

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Campus Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Assoziationsstudie zwischen Leptin- und
Leptinrezeptorgen Polymorphismen und Neuroleptika-
induzierter Gewichtszunahme

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Clara Frydrychowicz

aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. I. Puls
2. Prof. Dr. M. Dettling
3. Prof. Dr. med. J. Stingl

Datum der Promotion: 09.09.2011

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	10
2. Einleitung	
<u>2.1. Schizophrenie</u>	
2.1.1. Definition.....	12
2.1.2. Epidemiologie.....	12
2.1.3. Symptomatik und Verlauf/Prognose	12
2.1.4. Pathophysiologie und Ätiopathogenese.....	13
2.1.4.1. Neurobiologische Veränderungen.....	14
2.1.4.2. Genetik.....	15
2.1.5. Therapie der Schizophrenie	15
2.1.5.2. Pharmakotherapie mit Neuroleptika	16
2.1.5.2.1. Typische Neuroleptika	16
2.1.5.2.2. Atypische Neuroleptika	17
2.1.5.3. Nebenwirkungsprofil atypischer Neuroleptika	17
<u>2.2. Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme</u>	19
2.2.1. Kandidatengene.....	20
2.2.1.1. Pharmakokinetik (Arzneimittelmetabolismus CYP450-System)	21
2.2.1.2. Pharmakodynamik	
2.2.1.2.1. Dopaminerges System.....	21
2.2.1.2.2. Histaminerges System.....	22
2.2.1.2.3. Serotonerges System	22
2.2.1.2.4. G-Protein.....	23
2.2.1.2.5. Adrenerges System.....	24
2.2.1.2.6. Synaptosomal-assoziiertes Protein, 25kDa (SNAP-25)	24
2.2.1.2.7. Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF α)	25
2.2.1.2.8. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)	25
2.2.1.2.9. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)- System ..	26
2.2.1.2.10. Weitere untersuchte Gene.....	26
2.2.2. Genomweite Kopplungs- und Assoziationsstudien.....	27
<u>2.3. Leptinsystem</u>	
2.3.1. Das „obese“-Gen und das Leptinrezeptorgen.....	28
2.3.2. Physiologie des Leptinsystems.....	29
2.3.3. Assoziationsstudien zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme.....	29

3. Fragestellung	31
4. Material und Methoden	
<u>Studiendesign</u>	32
<u>4.1. Klinischer Teil</u>	
4.1.1. Patientenkollektiv/Stichprobenbeschreibung.....	32
4.1.2. Ein- und Ausschlusskriterien.....	32
4.1.3. Gewichtsdocumentation.....	33
4.1.4. Laborchemische Untersuchungen.....	33
4.1.5. Psychometrische Erhebungsinstrumente	
4.1.5.1. Universal- Rating.....	33
4.1.5.2. Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS).....	34
4.1.5.4. Negative Symptom Assessment (NSA-16).....	34
4.1.5.3. Global Assessment Functioning (GAF).....	34
4.1.5.5. Clinical Global Impression (CGI)	35
4.1.5.6. Body weight, image and self-esteem evaluation (B-WISE).....	35
<u>4.2. Experimenteller Teil</u>	
4.2.1. DNA Extraktion.....	35
4.2.2. Einzelnukleotidpolymorphismus (single nucleotide polymorphisms; SNP)	36
4.2.3. Genotypisierung	36
4.2.4. Polymerase- Kettenreaktion (PCR)	39
4.2.4.1. PCR-Ansätze.....	40
4.2.5. Agarose-Gel-Elektrophorese	41
4.2.6. Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP).....	42
4.2.7. Software.....	44
4.2.8 Geräte und Chemikalien.....	44
<u>4.3. Statistische Auswertung</u>	45
5. Ergebnisse	
<u>5.1. Demografische Daten</u>	
5.1.1. Geschlecht, Alter und Medikation der Patientenkollektivs.....	46
5.1.2. Dauer der vor Studieneinschluss durchgeführten Neuroleptikatherapie.....	47
5.1.3. Stationäre Behandlung.....	47
5.1.4. Schul-, Berufsausbildung und Finanzierungsgrundlage des Patientenkollektivs	48

5.1.5. Essgewohnheiten und Gewichtsempfindung des Patientenkollektives.....	49
<u>5.2. Darstellung und Verlauf der Gewichtsmessungen</u>	
5.2.1. Gewicht.....	50
5.2.2. Body Mass Index (BMI).....	52
<u>5.3. Veränderung der Stoffwechselfparameter</u>	
5.3.1. Glucosestoffwechsel.....	55
5.3.2. Fettstoffwechsel.....	55
<u>5.4 Auswertungen der Genotypisierungen</u>	
5.4.1. Analyse SNP rs2167270.....	56
5.4.2. Analyse SNP rs10954173.....	57
5.4.3. Analyse SNP rs3828942.....	58
5.4.4. Analyse SNP rs7799039.....	58
5.4.5. Analyse SNP rs1327120.....	59
5.4.6. Analyse SNP rs1327118.....	60
5.4.7. Analyse SNP rs1137101.....	61
5.4.8. Analyse SNP rs3790419.....	62
6. Diskussion	
<u>6.1. Zusammenfassung der Ergebnisse</u>	63
<u>6.2. Diskussion der Ergebnisse im Vergleich zur aktuellen Studienliteratur</u>	63
6.2.1. Diskussion Leptingen-Polymorphismen.....	64
6.2.2. Diskussion Leptinrezeptorgen-Polymorphismen.....	67
<u>6.3. Bedeutung des Leptinsystems und Gewichtszunahme</u>	68
<u>6.4.Diskussion der Methoden</u>	
6.4.1. Patientenkollektiv.....	69
6.4.2. Medikamente.....	70
6.4.3. experimentelle Arbeiten.....	71
6.4.4. „Schwächen“ der Arbeit.....	71
<u>6.5. Ausblick auf zukünftige Untersuchungen</u>	72
7. Literaturverzeichnis.....	75
8. Puplicationen.....	86
9. Danksagung.....	87
10. Lebenslauf.....	88

Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzung	Erklärung
A	Adenin
Abb.	Abbildung
ANOVA	Analysis of Variance
Arg	Arginin
bp	Basenpaare
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
BMI	Body Mass Index
B-WISE	Body weight, image and self- esteem evaluation
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
ca.	circa
CGI	Clinical Global Impression
cm	Zentimeter
CNTF	Ciliary neurotrophic factor
CYP450	Cytochrom P450 System
Cys	Cystein
D2	Dopamin 2- Rezeptorgen
dest.	destilliert
DGPPN	Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM4	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition), Diagnostisches Manual der amerikanischen Psychiatrie-Vereinigung (4. Auflage)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
G	Guanin
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
Gly	Glycin
h	Stunde
H2O	Wasser
ICD-10	International Classification of Diseases, Klassifikationssystem für Krankheiten in der Weltgesundheitsorganistion
K+	Kalium-Kation
kDa	Kilo-Dalton (Molekulargewicht)
Kg	Kilogramm
l	Liter
Mg2+	Magnesium

MgCl ₂	Magnesiumchlorid
ml	Milliliter
min	Minute
mm	Millimeter
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NSA- 16	Negative Symptome Assessment
ob-Gen	Obese- Gen
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerase-chain-reaction (-Kettenreaktion)
pH	Wasserstoff-Ionenkonzentration
PPAR- γ	Peroxisome Proliferator –Activated Receptor- γ 2
q (Chromosom)	langer Arm eines Chromosoms
RFLP	Restriktionsfragment- Längenpolymorphismus
s	Sekunde
Ser	Serin
SNAP- 25	Synaptosome associated protein of 25 kDa
SNARE	Soluble N-ethylmaleimide Sensitive Factor (NSF) Attachment Protein Receptor
sog.	sogenannt
SREBP	Sterol regulatory element- binding protein
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
T	Thymin
TAG	Triacylglycerin
TBE	Tris-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure-Puffer
TNF- α	Tumor-Nekrose- Faktor alpha
Tris	Trishydroxymethylaminomethan
U	Unit
UCP2	Uncoupling protein-2
UV	Ultraviolett
Val	Valin
ZNS	Zentralesnervensystem
5HT	5 Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
μ l	Mikroliter

Tabellenverzeichnis

Tab.1:	Verwandtschaftsgrad und Schizophrenierisiko.....	15
Tab.2:	Übersicht unerwünschter Wirkungen atypischer Neuroleptika.....	18
Tab.3:	Übersicht der signifikanten Assoziationsstudien zum serotonergen System.....	22
Tab.4:	Übersicht der signifikanten Assoziationsstudien zum Leptin- System.....	30
Tab.5:	Untersuchungsablauf von Tag 0 bis Tag 42.....	35
Tab.6.1:	Daten der SNPs des Leptingens.....	38
Tab.6.2:	Daten der SNPs des Leptinrezeptorgens.....	38
Tab.7.1:	Verteilungsmuster der Genotypen des Leptingens.....	39
Tab.7.2:	Verteilungsmuster der Genotypen des Leptinrezeptorgens.....	39
Tab.8.1:	Zusammensetzung des Master-Mix für die PCR (Leptingenprimer).....	40
Tab.8.2:	Zusammensetzung des Master-Mix für die PCR (Leptinrezeptorgenprimer).....	41
Tab.9:	Enzyme, Inkubationstemperatur, Puffer, Hersteller und Enzymumsatz.....	42
Tab.10.1:	Bandenmuster nach Restriktion und Aufteilung der Genotypen Leptingen.....	43
Tab.10.2:	Bandenmuster nach Restriktion und Aufteilung der Genotypen Leptinrezeptorgen..	44
Tab.11.1:	Software zur Auswertung.....	44
Tab.11.2:	Verwendete Geräte.....	44
Tab.11.3:	Verwendete Chemikalien.....	45
Tab.12:	Gewichtsveränderungen.....	51
Tab.13:	Gewichtsveränderungen nach 6 Wo. unter Olanzapin, Aripiprazol und Risperidon..	51
Tab.14:	BMI und BMI-Mittelwerte nach 6 Wochen.....	53
Tab.15:	BMI-Veränderungen nach 6 Wo. unter Olanzapin, Aripiprazol und Risperidon.....	54
Tab.16:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs2167270 Polymorphismus.....	56
Tab.17:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs10954173 Polymorphismus.....	57
Tab.18:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs3828942 Polymorphismus.....	58
Tab.19:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs7799039 Polymorphismus.....	58
Tab.20:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs1327120 Polymorphismus.....	59
Tab.21:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs1327118 Polymorphismus.....	60
Tab.22:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs1137101 Polymorphismus.....	61
Tab.23:	Darstellung der Genotypverteilungen des rs3790419 Polymorphismus.....	62

Abbildungsverzeichnis

Abb.1:	Durchschnittliche Gewichtszunahme verschiedener Neuroleptika.....	19
Abb.2:	Übersicht des Umfangs an Assoziationsstudien verschiedener Gensysteme.....	20
Abb.3:	Aufbau des humanen Leptingens mit Größenangabe der jeweiligen Bereiche.....	28
Abb.4:	Medikation des Patientenkollektivs	46
Abb.5:	Dauer der Neuroleptikatherapie.....	47
Abb.6:	Lebensalter bei erster stationären Behandlung.....	48
Abb.7:	Schulbildung des Patientenkollektivs.....	48
Abb.8:	Frage1: „Sind Sie mit Ihrem aktuellen Gewicht unzufrieden?“.....	49
Abb.9:	Frage2: „Können Sie Ihr Hungergefühl u. Ihr Verlangen nach Essen nicht kontrollieren.....“.....	49
Abb.10:	Mittelwert des Gewichts über 6 Wochen.....	50
Abb.11:	Darstellung der Gewichtswerte innerhalb drei Medikamentengruppen.....	52
Abb.12.1.:	Body Mass Index zu Studienbeginn.....	53
Abb.12.2.:	Body Mass Index zu Studienende.....	53
Abb.13:	Darstellung der BMI-Werte innerhalb drei Medikamentengruppen.....	54
Abb.14.1:	Glucoseparameter zu Beginn und am Ende der Studie.....	55
Abb.14.2:	Lipidstoffwechselfparameter zu Beginn und am Ende der Studie.....	56
Abb.15.1:	Signifikante Gewichtszunahme der Frauen nach 6 Wochen.....	60
Abb.15.2:	Signifikante BMI-Zunahme der Frauen nach 6 Wochen.....	60

1. Zusammenfassung

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende chronisch psychiatrische Störung multifaktorieller Genese mit einem Lebenszeiterkrankungsrisiko von ca. 1%. Sie ist gekennzeichnet durch starke Minderung des beruflichen und sozialen Leistungsvermögens durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken und Wahrnehmung, sowie inadäquatem oder verflachtem Affekt. Die Schizophrenie ist ein heterogenes Krankheitskonzept, dessen Symptome hinsichtlich des prognostischen Aspekts in Positiv- (u.a. Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen) und Negativsymptome (u.a. Affektverflachung, Antriebsschwäche, Anhedonie) unterschieden werden. Die medikamentöse Therapie der Schizophrenie erfolgt hauptsächlich mittels atypischer Neuroleptika. Diese zeigen viele klinisch relevante metabolische, endokrinologische, hämatologische und kardiovaskuläre Nebenwirkungen. Der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme kommt besonderer Stellenwert zu, da Übergewicht und Adipositas Risikofaktoren für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms und der damit verbundenen deutlich erhöhten kardiovaskulär bedingten Morbidität und Mortalität sind. Darüber hinaus kann eine Gewichtszunahme zu sozialer Stigmatisierung und Reduktion der Lebensqualität beitragen, sowie eine verminderte Bereitschaft zur Therapie verursachen.

Vorraussetzung für die angestrebte individualisierte Pharmakotherapie der Schizophreniepatienten sind verlässliche Prädiktoren für die Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme. Da jedoch die genauen pathophysiologischen Mechanismen der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme bisher nicht ausreichend geklärt sind, ist bis jetzt keine Prognose hinsichtlich der induzierten Gewichtszunahme möglich. Für den interindividuellen Unterschied der Gewichtszunahme sorgen neben dem Ernährungsverhalten und Bewegung die genetischen Faktoren.

Das Leptin- (ob-Gen) bzw. Leptinrezeptorgen sind Kandidatengene auf Chromosom 7, deren genetische Varianten sich in Studien zur Gewichtszunahme als signifikant assoziiert erwiesen. Diese Gene stellen interessante Kandidanten für die Untersuchung der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme dar, da das Leptinsystem eine Schlüsselrolle in der Gewichtsregulation und Energiehomöostase einnimmt. Leptin wird proportional zur Gesamtkörperfettmasse ausgeschüttet und reguliert die Nahrungsaufnahme über hypothalamisch- hypophysäre- und neuroendokrine Strukturen. Hohe Leptinspiegel signalisieren ein Sättigungsgefühl und führen zu einer verminderten Nahrungsaufnahme.

In der vorliegenden Arbeit wurde in einer Assoziationsstudie bei 91 schizophrenen Patienten kaukasischer Herkunft eine Beziehung zwischen vier SNPs des Leptingens und vier SNPs der Leptinrezeptorgens mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme untersucht. Der Promoterpolymorphismus des Leptingens rs7799039 und der SNP des Leptinrezeptorgens rs1137101 wurden in Studien von Zhang et al., Mou et al., Templeman et al., Kang et al., Müller et al. und Gregoor et al. als assoziiert mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme beschrieben. Die Auswahl der übrigen SNPs erfolgte aufgrund ihres Heterozygotenindex und ihrer Validität unter besondere Berücksichtigung der Lokalisation. Die SNPs wurden so gewählt, dass eine möglichst großflächige Abdeckung des zu untersuchenden Genes erlangt wurde.

In der vorliegenden Studie konnten übereinstimmende und differente Ergebnisse bezüglich anderer Studien gefunden werden, wie auch neue Ergebnisse zum Leptinsystem hervorgebracht werden. In dieser Arbeit zeigte sich keine Assoziation des in der Studienliteratur vorbeschriebenen Promoter-Polymorphismus rs7799039, sowie der Marker rs1137101 mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und/oder BMI-Zunahme. Es ließ sich jedoch eine Assoziation zwischen den untersuchten Marker rs3828942 (A-Allel), sowie der Marker rs1327120 (A-Allel) und rs1327118 (G-Allel) und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme bzw. BMI-Zunahme feststellen. Als sehr interessant erwiesen sich insbesondere Analysen einer geschlechterspezifischen Untersuchung. So konnte eine starke Assoziation zwischen dem Marker rs1327120 (A-Allel) des Leptinrezeptorgens bei weiblichen Patientinnen und Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme sowie BMI-Zunahme nach 6 Wochen gefunden werden. Darüber hinaus ließ sich eine Assoziation des Markers rs3828942 (A-Allel) bei Männern und des Markers rs1327120 (A-Allel) bei Frauen mit einer signifikanten Gewichtszunahme zeigen.

Diese Arbeit stellt eine umfassende Analyse des Leptinsystems (Leptin- und Leptinrezeptorgen) und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme dar. Die vorliegende Arbeit gibt ebenfalls Hinweise auf eine Assoziation des Leptinsystems mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme. Um diese Daten zu verifizieren und zu erweitern, sind Genotypisierungen in größeren, unabhängigen Studienpopulationen notwendig. Zudem sollte eine längere Erfassung des Verlaufs der Gewichtszunahme über viele Monate erfolgen.

2. Einleitung

2.1. Schizophrenie

2.1.1. Definition

Die Schizophrenie ist die schwerste chronische psychische Erkrankung und ist gekennzeichnet durch starke Minderung des beruflichen und sozialen Leistungsvermögens sowie durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken, Sprache und Wahrnehmung, sowie inadäquatem oder verflachtem Affekt. Die Schizophrenie ist ein heterogenes Krankheitskonzept, zu dessen wichtigsten psychopathologischen Phänomenen Störungen des Ich-Erlebens, wie die Gedankeneingebung, Gedankenentzug und Gedankenausbreitung, sowie Wahn, akustische Halluzinationen, Denkstörungen, Affektstörungen und katatone Störungen gehören (ICD-10 Version 2009). Die Schizophrenie zählt zu den 10 Erkrankungen mit der stärksten subjektiven Beeinträchtigung (Murray 1996) und stellt in Deutschland mit ca. 5 Milliarden Euro Gesamtkosten/Jahr die teuerste psychiatrische Erkrankung dar (Clade 2003).

2.1.3. Epidemiologie

Das Lebenszeitrisko an einer Schizophrenie zu erkranken liegt bei ca. 1% (Kendler 1996) bei einer Inzidenz von 11 zu 100000 (Goldner 2002). Unterschiede in der Prävalenz der Erkrankung sind in verschiedenen Ländern, Populationen und ethnischen Gruppen untersucht worden, brachte jedoch keine Differenzen (Torrey 1987). Das vermehrte Vorkommen schizophrener Patienten in niedrigen sozioökonomischen Schichten wurde zugunsten der "Drift-Hypothese" korrigiert (Gift 1988). Diese besagt, dass schizophrene Patienten und deren Angehörige aufgrund der krankheitsbedingten Auswirkungen auf Ausbildung, Beruf und sozialem Gefüge häufig einen sozialen Abstieg erleiden. Männer und Frauen sind etwa gleich häufig von der Schizophrenie betroffen, zeigen jedoch einen unterschiedlichen Erkrankungsbeginn. Männer erkranken mit ca. 20 Jahren im Durchschnitt 5 Jahre früher als Frauen (Häfner 1998).

2.1.4. Symptomatik und Verlauf/Prognose

Die klinische Symptomatik der Schizophrenie ist sehr vielgestaltig. Hinsichtlich des prognostischen Aspekts werden die Symptome der Krankheit in Positiv- und Negativsymptome unterschieden. Während sich die "positiven" akutpsychotischen Symptome der Schizophrenie mit Neuroleptika gut behandeln lassen, ist die Behandlung der Negativsymptomatik bisher noch unbefriedigend. Zu den charakteristischen Positivsymptomen der Schizophrenie gehören die Halluzinationen, die grundsätzlich alle Sinnesmodalitäten betreffen können, häufig jedoch

akustisch in Form von "Stimmenhören" auftreten, sowie der Wahn, der sich sowohl als Wahneinfall, wie auch als Wahnwahrnehmung äußern kann. Charakteristisch für die Schizophrenie sind zudem sog. Ich-Störungen, wie das Gedankenlautwerden (eigene Gedanken werden laut gehört), die Gedankeneingebung (Gedanken werden als fremd wahrgenommen), der Gedankenentzug (Gedanken werden von außen entzogen) und die Gedankenausbreitung (Gedanken sind für andere lesbar), die ein Beeinflussungserleben umschreiben, das gekennzeichnet ist durch die fehlende Abgrenzbarkeit des "Ichs" von der Umwelt. Klassische Symptome aus der Gruppe der Negativsymptome sind zum einen die Apathie, welche den Zustand primärer Motivationslosigkeit beschreibt, die Anhedonie, die die Unfähigkeit beschreibt, Freude zu empfinden und zum anderen der verflachte oder inadäquate Affekt und die Depression (Rupprecht et Hampel 2006). Die Diagnose Schizophrenie wird anhand des psychopathologischen Erscheinungsbildes unter differenzialdiagnostischer Abgrenzung zu anderen psychiatrischen und somatischen Erkrankungen gestellt. In operationalisierten Diagnosesystemen wie dem ICD-10 oder dem DSM IV sind genaue Kriterien festgelegt, die für die Diagnosestellung einer Schizophrenie vorhanden sein müssen.

Die Verlaufsformen der Schizophrenie sind sehr heterogen. Während die Mehrheit der Patienten einen chronischen Verlauf mit rezidivierenden Episoden ohne oder mit residualer Intervallsymptomatik, sowie chronisch -schleichende Verläufe zeigt, erleiden ca. 10% der Patienten nur eine einmalige schizophrene Episode (Robinson 1999). Häufig finden sich Monaten bis Jahre vor einer psychotischen Episode sog. "Prodromalerscheinungen", wie pseudoneurasthenisches oder depressives Erleben etc. (Häfner 1995). Für eine günstige Prognose der Schizophrenie scheint vor allem ein akuter Beginn, psychoreaktive Auslösung, geringe Negativsymptomatik und ein gute prämorbid Anpassung zu sein (DGPPN 2006). Studien zeigen, dass durch kontinuierliche antipsychotische Therapie der Verlauf und die Prognose der Erkrankung positiv beeinflusst werden (Robinson 1999).

2.1.4. Pathophysiologie und Ätiopathogenese

Die Schizophrenie ist eine multifaktoriell bedingte Erkrankung, deren genaue Ätiologie noch unvollständig geklärt ist. Nach der ‚neurodevelopment theory‘ führt die Interaktion zwischen genetischen, epigenetischen sowie unspezifischen Einflüssen während Schwangerschaft und Geburt zu einer Störung des frühen neuronalen Reifungsprozesses des Gehirns (Arnold 1999, Lewis 2002). Die später auf diesen vulnerablen Organismus treffenden unspezifischen Umweltfaktoren können dann zum akuten Ausbruch der Erkrankung führen, insbesondere dann, wenn die neuronale Entwicklung und Reifung des Gehirns zu diesem Zeitpunkt noch nicht

vollständig abgeschlossen ist („two-hit-model“) (Tsuang 2001, Maynard 2001). Die Progression des Krankheitsprozesses im Sinne einer hypothetischen „Neurodegeneration“ bzw. im Sinne einer „progressive neurodevelopmental disorder“ wird zunehmend diskutiert (Schmitt 2001). Das Zusammenspiel dieser Faktoren führt zu für die Schizophrenie charakteristischen neurobiologischen Veränderungen.

2.1.4.1. Neurobiologische Veränderungen

Patienten mit Schizophrenie weisen häufig Veränderungen der Gehirnarchitektur und verschiedener Neurotransmittersystemen nach. Eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der Erkrankung spielt eine Transmitterimbalance des dopaminergen Systems (Dopaminhypothese) (Karlsson 1978). Diese Inbalance äußert sich einerseits in einer zentralnervösen Überregbarkeit der dopaminergen mesolimbischen Bahn, andererseits in einer verminderten Aktivität der dopaminergen Innervation der mesokortikalen Bahn (Lieberman 2004). Die Störung des ersten Systems trägt zu den Positivsymptomen wie Wahn und Halluzinationen bei, während die Störung des zweiten Systems zu Negativsymptomen, wie Affektabflachung, vermindertem Antrieb, Rückzug und auch zu kognitiven Störungen führt (Weinberger 2001). Neben der dopaminergen Transmitterimbalance wird aber auch die Beteiligung weiterer Transmittersysteme an der Pathophysiologie der Erkrankung diskutiert. Eine Untersuchung von Kim et al. ergab einen signifikant erniedrigten Glutamat Spiegel bei Patienten mit Schizophrenie (Kim 1980). Die Glutamathypothese der Schizophrenie besagt, dass es ein Ungleichgewicht zwischen dopaminergem und glutamaterger Neurotransmission gibt. Das kortiko-strio-thalamo-kortikale Regelkreismodell wurde in den letzten Jahren erweitert, und umfasst nun neben glutamatergen und dopaminergen auch GABAerge und noradrenerge Mechanismen (Bleich 2001). Die Hypofunktion des glutamatergen Systems bei der Schizophrenie, wie auch das Ausbleiben der serotonergen Inhibition im präfrontalen Kortex auf subkortikale Strukturen (Serotoninhypothese) führt in bestimmten Hirnarealen zu einer gesteigerten Dopaminausschüttung (Bleich 2001, Laruelle 1992). In jüngster Zeit wird auch die Beteiligung des Endocannabinoidsystems an der Pathophysiologie der Schizophrenie diskutiert (Ujike 2004). Das Endocannabinoidsystem greift stark in die Regulation des dopaminergen Systems (Hyperaktivität) und des glutamatergen Systems (Hypoaktivität) ein. Somit wäre eine Annahme einer Störung des Endocannabinoidsystems bei der Schizophrenie mit der Dopamin- und der Glutamathypothese der Schizophrenie möglich (Lieberman 2004, Stelte 2003). An morphologischen Veränderungen fallen bei chronisch schizophrenen Patienten vergrößerte

Ventrikel, insbesondere des Dritten und der Seitenventrikel auf (Shenton 2001), sowie eine diffuse Substanzminderung der grauen Substanz. Die Verluste zeigen sich vor allem im Bereich des Temporallappen (Hippokampus, Gyrus temporalis superior), des frontalen Kortex, des Thalamus und Zerebellum (Scherk 2003). Diese pathomorphologischen Befunde korrelieren mit klinischen Symptomen der Schizophrenie, vor allem mit Halluzinationen und Denkstörungen (Schmitt 2001). Studien zur regionaler Hirndurchblutung und des Glucoseumsatz fanden eine relative Hypofrontalität bei schizophrenen Patienten (Rupprecht et. Hampel 2006).

2.1.4.3. Genetik

Eine große Bedeutung in der Ätiologie der Schizophrenie kommt den genetischen Faktoren zu. Aufgrund von Zwillings-, Familien- und Adoptionsstudien lässt sich die Varianz und das Auftreten der Erkrankung zu 60–70 % durch genetische Einflüsse erklären (Belmaker 1974, Kety 1994). Die Morbidität der Schizophrenie ist in der Durchschnittsbevölkerung deutlich niedriger als in betroffenen Familien. Diese zeigen mit zunehmendem Verwandtschaftsgrad zu einem schizophrenen Patienten eine signifikante Steigerung des Risikos, an einer Schizophrenie zu erkranken. So steigt das in der Durchschnittsbevölkerung angegebene Risiko von 1% auf 6-17%, wenn ein Angehöriger ersten Grades an Schizophrenie erkrankt ist (Lewis 2000, Tsuang 2001). In Tabelle 1 ist die Prävalenz in Abhängigkeit des Verwandtschaftsgrades angegeben (Lewis 2000). Für diese genetische Disposition wird eine polygene Erbanlage diskutiert. Mit Hilfe von molekulargenetischen Analysen wurden bislang mehrere Genregionen identifiziert, die Risikogene der Schizophrenie beinhalten.

Tab.1: Verwandtschaftsgrad und Schizophrenierisiko (Lewis 2000)

Verwandtschaftsgrad	Erkrankungsrisiko
Allgemeinbevölkerung	1%
Angehörige 3ten Grades (z.B. Cousin)	2%
Angehörige 2en Grades (z.B. Tante)	2-6%
Angehörige 1ten Grades (z.B. Eltern)	6-17%
Dizygote Zwillinge	17%
Monozygote Zwillinge	50%

2.1.7. Therapie der Schizophrenie

Durch die multifaktorielle Genese der Schizophrenie erfordert die Therapie die individuelle Erstellung eines mehrdimensionalen Behandlungskonzeptes, welches psychopharmakologische, psychotherapeutische und soziotherapeutische Maßnahmen beinhaltet. Während in der

Akuttherapie besonders die pharmakologische Therapie im Vordergrund steht, wächst der Stellenwert der anderen Therapieverfahren im Verlauf der Erkrankung. Aufgrund des chronischen Verlaufs der Schizophrenie erhalten die meisten Patienten eine antipsychotische Langzeittherapie mit atypischen Neuroleptika. Bei katatonen Symptomen der Schizophrenie (z.B. Hyper/Hypokinesien) werden zudem Benzodiazepine erfolgreich eingesetzt. Durch Antidepressiva lassen sich depressive Symptome der postschizophrenen Depression mildern. Die begleitende Psychotherapie beinhaltet die Stärkung des Selbstwertgefühls, während die kognitive Verhaltenstherapie auf Verbesserung des "Krankheitsmanagement" und auf Erhöhung der Compliance des Patienten abzielt. Der soziotherapeutische Ansatz umfasst die Unterstützung der Patienten im Alltag durch Hilfestellung bei Versorgung von Grundbedürfnissen und Strukturierung bzw. Organisation von Tagesabläufen. Für spezifische Probleme stehen zudem ergänzende Therapiemodule wie z.B. Ergo- Arbeits- und Musiktherapie zur Verfügung (Rupprecht et Hampel 2006). Das Ziel der evidenzbasierten Therapie ist die Remission von Positiv- und Negativsymptomen, sowie eine Wiedereingliederung des Patienten in sein soziales Umfeld, Beruf und Familie mit einer selbstbestimmten Lebensführung.

2.1.7.2. Pharmakotherapie mit Neuroleptika

Mit Einführung des ersten Neuroleptikums Chlorpromazin 1952 stand erstmals eine effektive Pharmakotherapie der Schizophrenie zur Verfügung (Delay 1952, Estler et Schmidt 2007). Inzwischen wird in der heutigen antipsychotischen Therapie nach ihrem Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil zwischen den typischen bzw. klassischen Neuroleptika der 1ten Generation und den atypischen Neuroleptika der 2ten Generation unterschieden.

2.1.7.2.1. Typische Neuroleptika

Typische Neuroleptika (z.B. Haloperidol) sind ausschließlich Dopaminrezeptor-Antagonisten mit einer hohen Affinität zum D2-Rezeptor. Die Affinität zu D2-Rezeptoren des limbischen Systems (mesolimbische Bahn) korreliert mit der klinischen antipsychotischen Wirkung gegen die Positivsymptome der Schizophrenie. Auf die Negativsymptome und kognitiven Defizite bei der Schizophrenie zeigen sie jedoch kaum Wirkung. Die antidopaminerge Wirkung findet auch in weiteren ZNS-Strukturen statt. So führen D2-Rezeptorblockaden im nigrostriatalen System zu den charakteristischen extrapyramidal-motorischen Störungen klassischer Neuroleptika, wie z.B. Dyskinesien und Akathisie. Diese werden durch die Reduktion der dopaminergen Aktivität und der daraus resultierenden relativen Zunahme an cholinergen Aktivität erklärt (Lieberman 2004). Auch in weiteren Systemen des ZNS findet ein Antagonismus an dopaminergen Rezeptoren statt.

So bewirken Blockaden im tuberoinfundibulären System (Hypothalamus /Hypophyse) eine Hyperprolaktinämie und können zu Störung der Sexualfunktion führen (Estler et Schmidt 2007).

2.1.7.2.2. Atypische Neuroleptika

Atypische Neuroleptika zeigen ebenfalls antagonistische Wirkung an Dopaminrezeptoren, wie dem D2-Rezeptor, und interagieren darüber hinaus aber mit weiteren Rezeptorfamilien. Mit Ausnahme von Amisulprid zeigen atypische Neuroleptika eine hohe Affinität zu serotonergen 5HT_{2A}-Rezeptoren. Der Antagonismus am 5HT_{2A}-Rezeptor hemmt die Serotoninfreisetzung in den synaptischen Spalt und führt zu einer gesteigerten Aktivität an Dopaminneuronen (Liebermann 1998) wodurch die durch D2-Rezeptorblockade verursachte Reduktion der dopaminergen Aktivität im Striatum verhindert wird. Diese Wirkung führt zu deutlich vermindertem Auftreten von extrapyramidal-motorischen Störungen. Neuere atypische Antipsychotika (z.B. Aripiprazol, Ziprasidon) zeigen andere pharmakologischen Eigenschaften. Das atypische Neuroleptikum Ziprasidon ist Agonist an präsynaptischen 5HT_{1A}-Rezeptoren und erhöht durch Reduktion des Neurotransmitters Serotonin die Dopamin- Aktivität im präfrontalen Kortex. Ein weiteres neueres Atypikum, Aripiprazol, wirkt als partieller Agonist mit geringer intrinsischer Aktivität an D2- und 5HT_{1A}-Rezeptoren. Abhängig von der Konzentration des endogenen Liganden an D2-Rezeptoren bei schizophrenen Patienten könnte ein funktioneller Antagonismus an Rezeptoren des überstimulierten mesolimbischen System und ein funktioneller Agonismus an unterstimulierten Rezeptoren im präfrontalen Kortex ausgelöst werden (Lieberman 2004). Die unterschiedlichen Wirkungen und Nebenwirkungen atypischer Neuroleptika gehen zudem auf weitere Rezeptorinteraktionen zurück. Neben dopaminergen und serotonergen Rezeptoren zeigen atypische Neuroleptika Aktivität an H₁-histaminergen und α -adrenergen Rezeptoren (Estler et Schmidt 2007).

2.1.7.3. Nebenwirkungsprofil atypischer Neuroleptika

Atypische Neuroleptika zeigen viele klinisch relevante metabolische, endokrinologische, hämatologische und kardiovaskuläre Nebenwirkungen. Neben sedativen und kognitionsinhibierenden Wirkungen sind viele Nebenwirkungen Komponenten des "Metabolischen Syndroms" wie viszerale Adipositas (BMI>35), Diabetes mellitus, Hypertonie (RR130/85mmHg), Hypertriglyceridämie (150mg/dl) und erniedrigtes HDL- Cholesterin. In Tabelle 2 sind die wesentlichen Nebenwirkungen atypischer Neuroleptika gegenübergestellt.

Tab.2: Übersicht unerwünschter Wirkungen atypischer Neuroleptika (Agelink 2006)

Wirkungen	Clozapin	Risperidon	Olanzapin	Amisulprid	Quetiapin	Ziprasidon	Aripiprazol
Metabolisch							
Gewichtszunahme	+++	++	+++	+	++	(0)*	(0)*
Diabetes	+	D	+	(D)*	D	(0)*	(0)*
Dyslipidämie	+	D	+	(D)*	D	(0)*	(0)*
Hämatologisch							
Agranulozytose	+	0	0	0	0	(0)*	(0)*
Leukopenie	++	+	+	0	+	(0)*	(0)*
Endokrinologisch							
Hyperprolaktinämie	0	++	+	+++	0	(0)*	(0)*
Dysmenorrhö	0	++	+	++	0	(0)*	(0)*
Kardiovaskulär							
Qtc-Verlängerung	+	+	+	+	+	(++)*	(0)*

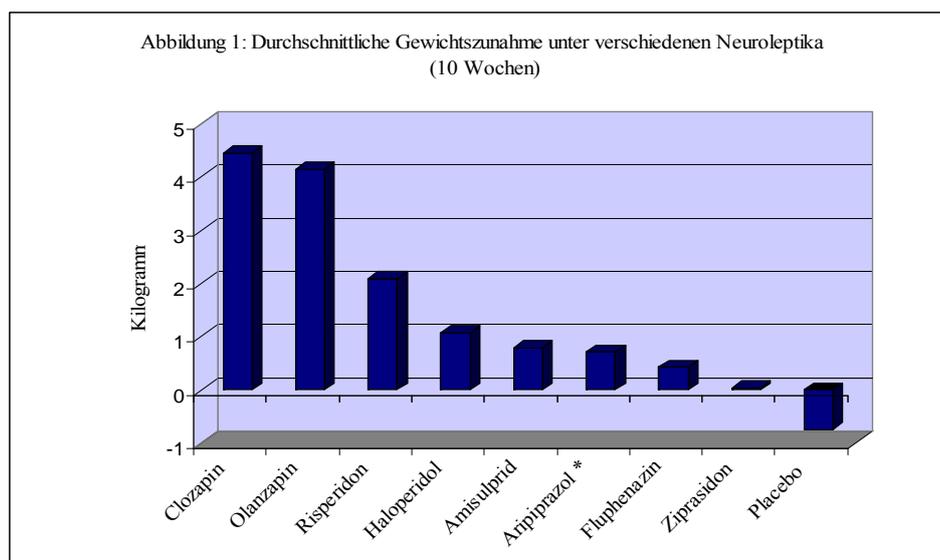
Legende zur Tab.2: 0 keine, + selten, ++ gelegentlich, +++ häufig, * neuere Substanzen mit limitierten Daten, D diskrepante Befunde

Angesichts des steigenden Einsatzes und der Länge der Therapie mit Antipsychotika rücken die damit verbundenen Nebenwirkungen zunehmend ins Blickfeld klinischer Betrachtungen. Der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme kommt dabei besonderer Stellenwert zu, da Übergewicht und Adipositas Risikofaktoren für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms und der damit verbundenen deutlich erhöhten kardiovaskulär bedingten Morbidität und Mortalität sind. Studien deuten darauf hin, dass im Vergleich zur Allgemeinpopulation schizophrene Patienten ein etwa doppelt so hohes Risiko aufweisen, am metabolischen Syndrom bzw. an seinen Einzelkomponenten zu erkranken (Holt 2004). Da schizophrene Patienten bereits ein erhöhtes Risiko an einigen somatischen Erkrankungen gegenüber der Allgemeinpopulation aufweisen, wie z.B. der rheumatoiden Arthritis (Jeste 1996) und allgemein medizinisch schlechter versorgt sind, stellt dies ein gravierendes Problem in der Behandlung der Schizophrenie dar. Ein weiteres Problem bei der Behandlung stellt die Therapietreue der Patienten dar. Die mangelnde Compliance korreliert dabei stark mit der Rehospitalisierungsrate. Eine Studie von Robinson et al. ergab eine signifikant höhere Rückfallrate schizophrener Patienten nach Absetzen der antipsychotischen Medikation (Robinson 1999). Für die klinische Stabilität der Schizophrenie ist eine kontinuierliche antipsychotische Therapie notwendig. Nebenwirkungen wie die Gewichtszunahme können zu sozialer Stigmatisierung und Reduktion

der Lebensqualität (Awad 2004) beitragen, sowie eine verminderte Bereitschaft zur Therapie verursachen (Weiden 2004).

2.2. Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme

Die genauen Mechanismen der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme sind nach wie vor unklar. Allgemein wird von einer durch unterschiedliche Gene hervorgerufenen Störung des physiologischen Gleichgewichts neurobiologischer Regelkreise ausgegangen, die zu einer Veränderung des Stoffwechsels und zur Steigerung des Appetits und der Nahrungsaufnahme führen (Kraus 2001). Aufgrund unterschiedlicher pharmakodynamischer Eigenschaften der Antipsychotika und interindividueller Variabilität der Gewichtszunahme bei gleicher Dosierung ergibt sich eine große Spannbreite Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme. Abbildung 1 zeigt die durchschnittliche Gewichtszunahme verschiedener Neuroleptika in 10 Wochen (modifiziert nach Allison 1999).



Legende zur Abb.1: * nicht genügend Daten, 4-6Wochen Analyse

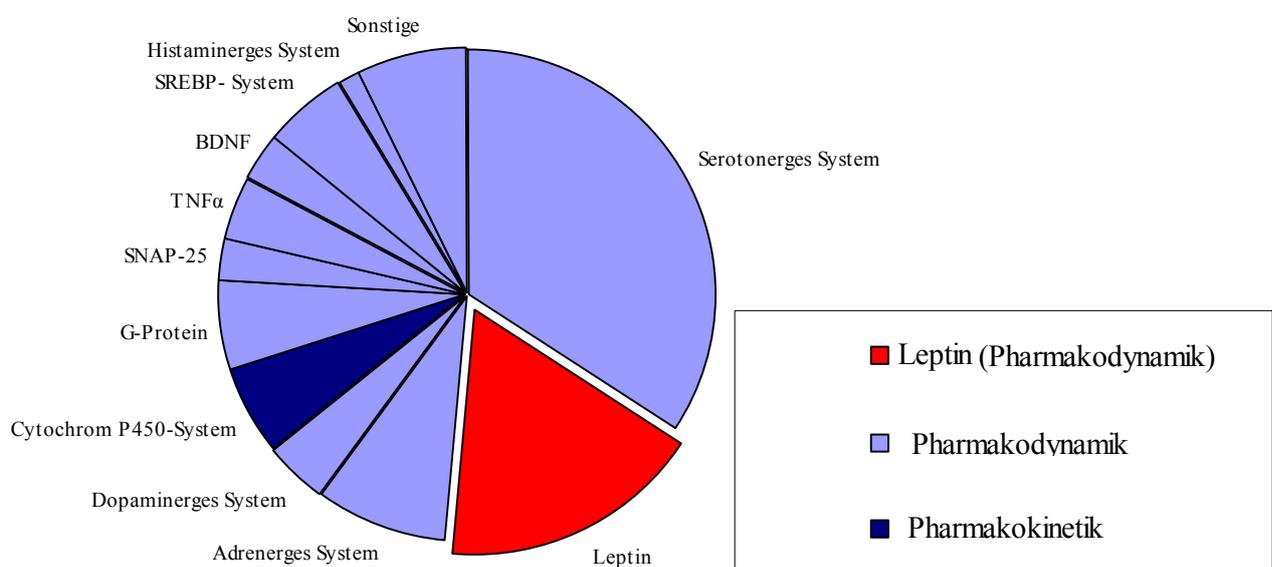
Genetische Faktoren sind nach heutigem Wissensstand der Schlüssel der interindividuellen Variabilität (Müller 2006). Durch unabhängige pharmakogenetische Untersuchungen konnten in den letzten Jahren Genvarianten identifiziert werden, die eine Assoziation mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme zeigen. Klinisches Interesse besteht vor allem in der Kenntnis verlässlicher Prädiktoren, da bisher keine Prognosen hinsichtlich der Gewichtszunahme möglich sind. Pharmakogenetische Untersuchungsansätze zur Identifikation assoziierter Gene konzentrieren sich auf zwei verschiedene, zum Teil ergänzende Methoden, die sog. Kopplungs- und Assoziationsstudien. Kopplungsstudien sind Studien ohne Hypothese, mit informativen

Familien zum Nachweis von z.T. nicht bekannten Genloki. Assoziationsstudien basieren auf der Analyse von bekannten Kandidatengenen mit z.B. Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme. Bei der Mehrzahl bisher publizierter Studien handelt es sich um Assoziationsstudien, die pharmakokinetische wie auch pharmakodynamische Prozesse Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme berücksichtigen.

2.2.1. Kandidatengene

Für diese Arbeit wurden 56 Assoziationsstudien von 16 Gensystemen zu Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme evaluiert und hinsichtlich ihrer Ergebnisse dargestellt (aus Pubmed bis Juli 2010). Die untersuchten Patientenkollektive waren in ihrer Größe, des Untersuchungszeitraum und der Medikation sehr heterogen. Die Anzahl der Studienpatienten variierte von 11-756 Patienten bei einer Studiendauer von ca. 4 Wochen bis ca. 8 Jahren. Die Patienten erhielten überwiegend Clozapin gefolgt von Risperidon, Chlorpromazin und Olanzapin. Die Gewichtsveränderungen wurden innerhalb der Studien entweder in Kilogramm (Kg) oder als BMI- Veränderungen (BMI=Body-mass-Index (Gewicht/Körpergröße² [kg/m²])) erfasst. Die meisten Assoziationsstudien liegen für die Pharmakodynamik der Neuroleptika vor, insbesondere zum Serotonergen System. Weitere umfassende Studien wurden zum Leptin- und Adrenergen System durchgeführt. Wenige Studien liegen zum G-Protein, TNF- α , SREBP-System, BDNF, SNAP-25, Dopaminergen- und dem Histaminergen-System vor. Studien zur Pharmakokinetik (Cytochrom P-450) sind ebenfalls unterrepräsentiert. Abbildung 2 gibt eine Übersicht der Assoziationsstudien zur Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme.

Abb.2: Übersicht des Umfangs an Assoziationsstudien verschiedener Gensysteme (56 Studien)



2.2.1.1 Pharmakokinetik (Cytochrom P450-System)

Die Metabolisierung der meisten Neuroleptika verläuft über das Cytochrom P450 System (CYP450). Eine Hypothese der Neuroleptika-assoziierten Gewichtszunahme geht von einer linearen Korrelation des Neuroleptika-Plasmaspiegel und der Nebenwirkung Gewichtszunahme aus. Bisher untersuchten vier Studien diesen Zusammenhang. In einer Studie von Ellingrod et al. wurden drei Polymorphismen des CYP2D6 -Gens (CYP2D6*1, CYP2D6*3, CYP2D6*4) hinsichtlich des Gewichtsverlaufs in 11 männlichen schizophrenen Patienten für ca. 12 Monate untersucht (Ellingrod 2001). Die Studie ergab eine signifikante Assoziation zwischen der Abwesenheit eines bzw. beider Wildtyp-1* Allele und Olanzapin-assoziiierter Gewichtszunahme. Die Auswertung des 3* und 4* Allel erzielte eine signifikante Assoziation zu erhöhten Olanzapin-Plasmaspiegeln und Gewichtszunahme ($p=0,009$). Eine weitere Studie von Lane et al. untersuchte ein chinesisches Patientenkollektiv über eine Dauer von 6 Wochen bei Risperidon-Monotherapie (Lane 2006). Der analysierte 188C/T Polymorphismus des CYP2D6-Gens zeigte einen Zusammenhang des C/C Wildtypen mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme ($p=0,004$ und $p=0,04$). Basile et al. untersuchte einen Polymorphismus im Intron 1 (C/A) des CYP1A2-Gens an 70 Clozapin-behandelten schizophrenen Patienten über einen Zeitraum von ebenfalls 6 Wochen (Basile 2001). Der Polymorphismus war nicht mit einer Gewichtszunahme assoziiert. Anders hingegen in einer kürzlich publizierten Studie von Laika et al., in der der Einfluß des rs762551 des CYP1A2-Gens an 124 schizophrenen Patienten eruiert wurde (Laika 2010). Die Patienten wurden über einen Zeitraum von 4 Wochen unter Olanzapintherapie untersucht. Dabei zeigte sich der rs762551 Polymorphismus nicht mit einer Gewichtszunahme assoziiert.

2.2.1.2. Pharmakodynamik

2.2.1.2.1. Dopaminerges System

Das dopaminerge System ist der Hauptangriffspunkt der Neuroleptika mit zusätzlicher Funktion innerhalb zentraler Belohnungsregelkreise. Rietschel et al. analysierte 149 schizophrene Patienten mit Clozapin Monotherapie zu vier Polymorphismen des DRD4-Rezeptor Gens (48-bp repeat (Exon3), 12-bp repeat (Exon 1), 13-bp Deletion (Exon 1), Gly11Arg Substitution) (Rietschel 1996). Weitere Studien an chinesischen Kollektiven untersuchten einen Zusammenhang des DRD2-Rezeptor - Gens (Taq1A- u. 311-Ser/Cys Polymorphismus) (Zhang 2003, Lane 2006). Keine der Studien zeigte eine signifikante Assoziation mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme.

2.2.1.2.2. Histaminerges System

Nach Allison et al. zeigen die Neuroleptika Olanzapin und Clozapin die größte Neuroleptika assoziierte Gewichtszunahme (Allison 1999). Beide Antipsychotika zeigen darüber hinaus starke Affinität zum Histamin H1-Rezeptor, welches als potentieller Mechanismus Neuroleptika assoziierter Gewichtszunahme diskutiert wird (Wirshing 1998). Nach einer Studie von Hong et al. wurden 88 chinesische schizophrene Patienten (Clozapin Monotherapie) über einen Zeitraum von 4 Monaten zum Glu349Asp und Leu449Ser Polymorphismus untersucht (Hong 2002). Die Studie ergab keine Signifikanz bzw. zeigte sich nicht aussagefähig da 94% der Patienten homozygot für das 349Glu- und alle untersuchte Patienten homozygot für das 449Leu-Allel waren.

2.2.1.2.3. Serotonerges System

Wie auch das dopaminerge- und histaminerge System ist das serotonerge System ein Angriffspunkt der Neuroleptika. So zeigen die Neuroleptika Olanzapin und Clozapin an serotonergen Rezeptoren besonders starke antagonistische Affinität. Im Mittelpunkt des Interesses steht der 5HT2C-Rezeptor, der an Untersuchungen am Tiermodell mit 5HT2C-Knockout Mäusen zu einer Hyperphagie führte (Tecott 1995). Insgesamt wurde 20 Studien zum serotonergen System und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme analysiert. Tabelle 3 gibt eine Übersicht der Kandidatengene und signifikanten Studien.

Tab.3: Übersicht der signifikanten Assoziationsstudien zum serotonergen System

Gen	Polymorphismus (Allel)	Studien-dauer	Medikation	Kollektiv	Hauptergebnisse	Quelle
5-HT2C	-759C/T rs7997012	bis zu 10 Wochen	Nicht Einheitlich	123 Chinesen	geringere Gewichtszunahme -759T-Allel nach 6 Wochen (n=96, p<0,0001) u. nach 10 Wochen (n=90, p=0,0003)	Reynolds 2002
		6 Wochen	Clozapin	73 (Kaukasier/ Afroamerikaner)	Trend höhere Gewichtszunahme bei Männern (n=45) bei -759T-Allel (p=0,047)	Basile 2002
		10 Wochen	Chlorpromazin / Risperidon	117 Chinesen	geringere Gewichtszunahme -759T-Allel nach 10 Wochen	Zhang. 2002
		6 Wochen	Clozapin	32 Chinesen	geringere Gewichtszunahme -759T-Allel (p=0,02)	Reynolds 2003
		12 Wochen	Clozapin	97 Kaukasier	Trend geringere Gewichtszunahme bei -759T-Allel (p=0,07)	Theisen 2004
		6 Wochen,	Nicht	73 spanische	geringere Gewichtszunahme -759T-	Tempelman

		3 u.9 Monate	Einheitlich	Kaukasier	Allel nach 6W. 3 u. 9M. (p=0,003;0,01; 0,03)	2005
		6 Wochen	Olanzapin	42 Kaukasier	Gewichtszunahme >10% -759C- Allel (p=0,002)	Ellingrod 2005
		4 Wochen	Olanzapin	124 Kaukasier	geringere Gewichtszunahme -759T- Allel (p=0,002)	Laika 2010
		6 Wochen	Clozapin	35 Kaukasier, 1 Hispanic,5 Afroamerikaner	-759T-Allel weniger BMI- Schwankungen (p=0,002)	Miller 2004
		6 Wochen	Risperidon	123 Chinesen	geringere Gewichtszunahme - 759T/C u. T/T Genotyp (p=0,04)	Lane 2006
		4 Wochen	Nicht Einheitlich	84 Koreaner	geringere Gewichtszunahme (<5%) -759T-Allel (p=0,03)	Ryu 2007
		6 Monate	Olanzapin/Cl ozapin	46 Kaukasier	Höherer BMI bei Trägern des - 759C-Allels (p=0,029)	Gunes 2009
	rs498207 rs3813928 rs3813929	Nicht genannt	Nicht genannt	128 Kaukasier	Höhere Gewichtszunahme des rs498207 AA/A Genotyps (p=0,019) Höhere Gewichtszunahme rs3813928 und rs3813929	Opgen- Rhein 2010
	rs3813929 rs518147	6 Wochen	Olanzapin	107 Kaukasier	geringere Gewichtszunahme rs3813929 T-Allel (p=0,002) und rs518147 C-Allel (p=0,0006)	Godlewska 2009
5HT2A	102T/C	6 Wochen	Risperidon	123 Chinesen	geringere Gewichtszunahme C/C Genotyp (p=0000,1)	Lane 2006
5HT6	267C/T	6 Wochen	Risperidon	123 Chinesen	höhere Gewichtszunahme T/C u. C/C Genotyp (je p=0,02)	Lane 2006

2.2.1.2.4. G-Protein System

Monoaminerge Rezeptoren (z.B. DRD2), die die Wirkungsweise von Neuroleptika vermitteln, sind intrazellulär an sog. G-Proteine gekoppelt, die eine Schlüsselposition in der Signalweiterleitung einnehmen. Ein heterotrimeres G-Protein besteht aus drei Untereinheiten (α , β und γ). Jede Untereinheit des Proteins wird durch ein spezifisches Gen codiert. Tsai et al. genotypisierte 87 schizophrene Patienten eines chinesischen Kollektivs (Tsai 2004). Alle Patienten erhielten eine Clozapin-Monotherapie über den Untersuchungszeitraum von 4 Monaten. Der analysierte C825T Polymorphismus zum GNB3-Gen der $\beta 3$ -Untereinheit zeigte keine signifikante Assoziation mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme. Eine weitere Studie von Wang et al. untersuchte ein größeres Kollektiv von 134 chinesischen schizophrenen Patienten mit Clozapinbehandlung über ca. 13 Wochen (Wang 2005). Die Studiauswertung

des C825T Polymorphismus zeigte eine stärkere Gewichtszunahme bei Patienten des T/T Genotyps (16,2%) verglichen zum C/T (9,3%) und C/C (5,5%) Genotyp ($p=0,003$). Eine dritte Studie von Bishop et al. zum C825T Polymorphismus analysierte 42 schizophrene Patienten bei Olanzapin-Monotherapie über eine Studiendauer von 6 Wochen (Bishop 2006). Auch hier zeigte sich keine statistische Signifikanz, jedoch hatten erneut Patienten des T/T Genotyps (4 Patienten) die stärkste Gewichtszunahme (16,6%). Eine Studie von Park et al. untersuchte erneut den 825C/T Polymorphismus an 104 koreanischen Patienten unter Olanzapintherapie über 3 Monate (Park 2009). Wiederholt zeigte sich keine statistische Signifikanz.

2.2.1.2.5. Adrenerges System

Das adrenerge System als Komponente des sympathischen bzw. vegetativen Nervensystems hat eine wichtige Funktion in der Regulation des Energiestoffwechsels, dessen Modulation im Zusammenhang mit der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme stehen könnte. Rezeptoren des sympathischen Nervensystems lassen sich in zwei Gruppen, die α - und die β -Adrenorezeptoren ($ADR\alpha/\beta$) einteilen, mit bis zu zwei Subtypen des $ADR\alpha$ und drei Subtypen des $ADR\beta$ (Baak 2001). Jeder Subtyp wird durch ein spezifisches Gen kodiert. In einer Studie zum $ADR\alpha1$ - (Arg347Cys -Polymorphismus) und in zwei Studien zum $ADR\beta3$ - Gen (Trp64Arg Polymorphismus) konnten keine Signifikanzen mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme an Clozapin behandelten schizophrenen Patienten ermittelt werden. (Basile 2001, Tsai 2004). Signifikante Assoziationen zeigten sich jedoch bei drei Studien zum -1291C/G Polymorphismus des $ADR\alpha2$ - Gen. Wang et al. analysierte in einer ca. 14monatigen Studie den -1291C/G Polymorphismus an 93 chinesischen Patienten mit Clozapintherapie (Wang 2005). Der G/G Genotyp zeigte sich als Signifikant mit einer erhöhten Gewichtszunahme assoziiert ($p=0,02$). In einer zweiten Studie zum -1291C/G Polymorphismus von Park et al. wurden 62 koreanische schizophrene Patienten mit Olanzapinbehandlung über einen Zeitraum von ca. 3 Monaten untersucht (Park 2006). Der G/G Genotyp war auch hier mit einer signifikanten höheren Gewichtszunahme $>10\%$ assoziiert ($p=0,03$), selbst heterozygote Träger des G-Allels zeigten eine signifikant assoziierte Gewichtszunahme ($p=0,01$). In einer neusten Studie von Sickert et al. wurden 129 Patienten über 6-14 Wochen zum -1291C/G (rs800544) Polymorphismus untersucht (Sickert 2010). Unter Clozapin- und Olanzapintherapie zeigten Träger des C-Allels eine signifikant höhere Gewichtszunahme ($p=0,046$).

2.2.1.2.6. Synaptosomal-assoziiertes Protein, 25kDa (SNAP-25)

SNAP-25 gehört zu den synaptosomalen SNARE Proteinen und bildet mit Syntaxin1 und Synaptobrevin den sog. Core-Komplex. Dieser vermittelt die Fusion von synaptischen Neurotransmitter-Vesikeln an der präsynaptischen Membran. Seine potentielle Rolle in der Modulation der Insulinausschüttung stellt eine mögliche Komponente in der Gewichtsregulation dar. Eine Studie von Müller et al. untersuchte drei Polymorphismen (DdelI T/C, MnII T/G, TaiI T/C) im 3'UTR des SNAP-25 Gens in 59 schizophrenen Patienten (56% Afro-Amerikaner) in einem Untersuchungszeitraum von ca. 12 Wochen (Müller 2005). Vor Einschluss der Kovariablen (Alter, Ethnizität, Medikation, Behandlungsdauer) zeigten die Polymorphismen MnII T/G und TaiI T/C eine signifikante Neurolepetika-induzierte Gewichtszunahme ($p=0,01$ bzw. $p=0,04$). Eine zweite Studie von Musil et al. analysiert erneut oben genannt Polymorphismen in einem größeren Kollektiv von 162 kaukasischen schizophrenen Patienten über 5 Wochen und erhielt eine signifikante Assoziation des DdelI T/C Polymorphismus und Neurolepetika-induzierter Gewichtszunahme (Musil 2008).

2.2.1.2.7. Tumor-Nekrose-Faktor alpha ($TNF\alpha$)

$TNF\alpha$ wird eine vermittelnde Rolle im Lipidmetabolismus, sowie der Adipositas assoziierten Insulinresistenz zugeschrieben (Hotamisligil 1994). Erhöhte $TNF\alpha$ mRNA Spiegel wurden bei übergewichtigen Frauen im Vergleich zu Normalgewichtigen gemessen (Hotamisligil 1995). Ein Studie von Basile et al. analysierte 74 schizophrene Patienten über eine Studiendauer von 6 Wochen (Basile 2001). Der Promoter Polymorphismus G308A zeigte sich als nicht signifikant mit Clozapin-induzierter Gewichtszunahme assoziiert. Eine weitere Studie von Zai et al. erzielte ebenfalls keine Signifikanz des G308A Polymorphismus mit 247 schizophrenen Patienten über einen Zeitraum von 6 Wochen (Zai 2006). Es ergab sich lediglich einen Trend des G-Allels mit Clozapin-induzierter Gewichtszunahme. In einer aktuellen Studie von Wang et al. wurden 55 schizophrene Patienten über einen Zeitraum von 8 Jahren erneut zum Einfluß des G308A Polymorphismus untersucht (Wang 2010). Unter Monotherapie mit Clozapin zeigte sich eine signifikante Gewichtszunahme bei Patienten, die homozygot das G-Allel trugen ($p=0,0084$).

2.2.1.2.8. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

BDNF gehört zur Genfamilie der Neutrophine und trägt zur Gehirnentwicklung und aktivitätsabhängiger synaptischer Plastizität bei. Erkenntnissen zur Folge hat BDNF ebenfalls eine Rolle im Hypothalamischen- Melanokortin Regelkreismodell zu Regulation des

Körpergewichts (Wisse 2003). Lane et al. untersuchte 123 chinesische schizophrene Patienten mit Risperidon-Monotherapie zum Val66Met Polymorphismus über einen Zeitraum von 6 Wochen (Lane 2006). Das Met-Allel war in seinem Kollektiv mit einer signifikant geringeren Gewichtszunahme assoziiert ($p=0,02$). Eine weitere Studie von Zhang et al. wiederholte die Untersuchung an einem Patientenkollektiv von 196 Chinesen und erzielte eine signifikante Assoziation zwischen dem Promoter Polymorphismus Val66Met und einer Gewichtszunahme bei Langzeitmedikation (Zhang 2008).

2.2.1.2.9. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)- System

Eine Studie von Hellard et al. analysierte 44 Polymorphismen der Hauptgene des SREBP-Systems (SREBF1, SREBF2, SCAP, INSIG1 und INSIG2) in 160 schizophrenen Patienten (12 Wochen \pm 1,2) (Hellard 2008). SREBP (sterol regulatory element-binding protein) ist eine Regulationseinheit des endoplasmatischen Retikulums (ER) zur Expression von Genen mit einer Rolle in der Cholesterin- und Fettsäurebiosynthese. Drei Polymorphismen (rs17587100, rs10490624, rs17047764) bei bzw. des INSIG2 (Insulin induziertes Gen 2) zeigten starke Assoziation mit Clozapin induzierter Gewichtszunahme. Eine weitere Studie von Skelly et al. untersuchte 11 Polymorphismen des INSIG2 in 756 Patienten des CATIE- Kollektivs über einen Zeitraum von 18 Monaten (Skelly 2007). Keiner der Polymorphismen zeigte eine signifikante Assoziation mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme. Eine kürzlich publizierte Studie von Opgen-Rhein et al. untersuchte ebenfalls Polymorphismen des INSIG2 an 128 kaukasischen schizophrenen Patienten (Opgen-Rhein 2010). Es zeigte sich keine Assoziation der untersuchten Polymorphismen mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme. Eine weitere aktuelle Studie von Tiwari et al. untersuchte vier Polymorphismen (rs17587100, rs10490624, rs17047764, rs7566605) des INSIG2 an 154 Patienten über bis zu 14 Wochen (Tiwari 2010). Kein Polymorphismus zeigte sich unter Clozapin-, Olanzapin-, Haloperidol- oder Risperidontherapie mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme assoziiert.

2.2.1.2.10. Weitere untersuchte Gene

Weitere Gene die an 130 Patienten in Zusammenhang mit Olanzapin induzierter Gewichtszunahme untersucht wurden, sind das Lipoproteinlipase (LPL)-Gen (5 Polymorphismen), das Triacylglycerol (TAG)- Lipase-Gen (zwei Polymorphismen) und das ATP Citrat Lyase (CL) -Gen. Keiner der Polymorphismen zeigte eine signifikante Assoziation (Srivastava 2008). Im Rahmen einer Studie zu Olanzapin bzw. Risperidon induzierter Gewichtszunahme an 168 Patienten wurden Gene des LDL- und HDL- Metabolismus, sowie zu

Genen appetitregulierender Hormone analysiert (Apolipoprotein E (APOE)-, B(APOB), AI (APOA1)-, AII (APOAII)- und AIV (APOA4)-Gen, Paraoxonase 1 (PON1)-Gen, Scavenger receptor class B, member 1 (SCARB1)- und 2 (SCARB2)-Gen, sowie Neuropeptid Y (NPY)-, Grehlin precursor (GHRL)-, Galanin (GAL) und Neuropeptid Y Rezeptor Y5 (NPY5R)-Gen) (Ruano 2007). Dabei zeigten die Polymorphismen rs705381 (PON1-Gen) und rs6837793 (NPY5R-Gen) eine signifikante Assoziation mit Risperidon induzierter Gewichtszunahme ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,002$). In der Olanzapingruppe bestand eine signifikante Assoziation zwischen den Polymorphismen rs7412 (APOE-Gen) ($p = 0,006$), rs5092 (APOA4-Gen) ($p = 0,012$) und des rs4765623 (SCARB1-Gen) ($p = 0,015$) und Gewichtszunahme. Darüber hinaus wurden in aktuellen Studien zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme Gene des Cannabinoidsystems und PPAR- γ , sowie Adiponectingene untersucht. Das Cannabinoidsystem wurde von Tiwari et al. anhand des rs806378 Polymorphismus des Cannabinoidrezeptor 1 (CNR1) an 183 Patienten untersucht (Tiwari 2010). Das T-Allel zeigte sich signifikant mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme assoziiert ($p = 0,008$). Herken et al. untersuchte den Pro12Ala Polymorphismus des PPAR- γ 2- Gens an 95 türkischen Patienten (Herken 2009). Der Polymorphismus wies eine signifikante BMI- und Gewichtszunahme unter Neuroleptikatherapie auf. Zum Adiponectingen wurde von Lehua et al. der +45T/G und +276G/T Polymorphismus analysiert (Lehua 2009). Diese Studie zeigte keine statistische Signifikanz.

2.2.2. Genomweite Kopplungs- und Assoziationsstudien

Die bisher einzige Kopplungsstudie im Bereich Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme stammt von Chagnon et al., der 508 Familienmitglieder mehrerer Generationen untersuchte (Chagnon 2004). Viele Familienmitglieder waren an Schizophrenie oder Bipolarer Störung erkrankt und seit mindestens drei Jahren in Behandlung mit Neuroleptika, vorzugsweise Haloperidol und Chlorpromazin. Adipositas trat mehr als 2,5mal so häufig in der Gruppe der Neuroleptikatherapierten Patienten (30%) auf als bei unmedizierten Verwandten (12%). Die Genomanalyse beinhaltete 470 Mikrosatelliten und erzielte einen LOD- Score von 2,74 (statistische Abschätzung der Wahrscheinlichkeit einer gekoppelten Vererbung; LOD- Score > 3 ~ statistische Signifikanz) für das Chromosom 12q24. Die identifizierte Region befindet sich weniger als 1cM von dem kodierenden Gen für Pro-Melanin-concentrating hormon (PMCH), einem Hormon, welches eine Regulationsfunktion in der Nahrungszufuhr und Energiebereitstellung hat. Eine genomweite Assoziationsstudie von Kirkwood et al. untersuchte Patienten mit mindestens 9monatiger Olanzapintherapie und Gewichtszunahme (Kirkwood 2005). Das Patientenkollektiv wurde in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe ($n = 255$) enthielt

Patienten mit starker Gewichtszunahme, die andere Gruppe (n=258) erfasst Patienten mit geringer Gewichtszunahme. Die Analysen beinhalteten 1,6 Millionen Polymorphismen zur Ermittlung aller Unterschiede in der Allelfrequenz innerhalb des Kollektivs, anschließend wurden alle Patienten zu den identifizierten 30000 Polymorphismen (47 Gene) untersucht. Neben zahlreichen Assoziationen wurden das "polycystic kidney and hepatic disease 1" (PKHD1) Gen und das "peptidylglycine α -amidating monooxygenase" (PAM) Gen als besonders zukunftssträchtige Befunde hervorgehoben, da genannte Gene an der Regulation von Gewichts- und Energieprozessen beteiligt sind.

2.3. Leptinsystem

2.3.1. obese-Gen und Leptinrezeptorgen

Das menschliche ob- (obese) Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q32) (Geffroy 1995) und besteht aus 3 Exons und 2 Introns mit einem Gesamtbereich von 18 Kilobasen. Die kodierende Sequenz für das Genprodukt Leptin liegt auf dem 2ten und 3ten Exon (Gong 1996). Der Promoter als Erkennungs- und Bindungsstelle der RNA-Polymerase befindet sich vor dem ersten Exon. Er dient der Regulation des Transkriptionsvorgangs. Allelvariationen des Promoters könnten zu unterschiedlicher Transkriptionsrate führen.

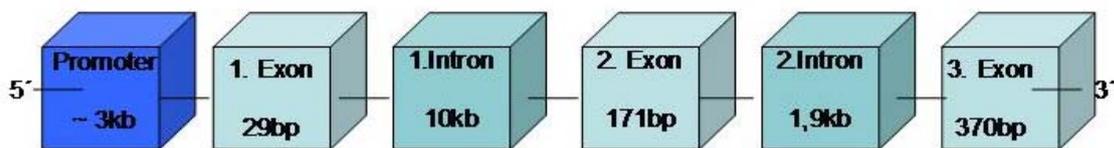


Abb.3: Aufbau des humanen Leptingens mit Größenangabe der jeweiligen Bereiche

Das ob- Gen wurde erstmals in der Maus identifiziert. Die Aminosäuresequenz des menschlichen ob- Gens erwies sich zu 84% identisch mit der Sequenz der Maus (Zhang 1994). Umfangreiche Studien zur homozygoten obese-Maus zeigten einen massiv adipösen Phänotyp und im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen Hyperphagie, Hyperglykämie und Insulinresistenz (Hummel 1966).

Das Leptinrezeptorgen befindet sich ebenfalls auf Chromosom 7. Es besteht aus 19 Introns, sowie Exon 1,2,4,5,6,9,11,12,14,15,16 und 20. Die 1998 entdeckte Mutation des Gens im Exon 16 führte bei den untersuchten homozygoten Schwestern zu Hyperphagie und Adipositas (Clement 1998). Das Leptinrezeptorgen wurde erstmals 1995 von Tartaglia et al. aus Mäuse-

Choroid isoliert und kloniert. Es kodiert für mindestens 5 Splicevarianten des Rezeptors. Die im Hypothalamus exprimierte Variante besitzt, im Gegensatz zu den Übrigen, eine lange zytoplasmatische Region mit unterschiedlichen Domänen für die Signaltransduktion (Tartaglia 1995, Lee 1996).

2.3.2. Physiologie des Leptinsystems

Leptin ist ein 17 kD großes Proteohormon mit 167 Aminosäuren, das hauptsächlich von Adipozyten, aber auch von der Plazenta sowie Teilen des Gastrointestinaltraktes gebildet wird (Kraus 2001). Es wird durch das ob- (obese) Gen kodiert. Die Sekretion von Leptin ins Blut erfolgt pulsatil (Lincino 1997). Zirkulierendes Leptin korreliert mit dem prozentualen Anteil der Fettmasse am Körpergewicht und signalisiert damit dem Zentralnervensystem die Größe des peripheren Fettgewebes (Pollmächer 2002). Ein erhöhter Plasmaspiegel von Leptin durch eine hohe Körperfettmasse führt über hypothalamische Regulationsvorgänge zu einer Verminderung des Appetits und der Nahrungsaufnahme, sowie zu einer Steigerung des Stoffwechsels. Durch Reduktion der Gesamtkörperfettmasse sinkt die Leptinkonzentration im Blut, während eine Zunahme der Fettmasse einen Anstieg der zirkulierenden Leptinmenge zur Folge hat. Frauen haben einen ca. 2- 3mal höheren Spiegel als Männer, da Testosteron inhibitorische Wirkung auf den Leptinspiegel ausübt (Kraus 2001). Möglicher Zusammenhang einer Gewichtszunahme unter Neuroleptika könnte auch mit einer Modulation des Leptinspiegels verbunden sein.

Der Leptinrezeptor gehört zur Gruppe der Zytokinrezeptoren und besteht aus drei Domänen (extrazellulär, transmembranal, intrazellulär). Diese Rezeptoren werden vor allem im Nucleus arcuatus und Nucleus paraventricularis des Hypothalamus exprimiert. Im Nucleus arcuatus befinden sich zwei verschiedene Neuronengruppen zur Regulation des Essverhaltens, mit gegensätzlicher Funktion. Eine Neuronenpopulation produziert die appetitstimulierenden Neuropeptide AgRP (agouti-related protein) und NYP (Neuropeptid Y), die zweite Gruppe exprimiert die appetitzügelnden Neuropeptide, POMC (Proopiomelanocortin) und CART (Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript). Auf die appetitstimulierenden AgRP/NPY-Neurone zeigt Leptin inhibitorische, auf die appetitzügelnden POMC/CART-Neurone aktivierende Wirkung, was insgesamt zu einem „Sättigungssignal“ für den Körper führt (Kraus 2001).

2.3.3. Assoziationsstudien zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme

Bisher liegen 11 Studien zum Leptinsystem und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme vor. Die Mehrzahl der Studien konzentriert sich auf Polymorphismen des Leptin-Gens, insbesondere

auf den rs7799039 (A/G) Polymorphismus der Promoterregion, drei Studien beschäftigen sich mit Leptinrezeptor-Gen-Polymorphismen. Tabelle 4 gibt eine Übersicht der signifikanten Studien zum Leptin-System.

Tab.4: Übersicht der signifikanten Assoziationsstudien zum Leptin- System

Gen	Polymorphismus (Allel)	Studiendauer	Medikation	Kollektiv	Hauptergebnis	Quelle
Leptin	rs7799039 (A/G)	10 Wochen	Risperidon, Chlorpromazin	128 Chinesen	Höhere Gewichtszunahme /BMI-Zunahme A/A- Genotyp p=0,006/0,003	Zhang 2003
			Clozapin	102 Chinesen	A/A-Genotyp geringere BMI-Zunahme (p=0,05)	Zhang 2007
			Risperidon, Chlorpromazin	84 Chinesen	Signifikante Assoziation mit Gewichtszunahme p=0,045	Mou 2008
		14 Wochen	Clozapin	139	Höhere Gewichtszunahme A/A-Genotyp p=0,04	Müller 2004
		6 Wochen, 3 Monate, 9 Monate	Nicht Einheitlich	73 Spanier	Höhere Gewichtszunahme G/G-Genotyp p=0,03 nach 9 Monaten	Templeman 2005
		3 Monate	Olanzapin	74 Koreaner	Höhere Gewichtszunahme A/G-Genotyp p=0,029	Kang 2008
Leptin- rezeptor	rs4731426 (C/G)	6 Wochen	Olanzapin	130 Inder	Signifikante Assoziation mit starker Gewichtszunahme p=0,019	Srivastava 2008
	rs1137101 (A/G)	Querschnitts- studie	Nicht Einheitlich	200 Kaukasier	Signifikante Assoziation mit BMI- Zunahme bei Frauen	Gregoor 2009
	rs8179183 (C/G)		Risperidon, Olanzapin	168 Kaukasier	Signifikante Assoziation mit Gewichtszunahme p=0,001	Ruano 2007

3. Fragestellung

Vorraussetzung für eine individualisierte Pharmakotherapie psychiatrischer Patienten sind verlässliche Prädiktoren für die Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme. Bisher ist jedoch die Pathophysiologie noch nicht ausreichend geklärt, so dass keine Prognose hinsichtlich der induzierten Gewichtszunahme möglich ist. Übergewicht und Adipositas verringern nicht nur die Therapiebereitschaft, sondern führen auch zu Sekundärkomplikationen wie Diabetes, Gefäßerkrankungen und Dyslipidämie bis hin zum metabolischen Syndrom mit für den Patienten einhergehender erhöhter kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität. Neben dem Ernährungsverhalten und Bewegung sorgen insbesondere genetische Faktoren für den interindividuellen Unterschied der Gewichtszunahme durch verschiedene Neuroleptika.

Leptin- und Leptinrezeptor-Gen auf Chromosom 7 sind interessante Kandidatengene, da das Leptinsystem eine zentrale Rolle in der Regulation von Appetit und Nahrungsaufnahme einnimmt. Varianten dieser Gene zeigten sich in Studien als Ursache von Hyperphagie und reduziertem Energiestoffwechsel (Correll 2004). In Studien zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme erwiesen sich genetische Varianten des Leptin- und Leptinrezeptorgens als signifikant assoziiert, obwohl die Studien nicht durchweg kongruente Befunde ergaben.

Das Ziel unserer prospektiven Studie war ein Zusammenhang zwischen den untersuchten Polymorphismen des Leptin- und des Leptinrezeptor-Gens und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme innerhalb einer kaukasischen Patientenstichprobe zu erfassen. Hierfür wurden in einer Analyse Genotypenfrequenzen mittels Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismen (RFLP) untersucht und in einer explorativen Analyse im Zusammenhang mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme gesetzt. Hierzu wurden Gewichtsveränderungen nach Neuroleptikaum- bzw. Neueinstellung schizophrener Patienten über einen Zeitraum von bis zu 42 Tagen erfasst und dazugehörige BMI-Werte ermittelt. Des Weiteren wurde der Verlauf von Glucose- und Cholesterinspiegel der Patienten über den Studienzeitraum gemessen, sowie der HbA1c zu Beginn und am Ende der Studie, um mögliche Neuroleptika-induzierten Stoffwechselveränderungen zu erfassen.

Damit stellt die vorliegende Arbeit eine umfassende Analyse des Leptinsystems (Leptin- und Leptinrezeptorgens) und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme dar.

4. Material und Methoden

Studiendesign:

Die Studie gliederte sich in zwei wesentliche Bereiche. Zunächst erfolgte die Erstellung eines prospektiv erfassten und hinsichtlich metabolischer Parameter gut evaluierten Patientenkollektivs, anschließend erfolgte eine molekulargenetische Untersuchung. Beide Studienbereiche wurde in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Charité Campus Mitte durchgeführt, zusätzlich wurden Patienten im angeschlossenen St. Hedwig-Krankenhaus in Berlin rekrutiert.

4.1. Klinischer Teil

4.1.1. Patientenkollektiv/Stichprobenbeschreibung

Nach stationärer Aufnahme in eine psychiatrische Klinik der Charité Universitätsmedizin Berlin (Charité Campus Mitte, St. Hedwig-Krankenhaus, Berlin) wurden Patienten mit Schizophrenie nach einem ärztlichen Aufklärungsgespräch, ihrem schriftlichen Einverständnis und unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen. Die Untersuchungen und laborchemischen Analysen waren von den Ethikkommissionen der Universitätsklinik geprüft und genehmigt worden. Patienten wurden im Zeitraum März 2005 bis Januar 2008 rekrutiert. Die Diagnose Schizophrenie (F.20) wurde durch behandelnde Ärzte im stationären Bereich gestellt.

4.1.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien für das Patientenkollektiv

- Männliche oder weibliche Patienten im Alter von 18-65 Jahren.
- Schizophrenie bzw. Schizoaffective Störung nach ICD-10
- Patienten nordwesteuropäischer Herkunft
- Eine stationäre Aufnahme im Rahmen einer Erstmanifestation oder einer akuten Exazerbation bzw. klinisch signifikanter Verschlechterung (z.B. Auftreten von positiven Symptomen oder deutlicher Funktionsabfall in beruflicher oder sozialer Hinsicht)
- Cannabis- oder Alkoholmissbrauch sind im Sinne einer Komorbidität gestattet
- Der Patient soll mit einer Monotherapie eines gängigen Neuroleptikums behandelt werden, folgende Beimedikation ist gestattet: Tavor (Anxiolyse), Diazepam (Anxiolyse und Sedierung), Eunerpan (Sedierung), Zopiclon (Schlafstörungen) und Paracetamol (Schmerzen)

Ausschlusskriterien für das Patientenkollektiv

- Schwangere Patientinnen, sowie Stillende

- Das Vorliegen hirnorganischer Erkrankungen oder klinisch relevanter neurologischer Störungen (z.B. mentale Retardierung, M. Parkinson, Multiple Sklerose, Z.n. schwerem Schädel-Hirn-Trauma)
- Cannabis- oder Alkoholabhängigkeit, Polytoxikomanie
- Schwere Persönlichkeitsstörungen
- Schwere internistische Erkrankungen (z.B. Hepatitis C, HIV)
- Depot-Medikation in den letzten 4 Wochen

4.1.3. Gewichtsdokumentation

Die Patienten wurden zu Beginn der Studie und in Folge einmal wöchentlich gewogen. Für die Klassifizierung von Unter-, Normal-, Übergewicht und Adipositas erfolgte die Berechnung des Body-Mass-Index ($BMI = \frac{\text{Gewicht}(\text{kg})}{\text{Höhe}(\text{m}^2)}$). Das Normalgewicht ist definiert bei 20-25 kg/m² ohne Berücksichtigung von Alter und Geschlecht. Werte unterhalb dieses Bereiches (< 20 kg/m²) sprechen für Untergewicht, höhere Werte im Bereich 25- 30 kg/m² klassifizieren Übergewicht. Ab einem BMI > 30 kg/m² liegt eine Adipositas vor. Zusätzlich wurde von jedem Studienpatient einmal wöchentlich der Bauchumfang ausgemessen.

4.1.4. Laborchemische Untersuchungen

Zur Erfassung von Stoffwechselveränderungen wurde bei alle Patienten vor Um- bzw. Neueinstellung auf ein Neuroleptikum und in Folge einmal wöchentlich die Fettstoffwechselfparameter HDL, LDL, Cholesterin und Triacylglycerin (TAG), sowie der Glucosespiegel dokumentiert. Zur besseren Erhebung des Glucosestoffwechsels wurde zusätzlich der HbA1c vor Um- bzw. Neueinstellung und am Ende der Studie gemessen.

4.1.5. Psychometrische Erhebungsinstrumente

4.1.5.1 Universal- Rating

Zur näheren Charakterisierung der Patientengruppe wurden demografische Daten im Rahmen des Universalratings erfasst. Das Universal- Rating beinhaltet eine allgemeine und psychiatrische Anamnese. Es wurden folgende Daten erhoben: Name, Vorname, Geburtsdatum, Geburtsort, genetische Herkunft der Mutter und des Vaters, die Zahl leiblicher Geschwister, die Zahl schizophrener bzw. schizoaffektiver erst- oder zweitgradiger Verwandter, der höchste Schulabschluss, der weitere Bildungsweg, momentane finanzielle Bezüge, die Dauer der jetzigen stationären Behandlung, Alter bei Erstmanifestation, Alter bei erster stationärer Behandlung, bisherige Episodenzahl, sowie die Zahl stationärer Behandlungen und die kumulative Behandlung mit Neuroleptika, Suizidalität, Alkohol-, Cannabis-, Nikotinkonsum. Des Weiteren wurden Komplikationen bei der Geburt oder während der Schwangerschaft eruiert, das Alter des

Vaters und der Mutter bei der Geburt und neurologische sowie internistische Erkrankungen dokumentiert.

4.1.5.2. Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) (Kay 1987)

Die 1987 entwickelte Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) ist eine Fremdbeurteilungsskala zur Erfassung des Schweregrades von psychopathologischen Symptomen von Patienten mit Schizophrenie. Sie basiert auf der Zusammenfügung der Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) (Overall & Gorham 1962) sowie des Psychopathology Rating Schedule (PRS) (Singh & Kay 1975) und erfasst den psychopathologischen Status des Patienten der letzten 7 Tage. Die PANSS enthält 30 Symptome, die anhand eines standardisierten psychiatrischen Interviews erfasst und bewertet werden. Die Bewertung erfolgt anhand einer 7-stufigen Skala von 1 „nicht vorhanden“ bis 7 „extreme Ausprägung“ (Gesamtscore 30-210). Die erfassten 30 Symptome werden drei Subskalen zugeordnet. 7 Symptome können der Positivsymptomskala, 7 der Negativsymptomskala und 16 der Globalsymptomskala zugeordnet werden. Die Positivskala erfasst die produktiven Symptome wie z.B. Wahnideen, formale Denkstörungen und Halluzinationen. Die Negativsymptomskala beschreibt die defizitären Symptome wie z.B. Affektverflachung, passiv-apatthisches Verhalten, sozialer und emotionaler Rückzug. Der Globalsymptomskala sind z.B. die Symptome Sorge um körperliche Gesundheit, Angst, Schuldgefühle und Anspannung zugeordnet.

4.1.5.3. Negative Symptom Assessment (NSA-16) (Alphs 1989; Raskin 1993)

Das 1989 entwickelte Negative Symptom Assessment (NSA) ist eine Skala mit 16 Symptomen (z.B. verlängerte Reaktionszeit, verarmter Sprachinhalt und Affekt) zur Erfassung der Negativsymptomatik bei Patienten mit Schizophrenie. Die einzelnen Symptomgruppen können die Bewertung 1 (normal) bis 6 (extrem) erhalten. Im Anschluss an die Einzelbewertung findet eine Gesamtwertung 1 (keine Anzeichen) bis 7 (äußerst schwerwiegend) statt. Die Skala zeigt eine hohe „Test-Retest“- und Interraterreliabilität, sowie eine hohe Validität (Axelrod & Alphs 1993).

4.1.5.4. Global Assessment Functioning (GAF) (Endicott 1976)

Diese numerische Beurteilungsskala wurde 1976 entwickelt und dient der Einschätzung der psychischen, sozialen und beruflichen Leistungsfähigkeit des Patienten auf einem hypothetischen Kontinuum (Messung von nicht genau abgrenzbaren Werten). Die Beurteilung erfolgt anhand der niedrigsten Leistungsfähigkeit in der vergangenen Woche und kann alle

Werte zwischen 1-100 annehmen. Ab dem Wert 90 zeigt der Patient gute Leistungsfähigkeit, unterhalb 10 besteht ständige Gefahr, dass der Patient sich oder andere schwer schädigt.

4.1.5.5. Clinical Global Impression (CGI) (NIMH 1976)

Die Clinical Global Impression wurde 1976 vom National Institute of Mental Health zur Erfassung der Medikationswirkung bei psychiatrischen Patienten, entwickelt. Die Bewertung von 1 (nicht krank) bis 7 (extrem krank) wird anhand des klinischen Eindruckes gestellt und erlaubt eine Einschätzung, ob sich die Symptomatik eines Patienten im Verlauf der Therapie verbessert oder verschlechtert hat.

4.1.5.6. Body weight, image and self-esteem evaluation (B-WISE) (Awad 2004)

Der erst kürzlich entwickelte B-WISE ist ein Selbstbeurteilungs-Fragebogen mit 12 Fragen zur Erfassung des Appetits und der Essgewohnheiten. Dieses Instrument erwies sich als sehr aufschlussreich, um psychosoziale Konsequenzen medikamenteninduzierter Gewichtsveränderungen zu messen.

Tabelle 5 zeigt den Untersuchungsablauf der Studienpatienten:

Tab.5: Untersuchungsablauf von Tag 0 bis Tag 42 (X = Evaluation)

Tag	Universal-Rating	PANSS	NSA-16	GAF	CGI	B-WISE	Blutentnahme (EDTA, HbA1c)	Blutentnahme (Glucose, TAG, HDL, LDL, Cholesterin)	Gewicht, Bauch-Umfang
Tag 0	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tag 7		X		X	X			X	X
Tag 14		X	X	X	X			X	X
Tag 21		X		X	X			X	X
Tag 28		X		X	X			X	X
Tag 42		X	X	X	X	X	X	X	X

4.2. Experimenteller Teil

4.2.1. DNA-Extraktion (modifiziert nach Lahiri & Nurnberger 1991)

Den Studienpatienten wurde für die genetischen Analysen 30ml venöses Blut entnommen, zur Gewährleistung der Anonymität kodiert und bei -20°C konserviert. 5ml des aufgetauten EDTA-Blutes jedes Patienten wurden in ein Zentrifugenröhrchen überführt und mit 5ml TKM1 und 125 μl NP-40 versetzt. Diese Lösung wurde 8-10mal geschwenkt und bei 2200 Umdrehungen 10min in der „Hettich-Zentrifuge“ mit Softeinstellung zentrifugiert. Der rote Überstand wurde

verworfen und die zurückgebliebenen Pellets mit 5ml TKM1 gewaschen und bei 2200 Umdrehungen 5min zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde erneut verworfen und die gewaschenen Pellets mit 800µl TKM2 resuspendiert und in ein frisches Röhrchen überführt. In diese Suspension wurden 50µl 10% SDS zugegeben und gemischt bis eine homogene Mischung entstand. Diese Mischung wurde bei 55°C 10min inkubiert. Nach der Inkubation wurden 300µl 6m NaCl und nach 5min Ruhezeit zusätzlich 850µl Chloroform zugegeben. Diese Mischung wurde 2-3min gemischt und bei 5000 Umdrehungen für 10min mit der Softeinstellung zentrifugiert. Der klare Überstand wurde pipettiert und in ein neues Zentrifugenröhrchen überführt. Danach wurden 3ml 2-Propanol hinzugegeben und vermischt, bis DNA-Stänge sichtbar wurden. Anschließend wurde bei 4000 Umdrehungen für 3min zentrifugiert und der Überstand sorgfältig abgetrennt. Die extrahierte DNA wurde bei Raumtemperatur 40-50min getrocknet und abschließend in 500µl Puffer pH8 (FG3) gelöst und bei 65°C für 15-30min inkubiert.

4.2.2. Einzelnukleotidpolymorphismus (single nucleotide polymorphisms; SNP)

Die Sequenzvariabilität von Allelen wird als DNA-Polymorphismus bezeichnet, wenn mehr als eine Variante an einem bestimmten Locus die Häufigkeit in einer Bevölkerungsgruppe 1% übersteigt. Ein SNP ist eine DNA-Variante, die aufgrund der Veränderung eines einzigen Nucleotids entsteht (Strachan & Read 2005). Meist betrifft ein SNP nur zwei Allele und kommt durchschnittlich an mindestens jeder 1000sten Base im Genom vor (Mülhardt 2002). Molekulargenetische Analysen ermöglichen eine gezielte Untersuchung und Vergleich von DNA-Sequenz-Variationen einzelner Individuen und können so Neuroleptika spezifische nebenwirkungsassoziierte Genvarianten aufdecken.

4.2.3. Genotypisierung

Im Rahmen der Genotypisierung wurden vier SNPs des Leptingens (rs 2167270; rs 7799039; rs10954173 (Tagging-SNP); rs3828942; dbSNP, National Center for Biotechnology Information, NCBI) und weiter vier des Leptinrezeptorgens (rs1327120; rs1327118; rs1137101; rs3790419; dbSNP, National Center for Biotechnology Information, NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) analysiert. Die Auswahl der SNPs erfolgte aufgrund ihres Heterozygotenindex und ihrer Validität. rs 7799039 und rs 1137101 wurden aufgrund der in der Literatur mit Neuroleptika beschriebener Gewichtszunahme, einbezogen. Besondere Berücksichtigung wurde auf die Lokalisation der SNPs gelegt. Die SNPs wurden so gewählt, dass eine möglichst großflächige Abdeckung des zu untersuchenden Genes erlangt wurde.

Die Primer wurden, mit Hilfe folgender Richtlinien manuell entwickelt und ausgewählt:

- A 18-22bp lange Primer
- B Maximal 4°C Differenz der Schmelztemperatur zwischen forward und reverse Primer
- C 5'- und 3'-End des Primers Basen C und/oder G
- D Keine inter- oder intramolekulare Komplementärstrukturen am 3'-Ende, um die Bildung von Primer-Dimeren zu verhindern
- E Fragmentgröße zwischen 100 bp und 400 bp

Mittels „BLAST“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/BLAST/>) wurden die entwickelten Primer hinsichtlich ihrer Spezifität überprüft. Tabelle 6.1 und 6.2 geben einen Übersicht über die ausgewählten SNPs. Tabelle 7.1 und 7.2 verdeutlichen das Verteilungsmuster der gewählten SNPs in einer kaukasischen Population (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

Tab.6.1: Daten der SNPs des Leptingens

SNP	Contig-Position	Position im/zum Gen	Heterozygoten-index	Basenaustausch	Primer forward	Primer reward	Fragment-länge	Annealing-temperatur
rs 7799039	53062359	Promoter	0,466	A/G =R	5'-CCTGGAGGAAT CAATGTGCA-3'	5'-GTCCTGAGGTG ACGTACATC-3'	501Bp	60°
rs 2167270	53064925	Exon 1	0,443	A/G =R	5'-AGTTGCGCAAG TTGTGATCG -3'	5'-CCTGTGGCCTGC CAAGAAAG -3'	145Bp	66°
rs 10954173	53075016	Intron 1	0,350	A/G =R	5'-GGTGCTGAGCA CTGCGTC -3'	5'-CATTAGCGATTA TGCTACTCAC -3'	182Bp	56°
rs 3828942	53077881	Intron 2	0,497	A/G =R	5'-GTTCTTCAGCA GAGGCCATG -3'	5'-GACTGACTG CTATGCAGGAG -3'	289Bp	66°

Tab.6.2: Daten der SNPs des Leptinrezeptorgens

SNP	Contig-Position	Position im/zum Gen	Heterozygoten-index	Basenaustausch	Primer forward	Primer reward	Fragment-länge	Annealing-temperatur
rs 1327120	35931316	Intron 2	0,454	A/G =R	5'-GATACACAAGT CAGTAACAC-3'	5'-GTACAACCAAT CTGCAGAAC-3'	138Bp	56°
rs 1327118	35857488	5' near gene	0,488	C/G =S	5'-GCCTCTCCTCTG CCACAG-3'	5'-CTCCAAGTAATC CTCAAGCC-3'	308Bp	66°
rs 1137101	36030432	Exon 6	0,444	C/T =Y	5'-CAGTGTTTCATG AATGTTGTG-3'	5'-CTAGAAGCCAC TCTTAATAC-3'	296Bp	56°
rs 3790419/ 1805134	36039028	Exon 9	0,375	C/T =Y	5'-GAAAAGAAACA TTAGACCCAAG-3'	5'-CAGAATGTTTTG TCTTCATCTG-3'	103Bp	56°

Legende zur Tabelle 6.1 und 6.2: ausgewählte SNPs des Leptingens bzw. Leptinrezeptorgens, ihre contig- position, ihre Lokalisation auf Chromosom 7, ihre Position im Gen, ihr Heterozygotenindex (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez_db_snp), Primer der SNPs, Fragmentlänge des PCR-Produktes und Annealingtemperatur für die PCR

SNP	Genotyp Verteilungsmuster in kaukasischer Population		
rs 7799039	A/A 0.276	A/G 0.466	G/G 0.259
rs 2167270	A/A 0.167	A/G 0.417	G/G 0.417
rs 10954173	A/A 0.100	A/G 0.450	G/G 0.450
rs 3828942	A/A 0.250	A/G 0.517	G/G 0.233

Tab.7.1: Verteilungsmuster der Genotypen des Leptingens (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)

SNP	Genotyp Verteilungsmuster in kaukasischer Population		
rs1327120	A/A 0.250	A/G 0.500	G/G 0.250
rs1327118	C/C 0.200	C/G 0.550	G/G 0.250
rs1137101	A/A 0.152	A/G 0.384	G/G 0.464
rs3790419 rs1805134	C/C 0.083	C/T 0.333	T/T 0.583

Tab.7.2: Verteilungsmuster der Genotypen des Leptinrezeptorgens

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)

4.2.4. Polymerase- Kettenreaktion (PCR)

Die Mitte der 80er Jahre entwickelte "polymerase chain reaction" (PCR) ist eine in vitro Technik zur Vervielfältigung geringer Mengen spezifischer DNA (Saiki 1985, 1986; Mullis 1986; Embury 1987). Für die PCR werden zunächst zwei kurze synthetische Oligonukleotide, die Primer, konstruiert, welche komplementär an jeweils ein Ende der DNA-Zielsequenz binden. Ihre 3'-OH-Enden dienen einer hitzestabilen Taq-DNA-Polymerase als Startstelle für die DNA-Synthese, so dass genau die genomische Sequenz zwischen den Primern amplifiziert wird. Der Kettenaufbau durch die Taq-DNA-Polymerase erfolgt durch den Einbau von Desoxynukleotidtriphosphaten (dNTPs). Die benötigte Taq-DNA-Polymerase stammt aus einem E.coli-Stamm (Saiki 1988). Dieser trägt ein Plasmid mit dem klonierten Gen der DNA Polymerase des *Thermus aquaticus* Bakteriums. Dieses Bakterium lebt in 75°C warmen Wasser, so dass seine DNA-Polymerase (Taq-Polymerase) ein Temperaturoptimum von 72°C hat und auch noch bei ca. 94°C stabil ist. Das Grundprinzip der PCR beruht auf einem immer wiederkehrenden Zyklus aus drei Schritten, der die DNA exponentiell vervielfältigt, da die amplifizierten DNA-Segmente ebenfalls komplementäre Stränge zu den Primern aufweisen. So wird in jedem Zyklus die Menge an DNA verdoppelt (Kramer 2001).

1. Denaturierung: Bei der Denaturierung bei ca. 94°C, wird die DNA in Einzelstränge aufgetrennt (Volkenandt 1990).
2. Annealing: Durch Herabsetzen der Temperatur auf 55 - 65°C binden die zuvor ausgewählten Primern spezifisch an den komplementären DNA-Strang.
3. Elongation: Bei der Temperatur von ca. 70°C kopiert die Taq-DNA-Polymerase die Matrizenstränge durch den Einbau von Desoxynukleotidtriphosphaten (dNTPs).

Diese Reaktionsabfolge wird je nach Bedarf 25-40mal wiederholt, abhängig von der Effizienz der Reaktion und der Konzentration der zu amplifizierenden DNA (Kramer 2001). Für einen optimalen Reaktionsablauf der DNA-Synthese wird ein geeignetes Puffersystem benötigt. Die Analyse des PCR-Produktes erfolgt mit Hilfe der Agarose-Gel-Elektrophorese.

4.2.4.1. PCR-Ansätze

Die bestellten lyophilisierten Primer wurden zuerst zentrifugiert und danach in 1000µl destilliertem Wasser gelöst. Die Primerlösung wurde im Anschluss für einige Sekunden gemischt, anschließend noch mal zentrifugiert und bei -20°C gelagert.

Zur Bestimmung der optimalen Bedingungen für die verschiedenen Primer wurde ein kleiner Gradient mit zwei Annealingtemperaturen (56°C; 66°C) und zwei Magnesiumchloridkonzentrationen (MgCl₂) (0,6 µl; 1,0µl), durchgeführt.

Anhand des qualitativ besten PCR-Produktes wurden folgenden Konzentrationen des Master-Mix für weitere Amplifikationen festgelegt (s.Tabellen 8.1 und 8.2). Das Gesamtvolumen für eine Probe betrug 19µl Master Mix+ 1µl DNA.

Tab.8.1: Zusammensetzung des Master-Mix für die PCR (Leptingenprimer)

SNP	rs 167270	rs 7799039	rs 10954173	rs 3828942
Wasser	14,0µl	13,6µl	13,6µl	13,6µl
Puffer(10xBuffer von Gene Craft)	2,0µl	2,0µl	2,0µl	2,0µl
dNTP`s (2mM)	1,0µl	1,0µl	1,0µl	1,0µl
MgCl ₂ (50mM)	1,0µl	0,6µl	0,6µl	0,6µl
Primer F (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl
Primer R (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl
Taq Polymerase (5U/µl)	0,2µl	0,2µl	0,2µl	0,2µl

Tab.8.2: Zusammensetzung des Master-Mix für die PCR (Leptinrezeptorgenprimer)

SNP	rs 1327120	rs 1327118	rs 1137101	rs 3790419
Wasser	14,0µl	14,0µl	14,0µl	14,0µl
Puffer(10xBuffer von Gene Craft)	2,0µl	2,0µl	2,0µl	2,0µl
dNTP`s (2mM)	1,0µl	1,0µl	1,0µl	1,0µl
MgCl ₂ (50mM)	1,0µl	1,0µl	1,0µl	1,0µl
Primer F (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl
Primer R (10µM)	0,5µl	0,5µl	0,5µl	0,5µl
Taq Polymerase (5U/µl)	0,2µl	0,2µl	0,2µl	0,2µl

Die PCR im Thermocycler beinhaltet folgenden Reaktionsablauf. Die Reaktionsabläufe 2-4 wurden 35mal durchlaufen.

1. Denaturierung bei 94°C für 5 Minuten
2. Denaturierung bei 94°C für 1 Minute
3. Annealing für 1 Minute (Temperatur abhängig von entsprechendem Primer, s.Tab. 6.1 und 6.2)
4. Extension bei 72°C für 1 Minute
5. Final Extension bei 72°C für 7 Minuten
6. Kühlung bei 15°C ∞

4.2.5. Agarose-Gel-Elektrophorese

Diese Methode dient der Auftrennung von Nucleotiden unterschiedlicher Anzahl an Basenpaaren (100bp- 50kb) mit Hilfe eines elektrischen Feldes. DNA- Moleküle sind negativ geladene Nucleotide die in einem elektrischen Feld von der Kathode (negativer Pol) in Richtung Anode (positiver Pol) migrieren. Durch den Molekularsiebeffekt des Agarose-Gels ist die Wanderungsgeschwindigkeit der Nucleotide umgekehrt proportional zum Logarithmus der Größe der DNA-Fragmente (Aaij 1972), d.h. je kürzer bzw. kleiner ein DNA- Fragment ist, desto schneller kann es in dem Gel migrieren. Die Migration ist zudem von der Spannung und Stromstärke, den Pufferbedingungen und der Agarosekonzentration abhängig (Mülhardt 2002). Zur Überprüfung, ob bei der PCR ausreichendes und spezifisches Produkt hergestellt wurde sowie zu Analyse der nachfolgenden Restriktion wurde die Agarose-Gel-Elektrophorese durchgeführt. Dafür wurden 10µl des PCR-Produktes bzw. des Restriktionsproduktes mit 10µl Bromphenolblau-Ladepuffer auf eine Mikrotiterplatte gemischt und für 1 min zentrifugiert. Die

zentrifugierte Lösung von 20 µl wurde in die einzelnen Taschen des Agarose-Gels aufgetragen. Für die PCR-Kontrolle wurde ein 2%iges Agarose-Gel verwendet, während für die Analyse der Restriktion auf ein 3%iges Agarosegel aufgetragen wurde. Zur Herstellung eines Agarose Gels wurde Agarose in 1xTBE durch Aufkochen für 20min gelöst und zur Erstarrung in eine horizontale Gel-Elektrophoresekammer gegossen. Die Elektrophorese erfolgte in einer mit 1xTBE Puffer gefüllten Gelkammer bei einer Spannung von 100-120 V., sowie einer Stromstärke von 170 mA für 30-60 min. Für die Auswertung erfolgte die einstündige Lagerung des SERVA Agarose-Gels im Färbegrad mit SYBR®-Gold. Die Interkalation des Farbstoff SYBR®-Gold in doppelsträngige DNA detektiert das amplifizierte DNA-Fragment (Mühlhard 2002). Mit Hilfe von UV-Licht lassen sich die gewanderten DNA-Fragmente als sog. Banden sichtbar machen und durch ein spezielles Gelbetrachtungssystem auswerten und abfotografieren. Zur Orientierung wurde als Längenmarker 3µl einer 50 bp Leiter zusätzlich zu den Proben aufgetragen.

4.2.6. Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP) (Smith & Wilcox 1970)

Nachdem 1970 die erste Restriktionsendonuclease im *Haemophilus influenzae* Bakterium isoliert wurde, haben diese Enzyme die Molekularbiologie revolutioniert. Restriktionsenzyme erkennen und schneiden DNA an spezifischen Basensequenzen. Diese Erkennungssequenzen bestehen meist aus ca. vier bis acht Basenpaaren. Für die Restriktion werden die Enzyme so gewählt, dass sie das amplifizierte DNA-Segment genau im Bereich des Polymorphismus bzw. nur bei einer seiner beiden Allelvarianten schneiden. Auf diese Weise ist es möglich die Allelvariante eines Menschen zu ermitteln. Die verwendeten Enzyme wurden mittels NEBcutter (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/index.php>) für jeweils ein spezifisches Allel des Polymorphismus ausgewählt. Das Vorliegen unterschiedlich langer geschnittener DNA Fragmente nach der Restriktion bezeichnet man als Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP). Durch die Agarose-Gel-Elektrophorese lassen sich diese Fragmente auftrennen und analysieren. Ein einzelnes Individuum kann eine der drei verschiedene Allelvariationen der zwei Allele haben (A/A; A/a; a/a). Die Bedingungen für die Restriktion der einzelnen SNPs zeigt Tabelle 9.

Tab.9: Enzyme, Inkubationstemperatur, Puffer, Hersteller und Enzymumsatz

SNP (Leptingen)	Enzym	Inkubations-temperatur	Puffer	Hersteller	Umsatz U/ml
rs 2167270		37°C	NEB Buffer 4	New England Biolabs	10.000
rs 7799039	Hin P1I	37°C	NEB Buffer 2	New England	10.000

				Biolabs	
rs 10954173	HpyCH4 IV	37°C	NEB Buffer 1	New England Biolabs	10.000
rs 3828942	CViQ I	25°C	NEB Buffer 3	New England Biolabs	10.000
SNP(Leptinrezeptorgen)					
rs 1327120	HpyCH4 V	37°C	NEB Buffer 4	New England Biolabs	5.000
rs 1327118	Tfi I/ Pfe I	65°C/ 37°C	NEB Buffer 3/	New England Biolabs/ Fermentas	5.000
rs 1137101	Msp I	37°C	NEB Buffer 2	New England Biolabs	100.000
rs 3790419	Sty I	37°C	NEB Buffer 3	New England Biolabs	10.000

Der Master-Mix für die Restriktion (Angabe bezieht sich auf eine Probe) beinhaltet folgende

Zusammensetzung:

- Wasser 3,5µl
- Puffer 1,0µl
- Enzym 0,5µl
- PCR-Produkt 5,0µl

Die Restriktion erfolgte bei angegebener Inkubationstemperatur des Herstellers für 16 Stunden. Für die Auswertung der Restriktionsprodukte erfolgte die Elektrophorese auf einem 3%igem Agarose-Gel für 60-80 min bei 100V. In Tabelle 10.1 und 10.2 werden die Fragmentlängen nach der Restriktion und die Zuordnung der Genotypen dargestellt.

Tab.10.1: Bandenmuster nach Restriktion und Aufteilung der Genotypen für Leptingen

SNP/Restriktionsenzym	Homozygot I	Heterozygot	Homozygot II
rs 167270/ MspA I <i>Genotyp</i>	145bp 18 A/A	145bp/75bp/70bp 39 A/G	75bp/70bp 35 G/G
rs 7799039/ <i>Genotyp</i>	501bp 25 A/A	501bp/266bp/234bp 45 A/G	266bp/234bp 17 G/G
rs 10954173/ HpyCH4 IV <i>Genotyp</i>	182bp 15 G/G	182bp/94bp/88bp 41 A/G	94bp/88bp 36 A/A
rs 3828942/ CViQ I <i>Genotyp</i>	289bp 32 A/A	289bp/160bp/129bp 39 A/G	160bp/129bp 21 G/G

Tab.10.2: Bandenmuster nach Restriktion und Aufteilung der Genotypen für Leptinrezeptorgen

SNP/Restriktionsenzym	Homozygot I	Heterozygot	Homozygot II
rs 1327120/ HypCH4 V <i>Genotyp</i>	138bp <i>11 A/A</i>	138bp/85bp/53bp <i>58 A/G</i>	85bp/53bp <i>23 G/G</i>
rs 1327118/ Tfi I o. Pfe I <i>Genotyp</i>	308bp <i>19 C/C</i>	308bp/188bp/120bp <i>60 C/G</i>	188bp/120bp <i>12 G/G</i>
rs 1137101/ Msp I <i>Genotyp</i>	296bp <i>30 T/T</i>	296bp/192bp/104bp <i>50 C/T</i>	192bp/104bp <i>12 C/C</i>
rs 3790419/ Sty I <i>Genotyp</i>	103bp <i>63 T/T</i>	103bp/81bp/22bp <i>22 C/T</i>	81bp/22bp <i>7 C/C</i>

4.2.7. Software

Tab.11.1: Software zur Auswertung

Software	Typ	Hersteller
Statistiksoftware	SPSS 14.0	Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2007

4.2.8. Geräte und Chemikalien

Tab.11.2: Verwendete Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Inkubator	Thermocenter Salvis Lab	Salvis Lab, Schweiz
Waage	OWA Labor	OWA Labor, Deutschland
Zentrifuge	Laboratorian Medical Centrifuge Hettich Universal 30RF	Lab 4 you, Geesthacht Thermo Electro Corporation
Mikrozentrifuge	Centrifuge 5415C	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Thermocycler	Thermo 2720 Cycler	Applied Biosystems, Kalifornien, USA
Kühlschrank	Economic (-20°C)	Bosch, München
Pipetten	10µl, 20µl, 100µl, 200µl, 250µl, 1000µl,	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Pipettenspitzen		Sarstedt, Nürnberg, Deutschland
Gelelektrophoresekammer	Maxi Large 480000	Harnischmacher
Spannungsquelle	Elite 300	Wealtec, Johannesburg, Südafrika
Photodokumentationssystem	Gel Imager U5S-20M-8E	Intas, Gel Imager, Göttingen, Deutschland
Mikrowelle	Bosch	Bosch, München, Deutschland
Wippschüttler	Unitwist RT	G-Kisker, Steinfurth Deutschland
Vortexer	PCV-2400	Grant-bio
Mikrotiterplatte	ABgene® PCR Plates Thermo Fast® 96	Thermo Scientific

Tab.11.3: Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
2-Propanol	Merk
H ₂ O	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland
dNTP 10mM	Rapidozym GmbH
Primer	Tib Molbiol Syntheselabor GmbH, Berlin, Deutschland
10xPCR-Puffer	Gene Craft, Lüdinghausen, Deutschland
Taq-DNA-Polymerase 5U/ml	BioTherm, Gaithersburg, USA
Agarose	SERVA 11404, SERVA electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland
10xNEB-Puffer	New England Biolabs, Frankfurt/Main, Deutschland
10xTBE-Puffer	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
DNA-Leiter 50bp 0,5µg/µl	MBI Fermentas GmbH, St. Leon Roth
MgCl ₂	Bio Therm, Gaithersburg, USA
SYBR-Gold nucleid acid gel stain	Invitrogen molecular probes, Karlsruhe, Deutschland
Loading Buffer (Bromphenolblau-Ladepuffer)	BioTherm, Gaithersburg, USA
TKM1	10mM Tris-HCl pH 7,6; 10mM KCl; 10mM MgCl ₂ ; 2mM EDTA
TKM2	10mM Tris-HCl pH 7,6; 10mM KCl; 10mM MgCl ₂ ; 0,4M NaCl; 2mM EDTA

4.3. Statistische Auswertung

Bei der statistischen Berechnung der klinischen Variablen kamen zur Anwendung:

- Deskriptive Statistiken (Mittelwert = MW, Median, Minimum, Maximum)
- Varianzanalyse (einfaktorielle ANOVA)
- Univariat
- Wilcoxon-Test
- Kruskal-Wallis-Test

Das Signifikanzniveau wurde für alle Untersuchungen auf $\alpha=0,05$ (2-seitig) festgelegt. Trends wurden für $\alpha=0,10$ definiert ($p<0,10$). Der statistische Test auf Hardy-Weinberg Gleichverteilung wurde mit dem exakten Test nach Weir durchgeführt. Einige Variablen genügten nicht der Normalverteilung, so dass für sämtliche Analysen auf nicht parametrische Signifikantstest zurückgegriffen wurde. Die graphische Darstellung von Daten erfolgte durch die Software „Microsoft Office Exel 2003“.

Aufgrund geschlechterspezifischer Modifikation des Leptinsystems (Power 2008) wurden die Analysen zusätzlich zum Gesamtkollektiv getrennt an Männern und Frauen durchgeführt.

5. Ergebnisse

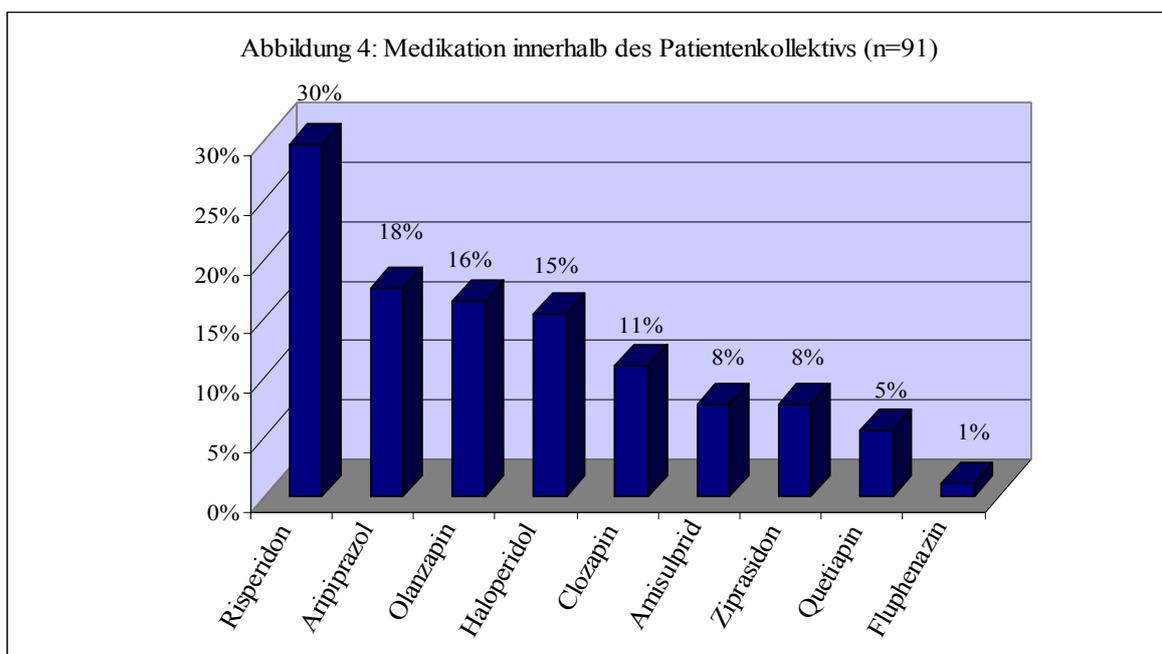
5.1. Demografische Daten

5.1.1. Geschlecht, Alter und Medikation der Patientenkollektivs

In der untersuchten Patientengruppe befanden sich 91 schizophrene Patienten (n=91) kaukasischer Herkunft. Diese Patientengruppe teilte sich in 54 männliche und 37 weibliche Patienten auf. In der Patientengruppe bestanden keine verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den einzelnen Patienten. Es wurden männliche und weibliche Patienten im Alter von 18-65 Jahren eingeschlossen. Der Altersmittelwert der Patientengruppe lag bei 35,3 Jahren.

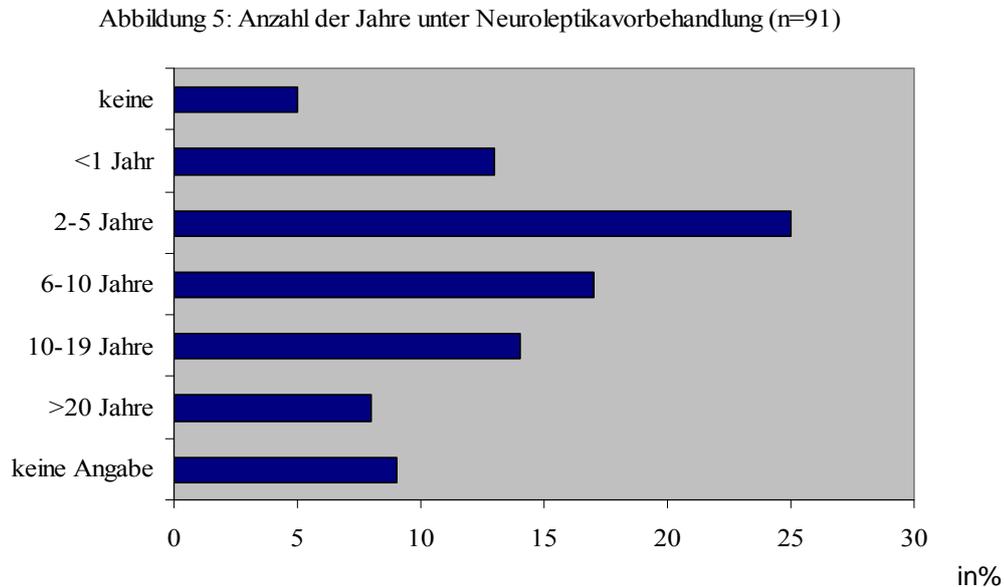
Innerhalb der untersuchten Patientengruppe konnten 69 Studienpatienten (n=69) über einen Gesamtzeitraum von 42 Tagen, alle 7 Tage mittels psychometrischer Messinstrumente umfassend evaluiert werden. Diese Patientengruppe teilte sich in 41 männliche und 28 weibliche Patienten auf.

Am Tag 0 der Untersuchung waren die Patienten unmediziert oder erhielten ein typisches bzw. atypisches Neuroleptikum, Anxiolytikum und/oder Sedativum. Im Verlauf erfolgte die Umstellung auf ein anderes Neuroleptikum. An Tag 7 standen alle Patienten nach Um- oder Neueinstellung unter der Monotherapie eines gängigen typischen oder atypischen Neuroleptikums. Abbildung 4 stellt die Medikation des Patientenkollektivs am Tag 7 des Studienplans dar.



5.1.2. Dauer der vor Studieneinschluss durchgeführten Neuroleptikatherapie

Bis auf einen Patienten standen alle Studienteilnehmer vor Einschluss in diese Untersuchung unter der Therapie eines typischen oder atypischen Neuroleptikums. Abbildung 5 stellt die absolute kumulative Dauer der Neuroleptikatherapie des Patientenkollektivs, gruppiert in Intervallen mehrerer Jahre dar.



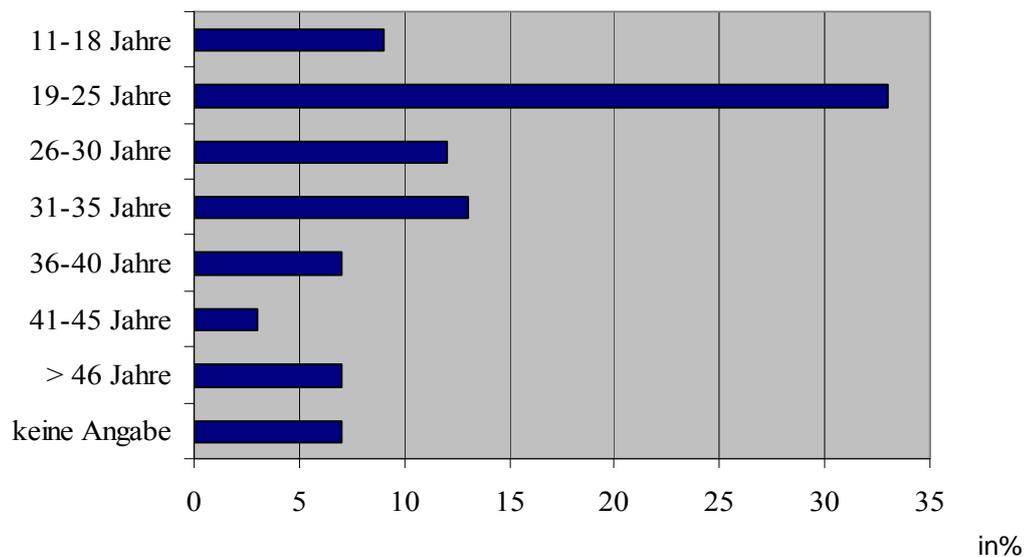
28% der Patienten wurden bereits über einen Zeitraum von 2-5 Jahren mit Neuroleptika behandelt. Nur 5% der Patienten erhielten im Rahmen der Studie erstmals eine Neuroleptikabehandlung und 14% der Patienten des Kollektivs standen weniger als 12 Monate unter medikamentöser Therapie.

Neben der Gabe von typischen und atypischen Neuroleptika erhielten die Patienten vor Einschluß in die Studie als therapeutische Ergänzung Anticholinergika, Moodstabilizer, Benzodiazepine und Antidepressiva.

5.1.3. Stationäre Behandlung

Nur ein Patient der 91 Studienpatienten war bislang nicht stationär behandelt worden. Das früheste Hospitalisierungsalter lag bei 11 Jahren, der späteste erste stationäre Aufenthalt ereignete sich mit 60 Jahren. 33% der Patienten waren im Alter von 19-25 Jahren erstmals stationär behandelt worden. 10% der Patienten waren bereits vor ihrem 18. Lebensjahr und 8% der Patienten des Kollektivs nach ihrem 46. Lebensjahr erstmalig in stationärer psychiatrischer Behandlung. Abbildung 6 stellt das Alter der ersten stationären Behandlung dar, gruppiert in Intervallen mehrerer Jahre.

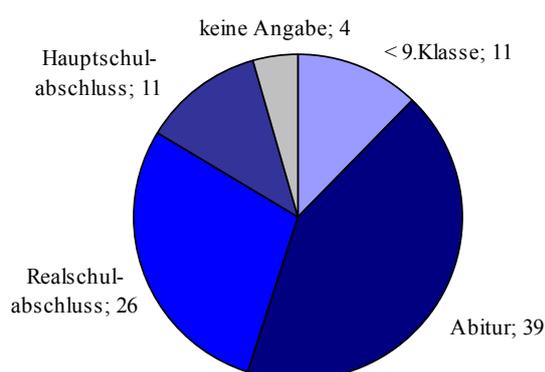
Abbildung 6: Lebensalter bei erster stationären Behandlung (n=91)



5.1.4. Schulbildung, Berufsausbildung und Finanzierungsgrundlage des Patientenkollektives

Ein Anteil von 43% der Studienpatienten legte die allgemeine oder fachbezogene Hochschulreife ab. Weitere 41% absolvierten erfolgreich nach einer 10 jährigen allgemeinbildenden Schule, den Haupt- oder Realschulabschluss. Nur 12% der Patienten beendeten nach 8 Jahren ihre schulische Ausbildung oder verließen ohne Abschluß die Schule. Abbildung 7 zeigt die schulische Bildung des Patientenkollektives.

Abbildung 7: Schulbildung des Patientenkollektivs (n=91)



Vergleichend mit den erhobenen Zahlen und Daten des statistischen Bundesamtes, lag das Bildungsniveau des Patientenkollektivs somit über dem Durchschnitt der deutsche Bevölkerung (Destatis, Nichtmonetäre hochschulstatistische Kennzahlen - Fachserie 11 Reihe 4.3.1 1980 -

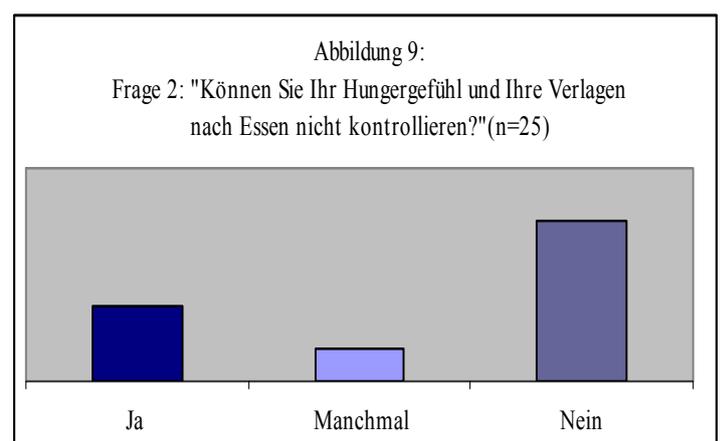
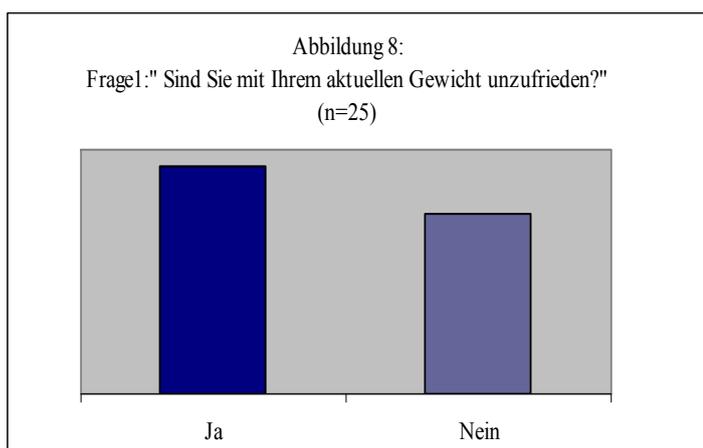
2008, S. 109). So bewegten sich die Zahlen der studienberechtigten Schulabgänger in Deutschland in den Jahren 1990- 2000 (Mehrheit der Abiturjahrgänge der Studienpatienten) bei 31,4 %– 37,2%.

Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses befanden sich 13% der Patienten in einem Ausbildungsverhältniss (8 Auszubildende, 4 Studenten). 42 Patienten (46%) des Kollektivs hatten einen Beruf erlernt, 17 Patienten (19%) ein Hochschulstudium abgeschlossen. 16 Patienten gaben an keinen Berufsabschluss zu haben.

Die Auswertung der Finanzierung des Lebensunterhaltes ergab, dass 21% der Patienten berentet waren. 25% der Patienten befanden sich entsprechend ihrer Ausbildung in einem Beschäftigungsverhältniss oder erhielten eine Vergütung bzw. Förderung im Rahmen ihrer Ausbildung. Weitere 3% der Patienten waren fremdfinanziert oder finanzierten sich über individuelle Modelle, basierend auf einer angetretenen Erbschaft oder familiäre Unterstützung. Der Anteil nicht berenteter Probanden welche erwerbsunfähig gemeldet und auf staatliche Hilfe in Form von ALGII oder Sozialhilfe angewiesen waren, betrug 21%. Insgesamt standen 45% der Patienten des Studienkollektivs dem Arbeitsmarkt nicht oder nur teilweise zur Verfügung.

5.1.5. Essgewohnheiten und Gewichtsempfindung des Patientenkollektivs

Zur Erfassung psychosozialer Konsequenzen medikamenteninduzierter Gewichtsveränderungen wurden die Studienpatienten hinsichtlich ihres Appetit, Essgewohnheiten und Gewichtsempfinden befragt. Auszüge der Fragen des ausgegebenen Fragebogens und deren Antworten geben Abbildung 8 und 9 wieder.



5.2. Darstellung und Verlauf der Gewichtsmessungen

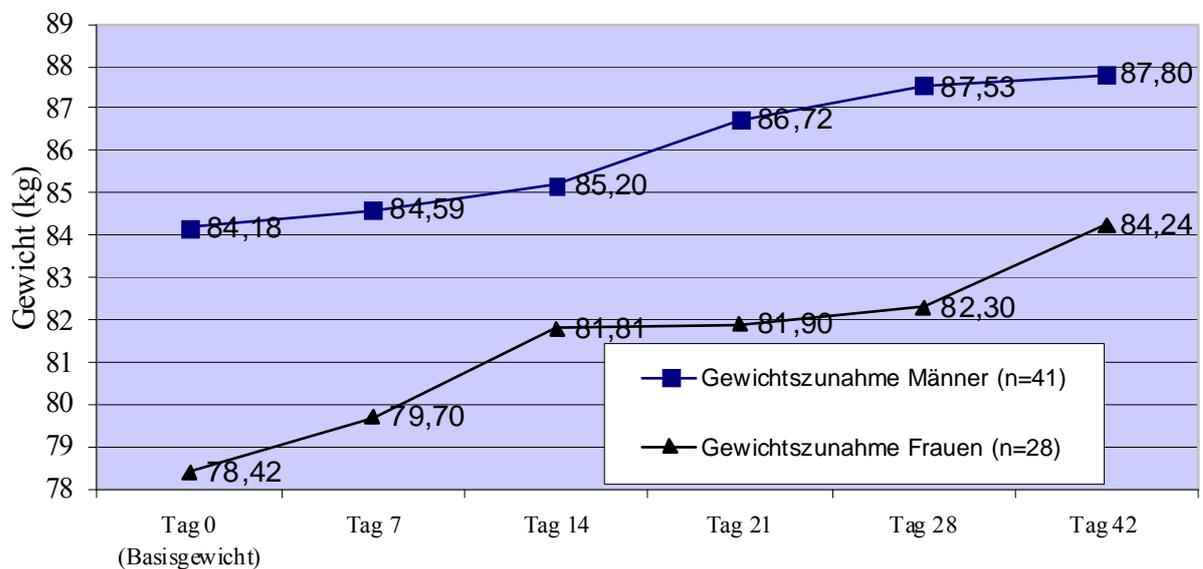
5.2.1. Gewicht

Der Gewichtsverlauf wurde über einen Zeitraum von bis zu 42 Tagen verfolgt, um eine mögliche Assoziation mit den SNPs zu untersuchen. Die Studienpatienten wurden durchschnittlich über 16 Tage beobachtet.

Zu Beginn der Studie lag der Mittelwert des Gewichtes der Studiengruppe bei 81kg. Am Ende des untersuchten Zeitraumes lag das Gewicht der Patienten im Mittel bei 85kg. So ergibt sich der Mittelwert einer Gewichtszunahme innerhalb des Studienverlaufs von 6 Wochen von 4,0 kg.

2 Patienten (2%) (1 Männer; 1 Frauen) zeigten keine Gewichtsveränderungen während ihres Untersuchungszeitraumes. Bei 14 Patienten (15%) (8 Männer; 6 Frauen) wurde ein Gewichtsverlust und bei 75 Patienten (83%) (46 Männer, 29 Frauen) eine Gewichtszunahme innerhalb der Studiendauer gemessen. In Abbildung 10 ist der Verlauf der Gewichtszunahme von den Männern und Frauen dargestellt, die über die gesamte Studienlänge von 6 Wochen beobachtet werden konnten.

Abbildung 10: Mittelwert des Gewichts über 6 Wochen



Sowohl die Frauen als auch die der Männer zeigten eine signifikante Gewichtszunahme über den Studienzeitraum von 6 Wochen ($p < 0,001$ / $p < 0,001$).

Die folgende Tabelle 12 zeigt die dokumentierten maximalen und minimalen Gewichtsveränderungen, innerhalb des Patientenkollektives nach 3 bzw. 6 Wochen.

Tab.12: Gewichtsveränderungen

Geschlecht	3 Wochen			6 Wochen		
	n	Minimum (kg)	Maximum (kg)	n	Minimum (kg)	Maximum (kg)
Männer	47	-3,3	8,0	41	-6,20	16,0
Frauen	32	-1,2	7,6	28	-3,7	10,5

Legende zur Tab.12: n= Anzahl der Patienten, Minimum= stärkste Gewichtsabnahme, Maximum= stärkste Gewichtszunahme, Mittelwert= Mittelwert der Gewichtsveränderung

In Tabelle 13 sind die spezifischen maximalen und minimalen Gewichtsveränderungen unter den drei häufigsten verabreichten atypischen Neuroleptika des Kollektivs (s. Abb.4) Olanzapin (Zyprexa®), Aripiprazol (Abilify®) und Risperidon (Risperdal®), sowie der Mittelwert der Gewichtszunahme (kg) innerhalb des Patientenkollektivs nach 6 Wochen dargestellt. Das typische Neuroleptikum Haloperidol wurde aufgrund seines nicht vorhandenen Einflusses auf Stoffwechsel und Gewicht nicht in die Begutachtung mit einbezogen.

Tab.13: Gewichtsveränderungen nach 6 Wochen unter Olanzapin, Aripiprazol und Risperidon

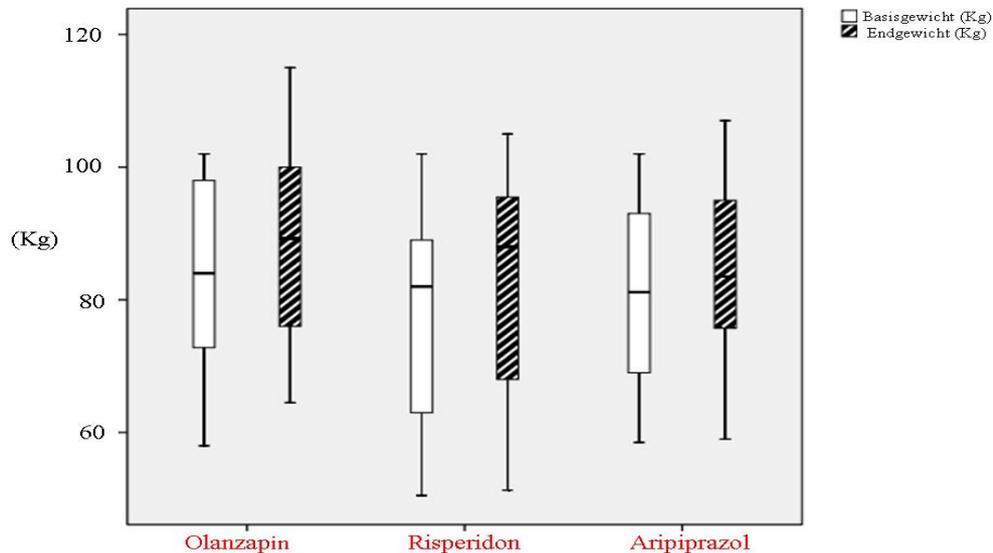
Medikation	n	Minimum (kg)	Maximum (kg)	Mittelwert (kg)	p-Wert
Olanzapin (Zyprexa®)	10	0	16	5,77	0,008
Risperidon (Risperdal®)	22	0,5	8,3	4,66	0,001
Aripiprazol (Abilify®)	14	-6,2	10	2,5	0,038

Legende zur Tab.13: n= Anzahl der Patienten, Minimum= stärkste Gewichtsabnahme, Maximum= stärkste Gewichtszunahme, Mittelwert= Mittelwert der Gewichtsveränderung nach 6 Wochen

Zum Vergleich der Gewichtsentwicklung unter verschiedenen Neuroleptika zeigt Abbildung 11 die Gewichtswerte zu Beginn und am Ende der Studie unter den drei häufigsten verabreichten

atypischen Neuroleptika des Kollektivs (s. Abb. 4) Olanzapin (Zyprexa®), Aripiprazol (Abilify®) und Risperidon (Risperdal®).

Abbildung 11: Darstellung der Gewichtswerte innerhalb der drei Medikamentengruppen



5.2.2. Body Mass Index (BMI)

Der BMI wurde zu Beginn und am Ende des Untersuchungszeitraumes für die Klassifizierung von Unter-, Normal-, Übergewicht und Adipositas ermittelt.

6 Patienten (2 Männer; 4 Frauen) hatten zu Beginn der Studie Untergewicht ($BMI < 20 \text{ kg/m}^2$), während 55 Patienten (31 Männer; 24 Frauen) zu Studienbeginn Übergewicht ($BMI 25\text{-}30 \text{ kg/m}^2$) bzw. Adipositas ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) hatten. Weitere 29 Patienten (22 Männer; 7 Frauen) zeigten bei Studieneinschluss Normalgewicht ($BMI 20\text{-}25 \text{ kg/m}^2$). Abbildung 12.1 stellt den Anteil der Patienten zu Beginn der Studie mit Unter-, Über- und Normalgewicht dar.

Nach dem Untersuchungszeitraum wiesen 7 Patienten (3 Männer; 4 Frauen) Untergewicht ($BMI < 20 \text{ kg/m}^2$) auf, 60 Patienten (34 Männer; 26 Frauen) Übergewicht ($BMI 25\text{-}30 \text{ kg/m}^2$) bzw. Adipositas ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) und 22 Patienten (18 Männer; 4 Frauen) Normalgewicht ($BMI 20\text{-}25 \text{ kg/m}^2$). Abbildung 12.2 stellt den Anteil der Patienten zum Ende der Studie mit Unter-, Über- und Normalgewicht dar.

Abbildung 12.1: Body Mass index zu Studienbeginn (n=90)

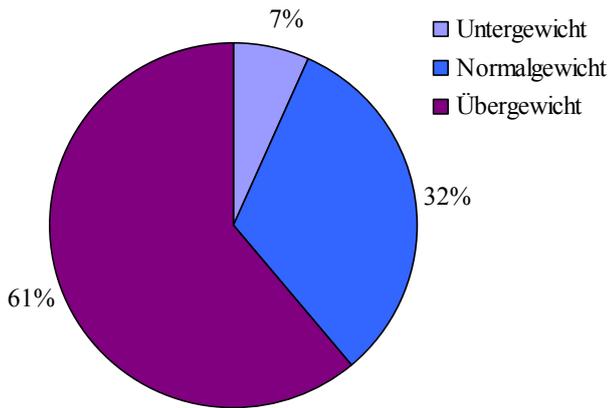
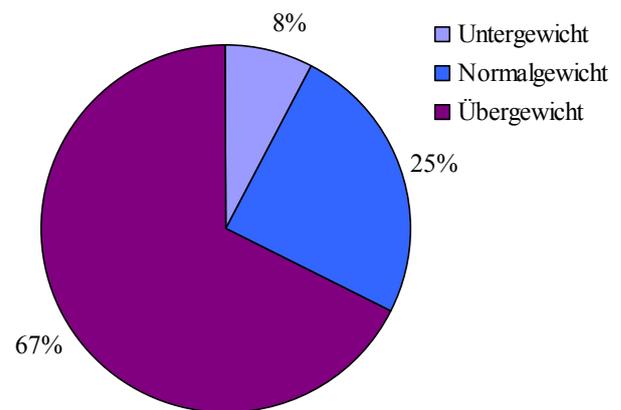


Abbildung 12.2: Body Mass Index zu Studienende (n=89)



Der Mittelwert der BMI-Zunahme nach 6 Wochen lag bei den Männern bei 1,18 kg/m², bei den Frauen bei 1,29 kg/m². Die minimale BMI-Veränderung bei den Männern lag bei -2 kg/m², bei den Frauen bei -1,5 kg/m². Die maximale BMI-Veränderung bei den Männern lag bei 4,88 kg/m², bei den Frauen bei 3,59 kg/m². Tabelle 14 zeigt den minimal und maximal gemessenen BMI, sowie den Mittelwert des BMI des Patientenkollektivs nach 6 Wochen.

Tab.14: BMI und BMI-Mittelwerte nach 6 Wochen

	Männer				Frauen			
	n	Minimum (kg/m ²)	Maximum (kg/m ²)	Mittelwert (kg/m ²)	n	Minimum (kg/m ²)	Maximum (kg/m ²)	Mittelwert (kg/m ²)
Studienbeginn	55	17,22	35,15	25,89	35	13,54	52,06	27,33
Studienende	55	18,43	37,28	26,92	34	13,54	53,07	28,53

Legende zur Tab.14: n= Anzahl der Patienten, Minimum= min. BMI, Maximum= max. BMI, Mittelwert= Mittelwert des BMI

Sowohl die Frauen als auch die der Männer zeigten eine signifikante BMI -Zunahme über den Studienzeitraum von 6 Wochen ($p < 0,001$ / $p < 0,001$).

In Tabelle 15 sind die spezifischen maximalen und minimalen BMI-Veränderungen unter den drei häufigsten atypischen Neuroleptika des Kollektivs (s. Abb.4) Olanzapin (Zyprexa®), Aripiprazol (Abilify®) und Risperidon (Risperdal®) dargestellt, sowie der BMI-Mittelwert

innerhalb des Patientenkollektives nach 6 Wochen. Das typische Neuroleptikum Haloperidol wurde aufgrund seines nicht vorhandenen Einflusses auf Stoffwechsel und Gewicht nicht in die Begutachtung mit einbezogen.

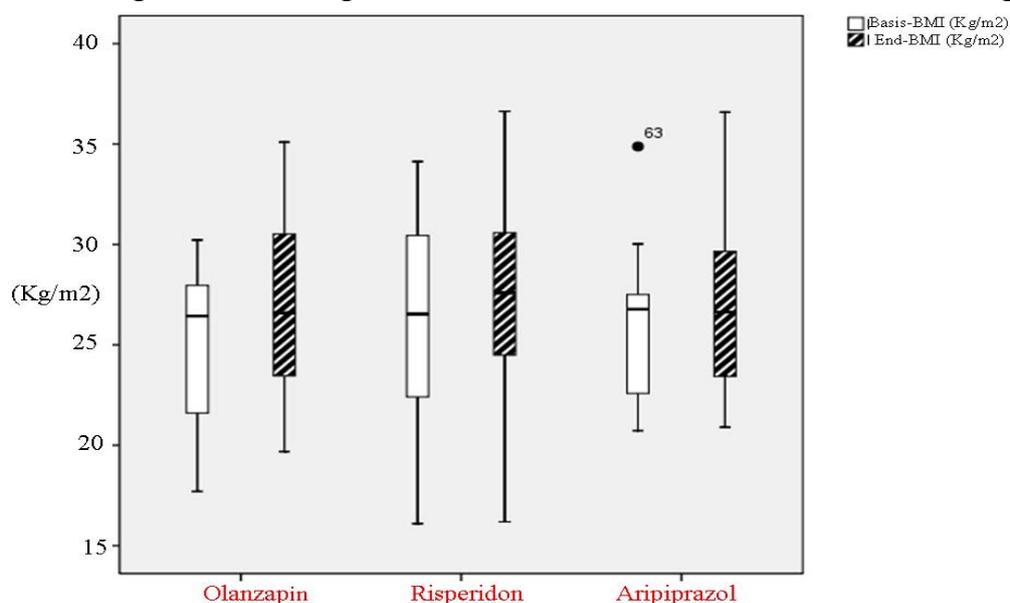
Tab.15: BMI-Veränderungen nach 6 Wochen unter Olanzapin, Aripiprazol und Risperidon

Medikation	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	p-Wert
Olanzapin (Zyprexa®)	10	0	4,88	1,70	0,008
Risperidon (Risperdal®)	22	-1,2	2,94	1,40	0,001
Aripiprazol (Abilify®)	14	-2	3,12	1,37	0,048

Legende zur Tab.15: n= Anzahl der Patienten, Minimum= min. BMI-Abnahme, Maximum= max. BMI-Zunahme, Mittelwert= Mittelwert der BMI-Zunahme

Zum Vergleich der BMI- Entwicklung unter verschiedenen Neuroleptika zeigt Abbildung 13 die BMI –Werte zu Beginn und am Ende der Studie unter den drei häufigsten verabreichten atypischen Neuroleptika des Kollektivs (s. Abb.4) Olanzapin (Zyprexa®), Aripiprazol (Abilify®) und Risperidon (Risperdal®).

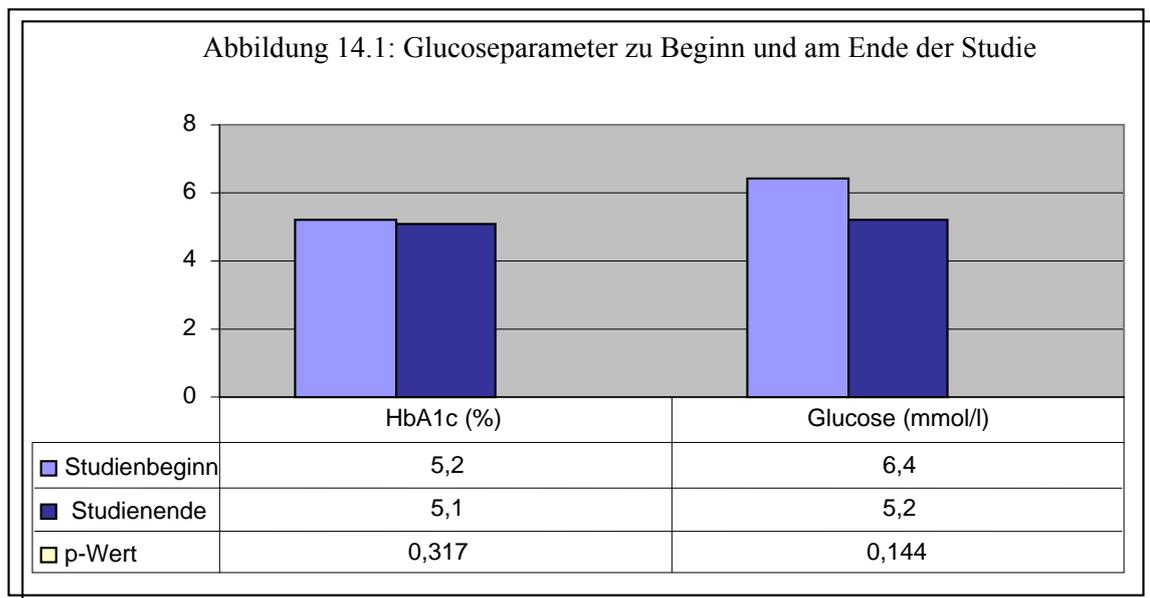
Abbildung 13: Darstellung der BMI-Werte innerhalb der drei Medikamentengruppen



5.3. Veränderung der Stoffwechsellparameter

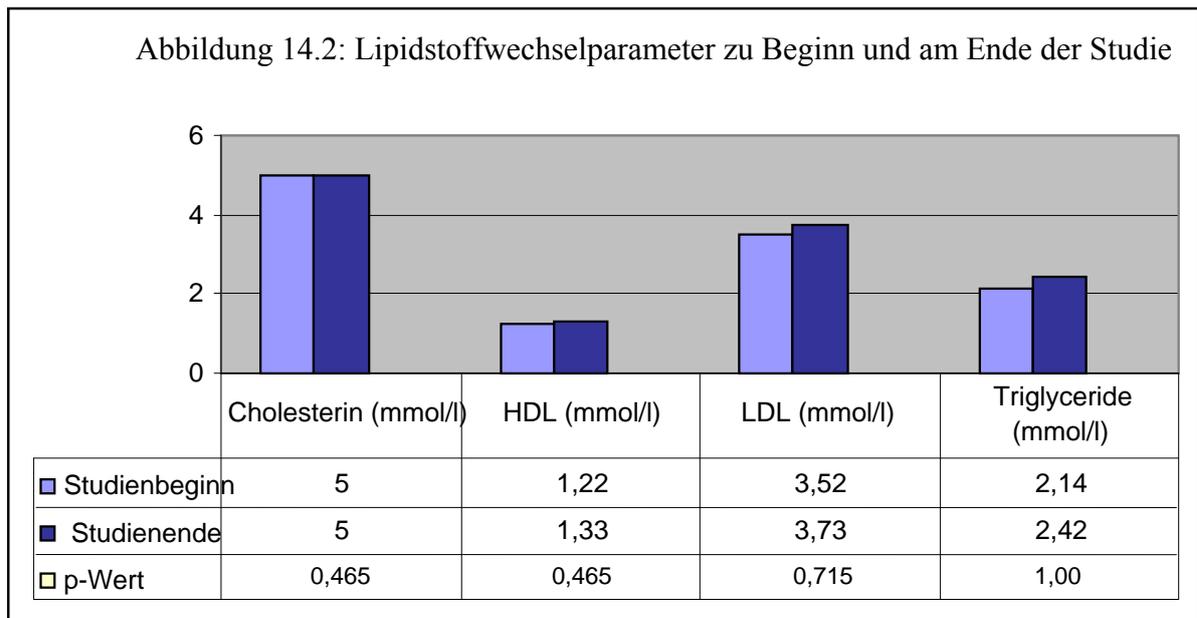
5.3.1. Glucosestoffwechsel

Um mögliche Neuroleptika-induzierte Stoffwechselveränderungen im Glucosemetabolismus, zu erfassen, wurde der Glucosespiegel der Patienten über den gesamten Studienzeitraum kontrolliert. Zur besseren Erfassung wurde zusätzlich zu Beginn und zum Abschluss des Studienverlaufs der HbA1c bestimmt. Abbildung 14.1 zeigt den gemessenen HbA1c-Werte und die Glucosewerte der Patienten zu Beginn und am Ende der Studiendauer von 6 Wochen.



5.3.2. Fettstoffwechsel

Um mögliche Neuroleptika-induzierte Stoffwechselveränderungen im Fettstoffwechsel zu erfassen, wurden Cholesterin-, HDL-, LDL- und Triglycerinspiegel der Patienten über den gesamten Studienzeitraum kontrolliert. Abbildung 14.2 zeigt den gemessenen Cholesterin- HDL-, LDL- und Triglycerinspiegel der Patienten zu Beginn und am Ende der Studiendauer von 6 Wochen.



Für die Auswertung der Veränderung der Stoffwechselformparameter unter den drei häufigsten atypischen Neuroleptika des Kollektivs (s. Abb.4) Olanzapin (Zyprexa®), Aripiprazol (Abilify®) und Risperidon (Risperdal®) erwies sich das Kollektiv zu klein für statistische Test.

5.4. Auswertungen der Genotypisierungen

5.4.1. Analyse SNP rs2167270

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 16:

	Genotyp1 n=17 (A/A)	Genotyp2 n=34 (A/G)	Genotyp3 n=28 (G/G)	p-Wert
Basisgewicht (kg)	79,61	80,97	83,11	0,395
Endgewicht (kg)	82,19	82,68	84,75	0,770
Basis-BMI (kg/m ²)	26,38	26,03	26,62	0,907
End-BMI (kg/m ²)	27,47	27,16	27,85	0,893
Gewichtszunahme (kg)	2,58	1,71	1,64	0,855
BMI -veränderung (kg/m ²)	1,09	0,52	0,60	0,130

Tabelle 16: Darstellung der Genotypverteilungen des rs2167270 Polymorphismus

Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,311$ / $p=0,344$).

Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Männer ergab kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,649/P=0,677$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,641/ p=0,603$). Die geschlechterspezifische Untersuchung der Frauen ergab ebenfalls für keinen Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,356/p=0,082$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,453/ p=0,511$).

5.4.2. Analyse SNP **rs10954173**

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 17:

	Genotyp1 (A/A) n=28	Genotyp2 (A/G) n=37	Genotyp3 (G/G) n=14	p-Wert
Basisgewicht (kg)	81,01	82,63	77,55	0,612
Endgewicht (kg)	83,28	84,54	80,12	0,716
Basis-BMI (kg/m ²)	26,57	26,28	26,84	0,915
End-BMI (kg/m ²)	27,74	27,45	27,00	0,920
Gewichtszunahme (kg)	1,47	1,91	2,57	0,382
BMI -veränderung (kg/m ²)	0,55	0,58	1,16	0,120

Tabelle 17: Darstellung der Genotypverteilungen des rs10954173 Polymorphismus

Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,931/ p=0,855$).

Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Männer ergab kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,385/0,513$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,684/ p=0,580$). Die geschlechterspezifische Untersuchung der Frauen ergab ebenfalls für keinen Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,466/p=0,074$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,473/ p=0,531$).

5.4.3. Analyse SNP rs3828942

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 18:

	Genotyp1 (A/A) n=27	Genotyp2 (A/G) n=34	Genotyp3 (G/G) n=18	p-Wert
Basisgewicht (kg)	79,37	83,18	81,26	0,669
Endgewicht (kg)	81,91	85,32	81,61	0,664
Basis-BMI (kg/m ²)	25,28	27,34	25,90	0,289
End-BMI (kg/m ²)	26,63	28,77	26,33	0,200
Gewichtszunahme (kg)	2,54	2,14	0,35	0,007
BMI -veränderung (kg/m ²)	0,98	0,71	0,14	0,020

Tabelle 18: Darstellung der Genotypverteilungen des rs3828942 Polymorphismus

Der A/A Genotyp zeigte eine signifikante höhere Gewichtszunahme und BMI-Zunahme nach 3 Wochen ($p=0,007/ p=0,020$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-veränderung nach 6 Wochen ($p=0,423/ p=0,255$).

Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Männer zeigte der A/A Genotyp eine signifikante höhere Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,046$). Die BMI-Zunahme nach 3 Wochen zeigte sich nicht Signifikant ($p=0,065$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-veränderung nach 6 Wochen ($p=0,430/ p=0,201$). Die geschlechterspezifische Untersuchung der Frauen ergab kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-veränderung nach 3 Wochen ($p=0,123/p=0,202$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-veränderung nach 6 Wochen ($p=0,759/ p=0,614$). Es fand sich jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den BMI-Anfangswerten ($p=0,032$).

5.4.4. Analyse SNP rs7799039

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 19:

	Genotyp1 (A/A) n=22	Genotyp2 (A/G) n=28	Genotyp3 (G/G) n=15	p-Wert
Basisgewicht (kg)	85,71	80,75	75,69	0,188
Endgewicht (kg)	87,07	82,49	78,07	0,285
Basis-BMI (kg/m ²)	26,86	26,80	24,53	0,311
End-BMI (kg/m ²)	27,93	27,77	26,18	0,587
Gewichtszunahme (kg)	1,36	1,74	2,38	0,442
BMI -veränderung (kg/m ²)	0,49	0,56	1,08	0,163

Tabelle 19: Darstellung der Genotypverteilungen des rs7799039 Polymorphismus

Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,957/ p=0,775$).

Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Männer ergab kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,633/p=0,762$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,644/ p=0,459$). Die geschlechterspezifische Untersuchung der Frauen ergab ebenfalls kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,526/p=0,176$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,741/ p=0,835$).

5.4.5. Analyse SNP rs1327120

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 20:

	Genotyp1 (A/A) n=8	Genotyp2 (A/G) n=52	Genotyp3 (G/G) n=19	p-Wert
Basisgewicht (kg)	83,80	80,97	81,72	0,901
Endgewicht (kg)	87,49	82,83	82,85	0,769
Basis-BMI (kg/m ²)	28,43	25,98	26,23	0,452
End-BMI (kg/m ²)	29,96	27,16	27,21	0,396
Gewichtszunahme (kg)	3,69	1,86	1,14	0,042
BMI -Veränderung (kg/m ²)	1,29	0,71	0,34	0,066

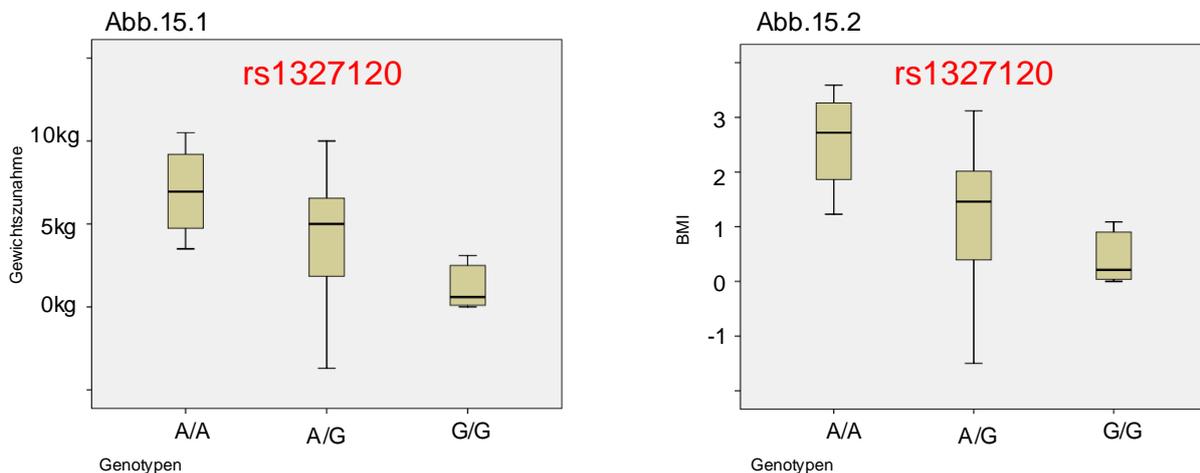
Tabelle 20: Darstellung der Genotypverteilungen des rs1327120 Polymorphismus

Der A/A Genotyp zeigte eine signifikante höhere Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,042$). Die BMI-Zunahme zeige einen Trend des A/A-Genotyps. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,177/ p=0,147$).

Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Männer ergab kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,750/p=0,805$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,683/ p=0,841$). Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Frauen zeigte der A/A Genotyp eine signifikante höhere Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,010$), jedoch keine Signifikanz bei der BMI-

Zunahme ($p=0,095$). Der A/A Genotyp zeigte zudem bei den Frauen eine signifikante höhere Gewichts- und BMI-zunahme nach 6 Wochen ($p=0,035$, $p=0,020$).

Abbildung 15.1 zeigt die signifikante Gewichtszunahme der Frauen nach 6 Wochen der 3 Genotypen. Abbildung 15.2 zeigt die signifikante BMI-Zunahme der Frauen nach 6 Wochen.



5.4.6. Analyse SNP rs1327118

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 21:

	Genotyp1 (A/A) n=17	Genotyp2 (A/G) n=51	Genotyp3 (G/G) n=10	p-Wert
Basisgewicht (kg)	83,68	80,25	80,94	0,755
Endgewicht (kg)	84,24	82,38	83,14	0,925
Basis-BMI (kg/m ²)	26,43	26,07	26,31	0,967
End-BMI (kg/m ²)	27,20	27,39	26,98	0,971
Gewichtszunahme (kg)	0,56	2,13	2,20	0,047
BMI -veränderung (kg/m ²)	0,19	0,79	0,69	0,093

Tabelle 21: Darstellung der Genotypverteilungen des rs1327118 Polymorphismus

Der G/G Genotyp zeigte eine signifikante höhere Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,047$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur BMI-Zunahme nach 3 Wochen. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-veränderung nach 6 Wochen ($p=0,703$ / $p=0,759$).

Die geschlechterspezifische Untersuchung der Männer ergab für keinen Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-veränderung nach 3 Wochen ($p=0,055$ / $p=0,65$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme

und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,486/ p=0,524$). Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Frauen zeigte ebenfalls kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,507/p=0,595$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,805/ p=0,829$).

5.4.7. Analyse SNP rs1137101

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 22:

	Genotyp1 (C/C) n=11	Genotyp2 (C/T) n=42	Genotyp3 (T/T) n=26	p-Wert
Basisgewicht (kg)	81,81	81,69	80,88	0,978
Endgewicht (kg)	83,54	83,58	82,78	0,982
Basis-BMI (kg/m ²)	27,40	26,14	26,07	0,771
End-BMI (kg/m ²)	27,98	27,55	27,13	0,905
Gewichtszunahme (kg)	1,73	1,89	1,90	0,979
BMI -Veränderung (kg/m ²)	0,58	0,76	0,59	0,742

Tabelle 22: Darstellung der Genotypverteilungen des rs1137101 Polymorphismus

Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,235/ p=0,239$).

Die geschlechterspezifische Untersuchung der Männer ergab für keinen Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,697/p=0,664$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,196/ p=0,148$). Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Frauen ergab ebenfalls kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,898/p=0,636$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,897/ p=0,912$).

5.4.8. Analyse SNP rs3790419

Die Genotypverteilung im Patientenkollektiv zeigt Tabelle 23:

	Genotyp1 (C/C) n=6	Genotyp2 (A/G) n=19	Genotyp3 (G/G) n=54	p-Wert
Basisgewicht (kg)	76,72	87,02	80,00	0,211
Endgewicht (kg)	78,53	88,35	82,06	0,302
Basis-BMI (kg/m ²)	24,82	28,62	25,71	0,094
End-BMI (kg/m ²)	25,39	30,21	26,76	0,040
Gewichtszunahme (kg)	1,82	1,33	2,06	0,531
BMI -veränderung (kg/m ²)	0,57	0,75	0,67	0,921

Tabelle 23: Darstellung der Genotypverteilungen des rs3790419 Polymorphismus

Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen. Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,111/p=0,118$). Der A/G-Genotyp zeigte einen signifikant höheren End-BMI.

Die geschlechterspezifische Untersuchung der Männer ergab für keinen Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,463/p=0,545$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,338/p=0,430$). Bei der geschlechterspezifischen Untersuchung der Frauen ergab ebenfalls kein Genotyp eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 3 Wochen ($p=0,542/p=0,483$). Kein Genotyp ergab eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme und/oder BMI-Veränderung nach 6 Wochen ($p=0,221/p=0,141$).

6. Diskussion

6.1. Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden prospektiven Arbeit wurden 91 schizophrene Patienten hinsichtlich metabolischer Nebenwirkungen im Rahmen einer Um- bzw. Neueinstellung auf ein Neuroleptikum über bis zu 42 Tage beobachtet. Folgende Parameter wurden dabei evaluiert: Gewichts- und BMI-Veränderungen, Cholesterinwerte, HDL-, LDL- und Triglycerinwerte, sowie Glucose- und HbA1c- Werte. Die Untersuchungen dieser Studie beruhten auf der Hypothese, dass Leptin- bzw. Leptinrezeptorgen- Polymorphismen eine Assoziation mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme zeigen. Formalgenetische Analysen des Patientenkollektives ergaben folgende Ergebnisse:

Es ließ sich eine Assoziation zwischen den untersuchten Marker rs3828942 im Introns II des Leptingens und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und BMI-Zunahme, sowie eine signifikante Assoziation zwischen dem Marker rs1327120 des Intron I und rs1327118 des 5' near gene des Leptinrezeptorgens feststellen.

Zusätzlich konnte in einer geschlechterspezifischen Untersuchung gezeigt werden, dass der Leptingen-Marker rs3828942 des Introns II bei Männern, und der Leptinrezeptorgen-Marker rs1327120 des Intron I bei Frauen mit einer signifikanten Gewichtszunahme assoziiert ist.

Keine Assoziationen mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und/oder BMI-Zunahme fanden sich zwischen den Markern rs10954173 im Intron I, rs2167270 im Exon I und des Promoterpolymorphismus rs7799039 des Leptingens, sowie rs3790419 des Exon 9 und rs1137101 des Exon 6 des Leptinrezeptorgens.

Diese Arbeit stellt eine umfassende Analyse des Leptinsystems (Leptin- und Leptinrezeptorgen) und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme dar.

6.2. Diskussion der Ergebnisse im Vergleich zur aktuellen Studienliteratur

Kandidatengestudien haben sich zur Erforschung der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme, aufgrund ihrer einfachen Durchführbarkeit für das Ziel der individualisierten Arzneitherapie bewährt. Darüber hinaus lassen sich durch diese Untersuchungen auch Genvarianten mit kleinen Effektstärken aufdecken. Da die genauen Mechanismen der induzierten Gewichtszunahme nach wie vor unklar sind, basieren die meisten Studien auf der Untersuchung von Kandidatengen, die sich auf biologische Grundlagen der Neuroleptika-Wirkmechanismen und des Energiehaushaltes stützen.

Die aktuelle Studienlage zum Leptinsystem und der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme umfasst 12 Studien (Stand: Juli 2010). Nicht alle durchgeführten Arbeiten belegen eine Assoziation des Leptinsystems zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme, jedoch bieten die hier vorliegenden Studien Anhaltspunkte dafür, dass das Leptin- und das Leptinrezeptorgen als Faktor für die Prädisposition eines Individuums für Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme in Frage kommt. Unsere Arbeit bietet aufgrund des Studiendesigns, nämlich der „Beobachtung“ im Längsschnitt, die Möglichkeit, den Verlauf der Gewichts- und BMI-Veränderung unter dem Einfluss des Leptinsystems zu untersuchen.

6.2.1. Diskussion Leptingen -Polymorphismen

Einzelmarker SNP **rs7799039** (Promoter-Polymorphismus):

Die Promoterregion des Leptingens liegt stromaufwärts der kodierenden Sequenz und enthält verschiedene Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren. Diese initiieren und regulieren den Transkriptionsvorgang im Rahmen der Proteinbiosynthese des Leptins. Allelvariationen im Promoter können zu einer unterschiedlichen Transkriptionsrate führen.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich keine Assoziation des Promoter- Polymorphismus mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und/oder BMI-Zunahme nach 3 bzw. 6 Wochen. Dieses Ergebnis ist übereinstimmend mit vergleichenden Leptinstudien, welche ausschließlich kaukasische Patientenkollektive analysierten.

Ellingrod et al. untersuchte 37 kaukasische schizophrene Patienten zum Promoter-Polymorphismus unter gleicher Olanzapindosis (Ellingrod 2007). Die Analysen ergaben keine signifikante Assoziation. Eine weitere Studie von Gregoor et al. untersuchte die Assoziation zwischen rs7799039 und Neuroleptika-induziertem Übergewicht (Gregoor 2009). Diese Querschnittstudie umfasste 200 kaukasische Patienten mit seit mindestens 3-monatiger antipsychotischer Behandlung (35,5% Clozapin, 34% Olanzapin) und zeigte ebenfalls keine Assoziation. Eine erst kürzlich publizierte Studie von Opgen-Rhein et. al zeigte ebenso keine signifikante Assoziation Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme bei 128 untersuchten schizophrenen Patienten (Opgen-Rhein 2010).

Analysen an nicht kaukasischen Patientenkollektiven erbrachten jedoch differente Ergebnisse. In einer ersten Studie von Zhang et al. wurden 128 Chinesen mit Risperidon- oder Chlorpromazinbehandlung über einen Zeitraum von 10 Wochen zum rs7799039 untersucht (Zhang 2003). Der A/A-Genotyp zeigte sich signifikant mit einer Gewichtszunahme ($p=0,006$) und mit einer BMI-Zunahme ($p=0,003$) assoziiert, während eine spätere Studie mit 102 chinesischen schizophrenen Patienten und Clozapinlangzeittherapie (seit mindestens 2 Jahren)

eine signifikante Assoziation des G/G-Genotyps mit BMI-Zunahme ($p=0,05$) zeigte (Zhang 2007). Eine erneute Studie zum rs7799039 bei 84 Chinesen mit Risperidon- oder Chlorpromazintherapie von Mou et al. ergab eine signifikante Assoziation Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme nach 10 Wochen ($p=0,045$) (Mou 2008).

Neben chinesischen Kollektiven wurden auch spanische und koreanische Kollektive zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme untersucht. Templeman et al. analysierte in einer weiteren Studie zum Promoter- Polymorphismus 73 spanische Patienten mit Schizophrenie über 6 Wochen, 3 und 9 Monaten nach Ersteinstellung auf ein Neuroleptikum (36% Risperidon, 26% Olanzapin) (Templeman 2005). Eine signifikante Gewichtszunahme trat bei Patienten des G/G-Genotyps nach 9-monatiger Behandlung auf ($p=0,03$). Das Ergebnis dieser Studie ist besonderes interessant, da keiner der Patienten vor Einschluss in die Studie ein Neuroleptikum erhalten hatte und so bereits induzierte Gewichtszunahmen in der Vergangenheit ausgeschlossen wurden. Eine Arbeitsgruppe von Ryu et al. untersuchte 71 koreanische schizophrene Patienten unter antipsychotischer Therapie und fand keine Assoziation zur Gewichtszunahme nach 4 bzw. 8 Wochen (Ryu 2006). Dieses Ergebnis konnte in einer jüngsten Untersuchung zum rs7799039 von Kang et al. bei 74 koreanischen schizophrenen Patienten mit Olanzapintherapie nicht repliziert werden (Kang 2008). Der Beobachtungszeitraum dieser Studie erfolgte jedoch über eine Dauer von 3 Monaten. Diese Studie zeigte, dass der A/G-Genotyp signifikant höher mit einer Gewichtszunahme assoziiert war als der A/A-Genotyp ($p=0,029$), kein Studienpatient wies den G/G-Genotyp auf.

Eine Studie von Müller et al. untersuchte ebenfalls den rs7799039 bei 139 schizophrenen Patienten unterschiedlicher Ethnizität über 14 Wochen (Müller 2004). Die Analysen zeigten eine Assoziation des A/A-Genotyps mit Clozapin-induzierter Gewichtszunahme ($p=0,04$).

Die verschiedenen Ergebnisse zum Promoter Polymorphismus rs7799039 könnten zum einen an den bereits aufgezeigten ethnischen Unterschieden liegen, möglicherweise könnten aber auch unterschiedliche Mechanismen in der kurz- und in der langfristigen Gewichtszunahme von Bedeutung sein. Auch der Einfluss der unterschiedlichen Neuroleptika muss bei der Interpretation der Studien berücksichtigt werden. Insgesamt ist die Aussagekraft der Studien aufgrund ihrer kleinen Patientenkollektive beschränkt.

Einzelmarker SNP **rs2167270** (Exon I) und Einzelmarker SNP **rs10954173** (Intron I):

In vorliegender Studie fand sich keine signifikante Assoziation zwischen dem Marker rs2167270 des Exon 1, sowie des im Intron 1 liegenden rs10954173 und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und/oder BMI-Zunahme nach 3 und/oder 6 Wochen. Bisher wurden diesen

Marker nur in vorliegender Studie untersucht, so dass konkrete Aussagen bezüglich ihrer Rolle in der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme noch nicht getroffen werden können. Um sichere Aussagen zu treffen sind Folgestudien mit größeren Patientenkollektiven nötig. Insbesondere wären Analysen von Neuroleptika-erstmedizierten Patienten aufschlussreich.

Einzelmarker SNP **rs3828942** (Intron II):

Ein interessantes Resultat erbrachte die Analyse des rs3828942. Es ließ sich eine Assoziation zwischen dem untersuchten Marker (A-Allel) und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und BMI-Zunahme nach 3 Wochen ($p=0,007/ p=0,020$) feststellen, sowie in einer geschlechterspezifischen Untersuchung, dass der Marker rs3828942 (A-Allel) bei Männern mit einer signifikanten Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,046$) assoziiert ist. Zu berücksichtigen ist, dass evtl. die Signifikanz des Polymorphismus im Gesamtkollektiv auf die signifikante Assoziation der Gewichtszunahme der Männer zurückzuführen ist. Der Marker zeigte keine Assoziation nach 6 Wochen. Dieses Ergebnis ist in soweit interessant, da eine Arbeitsgruppe von Sirvastava 130 schizophrene Patienten zu 6 Polymorphismen des Leptin-Gens genotypisierte, unter anderem den Marker rs3828942 (A/G) (Srivastava 2008). In ihren Analysen zeigte sich der rs3828942 nicht mit Gewichtszunahme nach 6 Wochen assoziiert. Diese Übereinstimmung ist möglicherweise ein Hinweis auf die Rolle des rs3828942 und der kurzfristigen Gewichtszunahme, insbesondere bei männlichen Patienten. In der Studie von Srivastava et al. wurden keine geschlechterspezifischen Analysen durchgeführt, so dass diesbezüglich keine vergleichende Studienliteratur vorliegt. Hier sind weiterführende Studien zur Stützung bzw. Widerlegung der Relevanz des rs3828942 nötig. Unterschiede bestanden in der Neuroleptikatherapie der Studienkollektive. So erhielten alle Patienten der Arbeitsgruppe von Srivastava eine Behandlung mit Olanzapin über den Untersuchungszeitraum von 6 Wochen, während in der vorliegenden Studie keine einheitliche Medikation verabreicht wurde. Zur Klärung des Einflusses des Markers rs3828942 und Olanzapin-induzierter Gewichtszunahme sollten Patientenkollektive mit einheitlicher Medikation untersucht werden.

Weitere Untersuchungen des Leptin-Gens in der Studie von Srivastava et al. betrafen die Polymorphismen rs10487506 (A/G), rs17151922 (G/T), rs4731426 (C/G), rs2278815 A/G und rs28954113 (C/T)) (Srivastava 2008). Der C/T Genotyp des rs28954113 war im Kollektiv unterrepräsentiert (1%) und wurde daher für statistische Analysen ausgespart. Der rs4731426 zeigte einen Trend mit leichter Gewichtszunahme und war signifikant mit starken Gewichtszunahme assoziiert ($p=0,019$). Diese Polymorphismen wurden jedoch in der vorliegenden Studie nicht untersucht.

6.2.2. Diskussion Leptinrezeptorgen -Polymorphismen

Einzelmarker SNP **rs1327120** (Intron I) und Einzelmarker SNP **rs1327118** (5' near gene):

Ein sehr vielversprechendes Resultat erbrachte die Analyse des Markers rs1327120 und rs1327118. In vorliegender Arbeit konnte eine signifikante Assoziation zwischen dem Marker rs1327120 (A-Allel) und dem Marker rs1327118 (G-Allel) und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,042/p=0,047$) beschrieben werden. Die geschlechterspezifische Untersuchung des rs 1327120 ergab zudem eine signifikante Assoziation des Markers (A-Allel) bei Frauen in der Gewichtszunahme nach 3 Wochen ($p=0,010$). Darüber hinaus zeigte sich der Marker rs 1327120 signifikant bei weiblichen Patientinnen und Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme und BMI-Zunahme nach 6 Wochen ($p=0,035$; $p=0,020$).

Diese Ergebnisse geben Anhalt für die Annahme des Einflusses dieses Polymorphismus auf Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme, besonderes bei Frauen. Daher sind erneute Analysen mit größerer Fallzahl und Beobachtungszeiträumen erstrebenswert. Bisher sind keine Studien zum rs1327120 und rs1327118 und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme bekannt.

Einzelmarker SNP **rs1137101** (Exon 6) und Einzelmarker SNP **rs3790419** (Exon 9):

Genetischen Varianten des rs1137101 Polymorphismus erwiesen unterschiedlichen Einfluss auf die Pathophysiologie der Adipositas. Zudem zeigten sich Störungen in der Signalübertragung am Leptinrezeptor, sowie höhere zirkulierende Leptinmittelwerte mit diesem Marker assoziiert (Quinton 2001, Yiannakouris 2001). In vorliegender Studie fand sich keine Assoziationen zwischen dem Markern rs1137101, sowie des Markers rs3790419 mit Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme und/oder BMI-Zunahme nach 3 und/oder 6 Wochen.

Studien zum Leptinrezeptorgen- Polymorphismus rs1137101 wurden von Ellingrod et al. und Gregoor et al. durchgeführt. Zum rs3790419 und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme sind bisher keine Studien bekannt. Ellingrod et al. untersuchte 37 kaukasische schizophrene Patienten unter Olanzapin Monotherapie zum rs1137101 (A/G) Polymorphismus (Ellingrod 2007). Die Analysen ergaben, kongruent zur vorliegenden Studie, keine signifikante Assoziation mit induzierter Gewichtszunahme. Jedoch erhielt er in einer Subgruppe von Patienten mit einem Leptinplasmaspiegel $> 20,6$ ng/ml eine signifikante Assoziation mit Neuroleptika-induzierter BMI-Zunahme bei Patienten, die mindestens eine G-Allel der beiden Polymorphismen rs1137101 und rs7799039 trugen.

Eine jüngste Studie zum rs1137101 wurde von Gregoor et al. durchgeführt. Er analysierte in einer Querschnittsstudie den Polymorphismus auf eine Assoziation zu Neuroleptika-induziertem

Übergewicht bei 200 Patienten (Gregoor 2009). Der rs1137101 erwies sich bei Frauen als ein Risikofaktor für die Entwicklung von Neuroleptika-induziertem Übergewicht. In dieser Studie wurde im Vergleich zu allen übrigen Leptinstudien eine Analyse im Querschnitt durchgeführt, was eine genaue Gewichtsmessung im Verlauf ausschließt. Um die Frage nach der Rolle des rs1137101 in der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme weiter zu entschlüsseln, sollten weitere Längsschnittstudien zur wiederholten Analyse des Polymorphismus durchgeführt werden.

Weitere Studien zu Leptinrezeptor- Polymorphismen finden sich nur von Ruano et al., der 168 Patienten (60% Olanzapin, 40% Risperidon) zum rs7602, rs1171276 und rs8179183 Polymorphismus) untersuchte (Ruano 2007). Eine signifikante Assoziation zeigte sich zwischen rs8179183 und Risperidon-induzierter Gewichtszunahme ($p < 0.001$). Diese Polymorphismen zum Leptinrezeptorgen wurden jedoch in der vorliegenden Studie nicht erneut untersucht.

6.3. Bedeutung des Leptinsystems und Gewichtszunahme

Seit der Entdeckung von Leptin erschienen mehr als 5000 wissenschaftliche Publikationen, die sich mit unterschiedlichen Aspekten zu diesem Peptidhormon beschäftigen (Pollmächer 2002). Eine Vielzahl an Studien beschäftigt sich mit der Frage eines Zusammenhangs zwischen dem Leptinspiegel und einer Gewichtszunahme. Ein möglicher Zusammenhang einer Gewichtszunahme unter Neuroleptika könnte auch mit einer Modulation des Leptinspiegels verbunden sein. Eine Studie von Kraus et al. untersuchte Leptinplasmaspiegel in Assoziation mit Neuroleptika induzierter Gewichtszunahme. Ein Kollektiv schizophrener Patienten mit unterschiedlicher Medikation wurde hierfür über einen Zeitraum von 4 Wochen umfassend analysiert. Die zur Therapie der Schizophrenie eingesetzten atypischen Neuroleptika zeigten unterschiedliche Auswirkungen auf den Plasmaleptinspiegel. Unter Clozapin und Olanzapin ließ sich ein deutlicher Anstieg der Plasmakonzentration und eine Gewichtszunahme feststellen, während Haloperidol keinen Einfluß auf Gewicht oder Leptinspiegel nahm (Kraus 1999). Diese Erhöhung des Leptinspiegels könnte jedoch auch als sekundäres Begleitphänomen im Rahmen der Gewichtszunahme gedeutet werden (Kraus 2001). Atypische Neuroleptika modulieren verschiedene Neurotransmittersysteme. Neben dem Leptinsystem sind u.a. das Histamin- und das Serotoninsystem an der Regulation von Appetit und Nahrungsaufnahme beteiligt. Jedes geschlossene System setzt für seine Regulationprozesse die Intaktheit der mitwirkenden Systeme voraus (Morimoto 2001). Die Divergenz in der von Kraus et al. beschriebenen Studie, dass ein erhöhter Leptinspiegel mit einer Gewichtszunahme einhergeht, könnte auch durch eine zentralen

Leptinresistenz infolge einer antipsychotischen Modulation des Histaminsystems durch Blockade der H1-Rezeptoren erklärt werden (Pollmächer 2002).

Darüber hinaus wird ein Zusammenhang zwischen Gewichtszunahme und klinischer Wirksamkeit von Neuroleptika, insbesondere von Clozapin, diskutiert (Bustillo 1996). Diese Beobachtung könnte indirekt über die Erhöhung des Leptinspiegels erklärt werden. Beobachtungen zur Folge weisen untherapierte Patienten mit einer Schizophrenie verminderte Leptinspiegel auf. Diese Hypothese liefert einen wichtigen Hinweis auf die Rolle des Leptins an neuronalen Entwicklung und kognitiven Prozessen. Atypische Neuroleptika wirken besser als Typika auf die Negativsymptomatik der Schizophrenie mit verminderter motorischer Aktivität. Dieser Effekt könnte über eine Verbesserung der Motorik durch eine erhöhte Leptinproduktion unter atypischen Neuroleptika bewirkt werden (Pollmächer 2002).

6.4. Diskussion der Methoden

6.4.1. Patientenkollektiv

Ursachen für die inkonsistente Befundlage könnten in der methodischen Divergenz der verschiedenen Studien liegen. Für die vorliegende prospektive Arbeit wurden 91 schizophrene Patienten rekrutiert, wovon 69 Patienten über einen Studienverlauf von 6 Wochen evaluiert werden konnten. Vergleichende Studien weisen Patientenkollektive von 73-168 Patienten auf. Die Kollektivgröße ist entscheidend für eine konkrete Aussagekraft von Studien zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme, daher sind wesentlich größere Studienkollektive zur Minimierung von falsch-positiven und falsch-negativen Befunden anzustreben.

An der Studie nahmen ausschließlich Patienten teil, die an einer Schizophrenie (F.20) erkrankt waren, im Gegensatz zu vergleichenden Studien, die z.T. Patienten mit unterschiedlichen psychotischen Krankheitsbildern rekrutierten. Zur besseren Aussagekraft und Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurden nur Patienten kaukasischer Herkunft eingeschlossen.

Das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit wurde über einen Zeitraum von bis zu 6 Wochen untersucht, während vergleichende Studien Patienten bis zu 9 Monaten evaluierten. Nur eine Studie zur Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme wurde im Querschnitt durchgeführt. Um mögliche unterschiedliche Mechanismen in der kurz- und in der langfristigen Gewichtszunahme zu erfassen, sind lange Beobachtungszeiträume notwendig.

Für eine bessere Aussagekraft der Studienergebnisse wurden Gewichtsveränderungen in kg wie auch in BMI-Veränderungen gemessen und analysiert. Diese leicht durchzuführenden Messungen im Verlauf einer neuroleptischen Therapie stellen eine kostenfreie, valide und reliable Methode dar. Jedoch kann die Gewichtszunahme unter Neuroleptikatherapie von einer

Vielzahl von Kofaktoren beeinflusst werden. Hierzu gehören zum einen soziodemographische Faktoren wie z.B. das Alter oder Geschlecht des Patienten, wie auch Begleitmedikation, Diabetes und Übergewicht in der Familienanamnese, sowie Komorbiditäten wie z.B. Rauchen oder Essstörungen. In unserer Studie wurde daher eine getrennte Analyse für weibliche und männliche Patienten durchgeführt. Der Raucherstatus, sowie die Anzahl der Zigaretten pro Tag des jeweiligen Probanden wurden nicht dokumentiert, daher wurden mögliche Auswirkungen des Rauchverhaltens auf die Gewichtsveränderungen nicht erfasst. Der Einfluss von Ernährung und Sport wurde ebenfalls nicht erfasst und bewertet. Erstrebenswert wäre eine Gruppierung der Studienpatienten hinsichtlich von Störvariablen der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme in zukünftigen Studien.

Die Darstellung verdeutlicht, dass in der Methodenheterogenität der verschiedenen Studien eine große Störvarianz begründet ist, die die Konsistenz von Studienergebnissen zur induzierten Gewichtszunahme nachhaltig beeinträchtigen kann.

6.4.2. Medikamente

In unserer Studie erhielten die Patienten unterschiedliche atypischen Neuroleptika in unterschiedlichen Dosierungen, die aufgrund ethischer Gründe experimentell nicht variiert wurden. Jedoch wäre die Untersuchung von schizophrenen Patienten mit einer einheitlichen Medikation und Dosierung auch im Hinblick auf dosisabhängige Assoziationen sinnvoll. Denkbar ist, dass unterschiedliche atypische Antipsychotika erst ab der Überschreitung eines bestimmten Neuroleptikaspiegels eine signifikante Gewichtszunahme induzieren. Darüber hinaus wurden nicht nur Patienten eingeschlossen, die eine Ersteinstellung auf ein Neuroleptikum erhielten, sondern auch Patienten, die bereits seit Jahren eine Neuroleptikatherapie erhielten. Die medikamentöse Vorbehandlung der Patienten untereinander unterschied sich wesentlich in Präparat und Dosis. Es ist möglich, dass aufgrund einer signifikanten Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme in der Vergangenheit das Gewicht der Patienten ein stabiles Niveau erreicht hat. Geringfügigere Änderungen des Gewichts und BMIs in dieser Studie lieferten daher ein falsch-negatives Ergebnis. Bisherige Erkenntnisse gehen von einer Mündung in ein Gewichtsplateau nach 5 Monaten aus (Theisen 2005). Bereits zu Beginn der Studie wiesen 55 von 91 Patienten Übergewicht bzw. Adipositas auf. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen, sollten homogene Patientenkollektive mit Normalgewicht und Erstmedikation eines Neuroleptikums bevorzugt werden.

6.4.3. Experimentelle Arbeit

Die Grundlage der medizinischen und biologischen Analytik ist der Nachweis kleinster Mengen genetischen Materials mit Hilfe der PCR. Die Stärke dieser Methodik liegt vor allem in der quantitativen Ausbeute der amplifizierten DNA. Die Empfindlichkeit der Methode und der zeitliche Aufwand stellen jedoch einen möglichen Nachteil dar. Die Durchführung der PCR erfordert sauberes Arbeiten, um Kontaminationen mit fremder DNA zu verhindern. Fehler der Methode beruhen hauptsächlich auf Fehleinbau (besonders T/C-Transitionen) von Basen durch die verwendete Taq-Polymerase. Untersuchungen zeigen, dass die Fehlereinbaurate bei über 30 Zyklen 0,25% beträgt (1:400) (Strachan 1996). Um diese Fehlerquelle des Kontaminationsrisikos zu reduzieren, wurden alle benötigten Materialien autoklaviert und Reagenzien und Chemikalien in geringen Mengen aufbewahrt. Des Weiteren wurde die zu amplifizierende Patienten- DNA erst im letzten Arbeitsschritt bei der Zubereitung eines PCR-Ansatzes hinzugefügt und die Arbeitsbereiche vor und nach DNA- Zugabe räumlich getrennt.

Alle Polymorphismen wurden mit Hilfe des Restriktions-Fragment-Längenpolymorphismus (RFLP) untersucht. Die Restriktionsenzyme wurden so gewählt, dass sich der entsprechende Basenaustausch in der spezifischen Erkennungssequenz der sog. palindromischen Sequenz des Enzyms befand. Der RFLP ist eine präzise Methode zur Genotypenbestimmung, dessen Voraussetzung die Bekanntheit der kompletten Sequenz des zu untersuchenden DNA-Abschnitts beinhaltet. Darüber hinaus muss die Lokalisation des Polymorphismus im zuvor amplifizierten Fragment exakt bekannt sein (Hinney 1998) und alle möglichen enzymatischen Schnittstellen identifiziert sein. In der vorliegenden Untersuchung wurden alle Primer so gewählt, dass die Erkennungssequenzen der Enzyme nur einmal in den jeweiligen Amplifikaten vorkamen. Auswertungsfehler der Gelelektrophorese wurden minimiert, durch Beurteilung von zwei unabhängigen Personen. Unstimmigkeiten bei der Ergebnissauswertung führten zu erneuter Genotypisierung.

6.4.4 „Schwächen“ der Arbeit

Eine Limitation der Studie stellt die Diskrepanz der Studienergebnisse innerhalb der verschiedenen Untersuchungszeiträume dar. So zeigten sich z.T. signifikante Ergebnisse nach 3 Wochen, die nach 6 Wochen kein Signifikanzniveau mehr erreichten. Dies könnte mit unterschiedlichen Mechanismen der kurz- und langfristigen Gewichtszunahme zusammenhängen, wie auch mit den bereits diskutierten methodischen „Schwächen“ der Studie. Zudem unterschieden sich die analysierten Patientenstichproben hinsichtlich der Patientenzahl. So betrug die Anzahl der Patienten im Anfangskollektiv 91 Studienteilnehmer während nach 6

Wochen nur noch 69 Patienten an der Studie teilnahmen. Da Assoziationsstudien im Allgemeinen eine hohe Fallzahl benötigen, um einen Effekt signifikant nachweisen zu können, ist in diesem Zusammenhang aufgrund der Reduktion des Patientenkollektivs ein Fehler 2. Art (falsch-negativ) möglich. Das in dieser Studie durchgeführte multiple Testen mehrere Polymorphismen in ein und derselben Stichprobe führt zu einer Erhöhung der Irrtumswahrscheinlichkeit des Fehlers 1. Art (falsch-positiv). Die entstehende Vergrößerung kann durch die sog. Bonferroni- Korrektur ausgeglichen werden. Hierzu wird das übliche Signifikanzniveau von 0,05, auf $0,05/n$ festgelegt, wobei „n“ für die Anzahl der unabhängigen geprüften Assoziationen steht. Die geforderte Stichprobenzahl steigt mit der Anzahl der zu untersuchenden Polymorphismen, was die Rekrutierung ab einer bestimmten Stichprobenzahl deutlich erschwert, andererseits sind innerhalb eines heterogenen Krankheitsmodells wie der Schizophrenie die zu erwartenden Effekte häufig zu klein sind, um auf dem geforderten Signifikanzniveau zu liegen. In unsere Studie wüchse mit Anwendung der Bonferroni- Korrektur der Fehler 2. Art (falsch- negativ). Um dennoch der geforderten Forderung nach erhöhter Validität mit Hilfe der Korrektur nachzukommen, sind Replikationsstudien der gefundenen Assoziationen in unabhängigen Patientenstichproben notwendig.

6.5. Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Assoziationsstudien zum Leptinsystem und Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme ergaben verschiedene z.T. gegensätzliche Ergebnisse.

In unserer Studie konnten übereinstimmende und differente Ergebnisse bezüglich anderer Studien gefunden werden, wie auch neue Ergebnisse zum Leptinsystem hervorgebracht werden. Zusammenfassend lässt sich jedoch feststellen, dass in Anbetracht der kleinen Kollektivgröße Generalisierungen aus den erhobenen Daten nicht möglich sind. Um die Rolle des Leptinsystems in der Pathophysiologie der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme abschließend zu klären, sind weitere umfangreiche Studien mit höheren Fallzahlen nötig.

Die wohl problematischste Beschränkung der relativ kleinen Studienkollektive, kann durch sog. Multi-Center-Studien wie dem „Clinical Antipsychotic Trial of Intervention Effectiveness“ (CATIE) verbessert werden. In der CATIE-Studie wurden 1450 schizophrene Patienten auf das Auftreten von metabolischen Komplikationen während der Neuroleptikatherapie untersucht (Meyer 2005, McEvoy 2005). Molekulargenetische Analysen der CATIE- Studie könnten weitere Ansatzpunkte für die Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme liefern. Des Weiteren

wäre es wünschenswert das auch die pharmazeutische Industrie von Beginn ihrer klinischen Versuche Gewichtserfassungen routinemäßig einbezieht.

Darüber hinaus sollten weiterführende Studien möglichst systematisch viele Polymorphismen genotypisieren, um auch weitere relevante SNPs für die induzierte Gewichtszunahme zu identifizieren. Jedes Gen und jeder Polymorphismus besitzt eine geringe a priori Wahrscheinlichkeit für eine wirkliche Assoziation. Demnach können zufällige Assoziationen nur durch wiederholte Replikationsstudien ausgeschlossen werden. Um die gezielte Auswahl der Gene verlässlicher zu machen, könnten z.B. mit Tiermodellen die zugrunde liegende Hypothese validiert werden.

Zudem sollte in zukünftigen Studien auf eine einheitliche Medikation und Dosierung der Neuroleptika der Studienpatienten geachtet werden, um eine bessere Vergleichbarkeit der Befunde und konsistentere Ergebnisse der Arbeiten erzielen zu können.

Um den Gesamtumfang der Neuroleptika-induzierten Gewichtszunahme zu erfassen, haben sich Längsschnittstudien zur Dokumentation bewährt und sollten über möglichst lange Beobachtungszeiträume stattfinden.

Eine bessere Standardisierung der Patientenkollektive zum Ausschluss von Störfaktoren wie z.B. Sport sollten in zukünftigen Studien stärker berücksichtigt werden. Neben den schwer standardisierbaren Störvariablen wie z.B. Ernährung ist auch das Geschlecht der Studienpatienten ein wichtiger moderierender Faktor. Viele Studien deuten auf einen geschlechtsspezifischen Einfluss von Polymorphismen auf die Neuroleptika-induzierte Gewichtszunahme hin. Daher sollten auch weiterführende Studien Frauen und Männer in separaten Gruppen untersuchen. Dieser geschlechterspezifische Unterschied drückt sich auch in der Physiologie des Leptinsystems aus. So zeigen Frauen einen 2-3 mal höheren Leptinspiegel als Männer (Kraus 2001). Daher sind zur Untersuchung des Leptinsystems in Bezug auf eine Gewichtszunahme, Leptinspiegelbestimmungen sehr sinnvoll, um mögliche Auswirkungen der Neuroleptika auf den Leptinspiegel und damit verbundene Gewichtsveränderungen zu messen.

Die therapeutische Wirksamkeit der Neuroleptika wie auch und das Auftreten von Nebenwirkungen wie der Gewichtszunahme sind an genetisch determinierte pharmakodynamische und pharmakokinetische Prozesse gekoppelt. Umfangreiche molekulargenetische Analysen sind für das Ziel der individualisierten Arzneimitteltherapie unbedingt notwendig. Momentan lassen sich noch keine DNA-Tests zur Prädiktion von Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme durchführen. Diese angestrebten Tests werden sehr

wahrscheinlich eine Vielzahl unterschiedliche Gene und möglicherweise mehrere hundert Polymorphismen analysieren, die mit einer Neuroleptika induzierten Gewichtszunahme einhergehen. Bisher sind jedoch nur wenige dieser relevanten Gensysteme und Polymorphismen identifiziert worden. In 10 Jahren erhofft sich die Wissenschaft diese DNA-Chips zur prädiktiven Bestimmung Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme im klinischen Alltag für Patienten einsetzen zu können. Bis dahin müssen Patienten mit Neuroleptikatherapie weiterhin über die Nebenwirkung und Folgen der Gewichtszunahme aufgeklärt werden, sowie regelmäßige Gewichtskontrollen durchgeführt werden um ggf. bei Zunahmen rechtzeitige Gegenmaßnahmen ergreifen zu können.

7. Literaturverzeichnis

1. Aaij C, Borst P The gel electrophoresis of DNA. *Biochim Biophys Acta.* 1972;269:192-200.
2. Agelink MW, Kornischka J, Cordes J et al. Allgemeinmedizinische Aspekte der Therapie mit Antipsychotika der zweiten Generation. *Deutsches Ärzteblatt* 2006;42:2802-2808.
3. Allison DB, Mentore JL, Heo M et al. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *American Journal of Psychiatry* 1999;156(11):1686-1696.
4. Alphas LD, Summerfelt A, Lann H et al. The negative symptom assessment: a new instrument to assess negative symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology Bulletin* 1989;25(2):159-163.
5. Arnold SE Neurodevelopmental abnormalities in schizophrenia: insights from neuropathology. *Developmental Psychopathology* 1999;11:439-456.
6. Awad AG, Voruganti LN Body weight, image and self- esteem evaluation questionnaire: development and validation of a new scale. *Schizophrenia Research* 2004;70(1):63-70.
7. Awad AG, Voruganti LN Impact of atypical antipsychotics on quality of life in patients with schizophrenia. *CNS Drugs* 2004;18(13):877-893.
8. Axelrod BN, Alphas LD Training novice on the Negative Symptom Assessment Scale. *Schizophrenia Research* 1993;9(1):28-8.
9. Baak MA The peripheral sympathetic nervous system in human obesity. *Obesity Reviews* 2001;2(1):3-14.
10. Basile VS, Masellis M, De Luca V et al. 759C/T genetic variation of 5HT(2C) receptor and clozapine- induced weight gain. *Lancet* 2002;360:1790-1791.
11. Basile VS, Masellis M, McIntyre RS et al. Genetic dissection of atypical antipsychotic-induced weight gain: novel preliminary data on the pharmacogenetic puzzle. *Journal of Clinical Psychiatry* 2001;62(23)45-66.
12. Belmaker R, Pollin W, Wyatt RJ et al. A follow-up of monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 1974;30(2):219-22.
13. Bishop JR, Ellingrod VL, Moline J et al. Pilot study of the G- protein beta3 subunit gene (C825T) polymorphism and clinical response to Olanzapine or Olanzapine- related weight gain in persons with schizophrenia. *Medical Science Monitor* 2006;12(2):47-50.
14. Bleich S, Bleich K, Wiltfang J, Maler JM, Kornhuber J. Glutamaterge Neurotransmission bei Schizophrenien. *Fortschritte der Neurologie, Psychiatrie* 2001;69:56-61.

15. Bustillo JR, Buchanan RW, Irish D et al. Differential effect of clozapine on weight: a controlled study. *American Journal of Psychiatry* 1996;153:817-819.
16. Carlson A.: Antipsychotic drugs, neurotransmitters and schizophrenia, *American Journal of Psychiatry* 1978;135:164-173.
17. Clade, Harald Versorgungsforschung: Fallbeispiel Schizophrenie – Hohe soziale Kosten PP 2. *Deutsches Ärzteblatt* 2003;353.
18. Clément K, Vaisse C, Lahlou N et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398-401.
19. Delay J, Deniker P, Harl JM. Therapeutic use in psychiatry of phenothiazine of central elective action (4500RP). *Annales Medico- Psychologiques (Paris)* 1952;110:112-117.
20. Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde DGPPN: 3 Praxisleitlinien in Psychiatrie und Psychotherapie, Steinkopff-Verlag 2006
21. Ellingrod VL, Bishop JR, Moline J et al. Leptin and Leptin receptor gene polymorphisms and increases in body mass index (BMI) from olanzapine treatment in persons with schizophrenia. *Psychopharmacology Bulletin* 2007;40(1):57-62.
22. Ellingrod VL, Miller D, Schultz SK et al. CYP2D6 polymorphisms and atypical antipsychotic weight gain. *Psychiatric Genetics* 2001;12:55-58.
23. Ellingrod VL, Perry PJ, Ringold JC et al. Weight Gain Associated With the -759 C/T Polymorphism of the 5HT_{2C} Receptor and Olanzapine. *American Journal of Medical Genetics Part B* 2005;134B:76-78.
24. Embury SH, Scharf SJ, Saiki RK et al. Rapid prenatal diagnosis of sickle cell anemia by a new method of DNA analysis. *New England Journal of Medicine* 1987;316:656-661.
25. Endicott J, Spitzer RL, Fleiss JL et al. The global assessment scale. A procedure for measuring overall severity of psychiatric disturbance. *Archives of General Psychiatry* 1976;33(6):766-771.
26. Estler CJ, Schmidt H (Hrsg.) *Pharmakologie und Toxikologie Für Studium und Praxis*. Schattauer Verlag GmbH Stuttgart 6. Auflage 2007
27. Geffroy S, De Vos P, Staels B Localization of the human OB gene (OBS) to chromosome 7q32 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1995;28(3):603-604.
28. Gift TE, Strauss JS, Ritzler BA et al. Social class and psychiatric disorder. The examination of an extreme. *Journal of Nervous and Mental Disease* 1988;176:593-597.
29. Godlewska BR, Olajossy-Hilkesberger L et al. Olanzapine- induced weight gain is associated with the -759C/T and -697G/C polymorphisms of the HTR_{2C} gene. *Pharmacogenomics* 2009;9(4):234-241.

30. Goldner EM, Hsu L, Waraich P et al. Prevalence and incidence studies of schizophrenic disorders: a systematic review of the literature. *Canadian Journal of Psychiatry* 2002;47:833.
31. Gong DW, Bi S, Pratley RE et al. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *Journal of Biological Chemistry* 1996;271:3971-3974.
32. Gunes A, Melkersson KI, Scordo MG et al. Association Between HTR2C and HTR2A Polymorphisms and Metabolic Abnormalities in Patients Treated With Olanzapine or Clozapine. *Journal of Psychopharmacology* 2009;29:65-68.
33. Häfner H Onset and early course of schizophrenia, In: Häfner et al.: Search for the courses of schizophrenia 1995;3:43-66.
34. Häfner H, Hambrecht M, Löffler W et al. Is schizophrenia a disorder of all ages? A comparison of first episodes and early course over the life-cycle, *Psychological Medicine* 1998;28:357-365.
35. Heckers S, Heinsen H, Heinsen YC et al. Limbic structures and lateral ventricle in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 1990;159:319-324.
36. Hellard SL, Theissen FM, Haberhausen M et al. Association between the insulin- induced gene 2 (INSIG2) and weight gain in a German sample of antipsychotic-treated schizophrenic patients: perturbation of SREBP- controlled lipogenesis in drug- related metabolic adverse effects? *Molecular Psychiatry* 2009;14(3):308-317.
37. Herken H, Erdal M, Aydin N et al. The Association of Clozapine- Induced Weight Gain with Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Pro12Ala Polymorphism in Patients with Schizophrenia. *DNA and Cell Biology* 2009;28:515-519.
38. Hinney A, Becker I, Heibült O et al. Systematic mutation screening of the pro-opiomelanocortin gene: identification of several genetic variants including three different insertions, one nonsense and two missense point mutations in probands of different weight extremes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1998;83:3737-41.
39. Holt RJ, Peveler RC, Byrne CD. Schizophrenia, the metabolic syndrome and diabetes. *Diabetic Medicine* 2004;21:515-523.
40. Hong CJ, Lin CH, Yu YW et al. Genetic variant of the histamine- 1 receptor (glu349asp) and body weight change during clozapine treatment. *Psychiatric Genetics* 2002;12:169-171.
41. Horn JD, Cannon M, Jonnes P et al. Ventricular enlargement in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 1986;43:34-42.

42. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* 1995;95:2409-2415.
43. Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D et al.: Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor- α . *Journal of Clinical Investigation* 1994;94(4):1543-1549.
44. Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 1966;153:1127-1128.
45. ICD-10 Version 2009;
<http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlgm2009/block-f20-f29.htm>
46. Jeste DV, Gladsjo JA, Lindamer LA et al. Medical comorbidity in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1996;22:413-430.
47. Kang SG, Lee HJ, Park YM et al. Possible association between the -2548A/G polymorphism of the leptin gene and olanzapine- induced weight gain. *Progress Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry* 2008;32(1):160-163.
48. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 1987;13(2):261-276.
49. Kendler KS, Gallagher TJ, Abelson JM et al. Lifetime prevalence, demographic risk factors, and diagnostic validity of nonaffective psychosis as assessed in a US community sample. The National Comorbidity Survey. *Archives of General Psychiatry* 1996;53:1022.
50. Kety SS, Wender PH, Jacobsen B et al. Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Archives of General Psychiatry* 1994;51(6):442-455.
51. Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W et al. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neuroscience* 1980;20:379-382.
52. Kramer MF, Coen DM Enzymatic amplification of DNA by PCR: standard procedure and optimization. *Current Protocols in Cytometry* 2006;A.3K.1-A.3K.15
53. Kraus T, Haack M, Schuld A et al. Body weight and leptin plasma level during treatment with antipsychotic drugs. *American Journal of Psychiatry* 1999;156:312-314.
54. Kraus T, Zimmermann U, Schuld A et al. Zur Pathophysiologie der Gewichtsregulation im Rahmen der Therapie mit Psychopharmaka. *Fortschritte der Neurologie und Psychiatrie* 2001;69:116-137.

55. Lahiri DK, Nurnberger A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research* 1991;19(19):5444.
56. Laika B, Leucht S, Heres S et al. Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. *Pharmacogenomics* 2010;10(1):20-29.
57. Lane HJ, Liu YC, Huang CL et al. Risperidone- related Weight Gain Genetic and Nongenetic Predictors. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 2006;26:128-134.
58. Laruelle M, Abi-Dargham A, Casanova MF et al. Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia. *Journal of Neural Transmission* 1992;36:91-131.
59. Lee G-H, Proenca R, Montez JM et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996;379:632-635.
60. Lehua LI, Renrong WU, Jingping ZHAO Adiponectine gene +45T/G and +276G/T polymorphism and antipsychotic- induced weight gain. *Journal of Central South University* 2009;34(8):693-696.
61. Lewis DA, Levitt P Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annual Reviews of Neuroscience* 2002;25:409-432.
62. Lewis DA, Lieberman JA Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron* 2000;28:325-334.
63. Lieberman JA Partielle Dopamin-Agonisten Eine neue Antipsychotika-Klasse. *CNS Drugs* 2004;18(4):251-267.
64. Lieberman JA, Mailman RB, DUCan G et al. Serotonergic basis of antipsychotic drug effects in schizophrenia. *Biological Psychiatry* 1998;44:1099-1117.
65. Maynard TM, Sikich L, Lieberman JA et al. Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 2001;27:457.
66. McEvoy JP, Meyer JM, Goff DC et al. Prevalence of the metabolic syndrome in patients with schizophrenia: baseline results from the Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) schizophrenia trial and comparison with national estimates from NHANES III. *Schizophrenia Research* 2005;80(1):19-32.
67. Meltzer HY The role of serotonin in antipsychotic drug action. *Neuropsychopharmacology* 1999;21(2):106-115.
68. Meyer JM, Nasrallah HA, McEvoy JP et al. The Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) Schizophrenia Trial: clinical comparison of subgroups with and without the metabolic syndrome. *Schizophrenia research* 2005;80:9-18.

69. Miller DD, Ellingrod VL, Holman TL et al. Clozapine- Induced Weight Gain Associated With the 5HT_{2C} Receptor -759C/T Polymorphism. *American Journal of Medical Genetics Part B* 2005;133B:97-100.
70. Morimoto T, Yamamoto Y, Yamatodani A Brain histamine and feeding behaviour. *Behavioural Brain Research* 2001;124:145-150.
71. Mou XD, Zhang ZJ, Yao ZJ et al. No association of -1438G/A polymorphism in promoter region of 5- HT_{2A} receptor gene with antipsychotic agent- induced weight gain. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Zhi* 2008;22(5):575-560.
72. Mülhardt C *Der Experimentator: Molekularbiologie/Genomics*. 3.Auflage.- Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 2002
73. Müller DJ, Kennedy JL Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. *Pharmacogenomics* 2006;7(6):863-87.
74. Müller DJ, Klempan TA, De Luca V et al. The SNAP- 25 gene may be associated with clinical response and weight gain in antipsychotic treatment of schizophrenia. *Neuroscience Letters* 2005;379:81-89.
75. Mullis K, Fallona F, Scharf S et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 1986;51:263-273.
76. Murray CJL, Lopez AD Evidence –based health policy –Lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science* 1996;274(5293):1593-1594
77. Musil R, Spellmann I, Riedel M et al. SNAP- 25 gene polymorphisms and weight gain in schizophrenic patients. *Journal of Psychiatric Research* 2008;42:963-970.
78. National Institute of Mental Health, Early Clinical Drug Evaluation, Psychopharmacology Research Branch 1976:217-222.
79. Opgen-Rhein C, Brandl EJ, Müller DJ et al. Association of HTR_{2C}, but not LEP or INSIG2, genes with antipsychotic- induced weight gain in a German sample. *Pharmacogenomics* 2010;11(6):773-780.
80. Overall JE, Gorham DR Brief Psychiatric Rating Scale. *Psychological Reports* 1962;10:799-812
81. Park YM, Chung YC, Lee SH et al. G-protein β₃ Subunit Gene 825C/T Polymorphism Is Not Associated with Olanzapine- Induced Weight Gain in Korean Schizophrenic Patients. *Psychiatry Invest* 2009;6:39-43.

82. Park YM, Chung YC, Lee SH et al. Weight gain associated with the α 2a-adrenergic receptor -1291 C/G polymorphism and olanzapine treatment. *American Journal Medical Genetics B Neuropsychiatry Genetic* 2006;141B(4):394-397.
83. Pollmächer T Leptin und psychiatrische Erkrankungen. *Nervenarzt* 2002;73:897-902.
84. Power ML, Schulkin J. Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: possible evolutionary origins. *British Journal of Nutrition* 2008;99(5):931-940.
85. Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ et al. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Human Genetics* 2001;108:233-236.
86. Raskin A, Pelchat R, Sood R et al. Negative symptom assessment of chronic schizophrenia patients. *Schizophrenia Bulletin* 1993;9(3):627-635.
87. Reynolds GP, Zhang Z, Zhang X Association of antipsychotic drug- induced weight gain with a 5- HT2c receptor gene polymorphism. *Lancet* 2002;359:2086-2087.
88. Reynolds GP, Zhang Z, Zhang X Polymorphism of the promoter Region of the Serotonin 5- HT2c Receptor Gene and Clozapine- Induced Weight Gain. *American Journal of Psychiatry* 2003;160:677-679.
89. Rietschel M, Naber D, Oberländer H et al. Efficacy and Side- Effects of Clozapine: Testing for Association with Allelic Vaariation in the Dopamine D4 Receptor Gene *Neuropsychopharmacology* 1996;15(5):491-496.
90. Robinson D, Woerner MG, Alvir JM et al. Predictors of Relapse Following Response from a First Episode of Schizophrenia or Schizoaffective Disorder. *Archives of General Psychiatry* 1999;56:241-247.
91. Ruano G, Goethe JW, Caley C et al. Physiogenomic comparison of weight profiles of olanzapine- and risperidone- treated patients. *Molecular Psychiatry* 2007;12:474-482.
92. Rupprecht, Hampel (Hrsg.) *Roter Faden: Psychiatrie und Psychotherapie.* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1. Auflage 2006
93. Ryu S, Cho EY, Park T et al. -759 C/T polymorphism of 5- HT2C receptor gene and early phase weight gain associated with antipsychotic drug treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 2007;31:673-677.
94. Saiki RK, Bugawan TL, Horn GT et al. Analysis of enzymatically amplified β -globin and HLA-DQ α DNA with allele-specific oligonucleotide probes. *Nature* 1986;324:163-166.
95. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffels S et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988;239(4839):487-491.

96. Saiki RK, Scharf S, Faloona F et al. Enzymatic Amplification of β -globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science* 1985;230:1350-1354.
97. Scherk H, Vogeely K, Falkai P Die Bedeutung von Interneuronen bei affektiven und schizophrenen Erkrankungen. *Fortschritt Neurologie Psychiatrie* 2003;71:27-32.
98. Schmitt A, Weber-Fahr W., Jatzko A. et al. Aktueller Überblick über strukturelle Magnetresonanztomographie bei Schizophrenie. *Fortschritt Neurologie Psychiatrie* 2001;69:105-115.
99. Sharp PA, Sugden B, Sambrook J Detection of two restriction endonuclease activities in *Haemophilus parainfluenzae* using analytical agarose-ethidium bromide electrophoresis. *Biochemistry* 1973;12:3055-3063.
100. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M et al. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2001;49:1-52.
101. Sickert L, Müller DJ, Tiwari AK et al. Association of the alpha 2A adrenergic receptor - 1291C/G polymorphism and antipsychotic- induced weight gain in European-Americans. *Pharmacogenomics* 2009;10(7):1169-1176.
102. Singh MM, Kay SR A comparative study of haloperidol and chlorpromazine in terms of clinical effects and therapeutic reversal with benztropine in schizophrenia: Theoretical implications for potency differences among neuroleptics. *Psychopharmacologia* 1975;43:103-113.
103. Skelly T, Pinheiro AP, Lange LA et al. Is rs7566605, a SNP near INSIG2, associated with body mass in a randomized clinical trial of antipsychotics in schizophrenia? *Molecular Psychiatry* 2007;12:321-322.
104. Smith, HO, Wilcox KW A restriction enzyme from *Hemophilus influenzae*. I. Purification and general properties. *Journal of Molecular Biology* 1970;51:379-391.
105. Srivastava V, Deshpande SN, Nimgaonkar VL et al. Genetic correlates of olanzapine-induced weight gain in schizophrenia subjects from north India: role of metabolic pathway genes. *Pharmacogenomics* 2008;9(8):1055-1068.
106. Stelte M, Marzo VD The endocannabinoid system in the basal ganglia and in the mesolimbic reward system: implications for neurological and psychiatric disorders. *European Journal of Pharmacology* 2003;480:133-150.
107. Strachan T, Read AP *Molekulare Humangenetik*. 3.Auflage.- Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 2005

108. Tartaglia LA, Dembski M, Werng X, et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995;83:1263-1271.
109. Tecott LH, Sun LM, Akana SF et al. Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Nature* 1995;374:542-546.
110. Tempelman LA, Reynolds GP, Arranz B et al. Polymorphisms of the 5-HT_{2C} receptor and leptin genes are associated with antipsychotic drug –induced weight gain in Caucasian subjects with a first- episode psychosis. *Pharmacogenetics & Genomics* 2005;133:97-100.
111. Theisen FM, Gebhardt S, Haberhausen M et al. Clozapine-induced weight gain: a study in monozygotic twins and same-sex sib pairs. *Psychiatry Genetics* 2005;15:285-289.
112. Theisen FM, Hinney A, Brömel T et al. Lack of association between the -759C/T polymorphism of the 5-HT_{2c} receptor gene and clozapine –induced weight gain among German schizophrenic individuals. *Psychiatric Genetics* 2004;14:139-142.
113. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O A Common Polymorphism in the Cannabinoid Receptor I (CNR1) Gene is Associated with Antipsychotic-Induced Weight Gain in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2010;35:1315-1324.
114. Tiwari AK, Zai CC, Meltzer HY et al. Association study of polymorphisms in Insulin Induced Gene 2 (INSIG2) with antipsychotic- induced weight gain in European and African-American schizophrenia patients. *Human Psychopharmacology* 2010;25:253-259.
115. Torrey EF Prevalence studies in schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 1987;150:598-608.
116. Tsai SJ, Yu YW, Lin CH et al. Association Study of Adrenergic β_3 Receptor (Trp64Arg) and G-Protein β_3 Subunit Gene C825T) Polymorphisms and Weight Change during Clozapine Treatment. *Neuropsychobiology* 2004;50:37-40.
117. Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV Genes, environment and schizophrenia. *British Journal of Psychiatry* 2001;178:18-24.
118. Ujike H, Morita Y New Perspectives in the Studies on Endocannabinoid and Cannabis: Cannabinoid Receptors and Schizophrenia. *Journal of Pharmacological Sciences* 2004;96:376-381.
119. Volkenandt M, Löhr M, Dicker AP Gene amplification by the polymerase chain reaction. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 1990;115(17):670-676.

120. Wang YC, Bai YM, Chen JY et al. Polymorphism of the adrenergic receptor alpha 2 α - 1291C>G genetic variation and clozapine- induced weight gain. *Journal of Neural Transmission* 2005;112:1463-1468.
121. Wang YC, Bai YM, Chen JY et al. C825T polymorphism in the human G protein beta3 subunit gene is associated with long- term clozapine treatment- induced body weight change in the Chinese population. *Pharmacogenetics and Genomics* 2005;15:743-748.
122. Wang YC, Bai YM, Chen JY et al. Genetic association between TNF- α -308 G>A polymorphism and longitudinal weight change during clozapine treatment. *Human Psychopharmacology* 2010;25:303-309.
123. Weiden PJ, Mackell JA, McDonnell DD Obesity as a risk factor for antipsychotic noncompliance. *Schizophrenia Research* 2004;66:51-57.
124. Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A et al. Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biological Psychiatry* 2001;50:825.
125. Wirshing DA, Wirshing DC, Kysar L et al. Novel antipsychotics: comparison of weight gain liabilities. *Journal Clinical Psychiatry* 1998;60(6):358-363.
126. Wisse BE, Schwartz MW The skinny on neutrophins. *Nature Neuroscience* 2003;6(7):655-656.
127. Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L et al. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001;86:4434-4439.
128. Zai G, Müller DJ, Volavka J et al. Family and case- control association study of the tumor necrosis factor- alpha (TNF- α) gene with schizophrenia and response to antipsychotic medication. *Psychopharmacology* 2006;188:171-182.
129. Zhang XY, Tan YL, Zhou DF et al. Association of clozapine- induced weight gain with a polymorphism in the leptin promoter region in patients with chronic schizophrenia in a Chinese population. *Journal Clinical Pharmacology* 2007;27(3):246-251.
130. Zhang XY, Zhou DF, Wu GY et al. BDNF Levels and Genotype are Associated with Antipsychotic- Induced Weight Gain in Patients with Chronic Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:2200-2205.
131. Zhang Y, Proenca R, Maffei M et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-432.

132. Zhang Z, Zhang X, Yao Z et al. Association of antipsychotic agent- induced weight gain with a polymorphism of the promoter region of the 5- HT2C receptor gene. Zhoghua Yi Xue Za Zhi 2002; 82(16):1097-1101.
133. Zhang ZJ, Yao ZJ, Mou XD et al. Association of -2548G/A functional polymorphism in the promoter region of leptin gene with antipsychotic agent- induced weight gain. Zhoghua Yi Xue Za Zhi 2003;83:2119-2123.
134. Zhang ZJ, Yao ZJ, Zhang XB et al. No association of antipsychotic agent- induced weight gain with a DA receptor gene polymorphism and therapeutic response. Acta Pharmacologica Sinica 2003;24(3):235-240.

8. Puplicationen

Clara Frydrychowicz, Werner Kitzrow, Susanne Büttner, Herbert Y. Meltzer, James L. Kennedy, Jeffrey A. Lieberman, Arun K. Tiwari, Daniel J. Müller, Imke Puls: *Early weight change after initiation of new neuroleptical treatment – Genetic association study with leptin and leptin receptor gene polymorphisms**

Daniel J. Müller, **Clara Frydrychowicz**, Anika Lisker, Clement Zai, Carolin Opgen-Rhein, Eva Brandl, Imke Puls, Olga Likhodi, Werner Kitzrow, James Kennedy: *Psychopharmako-Genetik auf dem Weg in die klinische Praxis*, DGPPN, Berlin, November 26-29, 2008

Daniel J. Müller, Clement Zai, Rudi Hwang, Renan deSouza, Arun K. Tiwari, Anika Lisker, **Clara Frydrychowicz**, Imke Puls, Jeffrey A. Lieberman, Herbert Y. Meltzer, James L. Kennedy: *Genetics of antipsychotic induced side effects: Into the clinic*, 34 Harvey Stancer research day, Toronto, April , 2008

Daniel J. Müller, Renan deSouza, Laertes Sickert, Marilyn Mager, Susanne Büttner, **Clara Frydrychowicz**, Marco Romano Silva, Jürgen Gallinat, Imke Puls, James L. Kennedy, Dieter Kunz, Andreas Hein: *Genetik der AP-induzierten Gewichtszunahme*, DGPPN, Berlin 2007

Daniel J. Müller, Clement Zai, Rudi Hwang, Renan deSouza, Arun K. Tiwari, Caroline Peter, Marilyn Mager, **Clara Frydrychowicz**, Jürgen Gallinat, Imke Puls, Dieter Kunz, Andreas Heinz, Pal Czobor, Jan Volavka, Jeffrey A. Lieberman, Herbert Y. Meltzer, James L. Kennedy: *Genetics of antipsychotic induced weight gain: The dopamine D2 and the AKT1 genes*, American Soc of Neuropsychopharmacol, 2007

Daniel J. Müller, Renan deSouza, Clement Zai, Susanne Büttner, **Clara Frydrychowicz**, Marilyn Mager, Caroline Peter, Laertes Sickert, Jürgen Gallinat, Imke Puls, Pal Czobor, Jan Volavka, Jeffrey Lieberman, Herbert Meltzer, Marco Romano Silva, James Kennedy: *Association studies with antipsychotic drug treatment induced weight changes in samples from the US and Germany*, Int. Society of Psych Genetics New York, NY 2007, Abstract book p.165

* Paper in Veröffentlichungsvorbereitung

9. Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Charité Universitätsmedizin Berlin durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Professor Dr. med. Imke Puls für die Übernahme des Themas und die Möglichkeit der Durchführung der Studie, sowie die vielfältige Hilfe zur Fertigstellung der vorliegenden Arbeit. Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. rer. nat. Werner Kitzrow für die Hilfe und Betreuung der experimentellen Versuche. Vor allem möchte ich mich für die exzellente Betreuung dieser Studie bei der gesamten Arbeitsgruppe bedanken.

Ich danke Prof. Dr. med. Andreas Heinz, dass ich diese Arbeit in der von ihm geleiteten Psychiatrischen Klinik der Charité Universitätsmedizin Berlin durchführen konnte, sowie insbesondere den Mitarbeitern der Stationen 152 und 155 für die Hilfe während der Erhebung der klinischen Daten und vor allem den Patienten, die ihr Einverständnis zu dieser Studie gegeben haben, ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

10. Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

Erklärung

„Ich, Clara Frydrychowicz, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Assoziationsstudie zwischen Leptin- und Leptinrezeptorgen Polymorphismen und Neuroleptika-induzierter Gewichtszunahme“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 30. September 2010

Clara Frydrychowicz