risiko für Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen zu verdoppeln (Apfel et al., 1999). Für die emetogene Wirkung der Opioide sind wahrscheinlich die Reizung des Vestibularapparates, die intestinale Motilitätshemmung und/oder auch die Serotoninfreisetzung verantwortlich. Eine direkte Wirkung auf die Chemorezeptortriggerzone wird in neueren Studien immer weniger als Ursache der emetogenen Wirkung vermutet (Apfel et al., 2000).

#### ***1.2.2.3.3 Postoperative Bewegungsreize***

Das vestibuläre System wird durch Bewegung des Kopfes, Umlagerung und Transport gereizt. Daher werden diese postoperativen Bewegungsreize häufig als auslösende Faktoren für Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen erwähnt (Andrews, 1992; Palazzo et al., 1984; Unkel et al., 1998). Unterstützt werden diese Vermutungen durch Beobachtungen, nach denen 66% der Patienten, die im Aufwachraum asymptotisch waren und dann auf der Station erstmalig Übelkeit und Erbrechen entwickelten, den Transport als Auslöser angaben (Muir et al., 1987).

#### ***1.2.2.3.4 Erfahrungen des Anästhesisten***

Einen Zusammenhang zwischen der Erfahrung des Anästhesisten und der Inzidenz von postoperativer Übelkeit und Erbrechen konnten Cohen et al. und Kretz nachweisen (Cohen et al., 1994; Kretz, 1997).

Bei Assistenzärzten betrug die Inzidenz von PONV 17,5%, bei Fachärzten nur 10,6%. Zurückgeführt wird dies auf eine schlechtere Maskenbeatmung und die damit verbundene erhöhte Luftinsufflation in den Gastrointestinaltrakt, die dann über Dehnungsrezeptoren emetisch wirken können (Hovorka et al., 1990; Kenny, 1994; Palazzo et al., 1984; Ramsay et al., 1994; Watcha, 2000).

#### ***1.2.2.4 Operative Risikofaktoren***

##### ***1.2.2.4.1 Operationsdauer***

Umstritten ist der Einfluss der Operationsdauer auf das Auftreten von PONV. In einigen Studien wird ein Einfluss beschrieben (Cohen et al., 1994; Koivuranta et al., 1997; Larrson et al., 1995), andere fanden keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von PONV (Palazzo et al., 1993; Koller et al., 1994; Ramsay et al., 1994; Cohen et al., 1990). Als Ursache für PONV bei längerer Operationsdauer vermuteten z. B. Elhakim et al. den stärkeren Flüssigkeitsverlust (Elhakim et al., 1998). Auch Biedler beschreibt, dass eine ausreichende Infusionsmenge vor Beginn der Narkoseeinleitung zu einer besseren hämodynamischen Stabilität führt. Für Patienten, die 20 ml/kg Infusionslösung präoperativ erhalten hatten, wurde somit eine niedrigere PONV-Rate erreicht als nach Infusion von nur 2ml/kg (Biedler et al., 1998).

##### ***1.2.2.4.2 Operationstechnik und Fachabteilung***

Letztendlich kann festgestellt werden, dass jede Fachabteilung eine bestimmte Art von Operationen aufweist, die eine besonders hohe Inzidenz an postoperativer Übelkeit und Erbrechen mit sich bringt. In der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde ist dies die Tonsillektomie, erklärt durch das Verschlucken von Blut (Kermode et al., 1995;

Kontiniemi et al., 1997). Ein weiteres Beispiel ist die Strabismusoperation in der Augenheilkunde, hier am ehesten durch einen oculo-emetischen Reflex bedingt (Abramowitz et al., 1983; Broadman et al., 1990; Klockgether-Radke et al., 1992).

#### ***1.2.2.4.3 Magensonde***

Kontrovers ist auch die Datenlage bezüglich des Einflusses der intraoperativ gelegten Magensonde. Einige Studien beschreiben, dass das Absaugen von Magensaft zu einer Reduktion von PONV führt (Palazzo et al., 1984; Hovorka et al., 1990; Camu et al., 1992), andere Studien zeigen ein vermehrtes Erbrechen, das sie auf die mechanische Reizung des Pharynx zurückführen.

### **1.2.3 Modell zur Risikoeinschätzung**

Da die Aussagekraft eines einzelnen Risikofaktors begrenzt ist, wurden sogenannte Risikoscores entwickelt. Vereinfachte Risikoscores, die nicht den chirurgischen Eingriff als Risikofaktor berücksichtigen, zeigen hierbei ebenso gute Vorhersagen wie komplexere Scores (Apfel et al., 2000).

Der vereinfachte Risikoscore nach Apfel besteht aus folgenden vier Risikofaktoren: weibliches Geschlecht, Nichtraucherstatus, Reisekrankheit oder PONV in der Anamnese und der Gabe von postoperativen Opioiden (Apfel et al., 2000; Apfel et al., 2004; Wurglics et al., 2007). Je nachdem, wie viele Risikofaktoren vorhanden sind (null, eins, zwei, drei oder vier) beträgt das Risiko ca. 10%, 20%, 40%, 60% oder 80% (siehe Abbildung 2). Dies konnte durch externe Validierungen bestätigt werden (Pierre et al., 2002; Apfel et al., 2002).

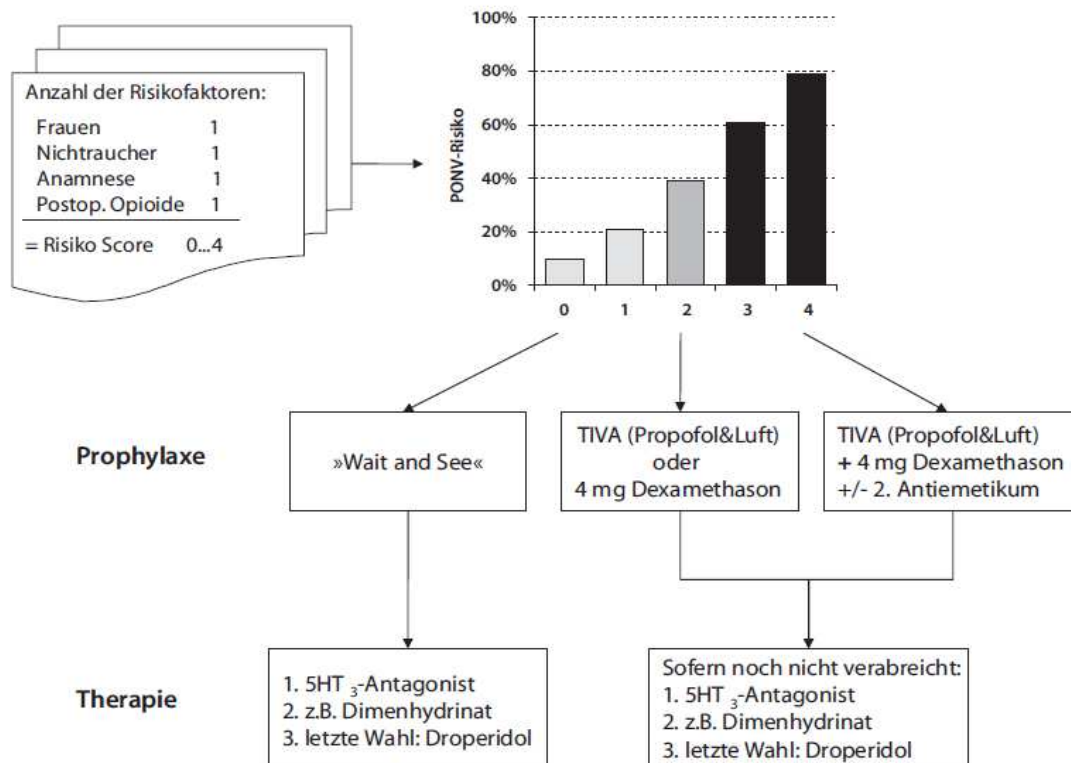


Abbildung 2: Mögliches, risikoadaptiertes Prophylaxe- und Therapieschema anhand des vereinfachten Risikoscores nach Apfel (Apfel et al., 2004)

### 1.2.4 Prophylaxe und Therapie von PONV

Zur Ermittlung des PONV Risikos sollte zunächst eine Risikoevaluation mittels o.g. Apfel-Score erfolgen. Liegen ein bis zwei Risikofaktoren vor (das Risiko liegt somit um 20%– 40%), ist die Prophylaxe mit einem Antiemetikum sinnvoll. Mittel der ersten Wahl ist Dexamethason (4mg) aufgrund geringer Nebenwirkungen und des günstigen Preises. Steigt die Anzahl der Risikofaktoren auf drei oder vier (somit ein Risiko um 60%–80%), wird eine totale intravenöse Anästhesie mit Propofol in Kombination mit einem oder zwei Antiemetika empfohlen. Als Alternative ist eine balancierte Allgemeinanästhesie mit zwei- oder dreifacher Antiemetikaprophylaxe möglich. In der Regel besteht die Kombinationsprophylaxe aus 4mg Dexamethason i.v., 20 mg Metoclopramid i.v. und 4mg Ondansetron i.v. (Wallenborn, 2009).

Neuere Stoffklassen für die PONV-Prophylaxe sind die NK1-Antagonisten, diese heben die zentral- und peripher vermittelten Effekte der Substanz P auf. Der einzige derzeit zugelassene Antagonist dieser Gruppe ist Aprepitant. Die bisher durchgeführten klinischen Studien der am Menschen eingesetzten NK1-Antagonisten

zeigen ein geringes Nebenwirkungspotenzial. Aprepitant zeigt gegenüber den bislang verfügbaren Substanzen eine überdurchschnittliche antiemetische Wirkung (Wallenborn et al., 2009).

In der Gruppe der 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten ist Palonosetron ein neuer Vertreter mit vergleichbar guter Wirksamkeit gegenüber Übelkeit und Erbrechen. Ein möglicher Vorteil gegenüber anderen 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten begründet sich im Nebenwirkungsprofil durch Nichtbeeinflussung des QTc-Intervalls (Wallenborn et al., 2009).

Seit Juni 2008 ist Droperidol niedrig dosiert (bereits 1,25mg sind bei geringer Nebenwirkungsrate in der PONV-Prophylaxe effektiv) zur Prophylaxe und Therapie von PONV in Deutschland wieder zugelassen. Aufgrund einer möglichen klinisch relevanten QTc-Zeit-Verlängerung besteht ein erhöhter Überwachungsaufwand, der bei einer Allgemeinanästhesie allerdings routinemäßig im Aufwachraum durchgeführt wird (Wallenborn et al., 2009).

Hinsichtlich der PONV-Prophylaxe mit Metoclopramid ist die Dosierung entscheidend. Mit einer Dosierung von 25mg Metoclopramid erreicht man eine wirksame PONV-Prophylaxe, mit 10mg hingegen wird kein Effekt erzielt, der mit anderen etablierten Substanzen vergleichbar ist (Wallenborn et al., 2009).

Einer möglichen Therapie von PONV sollte immer eine effektive Prophylaxe vorangestellt sein, deren immense Bedeutung aus einer gesteigerten Patientenzufriedenheit, geringeren Kosten und aus der Reduktion des Auftretens von seltenen, aber möglichen schwerwiegenden Komplikationen resultiert (Apfel et al., 2004; Wurglics et al., 2007; Hill et al., 2000; Scuderi et al., 1999; Wallenborn 2009).

Der Verzicht auf Stickoxydul, das Vermeiden von prolongierter Hypotension bei der Anästhesieeinleitung sowie im weiteren Anästhesieverlauf, die Durchführung einer TIVA, die Reduktion einer postoperativen Opioidgabe (wenn möglich sollte eine Regionalanästhesie zum Einsatz kommen) und die Therapie von Shivering mit Clonidin tragen wesentlich zur Risikoreduktion von PONV bei (Wallenborn, 2009).

Prinzipiell sollte jedes erstmalig auftretende Erbrechen oder jede mittelschwere Übelkeit therapiert werden, da ohne therapeutische Maßnahmen weitere Episoden von PONV in über 50% der Fälle auftreten (Apfel et al., 2004). Zur Verfügung stehen hierbei dieselben Medikamente wie bei der Prophylaxe: 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten

(Ondansetron, Tropisetron), H<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten (Dimenhydrinat), Dopamin-D<sub>2</sub>-Antagonisten (Droperidol, Metoclopramid) und Dexamethason. Dabei sollte zur PONV-Therapie bis sechs Stunden nach Operation ein anderes Antiemetikum als intraoperativ verwendet werden (Wallenborn, 2009).

Die therapeutischen Möglichkeiten sind allerdings dahingehend eingeschränkt, dass eine TIVA postoperativ nicht einsetzbar ist und auch Dexamethason oft zu spät wirkt, da die volle antiemetische Wirkung erst nach mehreren Stunden eintritt (Apfel et al., 2004; Hofmann, 2001; Löffler, 2001).

## **1.3 Serotonin**

### **1.3.1 Serotoninbiosynthese**

Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) ist ein Gewebshormon und Neurotransmitter, dessen Name sich von seiner Wirkung auf den Blutdruck ableitet. Serotonin ist die Komponente des Serums, über die der Tonus in den Blutgefäßen reguliert wird (Hofmann, 2001; Löffler, 2001; Hick, 2002).

Serotonin entsteht in zwei Schritten aus Tryptophan. Zunächst erfolgt die Hydroxylierung des Indolrings des Tryptophans, dabei wird 5-Hydroxytryptophan gebildet. Im zweiten Schritt erfolgt dann die Decarboxylierung zu Serotonin (5-Hydroxytryptamin).

Durch die mitochondriale Monoaminoxidase und Aldehyddehydrogenase wird Serotonin über 5-Hydroxyindolacetaldehyd zu 5-Hydroxyindolacetat abgebaut (Hofmann, 2001). Neben der Aktivierung von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren ist Serotonin ein partieller Agonist an Alpha2-Adrenorezeptoren (Allgaier et al., 1995; Schlicker et al., 1994). Des Weiteren verstärkt Serotonin die Freisetzung von Dopamin. Dies erfolgt nicht durch die Aktivierung von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren, sondern ist möglicherweise die Folge einer erhöhten präsynaptischen 5-HT-Aufnahme durch Dopamin-Rezeptoren (Schmidt et al., 1989; Yi et al., 1991; Campbell et al., 1995).



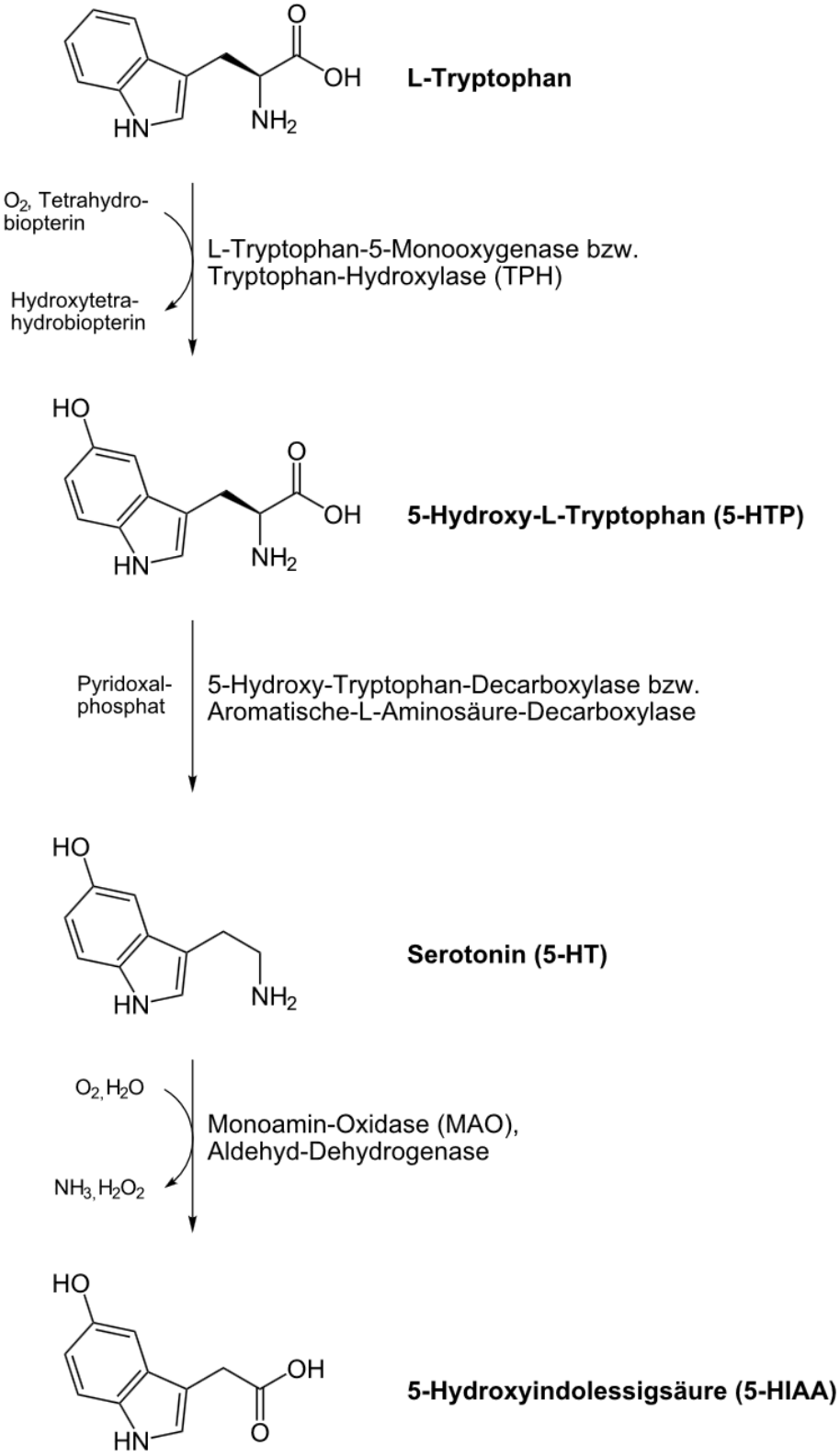


Abbildung3:Serotonin-Biosynthese  
([http://images.google.com/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/54/Serotonin\\_Biosynthese.svg/344px-Serotonin\\_Biosynthese.svg&imgrefurl=http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serotonin\\_Biosynthese.svg&usq=\\_\\_ThTJw0HRmJYrDM6B-dpitQyaS1E=&h=599&w=344&sz=29&hl=de&start=2&um=1&tbnid=cHu5\\_oYYmYFyM:&tbnh=135&tbnw=78&rev=/images%3Fq%3Dserotonin%2Bbiosynthese%26hl%3Dde%26lr%3Dlang\\_de%26rls%3Dcom.microsoft:de:IE-SearchBox%26rlz%3D1I7DADE%26sa%3DN%26um%3D1, Stand 03.10.2009](http://images.google.com/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/54/Serotonin_Biosynthese.svg/344px-Serotonin_Biosynthese.svg&imgrefurl=http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serotonin_Biosynthese.svg&usq=__ThTJw0HRmJYrDM6B-dpitQyaS1E=&h=599&w=344&sz=29&hl=de&start=2&um=1&tbnid=cHu5_oYYmYFyM:&tbnh=135&tbnw=78&rev=/images%3Fq%3Dserotonin%2Bbiosynthese%26hl%3Dde%26lr%3Dlang_de%26rls%3Dcom.microsoft:de:IE-SearchBox%26rlz%3D1I7DADE%26sa%3DN%26um%3D1, Stand 03.10.2009))

### **1.3.2 Orte der Serotoninbildung**

Die enterochromaffinen Zellen des Magen-Darm-Traktes sowie verschiedene Anteile des Zentralnervensystems, der Bulbus olfactorius, die Hypophyse und das Mesencephalon sind die verschiedenen Orte der Serotoninbildung (Hofmann, 2001; Löffler, 2001).

Transportiert wird das Serotonin im Blut in den Thrombozyten. Normalerweise wird ein Prozent des durch die Nahrungsproteine aufgenommenen Tryptophans in Serotonin überführt (Hofmann, 2001; Hick, 2002).

### **1.3.3 Serotoninwirkung**

Serotonin bewirkt in der Lunge und den Nieren eine Vasokonstriktion, in der Skelettmuskulatur hingegen eine Vasodilatation (Hick, 2002). Das aus den Thrombozyten bei Verletzungen freigesetzte Serotonin bewirkt zusammen mit den Katecholaminen ebenfalls eine Vasokonstriktion und unterstützt so die vaskuläre Blutstillung (Hofmann, 2001).

Im Magen-Darm-Trakt steigert Serotonin die Darmmotilität, und im Zentralnervensystem ist Serotonin ein Neurotransmitter bei der Erregungsübertragung (Hofmann, 2001; Löffler, 2001).

## **1.4 Serotoninrezeptoren**

### **1.4.1 Der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor**

Er gehört zur Familie der Ionotropen, also ligandengesteuerter Ionenkanäle, und zeigt eine ausgeprägte Kationenselektivität. Permeabel ist er überwiegend für die monovalenten Ionen wie Na<sup>+</sup> und K<sup>+</sup>, aber auch für die bivalenten Kationen Ca<sup>2+</sup> und Mg<sup>2+</sup> und vermittelt Einwärtsströme, die eine Membrandepolarisation bewirken (Ortells et al., 1995; Yang, 1990; Hargreaves et al., 1994; Barnes et al., 1999).

Präsynaptische 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren regulieren die Freisetzung verschiedener Neurotransmitter, z.B. GABA (Koyama et al., 2000; Van Hooft et al., 2000), postsynaptische 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren sind an der schnellen exzitatorischen synaptischen Übertragung, z.B. im Hippocampus, beteiligt (MacMahon et al., 1997).

Serotonin bewirkt als Agonist die schnelle Aktivierung des 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptors, wodurch sich der Ionenkanal öffnet. Durch Dissoziation des Agonisten oder durch Desensibilisierung erfolgt die Schließung der Kanäle. Dabei ist die Desensibilisierung eine typische Eigenschaft ligandengesteuerter Ionenkanäle und beschreibt das Erreichen eines inaktiven Zustandes, obwohl der Agonist weiterhin gebunden bleibt. Der Begriff Desensibilisierung repräsentiert die Konformationsänderung eines aktivierten Rezeptors, die das Schließen des Kanals und zusätzlich eine vorübergehende Unempfindlichkeit des Rezeptors gegenüber dem Agonisten bewirkt. Sie ermöglicht eine schnelle Inaktivierung von Ionenkanälen auch unter längerdauernder Anwesenheit des Agonisten und limitiert somit die Dauer der synaptischen Antworten (Yang, 1990; Lambert et al., 1989).

Die Desensibilisierung von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Durch Ersatz des 4<sup>th</sup> Lysin-Rests der TM2-Domäne bzw. des Leu286 im TM2-Segment durch andere Aminosäuren kann beim 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor die Desensibilisierung verstärkt bzw. abgeschwächt werden (Yakel et al., 1993). Auch die extrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Konzentration, der Differenzierungsstatus der Zellen und Pharmaka beeinflussen die Rezeptor-Desensibilisierung (Shao et al., 1991; Yakel et al., 1993; Gunthorpe et al., 2000; Lobitz et al., 2001).

Man unterscheidet sieben verschiedene Untergruppen (5-HT<sub>1-7</sub>) der Serotonin-Rezeptoren, diese bilden insgesamt 14 strukturell und pharmakologisch unterschiedliche Subtypen. Innerhalb des zentralen und peripheren Nervensystems sind die verschiedenen Serotonin-Rezeptoren an der Inhibition und Exzitation beteiligt, des Weiteren steuern sie das endokrine System, die Hämatopoese und das Immunsystem. Die meisten der Serotonin-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte (metabotrope) Rezeptoren, bei denen die Signaltransduktion über einen *second messenger* reguliert wird (Barnes et al., 1999).

Die Aktivierung von 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren führt zu einer erhöhten Aktivität visceroaffectiver Neurone (Übelkeit), zu einer vermehrten synaptischen Ausschüttung von GABA und Dopamin und zu einer verminderten synaptischen Ausschüttung von Acetylcholin und Noradrenalin (Hüther et al., 2000).

Das glykosilierte N-Terminal bildet beim 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor die Bindungsstelle für das Serotonin (Eisele et al., 1993). Die Aktivierung des 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptors unter Bindung des Agonisten erfolgt gegenüber anderen ionotropen Rezeptoren vergleichsweise langsam (Waxham, 1999).

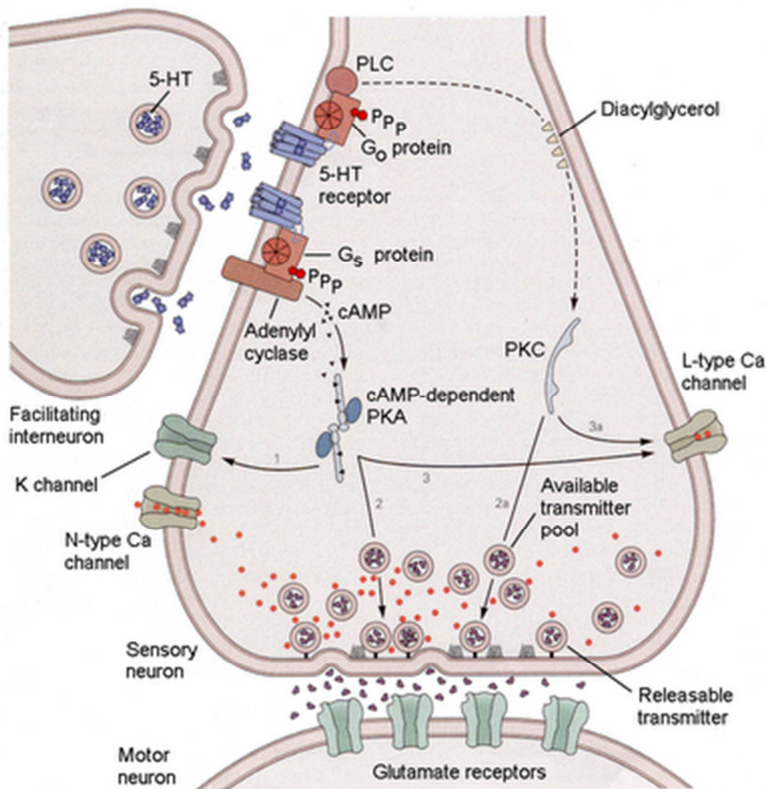


Abbildung 4: 5-HT-Rezeptor, G-Protein-gekoppelt (<http://neuropsychanalyse.blogspot.com/>, Stand 05.04.2011)

## Pharmacology of the 5-HT<sub>3</sub> receptor

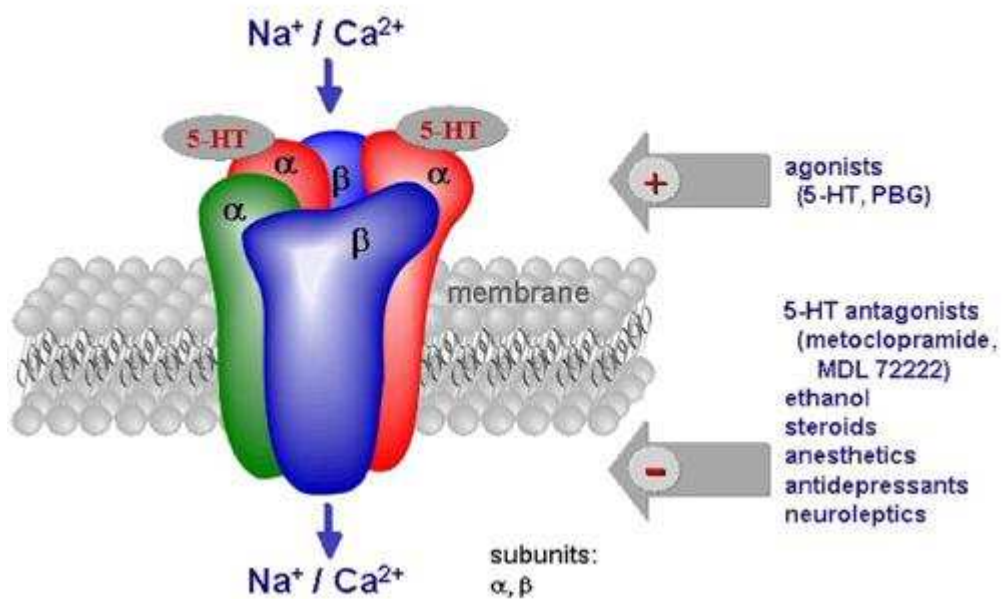


Abbildung 5: 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor, ligandengesteuerter Ionenkanal (Rammes et al., 2004)

### 1.4.2 Die 5-HT<sub>3A</sub>-Untereinheit des 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptors

Man kennt zurzeit drei verschiedene Untereinheiten des 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptors, 5-HT<sub>3A</sub>, 5-HT<sub>3B</sub> und 5-HT<sub>3C</sub>. Die 5-HT<sub>3A</sub>-Untereinheit besteht aus 487 Aminosäuren und wurde 1995 aus Humangewebe kloniert, 1991 bereits aus Neuralgewebe der Maus. Die Sequenz ähnelt der anderer ligandengesteuerter Ionenkanäle, z.B. Azetylcholin-Rezeptoren, Glycin-Rezeptoren oder GABA-A-Rezeptoren (Mariat et al., 1991; Belelli et al., 1995).

Im Unterschied zum humanen Genom gibt es den 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptor von Maus und Meerschweinchen in zwei Splicevarianten, eine Langform (5-HT<sub>3AI</sub>) und eine Kurzform (5-HT<sub>3AS</sub>). Bei der Kurzform fehlen sechs Aminosäuren in der großen intrazellulären Schleife, sie überwiegt um das Vier- bis Sechsfache. Eine Phosphorylierung des Rezeptors kann an verschiedenen intrazellulären Stellen erfolgen, eine dieser Phosphorylierungsstellen ist bei der Kurzform nicht vorhanden. Bisher konnten allerdings keine physiologischen Unterschiede zwischen beiden Splicevarianten nachgewiesen werden (Barnes et al., 1999; Werner et al., 1994).

Klonierte 5-HT<sub>3A</sub>-Untereinheiten können heterolog exprimiert werden. Aus den Untereinheiten bilden transfizierte Zellen ein homopentameres Protein, das dann als funktionaler Rezeptor-Kanal in die Zellmembran eingelagert wird. Die so gebildeten homomeren Rezeptoren, sogenannte 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptoren, ähneln in ihren biophysikalischen Eigenschaften nativen 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren. Letztendlich gaben jedoch einige funktionelle Unterschiede zwischen nativen 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren und den heterolog exprimierten homomeren 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptoren Anlass zur Vermutung, dass die nativen Rezeptoren einen zusätzlichen Faktor, eventuell eine noch unbekanntere Untereinheit, enthalten (Van Hooft et al., 1997). 1999 wurde diese Untereinheit, die sogenannte 5-HT<sub>3B</sub>-Untereinheit, schließlich aus menschlichem Gewebe kloniert (Davies et al., 1999). Jedoch bildet sich unter heterologer Expression der 5-HT<sub>3B</sub>-Untereinheit kein funktionales homomeres Kanalprotein. Erst in Koexpression mit der 5-HT<sub>3A</sub>-Untereinheit bildet sich ein heteropentameres Kanalprotein, der 5-HT<sub>3AB</sub>-Rezeptor. Der homomere 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptor und der heteromere 5-HT<sub>3AB</sub>-Rezeptor unterscheiden sich pharmakologisch nur wenig, allerdings weisen sie biophysikalische Unterschiede auf (Brady et al., 2001).

### 1.4.3 Verteilung der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren im Zentralnervensystem

Im hinteren vagalen Komplex des Hirnstamms liegt die Region mit der höchsten Dichte an 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren. Dieses Areal umfasst den Nucleus tractus solitarius, die Area postrema sowie den dorsalen motorischen Vagus Kern und ist eng mit der Physiologie des Brechreizes assoziiert. Hier wird auch der Angriffspunkt des stark antiemetisch wirksamen 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten Ondansetron vermutet (Pratt et al., 1989). Im gesamten Vorderhirn ist die 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorexpression hingegen vergleichsweise gering. Die höchste Dichte findet sich hier im Hippocampus, in der Amygdala und in oberflächlichen Kortexschichten. Allerdings zeigen die Verteilungen Speziesunterschiede, beim Menschen z.B. findet sich eine hohe Rezeptordichte im Nucleus caudatus und im Putamen, eine niedrigere hingegen in den Kortexregionen. Bei Nagern ist dieses Verteilungsmuster umgekehrt. Letztendlich findet man jedoch bei den meisten Spezies (z.B. Mensch, Maus, Ratte) eine durchgehend hohe 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-Konzentration im Hippocampus (Barnes et al., 1999; Parker et al., 1996). Die mögliche bedeutende Rolle des Serotoninsystems bei der Entstehung und der therapeutisch effektive pharmakologische Einsatz von Serotoninrezeptorantagonisten bei der Prävention und Therapie von PONV bildeten den theoretischen Hintergrund der vorliegenden Arbeit, in der der Frage nachgegangen werden sollte, ob eine genetische Disposition von PONV über Varianten im Gen für den Serotoninrezeptor Subtyp A erklärt werden.

## 1.5 Das 5-HT<sub>3A</sub>-Gen

1995 isolierten Miyake et al. die menschliche 5-HT<sub>3A</sub> cDNA und zeigten, dass das 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) sich auf dem Chromosom 11q23.1 befindet (Miyake et al., 1995). Brüss et al. bestimmten 2000 die genomische Struktur des 5-HT<sub>3A</sub>-Gens, es umfasst neun Exons, welche 487 Aminosäuren codieren, und erstreckt sich über etwa 14,5 kb der angrenzenden genomischen Sequenz (Kaiser et al., 2004; Brüss et al., 2000). Sie zeigten, dass die Exons mit ca. 67 bis 302 Basenpaaren relativ klein sind und durch relativ lange Introns voneinander getrennt sind. Eine Ausnahme hiervon machen Exon sechs, sieben und acht, die alle nah aneinander liegen und nur durch kleine Intronbereiche getrennt sind. Exon eins verschlüsselt das Startpeptid für die Membrantranslokation, Exon zwei bis sechs verschlüsseln den extrazellulären N-

Terminus, Exon sieben verschlüsselt TM1, TM2 und die kleine extrazelluläre Schleife zwischen TM2 und TM3. Exon acht trägt die genetische Information für TM3 und Exon neun verschlüsselt die große intrazelluläre Schleife zwischen TM3 und TM4 sowie TM4 selbst und den kleinen extrazellulären C-Terminus (Brüss et al., 2000).

### **1.6 5-HT<sub>3A</sub>-Gen assoziierte Erkrankungen**

Genetische Veränderungen im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) führen möglicherweise zu psychiatrischen Erkrankungen (Brüss et al., 2000). Diese umfassen Angststörungen, Schizophrenie, Depression, Migräne, Vasospasmen und Epilepsie. Um die mögliche Rolle von genetischen Varianten im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) zu untersuchen, führten Niesler et al. eine Genstudie durch. Diese erfolgte an einer großen Anzahl von Personen mit Schizophrenie, bipolaren Störungen sowie einer gesunden Kontrollgruppe. Es zeigten sich sieben genetische Varianten, wobei fünf von ihnen nicht mit einer psychiatrischen Erkrankung in Verbindung gebracht werden. Zwei der genetischen Varianten waren eine Missense-Mutation und konnten bei einigen Schizophrenen Fällen nachgewiesen werden. Basierend auf der Häufigkeit dieser Missense-Mutationen im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) ist es möglich, dass etwa 1% der an Schizophrenie erkrankten Patienten eine 5-HT<sub>3A</sub>-(HTR3A)-Mutation tragen (Niesler et al., 2001). Auch im Hinblick auf diese psychiatrischen Erkrankungen ist es sinnvoll, nach genetischen Varianten im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) zu suchen.

Die Arbeit von Kaisers et al. untersuchte den Zusammenhang zwischen chemotherapieinduziertem Erbrechen und genetischen Varianten im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (Kaiser et al., 2004). Es wurden 21 genetische Varianten im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) gefunden. Keine dieser Varianten führte nachweislich zu einem verstärkten Erbrechen unter Chemotherapie (Kaiser et al., 2004).

Im 5-HT<sub>3B</sub>-Gen zeigte sich jedoch ein verstärktes Erbrechen bei Patienten, die homozygot für die Deletion -100\_-102delAAG innerhalb der Promotorregion des Gens waren (Kaiser et al., 2004). Daher erfolgte die Annahme, dass auch Veränderungen innerhalb des 5-HT<sub>3A</sub>-(HTR3A)-bzw. des 5-HT<sub>3B</sub>-Gens zu einem verstärkten postoperativem Erbrechen führen.

Des Weiteren zeigt auch die erfolgreiche Prophylaxe und Behandlung von POV mit 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten eine Beteiligung des serotoninergen Systems an der Entstehung von POV (Ho et al., 2006).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Patientenauswahl

Nach zustimmendem Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig (Reg.-Nr. 273/2004) und dem schriftlichen Einverständnis der Patienten wurden schließlich 189 Patienten in die Studie eingeschlossen, davon 95 in der POV-Gruppe und 94 in der Kontrollgruppe.

Der Ausschluss von insgesamt 11 Patienten erfolgte aufgrund einer unvollständigen Datenlage.

Aufgenommen in diese Studie wurden Patienten der ASA-Klassifikation (American Society of Anesthesiologists) I-III mit geplanten operativen Eingriffen von mindestens 60 Minuten Dauer unter einer Allgemeinanästhesie mit volatilen Anästhetika ohne Lachgas sowie einer orotrachealen Intubation.

Die Aufteilung der Patienten erfolgte im Anschluss an die Allgemeinanästhesie. Patienten, die postoperativ mindestens einmalig innerhalb von 6 Stunden (early onset) noch im Aufwachraum erbrochen hatten, wurden der POV-Gruppe zugeteilt. Patienten, die mehr als 6 Stunden nach dem Eingriff noch Erbrechen zeigten (later onset), wurden weder in die POV-Gruppe noch in die Kontrollgruppe aufgenommen. Die Schwere des Erbrechens wurde in dieser Studie nicht berücksichtigt.

Eine Zuteilung zur Kontrollgruppe erfolgte, wenn die Patienten innerhalb einer Überwachungszeit von 24 Stunden weder über Übelkeit noch über Erbrechen klagten. Ein Ausschluss von dieser Gruppe erfolgte, wenn eine PONV-Prophylaxe intraoperativ oder postoperativ verabreicht wurde.

Die balancierte Allgemeinanästhesie wurde mit Propofol (2mg/kg), Fentanyl (2–3 µg/kg) oder Sufentanil (0,5–0,6 µg/kg) und Rocuronium (0,6mg/kg) eingeleitet, wobei die Aufrechterhaltung der Anästhesie mit Isofluran oder Desfluran (MAC 0.9-1.1) in einem Luft/Sauerstoff Gemisch (FiO<sub>2</sub> 0,4) erfolgte. Falls es nötig wurde, erhielten die Patienten intraoperativ zusätzliche Gaben von Opioiden und Muskelrelaxantien. Bei allen Patienten bestand die Möglichkeit der postoperativen Piritramidgabe zum Schmerzmanagement.



## 2.2 Molekulargenetische Methoden

### 2.2.1 DNA-Isolation aus Vollblut

Zur Isolierung der DNA wurde das Invisorb<sup>®</sup> Blood-Giga-Kit nach den Vorgaben des Herstellers verwendet. Dabei erfolgte die Isolierung der DNA aus einer mit EDTA versetzten Vollblutprobe von 10 ml anhand des Protokolls 1 wie folgt:

Die 10 ml Vollblut wurden in ein 50 ml Reaktionsgefäß übertragen, 30 ml Puffer 1 hinzugefügt und anschließend für 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Zentrifugation von 3 min bei 3000 U/min wurde der Überstand verworfen. Nun wurde das Pellet mit 20 ml Puffer 1 aufgeschüttelt, für 3 min bei 3000 U/min zentrifugiert und der Überstand verworfen. Nach der Zugabe von 3 ml Puffer 2 und 50 µl Proteinase K wurde für eine Stunde im 60 °C Wasserbad inkubiert. Es folgte die Zugabe von 1,8 ml Buffer 3, die Inkubation auf Eis für 5 min und die anschließende Zentrifugation für 15 min bei 5000 U/min. Der Überstand wurde in ein neues 15 ml Reaktionsgefäß umgefüllt. Zu diesem wurde ein Volumenteil Isopropanol gegeben und anschließend geschwenkt, bis die DNA ausfiel. Die so entstandene DNA-Flocke wurde in ein mit 1 ml 70% Ethanol gefülltes Röhrchen überführt und für 6 min bei 8000 U/min zentrifugiert. Das erhaltene DNA-Pellet wurde in der Vakuumzentrifuge UNIVAPO 150 ECH getrocknet, mit einer geeigneten Menge 1-x-TE-Puffer aufgefüllt und auf dem *Thermomixer comfort* bei 50 °C (Eppendorf, Hamburg, D) bis zum übernächsten Tag gelöst. Im Anschluss erfolgte eine Extinktionsmessung mit dem *Eppendorf BioPhotometer* bei 260 nm ( $10D_{260\text{ nm}} = 50\text{ ng DNA/ml}$ ) zur Ermittlung der DNA-Konzentration. Die Reinheit wurde über das Absorptionsverhältnis  $A_{260}/A_{280}$  gemessen und lag im Bereich 1,7 bis 1,9. Nach der Extinktionsmessung wurde das Template mit einer DNA-Konzentration von 20 ng/µl hergestellt und bei -20 °C gelagert.

**Chemikalien:**

Für die Isolierung der DNA wurden die in Tabelle 2 aufgeführten Chemikalien verwendet

**Tabelle 2: Übersicht über verwendete Chemikalien zur DNA- Isolierung**

DNA-Isolierung	Invisorb Blood Giga Kit	Invitek, Berlin, D
	Isopropanol	J.T. Baker, Griesheim, D
TE-Puffer	EDTA (Titriplex)	Merck, Darmstadt, D
	TRIS	SERVA, Heidelberg, D

## 2.2.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

### 2.2.2.1 Prinzip der PCR

Zunächst wurde der zu amplifizierende DNA-Doppelstrang bei 95°C thermisch denaturiert. Zu Beginn der PCR-Zyklen erfolgte die Denaturierung für ca. 1-5 min, während der Zyklen nur noch für einige Sekunden. Nun folgte das Oligonucleotid-Annealing, die Anlagerung der komplementären Oligonucleotide an die denaturierte DNA. Dieser Vorgang erfolgte bei 50-60 °C, die optimale Annealing-Temperatur muss für jedes Oligonucleotidpaar bestimmt werden. Anschließend folgte die Oligonucleotid-Elongation (Verlängerung) mithilfe einer DNA-abhängigen DNA-Polymerase bei 72 °C. Um auch teilweise verlängerte Produkte zu vervollständigen, wurde dem letzten Zyklus ein 10 minütiger Extensionsschritt bei 72 °C angehängt. Die Amplifikation der DNA erfolgte mit dem Thermal Cycler GeneAmp. PCR System 2700 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien) (Hildebrandt, 1998).

**2.2.2.2 PCR-Reagenzien und Reaktionsansätze**Materialien:

1. DNA-Proben 20 ng/µl
2. 10x Puffer (ohne MgCl<sub>2</sub>) (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)
3. dNTP Desoxyribonukleosidtriphosphate: 920 µl Aqua, 20 µl dATP, 20 µl dCTP, 20 µl dGTP, 20 µl dTTP, ergibt 1000 µl dNTP (Amersham Biosciences, Freiburg, D)
4. Primer: die PCR-Primer wurden aus 80 µl Aqua sowie 10 µl Vorwärtsprimer und 10 µl Rückwärtsprimer zusammengesetzt, EK der Primer: 10 µmol/l (Invitrogen, Karlsruhe, D)
5. Aqua dest.
6. MgCl<sub>2</sub> (25 mM) (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)
7. Taq-Polymerase (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)

Tabelle 3: PCR- Reaktionsansätze für Exon 1-9 des 5-HT3A Rezeptors

Exon		1	2	3	4	5	6-8	9
Reaktionsansatz:	25µl							
Aqua dest. µl		13,9	13,9	12,4	13,9	13,9	12,4	13,9
10x Puffer µl		2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
MgCl µl		2,5	2,5	1,5	2,5	2,5	1,5	2,5
dNTP µl		2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Primer for+rev µl		1	1	1	1	1	1	1
Polymerase µl		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
DNA 20ng/µl		2,5	2,5	5	2,5	2,5	5	2,5

Tabelle 4: Übersicht über verwendete PCR-Primer

Primer	Sequenz	amplifiziertes Fragment	Größe in bp
1F	5'-GAGCTCCCACAGCATGACATC-3'	Exon 1	435
1R	5'-GATGCTTCAGTCCTCCGAGG-3'		
2F	5'-CAAACCAGGACAAGAGAACCG-3'	Exon 2	368
2R	5'-CCACAGCTCAGGATGGATTG-3'		
3F	5'-CCAAAGCAATAGGGACACAAG-3'	Exon 3	315
3R	5'-GAATCTCCTCATCTCAGGTCTGA-3'		
4F	5'-AGATGCCACCTGTTGCCTG-3'	Exon 4	334
4R	5'-GATGTCCCACCAGGAATTGCAG-3'		
5F	5'-GGTTATCCGGCTGCCTATAACC-3'	Exon 5	453
5R	5'-TGAGGTAGATCTGCTGCTCTTG-3'		
6F	5'-CTTAATTGCTGCCACCTGTGTC-3'	Exon 6-8	1243
6R	5'-CACATGGCATCCCATACCCTG-3'		
9F	5'-TAGAAGCATAAGGAACCATGTTTC-3'	Exon 9	1100
9R	5'-CACCCATTAATCATCATTTAGC-3'		

### 2.2.2.3 Thermocycler-Programme

Tabelle 5: Thermocycler-Programme für die zu amplifizierenden DNA-Fragmente in der PCR

Exon	Denaturierung		Annealing		Elongation		Zyklenzahl
	T in °C	Zeitdauer	T in °C	Zeitdauer	T in °C	Zeitdauer	
1	95	5 min	56	30 s	72	1 min	35
2	95	5 min	61	30 s	72	80 s	30
3	95	5 min	55	1 min	72	1 min	35
4	95	5 min	61	30 s	72	80 s	30
5	95	5 min	61	30 s	72	80 s	30
6-8	95	5 min	61	30 s	72	80 s	35
9	95	5 min	61	30 s	72	80 s	35

### 2.2.3 Elektrophorese der PCR-Produkte

Um die Qualität und die Quantität der amplifizierten Gen-Fragmente und des Leerwertes als Negativ-Probe zu überprüfen, erfolgte im Anschluss an die PCR eine Gelelektrophorese. Für die DNA-Syntheseprodukte der Größe 100-1000 bp erfolgte die Auftrennung im elektrischen Feld mittels eines 1,4%-igem Agarosegels. Es wurde 1g Agarose in 60 ml 1 x TBE-Puffer aufgekocht, gelöst und anschließend auf 60 °C abgekühlt. Nun wurden 5 µl Ethidiumbromid zur Visualisierung der DNA zugefügt. Dieses interkaliert sequenzunabhängig mit der DNA und fluoresziert nach Anregung durch UV-Licht mit einer Wellenlänge von 254 nm bis 360 nm im sichtbaren Bereich von 590 nm. Das noch flüssige Agarosegel wurde zur Aushärtung in eine horizontale Elektrophoresekammer gegeben. Nach erfolgter Aushärtung wurden die amplifizierten Gen-Fragmente und der Leerwert auf das Gel aufgetragen. Dazu wurde eine Mischung aus 7 µl amplifizierter DNA und 2 µl BPS-Ladungspuffer verwendet. Damit wurde die Dichte der DNA-Lösung erhöht und die Proben konnten in die Geltaschen absinken. Des Weiteren erfolgte auf diesem Weg die Markierung der Lauffront. Ein zusätzlich auf dem Agarosegel aufgetragener 100-bp-Längenstandard (Amersham Biosciences, Freiburg, D) diente zur Beurteilung der Fragmentgröße des jeweiligen PCR-Produktes. Die Elektrophorese wurde mit Gleichstrom bei einer Spannung von 90 V für ca. 20 min durchgeführt. Anschließend erfolgte die Auswertung mit Fotodokumentation im UV-Transilluminator (VILBER LOURMAT, Eberhardzell, D) bei einer Wellenlänge von 312 nm (Bellville, 1961).

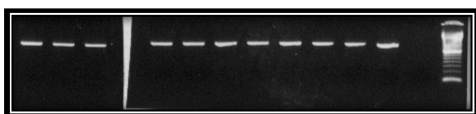


Abbildung 6: Fotodokumentation der Elektrophorese

### 2.2.4 Reinigung der PCR-Produkte

Die Reinigung der PCR-Produkte erfolgte mit dem QIAquick<sup>®</sup> PCR Purification Kit (Quiagen<sup>®</sup>, Hilden, D).

Auf das PCR-Produkt wurden zunächst 250 µl PBI-Puffer gegeben und anschließend wurde dieses Gemisch auf QIAquick<sup>®</sup>-Säulen überführt. Nun erfolgte für eine Minute bei 13000 U die Zentrifugation in der Biofuge pico (Heraeus, Hanau, D). Der Durchfluss wurde verworfen, und es wurde auf die Säule 500 µl PE-Puffer gegeben. Es folgte die erneute Zentrifugation für eine Minute bei 13000 U sowie das anschließende Verwerfen des Durchflusses. Dieser Schritt wurde nochmals wiederholt, und nach dem Verwerfen des Durchflusses erfolgte die nochmalige Zentrifugation für eine Minute bei 13000U. Nun wurden die QIAquick<sup>®</sup>-Säulen auf neue Eppendorf-Röhrchen (Eppendorf, Hamburg, D) überführt und 18-25 µl EB-Puffer (je nach Bandenstärke der eingesetzten Produktmenge) zugegeben. Im Anschluss wurde das Produkt für eine Minute stehen gelassen (das PCR-Produkt löst sich im EB-Puffer) und anschließend für zwei Minuten bei 13000 U zentrifugiert. Nach dieser Zentrifugation wurde der Durchfluss behalten und das gereinigte PCR-Produkt bei -20 °C gelagert.

### 2.2.5 Sequenzieransatz

Die amplifizierte und gereinigte DNA wurde nun als Template für den Sequenzieransatz genutzt.

Reagenzien:

2 µl 5x Sequencing-Puffer (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)

4 µl Aqua dest.

1 µl ABI PRISM BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)

1 µl Primer (nur der jeweilige Vorwärts- oder Rückwärtsprimer), Herstellung des Sequenzierprimers 10 µl Stammprimer mit 120 µl Aqua dest. versetzt

2 µl amplifiziertes und gereinigtes DNA-Produkt

Tabelle 6: zu den o.g. PCR-Primern wurden folgende Primer zum Sequenzieren genutzt

Primer	Sequenz	Amplifiziertes Fragment
6AF	5'-CTCTGAGCAATCCAGGCTGG-3'	Exon 7
6BF	5'-GCTCAGTCTGGTGAGAAACC-3'	Exon 8
9AF	5'-CATCTGGCAGTACGCTTGAG-3'	Exon 9
9BF	5'-GGCACTCCCTAAGTCCACTC-3'	Exon 9

**PCR- Programm:**

Initiale Denaturierung	2 min	96°C
Denaturierung	10 sec	96°C
Annealing	5 sec	50°C
Extension	4 min	60°C
	25 Zyklen	
Kühlen	forever	4°C

**2.2.6 Fällung des Sequenzieransatzes**

Je Probe wurden 50 µl Äthanol und 2 µl Natriumacetat zugegeben. Dies wurde für ca. 15 min bei Raumtemperatur inkubiert, anschließend geschwenkt und dann erneut für ca. 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend erfolgte die Zentrifugation für 25 min bei 13000U in der Biofuge pico (Heraeus, Hanau, D). Nun wurde der Überstand vorsichtig entfernt und 240 µl 70% Äthanol hinzugegeben. Dies wurde erneut für 7 min bei 13000U in der Biofuge pico (Heraeus, Hanau, D) zentrifugiert und der Überstand anschließend entfernt. Übrig blieb ein Pellet, das nun in der Vakuumzentrifuge Univapo 150 ECH (Uniequip, Planegg, D) für ca. 12 min getrocknet wurde. Das getrocknete Pellet wurde mit 35 µl Aqua dest. gelöst.

### 2.2.7 DNA-Sequenzierung nach Sanger

Für die vorliegende Arbeit erfolgte die Sequenzierung nach der Kettenabbruch-Didesoxy-Methode nach Sanger et al. (1977). Durchgeführt wurde sie am ABI Prism 310 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien). Dieser besitzt eine mit flüssigem Polymer (POP6 = performance optimized polymer 6) gefüllte Kapillare. Entlang dieser Kapillare wird eine Spannung angelegt, und die DNA-Moleküle werden in die Kapillare elektrophoriert. Kleine Moleküle wandern schneller als die größeren an einem Detektor vorbei, der mit Hilfe eines Laserstrahls die fluoreszenzmarkierten ddNTPs zur Fluoreszenz anregt. Das so entstehende Fluoreszenzlicht wird von einer CCD-Kamera registriert, in elektrische Informationen umgewandelt und an einen Computer weitergeleitet. Die so gewonnenen Daten werden mit Hilfe spezieller Software in vierfarbige Elektropherogramme umgewandelt. Jedem Didesoxynukleotid wird eine bestimmte Farbe zugeordnet: Grün steht für Adenosin, Rot für Thymin, Blau für Cytosin und Schwarz für Guanin. In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Injektionszeiten genutzt: bis 500 bp 15 sec, bis ca. 1000 bp 30 sec.

Im Anschluss an die Sequenzierung erfolgte die Auswertung mit der DNA-Sequencing-Analysis-Software Version 3.7 (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien).

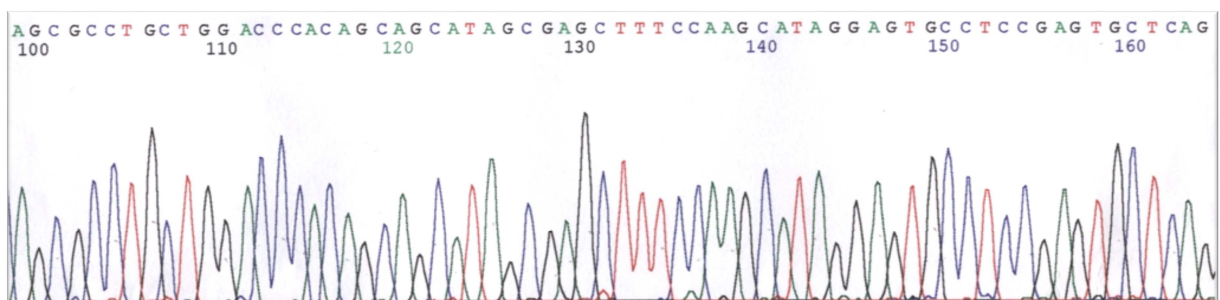


Abbildung 7: Sequenzierkurve



## 2.2.8 Denaturing high performance liquid chromatography (dHPLC)

### 2.2.8.1 Grundlagen dHPLC

Die *denaturing high performance liquid chromatography* (kurz dHPLC) nutzt das unterschiedliche Schmelzverhalten von Homo- und Heteroduplex-DNA zur Detektion von Mutationen. Bei diesem Verfahren werden die zu untersuchenden PCR-Produkte im Verhältnis 1:1 mit der entsprechenden Wildtyp-DNA zusammengefügt. Die so entstandenen Proben werden in einem Thermocycler denaturiert und anschließend langsam abgekühlt, wobei sich Heteroduplexe ausbilden. Diese doppelsträngigen Hybrid-DNA-Moleküle bestehen aus einem Strang Wildtyp-DNA und einem in seiner Sequenz abweichenden Strang Patienten-DNA, sie sind durch die Verbindung zweier nicht komplementärer Basen (Mismatches) gekennzeichnet. Auf Grund unterschiedlicher Schmelztemperaturen weisen diese Hybride ein verändertes Retentionsverhalten auf, welches sich graphisch darstellen lässt. Dieses kostengünstige und zeitsparende Verfahren weist Mutationen mit einer Sensitivität von über 95% nach und bot sich daher für das Mutationsscreening innerhalb der Kontrollgruppe an.

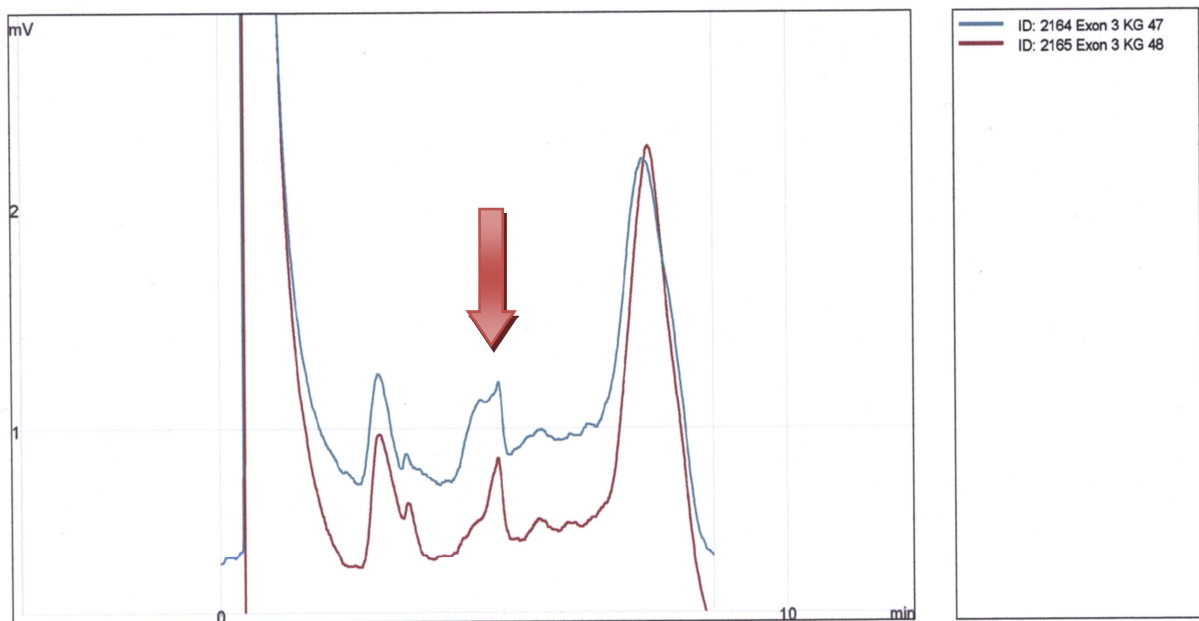


Abbildung 8: Graphische Darstellung einer dHPLC Kurve: Eine Spitze stellt den Wildtyp dar, eine doppelte Spitze zeigt die heterozygoten genetischen Varianten auf.

**2.2.8.2 PCR-Reagenzien und Reaktionsansätze für die dHPLC**Materialien:

1. DNA-Proben 20 ng/µl
2. 10x Puffer (ohne MgCl<sub>2</sub>) (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)
3. dNTP (Desoxyribonukleosidtriphosphate): 920 µl Aqua, 20 µl dATP, 20 µl dCTP, 20 µl dGTP, 20 µl dTTP, ergibt 1000 µl dNTP
4. Primer: die PCR-Primer wurden aus 80 µl Aqua sowie 10 µl Vorwärtsprimer und 10 µl Rückwärtsprimer zusammengesetzt (EK der Primer: 10 µmol/l)
5. Aqua dest.
6. MgCl<sub>2</sub> (25 mM) (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien)
7. Taq-Polymerase

Tabelle 7: PCR- Reaktionsansätze für die dHPLC

<b>Exon 1-9</b>	
Reaktionsansatz	25,0 µl
Aqua dest.	13,9 µl
10xPuffer	2,5 µl
MgCl	2,5 µl
dNTP	2,5 µl
Primer for+rev	1,0 µl
Polymerase	0,1 µl
DNA 20ng/µl	2,5 µl

Tabelle 8: Zusätzlich für die dHPLC verwendete Primer

Primer	Sequenz	Amplifiziertes Fragment	Größe in bp
6F Wave	5'-AGGACTTCATCTGCCCTCAG-3'	Exon 6	403
6R Wave	5'-GAGTGGGAGTGAATGTGGGT-3'		
6AF	5'-CTCTGAGCAATCCAGGCTGG-3'	Exon 7	408
7R	5'-GCATGTGTCTCTTGCCTCTG-3'		
9F Wave	5'-GTCTCCCTCTCTTGCCAATG-3'	Exon 9	407
9R Wave	5'-GAGGATTTCTGCTTAGGCC-3'		

PCR-Programm für Exon 1-9:

Initiale Denaturierung	5 min	95°C
Denaturierung	30 sec	95°C
Annealing	30 sec	56°C
Extension	1 min	72°C
	35 Zyklen	
Kühlen	forever	4°C

Die bei der dHPLC-Analyse ermittelten Schmelztemperaturen sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

**Tabelle 9: ermittelte Schmelztemperaturen der einzelnen Exons**

<b>Exon</b>	<b>Schmelztemperatur in °C</b>
1	62,5
2	61,1
3	62,1
4	61,6
5	61
6	61,5
7	62,9
9	62

### 2.2.9 Verwendete Geräte

Für die vorliegende Arbeit wurden die in Tabelle 10 aufgeführten Geräte verwendet.

**Tabelle 10: Übersicht der verwendeten Geräte**

Verfahren	Gerät und Hersteller
PCR	Cycler Genehm.® PCR System 2700, Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien
Sequenzierung	ABI PRISM™ 310 Genetic Analyser, Applied Biosystems, Foster City, Kalifornien
DNA-Isolierung	Bio Photometer, Eppendorf, Hamburg
	Thermomixer Comfort, Eppendorf, Hamburg
	Biofuge pico, Heraeus, Hanau, D
	Labofuge 400R, Heraeus, Hanau, D
Elektrophorese	Elektrophoresekammer, Roth, Karlsruhe, D
	Elektrophorese-Netzteil, Consort, Turnhout, Belgien
Fällungsreaktion	UV-Transilluminator mit einer Wellenlänge von 312 nm, VILBER LOURMAT, Eberhardzell, D Biofuge pico, Heraeus, Hanau, D Vakuumzentrifuge Univapo 150 ECH, Uniequip, Planegg, D

### 2.3 Statistik

Die statistische Analyse wurde mit Hilfe von SPSS für Windows Version 14 (SPSS Inc., Chicago, IL) durchgeführt.

Bei fehlender Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test) wurden die Gruppenvariablen mit dem U-Test nach Mann und Whitney verglichen. Häufigkeiten wurden mit dem zweiseitigen Chi-Quadrat-Test geprüft. Bei erwarteten Zellzahlen kleiner als fünf kam der exakte Fisher-Test zum Einsatz.

Um den Einfluss der spezifischen Genotypen auf das Auftreten von POV zu quantifizieren, wurde die multivariate logistische Regression genutzt. Hierbei wurde die schrittweise Rückwärtsanalyse genutzt, da in der Literatur keine relevanten

Häufigkeitsangaben zu den nachgewiesenen genetischen 5-HT<sub>3A</sub>-Varianten zur Verfügung standen.

In der initialen univariaten Analyse wurden die genetischen Varianten und die klassischen PONV-Risikofaktoren mittels Kreuztabelle miteinander verglichen. Im nachfolgenden Schritt wurden Variablen mit  $p < 0,13$  in die logistische Regression einbezogen. Basierend auf maximalen Wahrscheinlichkeitsschätzer (Hosmer-Lemeshov-Test) entfielen schrittweise all jene Variablen, die das multivariate logistische Regressionsmodell nicht weiter förderten.

Die unabhängigen Variablen von POV wurden als Odds-ratio mit einem Konfidenzintervall von 95% dargestellt. Das Signifikanzniveau von 95% wurde für alle Tests angenommen.

## **3 Ergebnisse**

### ***3.1 Patientencharakterisierung***

Von allen in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden folgende Daten gesammelt: Geschlecht, Größe und Gewicht (daraus resultierend der BMI), der tägliche Genuss von Alkohol und Nikotin, krankheitsbezogene Anamnese, PONV-Anamnese, Begleitmedikation sowie die Art des durchgeführten Eingriffs. Des Weiteren erfolgten die Dokumentation der Eingriffsdauer und die postoperative Opioidgabe. Beruhend auf diesen Daten wurde das vermeintliche Risiko PONV zu entwickeln nach dem Risikoscore von Apfel bewertet.

### ***3.2 Resultate innerhalb der Gruppen***

Die Patienten unterzogen sich Operationen in folgenden Körperregionen: im Bauchbereich (POV:  $n = 31$ , Kontrollgruppe:  $n = 35$ ), im Extra- /Retroperitonealraum (POV:  $n = 12$ , Kontrollgruppe:  $n = 30$ ), an Knochen und Gelenken (POV:  $n = 27$ , Kontrollgruppe:  $n = 15$ ), im Gesicht und Halsbereich (POV:  $n = 15$ , Kontrollgruppe:  $n = 9$ ), an Gehirn (POV:  $n = 3$ , Kontrollgruppe:  $n = 2$ ), im Thoraxraum (POV:  $n = 3$ ) und an sonstigen Gebieten (POV:  $n = 4$ , Kontrollgruppe:  $n = 3$ ).

In der POV-Gruppe betrug das durchschnittliche Alter 58 Jahre (der Jüngste war 16, der Älteste 85 Jahre alt), in der Kontrollgruppe waren die Patienten im Durchschnitt 63 Jahre alt (der jüngste war hier 26 Jahre und der älteste 87 Jahre).

Der BMI war in beiden Gruppen mit 25,7 in der POV-Gruppe und 25,5 in der Kontrollgruppe annähernd gleich und zeigte somit in beiden Gruppen eine Präadipositas. Somit konnte auch in dieser Studie gezeigt werden, dass der BMI keinen Einfluss auf POV hat.

In der POV-Gruppe dauerte die Narkose im Mittel 138 Minuten, in der Kontrollgruppe 143 Minuten. Es zeigte sich auch in dieser Arbeit, dass die Anästhesiedauer keinen signifikanten Einfluss ( $p = 0,663$ ) auf das Auftreten von POV hat.

Des Weiteren konnte auch in dieser Studie gezeigt werden, dass das weibliche Geschlecht mit einem erhöhten POV-Risiko einhergeht. In der POV-Gruppe waren es 70 weibliche Patienten, in der Kontrollgruppe nur 28, somit umfasst die POV-Gruppe etwa 2,5-mal mehr weibliche Patienten als die Kontrollgruppe.

Auch konnte ein protektiver Effekt des Rauchens bestätigt werden. Während in der POV-Gruppe 81 Nichtraucher waren, zeigten sich in der Kontrollgruppe nur 68 Nichtraucher und damit ein höherer Anteil an Rauchern.

PONV in der Anamnese gaben in der POV-Gruppe 28 Patienten an, in der Kontrollgruppe waren es nur zwei Probanden.

Ausgehend von einem standardisierten postoperativen schmerztherapeutischen Konzept differierte die Gabe von postoperativen Opioiden erwartungsgemäß nur gering, so erhielten in der POV-Gruppe 81 Patienten postoperativ Opioiden und in der Kontrollgruppe 77 Probanden.

In der POV-Gruppe erhielten 36 Patienten eine PONV-Prophylaxe und zeigten trotzdem Übelkeit und Erbrechen, hingegen erhielt keiner der Kontrollgruppenpatienten eine PONV-Prophylaxe.

Alkohol reduziert das Risiko für POV deutlich. Verneinten in der POV-Gruppe alle 95 Patienten den regelmäßigen Genuss von Alkohol, so waren dies in der Kontrollgruppe nur 67 Patienten und 27 nahmen mindestens 20g Alkohol täglich zu sich.

Der Risikoscore nach Apfel lag bei der POV-Gruppe entsprechend eines erhöhten POV-Risikos bei drei und in der Kontrollgruppe bei zwei.

Tabelle 11: Patientencharakterisierung/Ergebnisse innerhalb der POV-Gruppe und der Kontrollgruppe

	<b>POV- Gruppe</b>	<b>Kontrollgruppe</b>	
	<b>n = 95</b>	<b>n = 94</b>	<b>P</b>
<b>Alter (in Jahren)</b>	58 (16-85)	63 (26-87)	<0,001*
<b>Body Mass Index</b>	25,7	25,5	0,655†
<b>ASA- Klassifikation</b>	II	II	0,635†
<b>Anästhesiedauer (min)</b>	138	143	0,663†
<b>Weibliches Geschlecht</b>	70	28	<0,001†
<b>Nichtraucherstatus</b>	81	68	0,034†
<b>PONV in Anamnese</b>	28	2	<0,001‡
<b>Postoperative Opioidgabe (24 h)</b>	81	77	0,668†
<b>PONV Prophylaxe</b>	36	0	<0,001‡
<b>Alkohol</b>			
<b>kein regelm. Alkoholgenuss</b>	95	67	<0,001†
<b>mind. 20 g Alkohol täglich</b>	0	27	<0,001‡
<b>Risikoscore zur PONV Entwicklung</b>	3	2	<0,001†
<b>Piritramiddosis in mg (6 h postoperativ)</b>	18	16	0,126†

### 3.3 Ergebnisse der Genotypisierung des 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptors

In dieser Arbeit konnten 16 genetische Varianten in der POV-Gruppe nachgewiesen werden und 10 in der Kontrollgruppe. Fünf der 16 genetischen Varianten befanden sich in der codierenden Region des Gens. Vergleichend wurde die Arbeit von Kaiser et al. herangezogen (Kaiser et al., 2004).

Im Folgenden sollen die Lage der einzelnen genetischen Varianten im Gen sowie die Verteilung dieser innerhalb der Gruppen dargestellt werden.

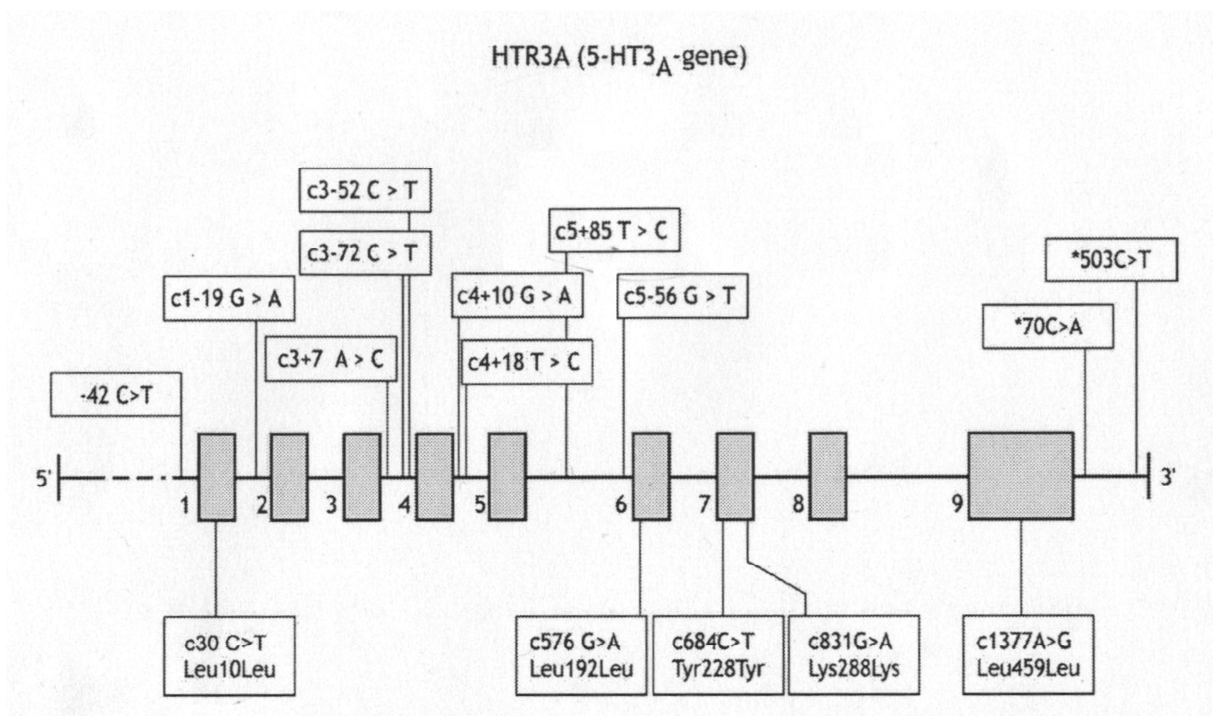


Abbildung 9: 5-HT<sub>3A</sub>: Genomstruktur sowie Lokalisation der identifizierten genetischen Varianten in beiden Gruppen



Tabelle 12: Identifizierte genetische Varianten in der POV-Gruppe und der Kontrollgruppe

		POV Gruppe n=95, 190 Chromosomen				Kontrollgruppe n=94, 188 Chromosomen				
		single nucleotide polymorphism database (dbSNP)	Anzahl der genetischen Varianten				Anzahl der genetischen Varianten			
genetische Varianten im 5-HT <sub>3A</sub> Gen (HGVS Nomenklatur)	Genposition		heterozygot	homozygot	Summe	AF	heterozygot	homozygot	Summe	AF
-42C>T	-42	1062613	35	3	41	0,216	27	1	29	0,154
c30C>T (pLeu10Leu)	30		3	0	3	0,016	0	0	0	0
c1-19G>A	2427	1176722	19	1	21	0,11	14	2	18	0,096
c3+7A>C	3959		14	2	18	0,095	22	0	22	0,117
c3-72C>T	5806	11607240	11	2	15	0,079	22	0	22	0,117
c3-52C>T	5826		1	0	1	0,005	0	0	0	0
c4+10G>A	5997		1	0	1	0,005	0	0	0	0
c4+18T>C	6005		1	0	1	0,005	0	0	0	0
c5+85T>C	8049	35448518	17	1	19	0,1	19	0	19	0,101
c5-56G>T	10634	10160548	46	8	62	0,326	28	9	46	0,245
c576G>A (pLeu192Leu)	10721	34327364	7	0	7	0,037	6	0	6	0,032
c684C>T (pTyr228Tyr)	10829		1	0	1	0,005	0	0	0	0
c831G>A (pLys288Lys)	11318		4	0	4	0,021	2	0	2	0,011
c1377A>G (pLeu459Leu)	14378	1176713	37	3	43	0,226	25	1	27	0,144
*70C>A	14508		1	0	1	0,005	0	0	0	0
*503C>T	14941	34316451	5	0	5	0,026	5	0	5	0,026

Das 5-HT<sub>3A</sub> Gen befindet sich auf Chromosom 11, acc.no. 033899, Region 17408464-17423500. Die Allelfrequenzen beziehen sich jeweils auf 190 Chromosomen (POV-Gruppe) und 188 Chromosomen (Kontrollgruppe).

HGVS= Human Genome Variation Society; he= heterozygot; ho= homozygot; δ= gesamte Anzahl der Polymorphismen innerhalb der Gruppen (POV- und Kontrollgruppe)

Im Exon eins zeigten sich zwei genetische Varianten: -42C>T (GP -42) und c30C>T (pLeu10Leu, GP 30). Die genetische Variante -42C>T befindet sich 42 Basen vor dem Translationsstart und trat in der POV-Gruppe insgesamt bei 41 Patienten auf, 35mal heterozygot und dreimal homozygot. In der Kontrollgruppe zeigte sie sich bei nur 29 Patienten, 27mal heterozygot und 1mal homozygot. Die zweite genetische Variante im Exon 1 befindet sich im codierenden Bereich und trat in der POV-Gruppe bei drei Patienten auf, in allen Fällen heterozygot. In der Kontrollgruppe konnte sie nicht nachgewiesen werden.

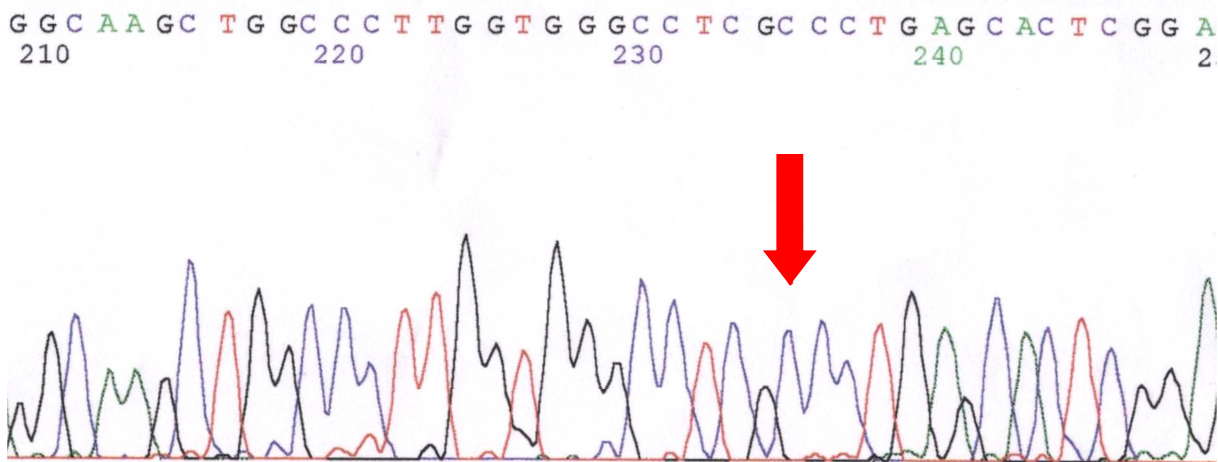


Abbildung 10: Polymorphismus -42C>T in der Promotorregion, hier als Wildtyp (Exon 1)

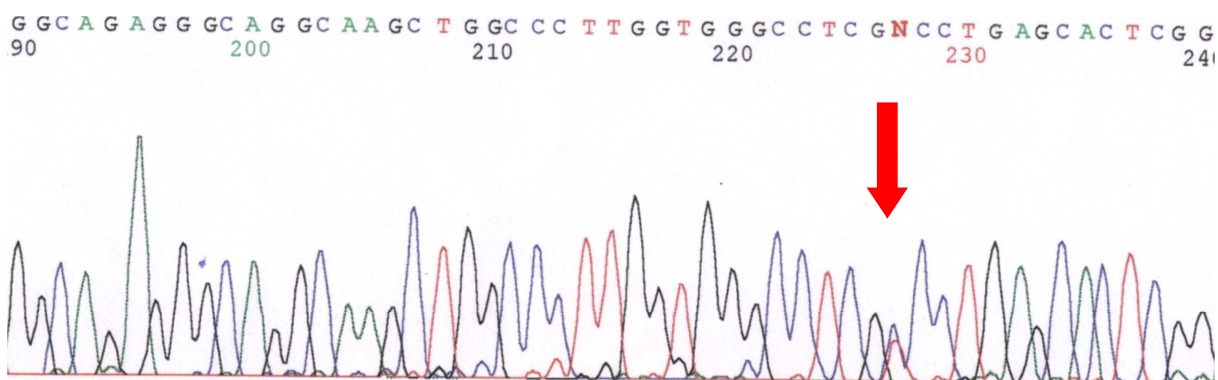


Abbildung 11: Polymorphismus -42C>T in der Promotorregion, heterozygot (Exon 1)

Im Exon zwei konnte nur eine genetische Variante nachgewiesen werden: c1-19G>A (GP 2427), diese befindet sich im nicht codierenden Bereich. Sie trat in der POV-Gruppe bei 21 Patienten auf, 19mal heterozygot und nur 1mal homozygot. Auch in der Kontrollgruppe konnte sie bei insgesamt 18 Patienten nachgewiesen werden, hiervon 14mal heterozygot und 2mal homozygot.

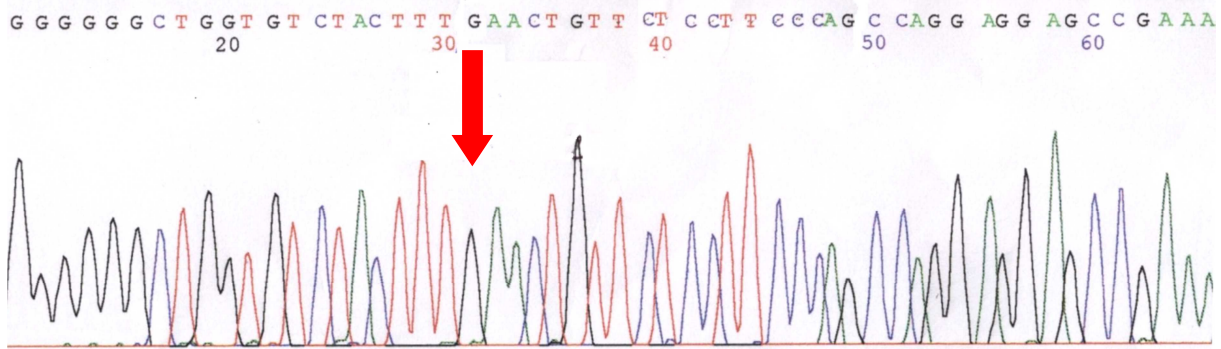


Abbildung 12: Polymorphismus c1-19G&gt;A (Exon 2), Wildtyp

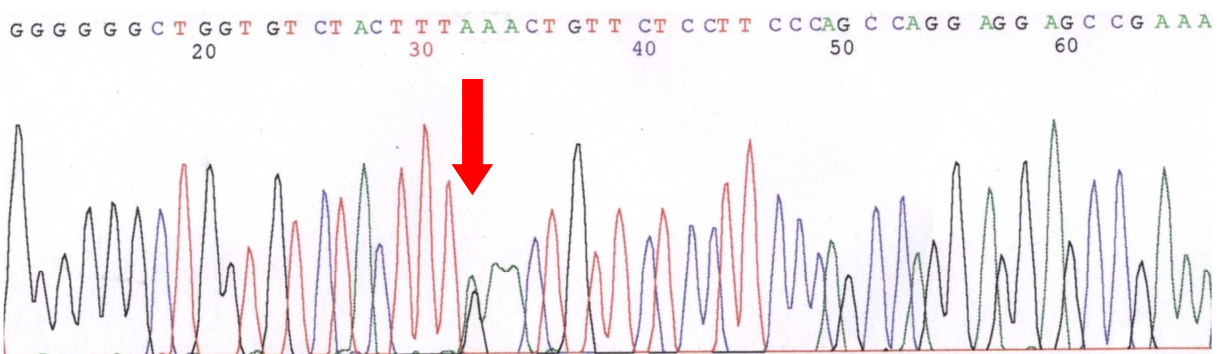


Abbildung 13: Polymorphismus c1-19G&gt;A (Exon 2), heterozygot

Auch das Exon 3 zeigte nur eine genetische Variante im nichtcodierenden Bereich: c3+7A>C (GP 3959). Diese trat in der POV-Gruppe bei 18 Patienten auf, 14-mal heterozygot und zweimal homozygot. In der Kontrollgruppe offenbarte sie sich bei 22 Patienten, in allen Fällen heterozygot.

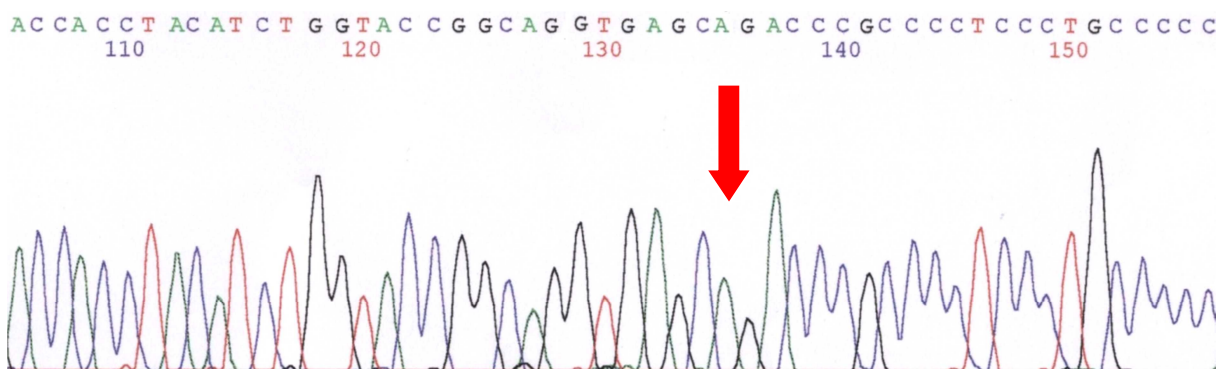


Abbildung 14: Polymorphismus c3+7A&gt;C (Exon 3), Wildtyp

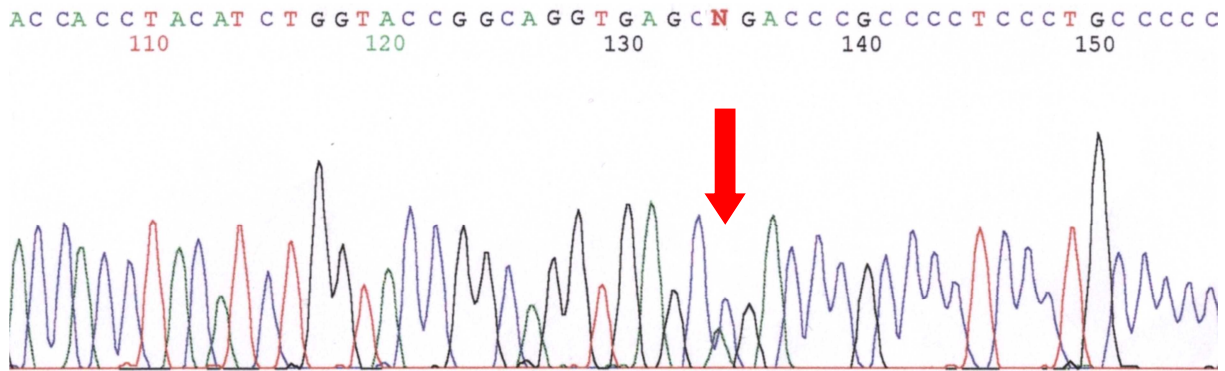


Abbildung 15: Polymorphismus c3+7A>C (Exon 3), heterozygot

Die meisten genetischen Varianten zeigte das Exon 4, wobei sich auch hier alle im nicht codierenden Bereich befinden: c3-72C>T (GP 5803), c3-52C>T (GP 5826), c4+10G>A (GP 5997) und c4+18T>C (GP 6005). Auch die Arbeit von Kaiser et al. zeigte zahlreiche genetische Varianten in diesem Exonbereich, allerdings konnten in der vorliegenden Arbeit noch zwei weitere gefunden werden. In beiden Gruppen trat die genetische Variante c3-72C>T am häufigsten auf. 15 Patienten konnten sie in der POV-Gruppe vorweisen, davon 11 heterozygot und zwei homozygot. In der Kontrollgruppe präsentierten sie 22 Patienten, alle heterozygot.



Abbildung 16: Polymorphismus c3-72C>T (Exon 4), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert)



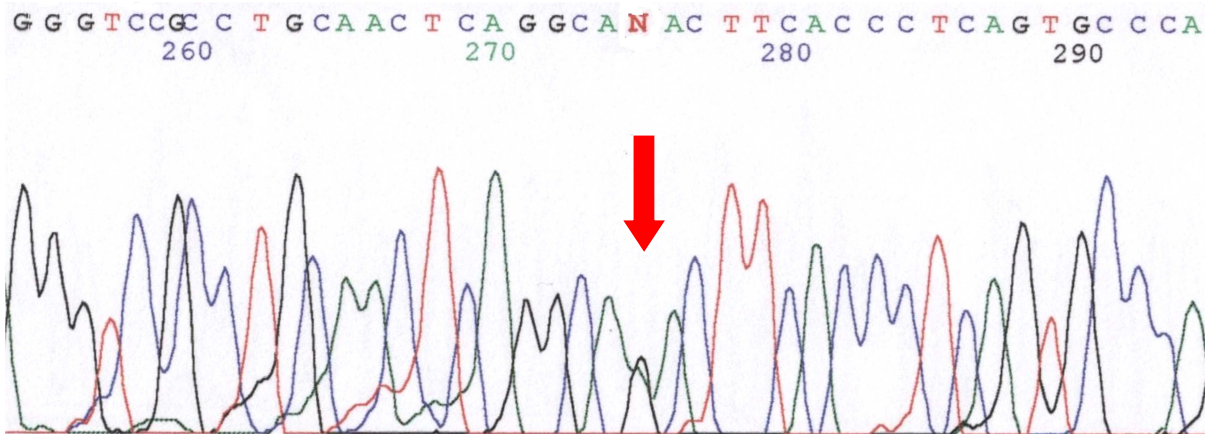


Abbildung 17: Polymorphismus c3-72C>T (Exon 4), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert)

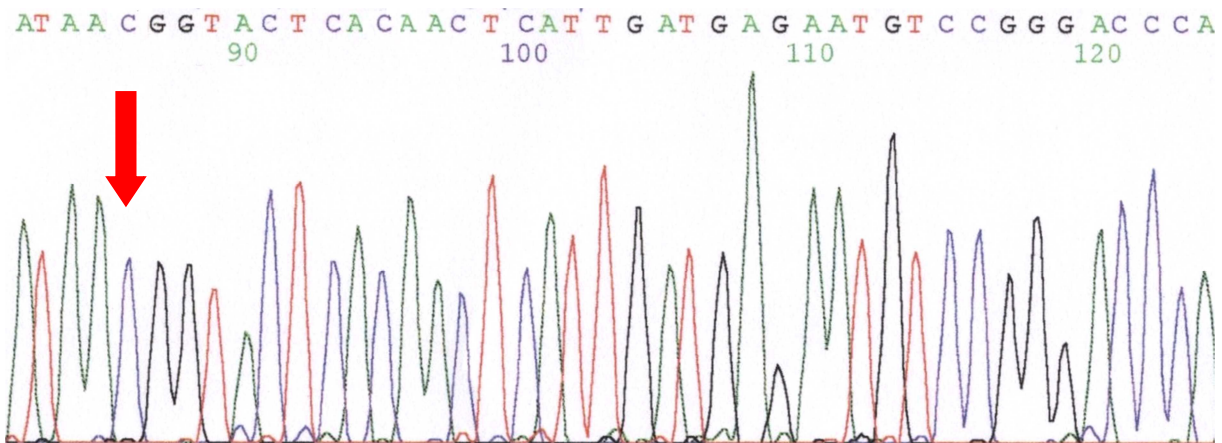


Abbildung 18: Polymorphismus c4+10G>A (Exon 4), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert)

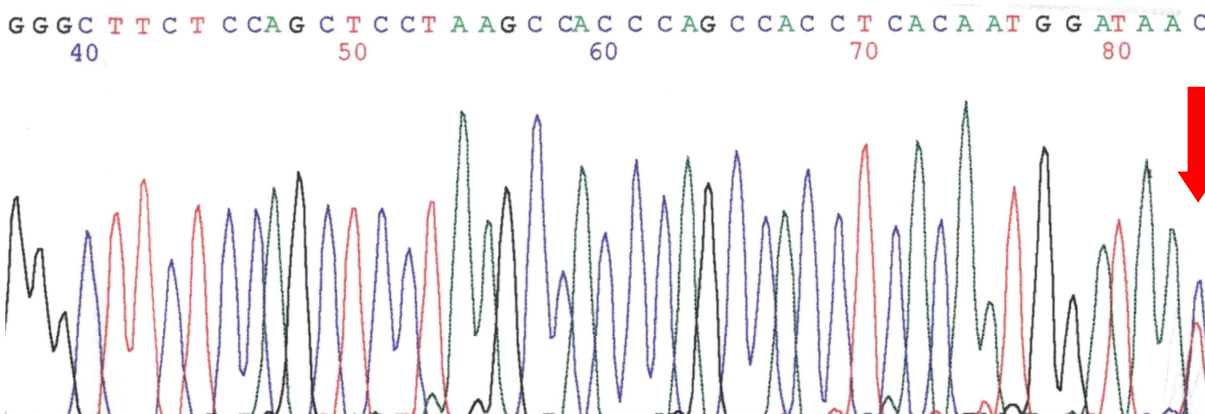


Abbildung 19: Polymorphismus c4+10G>A (Exon 4), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert)

Im Exon 5 konnte nur eine genetische Variante c5+85T>C (GP 8049) im nicht-codierenden Bereich nachgewiesen werden. In beiden Gruppen offenbarte sie sich bei 19 Patienten, in der Kontrollgruppe in allen Fällen als heterozygote Variante. 17-mal zeigte sie sich in der POV-Gruppe heterozygot und einmal in homozygoter Form.

In dieser Arbeit konnten im Exon 6 zwei genetische Varianten gefunden werden. Hierbei findet sich die genetische Variante c576G>A (pLeu192Leu) im kodierenden Bereich (GP 10721) und kommt bei beiden Gruppen in etwa gleich häufig vor. In der POV-Gruppe zeigte sie sich bei sieben Patienten, bei allen heterozygot, und in der Kontrollgruppe bei sechs Patienten, auch hier in allen Fällen heterozygot.

Die zweite genetische Variante c5-56G>T (GP 10634) liegt im nichtkodierenden Bereich und trat bei 62 Patienten der POV-Gruppe auf, 46 zeigten sie in heterozygoter Form und nur acht in homozygoter Form. In der Kontrollgruppe konnte sie 46mal gefunden werden, 28mal heterozygot und neunmal homozygot.

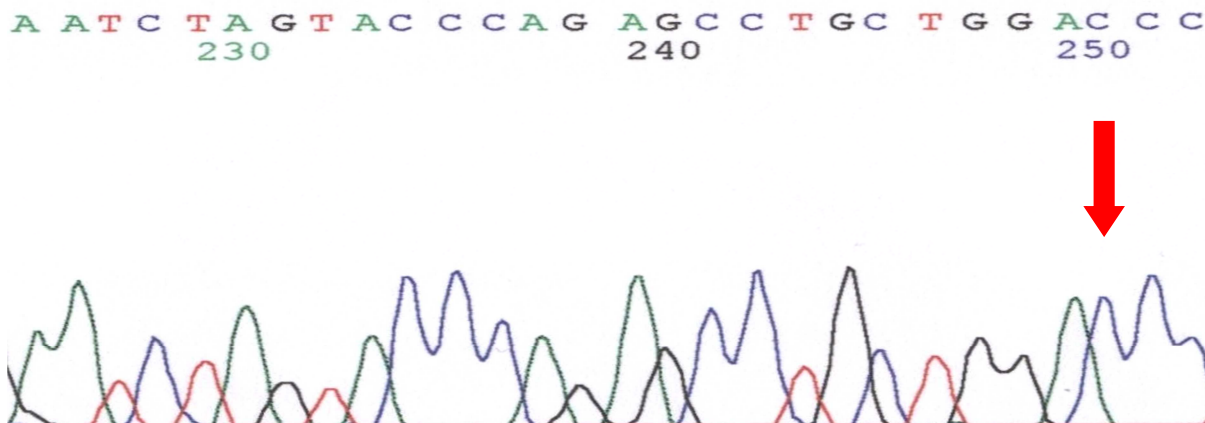


Abbildung 20: Polymorphismus c5-56G>T (Exon 6), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert)

A A T C T A G T A C C C A G A G C C T G C T G G A N C C  
 230 240 250

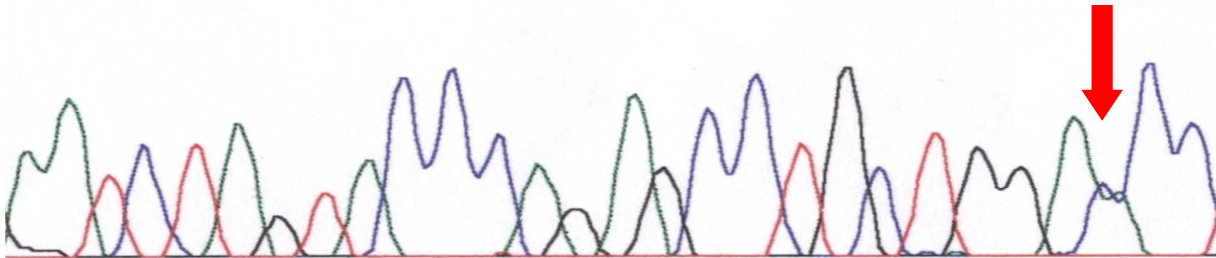


Abbildung 21: Polymorphismus c5-56G>T (Exon 6), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert)

T T T G T G G C G C T T G C C A G A A A A G G T G A A A  
 50 60 70

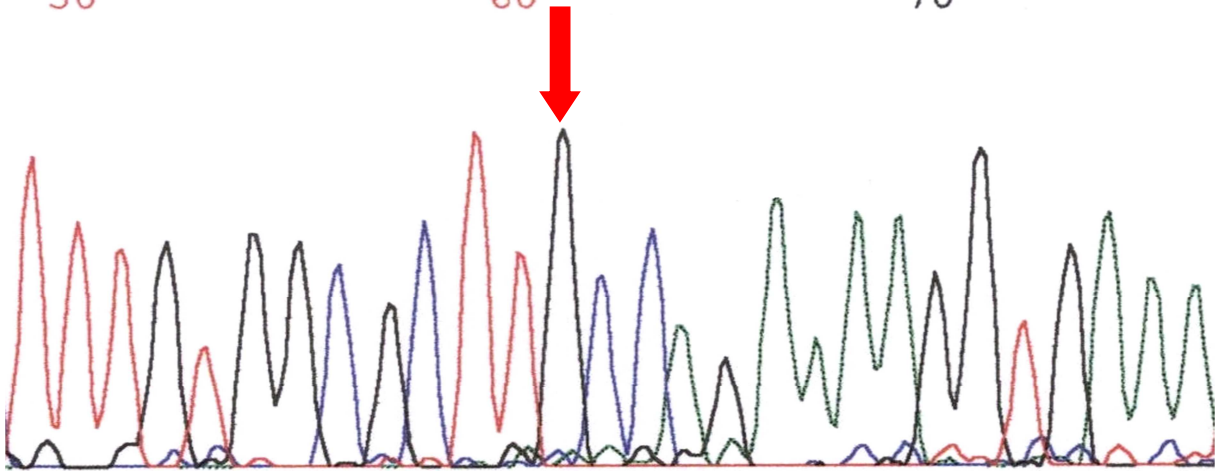


Abbildung 22: Polymorphismus c576G>A (pLeu192Leu) (Exon 6), Wildtyp

T T T G T G G C G C T T N C C A G A A A A G G T G A A A  
 110 120 130



Abbildung 23: Polymorphismus c576G>A (pLeu192Leu) (Exon 6), heterozygot

Die im Exon 7 gefundenen genetischen Varianten liegen beide im kodierenden Bereich. C684C>T (pTyr228Tyr, GP 10829) konnte in der POV-Gruppe bei einem Patienten in heterozygoter Form nachgewiesen werden, in der Kontrollgruppe zeigte sie sich bei keinem unserer Probanden.

C831G>A (pLys288Lys, GP 11318) ist die zweite genetische Variante im Exon sieben und trat bei vier Patienten der POV-Gruppe auf, immer heterozygot und bei nur zwei Probanden der Kontrollgruppe, auch hier immer in heterozygoter Form.

G G A G G A G T G T A A T C T T G A A A G A G A C C C T C T C G C C  
 ) 120 130 140

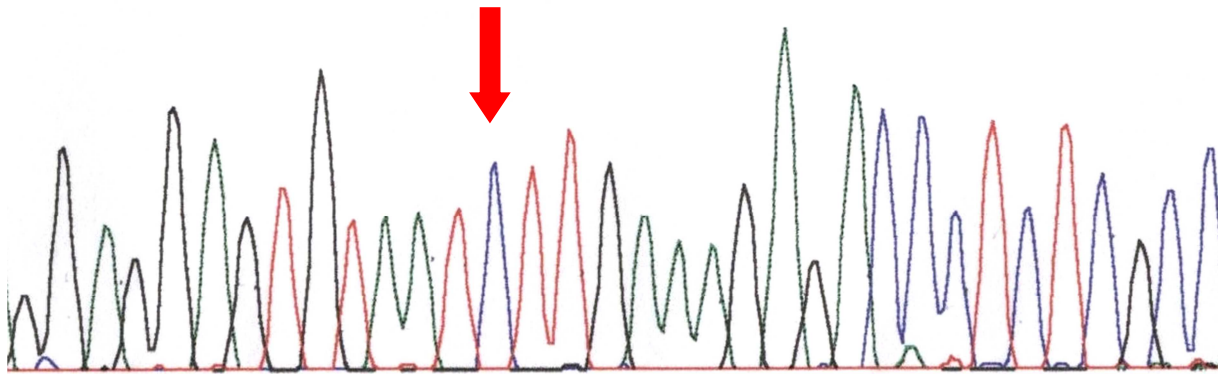


Abbildung 24: Polymorphismus C831G>A (pLys288Lys) (Exon 7), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert)

G G A G G A G T G T A A T N T T G A A A G A G A C C C T C T C G  
 140 150 160

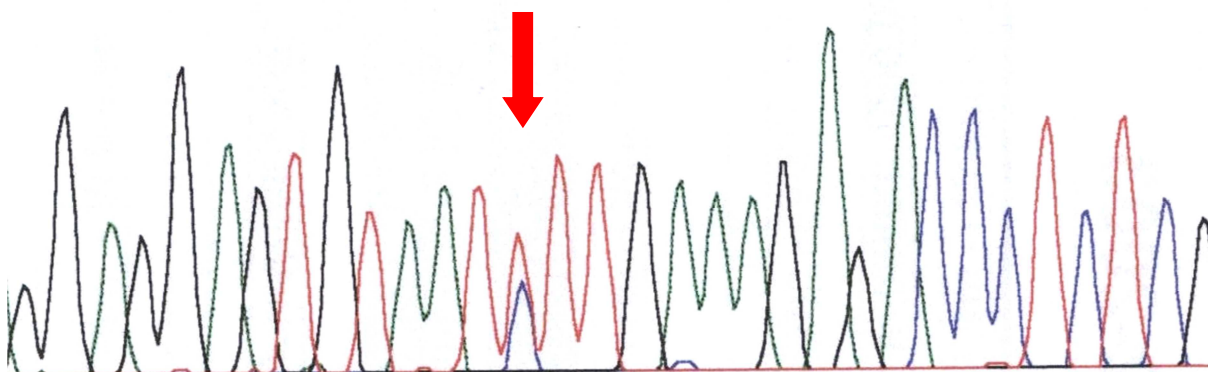


Abbildung 25: Polymorphismus C831G>A (pLys288Lys) (Exon 7), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert)



Auch das Exon 9 konnte eine genetische Variante im kodierenden Bereich aufzeigen. C1377A>G (pLeu459Leu, GP 14378) zeigte sich bei 43 Patienten der POV-Gruppe, wobei sie bei 37 in heterozygoter und nur bei drei Patienten in homozygoter Form auftrat. Bei den Probanden der Kontrollgruppe kam sie insgesamt 27-mal vor, 25-mal heterozygot und nur einmal homozygot.

Des Weiteren traten zwei genetische Varianten im nichtkodierenden Bereich auf. Zum einen 70C>A (GP 14508), diese allerdings nur bei einem Patienten der POV-Gruppe in heterozygoter Form und bei keinem Probanden der Kontrollgruppe. Zum zweiten die genetische Variante 503C>T (GP 14941) die sich in beiden Gruppen bei jeweils fünf Patienten, immer in heterozygoter Form zeigte.

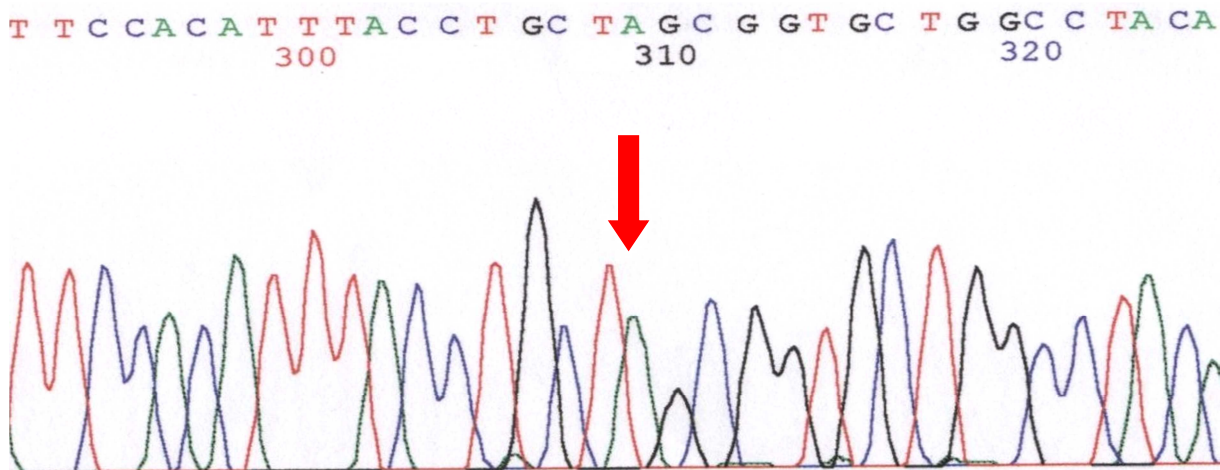


Abbildung 26: Polymorphismus C1377A>G (pLeu459Leu) (Exon 9), Wildtyp

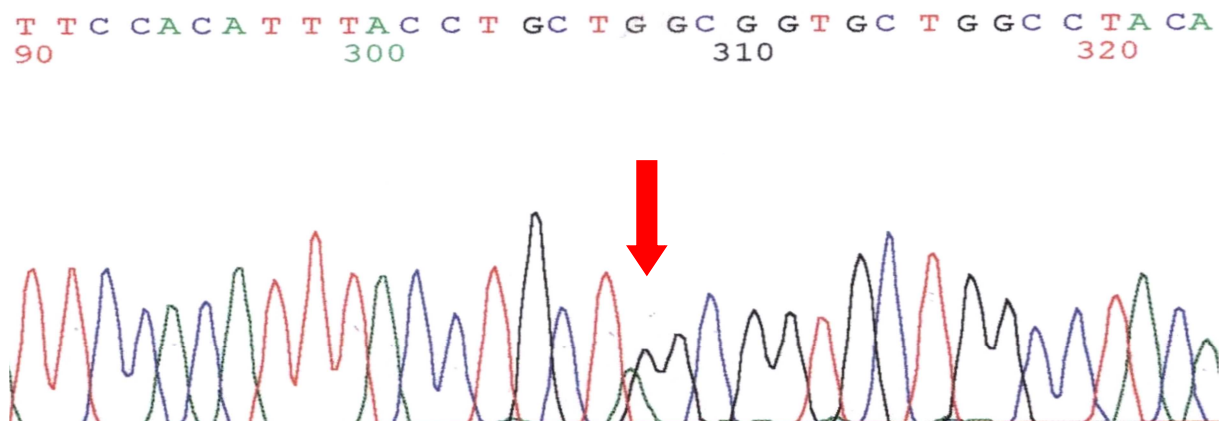


Abbildung 27: Polymorphismus C1377A>G (pLeu459Leu) (Exon 9), heterozygot

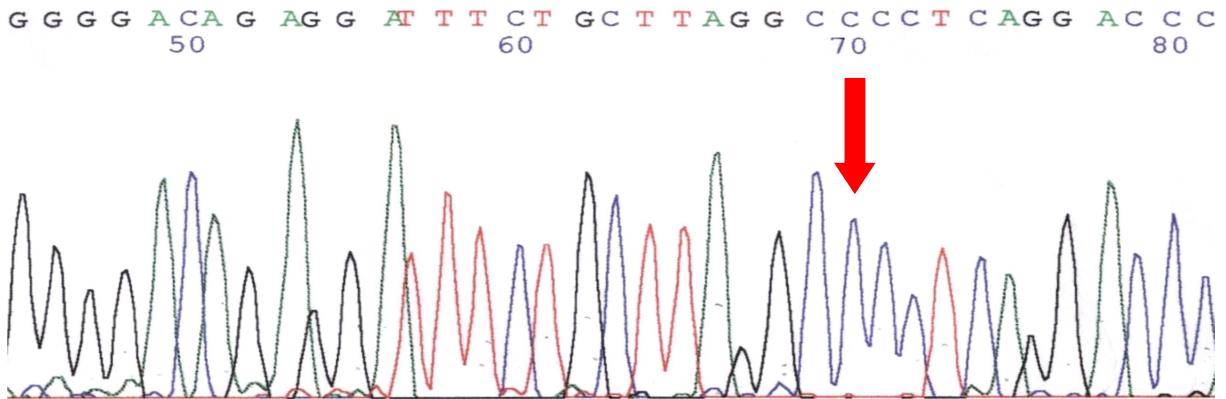


Abbildung 28: Polymorphismus 70C>A (Exon 9), Wildtyp

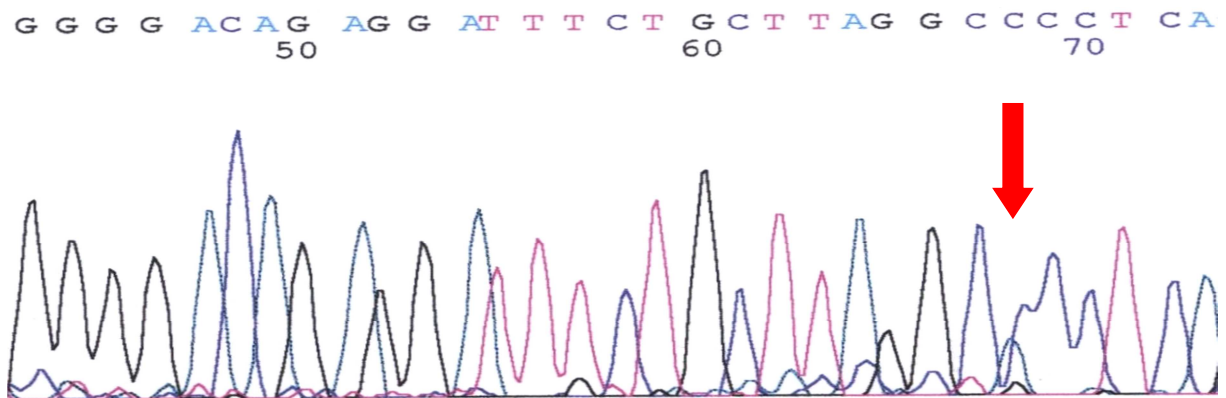


Abbildung 29: Polymorphismus 70C>A (Exon 9), heterozygote

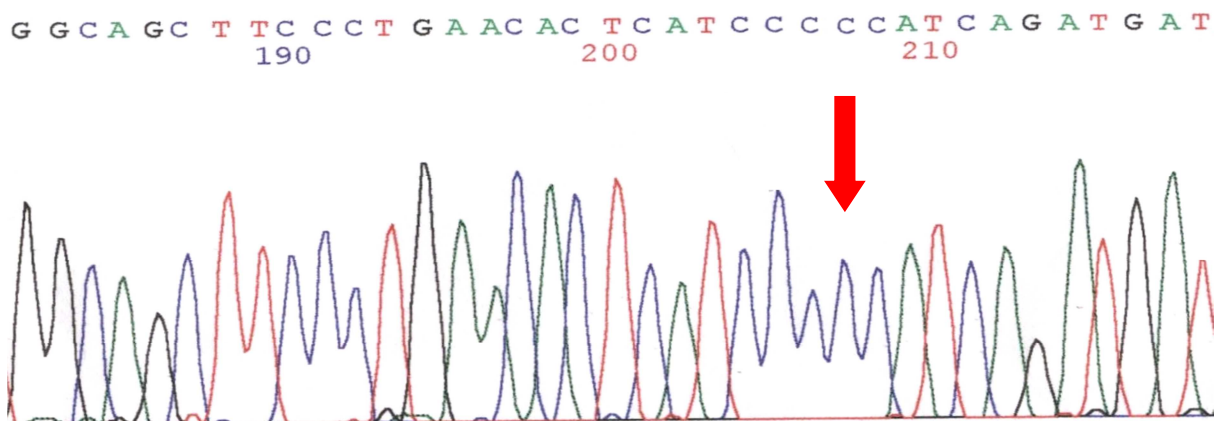


Abbildung 30: Polymorphismus 503C>T (Exon 9), Wildtyp

G GC A GC T T C C C T G AAC AC T C A T C C C **N** C A T C A G A T G A T  
180 190 200 210

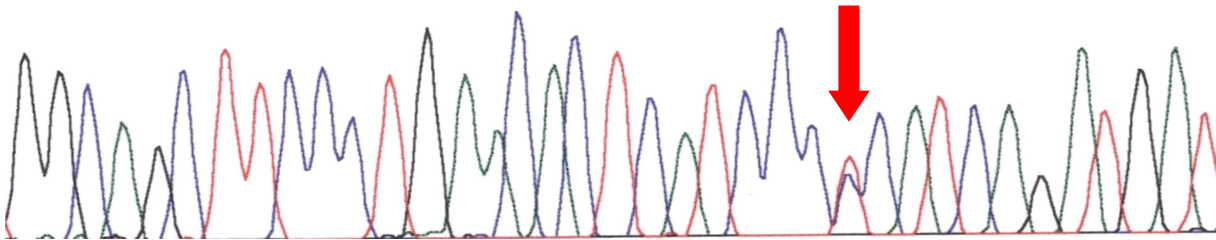


Abbildung 31: Polymorphismus 503C>T (Exon 9), heterozygot

### 3.4 Prädiktoren für ein erhöhtes POV-Risiko

In das Modell der statistischen Auswertung mittels logistischer Regression wurden alle Gruppencharakteristika mit einem p-Wert kleiner gleich 0,05 (Alter, POV-Prophylaxe, Alkohol), die klassischen Risikofaktoren (weibliches Geschlecht, Nichtraucherstatus, POV in Anamnese, postoperative Opioidgabe) sowie die genetischen Varianten mit einem Häufigkeitsunterschied  $p < 0,13$  (-42 C>T; c5-56 G>T; c1377A>G) einbezogen. Hieraus ergaben sich fünf unabhängige Prädiktoren für POV: das weibliche Geschlecht, PONV in der Anamnese und die genetische Variante -42 C>T. Rauchen sowie ein höheres Patientenalter erwiesen sich als protektiv gegenüber postoperativem Erbrechen.

Für das weibliche Geschlecht lag ein ca. 7fach erhöhtes Risiko von postoperativem Erbrechen vor. Auch Patienten, bei denen PONV bereits in der Anamnese bekannt war, zeigten ein deutlich erhöhtes Risiko, erneut postoperativ zu erbrechen. Aufgrund des sehr breiten Konfidenzintervalls (6,036 bis 63,925) ließ sich das erhöhte Risiko jedoch nicht genau angeben.

Patienten, die den Polymorphismus -42C>T aufwiesen, zeigten ein ca. 2,4-fach erhöhtes Risiko, unter POV zu leiden.

Raucher zeigten auch in der vorliegenden Untersuchung ein deutlich erniedrigtes Risiko, von postoperativem Erbrechen betroffen zu sein.

Hinsichtlich des Alters zeigte sich, dass mit zunehmendem Alter das POV-Risiko abnimmt und somit auch das zunehmende Lebensalter protektiv ist.

**Tabelle 13: gefundene Prädiktoren mit der jeweiligen odds ratio und dem 95% Konfidenzintervall**

Prädiktoren	Odds ratio	95% Konfidenzintervall	
		unterer Wert	oberer Wert
Alter (protektiv)	0,94	0,919	0,961
weibliches Geschlecht	6,943	4,067	11,852
Raucher	0,2	0,089	0,446
PONV in Anamnese	19,643	6,036	63,925
Polymorphismus -42C>T	2,371	1,209	4,651

## 4 Diskussion

### 4.1 PONV und der 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptor

In den letzten Jahrzehnten sind die anästhesiebedingte Letalität und Mortalität immer weiter gesunken, die Patientenparameter wie Zufriedenheit und Wohlbefinden nehmen jedoch an Bedeutung stetig zu (Rüsch et al., 2010; Lohr 1988). Trotz rasanter Fortschritte leiden jedoch immer noch ca. ein Drittel aller Patienten unter PONV (Gan et al., 2003).

Betroffene Patienten empfinden PONV häufig noch belastender als die postoperativen Schmerzen und beide zählen zu den häufigsten postoperativen Komplikationen. Für viele Patienten ist die Vermeidung von PONV ebenso essentiell wie die Vermeidung von Schmerzen (Macario et al., 1999).

Des Weiteren verursacht Erbrechen zwar seltene, aber durchaus schwerwiegende Komplikationen, wie zum Beispiel Aspirationspneumonien, Hautemphyseme, Pneumothorax, Nahtdehiszenzen oder Ösophagusrupturen (Schumann et al., 1999; Bremner et al., 1993; Rüsch et al., 2010).

Ein weiterer Faktor sind die durch PONV verursachten Gesundheitskosten, die sich unter anderem aus einer Verlängerung der Liegezeiten im Aufwachraum mit erhöhtem Überwachungs- und Therapiebedarf und aus stationären Wiederaufnahmen pädiatrischer Patienten nach ambulanten Eingriffen ergeben (Watcha, 2000).

Um die Patientenzufriedenheit und das Wohlbefinden der Patienten postoperativ weiter zu verbessern und um Gesundheitskosten zu sparen, sollte eine PONV-Prophylaxe bei Risikopatienten erfolgen. Zunächst sollten gesicherte emetogene Faktoren vermieden werden. Da Regionalanästhesieverfahren mit einem geringeren PONV-Risiko einhergehen, sollten diese, wenn möglich, eingesetzt werden (Sinclair et al., 1999). Zur weiteren Risikoreduktion sollte bei der Durchführung einer Allgemeinanästhesie Propofol zur Narkoseaufrechterhaltung verwendet werden und auf Lachgas verzichtet werden (Apfel et al., 2002; Apfel et al., 2004). Auch die Verringerung der intra- und postoperativen Opioidgabe führt zu einer weiteren Absenkung des PONV-Risikos (Apfel et al., 1999; Apfel et al., 2002).

Zur medikamentösen PONV-Prophylaxe stehen eine Vielzahl von Substanzen aus unterschiedlichen Medikamentengruppen zur Verfügung, eine dieser Gruppen sind

die 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten, deren Wirksamkeit untersucht und bestätigt wurde (Rüsch et al., 2010; Kazemi-Kjellberg et al., 2001). In jedem Fall sollte beim Auftreten von PONV die Behandlung zügig erfolgen.

Da eine Prophylaxe sowie Therapie über eine Blockierung der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren erreichbar ist, sollte in dieser Arbeit eine Genotypisierung der 5-HT<sub>3A</sub>-Untereinheit erfolgen und nach noch unbekanntem Varianten in diesem Gen gefahndet werden. Es stellte sich unter anderem die Frage nach möglichen Zusammenhängen zwischen PONV und genetischen Varianten im Gen des 5-HT<sub>3A</sub>-Rezeptors.

## **4.2 Stellenwert bekannter PONV-Risikofaktoren in den untersuchten Gruppen**

Die Gründe für medikamentöse Behandlungsmisserfolge in der PONV Therapie sind möglicherweise ähnlich komplex wie die multifaktorielle Genese von PONV. Auch hierbei können u. a. genetische Faktoren eine Rolle spielen, die beispielsweise die Pharmakodynamik an den Effektorsystemen oder die Pharmakokinetik mit veränderten Abbauraten der Medikamente betreffen.

Bereits Kaiser und Mitarbeiter untersuchten einen Zusammenhang zwischen chemotherapieinduziertem Erbrechen und genetischen Varianten im 5-HT<sub>3A</sub>- (HTR3A) und 5-HT<sub>3B</sub>- (HTR3B)-Gen. Die Analyse des HTR3A-Gens bei 242 Tumorkranken, die einer Chemotherapie unterzogen wurden und Übelkeit mit bzw. ohne Erbrechen in unterschiedlicher Intensität entwickelten, ergab insgesamt 21 genetische Varianten, von denen zwei zu einem Aminosäureaustausch im kodierenden Bereich führten. Keiner der identifizierten Varianten konnte jedoch in einen signifikanten Zusammenhang mit Übelkeit und Erbrechen unter einer Chemotherapie gebracht werden (Kaiser et al., 2004).

Bei der Planung der vorliegenden Pilotstudie wurde angenommen, dass die emetogene Potenz bzw. der entsprechende Reiz von Chemotherapeutika im Gesamtkontext einer Tumorthherapie deutlich höher ist als von jenen Medikamenten, die bei einer Allgemeinanästhesie zur Anwendung kommen. Dadurch konnte davon ausgegangen werden, dass genetische Faktoren in den untersuchten Genen unter Chemotherapie eventuell seltener zum Tragen kamen, da nahezu das gesamte Untersuchungskollektiv über entsprechende Beschwerden klagte. Aus diesem Grund

wurde angenommen, dass Patienten, die innerhalb einer postoperativen Periode von 6 Stunden erbrechen, möglicherweise geeigneter für eine diesbezügliche HTR3A-Gen-Assoziationsstudie waren. Diese wurden mit einer Kontrollgruppe verglichen, bei denen entsprechende Beschwerden im Untersuchungszeitraum nicht auftraten.

Allerdings wurde auch in der vorliegenden Untersuchung zunächst der Schwerpunkt auf eine umfassende methodische Analyse möglicher Varianten im HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) gelegt. Dazu wurden sowohl alle AS-kodierenden Bereiche (9 Exons) als auch die flankierenden Intronbereiche sowie die Promotorregion in der POV-Gruppe mittels direkter Sequenzierung untersucht. Beim Nachweis von genetischen Varianten wurde in der Kontrollgruppe nach diesen konkret mittels d0HPLC gefahndet.

Im Ergebnis wurden in der POV-Gruppe insgesamt 16 verschiedene Varianten im HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) entdeckt, von denen sich 10 in der Kontrollgruppe wiederfanden. Die Mehrzahl der Varianten lag dabei außerhalb AS-kodierender Bereiche. Von den übrigen fünf, die in den Exonabschnitten auftraten, war die Variante c1377A>G (pLeu459Leu) im direkten Gruppenvergleich signifikant häufiger bei den POV Patientin zu finden. Keiner der fünf Varianten führte zu einem AS-Austausch, so dass funktionelle Effekte im Serotoninrezeptor fraglich sind. Dagegen ergab sich aus der logistischen Regressionsanalyse, dass neben den klassischen PONV-Risikofaktoren die Variante -42C>T, welche in der Promotorregion des HTR3A-Gens zu finden ist, ein unabhängiger Faktor für das Auftreten von Erbrechen in der postoperativen Frühphase ist bzw. das diesbezügliche Risiko erhöht. Über die funktionellen Auswirkungen dieser Variante können mit den Ergebnissen der Arbeit keine Aussagen getroffen werden.

Insgesamt offenbarte sich über die Vielzahl identifizierter Varianten auch in dieser Untersuchung eine große Heterogenität im HTR3A-Gen.

### ***4.3 Bezüge zwischen den ermittelten Resultaten innerhalb der Gruppen und bereits bekannten Risikofaktoren***

Vor dem Hintergrund einer noch weitgehend unklaren Pathogenese von PONV, ist es umso wichtiger, die hierfür auslösenden Prädiktoren zu kennen. Eine Vielzahl wurde bereits beschrieben, jedoch kann keiner dieser Prädiktoren allein eine ausreichende PONV-Vorhersage treffen. Mit entsprechenden Prognosesystemen

kann eine etwa 70 prozentige Vorhersagegenauigkeit ermittelt werden (Rüsch et al., 2010).

Eines dieser Prognosesysteme ist der Risikoscore nach Apfel et al., er umfasst vier Faktoren: das weibliche Geschlecht, PONV oder Reisekrankheit in der Anamnese, den Nichtraucherstatus und die zu erwartende postoperative Opioidgabe (Apfel et al., 1999).

Ziel dieser Arbeit war es unter anderem, nach neuen Prädiktoren zu fahnden und bereits beschriebene zu bestätigen oder zu widerlegen.

In der vorliegenden Arbeit waren in der POV-Gruppe 70 Patienten weiblichen Geschlechts, in der Kontrollgruppe hingegen nur 28 Patienten. Somit umfasste die POV-Gruppe 2,5-mal mehr weibliche Patienten als die Kontrollgruppe. Der p-Wert für das weibliche Geschlecht beträgt  $<0,001$ . Die nach Apfel et al. im Risikoscore festgelegte Geschlechterverteilung kann folglich mit dieser Arbeit bestätigt werden.

Generell ergab sich für das weibliche Geschlecht ein ca. 7-fach erhöhtes Risiko von postoperativer Übelkeit und Erbrechen betroffen zu sein. Obwohl das Konfidenzintervall mit 4,067 bis 11,852 relativ breit ist, wurde eindeutig belegt, dass das Risiko für das weibliche Geschlecht deutlich erhöht ist. Innerhalb der Literaturrecherchen zeigt sich zumeist ein dreifach erhöhtes Risiko (Apfel et al., 2004; Apfel et al., 2000). Dieses Risiko wird erst mit Eintreten der Geschlechtsreife deutlich, wofür vor allem hormonelle Unterschiede verantwortlich gemacht werden (Apfel et al., 2000).

PONV in der Anamnese ergab sich bei 28 Patienten der POV-Gruppe, jedoch nur bei zwei in der Kontrollgruppe. Damit litten deutlich mehr Probanden an Übelkeit und Erbrechen, die bereits ein solches Ereignis in ihrer Krankengeschichte aufwiesen. Der p-Wert für PONV in der Anamnese beträgt  $<0,001$ . Auch hier bestätigt sich der von Apfel et al. aufgezeigte Zusammenhang. Patienten mit PONV in Anamnese zeigen ein zwei- bis dreifach höheres Risiko für Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen (Apfel et al., 2000). Die statistische Auswertung aller Daten ergab auch in dieser Studie ein deutlich erhöhtes Risiko für Patienten mit PONV in Anamnese. Ursächlich hierfür ist am ehesten eine individuell unterschiedlich ausgeprägte Empfindlichkeit des Brechreflexes oder eine generell bestehende Disposition zu Übelkeit und Erbrechen (Apfel et al., 2000).



Bezüglich des Nichtraucherstatus fanden sich in der POV-Gruppe 81, in der Kontrollgruppe hingegen nur 68 Patienten. Damit scheint das Rauchen, wie von Apfel et al. bereits festgestellt, auch in dieser Studie einen protektiven Effekt aufzuweisen. Der p-Wert für den Nichtraucherstatus liegt bei 0,034.

Auch die groß angelegte Studie (mit 1600 Patienten) von Cohen et al. zeigte, dass Nichtraucher ca. zweimal häufiger unter PONV leiden als Raucher (Apfel et al., 2000). Die Pathophysiologie dazu ist noch nicht abschließend geklärt, vermutet wird aber die Beeinflussung des dopaminergen Systems (Apfel et al., 2000).

Den Risikofaktor der postoperativen Opioidgabe konnten in der POV-Gruppe 81 und in der Kontrollgruppe nur 77 Patienten aufzeigen. Der p-Wert für die Gabe von postoperativen Opioiden liegt bei 0,668 und ist damit nicht signifikant. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da die postoperative Opioidgabe nach einem standardisierten postoperativen schmerztherapeutischen Konzept erfolgt.

Die Zusammenschau aller in dieser Arbeit ermittelten Faktoren ergab innerhalb des Risikoscores nach Apfel et al. für die POV-Gruppe eine durchschnittliche Punktzahl von drei und für die Kontrollgruppe eine Punktzahl von zwei. Somit war das Risiko, PONV zu entwickeln, in der POV-Gruppe höher als in der Kontrollgruppe.

Apfel et al. haben weitere Risikofaktoren untersucht, die jedoch zum Teil klinisch nicht so relevant sind und daher keine Anwendung in o.g. Risikoscore finden (Apfel et al., 2004).

Kinder erbrechen häufiger als Erwachsene, im Schulalter sind dies sogar 34-50%. Damit ist PONV eine häufige postoperative Komplikation im Kindesalter und führt gerade nach ambulanten Operationen zur stationären Aufnahme. Gleichzeitig stellt es für Eltern und Kind eine enorme zusätzliche Belastung dar. Das Risiko von PONV betroffen zu sein steigt bis zur Pubertät mit zunehmendem Alter zunächst an und sinkt dann im Erwachsenenalter mit den Jahren wieder (Kretz et al., 2006).

Auch Apfel et al. zeigten, dass vor allem jüngere Patienten von PONV betroffen sind und die Inzidenz mit zunehmenden Alter abnimmt (Apfel et al., 2004). In der vorliegenden Arbeit waren die Patienten der POV-Gruppe im Durchschnitt 58 Jahre,

in der Kontrollgruppe durchschnittlich 63 Jahre. Der ermittelte p-Wert von kleiner 0,001 ergibt hierfür eine Signifikanz und bestätigt o.g. Thesen.

Als unabhängiger genetischer Faktor der zum Auftreten von POV führt, zeigte sich innerhalb dieser Arbeit der Polymorphismus -42C>T. Patienten die diesen Polymorphismus aufwiesen, zeigten ein ca. 2,4-fach erhöhtes Risiko, unter POV zu leiden.

Apfel et al. sehen den Risikofaktor der Adipositas als widerlegt (Apfel et al., 2004). In beiden Gruppen zeigte sich ein annähernd gleicher BMI, in der POV-Gruppe lag er bei 25,7 und in der Kontrollgruppe bei 25,5. Dieser Wert entspricht einer Präadipositas und ist mit einem p-Wert von 0,655 nicht signifikant. Damit wurde auch mit dieser Arbeit die Adipositas als Risikofaktor widerlegt.

Abschließend kann gesagt werden, dass die ermittelten Resultate die multifaktorielle Entstehung von PONV bestätigen und schließlich auch einen möglichen Zusammenhang zwischen POV und den genetischen Varianten im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A) aufzeigen.

Des Weiteren sollten neue Studien darauf achten, zwischen POV und Kontrollgruppen konsequent gleiche Bedingungen zu schaffen, vor allem hinsichtlich der klassischen Risikofaktoren und der chirurgischen Eingriffe.

## 5 Zusammenfassung

Die anästhesiebedingte Letalität und Mortalität sinken immer weiter, daher rücken die Patientenparameter wie Wohlbefinden und Patientenzufriedenheit immer mehr in den Vordergrund.

Die Inzidenz, von PONV betroffen zu sein, liegt immer noch bei 25-30%. Für die Betroffenen ist sie eine sehr belastende postoperative Komplikation.

Mit Hilfe einer medikamentösen PONV-Prophylaxe, unter anderem mit 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten, konnte das Auftreten von PONV gesenkt werden.

In dieser Arbeit wurde nach Unterschieden im Auftreten von Varianten im Gen für den Serotoninrezeptor Subtyp A bei PONV- und Kontrollgruppenpatienten gesucht, um so Rückschlüsse auf mögliche genetische Dispositionen ziehen zu können und effektivere therapeutische Angriffsmöglichkeiten (5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten) zu finden.

In die Studie wurden 189 Patienten eingeschlossen, von allen wurde Geschlecht, BMI, der tägliche Genuss von Alkohol und Nikotin, die krankheitsbezogene Anamnese, PONV in Anamnese, die Begleitmedikation und die Art des durchgeführten Eingriffs ermittelt. Es konnte gezeigt werden, dass der BMI keinen Einfluss auf POV hat, ebenso die Anästhesiedauer. Das weibliche Geschlecht ist auch innerhalb dieser Studie mit einem höheren POV-Risiko verbunden, Rauchen und ein höheres Patientenalter hingegen haben einen protektiven Effekt auf POV. Des Weiteren reduziert Alkohol das Risiko für POV deutlich. Der Risikoscore nach Apfel lag bei der POV-Gruppe entsprechend eines erhöhten POV-Risikos bei 3 und in der Kontrollgruppe bei 2.

Bei allen Probanden der Gruppe mit postoperativem Erbrechen erfolgte eine Genotypisierung des gesamten 5-HT<sub>3A</sub> Rezeptors mittels direkter Sequenzierung. Es konnten 16 genetische Varianten in dieser Gruppe nachgewiesen werden. Ihr Auftreten wurde in der Kontrollgruppe mittels dHPLC überprüft. Hierbei fanden sich 10 genetische Varianten. Fünf der insgesamt 16 verschiedenen genetischen Varianten befanden sich in der codierenden Region des Gens.

Patienten, die den Polymorphismus -42C>T aufwiesen, zeigten ein ca. 2,4-fach erhöhtes Risiko, unter POV zu leiden.

Auch in dieser Arbeit offenbarte sich eine große Heterogenität im 5-HT<sub>3A</sub>-Gen (HTR3A).

Die in dieser Arbeit ermittelten Resultate bestätigen die multifaktorielle Entstehung von PONV und zeigen einen möglichen Zusammenhang zwischen POV und den genetischen Varianten im 5-HT<sub>3A</sub> Gen (HTR3A).

In neuen Studien sollte allerdings darauf geachtet werden, konsequent gleiche Bedingungen zwischen POV und Kontrollgruppen zu schaffen, vor allem in Hinblick auf die klassischen Risikofaktoren und die chirurgischen Eingriffe.

---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Risikofaktoren für PONV, klassifiziert nach der Evidenz und klinischer Bedeutung (I = moderat, II = stark, III = sehr stark) (Bellville et al., 1960) .....	11
Tabelle 2: Übersicht über verwendete Chemikalien zur DNA-Isolierung .....	30
Tabelle 3: PCR-Reaktionsansätze für Exon 1-9 des 5-HT <sub>3A</sub> Rezeptors .....	31
Tabelle 4: Übersicht über verwendete PCR-Primer .....	32
Tabelle 5: Thermocycler-Programme für die zu amplifizierenden DNA-Fragmente in der PCR .....	32
Tabelle 6: zu den o.g. PCR-Primern wurden folgende Primer zum Sequenzieren genutzt .....	35
Tabelle 7: PCR-Reaktionsansätze für die dHPLC .....	38
Tabelle 8: Zusätzlich für die dHPLC verwendete Primer .....	38
Tabelle 9: ermittelte Schmelztemperaturen der einzelnen Exons .....	39
Tabelle 10: Übersicht der verwendeten Geräte .....	40
Tabelle 11: Patientencharakterisierung/ Ergebnisse innerhalb der POV-Gruppe und der Kontrollgruppe .....	43
Tabelle 12: Identifizierte genetische Varianten in der POV-Gruppe und der Kontrollgruppe .....	45
Tabelle 13: gefundene Prädiktoren mit der jeweiligen odds ratio und dem 95% Konfidenzintervall .....	56

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der Pathophysiologie von PONV: Afferenzen aktivieren das Brechzentrum in der Medulla oblongata, es kommt zu vegetativen Reaktionen wie Übelkeit und Erbrechen .....	11
Abbildung 2: Mögliches, risikoadaptiertes Prophylaxe- und Therapieschema anhand des vereinfachten Risikoscores nach Apfel (Apfel et al., 2004) .....	18
Abbildung 3: Serotonin- Biosynthese ( <a href="http://images.google.com">http://images.google.com</a> , Stand 03.10.2009) .....	21
Abbildung 4: 5-HT-Rezeptor, G-Protein-gekoppelt ( <a href="http://neuropsychanalyse.blogspot.com/">http://neuropsychanalyse.blogspot.com/</a> , Stand 05.04.2011) .....	24
Abbildung 5: 5-HT <sub>3</sub> -Rezeptor, ligandengesteuerter Ionenkanal (Rammes et al., 2004) .....	24
Abbildung 6: Fotodokumentation der Elektrophorese .....	33
Abbildung 7: Sequenzierkurve .....	36
Abbildung 8: graphische Darstellung einer dHPLC Kurve , eine Spitze stellt den Wildtyp dar, eine doppelte Spitze zeigt die heterozygoten genetischen Varianten auf .....	37
Abbildung 9: 5-HT <sub>3A</sub> : Genomstruktur, sowie Lokalisation der identifizierten genetischen Varianten in beiden Gruppen.....	44
Abbildung 10: Polymorphismus -42C>T in der Promotorregion, hier als Wildtyp (Exon 1) .....	46
Abbildung 11: Polymorphismus -42C>T in der Promotorregion, heterozygot (Exon 1) .....	46
Abbildung 12: Polymorphismus c1-19G>A (Exon 2), Wildtyp .....	47
Abbildung 13: Polymorphismus c1-19G>A (Exon 2), heterozygot .....	47
Abbildung 14: Polymorphismus c3+7A>C (Exon 3), Wildtyp .....	47
Abbildung 15: Polymorphismus c3+7A>C (Exon 3), heterozygot .....	48
Abbildung 16: Polymorphismus c3-72C>T (Exon 4), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	48
Abbildung 17: Polymorphismus c3-72C>T (Exon 4), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	49
Abbildung 18: Polymorphismus c4+10G>A (Exon 4), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	49

---

Abbildung 19: Polymorphismus c4+10G>A (Exon 4), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	49
Abbildung 20: Polymorphismus c5-56G>T (Exon 6), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	50
Abbildung 21: Polymorphismus c5-56G>T (Exon 6), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	51
Abbildung 22: Polymorphismus c576G>A (pLeu192Leu) (Exon 6), Wildtyp .....	51
Abbildung 23: Polymorphismus c576G>A (pLeu192Leu) (Exon 6), heterozygot .....	51
Abbildung 24: Polymorphismus C831G>A (pLys288Lys) (Exon 7), Wildtyp (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	52
Abbildung 25: Polymorphismus C831G>A (pLys288Lys) (Exon 7), heterozygot (mit Rückwärtsprimer sequenziert) .....	52
Abbildung 26: Polymorphismus C1377A>G (pLeu459Leu) (Exon 9), Wildtyp .....	53
Abbildung 27: Polymorphismus C1377A>G (pLeu459Leu) (Exon 9), heterozygot ...	53
Abbildung 28: Polymorphismus 70C>A (Exon 9), Wildtyp .....	54
Abbildung 29: Polymorphismus 70C>A (Exon 9), heterozygote .....	54
Abbildung 30: Polymorphismus 503C>T (Exon 9), Wildtyp .....	54
Abbildung 31: Polymorphismus 503C>T (Exon 9), heterozygot.....	55

---

## Literaturverzeichnis

*Abramowitz M, Oh TH, Epetin BS, Ruttimann UE, Friendly DS (1983) The antiemetic effect of droperidol following outpatient strabismus surgery in children. Anesthesiology 59:579-583*

*Allgaier C, Warnke P, Stangl AP, Feuerstein TJ (1995) Effects of 5-HT receptor agonists on depolarization-induced [3H]-noradrenaline release in rabbit hippocampus and human neocortex. Br J Pharmacol 116 (1995) 1769-1774*

*Andrews PLR (1992) Physiology of nausea and vomiting. British Journal of Anaesthesia 69:2S-19S*

*Apfel CC, Roewer N (2004) Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen: Besseres Verständnis und Vorgehen, Teil1. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 39:490-503*

*Apfel CC, Greim CA, Goepfert C, Grundt D, Usadel J, Sefrin P, Roewer N. (1998) Postoperatives Erbrechen- Ein Score zur Voraussage des Erbrechensrisikos nach Inhalationsanaesthesien. Anaesthesist 47:732-740*

*Apfel CC, Korttlia K, Abdalla M, Kerger H, Turan A, Vedder I, Zernak C, Danner K, Jokela R, Pocock SJ, Trenkler S, Kredel M, Biedler A, Sessler DI, Roewer N (2004) A factorial trial of six interventions for the prevention of postoperative nausea and vomiting. N Engl J Med 2004; 350:244-51*

*Apfel CC, Kranke P, Eberhart LHJ, Roos A, Roewer N (2002) Comparison of predictive models for postoperative nausea and vomiting. Br J Anaesth 2002; 88:234-240*

*Apfel CC, Kranke P, Katz MH, Goepfert C, Papenfuss T, Rauch S, Heineck R, Greim CA, Roewer N (2002) Volatile anaesthetics may be the main cause of early but not delayed postoperative vomiting: a randomized controlled trial of factorial design. Br J Anaesth 2002; 88:659-68*



*Apfel CC, Läärä E., Koivuranta M, Greim CA, Roewer M* (1999) A simplified risk score for predicting postoperative nausea and vomiting: Conclusions from crossvalidations between two centers. *Anesthesiology* 1999; 91:693-700

*Apfel CC, Roewer N* (2000) Einflussfaktoren von Übelkeit und Erbrechen nach Narkosen- Fiktionen und Fakten, *Anaesthesist* 49:629-642

*Apfel CC, Roewer N* (2000) Risk Assessment of Postoperative Nausea and Vomiting. *International Anesthesiology Clinics* 41(4):13-32

*Apfel CC, Roewer N* (2004) Postoperative Übelkeit und Erbrechen. *Anaesthesist* 2004; 53:377-391

*Bardenheuer HJ, Friedemann T* (1997) Inzidenz und Pathophysiologie der postoperativen Übelkeit und des Erbrechens. *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 32:617-619

*Barnes NM, Sharp T* (1999) A review of central 5- HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38 (1999) 1083-1152

*Beattie WS, Lindblad T, Buckley DN, Forrest JB* (1991) The incidence of postoperative nausea and vomiting in women undergoing laparoscopy is influenced by the day of menstrual cycle. *Can J Anaesth* 38:298-302

*Belelli D, Balcarek JM, Hope AG, Peters JA, Lambert JJ, Blackburn TP* (1995) Cloning and functional expression of a human 5- hydroxytryptamine type 3AS receptor subunit. *Mol Pharmacol* 48 (1995) 1045-1062

*Bellville JW, Bross ID, Howland WS* (1960) Postoperative nausea and vomiting IV: Factors related to postoperative nausea and vomiting, *Anesthesiology* 21: 186-193

- Bellville JW* (1961) Postanesthetic nausea and vomiting. *Anesthesiology* 22:773-780
- Biedler A, Wilhelm W* (1998) Postoperative Übelkeit und Erbrechen. *Anaesthesist* 47:145-158
- Bonica JJ, Crepps W, Monk B, Bennett B* (1958) Postanaesthetic nausea, retching and vomiting: Evaluation of Cyclizine (Marezine) suppositories for treatment. *Anesthesiology* 19:532-540
- Borgeat A, Ekatodramis G, Schenker CA* (2003) Postoperative nausea and vomiting in Regional Anaesthesia. *Anesthesiology* 98:530-547
- Brady CA, Stanford IM, Ali I, Lin L, Williams JM, Dubin AE, Hope AG, Barnes NM* (2001) Pharmacological comparison of human homomeric 5-HT<sub>3A</sub> receptors versus heteromeric 5-HT<sub>3A/3B</sub> receptors. *Neuropharmacology* 41 (2001) 282-284
- Bremner WG, Kumar CM* (1993) Delayed surgical emphysema, pneumomediastinum and bilateral pneumothoraces after postoperative vomiting. *Br J Anaesth* 1993; 71:296-297
- Broadman LM, Ceruzzi W, Patane PS, Hanallah R, Ruttimann U, Friendly D* (1990) Metoclopramide reduces the incidence of vomiting following strabismus surgery in children. *Anesthesiology* 72:245-248
- Brüss M, Eucker T, Göthert M, Bönisch H* (2000) Exon-intron organization of the human 5-HT<sub>3A</sub> receptor gene. *Neuropharmacology* 2000;39:308-315
- Campbell AD, McBride WJ* (1995) Serotonin- 3 receptor and ethanol-stimulated dopamine release in the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 51 (1995) 835-842
- Camu F, Lauwers MH, Verbessem D* (1992) Incidence and aethiology of postoperative nausea and vomiting. *Eur J Anaesth* 56:19-26

- Clark RSJ* (1984) Nausea and vomiting. *Br J Anaesth* 56:19-26
- Cohen MM, Cameron CB, Duncan PG* (1990) Pediatric anaesthesia morbidity and mortality in the perioperative period. *Anesth Analg* 70:160-167
- Cohen MM, Cameron CB, Duncan PG* (1990) Pediatric Anesthesia Morbidity and Mortality in the Perioperative Period. *Anesth Analg* 56:19-26
- Cohen MM, Duncan PG, DeBoer DP, Tweed WA* (1994) The postoperative interview: assessing risk factors for nausea and vomiting. *Anesth Analg* 78:7-16
- Cohen MM, Duncan PG, DeBoer DP, Tweed WA* (1994) The postoperative interview: assessing risk factors for nausea and vomiting. *Anesth Analg*. 78:7-16
- Davies PA, Pistis M, Hanna MC, Peters JA, Lambert JL, Hales TG, Kirkness EF* (1999) The 5-HT<sub>3B</sub> subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature* 397 (1999) 359-363
- Dent SJ, Ramachandra V, Stephan CR* (1955) Postoperative Vomiting: Incidence, analysis and therapeutic measures in 3000 patients. *Anesthesiology* 16:564-572
- Eisele J-L, Bertrand S, Galzi J-L, Devillers-Thierry A, Changeux JP, Bertrand D* (1993) Chimaeric nicotinic-serotonergic receptor combines distinct ligand binding and channel specificities. *Nature* 366 (1993), 479-483
- Elhakim M, El-Sebiae S, Kaschef N, Essawi G* (1998) Intravenous fluid and postoperative nausea and vomiting after day-case termination of pregnancy. *Acta Anaesthesiol Scand* 42:216-219
- Gan TJ, Meyer T, Apfel CC, Chung F, Davis PJ, Eubanks S, Kovac A, Phillip BK, Sessler DI, Temo J, Tramer MR, Watcha M* (2003) Consensus

- guidelines for managing postoperative nausea and vomiting. *Anesth Analg* 2003; 97:62-71
- Goepfert C, Apfel CC, Kranke P, Rauch S, Papenfuß T, Sefrin P, Reower N* (1998) Hat der Menstruationszyklus wirklich einen Einfluß auf das postoperative Erbrechen? *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 33:S166
- Goepfert C, Apfel CC, Usadel J, Sefrin P, Reower N* (1997) Einfluss des Menstruationszyklus auf das postoperative Erbrechen in einer Evaluationsstudie. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 32:S128
- Gratz I, Allen E, Afshar M, Joslyn AF, Buxbaum J, Prilliman B* (9-1996) The effects of the menstrual cycle on the incidence of emesis and efficacy of ondansetron. *Anesth Analg* 83: 565-569
- Gunthorpe MJ, Peters JA, Gill CH, Lambert JJ, Lummis SC* (2000) The 4<sup>th</sup> lysine in the putative channel lining domain affects desensitization but not the Single- Channel conductance of recombinant homomeric 5-HT<sub>3A</sub> receptors. *J Physiol*, 522: 187-198
- Hargreaves AC, Lummis SCR, Tayler CW* (1994) Ca<sup>2+</sup> permeability of cloned and native 5- hydroxytryptamine type 3 receptors. *Mol Pharmacol* 46: 1120-1128
- Hick Christian* 2002: *Kurzlehrbuch Physiologie*, 4. Auflage: Urban und Fischer Verlag
- Hildebrandt H* (1998) *Psyhyrembel klinisches Wörterbuch*, 258. Auflage, Walter de Gruyter- Verlag, Berlin; New York
- Hill RP, Lubarsky DA, Phillips- Bute B, Fortney JT, Creed MR, Glass PS, Gan TJ* (2000) Cost- effectiveness of prophylactic antiemetic therapy with ondansetron, droperidol, or placebo. *Anesthesiology* 92:958-967

*Ho KY, Gan TJ* (2006) Pharmacology, pharmacogenetics, and clinical efficacy of 5-hydroxytryptamine type 3 receptor antagonists for postoperative nausea and vomiting. *Curr Opin Anaesthesiol* 19:606-11

*Hofmann Eberhard* 2001:Medizinische Biochemie systematisch, 3. Auflage-Bremen: UNI- MED

*Honkavaara P, Lehtinen AM, Hovorka J, Korttila K* (1991) Nausea and vomiting after gynaecological laparoscopy depends upon the phase of the menstrual cycle. *Can J Anaesth* 38: 876-879

*Hornbein TF, Eger EI, Winter EM, Smith G, Wetstone D, Smith KH* (1982) The minimum alveolar concentration of nitrous oxide in man. *Anesth Analg* 61:553-556

*Hovorka J, Kortilla K, Erkola O* (1990) Gastric aspiration at the end of anaesthesia does not decrease postoperative nausea and vomiting. *Anaesth Intens Care* 18:58-61

*Hovorka J, Kortilla K, Erkola O* (1990) The experience of the person ventilating the lungs does influence postoperative nausea and vomiting. *Acta Anaesthesiol Scand* 34:203-205

*Hüther G, Rüther E* (2000) Das serotonerge System. UNI-MED Verlag AG, Bremen 1. Auflage

*Kaiser R, Tremblay PB, Sezer O, Possinger K, Roots I, Brockmüller J* (2004) Investigation of the association between 5-HT<sub>3A</sub> receptor gene polymorphisms and efficiency of antiemetic treatment with 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists. *Pharmacogenetics* 14:271-278

*Kazemi-Kjellberg F, Henzi I, Tramer MR* (2001) Treatment of established postoperative nausea and vomiting: a quantitative systematic review. *BMC Anesthesiol* 1:2

- Kenny GNC* (1994) Risk factors for postoperative nausea and vomiting. *Anaesthesia* 49:S6-S10
- Kermode J, Walker S, Webb I* (1995) Postoperative vomiting in children. *Anaesthesia* 23:196-199
- Klockgether-Radke A, Feldmann M, Braun U, Mühlendyck H* (1992) Droperidol vs Metoclopramid – Prophylaxe von Erbrechen nach Strabismus-Operationen bei Kindern. *Anaesthesist* 44:755-760
- Kochs E, Himmelseher S, Adams HA, Hempelmann G* (2001) *Anästhesiologie Band 1, 1. Auflage.*-Stuttgart; New York: Thieme, S. 763
- Koivuranta M, Läärä E, Snare L, Alahuhta S* (1997) A survey of postoperative nausea and vomiting. *Anaesthesia* 52:443-449
- Koller C, Jacob W, Hörauf K* (1994) Postoperatives Erbrechen-Pathophysiologie, Inzidenz und Prophylaxe. *Anaesth Intensivmed* 35:137-143
- Kontiniemi L, Ryhänen P, Vallanne J, Jokela R, Mustonen A, Poukkula E* (1997) Postoperative symptoms at home following day- case surgery in children: a multicenter survey of 551 children. *Anaesthesia* 52:963-969
- Koyama S, Matsumoto N, Kubo C, Akaike N* (2000) Presynaptic 5-HT<sub>3</sub> Receptor-mediated modulation of synaptic GABA release in the mechanically dissociated rat amygdala neurons *J Physiol* 529: 373-383
- Kretz FJ* (1997) Postoperatives Erbrechen: Medikamentöse Prophylaxe und Therapie mit etablierten Substanzen beim Kind. *Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 32:620-622
- Kretz FJ, Teufel F* (2006) *Anästhesie und Intensivmedizin, 1. Auflage,* Springer Verlag, Berlin Heidelberg S.509

*Lambert JJ, Peters JA, Hales TG, Dempster* (1989) The properties of 5-HT<sub>3</sub> receptors in clonal cell lines studied by patch-clamp techniques. *Br J Pharmacol* 97: 27-40

*Larsson S, Lundberg D* (1995) A prospective survey of postoperative nausea and vomiting with special regard to incidence and relations to patient characteristics, anesthetic routines and surgical procedures. *Acta Anaesthesiol Scand* 39:539-545

*Larsen R* (2002) *Anästhesie*, 7. Auflage, Urban und Fischer Verlag, München; Jena

*Lobitz N, Gisselmann G, Hatt H, Wetzel CH* (2001) A single amino-acid in the TM1 domain is an important determinant of the desensitization kinetic of recombinant human and guinea pig alpha-homomeric 5-hydroxytryptamine type 3 receptor. *Mol Pharmacol* 59: 844-851

*Löffler Georg* 2001: *Basiswissen Biochemie: mit Pathobiochemie*, 4. Auflage- Berlin Springer-Verlag

*Lohr KN* (1988) Outcome measurement: concepts and questions. *Inquiry* 25:37-50

*Macario A, Weinger M, Carney S, Kim A* (1999) Which clinical anesthesia outcomes are important to avoid? The perspective of patients. *Anesth Analg* 89:652-658

*MacMahon LL, Kauer JA* (1997) Hippocampal interneurons are excited via serotonin-gated ion channels. *J Neurophysiol* 78: 2493- 2502

*Malycha FC* (2009) *Untersuchung von cosmc- Mutationen bei Patienten mit IgA- Nephropathie*, Essen

*Mariq AV, Peterson AS, Brake AJ, Myers RM, Julius D* (1991) Primary structure and functional expression of the 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor, a serotonin-gated ion channel. *Science* 254: 432-437

*Miyake A, Mochizuki S, Takemoto Y, Akuzawa S* (1995) Molecular cloning of human 5-hydroxytryptamine<sub>3</sub> receptor: heterogeneity in distribution and function among species. *Mol Pharmacol.* 48(3):407-16

*Muir JJ, Warner MA, Offerd KP, Buck CF, Harper JV, Kunkel SE* (1987) Role of nitrous oxide and other factors in postoperative nausea and vomiting: a randomized and blinded prospective study. *Anesthesiology* 66:513-518

*Müller H-J* (2001) PCR Polymerase-Kettenreaktion, 1. Auflage, Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg; Berlin

*Niesler B, Weiss B, Fischer C, Nöthen MM, Propping P, Bondy B, Rietschel M, Maier W, Albus M, Franzek E, Rappold GA* (2001) Serotonin receptor gene HTR3A variants in schizophrenic and bipolar affective patients. *Pharmacogenetics* 11:21-27

*Ortells MO, Lunt GG* (1995) Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trends Neurosci* 18: 121-127

*Palazzo M, Evans R* (1993) Logistic regression analysis of fixed patient factors for postoperative sickness: a model for risk assessment. *Br J Anaesth* 70:135-140

*Palazzo M, Strunin L* (1984) Anaesthesia and emesis II: Prevention and management. *Can Anaesth Soc J* 31:407-415

*Palazzo MG, Strunin L* (1984) Anaesthesie and emesis. I: Etiology. *Can Anaesth SocJ* 31:178-187



- Parker RM, Barnes JM, Ge J, Barber PC, Barnes NM (1996)* Autoradiographic distribution of [3H]- (S)- zacopride- labelled 5- HT3 receptors in human brain. *J Neurol Sci* 144: 119-127
- Pierre S, Benais H, Pouymayou J (2002)* Apfel's simplified score may favourably predict the risk of postoperative nausea and vomiting. *Can J Anaesth* 49:237-242
- Pratt GD, Bowery NG (1989)* The 5-HT3 receptor ligand [3H]BRL 43694 binds to presynaptic sites in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuropharmacology* 28: 1367-137
- Quinn AC, Brown JH, Waalace PG, Asbury AJ (1994)* Studies in postoperative sequelae. Nausea and vomiting- still a problem. *Anaesthesia* 49(1):62-5
- Rabey PG, Smith G (1992)* Anaesthetic factors contributing to postoperative nausea and vomiting. *Br. J Anaesth* 69:S40-S45
- Rammes G, Eisensamer B, Ferrari U, Shapa M, Gimpl G, Gilling K, Parsons C, Riering K, Hapfelmeier G, Bondy B, Zieglgänsberger W, Holsboer F, Rupprecht R (2004)* Antipsychotic drugs antagonise human serotonin type 3(5-HT3) receptor currents in a noncompetitive manner. *Molecular Psychiatry* 9:818
- Ramsay TM, McDonald PF, Faragher EB (1994)* The menstrual cycle and nausea and vomiting after wisdom teeth extraction. *Can J Anaesth* 41:796-801
- Rapport MM (1949)* Serum vasoconstrictor ( serotonin ) V. The presence of creatinine in the complex. A proposed structure of the vasoconstrictor principle. *J Bio Chem* 180: 961-969

*Reavley CM, Cherkas L, Spector TD, MacGregor AJ* (1999) Genetic factors contribute to the risk of postoperative nausea and vomiting: results of a twin study. *Br J Anaesth [Suppl]*82:1-2

*Rüffert H* (2003) Molekulargenetische Untersuchung zum Auftreten von Maligne Hyperthermie (MH)-assoziierten Mutationen unter Berücksichtigung ihres möglichen Stellenwertes in der klinischen MH- Diagnostik-  
Habilitationssarbeit, Leipzig

*Rüsch D, Eberhart LHJ, Wallenborn J, Kranke P* (2010) Nausea and vomiting after surgery under general anesthesia-an evidence-based review concerning risk assessment, prevention, and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2010; 107(42):733-41. DOI: 10.3238/arztebl.2010.0733

*Russell GB, Snider MT, Richard RB, Loomis JL* (1990) Hyperbaricnitrous oxide as a sole anesthetic agent in humans. *Anesth Analg* 70:289-295

*Sanger F, Nicklen S, Coulson AR* (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74 (12): 5463- 7

*Schlicker E, Kathmann M, Exner HJ, Detzner M, Göther M* (1994) The 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist 1-(m-chlorophenyl)-biguanide facilitates noradrenaline release by blockade of  $\alpha_2$ -adrenoceptors in the mouse brain cortex. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 349: 20-24

*Schmidt CJ, Black CK* (1989) The putative 5-HT agonist phenylbiguanid induces carrier-mediated release of dopamine. *Eur J Pharmacol* 167: 309-310

*Schumann R, Polaner DM* (1999) Massive subcutaneous emphysema and sudden airway compromise after postoperative vomiting. *Anesth Analg* 89:796-797

*Scuderi PE, James RL, Harris L, Mims GR* (1999) Antiemetic prophylaxis does not improve outcomes after outpatient surgery when compared to symptomatic treatment. *Anesthesiology* 90:360-371

*Serhen H, Toth E, Lajtha A, Vizi ES* (1995) Nicotine effects on presynaptic receptor interactions. *Ann New York Acad Sci* 757:238-244

*Shao XM, Yakel YL, Jackson MB* (1991) Differentiation of NG108-15 cells alters channel conductance and desensitization kinetics of the 5-HT<sub>3</sub> receptor. *J Neurophysiol* 65: 630-638

*Silbernagel S* (2001) Taschenatlas der Physiologie, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart; New York

*Sinclair DR, Chung F, Mezei G* (1999) Can postoperative nausea and vomiting be predicted? *Anesthesiology* 91:109-18

*Sneyd JR, Carr A, Byrom WD, Bilski AJ* (7-1998) A meta-analysis of nausea and vomiting following maintenance of anaesthesia with propofol or inhalational agents. *Eur J Anaesthesiol* 15:433-445

*Sweeney BP* (2002) Why does smoking protect against PONV? *Br J Anaesth* 89:810-813

*Unkel W, Peters J* (1998) Postoperative Nausea und Emesis: Mechanismen und Behandlung. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 33:533-544

*Van Hooft JA, Kreikamp AP, Vijverberg PM* (1997) Native Serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptors expressed in *Xenopus* Oocytes differ from homopentameric 5-HT<sub>3</sub> receptors. *J Neurochem* 69: 1318-1321

*Van Hooft JA, Vijverberg HPM* (2000) 5-HT<sub>3</sub> receptors and neurotransmitter release in the CNS: a nerve ending story? *Trends Neurosci* 23: 605-610

*Wallenborn J* (2009) PONV-Prophylaxe und –Therapie, PONV-Konsensuskonferenz 2009; Frankfurt/Main

*Wallenborn J, Eberhart LHJ, Kranke P* (2009) Postoperative Übelkeit und Erbrechen-Alles beim Alten in der Pharmakotherapie von PONV? *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 44(4):296-304

*Watcha MF* (2000) The cost-effective management of postoperative nausea and vomiting. *Anesthesiology* 92:931-933

*Waxham NM* (1999) Neurotransmitter Receptors. In: *Fundamental Neuroscience* Zigmond M.J., Bloom F.E., Landis S.C., Roberts J.L., Squire L.R. Academic Press 235-267

*Werner P, Kawashima E, Reid J, Hussy N, Lundstrom K, Buell G, Humbert Y* (1994) Organization of the mouse 5- HT<sub>3</sub> receptor gene and functional expression of two splice variants. *Brain Res Mol Brain* 26: 233-241

*Wurglics M, Spiegl F* (2007) Pathophysiologie, Risikofaktoren und Therapie Postoperative Nausea und Emesis (PONV). *Pharm. Unserer Zeit* 5/2007 (36)

*Yakel JL, Lagrutta A, Adelman JP, North RA* (1993) Single amino acid substitution affects desensitization of the 5- hydroxytryptamine type 3 receptor expressed in *Xenopus* oocytes. *Proc Natl Aced Sci USA* 90: 5030-5033

*Yang J* (1990) Ion permeation through 5- hydroxytryptamine- gated channels in neuroblastoma N18 cells. *J Gen Physiol* 96: 1177-1198

*Yi SJ, Gifford AN, Johnson KM* (1991) Effect of cocaine and 5- HT<sub>3</sub> receptor antagonists on 5- HT- induced dopamine release from rat strial synaptosomes. *Eur J Pharmacol* 199: 185-189

## Internetquellen

[http://3.bp.blogspot.com/\\_bxjJMggXetE/Sfij6H\\_sAyl/AAAAAAAAACTo/acJ7afNt\\_oCQ/s400/sensitization.gif](http://3.bp.blogspot.com/_bxjJMggXetE/Sfij6H_sAyl/AAAAAAAAACTo/acJ7afNt_oCQ/s400/sensitization.gif) (05.10.2009, 12Uhr)

<http://de.wikipedia.org/wiki/DNA-Sequenzierung> (08.10.09, 14Uhr)

[http://images.google.com/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/54/Serotonin\\_Biosynthese.svg/344px-Serotonin\\_Biosynthese.svg.png&imgrefurl=http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serotonin\\_Biosynthese.svg&usq=\\_\\_ThTJw0HRmJYrDM6B-dpitQyaS1E=&h=599&w=344&sz=29&hl=de&start=2&um=1&tbnid=clHu5\\_oYYmYFyM:&tbnh=135&tbnw=78&prev=/images%3Fq%3Dserotonin%2Bbiosynthese%26hl%3Dde%26lr%3Dlang\\_de%26rls%3Dcom.microsoft.de:IE-SearchBox%26rlz%3D117DADE%26sa%3DN%26um%3D1](http://images.google.com/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/54/Serotonin_Biosynthese.svg/344px-Serotonin_Biosynthese.svg.png&imgrefurl=http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serotonin_Biosynthese.svg&usq=__ThTJw0HRmJYrDM6B-dpitQyaS1E=&h=599&w=344&sz=29&hl=de&start=2&um=1&tbnid=clHu5_oYYmYFyM:&tbnh=135&tbnw=78&prev=/images%3Fq%3Dserotonin%2Bbiosynthese%26hl%3Dde%26lr%3Dlang_de%26rls%3Dcom.microsoft.de:IE-SearchBox%26rlz%3D117DADE%26sa%3DN%26um%3D1) (03.10.2009, 11Uhr)

<http://neuropsychanalyse.blogspot.com> (05.04.2011, 15Uhr)

<http://php.educanet2.ch/kmez1/SPFTage/Sequenzierung.pdf> (08.10.09, 12Uhr)

<http://www.nature.com/mp/journal/v9/n9/images/4001567i1.jpg> (05.10.2009, 12 Uhr)

## Anhang

**Untersuchung zum Auftreten genetischer Polymorphismen bezüglich postoperativer Übelkeit und Erbrechen**

Pat.-Aufkleber

OP-Tag        .    .200  

**Allgemeine Angaben**

Geschlecht     männlich     weiblich

Alter [Jahre]         (18-80 Jahre einschlußfähig)

Größe [cm]          

Gewicht [kg]          

**Art der Operation:**

**Anästhesie:**

Allgemein-A.     nein  ja                      regionale A.     nein  ja

Intubation     nein  ja                      Larynx-M.     nein  ja                      Maske     nein  ja

Volatile A.     nein  ja                      Lachgas     nein  ja                      TIVA     nein  ja

Intraoperative PONV-Prophylaxe:

**Anamnestic Angaben**

Diabetes mellitus     nein  ja

Niereninsuffizienz     nein  ja

COPD     nein  ja

Allergien: \_\_\_\_\_

Gastritis     nein  ja

Darmerkrankung     nein  ja

Nahrungsmittelunverträglichkeit:

Medikamentenunverträglichkeit:

Raucher     nein  ja → [Zigaretten/Tag]     

Alkohol [drinks/Woche]           (1 drink = 0,25 l Bier oder 0,1 l Wein oder 2 cl Spirituosen)

OP in Anamnese     nein  ja (Allgemein-  oder Regionalanästhesie )

PONV in Anamnese  nein  ja                      Reisekrankheit  nein  ja

Verwandte mit PONV-Anamnese: \_\_\_\_\_

**Postoperativ jetzige OP:**

Übelkeit     nein  ja                      Erbrechen     nein  ja

Beschwerden im Vergleich zur Vor-OP ?  schlechter     gleich     besser

Abb.39 Anästhesieprotokoll

Universitätsklinikum Leipzig  
Klinik für Anästhesiologie und  
Intensivtherapie  
Liebigstr. 20  
04103 Leipzig  
Direktor: Prof. Dr. med. habil. Derk Olthoff

### **Patienteninformation / Einverständniserklärung**

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

bei Ihnen wurde ein gehäuftes oder sehr intensives Auftreten von Übelkeit bzw. Erbrechen nach einer Narkose beobachtet (bzw. wurde von Ihnen selbst angegeben).

Im Rahmen einer klinischen Untersuchung wollen wir bei Patienten, die überdurchschnittlich häufig an Übelkeit bzw. Erbrechen nach Narkosen leiden, prüfen, ob es hierfür eventuell eine genetische Veranlagung gibt und ob sich daraus neue Ansatzpunkte für die Therapie entwickeln lassen.

Ihr Einverständnis vorausgesetzt, würden wir dazu gern 10 ml Blut von Ihnen abnehmen. Dieses wird anschließend auf genetische Hinweiszeichen für Ihr Syndrom untersucht.

Selbstverständlich werden die Daten im gesetzlichen Rahmen des Datenschutzes anonym und ausschließlich für Forschungszwecke ausgewertet und nicht an Dritte weitergegeben. Ihnen entstehen daraus weder gesundheitliche, noch soziale oder finanzielle Nachteile.

Vielen Dank für Ihre Mithilfe

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, an der o.g. Untersuchung teilzunehmen.

Datum

Unterschrift

Abb.40 Patienteninformation/ Einverständniserklärung

### **Herstellung PCR-Primer**

- 80 µl Aqua dest.
- 10 µl Vorwärtsprimer
- 10 µl Rückwärtsprimer

### **Herstellung Sequenzierprimer**

- 120 µl Aqua dest.
- 10 µl Stammprimer

### **Herstellung dNTPs**

- 920 µl Aqua dest.
- 20 µl dATP
- 20 µl dCTP
- 20 µl dGTP
- 20 µl dTTP

### **Herstellung 100-bp-Ladder**

- 160 µl Aqua dest.
- 20 µl Ladder-Konz.
- 20 µl 10xPBS

### **Herstellung 10x-Bromphenolblau**

- 10 ml Aqua dest.
- 4 g Saccharose
- 2,5 mg Bromphenolblau

### **Herstellung von 0,5M EDTA**

- 400 ml Aqua dest.
- 93,05 g EDTA (M = 372,24)
- 6g NaOH
- vorsichtig erwärmen und rühren
- pH auf 8,0



### **Herstellung 10x-TE-Puffer**

- 80 ml Aqua dest.
- 1,21 g Tris-Puffer (=100 mmol/l)
- 372 mg EDTA (=10 mmol/l)
- mit HCL einen pH-Wert von 7,5 einstellen
- Gebrauchslösung 1xTE-Puffer steril filtrieren

### **Herstellung 10x-TBE-Puffer**

- 108 g Tris-Base
- 55 g Borsäure
- 40 ml 0,5 M EDTA
- auf 1000 ml mit Aqua dest. auffüllen
- filtrieren

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. habil. H. Rüffert für die Betreuung der Arbeit, die fortwährende Unterstützung, die zahlreichen Anregungen sowie seine Kritik und sein kontinuierliches Interesse. Dies hat wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. D. Olthoff für die Möglichkeit, das Forschungslabor der Universitätsklinik Leipzig für die Durchführung meiner Versuche zu nutzen.

Ein herzlicher Dank an Frau Kerstin Krist für die sehr gute Einarbeitung in die verschiedenen Methoden, die Ausdauer und Bereitschaft anfallende Fragen zu beantworten und über kleine Misserfolge hinwegzuträsten.

Schließlich möchte ich mich bei meiner Mutti bedanken, die mir das Studium ermöglicht hat. Meinem Mann Steffen danke ich für die Hilfe bei der schriftlichen Bearbeitung dieser Promotionsschrift, seinen Anregungen und Kritik. Unseren Kindern Johannes und Henriette danke ich für die stetige, aber willkommene Ablenkung.

## **Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Leipzig, den 02.06. 2012

Astrid Bergmann-Arnold