

Aus der Klinik für Anaesthesiologie  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Bernhard Zwißler

# Einzelnukeotid-Polymorphismen des Glucocorticoid- Rezeptorgens und PTSD-Symptomatik bei Intensivpatienten nach kardiochirurgischen Eingriffen

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Thomas Sebastian Ernst  
aus  
Bochum  
Jahr  
2024

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Daniela Hauer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Thomas G. Schulze

Mitbetreuung durch die  
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. Gustav Schelling  
Dr. Martina Pfob

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.04.2024

Meiner Familie

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.EINLEITUNG</b>	<b>7</b>
<b>1.1. Genetische Polymorphismen</b>	<b>7</b>
1.1.1. Historie	7
1.1.2. Single Nucleotide Polymorphisms	8
<b>1.2. Das Glucocorticoid System</b>	<b>9</b>
1.2.1 Übersicht	9
1.2.2. Stress	10
1.2.3. Glucocorticoide und emotionales Gedächtnis	12
<b>1.3. Posttraumatische Belastungsstörung</b>	<b>15</b>
1.3.2. Überblick	15
1.3.3. Häufigkeit Post-Traumatischer Belastungsstörungen nach lebensbedrohlichen Erkrankungen	15
1.3.4. Symptomatik und Diagnostik der Post-traumatischen Belastungsstörung	16
1.3.5. Risikofaktoren zur Entwicklung einer Posttraumatischen Belastungsstörung nach Intensivtherapie	17
<b>2.ZIEL UND HYPOTHESE DER UNTERSUCHUNG</b>	<b>19</b>
<b>3.METHODIK</b>	<b>20</b>
3.1. Überblick	20
3.2. Teilnehmer	23
3.3. Datenerhebung	24
3.4. Blutabnahmeprotokoll	25
3.5. Psychometrie	26
3.5.1. SF-36: gesundheitsbezogene Lebensqualität	26
3.5.2. PTSS-10: traumatische Erinnerungen und PTSD-Symptome	27
3.6. Genetische Untersuchungen	30

3.6.1. Auswahl der SNPs	30
3.6.2. DNA-Isolierung	31
3.6.3. PCR	33
3.6.4. Sequenzierung	35
3.7. Statistik	39
3.8. Ethik und Datenschutz	42
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>43</b>
4.1. Demographie und allgemeine Behandlungsdaten	43
4.2. Psychometrische Daten	45
4.3. Verteilung der identifizierten SNPs	49
4.4. Ergebnisse <i>BcII</i> – rs41423247	50
4.5. Ergebnisse <i>TthIII</i> – rs10052957	52
4.6. Ergebnisse $9\beta$ - rs6198	55
4.7. Ergebnisse Kontrolle – rs12054797	58
<b>5. DISKUSSION</b>	<b>60</b>
5.1. Grundsätzliche Aussagen:	60
5.2. <i>BcII</i> – rs41423247	62
5.3. <i>TthIII</i> – rs10052957	66
5.4. $9\beta$ - rs6198	68
5.5. Kontrolle – rs12054797	70
5.6. Limitationen	71
<b>6. AUSBLICK</b>	<b>72</b>
<b>7. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>73</b>
<b>8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>75</b>
<b>9. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>77</b>

<b>10.APPENDIX</b>	<b>86</b>
<b>11.DANKSAGUNG</b>	<b>87</b>
<b>13.EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b>	<b>88</b>

# 1. Einleitung

## 1.1. Genetische Polymorphismen

### 1.1.1. Historie

*“It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.”<sup>5</sup>*

Mit diesem Satz ließen Watson und Crick in ihrer berühmten Veröffentlichung „A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid“ 1953 durchblicken, dass sie sich der Bedeutung ihrer Entdeckungen für die weitere Erforschung der Biologie im Allgemeinen und der Vererbungslehre im Besonderen durchaus bewusst waren, oder sich dies zumindest erhofften. Tatsächlich ist die Forschung knappe 70 Jahre später wirklich um zahlreiche faszinierende Entdeckungen reicher geworden. Der Weg von der DNA zum Protein ist inzwischen ebenso bekannt wie unzählige Gene mit ihren phänotypischen Korrelaten. Transkription und Translation sind inzwischen fester Bestandteil des Biologieunterrichts der Oberstufen an Gymnasien. Für jüngere Generationen sind jene Erkenntnisse also schon als Allgemeinbildung anzusehen. Seit April 2003, also fast genau 50 Jahre nach der revolutionären Publikation, gilt das menschliche Genom als vollständig sequenziert<sup>6</sup>. Dabei ist die Bedeutung aller rund 20.000 bis 25.000 Gene noch nicht bekannt. Viele Erbkrankheiten können inzwischen auf ganz bestimmte Mutationen zurückgeführt werden, so auch die Faktor-V-Leiden-Mutation als Ursache einer APC-Resistenz<sup>7</sup>. Auch Analysen einzelner Gene spielen heutzutage eine wichtige Rolle. Sind bei einem Patienten beispielsweise Mutationen bekannt, die auf ein erhöhtes Krebsrisiko schließen lassen, so bewirkt dies entscheidende Änderungen im Früherkennungs- und Therapieregime<sup>8</sup>. Die neu entdeckten Zusammenhänge und technischen Fortschritte bieten neue Möglichkeiten wie zum Beispiel in der sich rasant weiterentwickelnden Pränataldiagnostik<sup>9</sup>, werfen dadurch aber auch neue Fragen nicht zuletzt im ethischen Bereich auf. Zukunftstheorien und Gedankenanstöße zum Thema „Designerbabys“ sind in der Presse im Umlauf<sup>10</sup> und die Diskussionen um Abtreibungen und „lebenswertes Leben“ stoßen gerade vor dem historischen Hintergrund Deutschlands auf große Resonanz innerhalb der Bevölkerung. Noch lässt sich nicht abschätzen, wie viele Möglichkeiten und Probleme durch genetische Analysen entstehen werden. Eine jener Chancen soll jedoch mit dieser Arbeit im Ansatz aufgezeigt werden.

### 1.1.2. Single Nucleotide Polymorphisms

Einzelnukleotid-Polymorphismen (engl. Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) sind Punktmutationen, also Variationen einzelner Basenpaare in einem DNA-Strang. Sie kommen nur in bestimmten Regionen der DNA vor und dort mit unterschiedlicher Häufigkeit. Per definitionem müssen sie bei mindestens 1% der Population vorkommen, was seit Einführung moderner molekulargenetischer Techniken an Bedeutung verloren hat. Stetige Weiterentwicklung bestehender Sequenzierungsverfahren sowie die Neuentwicklung anderweitiger Methoden erleichtern die Forschungsarbeit erheblich. Diese unter dem Begriff „next generation sequencing“ zusammengefassten Methoden beschleunigen zum Beispiel durch hochparallele Arbeitsabläufe die Analyse und können so die Prozesszeit und –kosten signifikant reduzieren<sup>11</sup>. Der hohe Stellenwert dieser Verfahren äußert sich auch in Nature Methods‘ Preisverleihung für die Methode des Jahres 2007<sup>12</sup>. Ändert sich durch den Basentausch die Information des Codons nicht, so spricht man von einem synonymen SNP. Codiert dieses Basen-Triplett nun jedoch für ein anderes Protein, so wird es als nicht-synonymes SNP bezeichnet. In einer codierenden Region spricht man dann von einem cSNP (*coding*SNP) - veränderte Proteinfunktion und physiologische Defekte können die Folge sein<sup>7</sup>. SNPs in DNA-Bereichen der Genregulation heißen rSNPs (*regulatory*SNP) und können über das Ausmaß der Genexpression funktionell relevant sein<sup>13</sup>. Zudem sind inzwischen SNPs aus Bereichen der RNA-Prozessierung, sogenannte srSNPs (*structural RNAs*SNP) bekannt.

Wissenschaftliche Relevanz kommt den SNPs durch hohe Variabilität, häufiges Auftreten und nicht zuletzt durch ihre schnelle und einfache Bestimmbarkeit zu.

Für diese Arbeit wurden SNPs untersucht, die zu Veränderungen von Glucocorticoidrezeptoren (GR) führen und somit physiologische Abweichungen im Glucocorticoidsystem mit sich bringen. Der biologische Effekt dieser SNPs wurde bei Patienten untersucht, die sich einem herzchirurgischen Eingriff unterziehen mussten. Dies deshalb, weil frühere Arbeiten unserer Arbeitsgruppe gezeigt hatten, dass die perioperative Stressreaktion bei diesen Patienten das kurz- und langfristige Outcome beeinflusst<sup>14,15</sup> und das Glucocorticoidsystem ein wesentlicher Regulator der Stressreaktion ist.



## 1.2. Das Glucocorticoid System

### 1.2.1 Übersicht

Glucocorticoide werden in der Nebennierenrinde (NNR) synthetisiert, zählen zu den Corticosteroiden und umfassen Corticosteron, Cortisol und dessen inaktivierte Form, das Cortison. Ersteres spielt als Stressmediator eine untergeordnete Rolle und ist daher eher als Zwischenprodukt bei der Synthese von Aldosteron aus Pregnenolon anzusehen. Glucocorticoide sind gemeinhin als „Stresshormone“ bekannt, werden sie doch in Zeiten der Gefahr oder anderer Belastungen vermehrt ausgeschüttet und stellen dann den Körper auf diese Situation ein. Die Auslöser („Stressoren“) können dabei zum einen physikalischer Natur sein (z.B. Schmerz, Kälte/Hitze, schwere körperliche Arbeit) und so eine objektive Bedrohung für den Körper darstellen. Zum anderen können aber auch emotionale Stressoren wie Angst oder Leistungsdruck zur Stressreaktion führen. Cortisol stimuliert die Gluconeogenese und stellt somit sicher, dass der gesteigerte Energiebedarf einer Stresssituation gedeckt wird. Es bewirkt zudem eine erhöhte Expression von  $\beta$ 2-Rezeptoren,

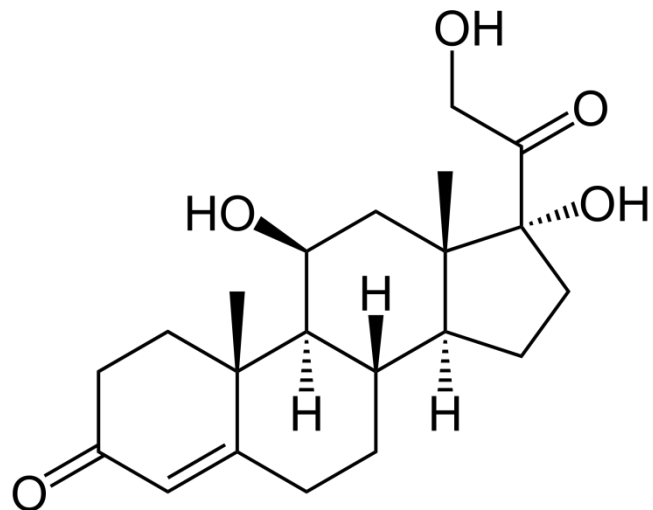


Abbildung 1: Cortisol, Strukturformel

zeigt also auch synergistische Effekte mit dem Katecholaminsystem. Des Weiteren bewirkt Cortisol eine katabole Stoffwechsellage in Muskel-, lymphatischem-, Binde-, Fett- und Knochengewebe. All dies lässt sich bei übermäßig hoher und langfristiger Wirkung feststellen, wenn z.B. bei Patienten mit Morbus Cushing eine verringerte Muskelmasse, Stammfettsucht und Osteoporose zu diagnostizieren sind<sup>16</sup>.

Therapeutisch lässt sich die antiinflammatorische Wirkung des Cortisols ausnutzen. Dies geschieht z.B. dann, wenn entzündliche Vorgänge außer Kontrolle geraten, wie das beim anaphylaktischen oder septischen Schock der Fall ist. Dabei kommt dem behandelnden Arzt die Tatsache zugute, dass Cortisol zusätzlich die Katecholamin-Rezeptorempfindlichkeiten erhöht. Glucocorticoidrezeptoren finden sich sowohl im Endothel als auch in der glatten Muskulatur des Gefäßsystems und vermögen die Antwort auf Katecholamine zu potentieren<sup>17,18</sup>. Im Gegensatz zu ebenjenen Katecholaminen wirken Glucocorticoide allerdings mit etwas Zeitversetzung. Der verspätete Wirkungseintritt beruht darauf, dass Cortisol seine Wirkung klassischerweise nicht primär direkt entfaltet, sondern dadurch, dass die Transkription diverser Gene beeinflusst wird. Dafür löst sich der intrazellulär gelagerte Rezeptor nach Ligandenbindung zunächst von den Heatshock-Proteinen HSP70 und 90 und wird dann in den Zellkern transloziert, um dort nach Dimerisierung seine Wirkung zu entfalten<sup>19</sup> – ein Vorgang, der Zeit braucht. Eine derartig aktivierte, vermehrte Transkription von Lipocortinen hemmt zudem die Aktivität der Phospholipase-A2. Dadurch wird indirekt die Synthese von vasoaktiven Eikosanoiden (TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF-1 $\alpha$ ) gehemmt, die ansonsten vasodilatativ aktiv gewesen wären. Auch eine verminderte Expression von pro-inflammatorischen Mediatoren wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-8 ist beschrieben<sup>20</sup>.

### **1.2.2. Stress**

Der „Vater der Stressforschung“ Hans Selye entwickelte 1936 ein Modell um den Vorgang zu beschreiben, bei dem tierische oder menschliche Organismen auf spezifische äußere Reize („Stressoren“) mit einer unspezifischen Antwort reagieren. Die aus heutiger Sicht als völlig selbstverständlich hingenommene Bezeichnung dieser Stimuli als „Stress“ war zu jener Zeit ein Novum. Bis dato wurde dieser Begriff lediglich in der Werkstoffkunde verwendet, um einen auf ein Material einwirkenden Zug oder Druck zu beschreiben. Die körperliche Antwort auf eine akute Stressexposition bezeichnete Selye als „Allgemeines Adaptationssyndrom“. Des Weiteren stellt er fest, dass sich bei dieser Anpassungsreaktion drei Phasen abgrenzen lassen, wenn eine verlängerte Stressexposition besteht: die Alarmreaktion, das Stadium des Widerstandes und das Stadium der Erschöpfung<sup>21</sup>.

Inzwischen sind die physiologischen Vorgänge der Stressreaktion besser erforscht und charakteristische Muster bekannt, nach denen diese abläuft. So ist erwiesen, in welcher Reihenfolge die humoralen Stressmediatoren freigesetzt werden (s. Abbildung 2). Die Erstantwort in Form des katecholaminergen Systems ist besonders gut untersucht und wird

beispielsweise in der Notfallmedizin durch Verabreichung adrenerg wirkender Medikamente beeinflusst. Dem folgt eine Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden- (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal-; HPA-) Achse, die die Stressreaktion sowohl potenzieren als auch beenden kann. Durch die beiden Peptidhormone CRH (Corticotropin-Releasing Hormon) aus dem Hypothalamus und ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) aus der Hypophyse, sowie dem Steroid Cortisol aus der Nebennierenrinde stehen die drei Gewebsebenen in Kontakt. Durch Rückkopplungsschleifen werden so Produktion und Sekretion auf jeder Ebene optimal dem Bedarf angepasst.

Bei der Aufgabe, die Aktivität der HPA-Achse zu regulieren und auch die Stressreaktion in ihrem Ausmaß zu limitieren, wird Cortisol eine besonders wichtige Rolle beigemessen<sup>22</sup>. Glucocorticoide haben also nicht nur bei der Initialisierung der Stressreaktion eine wichtige Funktion, sondern sind auch in der späteren Widerstands-, Erschöpfungs- und Chronifizierungsphase von großer Bedeutung<sup>23,24</sup>.

## Humorales Reaktionsmuster unter akutem Stress

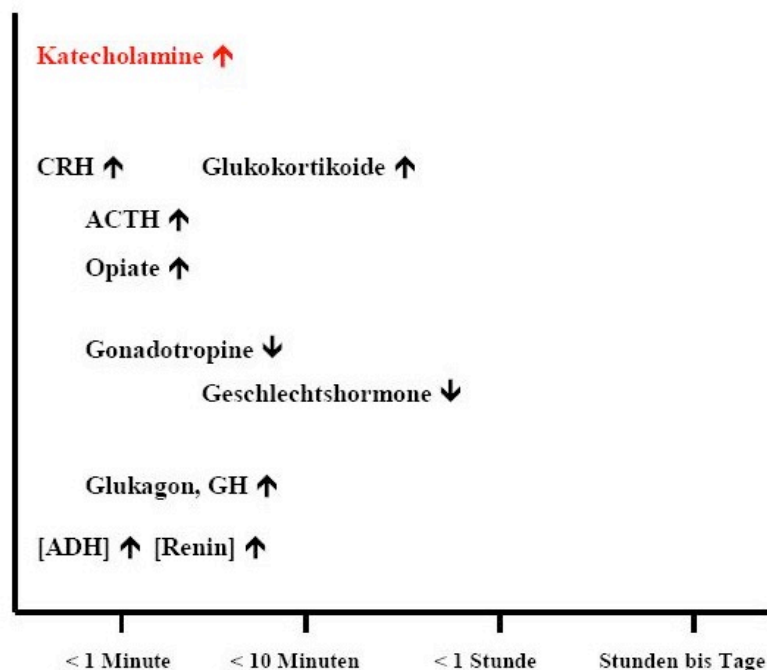


Abbildung 2: Schematische Darstellung der humoralen Stressreaktion im zeitlichen Verlauf<sup>1</sup>. Auf akute Stressexposition folgt nach nur wenigen Minuten eine Aktivierung des katecholaminergen Systems (dargestellt in roter Farbe) und die Freisetzung von CRH. Das Glucocorticoidsystem reagiert mit deutlicher Verzögerung. CRH=Coricotropin-Releasing-Hormon, ACTH=Adrenocorticotropes Hormon, GH=Wachstumshormon („growth hormone“), ADH=Antidiuretisches Hormon

Glucocorticoide beeinflussen aber nicht nur die periphere Stressreaktion, sondern haben auch sehr wichtige zentrale Funktionen. Sie können die Bluthirnschranke passieren und haben deshalb Einfluss auf kognitive Funktionen, Verhaltensweisen und Psyche. Bei Patienten mit Cushing-Syndrom können deshalb depressive, ängstliche und sogar psychotische Verstimmungen sowie Appetit- und Schlafstörungen diagnostiziert werden<sup>25</sup>. Zudem zeigen sich Einschränkungen der kognitiven Leistungsfähigkeit und Gedächtnisfunktion<sup>26</sup>.

### **1.2.3. Glucocorticoide und emotionales Gedächtnis**

Es ist seit mehr als 40 Jahren bekannt, dass die Encodierung, der Abruf und die Löschung traumatischer Informationen im emotionalen Gedächtnis stresshormonabhängig erfolgt, wobei insbesondere das Noradrenerge- und das Glucocorticoidsystem eine wichtige Rolle spielen<sup>27</sup>. Bei der stresshormoninduzierten Konsolidierung des emotionalen Gedächtnisses interagieren Glucocorticoide und Noradrenalin in der Amygdala und im Hippocampus sowie in zahlreichen anderen Hirnarealen<sup>28</sup>. Neuere Erkenntnisse weisen auf eine Beteiligung eines weiteren, ubiquitären neurobiologischen Systems bei der Regulation des emotionalen Gedächtnisses hin, dem Endocannabinoidsystem<sup>29</sup>. Dieses System beeinflusst auch die Aktivität der HPA – Achse<sup>30</sup>. Patienten mit PTSD zeigen in zahlreichen Studien Veränderungen in der Funktion der HPA – Achse im Sinne eines Hypocortisolismus<sup>31</sup>. Ein Hypocortisolismus kann zum unkontrollierbaren Abruf traumatischer Informationen aus dem emotionalen Gedächtnis und zu einer Persistenz der Stressreaktion führen<sup>32</sup>. Diese Hypothese ist allerdings nicht unumstritten, Hypocortisolismus fand sich nicht in allen Studien und ist möglicherweise auf bestimmte Individuen oder klinische Situationen beschränkt. Allerdings führte die Gabe von Hydrocortison in sehr niedriger Dosierung bei Patienten mit PTSD (Terroropfer) in einer Pilotstudie zu einer Besserung der Symptomatik, die v.a. gedächtnisrelevante Symptome betraf<sup>33</sup>.

Erforscht wurde die Gedächtniskonsolidierung und der Gedächtnisabruf unter Stress u.a. durch tierexperimentelle Arbeiten unter Anwendung des „Inhibitory-Avoidance“-Modells, einer seit vielen Jahren etablierten Methode<sup>34</sup>. Hierbei wird das Versuchstier (zumeist eine Ratte) zunächst in den hellen Anteil einer aus zwei Kompartimenten bestehenden Box eingebracht. Das lichtscheue und nachtaktive Tier wird sich dann sofort in den dunklen Anteil der Box begeben. Dort angekommen erhält es einen Stromstoß von der Dauer etwa einer Sekunde. 48 Stunden nach dieser aversiven Erfahrung wird die Ratte erneut in der gleichen Art und Weise

in den Versuchsaufbau verbracht. In Abhängigkeit von der Intensität der Erinnerung an das traumatische Geschehen wird das Tier dann mehr oder weniger lange warten, bis es erneut in den dunklen Teil quert. Die Zeit, die das Versuchstier bei der Reexposition abwartet bis es sich erneut in den dunklen Teil der Box begibt, wird als „retention latency“ (RL) bezeichnet und gilt als Maß für die Intensität der Erinnerung an das aversive Erlebnis. Die RL kann durch parenterale Verabreichung von Stresshormonen oder Pharmaka *nach* Applikation des Stromstoßes beeinflusst werden: dabei wird selektiv die kurze Phase der Gedächtniskonsolidierung manipuliert *ohne* die Encodierung des Stromstoßes (z.B. das Schmerzerlebnis) an sich zu beeinflussen.

Generell wird bei der Signalwirkung von Glucocorticoiden von einer überwiegend genomischen Reaktion ausgegangen. Demgegenüber haben diese Experimente gezeigt, dass Glucocorticoide sehr wahrscheinlich auch eine membranständige Wirkungsweise haben. So hatte ein Corticosterone, das an bovines Albumin gebunden war und so nicht in das Zellinnere diffundieren konnte, den gleichen gedächtniskonsolidierenden Effekt im basolateralen Anteil der Amygdala wie freies Corticosterone<sup>35</sup>.

Unter Anwendung dieser Methodik konnte ein neues Modell zur Gedächtniskonsolidierung unter Stress erarbeitet werden (s. Abbildung 3)<sup>36</sup>:

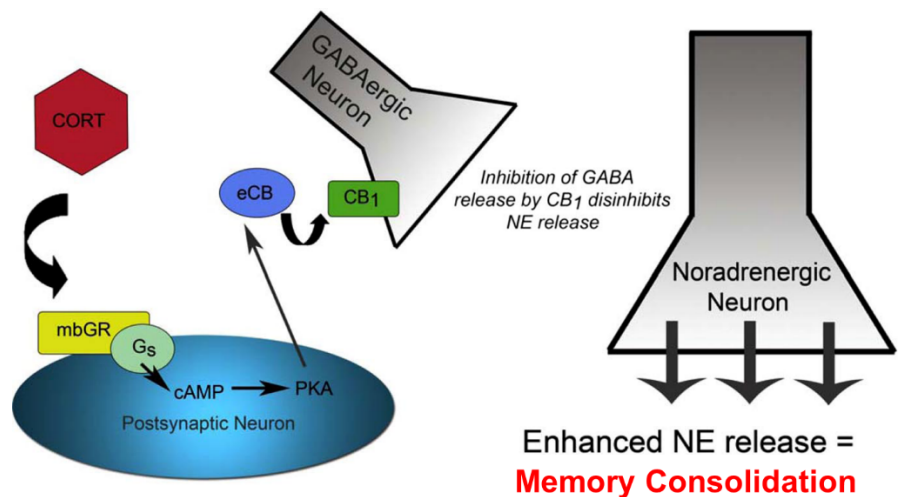


Abbildung 3: Modell der regulatorischen Prozesse der Gedächtniskonsolidierung unter Stress: Dieses Modell geht davon aus, dass Glucocorticoide membranständige Glucocorticoidrezeptoren stimulieren, die über eine Aktivierung des cAMP- und Protein Kinase A Signalwegs zur Steigerung der Endocannabinoidsynthese und damit zur Aktivierung präsynaptischer CB1-Rezeptoren führen. Die darauffolgende Inhibition GABAerger Interneurone bedingt eine gesteigerte Noradrenalin-Freisetzung, die wiederum eine Gedächtniskonsolidierung bewirkt. Abbildung entnommen aus einem Editorial<sup>37</sup> von Hill et al. zu einer Studie um Campolongo et al.<sup>36</sup>

Zusammenfassend haben diese tierexperimentellen Untersuchungen gezeigt, dass die Glucocorticoid-Signalwirkung bei der Regulation des emotionalen Gedächtnisses eine wichtige Funktion aufweist. Glucocorticoid vermittelte Effekte von Stress auf das aversive Gedächtnis spielen jedoch auch beim Menschen eine entscheidende Rolle.

## **1.3. Posttraumatische Belastungsstörung**

### **1.3.2. Überblick**

Der Mensch verfügt bekanntermaßen über ein hervorragendes Gedächtnis. Wie auch bei anderen höher entwickelten Lebewesen bot und bietet ihm das einen großen evolutionstechnischen Selektionsvorteil. Denn durch diese Gehirnleistung können bereits erlebte gefährliche Situationen in Zukunft gemieden werden und nutzbringende Vorgänge eventuell reproduziert werden. Erinnerungen haben aber nicht immer nur einen positiven Effekt und extreme Erfahrungen haben mitunter auch eine schädigende Wirkung auf den Menschen. Katastrophale Ereignisse können zur psychischen Qual werden und zur Ausbildung von Erkrankungen des ängstlich-depressiven Formenkreises führen. Die Posttraumatische Belastungsstörung (posttraumatic stress disorder, PTSD) ist der Musterfall einer solchen stress-assoziierten Erkrankung und entsteht durch das Erleben eines oder mehrerer traumatischer Ereignisse. Diese müssen nicht unbedingt an der eigenen Person erlebt worden sein; auch der Zeuge z.B. eines Gewaltverbrechens kann betroffen sein. PTSD und andere stress-assoziierte Erkrankungen finden sich allerdings nicht nur bei Kriegsveteranen oder Zeugen von Naturkatastrophen sondern auch bei Patienten nach lebensbedrohlichen Erkrankungen<sup>38,39</sup>. Zu beobachtende Konsequenzen bei den Betroffenen sind unter anderem eine erschwerte soziale Reintegration und Rehabilitation, eine signifikante Verschlechterung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität<sup>40</sup>, und schließlich gar eine Beeinflussung des Langzeitüberlebens<sup>41</sup>. In den alternden Gesellschaften unserer Zeit häuft sich die Anzahl schwer und intensivpflichtig Erkrankter, denen mit stetig verbesserter medizinischer Versorgung begegnet wird. Dies führt wiederum zu höheren Überlebensraten<sup>42</sup> und einer höheren Zahl an langzeitüberlebenden Patienten nach Intensivbehandlung. So dürfte auch die Anzahl und damit Bedeutung stress-assoziiierter Erkrankungen nach Intensivtherapie zunehmen.

### **1.3.3. Häufigkeit Post-Traumatischer Belastungsstörungen nach lebensbedrohlichen Erkrankungen**

PTSD wird zunächst einmal mit Kriegsveteranen in Verbindung gebracht. Forschungsarbeiten an US Militärs ergeben dabei Punktprävalenzen von 2% – 17%, während sich bei Veteranen

anderer Nationen ein niedrigeres Höchstmaß und eine kleinere Spanne darstellen<sup>43</sup>. Wie bereits erwähnt können aber auch körperliche Leiden zu einer stress-assoziierten Erkrankung führen:

Die PTSD Inzidenzen sind bei Patienten nach Intensivtherapie grob miteinander vergleichbar. Sie beliefen sich gemäß den Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Prof. Gustav Schelling bei Langzeitüberlebenden des akuten Lungenversagens (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS) auf 20% – 24%<sup>44,45</sup>. Nach schweren Verbrennungen lag die Punkt – Prävalenz einer PTSD Symptomatik zwischen 20% und 45%<sup>46</sup>. Ein höherer oberer Grenzwert fand sich bei Patienten nach Septischem Schock, bei dem bis zu 60% der Patienten betroffen waren<sup>47</sup>. Sechs Monate nach chirurgischen Eingriffen am Herzen und anschließender Intensivbehandlung lag die Prävalenz noch bei 18,2%<sup>14</sup>. In einer Längsschnittstudie mit Patienten nach ARDS hatten 35% der Patienten eine PTSD-Symptomatik vorzuweisen 3 Monate nachdem sie die ICU (engl. Intensive Care Unit, Intensivstation) verlassen hatten. Bei der Gruppe der langzeitüberlebenden Patienten fanden sich bei 62% noch 2 Jahre nach Intensivbehandlung PTSD Symptome, davon nahmen 40% eine psychiatrische Therapie und 50% eine medikamentöse Therapie mit Psychopharmaka in Anspruch<sup>48</sup>. Schon seit geraumer Zeit ist das Auftreten von PTSD bei Patienten nach Myokardinfarkt bekannt. Hier finden sich Inzidenzen in bis zu 31%<sup>49-52</sup> der Fälle. Insgesamt findet die Tatsache, dass das Krankheitsbild PTSD nach Aufenthalt auf einer Intensivstation relativ häufig auftritt und für Patienten viele negative Konsequenzen mit sich bringt, noch verhältnismäßig wenig Beachtung im klinischen Alltag, ganz zu schweigen von medizinischer Lehre und Ausbildung. Bei täglichen Behandlungszahlen von über 10.000 Intensivpatienten in über 1.500 Intensivstationen in Europa<sup>53</sup> ist dies ein Umstand, den es zu bessern gilt, auch wenn es zuletzt Anzeichen für das Entstehen eines höheren Problembewusstseins gab<sup>54</sup>.

#### **1.3.4. Symptomatik und Diagnostik der Post-traumatischen Belastungsstörung**

Die Diagnose des PTSD erfolgt entsprechend der Kriterien des DSM-V, des *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* in der fünften Revision, welches von der American Psychiatric Association herausgegeben wird<sup>55</sup>. Zu den definierenden Merkmalen zählen die Exposition gegenüber einer lebensbedrohlichen Situation (Kriterium A), das Wiedererleben besagter Situation im Sinne von Intrusionen (z.B. Flashbacks, Albträume, etc.)(Kriterium B), Vermeidendes Verhalten (Kriterium C), negative Veränderungen in Bezug auf Stimmung und



Wahrnehmung (z.B. fehlende affektive Schwingungsfähigkeit, dissoziative Amnesie)(Kriterium D), sowie Alterationen betreffend der emotionalen Erregbarkeit (z.B. pathologisch erhöhte Schreckhaftigkeit, Konzentrationsschwäche)(Kriterium E). Außerdem zählen eine Persistenz der Symptome der Kriterien B bis E über die Länge eines Monats hinaus (Kriterium F), funktionelle Signifikanz z.B. durch Einschränkung des Soziallebens oder eingeschränkte Arbeitsfähigkeit (Kriterium G) und letzten Endes der Ausschluss anderer Ursachen, wie z.B. Drogenabusus (Kriterium H), zu den erforderlichen Attributen einer PTSD<sup>55</sup>. Es sollte nicht unerwähnt bleiben, dass die Symptome zwar im Regelfall im unmittelbaren zeitlichen Zusammenhang mit dem Stressor als akute Belastungsstörung auftreten, es aber auch zu verspätetem Eintreten der Manifestation kommen kann. So wurden mitunter schon Latenzen von Wochen, Monaten oder sogar Jahren beobachtet. Des Weiteren besteht eine hohe Chronifizierungsneigung<sup>56</sup>.

### **1.3.5. Risikofaktoren zur Entwicklung einer Posttraumatischen Belastungsstörung nach Intensivtherapie**

Einige Risiko- bzw. protektive Faktoren bezüglich der Ausbildung einer PTSD sind beim heutigen Stand der Forschung bereits bekannt. Die Krankheitsentstehung wird dabei durch die Entwicklung einer Sepsis (Quotenverhältnis OR=1.08), die hochdosierte Applikation von Opioiden (OR=2.13) und eine bereits vorbestehender Depression (OR=1.96) bevorzugt<sup>48</sup>. Protektiv wirkt beispielsweise die niedrigdosierte Gabe von Opioiden (OR=0.83). Es zeigte sich außerdem, dass nicht nur die Therapieoption an sich, sondern auch die Dauer der Anwendung eine Einflussgröße darstellt. Die Aufenthaltsdauer auf Intensivstationen (OR=1.39)<sup>48</sup>, sowie die Dauer der Sedation mit Hilfe von Benzodiazepinen stellten sich als Risikofaktor dar<sup>57</sup>. Dem steht die Länge der Glucocorticoidtherapie während der Intensivbehandlung als protektiv gegenüber (OR=0.91)<sup>58</sup>. Als zu Weilen wichtigstes Element für das Eintreten einer PTSD Symptomatik nach Intensivbehandlung wird jedoch die Erinnerung an die gefährdenden und ängstigenden Ereignisse während des Aufenthaltes auf den Intensivstationen beschrieben<sup>14,44</sup>.

Bei der Vielzahl und Vielfalt der unterschiedlichen traumatischen Erinnerungen ist es zur Erhebung hilfreich, eine gewisse Unterteilung in Kategorien vorzunehmen. Der von Stoll et al speziell für PTSD-Symptomatik bei Intensivpatienten validierte Fragebogen PTSS-10<sup>59</sup> grenzt hierbei Angst oder Panikreaktionen, Atemnot, Halluzinationen oder Alpträume und Schmerz voneinander ab. Die vier Kategorien werden unterschiedlich oft von Patienten nach

Intensivbehandlung angegeben: Bei langzeitüberlebenden Patienten nach akutem Lungenversagen hat die Kategorie mit Alpträumen und Halluzinationen mit ca. 60% mit Abstand die höchste Prävalenz fünf Jahre nach der Behandlung. Die anderen drei Arten spielen mit Anteilen von 35% bis 40% der Patienten eine kleinere, wenn auch keineswegs zu vernachlässigende, Rolle<sup>40,60</sup>. Mit einer steigenden Zahl an traumatischen Erinnerungen steigt sowohl die Inzidenz als auch die Intensität einer PTSD-Symptomatik. Dieser Effekt steigert sich zudem überproportional, wenn die Erinnerungen aus verschiedenen Kategorien stammen.<sup>14,40</sup> Vorarbeiten unserer Forschungsgruppe zu diesem Thema vermag Abbildung 4 zu veranschaulichen.

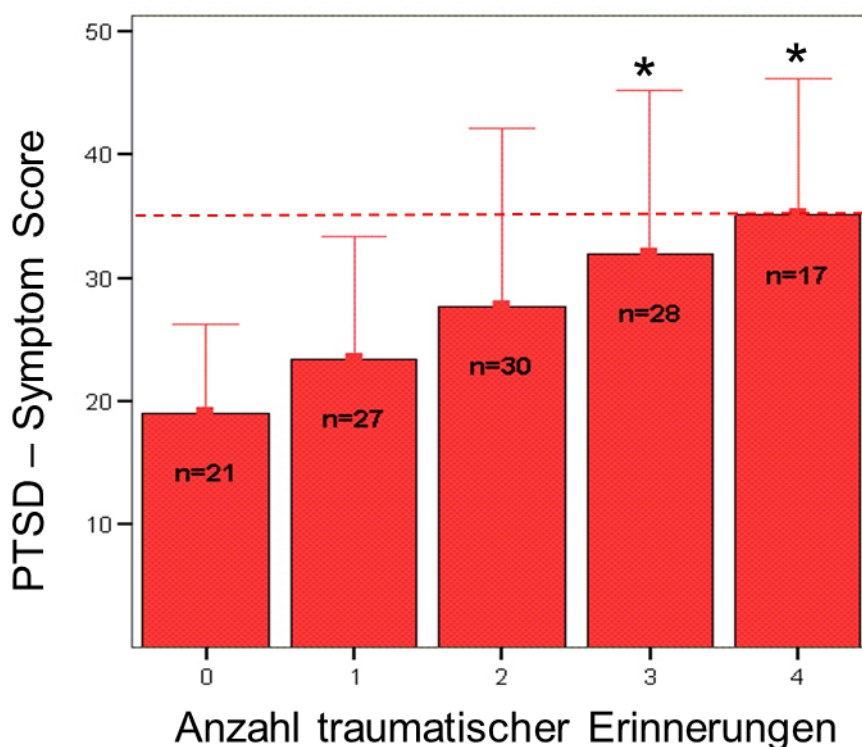


Abbildung 4: Wechselbeziehung zwischen der Anzahl traumatischer Erinnerungen an eine Intensivtherapie bei Patienten nach ARDS und dem Symptom Score für PTSD. Die 123 Patienten wurden durchschnittlich 5 Jahre nach Verlegung von der ICU mittels dem PTSS-10 Instrument evaluiert. Mit \* gekennzeichnet sind signifikant erhöhte PTSD-Scores bei Patienten mit mehrfachen traumatischen (>2) Erinnerungen ( $p < 0,01$ , ANOVA mit Tukey's post-hoc test). Die in der Abbildung visuell suggerierte lineare Korrelation ließ sich statistisch nachweisen ( $r = 0,43$ ,  $p < 0,01$ ,  $n = 123$ )<sup>44</sup>

Um der Entwicklung einer PTSD bei Intensivpatienten mit prophylaktischen Therapieansätzen begegnen zu können, bedarf es eines besseren Verständnisses der zugrundeliegenden Entstehungsmechanismen. Diese neurobiologischen Grundlagen der Gedächtnisbildung sind zurzeit Gegenstand der Forschung. Gewisse einfließende Faktoren sollen mit dieser Arbeit aufgezeigt werden.

## 2. Ziel und Hypothese der Untersuchung

In der vorliegenden Arbeit galt es folgende Fragestellung zu beantworten:

Welchen Einfluss üben verschiedene genetische Varianten (SNPs) des Glucocorticoidrezeptors bei herzchirurgischen Patienten in Bezug auf

- 1.) klinische Variablen (z.B. Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation)
- 2.) biochemische Parameter (z.B. Plasmaspiegel von Cortisol)
- 3.) psychometrisches Outcome (z.B. PTSD-Symptomatik)

aus?

Hieraus ergab sich folgende Hypothese, die es zu überprüfen galt:

Die genetischen Varianten (SNPs) des Glucocorticoidrezeptors beeinflussen diesen funktionell, was zu signifikant zu beobachtenden Veränderungen klinischer, psychometrischer und biochemischer (Outcome-)Parameter führt.

## **3. Methodik**

### **3.1. Überblick**

In der durchgeführten prospektiven Kohortenstudie wurden Patienten, die sich eines herzchirurgischen Eingriffs unterziehen mussten, bezüglich unterschiedlicher Polymorphismen des Glucocorticoidrezeptors genetisch typisiert. Im Anschluss an prä-, intra- und postoperative Blutabnahmen wurden die Plasmaspiegel einiger biochemischer Parameter bestimmt. Daraufhin wurden die klinischen Outcome-Parameter des Eingriffs und der Zeit auf der ICU protokolliert. Des Weiteren waren Patienten dazu aufgefordert vor dem Eingriff, bei der Verlegung auf die IMC-Station, und nach sechs Monaten standardisierte und bei Intensivpatienten validierte Fragebögen zur psychometrischen Bestandsaufnahme auszufüllen. Die folgende Abbildung und das Flussdiagramm geben einen Überblick über die Zeitpunkte der Datenerhebung und den generellen Ablauf der Studie.



Abbildung 5: Schematische Darstellung des Studienablaufs

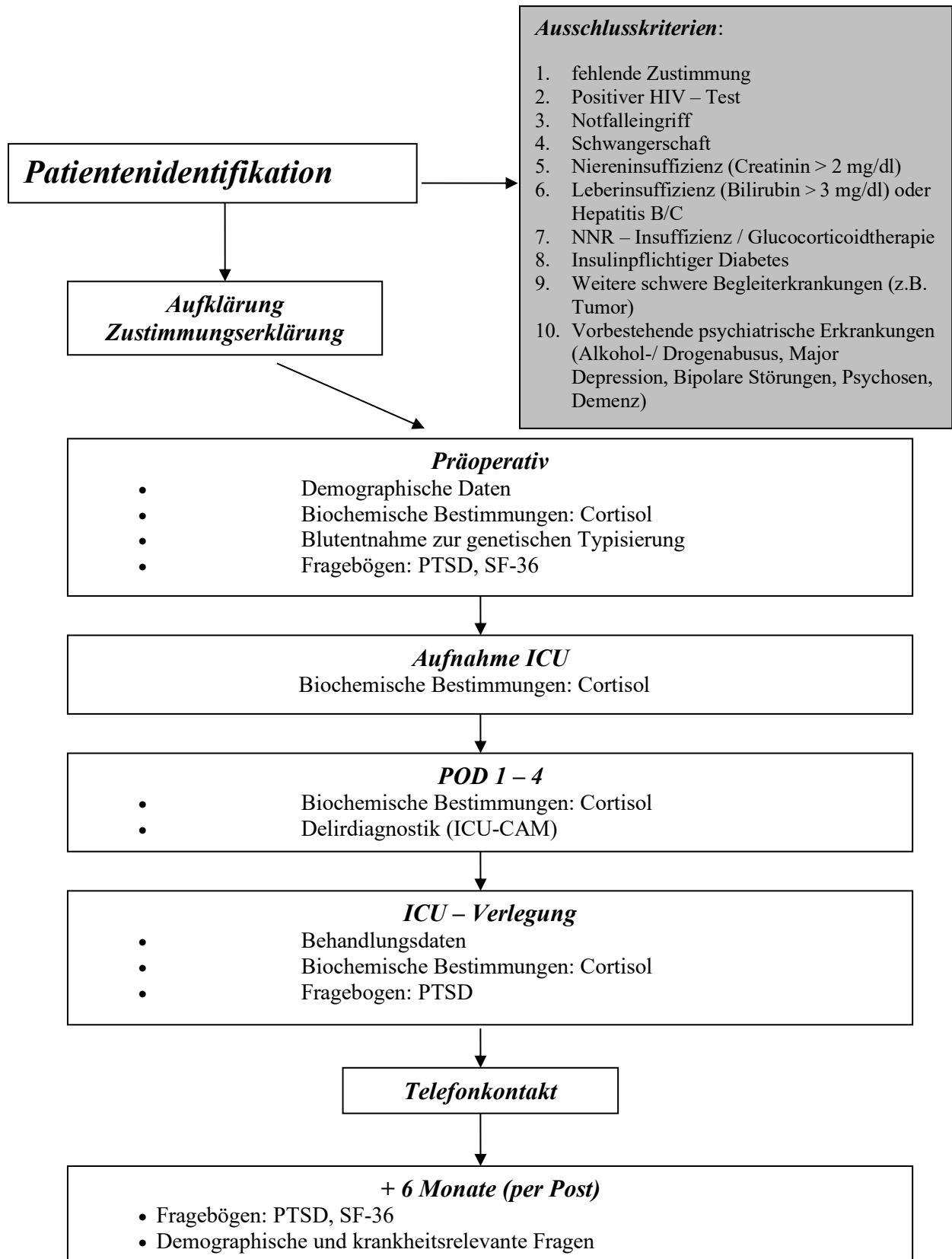


Abbildung 6: Flussdiagramm des Studienaufbaus. POD=Postoperativer Tag

### 3.2. Teilnehmer

In die Studie wurden Patienten aufgenommen, bei denen eine Koronararterien-Bypassoperation, ein Herzklappenersatz bzw. eine -rekonstruktion, eine Aortenbogenrekonstruktion oder eine Kombination dieser Eingriffe in der herzchirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums München Großhadern erfolgte. Dieses Patientengut weist durch den hohen Grad an Stress für Körper und Psyche genau die Voraussetzungen für unsere Untersuchung auf. So sind herzchirurgische Eingriffe z.B. mit dem systemischen inflammatorischen Response-Syndrome (SIRS)<sup>61</sup> vergesellschaftet, welches in der perioperativen Phase auftreten kann<sup>62</sup>. Des Weiteren finden sich bei Ihnen als Intensivpatienten stress-assoziierte psychische Erkrankungen wie PTSD<sup>38</sup>. Eine obligatorische Intensivtherapie nach verhältnismäßig homogenen operativen Prozeduren stellte sich als nahezu ideale Kombination dar, die sich schon in Vorläuferstudien etablieren konnte.<sup>14,15</sup>

Folgende Kriterien schlossen eine Teilnahme des Patienten an der Studie aus:

- fehlende Zustimmung
- Positiver HIV-Test
- Notfalleingriff
- Schwangerschaft
- Niereninsuffizienz (Creatinin > 2mg/dl)
- Leberinsuffizienz (Bilirubin > 3mg/dl) oder Hepatitis B / C
- NNR-Insuffizienz oder Glucocorticoidtherapie
- Insulinpflichtiger Diabetes mellitus
- Weitere schwere Begleiterkrankungen (z.B. Autoimmunerkrankungen oder maligne Tumore)
- Vorbestehende psychiatrische Erkrankungen
  - Alkohol-/ Drogenabusus
  - Major Depression
  - Bipolare Störungen
  - Psychosen
  - Demenz

Die Ausschlusskriterien kamen dabei aus verschiedenen Gründen zum Tragen. So führte eine bestehende Infektion mit HIV oder Hepatitis B / C hauptsächlich zum Eigenschutz der beteiligten Forscher zum Nichteinschluss in die Studie. Nieren- und Leberinsuffizienz drohten Forschungsergebnisse zu verfälschen, da sie eine oft schon längerfristig bestehende und zusätzliche Stresssituation für die jeweiligen Patienten bedeuteten. Der Einfluss des Stressors Operation hätte demnach zu einer veränderten Reaktion führen können und so zu einer inhomogeneren Patientengruppe geführt. NNR-Insuffizienz, Insulinpflichtiger Diabetes mellitus und weitere schwere Begleiterkrankungen führen allesamt zu Veränderungen des Stresshormonhaushaltes und waren deshalb ebenfalls Ausschlusskriterium. Vorbestehende psychiatrische Erkrankungen hätten für eine ungleiche Ausgangslage bei der psychometrischen Evaluation der Forschungsergebnisse gesorgt. Mittels Aktenstudium wurden passende Probanden ausfindig gemacht, am Vortag der jeweiligen Operation auf ihrer Station aufgesucht, über die Studie informiert, aufgeklärt und schließlich im beiderseitigen Einvernehmen in die Studie eingeschlossen. Zur weiteren, anonymisierten Betrachtung der Patienten wurden diese nun – dem Zeitpunkt ihres Studieneinschlusses entsprechend – fortlaufend nummeriert.

### **3.3. Datenerhebung**

Das elektronische Narkoseprotokoll (Firma IMESO GmbH, Gießen, Deutschland) lieferte die perioperativ erhobenen Daten wie z.B. Applikationsmengen, -dosierungen und -zeiträume von Glucocorticoiden, Katecholaminen, etc. Auch die Dauer des Eingriffs sowie die Dauer intraoperativer Phasen (Kardio-pulmonaler Bypass, Aortenabklemmzeiten, etc.) konnten so unter anderem registriert und ausgewertet werden. In Ermangelung eines solchen Systems auf der Intensivstation erfolgte die Datenerhebung hier klassisch manuell unter Zuhilfenahme von Patientenakten und Verlaufsdocumentation. Die Datenerhebung 6 Monate nach dem Aufenthalt auf der Intensivstation erfolgte, indem die Fragebögen per Post zu den Patienten verschickt wurden. Ein vorausgehendes Telefongespräch sollte die Patienten nochmals an diesen letzten Schritt erinnern, die Validität des Posteingangs im Voraus bestätigen und die Wichtigkeit ihrer Mitarbeit unterstreichen. Durch diesen zusätzlichen, persönlicheren Kontakt konnte die Compliance und die damit verbundene Rücklaufquote der Fragebögen sehr hochgehalten werden (86,32%).



### 3.4. Blutabnahmeprotokoll

Die Blutentnahmen erfolgten generell aus arteriellen Zugängen, die im Rahmen der anästhesiologischen OP-Betreuung standardmäßig gelegt und zur postoperativen Überwachung auf der ICU beibehalten wurden. Unmittelbar nach dem Legen dieses Zuganges erfolgte die erste Blutabnahme noch im wachen Zustand des Patienten. Dadurch sollte ein Einfluss der Narkosemittel auf die biochemischen Parameter verhindert und ein ungetrübter Blick auf die präoperativen Kenngrößen ermöglicht werden. Weitere Abnahmezeitpunkte waren direkt nach der Aufnahme auf die Intensivstation, an allen postoperativen Tagen auf dieser, sowie am Verlegungstag auf die IMC-Station um jeweils 9.00 Uhr um den Einfluss zirkadianer Rhythmik auf einige Laborgrößen weitgehend auszuschließen.

Zunächst erfolgte einmalig eine Blutentnahme von 2 EDTA-Röhrchen (4,9 ml) zur genetischen Typisierung. Pro Patient und Abnahmezeitpunkt wurden dann zwei Lithium-Heparin-Röhrchen (4,9 ml) zur Plasmagewinnung entnommen. Innerhalb der ersten 10 Minuten nach der erfolgten Blutabnahme wurden die Lithium-Heparin-Röhrchen bei 5000 Umdrehungen pro Minute und einer Dauer von 5 Minuten bei einer Temperatur von 4°C zentrifugiert. Im Anschluss konnte das gewonnene Plasma in vier 1,5 ml-Polypropylen-Eppendorf-Tuben in Mengen von jeweils 750 µl pipettiert werden. Zusammen mit den nicht zentrifugierten EDTA-Röhrchen wurden die Plasmaproben umgehend bei -80°C gelagert. Um Verwechslungen auszuschließen, wurden sämtliche Tuben und Röhrchen vor dem Einfrieren etikettiert und mit Patientenummer, genauem Abnahmezeitpunkt (prä-operativ, post-operativ, etc.) und Abnahmedatum versehen.

Dieses Blutabnahmeprotokoll ist auf die Bestimmung von Endocannabinoidspiegeln zugeschnitten, welche in einem parallel laufenden Studienansatz untersucht wurden. Durch seine hochspezifische Natur wird aber dennoch ein höchster Grad an Reproduzierbarkeit und Homogenität der zu untersuchenden Proben gewährleistet. Die so erstellten Versuchsstücke wurden letztendlich im Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinikum der Universität München, Standort Großhadern, mittels Immunassay-Systemen (AVIDA Centaur, Siemens Healthcare Diagnostics; Cobas 8000 Modular Analyzer Series, Roche Diagnostics) untersucht. Bestimmt wurden dort die Plasmaspiegel von Cortisol.

Die weiteren (Labor-)Parameter (Entzündungswerte, Dosierungen der applizierten Pharmaka, etc.) wurden den Patientenakten entnommen, nachdem die Patienten von der Intensivstation verlegt wurden.

### **3.5. Psychometrie**

Zur psychometrischen Bestandsaufnahme wurden die Fragebögen SF-36 und PTSS-10 herangezogen, jeweils ausgewählt aufgrund ihres standardisierten und validierten Charakters.

#### **3.5.1. SF-36: gesundheitsbezogene Lebensqualität**

Der SF-36 (Short Form - 36) Gesundheitsfragebogen wurde präoperativ und 6 Monate nach der Operation von den Studienteilnehmern ausgefüllt. Bei ihm handelt es sich um ein validiertes Instrument zur Erfassung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität, der schon lange im Umlauf ist und häufig zur Therapie- und/oder Verlaufskontrolle verwendet wird<sup>63-65</sup>. Er lässt sich in acht mit Skalen bewertete Domänen unterteilen:

- Allgemeine Gesundheitswahrnehmung
- Vitalität
- Psychisches Wohlbefinden
- Soziale Funktionsfähigkeit
- Körperliche Funktionsfähigkeit
- Körperliche Schmerzen
- Emotionale Rollenfunktion
- Körperliche Rollenfunktion

Die Skalen umfassen den Wertebereich 0 – 100 und werden entsprechend der gewichteten Summen der Antworten errechnet. Dies ermöglicht anschließend das Errechnen von zwei Summenskalen zur körperlichen und psychischen Gesundheit.

### 3.5.2. PTSS-10: traumatische Erinnerungen und PTSD-Symptome

Zusätzlich zum SF-36 Gesundheitsfragebogen galt es von den Patienten präoperativ, am Tage der Verlegung von der Intensivstation auf die Zwischenwache und ebenfalls 6 Monate nach der Operation einen Fragebogen zu traumatischen Erinnerungen, sowie eine Skala zur Erfassung posttraumatischer Reaktionen (PTSD-Score) auszufüllen. Dieser sogenannte PTSS-10-Test (Posttraumatische Stress Skala – 10) wurde – wie bereits in Kapitel 1.3.5 beschrieben – von Stoll et al. bei Patienten nach Intensivtherapie validiert<sup>59</sup>. Traumatische Erinnerungen wurden durch ja-oder-nein Fragen zu den Bereichen Alpträume oder Angst, Schmerzen und Atemnot erfragt. Dies bezog sich jeweils auf den Zeitraum der vorausgegangenen Woche. Der PTSD-Score beinhaltet eine Skala zwischen 1=“nie“ und 7=“immer“ zu folgenden 10 Punkten: Alpträume, Schlafprobleme, Depressionen, Schreckhaftigkeit, Gereiztheit, Bedürfnis nach Rückzug von anderen, häufige Stimmungsschwankungen, schlechtes Gewissen / Selbstvorwürfe / Schuldgefühle, Muskelverspannungen, und zuletzt Angst vor Stellen oder Situationen, die an eine Intensivstation erinnern könnten, ebenfalls in der vergangenen Woche auftretend.

Bei einem Summenscore  $\geq 35$  Punkten gilt der Test als positiv und verfügt ab diesem Ergebnis über eine Sensitivität von 97,5% und einer Spezifität von 77%, um die Diagnose eines vorliegenden Vollbildes einer PTSD nach Intensivbehandlung akkurat vorherzusagen zu können. Eine entsprechende Diagnosestellung müsste dann mittels standardisiertem psychiatrischen Assessment (z.B. CAPS - Clinician-Administered PTSD Scale) erfolgen.

Abbildung 7 und Abbildung 8 zeigen die Fragebögen, wie sie in der Studie zum Einsatz kamen.

## Traumatische Erinnerungen

Die Fragen dieser Skala beziehen sich auf Ihre Erinnerung an die Zeit, die Sie auf der Intensivstation verbracht haben.

Wenn ich an die Zeit auf der Intensivtherapiestation zurückdenke, dann erinnere ich mich an:

Schmerzen	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Atemnot	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Alpträume	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Angst	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>

*Abbildung 7: PTSS-10: Erhebung von traumatischen Erinnerungen mittels ja-oder-nein Fragen. Die Erinnerungsintensität wurde nicht spezifisch erfasst.*

## Skala zur Erfassung posttraumatischer Reaktionen

Ich habe in den letzten Tagen bzw. leide an...

<b>1. Schlafproblemen</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>2. Alpträumen</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>3. Depressionen, fühle mich bedrückt</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>4. Schreckhaftigkeit, d.h. ich erschrecke leicht, wenn ich plötzlich Geräusche höre oder Bewegungen wahrnehme</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>5. das Bedürfnis, mich von den anderen zurückzuziehen</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>6. Gereiztheit, d.h. ich werde schnell gereizt oder ärgere mich</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>7. häufige Stimmungsschwankungen</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>8. ein schlechtes Gewissen, mache mir Selbstvorwürfe, habe Schuldgefühle</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>9. Angst vor Stellen oder Situationen, die mich an die Intensivstation erinnern könnten</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7
<hr/>							
<b>10. Muskelverspannungen</b>							
Nie							immer
1	2	3	4	5	6		7

Abbildung 8: Erhebung des PTSD-Scores via skaliert zu beantwortender Stichpunkte. Für Einzelheiten bezüglich des genauen Vorgehens sowie der Erfassungszeitpunkte siehe Text.

## 3.6. Genetische Untersuchungen

### 3.6.1. Auswahl der SNPs

Analysiert wurden fünf funktionelle SNPs des GR-Gens NR3C1 (nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1): rs10052957, rs6190, rs6195, rs41423247 und rs6198. Diese waren gemäß dem 1000-Genome-Projekt<sup>66</sup> dafür bekannt die GR-Sensitivität zu beeinflussen.

So ist der *BclII*-Polymorphismus (rs41423247) mit einem hypersensitiven Glucocorticoidrezeptor vergesellschaftet<sup>15</sup>, während *TthIII* (rs10052957) im Gegensatz dazu zu einer relativen Glucocorticoidresistenz<sup>67</sup> führt. Auch die Polymorphismen ER22/23EK (rs6190), N363S (rs6195) und 9 $\beta$  (rs6198) sind dafür bekannt, funktionell aktiv zu sein und sind Gegenstand intensiver Forschung<sup>68-70</sup>. Als Kontrolle und sechster untersuchter SNP wurde rs12054797 verwendet, der keinen Einfluss auf die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen hat<sup>71</sup>.

Auch die Häufigkeit des Vorkommens der SNPs bildete ein zusätzliches Auswahlkriterium. Die Minor-Allel-Frequenzen, also die Frequenzen des selteneren Allels, der untersuchten SNPs stellen sich folgendermaßen dar:

MAF (A-Allel) rs12054797	16%
MAF (T-Allel) rs10052957	25%
MAF (T-Allel) rs6190	1%
MAF (C-Allel) rs6195	0,8%
MAF (G-Allel) rs41423247	28%
MAF (G-Allel) rs6198	9%

Diese Daten entstammen dem 1000 Genome Project<sup>66</sup> der Phase 1, wobei dieser Datensatz im Mai 2011 veröffentlicht wurde. Hierbei waren 1092 Individuen aus der ganzen Welt genotypisiert worden. Aufgrund dieser Tatsache konnte davon ausgegangen werden, dass die SNPs rs6190 und rs6195 in der kaukasischen Bevölkerung häufiger vorkommen, da diese in asiatischen Volksgruppen nicht nachgewiesen werden konnten<sup>71,72</sup>.

Das untersuchte Genmodell des Glucocorticoidrezeptors trägt den HGVS-Namen (von der Human Genome Variation Society (HGVS) vorgeschriebene und international gültige

Schreibweise von humanen Sequenzvariationen) „NM\_000176.2 → NP\_000167.1 glucocorticoid receptor isoform alpha“. Die NM-Nummer kennzeichnet die transkribierte mRNA, die NP-Nummer das resultierende Protein.

### 3.6.2. DNA-Isolierung

Hinweis: Die unter 3.6.2., 3.6.3. und 3.6.4. beschriebenen Arbeitsschritte wurden von Frau Dr. Martina Pfob durchgeführt und die genannten Kapitel wurde von ihr verfasst. Zur wissenschaftlichen Nachvollziehbarkeit werden sie hier ebenfalls in Gänze beschrieben.

Die Firma QIAGEN (QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook, Second Edition, November 2007, 1999 – 2007) lieferte die Vorschrift, nach der die Isolierung der genomischen DNA durchgeführt wurde. Eine Aufführung der Geräte und Hilfsmittel, Reagenzien und Materialien sowie deren Herstellerfirmen bietet Tabelle 1. Gemäß der Anleitung wurden zunächst einige Vorbereitungen getroffen: die beiden mitgelieferten Waschpuffer wurden mit 100 prozentigem Äthanol verdünnt (Waschpuffer 1 mit 125 ml, Waschpuffer 2 mit 160 ml) und die lyophilisierte (gefriergetrocknete) Protease wurde mit dem dazugehörigen Solvent (5,5 ml) aufgelöst. Zur Vermeidung von Kontaminationen wurden alle verwendeten Lösungen aliquotiert, also in Teilportionen aufgespalten. Die so entstandenen Aliquots der Protease wurden bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert. Das gerade in Gebrauch befindliche Aliquot wurde jedoch bei 4-8 °C im Kühlschrank gelagert. Alle anderen Reagenzien waren bei Raumtemperatur stabil. Zusätzlich wurde 100%iger Äthanol benötigt, der nicht zu den im Kit enthaltenen Reagenzien zählte.

Zuerst wurden entsprechend der Probenanzahl die 1,5 ml fassenden Reaktionsgefäße mit der laborinternen Bearbeitungsnummer versehen. Nachdem jeweils 20 µl Protease auf dem Boden des Reaktionsgefäßes vorgelegt wurde, erfolgte anschließend das Daraufpipettieren von 200 µl der gemischten Blutprobe. Daraufhin wurden jeweils 200 µl AL-Puffer (Lyse) zupipettiert, das Reaktionsgefäß fest verschlossen und der Inhalt sofort vermischt, indem 15 Sekunden im Intervall ein Vortexmischer verwendet wurde, bis die Lösung glasig und dunkel wurde. Im Anschluss kam das Reaktionsgefäß für eine Zeitspanne von 10 Minuten in einen auf 56 °C temperierten Heizblock. Innerhalb dieser Inkubationszeit wurden die später zu verwendenden zentrifugierbaren Chromatographie-Säulen mit den Nummern der Proben beschriftet.

Die durch die Inkubation am Deckel entstandenen Kondensationstropfen wurden daraufhin durch kurzes Zentrifugieren entfernt. Ferner wurde 100%iger Äthanol in einer Menge von 200 µl zu jeder Probe hinzugegeben. Die Proben wurden danach sofort erneut 15 Sekunden lang im Intervall gevortext und kurz zentrifugiert. Die zuvor vorbereiteten Chromatographie-Säulen wurden nun mit dem kompletten Volumen befüllt und in der Zentrifuge 1 Minute lang bei 8000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Dies führte zur Bindung der DNA an die Silica-Membran durch das Ionenaustauschprinzip der Chromatographie. Zum Waschen der Membran wurde die Säule in neue Sammelgefäße gestellt, der nicht mehr benötigte Unterstand samt Gefäß verworfen. Das Waschen geschah durch Pipettieren von jeweils 500 µl Waschpuffer 1 auf die Säule und anschließende erneute Zentrifugation für 1 Minute mit 8000 rpm. Die Membran wurde dadurch von Lyse- und Blutpufferresten, sowie von Verunreinigungen befreit. In einem zweiten Schritt wurde 500 µl Waschpuffer 2 zugegeben, und dann für 3 Minuten bei 14000 rpm zentrifugiert.

Bereits vorbereitete, mit laborinterner Bearbeitungsnummer und Namen beschriftete 1,5 ml-Reaktionsgefäße waren nun Überführungsziel der Säulen. Die Zugabe von 200 µl Elutionspuffer und weitere Zentrifugation von 1 Minute bei 8000 rpm resultierte in der Lösung der DNA von der Säule und deren Auffang im Reaktionsgefäß.

Diese nun isolierte DNA stand somit für die Durchführung der PCR bereit oder konnte alternativ bis zu deren Verwendung bei 4°C gelagert werden.

<b>Reagenzien und Material</b>	<b>Geräte und Hilfsmittel</b>
1,5 ml-Reaktionsgefäße festschließend Firma Sarsted	1000 µl-Pipette, variabel verstellbar Firma Gilson
1000µl-Pipettenspitzen mit Filter Firma Kisker	200 µl-Pipette, variabel verstellbar Firma Gilson
200 µl-Pipettenspitzen mit Filter Firma Kisker	20µl-Pipette, variabel verstellbar Firma Gilson
10µl-Pipettenspitzen mit Filter der Firma Kisker	Zentrifuge (Centrifuge 5417 C) Firma Eppendorf
QIAamp DANN Mini Kit (250 Säulen) Firma QIAGEN	Heizblock, variabel einstellbar Firma LAB-LINE
100 % Äthanol Firma Merck	Schüttler (VorTex Genie 2) Firma Bender & Hobein
Proteinase K	

*Tabelle 1: Bei der DNA-Isolierung verwendete Reagenzien, Material, Geräte und Hilfsmittel*



### 3.6.3. PCR

Die Vervielfältigung der DNA mit Hilfe der PCR (engl. Polymerase Chain Reaction; Polymerase Kettenreaktion) war ein bahnbrechendes neues Prinzip, für deren Erfindung Kary B. Mullis 1993 den Nobel-Preis für Chemie erhielt. Das grundsätzliche Prinzip der PCR ist in wenigen Schritten erklärt: Die doppelsträngige DNA wird zunächst erhitzt und spaltet sich so in seine zwei Einzelstränge auf, wird also „denaturiert“. Zugefügte Primer (kurze, bekannte Sequenzen) lagern sich dann an die Stränge an. Sie stellen den Anfang des zu bildenden komplementären Stranges dar und bieten einen Ansatzpunkt für die DNA-Polymerase. Bei einer niedrigeren, für sie optimalen, Arbeitstemperatur baut dieses Enzym nun die zugehörigen Stränge aus ebenfalls zugefügten Einzelnukleotiden zusammen. Dieser dreischrittige Zyklus wird dann mehrfach wiederholt.

Für den Amplifikationsansatz wurden die Taq-Polymerase, die vier Desoxynukleotide Adenin, Cytosin, Guanin und Thymidin, sowie die DNA-spezifischen Primer benötigt. Von der GO-Taq-Polymerase wurde pro 25µl-PCR-Ansatz 0.625 U eingesetzt. Der zugehörige Reaktionspuffer enthielt MgCl<sub>2</sub> in einer Endkonzentration von 1,5 mM.

Ein Standard 25 µl-PCR-Ansatz setzte sich wie folgt zusammen:

2,5 µl DNA (50-200 ng)

2,5 µl dNTP's

5,0 µl 10x Reaktionspuffer

0,5 µl Primer vorwärts (20 µM)

0,5 µl Primer rückwärts (20 µM)

1,25 µl DMSO

0,13 µl Taq (0,625 U)

12,6 µl H<sub>2</sub>O

Mit den dNTPs (Desoxynukleosid-Triphosphate) wurde in Form einer 1,25 mM-Gebrauchslösung (je 500 µl plus 38,0 ml Lichrosolv-Wasser) gearbeitet, die aliquotiert bei -20° C gelagert wurde. Endkonzentration in der PCR war dann 0,125 mM.

Die zu verwendenden Primer wurden zunächst entsprechend der Referenz-Gensequenzen (OMIM-Datenbank) selbst ausgewählt.

Folgende Primersequenzen kamen für die jeweiligen SNPs zum Einsatz:

rs12054797

CTTGGCCTCTGCCTACTCCTG  
CCTAAGTGATCATCATGAGTGG

rs10052957

TGAGGATCTTGAGGGTTATCTGTACAC  
GTCAACATTTATTGCGCATCTGC

rs6190

GGTAGAGAAGAAAACCCAGCAGTGTGCTTGCTCAGAAG  
GTCTCTCCCATATACAGTCCCATTGAG

rs6195

GTCTGCCATTTCTGTTTCATGGTG  
CGTACAGATGTCACCTTAGGTTGTCTACC

rs41423247

CTTACATAGTCAAAGTTGTGCTGCC  
GAGAACTTGCAGGAACATTTGAACG

rs6198

GATTTCCATCTTGGCTGGTCAC  
TGTAGTTAAGCAAGTTATTTGAGGAGGG

Die durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC, engl. high performance liquid chromatography) gereinigten Primer, wurden lyophilisiert geliefert und bis zur Herstellung der entsprechenden Gebrauchslösung bei -20° C gelagert. Die letztlich verwendete Lösung hatte eine Konzentration von 20 µM, die Endkonzentration in der PCR betrug 0,4 µM. Sowohl Stamm- als auch Gebrauchslösungen wurden aliquotiert bei -20°C gelagert.

Als spezieller Zusatz kam teilweise Dimethylsulfoxid (DMSO) zum Einsatz. Hiermit lassen sich GC-reiche Regionen durch eine Erniedrigung der Schmelztemperatur oft besser amplifizieren.

Die bereits beschriebenen Temperaturzyklen wurden pro PCR in der Regel dreißig bis vierzig Mal wiederholt. Eine initiale Denaturierung wurde zunächst 3 Minuten lang bei 95°C durchgeführt. Anschließend kam es je Zyklus immer zu folgenden Schritten, die jeweils 20 Sekunden lang durchgeführt wurden:

Die Erwärmung auf 95° C führte im ersten Schritt zur Spaltung der doppelsträngigen DNA. Das Temperaturoptimum zum Anlagern der Primer war abhängig von deren Länge und Zusammensetzung (GC-Gehalt) und wurde dementsprechend primerspezifisch ausgewählt. Die Polymerase baute dann im Elongationsschritt die komplementären Stränge bei für sie optimalen 72°C zusammen und stellte somit den dritten Schritt der PCR dar.

Es wurde zusätzlich eine abschließende Elongation über 2 Minuten durchgeführt.

Verwendete Materialien, Reagenzien, Hilfsmittel und Geräte der PCR sowie deren Herstellerfirmen sind Tabelle 2 zu entnehmen.

<b>Material und Reagenzien</b>	<b>Hilfsmittel und Geräte</b>
20 µl-Pipettenspritzen mit Filter Firma Kisker	Reaktionsgefäß-Halter Firma Eppendorf
200 µl-Pipettenspritzen mit Filter Firma Kisker	20 µl-Pipette, variabel einstellbar Firma Gilson
1000µl-Pipettenspitzen mit Filter Firma Kisker	200 µl-Pipette, variabel einstellbar Firma Gilson
500 µl-Reaktionsgefäß (dünnwandig) Firma Thermo Scientific	1000 µl-Pipette, variabel einstellbar Firma Gilson
1,5 ml-Reaktionsgefäß Firma Sarstedt	Ständer für 500 µl-Reaktionsgefäße Firma NEOLAB
Lichrolsoy-Wasser Firma Baker	Ständer für 1,5 ml-Reaktionsgefäße Firma Schubert&Weis
Taq-Polymerase Firma Promega, Madison, WI, USA	PTC220 Thermozykler Firma MWG
dNTPs Firma Amersham Pharmacia	Zentrifuge Centrifuge 5415 C Firma Eppendorf
Primer Firma Thermo Scientific, Waltham, MA, USA	

*Tabelle 2: Bei der PCR verwendete Materialien, Reagenzien, Hilfsmittel und Geräte*

### **3.6.4. Sequenzierung**

Um festzustellen welche genotypische Variante der Rezeptoren bei den Patienten vorherrscht, wurde die DNA entsprechend der Technik von Sanger sequenziert. Diese enzymatisch

durchgeführte Didesoxymethode basiert auf dem Prinzip des zufälligen Kettenabbruchs. Der entscheidende Punkt bei dieser Einzelstrang-PCR ist folgender: Durch Zugabe von Didesoxynukleosidtriphosphaten (ddNTPs) kommt es an der Stelle, wo diese in den Strang eingebaut werden, zum Kettenabbruch. Dies deshalb, weil ddNTPs keine 3'OH-Gruppe besitzen, die der DNA-Polymerase dann als Verknüpfungsstelle mit der Phosphatgruppe des eigentlich folgenden Nukleotids fehlt. Durch den Einbau dieser ddNTPs an zufälliger Stelle des DNA-Stranges, entstehen unterschiedlich lange Fragmente, die sich jeweils um eine Base voneinander unterscheiden. Durch eine Farbmarkierung lassen sich die einzelnen Basenbausteine voneinander unterscheiden. In unserem Fall war Adenin grün, Guanin schwarz, Cytosin blau, und Thymin rot markiert. Durch Elektrophorese in einem Kapillar-Sequenzier werden die Bruchstücke dann der Größe nach aufgetrennt und dann mit einem Detektor analysiert. Dieser arbeitet mit einem Laserlicht, welches die fluoreszenzmarkierten Nukleotide zum Leuchten anregt und somit sichtbar macht und jedes einzelne Nukleotid sichtbar macht. Ein Computerprogramm ermöglicht dann die Visualisierung der so gewonnenen Resultate als Kurvendiagramm. Eventuell vorhandene Polymorphismen können dann im Vergleich mit einer Normalsequenz ausgemacht werden.

Für die Durchführung der Sequenzreaktion müssen die PCR-Produkte zunächst aufgereinigt werden, was in dieser Studie via Gelelektrophorese geschah. Im Anschluss an diese müssen deren Produkte ebenfalls aufgereinigt werden, um eine einwandfreie Arbeit des Kapillar-Sequenzers zu ermöglichen. Dazu siehe unten.

### Sequenzreaktionsansatz

Die Sequenzreaktion wurde mit dem „BigDyeTerminator v3.1“-Kit der Firma Applied Biosystems durchgeführt. Es enthält im Mix die Taq-Polymerase, Reaktionspuffer, die dNTPs und die ddNTPs. Für den Ansatz wurde ein 200 µl-Reaktionsgefäß mit folgenden Reagenzien befüllt:

3,0 µl	aufgereinigtes Fragment
1,5 µl	Reaktionspuffer
1,5µl	BigDye-Reagenz
3,0 µl	destilliertes H <sub>2</sub> O

Der daraus entstandene Reaktionsansatz mit einem Gesamtvolumen von 10 µl wurde in den Thermozykler gestellt und das folgende Programm gestartet:

Initiale Denaturierung	96°C	1 Minute
1. Schritt	96°C	10 Sekunden
2. Schritt	60°C	5 Sekunden
3. Schritt	60°C	1 Minute

Letztere drei Schritte entsprachen einem Zyklus, welcher 25-mal wiederholt wurde.

Wie bereits angeschnitten, musste die Probe nun zunächst gereinigt werden, um sie dann auf den Sequenzer laden zu können. Dazu wurde sie einleitend mit 10 µl 125 µM EDTA-Lösung versetzt und dann in ein beschriftetes 1,5 ml-Reaktionsgefäß überführt. In diesem war bereits 55 µl 100%iger Äthanol und 2 µl Natriumacetat-Lösung (3 M; pH 5,2) enthalten. Die Substanzen wurden hernach gut gemischt. Einer 10-minütigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur folgte eine Zentrifugation über 20 Minuten bei maximaler Umdrehungszahl. Der Überstand wurde sodann vorsichtig abpipettiert, bevor 250 µl Waschpuffer in Form von 70%igem Äthanol hinzugegeben und abermals gemischt wurde. Einem erneuten Zentrifugieren über 5 Minuten bei maximaler Umdrehungszahl folgte nochmalig ein Abkippen des Überstands, die Zugabe von 250µl Waschpuffer (70%iger Äthanol) und die Zentrifugation über 5 Minuten bei maximaler Umdrehungszahl. Der Überstand wurde dann abgekippt und das Pellet an der Luft oder im Heizblock getrocknet. Damit war die Probe zum Laden bereit.

Die Sequenzproben wurden dabei zunächst mit 30 µl HiDi-Fomamide versetzt, gut gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur gelöst. Eine vorbereitete Plattenbelegung (Vorlage, 96well-ELISA-Platte) half dabei, nun jeweils 15 µl Probe luftblasenfrei in die Vertiefungen einer „MicroAmp Optical 96-well Reaction Plate“ zu pipettieren. Eine gummiartige „PlateSepta“-Matte deckte die Platte ab, die dann in die entsprechende Halterung für den Sequenzer gesteckt wurde, der nun gestartet werden konnte. Nach Abschluss der Sequenzierung ermöglichte das Programm „Sequencing Analysis“ Archivierung und Druck der analysierten Sequenzen.

<b>Material und Reagenzien, Firma oder Selbstansatz</b>
200 µl-Pipettenspitzen, Sarstedt
20 µl-Pipettenspitzen mit Filter, Kisker
1000 µl-Pipettenspitzen mit Filter, Kisker
200 µl-Reaktionsgefäß dünnwandig, ABgene
ExoSAP-IT, USB
BigDye Terminator Sequencing Kit v3.1, Applied Biosystems
3 M Natriumacetat-Lösung (pH 5,2), Sigma
Äthanol, Merck
Lichrolsov-Wasser, Baker
Marathon-Laufpuffer
Ethidiumbromid
125 µM EDTA-Lösung
70 %er Wasch-Äthanol
HiDi-Formamide, Applied Biosystems
POP-6-Polymer, Applied Biosystems
Laufpuffer Sequenzer (Genetic Analyser Buffer)
Drucker, Papier, Druckerpatrone diverse Farbe, Hewlett Packard
20µl-/200µl-/1000µl-Pipette, variabel einstellbar, Gilson
Ständer für 200 µl-Reaktionsgefäße, Roth
Zentrifuge ABOTT TDX Zentrifuge, ABOTT
PE9600 und PE9700 Thermozykler, Perkin Elmer
Reaktionsgefäß-Halter für 200 µl-Gefäße, Perkin Elmer
Zentrifuge ABOTT Tischzentrifuge, ABOTT
MicroAMP Optical 96-well Reaction Plate, Applied Biosystems
Plate Septa, Applied Biosystems
ABI 3130 Kapillar-Sequenzer, Applied Biosystems

*Tabelle 3: Utensilien des Sequenzierungsvorgangs*

### 3.7. Statistik

In der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss hypothesenbasiert ausgewählter SNPs des Glucocorticoidrezeptor-Gens NR3C1 auf die frühe und späte Ergebnisqualität herzchirurgischer Eingriffe untersucht werden. Diverse kontinuierliche und binäre Ergebnisvariablen wurden in diesem Zusammenhang definiert. Tabelle 4 offeriert einen Überblick über die verschiedenen Variablen und deren Definition, Berechnung und Skalenniveau.

Die Anzahl traumatischer Erinnerungen, der PTSD-Score, die körperliche und psychische gesundheitsbezogene Lebensqualität wurden als primäre Ergebnisvariablen definiert. Deren Berechnung basierte auf den Ergebnissen des PTSS-10-Instrumentes bzw. der körperlichen und psychischen Summenscores der SF-36 Fragebögen, jeweils mit kontinuierlichem Skalenniveau. Die Präsenz traumatischer Erinnerungen (Anzahl traumatischer Erinnerungen > 0) und eine Risikoeinschätzung für die Ausbildung eines PTSD-Vollbildes (PTSS-10 Summenscore > 35) wurden als binäre Ergebnisvariablen definiert und betrachteten zeitpunktspezifisch (präoperativ, bei Verlegung von der ICU und 6 Monate postoperativ) den Zustand der Patienten. Zusätzlich sollten die binären Ergebnisvariablen „neu aufgetretene traumatische Erinnerungen“ (Zahl traumatischer Erinnerungen nach Intensivtherapie [bei der Verlegung von der Intensivstation / 6 Monate später] > zum präoperativen Zeitpunkt) und „neu aufgetretenes Risiko für PTSD“ (präoperativer Summenscore < 35 und > 35 direkt nach Intensivtherapie / 6 Monate später) eine Beobachtung im zeitlichen Verlauf erstellen. Diese Überlegung fand dabei nicht nur auf dem Boden des PTSS-10-Tests statt, sondern auch mit Hilfe der Summenscores des SF-36-Fragebogens. Die zahlreichen klinischen und biochemischen Parameter wurden als sekundäre Ergebnisvariablen betrachtet.

Gruppenvergleiche zu nominalskalierten Variablen wurden mittels Chi-Quadrat-Test und Gruppenvergleich zu dichotomen Variablen wurden mittels Fisher-Test angestellt. Normalverteilte verhältnisskalierte Variablen wurden zwischen homozygoten Trägern der SNPs und den restlichen Patienten mit dem T-Test für unverbundene Stichproben verglichen. Ein zuvor durchgeführter Levene-Test prüfte auf Gleichheit der Varianzen. Ergab sich gemäß des Shapiro-Wilk-Test eine nicht-parametrische Verteilung, so kam der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung. Die Veränderungen kontinuierlicher Variablen über die drei Messzeitpunkte wurden mittels Friedman-Test, die Veränderung binärer Variablen über die Zeit mittels McNemar-Test auf Signifikanz geprüft. Um festzustellen, ob es zu einer Verbesserung

körperlicher Funktionsfähigkeit oder psychischem Wohlbefinden gekommen war, wurden besagte Summenscores zum präoperativen Zeitpunkt mit denen zum Zeitpunkt 6 Monate später mittels Wilcoxon-Test verglichen.

Eine ähnliche, von unserer Forschungsgruppe bereits durchgeführte, Studie<sup>15</sup>, die lediglich den *BclI*-Polymorphismus betrachtete, wurde zur Abschätzung der benötigten Patientenzahl herangezogen. Die weiteren SNPs, die wir zur Vertiefung jenes Forschungsansatzes in dieser Studie untersuchten, ließen durch näherungsweise vergleichbare MAFs erwarten, dass die ca. 100 Patienten ausreichend sein würden, um einen signifikanten Effekt des selteneren Allels gegenüber dem Wildtyp nachzuweisen. Der limitierten Fallzahl ist geschuldet, dass in der Regel das recessive model zur Berechnung herangezogen wurde. Die zu vergleichenden Gruppen waren somit immer die homozygoten Träger des minor Allels auf der einen und die Kombination aus heterozygoten Trägern und Nicht-Trägern des selteneren Allels zusammengefasst auf der anderen Seite.

Um die Schweigeverzerrung durch fehlende Werte einer Variable zu verringern, kam das statistische Instrument der Imputation zur Anwendung. Hierbei wurden die Mittelwerte aller vorhandenen Werte eingesetzt. Einer Sensitivitätsanalyse entsprechend wurde die Auswertung nur mit den vorhandenen Werten wiederholt und die Ergebnisse mit der imputierten Analyse verglichen. Hierdurch sollte vermieden werden, dass grobe Verzerrungen durch die Imputation selbst entstehen. Eine genaue Aufschlüsselung der betroffenen Datensätze ist dem Appendix zu entnehmen.

Tabellarisch dargestellte Ergebnisse zeigen Mittelwerte mit Standardabweichung (SD; engl. standard deviation).

Allen statistischen Analysen wurde ein Signifikanzniveau von 5% vorgegeben ( $p \leq 0,05$ ), von Trends wird bis zu einem p-Wert von  $p < 0,1$  berichtet.

Verwendete Software waren Sigmaplot 12.5 (Systat Software Inc., Kalifornien, USA, 2013) und SSPS Statistics 27 (IBM Corporation, New York, USA, 1989, 2020).



Primäre Ergebnisvariable	Defintion	Berechnung	Skalenniveau
Anzahl traumatischer Erinnerungen <sup>a</sup>	Traumatische Erinnerungen <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alpträume/Halluzinationen</li> <li>• Angst/Panik</li> <li>• Atemnot</li> <li>• Schmerzen</li> </ul>	∑ der einzelnen traumatischen Erinnerungen	Kontinuierlich
Präsenz traumatischer Erinnerungen (ja/nein) <sup>a</sup>	Präsenz mindestens einer der oben aufgeführten traumatischen Erinnerungen	Anzahl traumat. Erinnerungen >0	Binär
Neu aufgetretene traumatische Erinnerungen (ja/nein) <sup>c</sup>	Mindestens eine nach Intensivbehandlung neu aufgetretene traumatische Erinnerung	Zahl traumatischer Erinnerungen nach Intensivtherapie > als zum präOP Zeitpunkt	Binär
PTSD Score <sup>a</sup>	PTSS-10 Summenscore	∑ der PTSS-10 Subscores	Kontinuierlich/Skala (10 – 70)
Hohes Risiko für PTSD Vollbild (ja/nein) <sup>a/d</sup>	Hohes Risiko für PTSD Vollbild	PTSS-10 Summenscore >35	Binär
Neu aufgetretenes Risiko für PTSD (ja/nein) <sup>c</sup>	PTSD - Hochrisiko nach Intensivtherapie oder zum Zeitpunkt 6-Monate aber nicht präOP	PTSS-10 Summenscore < 35 präOP und >35 nach Intensivtherapie und zum Zeitpunkt 6-Monate	Binär
Körperliche Funktionsfähigkeit <sup>b</sup>	SF-36 Summenscore	Algorithmus zur SF-36 Auswertung	Kontinuierlich/Skala (0-100)
Verbesserung Körperliche Funktionsfähigkeit (ja/nein) <sup>b</sup>	Differenz zwischen SF-36 Summenscore 6-Monate post-OP und dem präoperativen Wert	Summenscore 6-Monate postOp – präOP >0	Binär
Psychisches Wohlbefinden <sup>b</sup>	SF-36 Summenscore	Algorithmus zur SF-36 Auswertung	Kontinuierlich/Skala (0-100)
Verbesserung psychisches Wohlbefinden (ja/nein) <sup>b</sup>	Differenz zwischen SF-36 Summenscore 6-Monate post-OP und dem präoperativen Wert	Summenscore 6-Monate postOp – präOP >0	Binär

Tabelle 4: Primäre Ergebnisvariablen der prospektiv durchgeführten Studie

<sup>a</sup>Die Bestimmung dieser Variablen erfolgte zu 3 Messzeitpunkten: Präoperativ, bei der Verlegung von der Intensivtherapiestation und 6 Monate nach dem Eingriff.

<sup>b</sup>Diese Variablen wurden zu 2 Messzeitpunkten bestimmt: Präoperativ und zum Zeitpunkt 6 Monate nach dem Eingriff.

<sup>c</sup>Die Bestimmung dieser Variablen erfolgte bei Verlegung von der Intensivtherapiestation und 6 Monate später.

<sup>d</sup>Cave: bei dem PTSS-10 Fragebogen handelt es sich lediglich um ein Screeninginstrument. Es kann lediglich von einem PTSD Risiko und nicht von einer PTSD Diagnose gesprochen werden.

### **3.8. Ethik und Datenschutz**

Die Untersuchungen wurden unter Rücksprache mit der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität durchgeführt und von dieser genehmigt (Protokoll-Nr. 347/02; 348/02). Der Datenschutz wird nach deutschem Recht gewährleistet.

Der äußerst sensible Charakter der genetischen Daten der Patienten führte zu dem Entschluss, nach Abschluss der Untersuchungen alle Daten zu anonymisieren, um eine Zuordnung von Genotyp und Patientennamen unmöglich zu machen. Dies soll Schutz vor unrechtmäßigem Zugriff bieten.

Um für Ausnahmefälle gewappnet zu sein, in denen eine Patientenidentifizierung dennoch von Nöten sein sollte, wird eine Liste, die die Zuordnung von Patientennamen und Kontaktadresse zum Genotyp erlaubt, bei einem Notar verwahrt. Solche Ausnahmefälle könnten beispielsweise neuere Erkenntnisse bezüglich des Krankheitswertes der bestimmten SNPs, oder ein berechtigtes wissenschaftliches Interesse an weiterführenden Untersuchungen sein. Besagter Notar entscheidet dann im Einzelfall und nach Stellungnahme der Ethikkommission und der beteiligten Wissenschaftler/Ärzte über die Rechtmäßigkeit des Vorhabens und den Zugang zu dieser Information. Die Patienten erfahren die Ergebnisse der genetischen Untersuchungen selbst nicht und auch die Tatsache genetischer Untersuchungen per se wird nicht in der Krankenakte der Patienten vermerkt. Diese Tatsachen und Vorgehensweisen sind eingehend in der Aufklärung der Patienten vor dem Einschluss in die Studie berücksichtigt worden.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Demographie und allgemeine Behandlungsdaten**

Die Studie umfasste insgesamt 100 Patienten. Durch Verlegung von der Intensivstation, fehlende Rücksendung der Fragebögen, Sterblichkeit oder nachträgliche Erfüllung eines Ausschlusskriteriums stand nicht zu allen Untersuchungszeitpunkten für alle untersuchten Variablen die gesamte Patientenzahl zur Verfügung. Die jeweilige tatsächlich untersuchte Patientenzahl ist den Tabellen und Abbildungen zu entnehmen. Das mittlere Alter betrug  $67,38 \pm 9,53$  Jahre bei einer mittleren Größe von  $173,56 \pm 9,21$  cm und einem mittleren Gewicht von  $81,50 \pm 13,93$  kg. 43 Patienten erhielten einen Klappenersatz, 42 Patienten erhielten einen Aortocoronaren Bypass und 10 Patienten einen Eingriff am Aortenbogen. Als Ausdruck der Ausprägung des körperlichen Stresses, denen sich die Patienten ausgesetzt sahen, stehen eine durchschnittliche Aortenabklemmzeit von  $70,77 \pm 35,76$  Minuten und eine durchschnittliche Dauer des kardiopulmonalen Bypasses von  $105,12 \pm 51,52$  Minuten zu buche. Postoperativ befanden sich die Patienten im Mittel für  $72,64 \pm 98,86$  Stunden auf der Intensivstation.

Eine Aufschlüsselung dieser und weiterer Parameter zeigt Tabelle 5.

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standardabweichung</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	95	67,38	9,53
<b>Größe (cm)</b>	95	173,56	9,21
<b>Gewicht (kg)</b>	95	81,50	13,93
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	95	27,07	4,16
<b>Aortocoronarer Bypass (min)</b>	95	105,12	51,52
<b>Aortenabklemmzeit (min)</b>	95	70,77	35,76
<b>Volumen EK (ml)</b>	95	300,00	435,40
<b>Volumen FFPs (ml)</b>	95	707,90	946,47
<b>Volumen HES (ml)</b>	93	1142,03	431,93
<b>Volumen Ringer (ml)</b>	95	2072,63	740,82
<b>Volumen NaCl (ml)</b>	95	131,90	102,72
<b>Norepinephrin intraoperativ/kg/min</b>	95	1,34 x 10 <sup>-4</sup>	5,35 x 10 <sup>-5</sup>
<b>Epinephrin intraoperativ/kg/min</b>	95	5,51 x 10 <sup>-5</sup>	5,09 x 10 <sup>-5</sup>
<b>Dauer Anwendung Norepinephrine intraop. (min)</b>	95	333,37	75,09
<b>Dauer Anwendung Epinephrine intraop. (min)</b>	95	98,85	81,46
<b>Gesamtdauer Anwendung Norepinephrin (h)</b>	95	20,11	23,24
<b>Gesamtdauer Anwendung Epinephrin (h)</b>	95	11,73	20,18
<b>Prae-OP Serumspiegel Cortisol (µg/dl)</b>	84	15,66	6,01
<b>Post-OP Serumspiegel Cortisol (µg/dl)</b>	92	41,84	30,91
<b>POD1 Serumspiegel Cortisol (µg/dl)</b>	90	63,51	37,25
<b>Hydrocortisondosis intraoperativ (mg/kg KG)</b>	95	0,65	0,80
<b>Hydrocortisondosis ICU (mg/kg KG)</b>	95	1,25	2,47
<b>Gesamtdosis Hydrocortison (mg/kg KG)</b>	95	1,90	2,89
<b>Dauer Aufenthalt auf der ICU (h)</b>	95	72,64	98,86
<b>Gesamtdauer Aufenthalt von Aufnahme bis Entlassung (d)</b>	95	16,01	8,59

*Tabelle 5*

## 4.2. Psychometrische Daten

Der Friedman-Test der gesamten Stichprobe zeigte in Bezug auf die Anzahl der traumatischen Erinnerungen einen signifikanten Effekt des Zeitpunktes der Datenerhebung („präoperativ“, „Verlegung von der ICU“ und „6 Monate postoperativ“) ( $p < 0,000$ ).

Der paarweise Vergleich ergibt hierbei signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl der traumatischen Erinnerungen sowohl zum präoperativen Zeitpunkt als auch zum Zeitpunkt der Verlegung von der ICU jeweils im Vergleich zu sechs Monate postoperativ (jeweils  $p < 0,000$ ). Zudem war die Präsenz mindestens einer traumatischen Erinnerung zu den ersten beiden Erhebungszeitpunkten signifikant im Vergleich zum follow-up sechs Monate später erhöht (jeweils  $p < 0,001$ ).

Bezüglich der vom PTSS-10 Instrument erhobenen Werte zur PTSD-Symptomatik zeigten sich keine signifikanten Differenzen über die Zeit. Die mittels SF-36 erhobenen körperlichen Summenscores zeigten eine signifikante Verbesserung 6 Monate nach herzchirurgischem Eingriff im Vergleich zu präoperativ (p-Wert 0,002 im Wilcoxon-Test), während sich bei der Selbsteinschätzung der psychischen Stimmungslage kein signifikanter Unterschied zeigte.

Eine tabellarische Übersicht dieser Ergebnisse zeigen die Tabellen 6 und 7.

Psychometrische Parameter	Zeitpunkt	Auftreten ja/nein	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-Abweichung	p-Wert Friedman	p-Wert T1-T2	p-Wert T1-T3	p-Wert T2-T3
<b>PTSS-10 Score</b>	Präop		88	10,00	54,00	23,09	9,45	0,111	0,494	0,172	0,240
	ICU		86	10,00	45,00	22,62	9,47				
	6 M		82	10,00	50,00	21,68	9,69				
<b>PTSD-Risiko</b>	Präop	11/77	88					0,804	1,000	0,454	
	ICU	13/73 Neu: 9/77	86 86								
	6 M	8/74 Neu: 7/75	82 82								
<b>Traumatische Erinnerungen</b>	Präop		93	0,00	4,00	1,27	0,91	<0,000	0,338	<0,001	<0,001
	ICU		86	0,00	4,00	1,41	1,23				
	6 M		86	0,00	1,00	0,15	0,36				
<b>Traumatische Erinnerungen j/n</b>	Präop	76/17	93					0,150	<0,001	<0,001	
	ICU	60/26 Neu: 32/53	86								
	6 M	13/73	86								

Tabelle 6

Verlauf der primären psychometrischen Endpunkte im Untersuchungszeitraum in der gesamten Stichprobe. Von einem PTSD-Risiko wird ab einem PTSS-10 Score > 35 gesprochen; zu einer Diagnosestellung kommt es nicht, da kein standardisiertes psychiatrisches Assessment durchgeführt wurde. Dichotome Variablen wurden mittels McNemar-Test untersucht, kontinuierliche Variablen mittels Wilcoxon-Test. Zeitpunkte: T1 = präoperativ, T2 = bei der Verlegung von der ICU, T3 = 6 Monate postoperativ.

Psychometrische Parameter	Zeitpunkt	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-Abweichung	p-Wert
<b>Körperlicher Summenscore SF-36</b>	Präop	77	15,43	61,89	40,87	11,10	0,002
	6 M	77	21,19	60,03	45,84	9,79	
<b>Psychischer Summenscore SF-36</b>	Präop	77	20,64	68,51	49,22	10,64	0,414
	6 M	77	23,24	63,73	48,87	10,90	

Tabelle 7 *Signifikante Verbesserung der körperlichen Funktionsfähigkeit (SF-36 Summenscore) im Wilcoxon-Test 6 Monate postoperativ.*

Sollten Patienten bei der Verlegung von der Intensivstation neue traumatische Erinnerungen vorzuweisen gehabt haben, so zeigten diese Patienten einen grenzwertigen Trend zu niedrigeren Scores bezüglich ihrer psychischen Befindlichkeit im SF-36 Instrument sechs Monate postoperativ. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass Berechnungen mit imputierten Daten hierbei zu niedrigeren p-Werten führten (Siehe Tabelle 8).

<b>Neue traumatische Erinnerungen bei der Verlegung von ICU</b>	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Körperlicher Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ</b>	45,25±10,26	47,69±8,77	0,223
<b>Psychischer Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ</b>	47,06±11,33	50,94±9,44	0,105
<b>Körperlicher Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ (Imputation)</b>	43,96±9,67	47,14±7,97	0,142
<b>Psychischer Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ (Imputation)</b>	46,40±10,92	50,60±8,62	0,058

*Tabelle 8*

Patienten mit einem PTSS-10 Score >35 und damit einem neu aufgetretenen Risiko für eine posttraumatische Belastungsstörung sechs Monate nach dem Eingriff zeigten signifikant schlechtere körperliche und psychische Summenscores. (Siehe Tabelle 9)

<b>Neu aufgetretenes PTSD-Risiko 6 Monate postoperativ</b>	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Körperlicher Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ</b>	35,83±8,91	46,76±8,25	0,002
<b>Psychischer Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ</b>	28,07±6,10	50,78±7,62	0,000

*Tabelle 9: Mittels Imputation ermittelte Werte ohne Veränderung des Signifikanz-Niveaus.*



### 4.3. Verteilung der identifizierten SNPs

Das Auftreten der diversen minor-Allele in unserer Studienpopulation gestaltete sich je nach untersuchtem SNP unterschiedlich. Beim SNP rs41423247 konnten zehn homozygote Träger des minor Allels identifiziert werden, bei rs10052957 waren es derer sechs, bei rs6198 drei Patienten. Es konnte kein einziger Träger des minor Allels von rs6190 eingeschlossen werden. In der Patientenpopulation konnten zudem keine homozygoten Träger des minor Allels von rs6195 eingeschlossen werden. Bei lediglich sechs heterozygoten Trägern wurde daher auf eine statistische Auswertung verzichtet. Eine exakte Darstellung zeigt Tabelle 10.

SNP	rs41423247	rs10052957	rs6190	rs6195	rs6198	rs12054797
<b>Häufigkeiten</b>	CC 43	CC 46	GG 95	AA 89	AA 62	GG 59
	C/G 42	C/T 43		A/G 6	A/G 30	G/A 31
	GG 10	TT 6			GG 3	AA 5

Tabelle 10

Bemerkenswerterweise fanden sich Patienten, die Träger mehrerer untersuchter minor Allele waren.

Pat. 17: rs41423247, rs12054797

Pat. 18: rs41423247, rs10052957, rs12054797

Pat. 62: rs10052957, rs6198

Pat. 72: rs10052957, rs6198

Pat. 80: rs10052957, rs6198

Dementsprechend waren alle eingeschlossenen homozygoten Träger des minor Allels von rs6198 auch Träger des minor Allels rs10052957.

#### 4.4. Ergebnisse *BclI* – rs41423247

Beim untersuchten SNP rs41423247 ließen sich bei homozygoten Trägern des minor Allels „GG“ signifikante Unterschiede sowohl im klinischen als auch im psychometrischen Bereich gegenüber Nicht- und heterozygoten Trägern feststellen. So war das GG-Allel mit einem niedrigeren BMI und höheren maximalen Blutglucosekonzentrationen intraoperativ vergesellschaftet. Die Patienten bedurften einem größeren Volumen an infundierten Thrombozyten sowie FFPs, zudem benötigten sie jeweils signifikant häufiger die Transfusion zumindest eines solchen Blutproduktes. Es zeigte sich ein Trend zu einer häufiger durchgeführten Hydrocortisongabe, die sich jedoch nicht als signifikant herausstellte. Dies zeigte sich sowohl intraoperativ als auch auf der Intensivstation. In Bezug auf die verabreichte Hydrocortisondosis waren keine statistischen Unterschiede feststellbar. Signifikant erhöhte Lactat-Serumspiegel intraoperativ sowie bei der Verlegung auf die ICU konnten ebenfalls detektiert werden. Bei den Serumcortisol-Spiegeln zeigt sich zum postoperativen Zeitpunkt ein Trend zu erhöhten Werten der „GG“-Träger, der jedoch nicht statistisch signifikant war.

Die Tabellen 11 und 12 zeigen eine Übersicht über die diversen Parameter.

Klinische Parameter	rs41423247 CC/CG n=85	rs41423247 GG n=10	p-Wert
<b>BMI</b>	27.35±4.26	24.65±2.05	0.031
<b>Volumen infundierter Thrombozyten intraoperativ (ml)</b>	182.14±283.34 n=84	370.00±275.08	0.015
<b>Volumen infundierter Thrombozyten postoperativ (ml)</b>	21,43±112,02 n=84	90,00±114,91	0.005
<b>Volumen infundierter FFPs (ml)</b>	647,06±946,72	1225,00±811,81	0.021
<b>Maximale Blutglucosekonzentration intraoperativ</b>	163.49±37.80 n=83	189.10±28.04	0.017
<b>Hydrocortisondosis intraoperativ (mg/kg KG)</b>	0,61±0,80	0,99±0,72	0,204
<b>Hydrocortisondosis in der ICU (mg/kg KG)</b>	1.346±2.583	0.405±0.721	0.436
<b>Hydrocortisondosis gesamt (mg/kg KG)</b>	1,96±3,03	1,39±1,19	0,555
<b>Maximaler Lactat-Serumspiegel intraoperativ (mmol/l)</b>	2,66±1,91 n=83	3,75±1,82	0,023
<b>Lactat-Serumspiegel bei Aufnahme auf die ICU (mmol/l)</b>	2.97±2.16 n=83	4.46±2.50	0.047
<b>Cortisol-Serumspiegel präoperativ (µg/dl)</b>	15,80±6,00 n=74	14,64±6,31	0,619
<b>Cortisol-Serumspiegel postoperativ (µg/dl)</b>	39,80±30,40 n=82	58,57±31,51	0,057
<b>Cortisol-Serumspiegel POD1 (µg/dl)</b>	64,42±38,80 n=81	55,32±17,44 n=9	0,962

<b>Dauer antibiotischer Behandlung (Tage)</b>	1,26±3,12	0,00±0,00	0,071
<b>LOS ICU (h)</b>	75,38±103,73	49,35±31,11	0,903
<b>LOS IMC (h)</b>	37,92±26,00 n=71	41,17±31,70 n=9	0,964
<b>LOS von der Aufnahme bis zur Entlassung (d)</b>	15,88±8,89	17,10±5,63	0,161

Tabelle 11

<b>Klinische Parameter</b>	<b>rs41423247 CC/CG n=85</b>	<b>rs41423247 GG n=10</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Gabe von FFPs intraoperativ (ja/nein)</b>	37/48	8/2	0,043
<b>Gabe von TKs intraoperativ (ja/nein)</b>	30/55	8/2	0,013
<b>Gabe von Hydrocortison intraoperativ (ja/nein)</b>	33/52	7/3	0,089
<b>Gabe von Hydrocortison intraoperativ und/oder auf der ICU (ja/nein)</b>	42/43	8/2	0,096
<b>Gabe eines ACE-Inhibitors (ja/nein)</b>	33/52	7/3	0,089

Tabelle 12

Bei den psychometrischen Parametern wird über die Ergebnisse, die mittels Imputation zustande gekommen sind berichtet; hierdurch wurden im Vergleich zum Originaldatensatz keine Grenzwerte der Signifikanz über- oder unterschritten, jedoch ist von einer besseren näherungsweisen Abbildung der Ergebnisse auszugehen, wie bereits unter [3.7](#) beschrieben.

Psychometrisch konnte bei den homozygoten Trägern des minor-Allels ein signifikant höherer PTSS-10 Score bei der Verlegung von der ICU gezeigt werden. Unterschiede in Bezug auf die Anzahl traumatischer Erinnerungen oder gesundheitsbezogener Lebensqualität zu den einzelnen Erhebungszeitpunkten waren nicht signifikant. Eine Übersicht der Ergebnisse ist erneut tabellarisch dargestellt.

<b>Psychometrische Parameter</b>	<b>rs41423247 CC/CG n=85</b>	<b>rs41423247 GG n=10</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Anzahl traumatischer Erinnerungen präoperativ</b>	1,27±0,90	1,30±0,95	0,866
<b>Anzahl traumatischer Erinnerungen bei der Verlegung von der ICU</b>	1,41±1,20	1,34±0,94	0,990

Anzahl traumatischer Erinnerungen 6 Monate postoperativ	0,13±0,32	0,32±0,47	0,152
PTSS-10 Score präoperativ	22,93±8,92	24,40±10,94	0,832
PTSS-10 Score bei der Verlegung von der ICU	21,85±8,75	29,16±8,92	0,019
PTSS-10 Score 6 Monate postoperativ	21,83±9,20	20,47±7,30	0,870
Körperlicher Summenscore SF-36 präoperativ	40,74±10,09	41,91±9,44	0,874
Psychischer Summenscore SF-36 präoperativ	49,33±9,85	48,28±7,08	0,443
Körperlicher Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ	45,61±9,08	47,75±6,02	0,794
Psychischer Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ	49,03±10,10	47,56±6,94	0,405

Tabelle 13

#### 4.5. Ergebnisse TthIII/ – rs10052957

Auch der SNP rs10052957 erbrachte signifikante Ergebnisse sowohl diverser klinischer als auch einiger psychometrischer Parameter. Homozygote Träger „TT“ dieses SNPs erhielten signifikant höhere Hydrocortison-Dosen intraoperativ. Zudem benötigten diese Patienten höhere maximale Dosen und längere Anwendungsdauern sowohl von Epinephrin als auch von Norepinephrin. Des Weiteren wurden größere Volumina von infundiertem Cellsaver-Blut, Thrombozytenkonzentraten und FFPs appliziert, was statistisch signifikant war oder einen (grenzwertigen) statistischen Trend darstellte. Tendenziell benötigten die minor-Allel-Träger eine höhere Anzahl an IE PPSB. Eine genaue Aufstellung ist der Tabelle 14 zu entnehmen.

Klinische Parameter	rs10052957 CC/CT n=89	rs10052957 TT n=6	p-Wert
Cellsaver-Blut (ml)	478,69±318,64	1067,00±794,60	0,008
Volumen infundierter Thrombozyten intraoperativ (ml)	192,05±288,96 n=88	350,00±255,83	0,066
Volumen infundierter FFPs intraoperativ (ml)	646,07±858,45	1625,00±1671,45	0,103
Postoperative Gabe von PPSB (IE)	19,32±138,01 n=88	166,67±408,25	0,054
Cortisol-Serumspiegel präoperativ (µg/dl)	15,57±5,98 n=79	17,16±6,95 n=5	0,472
Cortisol-Serumspiegel postoperativ (µg/dl)	40,57±30,58 n=86	60,07±32,54	0,094
Cortisol-Serumspiegel POD1 (µg/dl)	62,88±37,93 n=84	72,33±26,84	0,145
Hydrocortison-Dosis intraoperativ (mg)	49,70±61,45	99,13±78,02	0,038

Hydrocortison-Dosis intraoperativ (mg/kg)	0,61±0,77	1,24±1,00	0,059
Hydrocortisondosis in der ICU (mg/kg KG)	1,14±2,27	2,90±4,53	0,128
Hydrocortisondosis gesamt (mg/kg KG)	1,75±2,67	4,14±5,02	0,102
Kumulative Intraoperative Epinephrin-Dosis (mg/min)	0,60±0,72	1,74±1,91	0,024
Dauer der intraoperativen Epinephrin-Gabe (min)	91,30±72,83	210,83±123,90	0,011
Epinephrin-Dosis (mg/kg KG/min)	$5,34 \times 10^{-5} \pm 5,15 \times 10^{-5}$	$8,15 \times 10^{-5} \pm 3,22 \times 10^{-5}$	0,084
Dauer der Epinephrin-Gabe in der ICU (h)	10,70±18,36	27,00±37,76	0,060
Max. intraoperative Norepinephrin-Dosis (mg/h)	1,17±0,53	1,57±0,36	0,043
Kumulative Norepinephrin-Dosis intraoperativ (mg)	3,62±1,96	5,65±3,33	0,052
Norepinephrin-Dosis (mg/kg KG/min)	$1,3 \times 10^{-4} \pm 0,53 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-4} \pm 0,52 \times 10^{-4}$	0,042
Max. Norepinephrin-Dosis auf der ICU (µg/kg KG/min)	0,14±0,08	0,42±0,60	0,080
Maximum dose of norepinephrine (mg/h) ICU	0,68±0,42	2,20±3,34	0,105
LOS ICU (h)	67,56±81,224	148,00±245,640	0,354
LOS ICM (h)	37,72±26,964 n=75	46,80±17,726 n=5	0,310
LOS von der Aufnahme bis zur Entlassung (d)	15,49±7,406	23,67±18,587	0,112

Tabelle 14

Bei homozygoten Trägern fiel statistisch signifikant häufiger die Entscheidung zumindest ein Thrombozytenkonzentrat zu verabreichen. Diese Patientengruppe war zudem signifikant seltener mit einer arteriellen Hypertonie vorerkrankt.

Klinische Parameter	rs10052957 CC/CT n=89	rs10052957 TT n=6	p-Wert
Gabe von TKs intraoperativ (ja/nein)	33/56	5/1	0,036
Hämodialyse (ja/nein)	0/89	1/5	0,063
Arterielle Hypertonie (ja/nein)	70/19	2/4	0,029

Tabelle 15

Auf der psychometrischen Ebene zeigten die Daten einen signifikant höheren PTSS-10 Score bei der Verlegung von der ICU im Sinne einer höheren psychischen Belastung der

homozygoten Träger. Eine Reduktion dieses Scores im 6-Monats-follow-up führte dazu, dass dieser Unterschied zu ebenjenem Zeitpunkt nicht mehr signifikant war.

Es zeigte sich, dass diese Patienten bereits präoperativ eine schlechtere allgemeine Gesundheitswahrnehmung besaßen, auch wenn dieser Effekt sich nur als Tendenz und nicht als statistisch signifikant erwies. Allerdings konnten sie im Vergleich mit heterozygoten Trägern bzw. Nichtträgern eine statistisch signifikant größere Verbesserung dieser Wahrnehmung im Vergleich der prä- und postoperativen Werte erreichen.

<b>Psychometrische Parameter</b>	<b>rs10052957 CC/CT n=89</b>	<b>rs10052957 TT n=6</b>	<b>p-Wert</b>
Anzahl traumatischer Erinnerungen präoperativ	1,26±0,90	1,33±1,032	0,922
Anzahl traumatischer Erinnerungen bei der Verlegung von der ICU	1,41±1,18	1,40±1,20	0,863
Anzahl traumatischer Erinnerungen 6 Monate postoperativ	0,13±0,32	0,53±0,52	0,007
PTSS-10 Score präoperativ	22,69±9,06 n=83	29,80±14,24 n=5	0,209
PTSS-10 Score Verlegung von ICU	22,05±9,27 n=81	31,80±8,70 n=5	0,025
PTSS-10 Score 6 Monate postoperativ	21,51±9,68 n=79	26,33±10,79 n=3	0,311
Körperlicher Summenscore SF-36 präoperativ	41,04±11,21 n=72	38,30±10,23 n=5	0,608
Psychischer Summenscore SF-36 präoperativ	49,60±10,39 n=72	43,74±14,00 n=5	0,369
Körperlicher Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ	45,68±9,92 n=74	49,68±5,15 n=3	0,700
Psychischer Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ	49,29±10,67 n=74	38,50±13,65 n=3	0,130
Differenz körperlicher Summenscore SF-36 Postoperativ-Präoperativ	4,53±11,40 n=59	13,52±8,53 n=3	0,189
SF-36 Allg. Gesundheitswahrnehmung (0-100) prä-OP	58,12±16,70 n=83	46,06±15,18	0,098
SF-36 Allg. Gesundheitswahrnehmung (0-100) 6 Monate postoperativ	63,54±18,54 n=78	65,33±2,89 n=3	0,802
Differenz Allg. Gesundheitswahrnehmung prä- vs. post-OP	4,54±20,09 n=73	30,67±9,02 n=3	0,016

Tabelle 16

Homozygote Träger erfüllten bei der Verlegung von der Intensivstation signifikant häufiger das Kriterium für ein PTSD-Risiko. Hierbei handelte es sich tendenziell auch häufiger um ein neu aufgetretenes PTSD-Risiko. Traumatische Erinnerungen fanden sich signifikant häufiger bei

homozygoten Trägern, zudem kam es signifikant seltener zu einer Abnahme der Anzahl der traumatischen Erinnerungen nach 6 Monaten im Vergleich zu präoperativ.

Psychometrische Parameter	rs10052957 CC/CT n=81	rs10052957 TT n=5	p-Wert
PTSD-Risiko bei der Verlegung von der ICU (ja/nein)	10/71	3/2	0,023
Imputation n=89/6:	10/79	3/3	0,032
Neu aufgetretenes PTSD-Risiko bei der Verlegung von der ICU (ja/nein)	7/74	2/3	0,083
Imputation:	7/82	2/4	0,098
Traumatische Erinnerungen 6 Monate postoperativ (ja/nein)	10/71	3/2	0,023
Imputation:	18/71	4/2	0,024

Tabelle 17

Psychometrische Parameter	rs10052957 CC/CT	rs10052957 TT	p-Wert
Anzahl traumatischer Erinnerungen nach 6 Monaten im Vergleich zu präoperativ	Keine Veränderung	19	2
	Zunahme	0	1
	Abnahme	62	2
	Gesamt	81	5
Imputation:	Keine Veränderung	19	2
	Zunahme	0	1
	Abnahme	70	3
	Gesamt	89	6

Tabelle 18

#### 4.6. Ergebnisse 9ß - rs6198

Die homozygoten Träger „GG“ des SNP rs6198, die alle auch homozygote Träger des minor Allels des SNP rs10052957 waren, benötigten höhere Dosen von Norepinephrin intraoperativ sowie höhere Volumengaben an Cellsaver-Blut sowie von Thrombozytenkonzentraten. Die intraoperativen Maximalserumspiegel von Glucose waren tendenziell höher. Die Cortisol-Serumspiegel und die applizierten Hydrocortison-Dosen unterschieden sich statistisch nicht signifikant. Es bestand eine leichte Tendenz zu einem längeren Gesamtaufenthalt in der Klinik.

Klinische Parameter	rs6198 AA/AG n=92	rs6198 GG n=3	p-Wert
Cellsaver-Blut (ml)	488,21±323,11	1363,33±1075,19	0,018
Volumen infundierter Thrombozyten intraoperativ (ml)	192,31±285,28 n=91	500,00±173,21	0,032
Maximaler Glucose-Serumspiegel intraoperativ (mg/dl)	164,90±36,97 n=90	206,67±41,00	0,055
Cortisol-Serumspiegel präoperativ (µg/dl)	15,57±5,93 n=81	18,02±9,11	0,417
Cortisol-Serumspiegel postoperativ (µg/dl)	41,37±31,27 n=89	55,86±11,06	0,222
Cortisol-Serumspiegel POD1 (µg/dl)	63,15±37,31 n=87	73,86±41,70	0,451
Hydrocortison dosis intraoperativ (mg/kg KG)	0,63±0,78	1,35±1,20	0,123
Hydrocortison dosis in der ICU (mg/kg KG)	1,13±2,24	4,92±6,17	0,137
Hydrocortison dosis gesamt (mg/kg KG)	1,75±2,64	6,27±6,85	0,184
Bilanz Urin (ml)	1561,74±698,67	2933,33±1301,28	0,029
Norepinephrine during surgery/kg/min	1,31 x 10 <sup>-4</sup> ±0,52 x 10 <sup>-4</sup>	2,11 x 10 <sup>-4</sup> ±0,13 x 10 <sup>-4</sup>	0,009
Postoperative Gabe von PPSB (IE)	18,68±135,74 n=91	333,33±577,35	0,003
Dauer Hämodialyse (d)	0±0	0,33±0,58	0,000
LOS ICU (h)	67,22±79,956	239,00±354,360	0,509
LOS ICM (h)	37,77±26,555 n=78	58,50±17,678 n=2	0,253
LOS von der Aufnahme bis zur Entlassung (d)	15,52±7,32	31,00±26,00	0,098

Tabelle 19

Träger des GG-Allels wurden signifikant häufiger einer hämodialytischen Therapie zugeführt und litten signifikant seltener an einem arteriellen Hypertonus. Sie zeigten zudem statistische Trends zum häufigeren Vorhandensein einer Aortenstenose als Vorerkrankung sowie zur Gabe mindestens eines Thrombozytenkonzentrates im Verlauf des Krankenhausaufenthaltes im Vergleich zu heterozygoten Trägern bzw. Nichtträgern.

Klinische Parameter	rs6198 AA/AG n=92	rs6198 GG n=3	p-Wert
Gabe von TKs intraoperativ (ja/nein)	35/57	3/0	0,061
Aortenstenose (ja/nein)	34/58	3/0	0,056
Arterieller Hypertonus (ja/nein)	72/20	0/3	0,013
Hämodialyse (ja/nein)	0/92	1/2	0,032

Tabelle 20



Die körperlichen und psychischen Summenscores des SF-36 Instruments unterschieden sich prä- und postoperativ nicht, allerdings konnten auf der Seite der GG-Träger präoperativ lediglich zwei Datensätze und postoperativ ein einzelner Datensatz zur Statistik herangezogen werden, sodass die Aussagekraft dieser Vergleiche deutlich eingeschränkt ist und darauf verzichtet wird, dies tabellarisch exakt darzustellen. Für die Anzahl der traumatischen Erinnerungen standen zu den Zeitpunkten Verlegung von der ICU und sechs Monate postoperativ zwei Datensätze der GG-Träger zur Verfügung. Es stellten sich hierbei keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Anzahl der traumatischen Erinnerungen dar, jedoch kam es bei Nicht-Trägern bzw. heterozygoten Trägern zu einer signifikanten Abnahme der traumatischen Erinnerungen nach sechs Monaten.

Psychometrische Parameter	rs6198 AA/AG n=92	rs6198 GG n=3	p-Wert
Anzahl traumatischer Erinnerungen präoperativ (Imputation)	1,27±0,89	1,33±1,53	0,910
Anzahl traumatischer Erinnerungen bei der Verlegung von der ICU (Imputation)	1,42±1,18	1,14±1,03	0,828
Anzahl traumatischer Erinnerungen 6 Monate postoperativ (Imputation)	0,14±0,34	0,38±0,54	0,083
PTSS-10 Score präoperativ	23,02±9,54 n=85	25,00±7,94	0,585
PTSS-10 Score Verlegung von ICU	22,45±9,47 n=84	29,50±9,19 n=2	0,289
PTSS-10 Score 6 Monate postoperativ	21,53±9,65 n=81	34,00 n=1	0,220

Tabelle 21

Psychometrische Parameter		rs6198 AA/AG	rs6198 GG	p-Wert
Anzahl traumatischer Erinnerungen nach 6 Monaten im Vergleich zu präoperativ	Keine Veränderung	21	0	0,000
	Zunahme	0	1	
	Abnahme	63	1	
	Gesamt	84	2	
Imputation:	Keine Veränderung	21	0	0,000
	Zunahme	0	1	
	Abnahme	71	2	
	Gesamt	92	3	
Anzahl traumatischer Erinnerungen nach 6 Monaten im Vergleich zur Verlegung von der ICU	-4,00	1	0	0,014
	-3,00	4	0	
	-2,00	8	1	
	-1,00	18	0	
	,00	27	0	
	1,00	18	0	
	2,00	6	0	
	3,00	2	1	
	Gesamt	84	2	

Tabelle 22

#### 4.7. Ergebnisse Kontrolle – rs12054797

Der SNP rs12054797 zeigte entgegen den postulierten Annahmen des Untersuchungsansatzes signifikante Unterschiede einzelner Parameter, so zum Beispiel beim zur Kreislaufstabilisierung benötigten Einsatz einzelner Katecholamine. In diesem Kontext sei erneut erwähnt, dass von den fünf AA-Trägern zwei auch homozygote Träger des *BclI*-Polymorphismus waren. Bei homozygoten AA-Trägern wurde signifikant länger Vasopressin eingesetzt und dieses höher dosiert, zudem zeigte sich eine höhere Noradrenalinosis am ersten postoperativen Tag. Des Weiteren zeigte sich ein statistischer Trend, dass homozygote Merkmalsträger eher Hydrocortison auf der Intensivstation erhielten, wobei es keine Unterschiede in der Hydrocortisondosis während dieser Zeit gab.

Klinische Parameter	rs12054797 GG/GA n=90	rs12054797 AA n=5	p-Wert
Alter (Jahre)	67.52±9.00	64.80±17.98	0.701
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.18±4.14	25.02±4.29	0.334
Maximale Blutglucosekonzentration intraoperativ (mg/dl)	165.58±37.92 n=88	178.00±32.71	0.394
Cortisol-Serumspiegel präoperativ (µg/dl)	15,85±6,06 n=79	12,68±4,56	0,227
Cortisol-Serumspiegel postoperativ (µg/dl)	42,01±31,13 n=87	39,01±29,68	0,966
Cortisol-Serumspiegel POD1 (µg/dl)	63,25±37,71 n=85	67,87±31,61	0,679
Hydrocortisondosis intraoperativ (mg/kg KG)	0,64±0,79	0,80±1,09	0,669
Hydrocortisondosis in der ICU (mg/kg KG)	1.26±2.53	1.03±0.79	0.187
Hydrocortisongesamtdosis (mg/kg KG)	1.90±2.96	1.82±1.49	0.407
Lactat-Serumspiegel bei Aufnahme auf die ICU (mmol/l)	3.15±2.29 n=88	2.69±0.85	0.733
Delirium Dauer (d)	0.33±0.91	0.40±0.55	0.203
Vasopressindosis intraoperativ	1,78±3,33	4,61±4,11	0,032
Dauer der Vasopressingabe	50,89±83,64	139,40±102,22	0,022
Gesamtdosis Noradrenalin auf der ICU POD1/ kg KG	0,026±0,072 n=89	0,083±0,10	0,034
Kumulativedosis Noradrenalin auf der ICU POD1 (mg)	2,32±6,54 n=89	5,92±6,04	0,036
LOS ICU (h)	73,50±101,413	57,20±22,565	0,611
LOS ICM (h)	38,34±26,345 n=76	37,38±33,619 n=4	0,642
LOS von der Aufnahme bis zur Entlassung (d)	15,99±8,740	16,40±5,683	0,498

Tabelle 23

<b>Klinische Parameter</b>	<b>rs12054797 GG/GA n=90</b>	<b>rs12054797 AA n=5</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Einsatz von Vasopressin (ja/nein)</b>	28/62	4/1	0,043
<b>Einsatz von Hydrocortison in der ICU (ja/nein)</b>	31/59	4/1	0,060

*Tabelle 24*

Bei den psychometrischen Parametern zeigte sich lediglich der Wert der emotionalen Rollenfunktion 6 Monate postoperativ statistisch signifikant.

<b>Psychometrische Parameter</b>	<b>rs12054797 GG/GA n=90</b>	<b>rs12054797 AA n=5</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Anzahl traumatischer Erinnerungen präoperativ (Imputation)</b>	1,27±0,88	1,20±1,30	0,762
<b>Anzahl traumatischer Erinnerungen bei der Verlegung von der ICU (Imputation)</b>	1,44±1,18	0,88±0,88	0,348
<b>Anzahl traumatischer Erinnerungen 6 Monate postoperativ (Imputation)</b>	0,15±0,34	0,23±0,44	0,390
<b>PTSS-10 Score präoperativ</b>	23,06±9,18	23,60±8,35	0,854
<b>PTSS-10 Score Verlegung von ICU</b>	22,60±9,07	22,92±8,72	0,894
<b>PTSS-10 Score 6 Monate postoperativ</b>	22,01±9,08	15,80±4,82	0,118
<b>Körperlicher Summenscore SF-36 präoperativ</b>	41,04±10,96 n=74	36,58±16,61 n=3	0,505
<b>Psychischer Summenscore SF-36 präoperativ</b>	49,10±10,77 n=74	52,00±7,91 n=3	0,775
<b>Körperlicher Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ</b>	45,52±9,86 n=73	51,62±6,94 n=4	0,179
<b>Psychischer Summenscore SF-36 6 Monate postoperativ</b>	48,49±11,05 n=73	55,76±3,68 n=4	0,211
<b>SF-36 Emotionale Rollenfunkt. (0-100) 6-Monate postop</b>	61,40±44,24 n=76	100,00±0,00	0,050

*Tabelle 25*

## 5. Diskussion

### 5.1. Grundsätzliche Aussagen:

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir den Einfluss hypothesebasiert ausgewählter SNPs des Glucocorticoidrezeptor-Gens NR3C1 auf klinische und biochemische Variablen sowie psychometrisches Outcome bei herzchirurgischen Patienten. Der Glucocorticoidrezeptor wird ubiquitär in nahezu allen Geweben exprimiert, sodass er eine Vielzahl von Regulationsmechanismen beeinflusst.

Endogen ausgeschüttete sowie exogen zugeführte Glucocorticoide beeinflussen die neuronale Verarbeitung des Gehirns im Rahmen einer kritischen Erkrankung und somit das psychometrische Outcome nach einer solchen kritischen Erkrankung. Sie haben über Regulationsmechanismen in diversen Hirnregionen Einfluss auf das Auftreten von Delir, angstbesetzten Erinnerungen, PTSD, Depression und Angststörungen<sup>2</sup>.

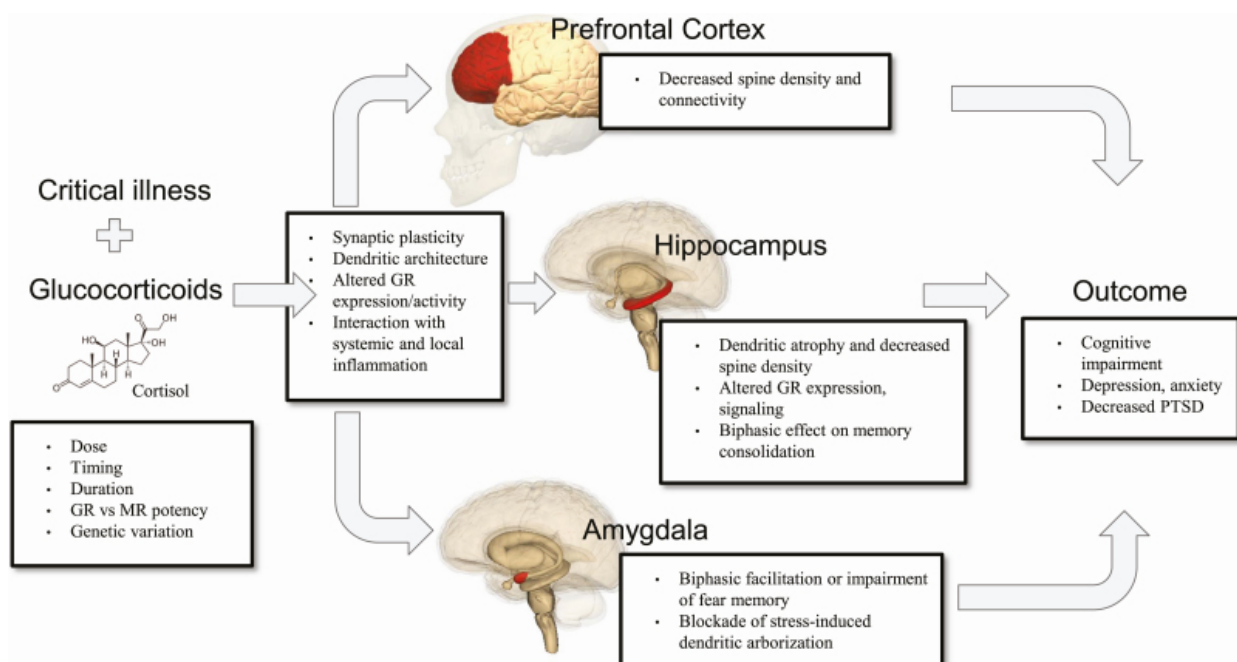


Abbildung 9: Endogene und exogene Glucocorticoide üben direkten und indirekten Einfluss auf die Hirnfunktion von Patienten nach kritischer Erkrankung aus. Effekte auf den präfrontalen Kortex, den Hippocampus und die Amygdala können zu kognitiven Einschränkungen führen und die Entstehung ängstlich-depressiver Erkrankungen begünstigen. Auf dem Boden von neuronaler Plastizität, veränderter GR-expression bzw. -aktivität und Interaktion mit lokaler und systemischer Inflammation entfalten sich diese Wirkungen. GC könnten die Entwicklung von PTSD zudem über eine Blockade von stress-induziertem Wachstum von dendritischen Zellen in der Amygdala verhindern<sup>2</sup>.

Auch auf klinische und biochemische Variablen hat das Glucocorticoidsystem bzw. genetische Veränderungen innerhalb dieses Systems variablen Einfluss: Mit Hinblick auf die Tatsache, dass das Glucocorticoidsystem auch für Wachstum und Entwicklung entscheidende Funktionen innehat, wurden bei einer umfassenden Studie insgesamt 2414 Kinder auf bekannte SNPs untersucht. Betrachtete Faktoren umfassten fetales, Geburts-, frühes postnatales Gewicht, Kopflänge und –umfang sowie der Wachstumsverlauf bis 24 Monate nach Geburt. Hierbei wurden jedoch keine Assoziationen zu pathologischen Geschehnissen festgestellt (rs41423247, rs10052957, rs6198, rs6195, rs6190).<sup>68</sup>

Für die SNPs rs41423247, rs10052957, rs6195 und rs6190 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden Kindern und solchen mit Asthma, sowie keine Unterschiede hinsichtlich der benötigten Cortison-Inhalationsdosis<sup>70</sup>. Obwohl die auch durch uns untersuchten SNPs einen Effekt auf den menschlichen Metabolismus haben, so lässt die Studienlage keinen klaren Effekt auf kardiovaskuläre Erkrankungen und Überleben im höheren Alter erkennen<sup>73,74</sup>. Allerdings können die SNPs beispielsweise abdominale Fettleibigkeit<sup>75,76</sup>, Blutdruckwerte<sup>77</sup> und das Risiko für ein metabolisches Syndrom<sup>78</sup> negativ beeinflussen und damit bekannte Risikofaktoren für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit. Zudem konnte bei Patienten unter Therapie mit Glucocorticoiden eine Assoziation von hypersensitivem Glucocorticoid-Rezeptor und den negativen Konsequenzen dieser Therapie (erhöhter BMI, erhöhte abdominale Fettleibigkeit und Vorhandensein eines metabolischen Syndroms) gezeigt werden<sup>79</sup>. Die Assoziation des Glucocorticoidrezeptors sowie dessen veränderter Sensitivität mit PTSD, Depression und psychometrischem Outcome sind hinlänglich bekannt<sup>15,80</sup> und weiterhin Gegenstand intensiver Forschung<sup>81,82</sup>. Es stellte sich heraus, dass in PTSD-Patienten eine Überexpression des NR3C1-Gens stattfindet und dies einen potentiellen Surrogatparameter darstellen könnte<sup>81</sup>. Auf molekularer Ebene konnte gezeigt werden, dass eine Überexpression des NR3C1-Gens die Expression und das Splicing von Genen beeinflusst, die an Inflammationsprozessen und der Entstehung von PTSD beteiligt sind<sup>82</sup>.

Aufgrund der Mannigfaltigkeit der vom Glucocorticoidsystem beeinflussten Prozesse und Regulationsmechanismen stellten die zahlreichen untersuchten psychometrischen, biochemischen und klinischen (Outcome-)Parameter eine breitgefächerte Untersuchungsgrundlage dar. Die Auswahl der untersuchten SNPs erfolgte neben der bekannten funktionellen Effekte auch aufgrund der Häufigkeit ihres Auftretens in der kaukasischen Bevölkerung. In unsere Studienpopulation konnten bei vier der sechs

untersuchten SNPs homozygote Träger des minor-Allels eingeschlossen und deren Einfluss auf ebenjene Parameter untersucht werden.

## 5.2. *BclI* – rs41423247

rs41423247 ist auch als *BclI* Polymorphismus bekannt und ist ein häufig vorkommender SNP, der sich im GR-Gen NR3C1 (nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1) befindet. Es liegt ein C zu G Nukleotidaustausch im Intron 2, 645 Basenpaare unterhalb des Exons 2 vor<sup>83</sup>.

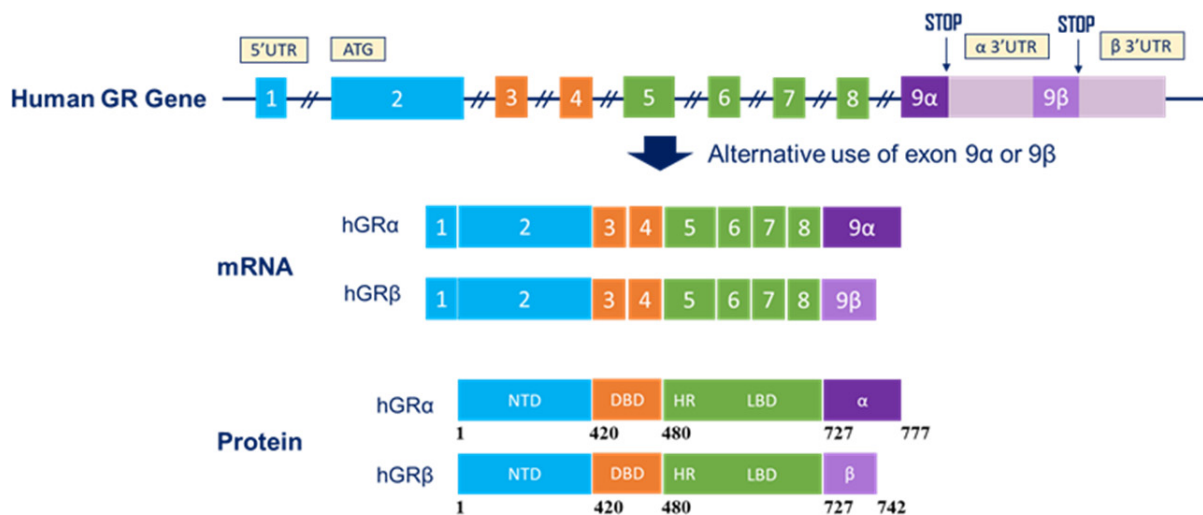


Abbildung 10: Struktur des GR-Gens, der mRNAs und resultierenden Proteine. Dargestellt sind die Exons 9α und 9β die durch alternatives Splicing unterschiedliche mRNAs generieren. Die resultierenden Proteine sind bis zur Position 727 identisch. GRα verfügt letztlich über 777 Proteine, GRβ über 742<sup>4</sup>.

NTD=N-terminale Transaktivierungsdomäne, DBD=DNA-bindende Domäne, LBD=ligandenbindende Domäne

Die Allelfrequenz (%) belief sich in einer Studie auf CC:57.9/CG:34.1/GG:8 (n=264)<sup>72</sup>. Der Nukleotidaustausch hat einen hypersensitiven Glucocorticoidrezeptor zur Folge<sup>15,84-86</sup>, was sich sowohl in einer deutlicheren Cortisolsuppression nach niedrigdosiertem DEX, als auch durch lokale Hautreaktion nach topischer GC-Anwendung zeigte<sup>85,87,88</sup>. Nachdem bereits in vitro-Testungen auf GC-Sensitivität Einschätzungen zu einem Ansprechen auf eine GC-Therapie geben können<sup>89,90</sup>, konnte darauffolgend eine Korrelation zwischen dem *BclI* Polymorphismus und einer in vitro festgestellten Hypersensitivität gezeigt werden<sup>91</sup>. Eine Typisierung könnte somit in Zukunft ein wichtiges diagnostisches Instrument darstellen, um eine Therapie entsprechend anpassen zu können: So könnte bei zu erwartenden Nonrespondern auf eine

unnötige Therapie verzichtet und eine – durch starke Nebenwirkungen – zuweilen sogar schädliche Therapie verhindert werden. Aber auch Responder könnten profitieren, indem durch angepasste Dosen die Gefahr der Toxizität leichter vermieden werden könnte, derer sie durch ihre Hypersensitivität stärker ausgesetzt sind. Der Einfluss des Polymorphismus sowohl auf diverse Krankheitsbilder als auch auf die entsprechende Therapie konnte bereits gezeigt werden: bei Mädchen mit idiopathischer juveniler Arthritis ist der *BclI*-Polymorphismus mit einem früheren Krankheitsbeginn, schlechterem Verlauf und stärkerer Entzündungsreaktion assoziiert<sup>92</sup>, bei Patienten mit zystischer Fibrose weisen homozygote Träger einen größeren Lungenschaden auf<sup>93</sup>. Der GG-Genotyp konnte außerdem mit Morbus Crohn<sup>94</sup> sowie besserem Ansprechen auf GC-Therapie bei Patienten mit Chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen<sup>95,96</sup> in Verbindung gebracht werden.

In unserer Studie zeigten sich der Einfluss des GC-Rezeptors auf den Stoffwechsel anhand signifikant niedrigerer body mass indices sowie signifikant höherer intraoperativer Blutglucosespiegel bei Trägern des GG-Allels. Es ist bereits vorbeschrieben, dass die Träger des GG-Allels einen erniedrigten BMI aufweisen, was auf einen größeren Verlust von lean body mass im Alter zurückgeführt wurde<sup>97</sup>. Andererseits wurde in der Vergangenheit auch festgestellt, dass die Träger einen erhöhten BMI<sup>3</sup>, in Relation zur Körpermasse mehr Körperfett und erhöhte Cholesterinwerte<sup>75</sup>, sowie eine erhöhte Insulinresistenz aufweisen<sup>98</sup>.

**Table 1.** Relationship of individual polymorphisms and fasting glucose concentration, insulin concentration, insulin resistance, body mass and general cardio-vascular risk

Polymorphism	Fasting glucose concentration	Insulin concentration	Insulin resistance	Body mass	General cardio-vascular risk
Polymorphism N363		↑ (Huezinga 1998)		↑ (Huezinga 1998, Lin 1999, di Blasio 2003)/no influence (Rosmond 2001)	
Polymorphism BclI	↑ (Weaver 1992)	↑ (Weaver 1992)	↑ (Weaver 1992) ↑ (Gleene 2013)	↑ (Rosmond 2000), ↑ Tremblay et al. ↑ Gleene 2013 ↑ Barat 2012	
Polymorphism ER22/23EK		↓ (van Rossum 2002)	↓ (van Rossum 2002)	↓ WHR (van Rossum 2004)	↓ (van Rossum 2004, Kuningas 2006)

*Abbildung 11: Einfluss diverser Polymorphismen auf den Nüchternblutzucker, Insulinkonzentrationen, Insulinresistenz, BMI und kardiovaskuläres Risiko. Unveränderte Tabelle aus A. Majer-Lobodzińska and J. Adamiec-Mroczek Glucocorticoid receptor polymorphism in obesity and glucose homeostasis Adv Clin Exp Med 2017<sup>3</sup>*

In einer Studie mit großer Teilnehmerzahl an Senioren zeigten solche mit dem G-Allel niedrigere Cortisolspiegel nach dem Dexamethason-Suppressionstest (DST) sowie tendenziell einen höheren Blutdruck, eine veränderte Insulinsensitivität und veränderte

Körperfettdistribution<sup>85</sup>. Weitere Veröffentlichungen beschreiben eine Assoziation des SNPs mit höheren BMI-Werten<sup>71,99</sup> und mit niedrigeren Blutglucosespiegeln<sup>71</sup>, obgleich diese Beobachtung im Rahmen einer routinemäßigen Untersuchung stattfand und dadurch keine gute Vergleichbarkeit mit der ausgeprägten Stresssituation eines herzchirurgischen Eingriffes wie in unserer Studie besteht. Zudem stand der Blutglucosespiegel in unserer Studie zum Teil unter der Beeinflussung durch eine Hydrocortison-Gabe. Die Hydrocortisondosis unterschied sich nicht zwischen homozygoten GG-Trägern und heterozygoten bzw. Nicht-Trägern des G-Allels, jedoch zeigte sich ein statistischer Trend, dass bei homozygoten GG-Trägern der Entschluss zu einer solchen Therapiemaßnahme überhaupt durchzuführen häufiger fiel.

Ein höherer BMI besteht des Weiteren bei homozygoten Merkmalsträgern unter Ersatztherapie bei Morbus Addison<sup>100,101</sup> sowie bei Patienten mit Morbus Cushing<sup>102</sup>. Der unterschiedliche Einfluss der Rezeptorsensitivität an Zielgeweben und auf die Regulationsmechanismen der HPA-Achse könnten eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Folgen eines hypersensitiven Rezeptors bei unterschiedlichen Krankheits- und Therapiekonstellationen darstellen.

Durch die intronische Natur des *BclI* -Polymorphismus stellt sich außerdem die Frage, auf welchem Wege dessen Auswirkungen herbeigeführt werden. Eine indirekte Wirkungsweise über Beeinflussung von Enhancer- oder Repressor-Stellen wird derzeit diskutiert<sup>93</sup>. Dadurch scheint auch eine variable Wirkung, also entweder Hyper- oder Hyposensitivität, welche gleichzeitig für die Gewebeart spezifisch ist, möglich<sup>103</sup>. Ein gewebspezifischer Einfluss des *BclI* SNP wird auch von Souza et al in Erwägung gezogen, die eine veränderte GC-Sensitivität in der HPA-Achse, jedoch nicht bei PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell, mononukleäre Zellen des peripheren Blutes) feststellen konnten<sup>104</sup>.

In unserer Untersuchung erhielten die homozygoten Träger des GG-Allels signifikant größere Volumina an Thrombozytenkonzentraten und FFPs, zudem fiel signifikant häufiger die Entscheidung überhaupt auf eine solche Therapie zurückzugreifen. Zudem hatten diese Patienten höhere maximale intraoperative Lactat-Serumspiegel sowie höhere Lactat-Serumspiegel bei der Aufnahme auf die Intensivstation. Ein größerer Volumenbedarf sowie höhere Lactat Spiegel sind Hinweise auf einen Bedarf nach einer intensivierteren Therapie zur Kreislaufstabilisierung und könnten Ausdruck einer größeren perioperativen Stressreaktion sein. In einer großen Multicenterstudie zur Sepsis konnte eine Reduktion der Sterblichkeit auf der ICU, im Krankenhaus und im 6-Monate-follow-up gezeigt werden, wenn bei Patienten im septischen Schock die Lactat-Spiegel >4 mmol/l waren und die Patienten eine GC-Therapie mittels Hydrocortison und Fludrocortison erhielten<sup>105</sup>. Inzwischen besteht daher die



Empfehlung einer Gabe von 200 mg Hydrocortison/d bei Patienten im schweren septischen Schock<sup>106</sup>. Auch in diesem Setting stellt sich daher die Frage, ob oder inwiefern eine veränderte Sensitivität des GR-Rezeptors klinische Outcomes beeinflusst und ob eine präoperative Testung auf die genetische Prädisposition therapeutische Konsequenzen haben könnte. Durch unsere Untersuchung konnte kein Einfluss des SNPs auf die Aufenthaltsdauer der Patienten auf der Intensivstation oder auf den Gesamtaufenthalt im Krankenhaus dokumentiert werden.

Die Cortisolspiegel der untersuchten Gruppen unterschieden sich nicht signifikant, jedoch zeigte sich ein statistischer Trend zu einem höheren Cortisolspiegel der homozygoten GG-Träger zum Zeitpunkt der Aufnahme auf die Intensivstation. Die Untersuchungsergebnisse unserer Arbeitsgruppe, die in der Vergangenheit bei homozygoten Merkmalsträgern des *BclII*-Polymorphismus bei der moderat stressigen präoperativen Situation niedrigere Plasmacortisolspiegel zeigen konnte<sup>15</sup>, konnten somit nicht bestätigt werden. Erniedrigte Plasmacortisolspiegel waren auch nach Durchführung eines psychologischen Stresstestes nachweisbar<sup>107</sup> und wären daher erwartbar gewesen.

Auch im psychometrischen Bereich konnte unsere Studie statistisch signifikante Unterschiede detektieren. Träger des GG-Allels zeigten zum Zeitpunkt der Verlegung von der Intensivstation einen signifikant höheren PTSS-10-Score, ohne präoperativ oder sechs Monate postoperativ einen relevanten Unterschied zu zeigen. Dies entspricht den Ergebnissen der Vorgängerstudie unserer Arbeitsgruppe<sup>15</sup>. Während die Werte der Träger des major-Allels sowie heterozygote Träger kaum Veränderungen ihrer Scores aufwiesen, so führte ein Anstieg der Werte unmittelbar nach dem Aufenthalt auf der Intensivstation zu der signifikanten Differenz, die durch ein Absinken der Werte sechs Monate später nicht mehr zu beobachten war. Diverse Wechselwirkungen zwischen der Psyche und dem untersuchten *BclII*-Polymorphismus sind bereits vorbeschrieben worden. Es besteht eine Assoziation zu Depression<sup>76,86</sup> und eine Korrelation zu einer größeren Ausprägung einer PTSD<sup>108</sup>. Auch ein Einfluss auf die therapeutischen Maßnahmen bei solchen Erkrankungen konnte gezeigt werden, so beispielsweise ein vermindertes Ansprechen auf eine medikamentöse antidepressive Therapie mittels Paroxetin<sup>109</sup>, was einem verbesserten Ansprechen auf Fluvoxamin<sup>110</sup> entgegensteht. Nachdem mit dem ER22/23EK-Polymorphismus auch ein hyposensitiv veränderter Rezeptor mit Depressionen assoziiert ist<sup>86</sup> wäre denkbar, dass die Störung der HPA-Achse an sich die Suszeptibilität zu psychiatrischen Erkrankungen erhöht. Möglicherweise ist hierbei zweitrangig, ob der Glucocorticoidrezeptor eher hypo- oder hypersensitiv verändert ist. Nachdem die psychometrischen Unterschiede erst nach der stressreichen Intervention nachzuweisen waren, darf diese Gen-Umwelt-Interaktion nicht außer Acht gelassen werden.

Neben einer Kriegserfahrung mit höheren PTSD-Scores von minor-Allel-Trägern unter Vietnam-Veteranen<sup>108</sup> als klassisch untersuchtem Stressor gibt es inzwischen weitreichendere Untersuchungen. So konnte eine Interaktion des pränatalen Einflusses einer Hungersnot, dem *BcII*-Polymorphismus und traumatischen Erlebnissen im Erwachsenenalter auf die Ausprägung eines PTSD-Scores gezeigt werden<sup>111</sup>. Eine präoperative Testung könnte auch im Zusammenhang mit psychometrischen Outcome-Variablen in Zukunft von Relevanz sein. Eine intraoperative Gabe von hochdosiertem Dexamethason vor einem herzchirurgischen Eingriff scheint bei Patienten mit *BcII*-Polymorphismus einen protektiven Effekt auf die Entwicklung von PTSD-Symptomen zu haben<sup>112</sup>. Auch Vorläuferstudien unserer Forschungsgruppe konnten zeigen, dass eine Gabe von Stressdosen Hydrocortison zu signifikant niedrigeren PTSD-Stress-Scores und einer verbesserten gesundheitsbezogenen Lebensqualität führt<sup>113,114</sup>. Der zeitliche Verlauf der erhöhten Stressscores von Merkmalsträgern unmittelbar nach der Exposition gegenüber Stress deckt sich mit den Erkenntnissen einer koreanischen Studie, bei der diese in der Frühphase nach Erhalt einer Krebsdiagnose ein erhöhtes Risiko für Suizid aufwiesen, das nach einem Jahr nicht mehr nachweisbar war<sup>115</sup>.

### **5.3. *TthIII* – rs10052957**

Der SNP rs10052957 wird auch als *TthIII* bezeichnet. Es liegt ein G zu A Nukleotidaustausch vor mit Allelfrequenzen von GG 79%, GA 20% und AA 1%<sup>71</sup>. Die Position wird mit 2656 Basenpaaren oberhalb des Exon 1B in der 5'UTR (untranslated region; untranslatierte Region) angegeben<sup>83</sup>. Betroffene weisen eine erhöhte Glucocorticoidresistenz auf. Der kausale Zusammenhang der Resistenz ist hierbei eventuell nur modulierend bei gemeinsamer Vererbung mit dem ER22/23EK Polymorphismus zu erklären, die genaue Rolle der *TthIII*-Mutation wird noch diskutiert<sup>71</sup>.

In unserer Studie wurde Patienten, die homozygote Träger des minor-Allels waren, größere Volumina an Cellsaver-Blut verabreicht und es wurden höhere Dosen an Norepinephrin und Epinephrin zur Kreislaufstabilisierung benötigt, was eine größere Kreislaufinstabilität dieser Patienten nahelegt. Zudem erhielten diese Patienten höhere Hydrocortison Dosen intraoperativ, was diese Vermutung unterstützt, denn Glucocorticoid-Gaben können nicht nur eine schnellere Kreislaufstabilisierung im septischen Schock ermöglichen<sup>105</sup>, sondern sie finden auch im Rahmen von großen Eingriffen inkl. herzchirurgischen Eingriffen Anwendung zur Kreislaufstabilisierung<sup>116</sup>. Bei diesen Patienten fiel zudem signifikant häufiger die

Entscheidung zur Verabreichung eines Thrombozytenkonzentrates. Es bestanden statistische Trends zu einem größeren verabreichten Volumen an Thrombozytenkonzentraten sowie der Menge an verabreichten internationalen Einheiten PPSB. Inwiefern der perioperative Einsatz von Glucocorticoiden perioperative Blutungen beeinflusst, bleibt ein umstrittenes Thema. Bei Eingriffen mit perioperativer Blutungsneigung wie Tonsillektomien lehnen diverse Meta-Analysen die Hypothese einer Assoziation einer Dexamethason-Gabe zu Blutungsereignissen mehrheitlich ab<sup>117</sup>. Eine präoperative GC-Gabe vermag den perioperativen Blutverlust bei einer operativen Versorgung bei Polyposis nasi vermindern<sup>118</sup>. Der stattgefunden Blutverlust war bedauerlicherweise nicht Bestandteil unserer Datenerhebung. Homozygote Träger des minor-Allels waren in unserer Studie statistisch signifikant seltener an einem arteriellen Hypertonus vorerkrankt. Dies deckt sich mit Erkenntnissen einer chinesischen Studie, die einen erniedrigten systolischen Blutdruck zeigen konnte<sup>71</sup>.

Hinsichtlich der psychometrischen Parameter zeigten sich ebenso statistisch signifikante Unterschiede zwischen homozygoten minor-Allel-Trägern und der restlichen Studienpopulation. „AA“-Träger hatten zum Zeitpunkt der Verlegung von der Intensivstation signifikant höhere PTSS-10 Scores und überschritten dadurch signifikant häufiger den Grenzwert zur Erfüllung eines PTSD-Risikos. Dies steht im Gegensatz zu einer Studie an Kriegsveteranen, in der keine Assoziation zur Lebenszeitprävalenz von PTSD bei diesem SNP nachgewiesen werden konnte<sup>119</sup>. Die Anzahl der traumatischen Erinnerungen sechs Monate nach dem Eingriff war signifikant größer, mit einer signifikant größeren Wahrscheinlichkeit überhaupt eine solche traumatische Erinnerung zu haben. Möglicherweise ist dies bedingt durch eine schlechtere Verarbeitung möglicher traumatischer Erinnerungen auf der Intensivstation, da die Abnahme solcher Erinnerungen im zeitlichen Verlauf ebenfalls statistisch signifikant geringer war. Eine intraoperative Gabe von hochdosiertem Dexamethason während eines herzchirurgischen Eingriffes scheint bei Patienten mit *TthIII*-Polymorphismus einen protektiven Effekt auf die Entwicklung von PTSD-Symptomen zu haben<sup>112</sup>. Gleiches konnte für den hypersensitiven *BclII*-Polymorphismus beschrieben werden. In unserer Studie bekamen die homozygoten Träger des *TthIII*-Polymorphismus wie oben beschrieben höhere Hydrocortisondosen, ohne jedoch einen erkennbaren Effekt auf ein besseres psychometrisches Outcome zu haben. Dies lässt vermuten, dass eine Beeinflussung der HPA-Achse an sich und nicht ausschließlich ein hyper- bzw. hyposensitiv veränderter Rezeptor spezifische Effekte nach sich zieht, wie bereits unter [5.2](#) diskutiert. Präoperativ bestand bei den homozygoten Trägern des *TthIII*-Polymorphismus ein statistischer Trend zu einer schlechteren Bewertung der allgemeinen Gesundheitswahrnehmung, der sich sechs Monate postoperativ nicht mehr

nachweisen ließ. Dies beruhte auf einer deutlicheren Verbesserung dieser Scores im Vergleich, die sich als statistisch signifikant erwies. Einerseits scheinen AA-Träger also durch die chirurgische Intervention in besonderem Maße bezüglich ihrer gesundheitlichen Gesamtkonstitution zu profitieren. Andererseits könnte dies auch eher durch den präoperativ schlechteren Gesundheitszustand bedingt sein.

Von den sechs homozygoten Trägern des minor-Allels waren drei auch homozygote Träger des SNP rs6198 (s. Punkt 5.4.), sodass hier möglicherweise aggravierende Effekte einer Glucocorticoidresistenz zum Tragen kamen. Eine genauere Auseinandersetzung mit dieser Tatsache bietet das folgende Kapitel.

#### **5.4. 9 $\beta$ - rs6198**

Der als 9 $\beta$ -Polymorphismus oder A369G bekannte SNP rs6198 befindet sich im Exon 9 $\beta$  in der 3' UTR<sup>83</sup>. Bei ihm findet sich ein A zu G Nukleotidaustausch<sup>83</sup>, der eine GC-Resistenz zur Folge hat<sup>84</sup>. Jedoch wird auch in diesem Fall diskutiert, ob die Resistenz eher auf der Mitvererbung anderer SNPs beruht<sup>120</sup>. Im Falle des SNP rs6198 ist allerdings die mRNA der GR $\beta$  Isoform betroffen. Während die klassische GR $\alpha$  Isoform für die Wirkung von Glucocorticoiden verantwortlich ist, ging man lange Zeit davon aus, dass die GR $\beta$  Isoform seine Wirkung lediglich über Inhibition der GR $\alpha$  vermittelten Effekte ausübt<sup>121</sup>. Neuere Erkenntnisse bestätigen jedoch auch eine „direkte“ Auswirkung und Regulierung von Genen und legen nach Offenlegung dieser falschen Vorstellung die Notwendigkeit weiterer Forschung zum besseren Verständnis dieser Isoform dar<sup>4</sup>. In unserer Studienpopulation waren die drei homozygoten Träger des minor-Allels des 9 $\beta$ -Polymorphismus allesamt auch homozygote Träger des *TthIII*-Polymorphismus, was eine differenzierte Betrachtung der Einflüsse der einzelnen SNPs auf die abhängigen Variablen erschwert.

In unserer Studie erhielten die GG-Träger signifikant größere Volumina an mittels Cellsaver aufbereitetem Blut und Thrombozytenkonzentraten sowie mehr internationale Einheiten PPSB. Bei gleichzeitig signifikant erhöhtem Bedarf an Norepinephrin zur Kreislaufstabilisierung muss - analog zu den bereits diskutierten Polymorphismen - auch bei diesen Patienten eine Störung der Homöostase des kardiovaskulären Systems durch das Glucocorticoidsystem angenommen werden. Die homozygoten Träger des SNPs waren statistisch signifikant seltener an einer arteriellen Hypertonie erkrankt, was im Einklang mit einer 2009 veröffentlichten Studie steht,

die eine Assoziation des SNPs mit niedrigeren Blutdruckwerten zeigen konnte, wobei sich der systolische Blutdruck bei den GG-Trägern um 11% reduziert zeigte<sup>122</sup>. Auch eine Assoziation des SNPs zu einem erhöhten Risiko von koronarer Herzkrankheit und Herzinfarkt ist beschrieben, vermutlich aufgrund einer Verstärkung der proinflammatorischen Antwort<sup>123</sup>. Der einzige Patient unserer Studienpopulation, der ein Nierenersatzverfahren erhielt, gehörte ebenfalls dieser Gruppe an – aufgrund der geringen Fallzahl kann jedoch keine verlässliche Aussage über das Auftreten eines akuten anuren Nierenversagens bei dieser Patientengruppe getroffen werden. Gleichzeitig waren jedoch die intraoperativ gemessenen Volumina der Urinausscheidung signifikant erhöht.

Es bestand ein statistischer Trend zu einem längeren Gesamtaufenthalt im Krankenhaus bei „GG“-Trägern. Bei großer Standardabweichung der diesbezüglichen Daten, fehlendem Unterschied der Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation und geringen Fallzahlen scheint in der Gesamtschau keine verlässliche Aussage über eine längere Rekonvaleszenz bei diesen Patienten getroffen werden zu können.

Auch die Auswertung der psychometrischen Parameter konnte statistisch signifikante Ergebnisse erbringen. Homozygote Träger des SNPs hatten zum Zeitpunkt der Verlegung von der ICU statistisch signifikant höhere PTSS-10-Scores sowie eine größere Anzahl traumatischer Erinnerungen sechs Monate postoperativ. Eine festzustellende signifikant schlechtere Abnahme dieser traumatischen Erinnerungen liegt als anzunehmende Ursache hierfür vor. In einer veröffentlichten Untersuchung an Kriegsveteranen mit und ohne PTSD zeigte sich, dass das minor Allel mit einer Lebenszeitprävalenz von PTSD assoziiert ist sowie mit der Schwere der aktuellen PTSD Symptomatik<sup>124</sup>. Die GG-Träger hatten zudem niedrigere in den Haaren gemessene Cortisolkonzentrationen, was längerfristig erniedrigte Cortisolspiegel nahelegt<sup>124</sup>. Wir konnten in unserer Studie keine veränderten Cortisolplasmaspiegel oder erhöhte Gaben von Glucocorticoiden feststellen. Eine intraoperative Gabe von hochdosiertem Dexamethason während eines herzchirurgischen Eingriffes scheint bei Patienten mit *TthIII*-Polymorphismus einen protektiven Effekt auf die Entwicklung von PTSD-Symptomen zu haben, der für den SNP rs6198 nicht nachgewiesen werden konnte<sup>112</sup>.

## 5.5. Kontrolle – rs12054797

Für unseren Untersuchungsansatz wurde der an Position 143426337 des Chromosoms 5 befindliche SNP rs12054797 ausgewählt, bei dem im Vorfeld keine funktionellen Assoziationen festgestellt wurden. Er ist nicht an der Entstehung eines primären Offenwinkel-Glaukoms oder einer glucocorticoidinduzierten okularen Hypertension beteiligt<sup>125</sup>, könnte lediglich eine marginale Assoziation mit der Krankheitsaktivität eines systemischen Lupus erythematodes aufweisen<sup>126</sup>, ist nicht mit dem Krankheitsbild der bronchopulmonalen Dysplasie vergesellschaftet<sup>127</sup> und hat nach aktueller Literaturlage keinen Einfluss auf die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen<sup>71</sup>. Entgegen der postulierten Annahmen unseres Untersuchungsansatzes zeigten homozygote Träger dieses SNPs in unserer Studie sehr wohl statistisch signifikante Unterschiede: Sowohl die maximale Dosierung als auch die Dauer der Anwendung von Vasopressin zeigten sich bei Ihnen als erhöht. Am ersten postoperativen Tag auf der Intensivstation erhielt diese Patientengruppe zudem mehr Norepinephrin zur Kreislaufstabilisierung. Im Unterschied zu vergleichbaren Ergebnissen bei den nachweislich funktionell aktiven SNPs ließen sich bei diesem SNP allerdings keine weiteren Indikatoren einer Kreislaufinstabilität wie erhöhte Lactat-Werte oder eine ausgeprägtere Volumentherapie feststellen. Aspekte wie die uneinheitliche, auf klinische Parameter fußende, Therapie und geringe Fallzahlen könnten zu den statistisch signifikanten Ergebnissen geführt haben, was unter 5.6 näher erörtert wird. Womöglich hat der klinisch notwendige Einsatz dieser Vasopressoren jedoch dazu geführt, dass die behandelnden Ärzte sich eher dazu entschließen auf der ICU Hydrocortison zu verwenden, was sich als statistischer Trend zeigte.

Auf der psychometrischen Ebene ließ sich sechs Monate postoperativ im Vergleich zu heterozygoten oder Nicht-Trägern eine signifikant bessere Wahrnehmung der Emotionalen Rollenfunktion im SF-36 Testinstrument feststellen. Eine Beschreibung solcher Zusammenhänge konnte bei Voruntersuchungen unserer Forschungsgruppe nicht gezeigt werden und ist bislang in keiner Publikation beschrieben worden. Möglicherweise lässt sich der statistische Effekt durch ein flüchtiges Ausfüllen des Fragebogens erklären, da hier alle fünf homozygoten Träger des minor-Allels die maximale Punktzahl angaben.

## 5.6. Limitationen

Studien zur Untersuchung von genetischen Assoziationen sind grundsätzlich gewissen Beschränkungen unterworfen, da große Patientenzahlen benötigt werden. Dies, da sonst schnell Probleme wie der Gründereffekt die Ergebnisse verzerren und die Daten somit unverwertbar machen können. Zudem können geringe Patientenzahlen die statistische Aussagekraft reduzieren. Beim riesigen Repertoire an neu entdeckten genetischen Varianten ist es ohnehin schwer, zwischen funktioneller Mutation und „Beiwerk“ im Sinne einer mitvererbten aber funktionell nicht aktiven Veränderung zu unterscheiden. In unserem Studienkollektiv konnten diesbezüglich fünf Patienten identifiziert werden, die Träger mehrerer minor-Allele waren. Genetische Sachverhalte wie Polygenie, multifaktorielle Vererbung und epigenetische Mechanismen verstärken die Unübersichtlichkeit und erschweren so die Forschungsarbeit zusätzlich. In der vorliegenden Studie konnten außerdem mehrere Patienten identifiziert werden, die homozygote Träger mehrerer minor-Allele waren. Dies ist vor allem beim SNP rs6198 relevant, bei dem sämtliche homozygote Träger auch Träger des SNP rs10052957 waren. Die Tatsache, dass dadurch bei diesen Patienten gleich zwei Isoformen des Glucocorticoidrezeptors betroffen waren, erschwert eine Differenzierung der einzelnen Einflüsse auf die abhängigen Variablen. Eine weitere Limitation im vorliegenden Ansatz ist die individualisierte und dadurch uneinheitliche Therapie der Patienten. Eine standardisierte Hydrocortisongabe in einer groß angelegten Doppelblindstudie, im besten Falle im Rahmen einer Multicenterstudie, könnte in Zukunft zu einer besseren Vergleichbarkeit beitragen.

Zudem erschwerten die in dem Studienzeitraum noch vorherrschenden papierbasierten Patientenunterlagen die Datenerhebung und -auswertung. Im Rahmen der mittlerweile digitalisierten Patientenakten könnten inzwischen auch nach der Datenerhebung noch interessante Aspekte des Datensatzes, v.a. hinsichtlich der biochemischen Variablen, problemlos ausgewertet werden.

## **6. Ausblick**

Mittlerweile fokussiert sich die Forschung nicht nur auf genetische single-nucleotid-Polymorphismen sondern auch auf epigenetische Modifikationen, die die Genexpression beeinflussen. Es wird mittlerweile angenommen, dass auch psychotherapeutische Interventionen epigenetische Modifikationen nach sich ziehen können<sup>128</sup>. So wäre es interessant, in weiteren Studien zu untersuchen, inwieweit perioperative psychologische bzw. psychotherapeutische Interventionen die hier aufgezeigten psychometrischen Outcomeparameter bei herzchirurgischen Patienten im perioperativen Setting verändern könnten. Hierbei könnte eine Hypothese lauten, ob z.B. Intensivtagebücher die Verarbeitung bzw. das Auftreten traumatischer Erinnerungen an die Intensivstation bei den Patienten, die aufgrund eines entsprechenden SNPs ein erhöhtes Risiko hierfür haben, dieses wiederum reduzieren könnten. Weiterhin konnten wir und andere Arbeitsgruppen zeigen, dass die Gabe von Hydrocortison in Stressdosierung während Intensivtherapie zu einer Reduktion des PTSD Risikos bei herzchirurgischen Patienten<sup>113</sup>, bei Patienten mit septischem Schock<sup>129</sup> und nach Polytrauma führt<sup>130,131</sup>. Auch wenn es diese Hinweise auf pharmakologische Interventionsmöglichkeiten gibt, so bleibt die Evidenz gemäß einer Cochrane-Analyse bis dato uneindeutig<sup>132</sup>.



## 7. Zusammenfassung

Glucocorticoide werden in der Nebennierenrinde synthetisiert und übernehmen als „Stresshormone“ an im Körper nahezu ubiquitär vorhandenen Glucocorticoid-Rezeptoren vielerlei Funktionen. Eine vermehrte Ausschüttung erfolgt nach Auftreten von Stressoren, die physikalischer oder emotionaler Natur sein können. Zur Untersuchung des Glucocorticoidsystems bot die Gruppe herzchirurgischer Patienten einen idealen Rahmen mit hoher Stressexposition, da diese homogen und reproduzierbar ist sowie einen obligaten Aufenthalt auf der Intensivstation nach sich zieht. Hierdurch konnten wir die Hypothese überprüfen, dass Einzelnukleotid-Polymorphismen des Glucocorticoidrezeptors diesen funktionell beeinflussen, was zu signifikant zu beobachtenden Veränderungen klinischer, psychometrischer und biochemischer (Outcome-)Parameter führt. Dies erfolgte auch auf der Basis des Wissens, dass das Glucocorticoidsystem entscheidende Funktionen bei der Entstehung, dem Abruf und der Löschung emotionaler Gedächtnisinhalte innehat. 100 herzchirurgische Patienten wurden bezüglich der SNPs rs10052957, rs6190, rs6195, rs41423247 und rs6198 untersucht, die bekanntermaßen die GR-Sensitivität beeinflussen. Als Kontroll-SNP diente rs12054797. Die primären Endpunkte „Anzahl traumatischer Erinnerungen“, der „PTSD-Score“, die „körperliche Funktionsfähigkeit“ und das „psychische Wohlbefinden“ wurden zunächst mittels validierter Fragebögen quantifiziert und dann auf potentielle Wirkungen der diversen SNPs untersucht. Die Parameter wurden zeitpunktspezifisch präoperativ, nach dem Aufenthalt auf der Intensivstation und sechs Monate postoperativ erhoben. Zahlreiche klinische und biochemische Parameter, wie zum Beispiel der Einsatz von Katecholaminen oder der perioperative Verlauf der Plasmakonzentrationen von Cortisol, dienten als sekundäre Ergebnisvariablen. Nicht für alle untersuchten SNPs konnten genug homozygote minor-Allel-Träger in die Studienpopulation eingeschlossen werden. Die untersuchten Polymorphismen sind dafür bekannt den Glucocorticoid-Rezeptor hyper- oder hyposensitiv zu verändern bzw. im Falle von  $\beta$  dessen Aktivität über eine andere Isoform zu beeinflussen. Eine derartig veränderte Aktivität der HPA-Achse nahm auch in unserer Studie Einfluss auf den psychometrischen, biochemischen und klinischen perioperativen Verlauf. Zwischen homozygoten Merkmalsträgern und dem Rest der Studienpopulation zeigten sich Unterschiede im Hinblick auf die Anzahl der traumatischen Erinnerungen, auf die Ausprägung des PTSD-Scores, Unterschiede im zeitlichen Verlauf dieser Parameter sowie auf unmittelbar perioperative klinische Kenngrößen wie den Einsatz von Katecholaminen oder den Umfang der benötigten Volumentherapie. Eine einheitliche Veränderung je nach Hyper- oder Hypoaktivität

des Glucocorticoidsystems ließ sich hierbei nicht feststellen, sondern vielmehr die Tatsache, dass eine solche Veränderung besagte Auswirkungen begünstigt. Die Homöostase dieses komplexen Systems mit mehreren Feedback-Schleifen scheint auf dem Boden eines ausgeprägten physikalischen und psychischen Stressors leichter aus der Balance zu geraten. Betrachtungen anderer Forschungsgruppen konnten in der Vergangenheit bereits zeigen, dass sowohl hyper- als auch hyposensitiv veränderte Glucocorticoidrezeptoren mit PTSD assoziiert sind. Weitere Untersuchungen sind nötig, um spezifische Effekte eindeutig festzustellen und womöglich therapeutische Konsequenzen wie eine perioperative Gabe von Glucocorticoiden bei geeigneten Patienten ableiten zu können.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

ACTH=	Adrenocorticotropes Hormon
ADH=	Antidiuretisches Hormon
ANOVA=	engl. Analysis of Variance =Varianzanalyse
ARDS=	engl. Acute Respiratory Distress Syndrome =akutes progressives Lungenversagen; Schocklunge
ATP=	Adenosintri-phosphat
BDNF=	engl. Brain-derived neurotrophic factor =Vom Gehirn stammender neurotropher Faktor
BLA=	Basolateraler Anteil der Amygdala
BMI=	Body-Mass-Index
CAM-ICU=	Confusion Assessment Method für Intensivstation =Logarithmus zur Diagnosestellung eines Delirs
cAMP=	cyclisches Adenosinmonophosphat
CRH=	Corticotropin Releasing Hormone
CTP=	Cytidintri-phosphat
ddNTP=	Didesoxynukleosidtri-phosphat
DSM-V=	engl. Diagnostical and Statistical Manual of Mental Disorders =Diagnostischer und Statistischer Leitfaden zu psychischen Störungen (5. Revision)
EDTA=	Ethylendiamintetraacetat
GH=	engl. Growth-Hormone; Wachstumshormon
GR=	Glucocorticoidrezeptor
GTP=	Guanosintri-phosphat
HPA(-Achse)=	engl. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal(-Axis) =Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (-Achse)

ICU=	engl. Intensive Care Unit =Intensivstation
NGS=	Next Generation Sequencing
NNR=	Nebennierenrinde
NR3C1=	Nuclear Receptor Subfamily 3, Group C, Member 1
OR=	engl. odds ratio =Quotenverhältnis
PCR=	engl. Polymerase Chain Reaction =Polymerase Kettenreaktion
PKA=	Proteinkinase A
PTSD=	engl. posttraumatic stress disorder =posttraumatische Belastungsstörung
PTSS-10=	Posttraumatische Stress Skala (10)
SD=	engl. Standard Deviation =Standardabweichung
SEM=	engl. Standard Error of the Mean =Standardfehler
SF-36=	Short Form (36) Gesundheitsfragebogen
SIRS=	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
SNP=	engl. Single Nucleotide Polymorphism =Einzelnukleotid-Polymorphismus
TTP=	Thymidintriphosphat
UTR=	engl. untranslated region =untranslatierte Region

## 9. Literaturverzeichnis

1. Sapolsky RM. Stress hormones: good and bad. *Neurobiol Dis* 2000;7(5):540-542. (PM:11042072).
2. Hill AR, Spencer-Segal JL. Glucocorticoids and the Brain after Critical Illness. *Endocrinology* 2021;162(3). DOI: 10.1210/endo/bqaa242.
3. Majer-Łobodzińska A, Adamiec-Mroczek J. Glucocorticoid receptor polymorphism in obesity and glucose homeostasis. *Adv Clin Exp Med* 2017;26(1):143-148. (In eng). DOI: 10.17219/acem/41231.
4. Ramos-Ramírez P, Tliba O. Glucocorticoid Receptor  $\beta$  (GR $\beta$ ): Beyond Its Dominant-Negative Function. *Int J Mol Sci* 2021;22(7) (In eng). DOI: 10.3390/ijms22073649.
5. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953;171(4356):737-8. (In eng).
6. Guttmacher AE, Collins FS. Welcome to the Genomic Era. *New England Journal of Medicine* 2003;349(10):996-998. DOI: 10.1056/NEJMe038132.
7. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64. DOI: 10.1038/369064a0.
8. McDermott U, Downing JR, Stratton MR. Genomics and the continuum of cancer care. *N Engl J Med* 2011;364(4):340-50. (In eng). DOI: 10.1056/NEJMra0907178.
9. Talkowski ME, Ordulu Z, Pillalamarri V, et al. Clinical diagnosis by whole-genome sequencing of a prenatal sample. *N Engl J Med* 2012;367(23):2226-32. (In eng). DOI: 10.1056/NEJMoA1208594.
10. Lossau N. Das Designer-Baby ist nur noch eine Frage der Zeit. <https://www.welt.de/gesundheit/article167119115/Das-Designer-Baby-ist-nur-noch-eine-Frage-der-Zeit.html2017>.
11. Ballester LY, Luthra R, Kanagal-Shamanna R, Singh RR. Advances in clinical next-generation sequencing: target enrichment and sequencing technologies. *Expert Rev Mol Diagn* 2016;16(3):357-72. DOI: 10.1586/14737159.2016.1133298.
12. Method of the Year. *Nature Methods* 2008;5:1. (Editorial). DOI: 10.1038/nmeth1153.
13. Chorley BN, Wang X, Campbell MR, Pittman GS, Noureddine MA, Bell DA. Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current and developing technologies. *Mutat Res* 2008;659(1-2):147-57. DOI: 10.1016/j.mrrev.2008.05.001.
14. Schelling G, Richter M, Roozendaal B, et al. Exposure to high stress in the intensive care unit may have negative effects on health-related quality-of-life outcomes after cardiac surgery. *Crit Care Med* 2003;31(7):1971-80. DOI: 10.1097/01.CCM.0000069512.10544.40.
15. Hauer D, Weis F, Papassotiropoulos A, et al. Relationship of a common polymorphism of the glucocorticoid receptor gene to traumatic memories and posttraumatic stress disorder in patients after intensive care therapy. *Crit Care Med* 2011;39(4):643-650. (In Eng). DOI: 10.1097/CCM.0b013e318206bae6.
16. Carroll TB, Findling JW. The diagnosis of Cushing's syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2010;11(2):147-53. (In eng). DOI: 10.1007/s11154-010-9143-3.
17. Prigent H, Maxime V, Annane D. Clinical review: corticotherapy in sepsis. *Crit Care* 2004;8(2):122-9. (In eng). DOI: 10.1186/cc2374.
18. Hadoke PW, Macdonald L, Logie JJ, Small GR, Dover AR, Walker BR. Intra-vascular glucocorticoid metabolism as a modulator of vascular structure and function. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 2006;63(5):565-78. (In eng). DOI: 10.1007/s00018-005-5427-2.
19. Verhoog NJ, Du Toit A, Avenant C, Hapgood JP. Glucocorticoid-independent repression of tumor necrosis factor (TNF) alpha-stimulated interleukin (IL)-6

- expression by the glucocorticoid receptor: a potential mechanism for protection against an excessive inflammatory response. *J Biol Chem* 2011;286(22):19297-310. (In eng). DOI: 10.1074/jbc.M110.193672.
20. Brattsand R, Linden M. Cytokine modulation by glucocorticoids: mechanisms and actions in cellular studies. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10 Suppl 2:81-90; discussion 91-2. (In eng). DOI: 10.1046/j.1365-2036.1996.22164025.x.
  21. Selye H. Syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 1936;138 32.
  22. de Kloet ER. Stress in the brain. *Eur J Pharmacol* 2000;405(1-3):187-198. (PM:11033326).
  23. Yehuda R. Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med* 2002;346(2):108-114. (PM:11784878).
  24. Schelling G. Post-traumatic stress disorder in somatic disease: lessons from critically ill patients. *Prog Brain Res* 2007;167:229-237. (PM:18037018).
  25. Santos A, Webb SM, Resmini E. Psychological complications of Cushing's syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2021;28(3):325-329. (In eng). DOI: 10.1097/med.0000000000000633.
  26. Bernini G, Tricò D. Cushing's Syndrome and Steroid Dementia. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov* 2016;10(1):50-55. (In eng). DOI: 10.2174/1872214810666160809113021.
  27. McGaugh JL, Roozendaal B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Current Opinion in Neurobiology* 2002;12(2):205-210.
  28. Roozendaal B, Quirarte GL, McGaugh JL. Glucocorticoids interact with the basolateral amygdala beta-adrenoceptor--cAMP/cAMP/PKA system in influencing memory consolidation. *Eur J Neurosci* 2002;15(3):553-560. (PM:11876783).
  29. Wotjak CT. Role of endogenous cannabinoids in cognition and emotionality. *Mini Rev Med Chem* 2005;5(7):659-670. (PM:16026312).
  30. Patel S, Roelke CT, Rademacher DJ, Cullinan WE, Hillard CJ. Endocannabinoid signaling negatively modulates stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology* 2004;145(12):5431-5438. (PM:15331569).
  31. Yehuda R. Neuroendocrine aspects of PTSD. *Handb Exp Pharmacol* 2005(169):371-403. (In eng)
  32. Yehuda R, Golier J. Is there a rationale for cortisol-based treatments for PTSD? *Expert Rev Neurother* 2009;9(8):1113-1115. (PM:19673600).
  33. Aerni A, Traber A, Hock C, et al. Low-dose cortisol treatment reduces symptoms of post-traumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 2004;161:1488-1490.
  34. Dawson RG, McGaugh JL. Modification of memory storage processes. *Behav Sci* 1971;16(1):45-63. (In eng).
  35. Tasker JG, Di S, Malcher-Lopes R. Rapid central corticosteroid effects: evidence for membrane glucocorticoid receptors in the brain. *Integrative and comparative biology* 2005;45(4):665-71. DOI: 10.1093/icb/45.4.665.
  36. Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Hauer D, Schelling G, McGaugh JL, Cuomo V. Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(12):4888-93. DOI: 10.1073/pnas.0900835106.
  37. Hill MN, McEwen BS. Endocannabinoids: The silent partner of glucocorticoids in the synapse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(12):4579-4580. (PM:19293387).
  38. Schelling G, Kapfhammer HP. Surviving the ICU does not mean that the war is over. *Chest* 2013;144(1):1-3. DOI: 10.1378/chest.12-3091.
  39. Davydow DS, Gifford JM, Desai SV, Needham DM, Bienvenu OJ. Posttraumatic stress disorder in general intensive care unit survivors: a systematic review. *Gen Hosp Psychiatry* 2008;30(5):421-34. DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2008.05.006.

40. Schelling G, Stoll C, Haller M, et al. Health-Related Quality of Life and Post-Traumatic Stress Disorder in Survivors of the Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *Crit Care Med* 1998;25(4):651-659.
41. Favaro A, Gerosa G, Caforio AL, et al. Posttraumatic stress disorder and depression in heart transplantation recipients: the relationship with outcome and adherence to medical treatment. *Gen Hosp Psychiatry* 2011;33(1):1-7. DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2010.10.001.
42. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348(16):1546-54. (In eng). DOI: 10.1056/NEJMoa022139  
348/16/1546 [pii].
43. Richardson LK, Frueh BC, Acierno R. Prevalence estimates of combat-related post-traumatic stress disorder: critical review. *Aust N Z J Psychiatry* 2010;44(1):4-19. (In eng). DOI: 10.3109/00048670903393597.
44. Briegel I, Dolch M, Irlbeck M, Hauer D, Kaufmann I, Schelling G. [Quality of results of therapy of acute respiratory failure : changes over a period of two decades]. *Anaesthesist* 2013;62(4):261-70. DOI: 10.1007/s00101-013-2156-z.
45. Kapfhammer HP, Rothenhausler HB, Krauseneck T, Stoll C, Schelling G. Posttraumatic stress disorder and health-related quality of life in long-term survivors of acute respiratory distress syndrome. *Am J Psychiatry* 2004;161(1):45-52. (Research Support, Non-U.S. Gov't) (In eng).
46. Davydow DS, Katon WJ, Zatzick DF. Psychiatric morbidity and functional impairments in survivors of burns, traumatic injuries, and ICU stays for other critical illnesses: a review of the literature. *Int Rev Psychiatry* 2009;21(6):531-8. (In eng). DOI: 10.3109/09540260903343877 [pii]  
10.3109/09540260903343877.
47. Briegel J, Forst H, Haller M, et al. Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: a prospective, randomized, double-blind, single-center study. *Crit Care Med* 1999;27(4):723-32. (In eng).
48. Bienvenu OJ, Gellar J, Althouse BM, et al. Post-traumatic stress disorder symptoms after acute lung injury: a 2-year prospective longitudinal study. *Psychol Med* 2013;1-15. DOI: 10.1017/S0033291713000214.
49. Kutz I, Shabtai H, Solomon Z, Neumann M, David D. Post-traumatic stress disorder in myocardial infarction patients: prevalence study. *IsrJPsychiatry Relat Sci* 1994;31(1):48-56. (PM:8206738).
50. Gander ML, von Kanel R. Myocardial infarction and post-traumatic stress disorder: frequency, outcome, and atherosclerotic mechanisms. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006;13(2):165-72. (In eng). DOI: 10.1097/01.hjr.0000214606.60995.46  
00149831-200604000-00004 [pii].
51. Wilker S, Kolassa S, Vogler C, et al. The Role of Memory-related Gene WWC1 (KIBRA) in Lifetime Posttraumatic Stress Disorder: Evidence from Two Independent Samples from African Conflict Regions. *Biol Psychiatry* 2013. DOI: 10.1016/j.biopsych.2013.02.022.
52. Heitland I, Klumpers F, Oosting RS, Evers DJ, Leon Kenemans J, Baas JM. Failure to extinguish fear and genetic variability in the human cannabinoid receptor 1. *Translational psychiatry* 2012;2:e162. DOI: 10.1038/tp.2012.90.
53. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302(21):2323-9. (In eng). DOI: 302/21/2323 [pii] 10.1001/jama.2009.1754.
54. Reinberger M, Bouchard R, Muhl E, Nau C, Hüppe M. [Stressors for patients in the intensive care unit : An analysis taking controllability into consideration]. *Anaesthesist* 2020;69(8):555-564. (In ger). DOI: 10.1007/s00101-020-00798-3.

55. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 5th ed. Washington, DC2013.
56. Krauseneck T, Rothenhausler HB, Schelling G, Kapfhammer HP. [PTSD in Somatic Disease.]. *FortschrNeurolPsychiatr* 2005;73(4):206-217. (PM:15806438).
57. Wade DM, Howell DC, Weinman JA, et al. Investigating risk factors for psychological morbidity three months after intensive care: a prospective cohort study. *Crit Care* 2012;16(5):R192. DOI: 10.1186/cc11677.
58. Bienvenu OJ, Williams JB, Yang A, Hopkins RO, Needham DM. Posttraumatic stress disorder in acute lung injury survivors: evaluating the Impact of Event Scale-Revised. *Chest* 2013.
59. Stoll C, Kapfhammer HP, Rothenhausler HB, et al. Sensitivity and specificity of a screening test to document traumatic experiences and to diagnose post-traumatic stress disorder in ARDS patients after intensive care treatment. *Intensive Care Med* 1999;25(7):697-704. (In eng).
60. Kaufmann I, Briegel J, Schliephake F, et al. Stress doses of hydrocortisone in septic shock: beneficial effects on opsonization-dependent neutrophil functions. *Intensive Care Med* 2008;34(2):344-9. DOI: 10.1007/s00134-007-0868-8.
61. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine [see comments]. *Chest* 1992;101(6):1644-1655.
62. Hall RI, Smith MS, Rucker G. The systemic inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pathophysiological, therapeutic, and pharmacological considerations. *Anesth Analg* 1997;85(4):766-82. (In eng).
63. Ware JE, Snow KK, Kosinski M, Gandek B, New England Medical C. SF-36 Health Survey Manual and Interpretation Guide. Boston, MA: The Health Institute, 1993.
64. Bullinger M. German translation and psychometric testing of the SF-36 Health Survey: preliminary results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. Soc Sci Med* 1995;41(10):1359-66. (In eng).
65. Keller SD, Ware JE, Jr., Bentler PM, et al. Use of structural equation modeling to test the construct validity of the SF-36 Health Survey in ten countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment. J Clin Epidemiol* 1998;51(11):1179-1188. (PM:9817136).
66. Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, et al. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 2012;491(7422):56-65. (In eng). DOI: 10.1038/nature11632.
67. van Rossum EF, Roks PH, de Jong FH, Brinkmann AO, Pols HA, Koper JW, Lamberts SW. Characterization of a promoter polymorphism in the glucocorticoid receptor gene and its relationship to three other polymorphisms. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;61(5):573-81. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2004.02132.x.
68. Geelhoed MJ, Steegers EA, Koper JW, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms do not affect growth in fetal and early postnatal life. *The Generation R Study. BMC Med Genet* 2010;11:39. DOI: 10.1186/1471-2350-11-39.
69. van Raalte DH, van Leeuwen N, Simonis-Bik AM, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms are associated with reduced first-phase glucose-stimulated insulin secretion and disposition index in women, but not in men. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 2012;29(8):e211-6. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2012.03690.x.
70. Szczepankiewicz A, Breborowicz A, Sobkowiak P, Popiel A. No association of glucocorticoid receptor polymorphisms with asthma and response to glucocorticoids. *Advances in medical sciences* 2008;53(2):245-50. DOI: 10.2478/v10039-008-0042-8.



71. Yan Y-X, Dong J, Wu L-J, et al. Associations Between Polymorphisms in the Glucocorticoid-Receptor Gene and Cardiovascular Risk Factors in a Chinese Population. *Journal of Epidemiology* 2013;23(5):389-395. DOI: 10.2188/jea.JE20130035.
72. Manoel Carlos L. A. Souza CSM, Ivan M. Silva-Junior, Rosangela S., Chriguer ACB, Sonir R. Antonini, Wilson Araújo Silva Jr., Marco A. Zago ACM, Margaret de Castro. NR3C1 polymorphisms in Brazilians of Caucasian, African, and Asian ancestry: glucocorticoid sensitivity and genotype association. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2014;58/1 2014.
73. Kuningas M, Mooijaart SP, Slagboom PE, Westendorp RG, van Heemst D. Genetic variants in the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and cardiovascular disease risk. The Leiden 85-plus Study. *Biogerontology* 2006;7(4):231-8. (In eng). DOI: 10.1007/s10522-006-9021-2.
74. Goracy I, Goracy J, Safranow K, Skonieczna-Zydecka K, Ciechanowicz A. Association of glucocorticoid receptor gene NR3C1 genetic variants with angiographically documented coronary artery disease and its risk factors. *Arch Med Res* 2013;44(1):27-33. DOI: 10.1016/j.arcmed.2012.10.020.
75. van Rossum EF, Lamberts SW. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:333-57. (In eng). DOI: 10.1210/rp.59.1.333.
76. Krishnamurthy P, Romagni P, Torvik S, Gold PW, Charney DS, Detera-Wadleigh S, Cizza G. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in premenopausal women with major depression. *Horm Metab Res* 2008;40(3):194-8. (In eng). DOI: 10.1055/s-2007-1004541.
77. Di Blasio AM, van Rossum EF, Maestrini S, et al. The relation between two polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and body mass index, blood pressure and cholesterol in obese patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59(1):68-74. (In eng). DOI: 10.1046/j.1365-2265.2003.01798.x.
78. Kaya Z, Caglayan S, Akkiprik M, Aral C, Ozisik G, Ozata M, Ozer A. Impact of glucocorticoid receptor gene (NR3C1) polymorphisms in Turkish patients with metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 2016;39(5):557-66. (In eng). DOI: 10.1007/s40618-015-0409-1.
79. Savas M, Wester VL, van der Voorn B, Iyer AM, Koper JW, van den Akker ELT, van Rossum EFC. Anthropometrics and Metabolic Syndrome in Relation to Glucocorticoid Receptor Polymorphisms in Corticosteroid Users. *Neuroendocrinology* 2021;111(11):1121-1129. (In eng). DOI: 10.1159/000513703.
80. Manenschijn L, van den Akker EL, Lamberts SW, van Rossum EF. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An overview. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1179:179-98. (In eng). DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05013.x.
81. González Ramírez C, Villavicencio Queijeiro A, Jiménez Morales S, et al. The NR3C1 gene expression is a potential surrogate biomarker for risk and diagnosis of posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Res* 2020;284:112797. (In eng). DOI: 10.1016/j.psychres.2020.112797.
82. Li L, Xing W, Jiang L, Chen D, Zhang G. NR3C1 overexpression regulates the expression and alternative splicing of inflammation-associated genes involved in PTSD. *Gene* 2023;859:147199. (In eng). DOI: 10.1016/j.gene.2023.147199.
83. Sinclair D, Webster MJ, Fullerton JM, Weickert CS. Glucocorticoid receptor mRNA and protein isoform alterations in the orbitofrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder. *BMC Psychiatry* 2012;12:84. (In eng). DOI: 10.1186/1471-244x-12-84.
84. van Rossum EF, van den Akker EL. Glucocorticoid resistance. *Endocrine development* 2011;20:127-36. DOI: 10.1159/000321234.

85. van Rossum EF, Koper JW, van den Beld AW, et al. Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin Endocrinol(Oxf)* 2003;59(5):585-592. (PM:14616881).
86. van Rossum EF, Binder EB, Majer M, et al. Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene and major depression. *BiolPsychiatry* 2006;59(8):681-688. (PM:16580345).
87. Panarelli M, Holloway CD, Fraser R, Connell JM, Ingram MC, Anderson NH, Kenyon CJ. Glucocorticoid receptor polymorphism, skin vasoconstriction, and other metabolic intermediate phenotypes in normal human subjects. *J Clin EndocrinolMetab* 1998;83(6):1846-1852. (PM:9626107).
88. Weaver JU, Hitman GA, Kopelman PG. An association between a BclII restriction fragment length polymorphism of the glucocorticoid receptor locus and hyperinsulinaemia in obese women. *J Mol Endocrinol* 1992;9(3):295-300. (In eng).
89. Hearing SD, Norman M, Probert CS, Haslam N, Dayan CM. Predicting therapeutic outcome in severe ulcerative colitis by measuring in vitro steroid sensitivity of proliferating peripheral blood lymphocytes. *Gut* 1999;45(3):382-8. (In eng).
90. Hirano T, Akashi T, Kido T, Oka K, Shiratori T, Miyaoka M. Immunosuppressant pharmacodynamics on peripheral-blood mononuclear cells from patients with ulcerative colitis. *International immunopharmacology* 2002;2(8):1055-63. (In eng).
91. Cuzzoni E, De Iudicibus S, Bartoli F, Ventura A, Decorti G. Association between BclII polymorphism in the NR3C1 gene and in vitro individual variations in lymphocyte responses to methylprednisolone. *Br J Clin Pharmacol* 2012;73(4):651-5. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04130.x.
92. Kostik MM, Klyushina AA, Moskalenko MV, Scheplyagina LA, Larionova VI. Glucocorticoid receptor gene polymorphism and juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric rheumatology online journal* 2011;9(1):2. DOI: 10.1186/1546-0096-9-2.
93. Corvol H, Nathan N, Charlier C, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms associated with progression of lung disease in young patients with cystic fibrosis. *Respir Res* 2007;8:88. (In eng). DOI: 1465-9921-8-88 [pii] 10.1186/1465-9921-8-88.
94. Decorti G, De Iudicibus S, Stocco G, Martelossi S, Drigo I, Bartoli F, Ventura A. Glucocorticoid receptor polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut* 2006;55(7):1053-4. (In eng).
95. De Iudicibus S, Stocco G, Martelossi S, et al. Association of BclII polymorphism of the glucocorticoid receptor gene locus with response to glucocorticoids in inflammatory bowel disease. *Gut* 2007;56(9):1319-20. (In eng). DOI: 56/9/1319-a [pii] 10.1136/gut.2006.116160.
96. De Iudicibus S, Stocco G, Martelossi S, et al. Genetic predictors of glucocorticoid response in pediatric patients with inflammatory bowel diseases. *Journal of clinical gastroenterology* 2011;45(1):e1-7. (In eng). DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181e8ae93.
97. van Rossum EF, Koper JW, van den Beld AW, et al. Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59(5):585-92. (In eng). DOI: 10.1046/j.1365-2265.2003.01888.x.
98. Rosmond R, Holm G. A 5-year follow-up study of 3 polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene in relation to obesity, hypertension, and diabetes. *J Cardiometab Syndr* 2008;3(3):132-5. (In eng). DOI: CMS008 [pii] 10.1111/j.1559-4572.2008.00008.x.
99. Geelen CC, van Greevenbroek MM, van Rossum EF, et al. BclI glucocorticoid receptor polymorphism is associated with greater body fatness: the Hoorn and

- CODAM studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(3):E595-9. (In eng). DOI: 10.1210/jc.2012-3442.
100. Molnár A, Kövesdi A, Szücs N, Tóth M, Igaz P, Rác K, Patócs A. Polymorphisms of the GR and HSD11B1 genes influence body mass index and weight gain during hormone replacement treatment in patients with Addison's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016;85(2):180-8. (In eng). DOI: 10.1111/cen.13022.
  101. Giordano R, Marzotti S, Berardelli R, et al. BCLII polymorphism of the glucocorticoid receptor gene is associated with increased obesity, impaired glucose metabolism and dyslipidaemia in patients with Addison's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77(6):863-70. (In eng). DOI: 10.1111/j.1365-2265.2012.04439.x.
  102. Moreira RP, Bachega TA, Machado MC, Mendonca BB, Bronstein MD, Villares Fragoso MC. Modulatory effect of BclI GR gene polymorphisms on the obesity phenotype in Brazilian patients with Cushing's disease. *Clinics (Sao Paulo)* 2013;68(5):579-85. (In eng). DOI: 10.6061/clinics/2013(05)01.
  103. Panarelli M, Holloway CD, Fraser R, Connell JM, Ingram MC, Anderson NH, Kenyon CJ. Glucocorticoid receptor polymorphism, skin vasoconstriction, and other metabolic intermediate phenotypes in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(6):1846-52. (In eng). DOI: 10.1210/jcem.83.6.4828.
  104. Souza MC, Martins CS, Silva Junior IM, et al. NR3C1 polymorphisms in Brazilians of Caucasian, African, and Asian ancestry: glucocorticoid sensitivity and genotype association. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia* 2014;58(1):53-61. (In eng).
  105. Annane D, Renault A, Brun-Buisson C, et al. Hydrocortisone plus Fludrocortisone for Adults with Septic Shock. *N Engl J Med* 2018;378(9):809-818. (In eng). DOI: 10.1056/NEJMoa1705716.
  106. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 2021;47(11):1181-1247. (In eng). DOI: 10.1007/s00134-021-06506-y.
  107. Wust S, Van Rossum EF, Federenko IS, Koper JW, Kumsta R, Hellhammer DH. Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):565-73. (In eng). DOI: 10.1210/jc.2003-031148.
  108. Bachmann AW, Sedgley TL, Jackson RV, Gibson JN, Young RM, Torpy DJ. Glucocorticoid receptor polymorphisms and post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30(3):297-306. (PM:15511603).
  109. Brouwer JP, Appelhof BC, van Rossum EF, et al. Prediction of treatment response by HPA-axis and glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Psychoneuroendocrinology* 2006;31(10):1154-63. (In eng). DOI: S0306-4530(06)00138-7 [pii] 10.1016/j.psyneuen.2006.08.001.
  110. Takahashi H, Yoshida K, Higuchi H, Kamata M, Inoue K, Suzuki T, Ishigooka J. BclI polymorphism of the glucocorticoid receptor gene and treatment response to milnacipran and fluvoxamine in Japanese patients with depression. *Neuropsychobiology* 2014;70(3):173-80. (In eng). DOI: 10.1159/000365517.
  111. Gultig KD, de Rooij SR, Hilberdink CE, Olf M, Roseboom TJ, van Zuiden M. Effects of prenatal exposure to the 1944-45 Dutch famine and glucocorticoid receptor polymorphisms on later life PTSD susceptibility. *Eur J Psychotraumatol* 2023;14(2):2219075. (In eng). DOI: 10.1080/20008066.2023.2219075.
  112. Kok L, Hillegers MH, Veldhuijzen DS, et al. Genetic variation in the glucocorticoid receptor and psychopathology after dexamethasone administration in cardiac surgery patients. *J Psychiatr Res* 2018;103:167-172. (In eng). DOI: 10.1016/j.jpsychires.2018.05.015.

113. Schelling G, Kilger E, Roozendaal B, et al. Stress doses of hydrocortisone, traumatic memories, and symptoms of posttraumatic stress disorder in patients after cardiac surgery: a randomized study. *Biol Psychiatry* 2004;55(6):627-33. DOI: 10.1016/j.biopsych.2003.09.014.
114. Weis F, Kilger E, Roozendaal B, et al. Stress doses of hydrocortisone reduce chronic stress symptoms and improve health-related quality of life in high-risk patients after cardiac surgery: a randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;131(2):277-82. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2005.07.063.
115. Park S, Hong JP, Lee JK, et al. Associations between the neuron-specific glucocorticoid receptor (NR3C1) Bcl-1 polymorphisms and suicide in cancer patients within the first year of diagnosis. *Behav Brain Funct* 2016;12(1):22. (In eng). DOI: 10.1186/s12993-016-0104-1.
116. Lambden S, Creagh-Brown BC, Hunt J, Summers C, Forni LG. Definitions and pathophysiology of vasoplegic shock. *Crit Care* 2018;22(1):174. (In eng). DOI: 10.1186/s13054-018-2102-1.
117. King A, Elmaraghy C, Lind M, Tobias JD. A review of dexamethasone as an adjunct to adenotonsillectomy in the pediatric population. *J Anesth* 2020;34(3):445-452. (In eng). DOI: 10.1007/s00540-020-02758-y.
118. Ecevit MC, Erdag TK, Dogan E, Sutay S. Effect of steroids for nasal polyposis surgery: A placebo-controlled, randomized, double-blind study. *Laryngoscope* 2015;125(9):2041-5. (In eng). DOI: 10.1002/lary.25352.
119. Castro-Vale I, Durães C, van Rossum EFC, Staufenbiel SM, Severo M, Lemos MC, Carvalho D. The Glucocorticoid Receptor Gene (NR3C1) 9β SNP Is Associated with Posttraumatic Stress Disorder. *Healthcare (Basel)* 2021;9(2) (In eng). DOI: 10.3390/healthcare9020173.
120. van Winsen LM, Manenschijn L, van Rossum EF, Crusius JB, Koper JW, Polman CH, Uitdehaag BM. A glucocorticoid receptor gene haplotype (TthIII1/ER22/23EK/9beta) is associated with a more aggressive disease course in multiple sclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(6):2110-4. (In eng). DOI: jc.2008-2194 [pii] 10.1210/jc.2008-2194.
121. Oakley RH, Sar M, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J Biol Chem* 1996;271(16):9550-9. (In eng). DOI: 10.1074/jbc.271.16.9550.
122. Chung CC, Shimmin L, Natarajan S, Hanis CL, Boerwinkle E, Hixson JE. Glucocorticoid receptor gene variant in the 3' untranslated region is associated with multiple measures of blood pressure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(1):268-76. (In eng). DOI: 10.1210/jc.2008-1089.
123. van den Akker EL, Koper JW, van Rossum EF, et al. Glucocorticoid receptor gene and risk of cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 2008;168(1):33-9. (In eng). DOI: 10.1001/archinternmed.2007.41.
124. Castro-Vale I, Durães C, van Rossum EFC, Staufenbiel SM, Severo M, Lemos MC, Carvalho D. The Glucocorticoid Receptor Gene (NR3C1) 9β SNP Is Associated with Posttraumatic Stress Disorder. *Healthcare* 2021;9(2):173.
125. Fingert JH, Alward WL, Wang K, Yorio T, Clark AF. Assessment of SNPs associated with the human glucocorticoid receptor in primary open-angle glaucoma and steroid responders. *Molecular vision* 2010;16:596-601. (In eng).
126. Chen YF, Xu JH, Zou YF, et al. Association of glucocorticoid receptor gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in a Chinese population. *Int J Rheum Dis* 2017;20(12):2053-2061. (In eng). DOI: 10.1111/1756-185x.13191.
127. Huusko JM, Karjalainen MK, Mahlman M, et al. A study of genes encoding cytokines (IL6, IL10, TNF), cytokine receptors (IL6R, IL6ST), and glucocorticoid receptor

- (NR3C1) and susceptibility to bronchopulmonary dysplasia. *BMC Med Genet* 2014;15:120. (In eng). DOI: 10.1186/s12881-014-0120-7.
128. Lewis CR, Tafur J, Spencer S, et al. Pilot study suggests DNA methylation of the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) is associated with MDMA-assisted therapy treatment response for severe PTSD. *Frontiers in psychiatry / Frontiers Research Foundation* 2023;14:959590. (In eng). DOI: 10.3389/fpsy.2023.959590.
129. Schelling G, Briegel J, Roozendaal B, Stoll C, Rothenhausler HB, Kapfhammer HP. The effect of stress doses of hydrocortisone during septic shock on posttraumatic stress disorder in survivors. *Biol Psychiatry* 2001;50(12):978-85.
130. Zohar J, Yahalom H, Kozlovsky N, et al. High dose hydrocortisone immediately after trauma may alter the trajectory of PTSD: interplay between clinical and animal studies. *European Neuropsychopharmacology* 2011;21(11):796-809. (Research Support, Non-U.S. Gov't) (In eng). DOI: 10.1016/j.euroneuro.2011.06.001.
131. Delahanty DL, Gabert-Quillen C, Ostrowski SA, et al. The efficacy of initial hydrocortisone administration at preventing posttraumatic distress in adult trauma patients: a randomized trial. *CNS Spectr* 2013;18(2):103-11. DOI: 10.1017/S1092852913000096.
132. Bertolini F, Robertson L, Bisson JI, et al. Early pharmacological interventions for universal prevention of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2022(2). DOI: 10.1002/14651858.CD013443.pub2.

## **10. Appendix**

Die folgenden Parameter enthielten imputierte Daten:

<b>Psychometrischer Parameter</b>	<b>Anzahl imputierter Datensätze</b>	<b>Gesamtanzahl</b>
Anzahl traumatischer Erinnerungen präOP	2	95
Anzahl traumatischer Erinnerungen ICU	9	95
Anzahl traumatischer Erinnerungen 6M	9	95
PTSS-10 Score präOP	7	95
PTSS-10 Score ICU	9	95
PTSS-10 Score 6M	13	95
Körperlicher Summenscore präOP	18	95
Körperlicher Summenscore 6M	18	95
Psychischer Summenscore präOP	18	95
Psychischer Summenscore 6M	18	95

## **11. Danksagung**

Danken möchte ich an dieser Stelle Frau PD Dr. med. Daniela Hauer und Herrn Prof. Dr. med. Gustav Schelling für die Überlassung des Themas und die Unterstützung während der Arbeit. Mein Dank gilt weiterhin Dr. med. Martina Pfob der Humangenetik für die Sequenzierung der SNPs. Zudem möchte ich Herrn Dr. med. Dr. med. univ. Tobias Ninke und insbesondere Frau Dr. biol. hum. Petra Bäumler für die Unterstützung und aufmunternden Worte bei der Anfertigung dieser Arbeit danken.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern Anneliese Ernst und PD Dr. med. Rainer Ernst, die mich nicht nur unentwegt unterstützt haben, sondern mir auch durch ihr Beispiel diesen Weg aufgezeigt haben. Außerdem danke ich meiner Frau Jessica Ernst, die mich auf vielfältige Weise bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt hat.

## **12. Eidesstattliche Versicherung**

Ernst, Thomas

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**„Einzelnukleotid-Polymorphismen des Glucocorticoid-Rezeptorgens und PTSD-Symptomatik bei Intensivpatienten nach kardiochirurgischen Eingriffen“**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 24.04.2024

Ort, Datum

Thomas Ernst

Unterschrift