

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Die Bedeutung von Polymorphismen in den
Monoamintransportergenen für das Ansprechen auf die
Therapie mit Antidepressiva bei depressiven Patienten**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katharina Nickchen

aus Radebeul

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. I. Roots

2. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. M. Bauer

3. PD Dr. med. T. Bschor

Datum der Promotion: 21.11.2008

Inhaltsverzeichnis**Abkürzungsverzeichnis**

1.	Einleitung	1
1.1.	Therapieresistenz in der Behandlung der Depression mit Antidepressiva	1
1.2.	Die Rolle genetischer Faktoren für die Variabilität in der Arzneimittelwirkung	2
1.2.1	Das Serotonintransportergen (SERT)	4
1.2.2.	Das Dopamintransportergen (DAT1)	5
1.2.3	Das Noradrenalintransportergen (NET)	7
1.3.	Herleitung der Aufgabenstellung	9
2.	Material und Methoden	10
2.1.	Studiendesign	10
2.1.1.	Patienten.....	10
2.1.1.1.	Einschlusskriterien.....	11
2.1.1.2.	Ausschlusskriterien.....	12
2.1.2.	Medikamentenauswahl	12
2.1.3.	Studienablauf.....	13
2.1.4.	Kontrollkollektiv	13
2.2.	Genotypisierung	14
2.2.1.	DNA-Extraktion	14
2.2.2.	Polymerasekettenreaktion (PCR)	15
2.2.3.	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP-Analyse).....	16

2.2.4.	Bestimmung der Varianten in den Genen für den Dopamin- (DAT1) und den Serotonintransporter (SERT)	16
2.2.4.1.	Bestimmung des 40-bp VNTR im Dopamintransportergen (DAT1)	17
2.2.4.2.	Bestimmung der 44-bp <i>Insertions/Deletions</i> -Mutation und des 17-bp VNTR im Serotonintransportergen (SERT).....	19
2.2.5.	Bestimmung der Varianten im Noradrenalintransportergen (NET)	21
2.3.	Software und statistische Analysen.....	32
3.	Ergebnisse	34
3.1.	Häufigkeitsverteilung der untersuchten Varianten im DAT1-, SERT- und NET-Gen und Vergleich mit der Kontrollgruppe.....	34
3.1.1.	Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 40-bp VNTR im DAT1-Gen.....	35
3.1.2.	Genotyp- und Allelhäufigkeiten der 44-bp <i>Insertions/Deletions</i> -Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens.....	36
3.1.3.	Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens.....	37
3.1.4.	Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 1287G>A-Polymorphismus im Exon 9 des NET-Gens.....	38
3.1.5.	Genotyp- und Allelhäufigkeiten des -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion des NET-Gens.....	38
3.1.6.	Genotyp- und Allelhäufigkeiten der fünf Missense-Mutationen (<i>Val69Ile</i> , <i>Thr99Ile</i> , <i>Val245Ile</i> , <i>Val449Ile</i> , <i>Gly478Ser</i>) im NET-Gen.....	39
3.1.7.	Korrelation der Variablen Initiale Schwere der Depression, Zahl vorangegangener depressiver Episoden und Geschlecht mit den untersuchten Polymorphismen im DAT1-, SERT- und NET-Gen.....	40

3.2.	Die Therapieresponse	40
3.2.1.	Therapieresponse innerhalb der einzelnen Antidepressivaklassen	41
3.2.2.	Therapieresponse in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen	43
3.2.2.1.	Medikamentenspezifische Analyse der Response in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen	45
3.2.2.2.	Analyse des langfristigen Therapieerfolgs (<i>Long Term Outcome</i>) in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen.....	46
3.2.3.	Therapieresponse in Abhängigkeit von der 44-bp <i>Insertions/Deletions-</i> Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens	47
3.2.4.	Therapieresponse in Abhängigkeit vom 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens.....	49
3.2.5.	Therapieresponse in Abhängigkeit von den Polymorphismen <i>-182T>C</i> in der Promoterregion und <i>1287G>A</i> im Exon 9 des NET-Gens	51
4.	Diskussion	55
4.1.	Häufigkeitsverteilung der untersuchten Varianten im DAT1-, SERT- und NET-Gen und Vergleich mit der Kontrollgruppe	55
4.1.1.	Häufigkeitsverteilung der Genotypen des 40-bp VNTR im DAT1-Gen	55
4.1.2.	Häufigkeitsverteilung der Genotypen der 44-bp <i>Insertions/</i> <i>Deletions</i> -Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens.....	56
4.1.3.	Häufigkeitsverteilung der Genotypen des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens.....	58
4.1.4.	Häufigkeitsverteilung der Genotypen im NET-Gen	59

4.2. Die Therapieresponse	60
4.2.1. Therapieresponse in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen	61
4.2.2. Therapieresponse in Abhängigkeit von der 44-bp <i>Insertions/Deletions-</i> Mutation in der Promoter-Assoziierten Region und vom 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens	63
4.2.3. Therapieresponse in Abhängigkeit vom -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion und vom 1287G>A-Polymorphsimus im Exon 9 des NET-Gens	68
5. Zusammenfassung	71

Literaturverzeichnis

Danksagung

Eidesstattliche Erklärung

Lebenslauf

Veröffentlichungen

Abkürzungen

AD	Antidepressivum
bp	Basenpaare
BRMS	Bech Rafaelsen Melancholia Scale
DAT1/DAT	Dopamintransporter
Del	Deletion
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4. Auflage
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FSL	Flinders Sensitive Line (Ratten)
GAS	Global Assessment Scale
GD	Grunddaten
Gly	Glycin
HDRS	Hamilton Depression Rating Scale
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
ICD 10	Internationale Klassifikation der Krankheiten, 10. Revision
Ile	Isoleucin
Ins	Insertion
iv	intravenös
(l)	langes Allel
MADRS	Montgomery Asberg Depression Rating Scale
MHPG	3-Methoxy-4-Hydroxyphenylglykol
M.I.N.I.	The Mini-International Neuropsychiatric Interview
mRNA	messenger Ribonucleic Acid (Boten-Ribonukleinsäure)
mt	Mutation
NET	Norepinephrinetransporter (Noradrenalintransporter)
ö.B.	örtlicher Bereich
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerasekettenreaktion)
RFLP	Restriction Length Fragment Polymorphism (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus)
(s)	kurzes Allel
SD	Standardabweichung
Ser	Serin

SERT	Serotonintransporter
SPECT	Single-Photonen-Emissions-Computertomographie
SSRI	Selective Serotonin Reuptake Inhibitors
Tab.	Tabelle
TCA	Trizyklische Antidepressiva
Thr	Threonin
TPH1	Tryptophanhydroxylase 1
UTR	untranslated region (nichttranslatierte Region)
Val	Valin
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats
wt	Wildtyp
ZNS	Zentralnervensystem

1. Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Fragestellung, ob es molekulargenetische Messparameter gibt, die mit der Wirksamkeit von Antidepressiva einhergehen und damit in der Lage sein könnten, den Erfolg einer Behandlung mit Antidepressiva vor Therapiebeginn vorherzusagen. Genetische Varianten auf der Ebene der Pharmakokinetik wurden diesbezüglich bereits in zahlreichen Probandenstudien untersucht. In den letzten Jahren richtete sich das Augenmerk jedoch zunehmend auf den Bereich der Pharmakodynamik. In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, inwieweit Varianten in den Genen für den Dopamin-, Serotonin- und Noradrenalintransporter bei der individuellen Optimierung der antidepressiven Therapie eine Rolle spielen könnten.

1.1. Therapieresistenz in der Behandlung der Depression mit Antidepressiva

Das Krankheitsbild der Depression gehört zu den weltweit häufigsten Ursachen für Behinderung und Tod (Murray und Lopez, 1997). Mit einer Punktprävalenz von 4-11% der erwachsenen Bevölkerung (Wittchen, 2001) und einem Lebenszeitrisiko von 16-20% (Jacobi et al., 2004, Kessler et al., 2003) ist sie eine hoch prävalente Erkrankung, die typischerweise chronisch oder chronisch rezidivierend verläuft und mit einer erheblichen Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens einhergeht (Berger, 1999, Wolfersdorf et al., 1997, Murray und Lopez 1997).

Obwohl mittlerweile ein breites Spektrum an Antidepressiva unterschiedlicher Wirkmechanismen zur Verfügung steht, bleibt die Pharmakotherapie der Depression durch eine sehr hohe Zahl an Therapieversagern gekennzeichnet. Unabhängig von der Wahl des verabreichten Antidepressivums sprechen etwa 30 bis 50% der depressiven Patienten nur unzureichend auf den ersten Behandlungsversuch mit einem Standardmedikament an (Entsuah et al., 2001; Thase, 2003a; Thase, 2003b; Bauer et al., 2002, Nelson, 2003). In einer Metaanalyse von acht randomisierten kontrollierten Studien erreichten nur 35 bis 45% der Patienten mit Depression, die herkömmliche Dosen der am häufigsten verabreichten Antidepressiva erhielten, nach sechs bis acht Wochen einen Gesundheitszustand ohne signifikante depressive Symptome (Thase et al., 2001).

Im klinischen Alltag wird eine Therapieresistenz in der Regel bei Nichtansprechen auf zwei Behandlungsversuche mit Antidepressiva verschiedener Wirkklassen in jeweils adäquater Dosis und Dauer diagnostiziert (Thase und Rush, 1995). Die Response (therapeutisches Ansprechen) wird als eine >50%-ige Reduktion der Items in standardisierten Untersuchungstests wie *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS), *Montgomery Asberg Depression Rating Scale* (MADRS) oder *Bech Rafaelsen Melancholia Scale* (BRMS) definiert (Thase, 2003). Erst nach Verschwinden aller Symptome mit Rückkehr auf das ursprüngliche Funktionsniveau liegt eine vollständige Remission vor (Thase, 2003).

Therapieversagen führt einerseits zu einer massiven Beeinträchtigung des Wohlbefindens der betroffenen Patienten und stellt andererseits eine hohe finanzielle Belastung des Gesundheitssystems dar. So zeigte eine Untersuchung zur externen Qualitätssicherung der stationären Depressionsbehandlung, dass sich die Krankenhausaufenthaltsdauer bei Auftreten von Therapieversagen im Schnitt verdoppelte (Härter et al., 2004).

Bevor eine wahre Therapieresistenz angenommen werden darf, müssen weitere Faktoren, die für das Ausbleiben des Therapieerfolges verantwortlich sein können, ausgeschlossen werden. Hierzu gehören die Möglichkeiten der Fehldiagnose, der Komorbidität insbesondere mit anderen psychiatrischen, aber auch mit zahlreichen internistischen Erkrankungen, der Insuffizienz der Behandlung und nicht zuletzt der mangelnden Compliance (Hirschfeld et al., 2002, Souery et al., 1999).

Bisher ist es nicht möglich, bereits bei Verordnung eines Antidepressivums vorherzusehen, ob ein ausreichender Therapieerfolg erzielt werden kann. Auf der Suche nach möglichen Prädiktoren des zu erwartenden Therapieerfolges stellt die Identifikation genetischer Faktoren, die mit dem Auftreten von Therapieresistenz assoziiert sind, eine viel versprechende Strategie dar.

1.2. Die Rolle genetischer Faktoren für die Variabilität in der Arzneimittelwirkung

Die Fähigkeit, auf eine Therapie mit einem Antidepressivum ausreichend anzusprechen, ist von Patient zu Patient sehr unterschiedlich. Neben anderen Einflussfaktoren wie Alter, Organfunktion, Art der Begleitmedikation und möglichen Arzneimittelinteraktionen werden auch genetische Faktoren für einen großen Teil der

interindividuellen Variabilität der Arzneimittelwirkung verantwortlich gemacht (Evans und McLeod, 2003, Kirchheiner et al., 2004). Anhand genetischer Varianten, die eine Aussage darüber erlauben, inwieweit ein einzelner Patient in der Lage ist, auf ein bestimmtes Medikament zu reagieren, erhofft man sich, die Arzneitherapie z.B. bei der Wahl des Präparates oder der Höhe der Dosierung an die individuellen erblichen Eigenschaften des einzelnen Patienten anpassen zu können.

Genetische Variabilität beeinflusst die Wirkung von Arzneimitteln von der Absorption bis zur Elimination und betrifft damit sowohl den Bereich der Pharmakokinetik (Absorption, Distribution, Metabolismus, Elimination) als auch den Bereich der Pharmakodynamik (Medikamenteneffekte) (Evans und McLeod, 2003).

Die Bedeutung genetischer Polymorphismen auf Seiten der Pharmakokinetik wurde in vielen klinischen Studien gut charakterisiert (Bertilsson et al., 1997, Kirchheiner et al., 2001). So ist es für eine Reihe von Antidepressiva möglich, bei Vorliegen von Polymorphismen in Genen des Cytochrom-P450-Enzymsystems Dosierungsanpassungen zu berechnen, die Genotyp bedingte Unterschiede in der Enzymaktivität ausgleichen können (Kirchheiner et al., 2004). Inwieweit jedoch Genotyp abhängige Dosierungsempfehlungen den Therapieerfolg beeinflussen, müssen zukünftige Untersuchungen zeigen (Kirchheiner et al., 2004).

Im Bereich der Pharmakodynamik wurden bisher besonders genetische Varianten im serotonergen System untersucht: Polymorphismen in den Genen für den Serotonintransporter (SERT), die Serotoninrezeptoren 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} und 5-HT₆ und die Tryptophanhydroxylase TPH1 wurden mit dem Therapieansprechen auf SSRI in Zusammenhang gebracht (Übersicht siehe Kirchheiner et al., 2004 und Serretti et al., 2005). Zunehmend wird aber auch Polymorphismen in Genen des noradrenergen und dopaminergen Systems, des Katecholamin- und Neuropeptidmetabolismus, der intrazellulären Signalübertragung oder in Genen, die an der Regulation der HPA-Achse beteiligt sind, ein Einfluss auf die Arzneimittelwirkung von Antidepressiva beigemessen (Übersicht siehe Kirchheiner et al., 2004 und Serretti et al., 2005, Licinio et al., 2004, Binder et al., 2004).

Die Hypothese, dass eine generelle Dysfunktion der zentralen monoaminergen Neurotransmission an der Pathophysiologie der Depression beteiligt ist (Gold et al., 1988, Bonhomme und Esposito 1998, Laine et al., 1999) und die Tatsache, dass im Rahmen der Depression veränderte Monoaminkonzentrationen durch Antidepressiva beeinflusst werden (Frazer 1997), lässt neben dem Serotonintransportergen auch die

Gene für den Dopamin- und Noradrenalintransporter als Kandidatengene, die die individuelle Therapieresponse beeinflussen könnten, erscheinen.

1.2.1. Das Serotonintransportergen (SERT)

Affektive Erkrankungen gehen mit erheblichen Veränderungen im zentralen Serotoninstoffwechsel einher (Übersicht in Charney, 1998 und Owens und Nemeroff, 1998) und Antidepressiva führen ihrerseits zu Veränderungen der serotonergen Neurotransmission (Bonhomme und Esposito, 1998).

Der Serotonintransporter stellt nicht nur das primäre Zielprotein im Wirkmechanismus von SSRI dar, auch andere Antidepressiva wie TCA, Venlafaxin und Nefazodon binden an den Serotonintransporter und hemmen die Wiederaufnahme von Serotonin aus dem synaptischen Spalt (White et al., 2005, Reyes-Haro et al., 2003, Owens et al., 1995).

Das Gen für den humanen Serotonintransporter, *SLC6A4*, befindet sich auf dem Chromosom 17q11.2 (Ramamoorthy et al., 1993). Es erstreckt sich über 37,8 kb und umfasst 14 Exons (Ramamoorthy et al., 1993, Lesch et al., 1994). Ein funktioneller Polymorphismus in der 5'-Promoter-Assoziierten Region dieses Gens besteht aus einer 44-bp *Insertions-/Deletions*-Mutation (44-bp *Ins/Del*), die zu einem langen (l) und einem kurzen (s) Allel führt, wobei die kurze Variante mit einer zweifach erniedrigten Genexpression und Transportaktivität in vitro verbunden ist (Lesch et al., 1996, Heils et al., 1996).

Untersuchungen zu einer möglichen Assoziation der 44-bp *Ins/Del*-Mutation mit dem Risiko für affektive Erkrankungen führten bisher nicht zu einheitlichen Ergebnissen (Collier et al., 1996b, Furlong et al., 1998, Mynett-Johnson et al., 2000, Vincent et al., 1999, Frisch et al., 1999, Minov et al., 2001).

Zahlreiche Studien kommen hingegen zu dem konsistenten Ergebnis, dass Patienten mit Depression, die Träger von einem oder zwei langen Allelen (l) der 44-bp *Ins/Del*-Mutation sind, durchschnittlich besser auf eine medikamentöse Behandlung mit SSRI ansprechen (Rausch et al., 2002, Yu et al., 2002, Smeraldi et al., 1998, Zanardi et al., 2001, Pollock et al., 2000, Zanardi et al., 2000, Lee et al., 2004, Serretti et al., 2004, Murphy et al., 2004a). Studien an asiatischen Patienten dagegen zeigten eine bessere Response bei Trägern des kurzen Allels (s/s) (Kim et al., 2000, Kim et al., 2006, Yoshida et al., 2002). Als Ursache für diese Diskrepanz wurden hauptsächlich

ethnische Unterschiede in den genetischen Varianten, die zu Unterschieden im Haplotypmuster führen, angenommen (Yoshida et al., 2002).

Einige weitere Studien deuten darauf hin, dass auch die Wirksamkeit von anderen Antidepressiva als SSRI durch den 44-bp *Ins/Del*- Polymorphismus beeinflusst werden könnte. So zeigten in einer Assoziationsstudie von Young et al. depressive geriatrische Patienten mit (II)-Genotyp eine bessere Therapieresponse auf Nortriptylin (Young et al., 1999). In einer neuroendokrinen Studie wiesen gesunde Probanden mit zwei (I)-Allelen einen größeren Anstieg der Prolaktinkonzentration im Blut nach iv-Gabe des Trizyklikums Clomipramin auf, was für eine erhöhte serotonerge Neurotransmission und ein besseres Ansprechen auf Clomipramin sprechen könnte (Whale et al., 2000). Rausch et al. hingegen konnten zeigen, dass eine erhöhte initiale Kinetik des Serotonintransports in Blutplättchen depressiver Patienten mit einem besseren Ansprechen auf Nortriptylin korreliert ist (Rausch et al., 2003).

Ein weiterer Polymorphismus befindet sich im Intron 2 des SERT-Gens. Es handelt sich hierbei um einen VNTR, der drei Allele mit je 9, 10 oder 12 Kopien einer 17-bp langen repetitiven Sequenz aufweist (Lesch et al., 1994, Ogilvie et al., 1996). Dieser 17-bp VNTR scheint als stark positives Element in der Regulation der Transkription des SERT-Gens in der rostralen Hirnrinde von Mäuseembryonen zu wirken (MacKenzie und Quinn, 1999). Drei Studien haben bisher den prädiktiven Wert dieses VNTR für den Erfolg einer Antidepressiva-Therapie untersucht: eine in zwei Studien beschriebene Assoziation des langen 12-Allels mit besserem Ansprechen auf SSRI (Kim et al., 2000, Kim et al., 2006) konnte jedoch in einer weiteren Studie nicht bestätigt werden (Ito et al., 2002).

1.2.2. Das Dopamintransportergen (DAT1)

Der Botenstoff Dopamin scheint eine wichtige Rolle für die Pathophysiologie der Depression (Willner, 1995, Kapur und Mann, 1992) und den Wirkmechanismus von Antidepressiva (D'Aquila et al., 2000, Willner, 1997, Brunswick et al., 2003) zu spielen. Es konnte gezeigt werden, dass eine Beeinträchtigung des Dopaminstoffwechsels in kortikolimbischen Arealen zur Entwicklung von Anhedonie und Antriebslosigkeit, zentralen Symptomen des depressiven Syndroms, beiträgt

(Willner, 1995). Im Einklang hiermit fanden sich im mesolimbischen System von Flinders Sensitive Line Ratten (FSL), einem Tiermodell für depressives Verhalten, veränderte Dopaminkonzentrationen (Yadid et al., 2001). Sowohl im Liquor depressiver Patienten als auch in den Basalganglien depressiver Suizidopfer wurden wiederholt erniedrigte Konzentrationen von Dopamin und Dopaminmetaboliten gemessen (Roy et al., 1985, Willner, 1995, Bowden et al., 1997). Brunswick et al. konnten in SPECT-Untersuchungen nachweisen, dass die Dopamintransporter-Affinität in den Basalganglien depressiver Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöht ist, was für eine Erhöhung der Aktivität der Dopamin-Wiederaufnahmemechanismen im Rahmen der Depression als mögliche Ursache für die niedrige extrazelluläre Konzentration von Dopamin bei Depressiven spricht (Brunswick et al., 2003). Zahlreiche Studien belegen ferner eine abnorme Verteilung und Dichte des Dopamintransporters im ZNS depressiver Patienten bzw. entsprechender Tiermodelle (Jiao et al., 2003, Sheggi et al., 2002, Klimek et al., 2002, Meyer et al., 2001, Neumeister et al., 2001, Laasonen-Balk et al., 1999).

Versuche mit Labortieren weisen darauf hin, dass Antidepressiva verschiedener Wirkstoffklassen sowohl die extrazelluläre Dopaminkonzentration (Smith et al., 2000, Ichikawa und Meltzer, 1995) und die Dopamintransporterbindungsaffinität im Striatum (Scheffel et al., 1994, Fujita et al., 1997) als auch die Expression von DAT1 in der Substantia nigra (Petrie et al., 1998) beeinflussen. Auch in menschlichen Probanden wurde die striatale Dopamintransporteraktivität unter Medikation mit SSRI moduliert (Kugaya et al., 2003).

Das Gen *SLC6A3*, das für den hoch affinen humanen Dopamintransporter (DAT1) kodiert, befindet sich auf dem Chromosom 5p15.3 (Giros et al., 1992, Vandenberg et al., 1992) Es umfasst 15 Exons, die sich über 64 kb erstrecken (Donovan et al., 1995, Kawarai et al., 1997). In der 3'-nichttranslatierten Region (3'UTR) des DAT1-Gens befindet sich ein 40-bp *Variable Number of Tandem Repeats*-Polymorphismus (40-bp VNTR), der 3 bis 13 Kopien einer 40-bp Repeat-Sequenz aufweist (Vandenberg et al., 1992, Sano et al., 1993, Kang et al., 1999). Einzelne Allelvarianten dieses Polymorphismus konnten bereits mit verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden (Gelernter et al., 1994, Cook et al., 1995, Schmidt et al., 1998). Einige Studien deuten auf eine Verbindung mit der bipolaren Störung hin (Greenwood et al., 2001, Waldman et al., 1997).

Die Region 3'UTR des DAT1-Gens spielt eine erwiesene Rolle in der Regulation der Transkriptionseffizienz (Mignone et al., 2002). Entsprechend konnte gezeigt werden, dass Träger des 10-Repeat-Allels im Vergleich mit Trägern des 9-Repeat-Allels eine gesteigerte Expression von DAT1 aufweisen (Mill et al., 2002). Demgegenüber erbrachten Reporterassays keine einheitlichen Resultate: Befunde einer erhöhten Luciferaseexpression in Zellen, die mit dem 10-Repeat-Allel transfiziert worden waren (Fuke et al., 2001, Miller und Madras, 2002), konnten in späteren Untersuchungen nicht repliziert werden (Mill et al., 2005, Greenwood und Kelsoe, 2003). Eine Erklärung für diese Unterschiede könnte in einem Linkage Disequilibrium des VNTR mit anderen, für die Transkription relevanten, Polymorphismen liegen (Mill et al., 2005, Fuke et al., 2005).

Inwieweit der 40-bp VNTR in der 3'-UTR des DAT1-Gens den Erfolg einer Therapie mit Antidepressiva bei depressiven Patienten beeinflusst, wurde bisher noch nicht untersucht.

1.2.3. Das Noradrenalintransportergen (NET)

Das Krankheitsbild der Depression führt auch im noradrenergen System zu vielfältigen Veränderungen (Lake et al., 1982, Roy et al., 1988, Veith et al., 1994, Lambert et al., 2000). Unter anderem lassen die Ergebnisse einer Autoradiographiestudie von Klimek et al. darauf schließen, dass die Expression des Noradrenalintransporters in Teilen des ZNS depressiver Patienten als Ausgleich für das Noradrenalindefizit in den zentralen Synapsen im Rahmen der Depression erniedrigt ist (Klimek et al., 1997).

Der Noradrenalintransporter (NET) ist ein wichtiges Zielprotein zahlreicher Antidepressiva (Owens et al., 1997, Richelson 2003). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass antidepressiv wirksame Medikamente wie Desipramin, Milnazipran, Reboxetin, aber auch Paroxetin in unterschiedlichem Ausmaß die Konzentration der NET-mRNA bzw. die Dichte und Wiederaufnahmefunktion des Noradrenalintransporters in vitro und in vivo beeinflussen (Zhu et al., 2002, Zhu und Ordway, 1997, Zavosh et al., 1999, Gould et al., 2003, Hébert et al., 2001, Shinkai et al., 2005, Owens et al., 2000, Benmansour et al., 2004).

Das Gen *SLC6A6*, das für den humanen Noradrenalintransporter (NET) kodiert, befindet sich auf dem Chromosom 16q12.2 und umfasst 14 Exons, die sich über 45

kb erstrecken (Pörzgen et al., 1995, Pacholczyk et al., 1991). Stöber et al. entdeckten in diesem Gen u.a. 5 Missense-Mutationen (*Val69Ile* im Exon 1, *Thr99Ile* im Exon 2, *Val245Ile* im Exon 4, *Val449Ile* im Exon 9, *Gly478Ser* im Exon 10) und die hoch polymorphe Mutation *1287G>A* im Exon 9 (Stöber et al., 1996b). Über die funktionelle Bedeutung dieses Polymorphismus im Exon 9 ist bisher wenig bekannt. Allerdings konnte bei Trägern des *G/G*-Genotyps eine gegenüber Trägern der *G/A*- bzw. *A/A*-Genotypen erhöhte Liquorkonzentration von 3-Methoxy-4-Hydroxyphenylglykol (MHPG), einem Hauptmetaboliten von Noradrenalin, nachgewiesen werden (Jönsson et al., 1998). Ein weiterer Polymorphismus (*-182T>C*) wurde in einem für die Regulation der Transkription bedeutsamen Intron der 5'-Promoterregion des NET-Gens identifiziert (Zill et al., 2002, Kim et al., 1999). Einige Studien haben sich mit einer möglichen Assoziation von Polymorphismen im NET-Gen mit affektiven Erkrankungen auseinandergesetzt (Stöber et al., 1996, Owen et al., 1999, Leszczynska-Rodziewicz et al., 2002, Ryu et al., 2004, Inoue et al., 2004, Zill et al., 2002). Studien zum *-182T>C* Polymorphismus führten zu widersprüchlichen Ergebnissen: während in einer koreanischen Population der Genotyp *T/T* im Vergleich zu allen anderen auftretenden Genotypen mit einem niedrigeren Risiko für das Vorhandensein einer Depression assoziiert war (Ryu et al., 2004), traf dies in einer japanischen Population für den Genotyp *C/C* zu (Inoue et al., 2004). Zill et al. hingegen fanden in einer Gruppe von deutschen Patienten keine Anhaltspunkte für eine Verbindung des *-182T>C* Polymorphismus mit dem Risiko für Depression (Zill et al., 2002).

Yoshida et al. konnten in einer Gruppe japanischer Patienten mit Depression zeigen, dass Patienten, die über mindestens ein *T*-Allel des *-182T>C* Polymorphismus verfügten, eher besser auf eine Therapie mit dem Antidepressivum Milnazipran, einem dualen Serotonin-/Noradrenalinwiederaufnahmehemmer, ansprachen, während Träger zweier *A*-Allele des *1287G>A* Polymorphismus im Exon 9 häufiger von einem verzögerten Ansprechen auf Milnazipran betroffen waren (Yoshida et al., 2004). In einer weiteren Studie von Kim et al. war der *G/G*-Genotyp des *1287G>A* Polymorphismus mit einem besseren Ansprechen auf das Trizyklikum Nortriptylin assoziiert (Kim et al., 2006). Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass das Ansprechen auf Antidepressiva, die am Noradrenalintransporter binden und dessen Transportfunktion hemmen, ähnlich der vielfach beschriebenen Assoziation der 44-

bp *Ins/Del*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens mit der Response auf SSRI, durch Polymorphismen im NET-Gen beeinflusst werden könnte.

1.3. Herleitung der Aufgabenstellung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Bedeutung von Polymorphismen in den Genen für den Dopamin-, Serotonin- und Noradrenalintransporter für die Arzneimittelwirkung von Antidepressiva. Es sollte untersucht werden, ob ausgewählte Polymorphismen in den Genen für die drei Monoamintransporter (SERT, DAT1, NET), die Zielproteine im Wirkmechanismus von Antidepressiva darstellen bzw. als Regulatoren der im Rahmen der Depression gestörten monoaminergen Neurotransmission fungieren, unter herkömmlichen klinischen Bedingungen einen Einfluss auf den Erfolg der antidepressiven Therapie und den Verlauf der depressiven Erkrankung haben.

Polymorphismen in den drei möglicherweise an der Antidepressivaresponse beteiligten Transportergenen sollten genotypisiert und

1. die Häufigkeitsverteilung der entsprechenden Allele in der an Depression erkrankten Studienpopulation im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe,
2. ein möglicher Zusammenhang zwischen der Schwere der Depression und dem Genotyp und
3. das therapeutische Ansprechen (Kurz – und Langzeitverlauf) der Erkrankung auf die Antidepressivabehandlung in Abhängigkeit vom Genotyp untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

In der vorliegenden Studie, die in Form einer prospektiven geblindeten Anwendungsbeobachtung durchgeführt wurde, sollte die Wirksamkeit von Antidepressiva in Abhängigkeit von ausgewählten genetischen Polymorphismen untersucht werden. Da es sich um eine naturalistische Studienform handelt, wurden keinerlei Eingriffe in die Pharmakotherapie des behandelnden Arztes vorgenommen, sondern ausschließlich die Medikamenteneinnahme verschiedenster Antidepressiva dokumentiert. Auf diese Weise sollte die medikamentöse Behandlung der Depression in der psychiatrischen Alltagspraxis möglichst wirklichkeitsnah und unverfremdet abgebildet werden.

Im Sinne einer Intent-to-treat Analyse wurde angestrebt, möglichst alle zur Teilnahme bereiten Patienten, die wegen einer depressiven Erkrankung in eines der an der Studie beteiligten Krankenhäuser aufgenommen wurden, in die Studie aufzunehmen. Es wurden keine konkreten Studienbedingungen, wie z.B. ein Steady State des Medikamentenspiegels, gefordert. Jeder Patient konnte zu jedem Zeitpunkt der Studie ohne Angabe von Gründen die Teilnahme abbrechen.

Eine Blindung erfolgte insofern, dass Arzt und Patient für die Dauer der Studie nicht über den genetischen Status des Patienten informiert wurden.

Die vorliegende Studie ist Teil eines übergeordneten Forschungsvorhabens zur Optimierung der Arzneimitteltherapie mit Antidepressiva durch molekulargenetische Bestimmung individueller genetischer Unterschiede. Sie wurde nach den Richtlinien der *Good Clinical Practice*, sowie nach den *ICH- (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use) Guidelines* durchgeführt und durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Charité der Humboldt-Universität Berlin genehmigt.

Es lagen positive Ethikvoten für die pharmakogenetischen Untersuchungen an Patienten mit Depression sowie für die pharmakogenetische Charakterisierung der gesunden Personen (Vergleichsgruppe) vor.

2.1.1. Patienten

Insgesamt 264 primär depressive Patienten aus drei psychiatrischen Kliniken in Berlin (Universitätsklinikum Charité, Abteilung für Psychiatrie; Krankenhaus

Hellersdorf, Erste und Zweite Psychiatrische Abteilung, ö.B. Wilhelm-Griesinger-Krankenhaus; Krankenhaus am Urban, Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie) wurden in die Studie eingeschlossen. Alle Patienten hatten schriftlich ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie zur Bedeutung pharmakogenetischer Varianten für die Wirksamkeit von Antidepressiva gegeben.

2.1.1.1. Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden ausschließlich Patienten kaukasischen Ursprungs, die wegen einer primär depressiven Erkrankung stationär oder in der Tagesklinik mit antidepressiv wirksamen Medikamenten behandelt wurden. Die Diagnosestellung erfolgte nach den Richtlinien der ICD 10 bzw. der DSM-IV durch den behandelnden Stationsarzt oder den Oberarzt und wurde durch den Studienarzt anhand der *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) (mindestens 7 Punkte) und des M.I.N.I., einer Kurzversion des strukturierten klinischen Interviews für DSM-IV und ICD-10 zur psychiatrischen Diagnosestellung (Sheehan et al., 1998) bestätigt. Eine Übersicht über die Einschlussdiagnosen bietet Tab. 2.1. Alle Patienten mussten sich nach Aufklärung durch den jeweiligen Studienarzt schriftlich zur Teilnahme an der Studie bereit erklären.

Tab. 2.1. Einschlussdiagnosen

Diagnose	ICD 10	DSM-IV
Major Depression	Leichte depressive Episode (F32.0) Mittelgradige depressive Episode (F32.1) Schwere depressive Episode ohne psychotische Symptome (F32.2) Schwere depressive Episode mit psychotischen Symptomen (F32.3) Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig leichte Episode (F33.0) Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig mittelgradige Episode (F33.1) Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig schwere Episode ohne psychotische Symptome (F33.2) Rezidivierende depressive Störung, gegenwärtig schwere Episode mit psychotischen Symptomen (F33.3)	Major Depression, einzelne Episode (296.2) Major Depression, rezidivierend (296.3)
Bipolare Störung (I,II)	gegenwärtig mittelgradige oder leichte depressive Episode (F31.3) gegenwärtig schweredepressive Episode ohne psychotische Symptome (F31.4) gegenwärtig schwere depressive Episode mit psychotischen Symptomen (F31.5)	Bipolar I Störung, letzte Episode depressiv (296.5) Bipolar II Störung (296.89)

Nicht näher bezeichnete depressive Störung	Nicht näher bezeichnete depressive Episode (F32.9) Sonstige rezidivierende depressive Störung (F33.8) Nicht näher bezeichnete depressive Störung (F33.9) Sonstige bipolare affektive Störung (F31.8) Nicht näher bezeichnete bipolare affektive Störung (F31.9) Sonstige affektive Störung (F38) Nicht näher bezeichnete affektive Störung (F39)	Nicht näher bezeichnete depressive Störung (311) Nicht näher bezeichnete bipolare Störung (296.80)
Anpassungsstörung mit depressiver Stimmung	Anpassungsstörung, verlängerte depressive Reaktion (F43.21)	Anpassungsstörung mit depressiver Stimmung (F309.0)

2.1.1.2. Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden Patienten, die jünger als 18 Jahre alt waren, nicht kaukasischen Ursprungs waren, an primär nicht affektiven Erkrankungen litten (z.B. postpsychotische depressive Phasen, organisch depressive Störungen, depressive Störung bei Demenz, psychische Verhaltensstörungen durch psychotrope Substanzen, schizoaffektive Störungen, Persönlichkeitsstörungen, primäre Alkoholabhängigkeit), bei Einweisung in die Klinik einen Punktwert unter 8 auf der HDRS aufwiesen und Patienten, die mit nichtmedikamentösen Therapieverfahren oder mit nicht als Antidepressiva zu bezeichnenden Medikamenten behandelt wurden.

Patienten, deren Diagnose im Verlauf der Behandlung wechselte oder deren Verbleib in der Studie aufgrund anderer gravierender Umstände verhindert war, wurden nachträglich aus der Studie ausgeschlossen.

2.1.2. Medikamentenauswahl

Alle krankenhausblichen antidepressiv wirksamen Substanzen konnten nach den herkömmlichen Dosierungsvorschriften für die Behandlung der Depression eingesetzt werden. Zusatzmedikationen waren erlaubt und wurden dokumentiert. Die Compliance der Patienten wurde indirekt durch Blutspiegelbestimmungen der Substanzen kontrolliert.

2.1.3. Studienablauf

Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden für mindestens 3 Wochen nach stationärer Aufnahme bzw. nach Beginn der antidepressiven Medikation beobachtet. Die Blutentnahme für die Genotypisierung (2x8 ml EDTA-Blut) erfolgte am 1. bis 3. Tag. Am 20. bis 22. Tag wurde Blut für die Medikamentenspiegelbestimmung (je 8 ml pro Substanz) entnommen. Am Tag 1 oder 2 nach Aufnahme in die Studie wurde der Schweregrad der Depression anhand der *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) bestimmt. Für die Beurteilung der Response wurden die ermittelten Summenpunktwerte auf der HDRS am Tag 20 bis 22 bzw. zwei Monate nach Entlassung des Patienten mit den Werten zu Therapiebeginn (Tag 1 bis 3) verglichen. Als Parameter für die Therapieresponse wurde entsprechend den *World Federation of Societies of Biological Psychiatry* (WFSBP) *Guidelines for Biological Treatment of Unipolar Depressive Disorders* ein Abfall des Summenpunktwertes auf der HDRS um mehr als 50% definiert (Bauer et al., 2002). Einen Überblick über den weiteren stationären Ablauf der Studie bietet Tab. 2.2.

Tab. 2.2. Zeitschema zur Durchführung des stationären Teils der Studie

Tag nach Aufnahme/ Medikationsbeginn	Untersuchungen
Tag 1(-3)	M.I.N.I., HDRS, EKG
Tag 2(-4)	BE (G,P), GD, MS, M
Tag 20-22	BE (P), UAW1, UAW2, HDRS, MS, EKG
Katamnese	KB, HDRS

M.I.N.I.: Kurzversion des strukturierten klinischen Interviews für DSM-IV und ICD-10 zur psychiatrischen Diagnosestellung (Sheehan et al., 1998); HDRS: Hamilton Depression Rating Scale; GAS: Global Assessment Scale; CGI: Clinical Global Impressions;

BE: Blutentnahme; G: 2x8ml EDTA-Blut zur Genotypisierung; P: Plasmaspiegel, je Antidepressivum 10ml Serum; GD: Grunddatenbogen; MS: Messungen-Blatt; UAW1: Selbstbeurteilungsbögen, 1xwöchentlich auszufüllen; UAW2: Fremdbeurteilungsbogen; M: Medikationsdokumentation; KB: Katamnesebogen

2.1.4. Kontrollkollektiv

Insgesamt 190 gesunde Probanden kaukasischen Ursprungs, die ihr schriftliches Einverständnis zur pharmakogenetischen Untersuchung von Varianten der Arzneimittelwirkung gegeben hatten und ansonsten als gesunde Freiwillige an

klinischen Studien des Institutes für Klinische Pharmakologie teilnahmen, darunter 67 Männer und 123 Frauen, bildeten die Kontrollgruppe. Alle Kontrollprobanden waren frei von psychiatrischen Erkrankungen und nahmen keine psychotropen Medikamente ein. Das mediane Alter lag bei 42 Jahren (Range 33-66).

2.2. Genotypisierung

Die Genotypisierung erfolgte mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) und der RFLP-Analyse. Die hierzu notwendige genomische DNA wurde aus Vollblut gewonnen.

Die gesamte Genotypisierung wurde blind gegenüber den klinischen Daten ausgeführt.

2.2.1. DNA- Extraktion

Die Gewinnung genomischer DNA aus Vollblut erfolgte mit Hilfe des MagNa Pure der Firma Roche. Es handelt sich hierbei um ein vollautomatisches System für die Festphasenextraktion von Nukleinsäuren. Dieses Extraktionsverfahren nutzt die Eigenschaft von Nukleinsäuren, sich bei hohen Salzkonzentrationen bzw. Ionenstärken an Glas zu binden. Hierfür werden magnetische Silicapartikel, die aus einem Eisenkern mit Magnetitüberzug und einer äußeren Glasschuppenschicht bestehen, eingesetzt.

Zunächst werden die Zellen im Vollblut durch einen Lyse-Puffer aufgelöst und die zellulären Proteine durch Proteinase K verdaut. Der Lyse-Puffer enthält chaotropische Salze in hoher Konzentration und hat damit eine hohe ionische Stärke. In diesem Milieu bindet die freigesetzte DNA an die äußere Glasschuppenschicht der magnetischen Silicapartikel, die der Lösung hinzugefügt werden. Die magnetischen Partikel mitsamt der gebundenen DNA werden während der folgenden Pipettierschritte durch Magneten in den Spitzen zurückgehalten. Auf diese Weise werden die Partikel durch mehrere Waschlösungen transportiert, in denen bestehende Verunreinigungen entfernt werden. Im letzten Waschschrift wird die chaotropische Salzkonzentration herabgesetzt. Bei zusätzlich erhöhter Temperatur löst sich die DNA von den Glaspartikeln und wird in Elutions-Puffer gelöst. Die Glaspartikel werden nun durch Magneten entfernt und es verbleibt eine Lösung von gereinigter DNA.

2.2.2. Polymerasekettenreaktion (PCR)

Die PCR ist eine in vitro-Methode zur Vervielfältigung von kurzen, genau definierten DNA-Fragmenten unter Verwendung einer hitzestabilen DNA-Polymerase.

Die DNA-Polymerase ist unter geeigneten Bedingungen in der Lage, DNA-Einzelstränge zu kopieren. Voraussetzung hierfür ist das Vorhandensein von DNA-Startermolekülen, den Primern. Dabei handelt es sich um zwei synthetische Oligonukleotide, die jeweils dem 3'-terminalen Ende der zu vervielfältigenden Sequenz auf einem der beiden DNA-Einzelstränge komplementär sind. Der Vorwärtsprimer wird dabei vom 5'-Ende zum 3'-Ende des ersten Stranges abgeleitet, der Rückwärtsprimer vom 5'-Ende zum 3'-Ende des Gegenstranges. Nachdem die Primer an den 3'-Enden der entsprechenden Sequenz auf den DNA-Einzelsträngen gebunden haben, werden sie von der DNA-Polymerase in 5'-3' Richtung entlang der einsträngigen DNA-Matritze verlängert. Es entsteht ein neuer DNA-Strang, der zum ursprünglichen Strang komplementär ist. Dieser Vorgang wird bei der PCR mehrfach wiederholt.

Zur Durchführung der Reaktion wird zunächst die DNA, welche die zu amplifizierende Sequenz enthält, mit der DNA-Polymerase, Desoxyribonukleosidtriphosphaten (dATP, dCTP, dGTP und dTTP) und den beiden Primern in einem geeigneten Reaktionspuffer inkubiert. Die PCR läuft in einem Thermocycler temperaturgesteuert in mehreren Reaktionszyklen ab. Jeder Zyklus besteht aus drei Schritten. Im ersten Schritt, der Denaturierung, werden die beiden Stränge der DNA-Doppelhelix durch kurzzeitiges Erhitzen auf 94-95°C getrennt. Danach wird die Temperatur gesenkt und bei Erreichen der Anlagerungstemperatur (ca. 5°C unter der Schmelztemperatur der Primer) lagern sich die Primer im zweiten Schritt, dem Annealing, an die entsprechenden Sequenzen auf den DNA-Einzelsträngen an. Für den dritten Schritt, die Extension, wird das Temperaturoptimum der DNA-Polymerase hergestellt und es erfolgt die Verlängerung der Primer entlang der DNA-Matritze. Am Ende dieses Schrittes liegen neu synthetisierte DNA-Doppelstränge vor. In den folgenden Zyklen werden auch die neu entstandenen DNA-Stränge als Vorlage genutzt. Sie werden von den Oligonukleotidsequenzen der Primer flankiert, so dass ihre Länge festgelegt ist. Im Lauf der Reaktion wächst die Menge an gebildeter DNA exponentiell an. Nach n Runden ist die betreffende Sequenz im Idealfall 2^n -fach amplifiziert.

2.2.3. Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP-Analyse)

Restriktionsenzyme, die auch als Restriktionsendonukleasen bezeichnet werden, sind in der Lage, spezifische DNA-Sequenzen auf der Doppelhelix zu erkennen und beide Stränge an spezifischen Stellen (Schnittstellen) zu schneiden. Bei der RFLP-Analyse werden PCR-amplifizierte DNA-Abschnitte mit einem geeigneten Restriktionsenzym verdaut und dabei in spezifische Fragmente gespalten. Entsprechend ihrer Länge können diese Fragmente anschließend in der Gelelektrophorese aufgetrennt werden. Nach Färbung der DNA wird dann ein für diesen DNA-Abschnitt charakteristisches Bandenmuster sichtbar.

Fällt aufgrund einer Mutation in der Erkennungsregion für das Restriktionsenzym eine Schnittstelle weg oder wird durch eine Mutation eine zusätzliche Schnittstelle geschaffen, ändert sich die Länge der entstehenden DNA-Fragmente. Hierbei spricht man von einem Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP). Das in der Gelelektrophorese entstehende Bandenmuster ist entsprechend verändert und kennzeichnet die Mutation.

2.2.4. Bestimmung der Varianten in den Genen für den Dopamin- (DAT1) und den Serotonintransporter (SERT)

Sowohl der 40-bp VNTR in der 3'UTR des Dopamintransportergens (DAT1) als auch die beiden Polymorphismen im Serotonintransportergen (SERT) (44-bp *Insertions-/Deletions*-Mutation (*Ins-/Del*-Mutation) in der Promoter-Assoziierten Region, 17-bp VNTR im Intron 2) wurden mittels PCR und nachfolgender Gelelektrophorese bestimmt. In Abhängigkeit vom Vorhandensein der Insertion oder Deletion der 44-bp *Ins-/Del*-Mutation bzw. abhängig von der Anzahl der vorhandenen Repeats in den VNTR variierte die Länge der in der PCR entstehenden PCR-Produkte und damit deren Laufgeschwindigkeit in der Gelelektrophorese. Entsprechend wurden die PCR-Produkte gemäß ihrer Länge in der Gelelektrophorese aufgetrennt, die entstandenen Banden angefärbt und mit Hilfe des Eagleeye™ (Fa. Stratagene), einem digitalen Videosystem, dokumentiert. Das resultierende Bandenmuster kennzeichnete den Genotyp (siehe Abb. 2.1.-2.6.).

2.2.4.1. Bestimmung des 40-bp VNTR im Dopamintransportergen (DAT1)

Für die Untersuchung des 40-bp VNTR im DAT1-Gen wurde eine PCR nach Persico et al. und Sano et al. mit Einsatz von zwei DNA-Polymerasen (*Taq*- und *Pwo*-Polymerase) verwendet (Persico et al., 1995, Sano et al., 1993). Ansatz und Reaktionsbedingungen sind in Tab. 2.5. dargestellt. Eine Auflistung der verwendeten Primer befindet sich in Tab. 2.3.

Eine Übersicht über die detektierten Allele bietet Abb. 2.2 und Tab. 2.4.

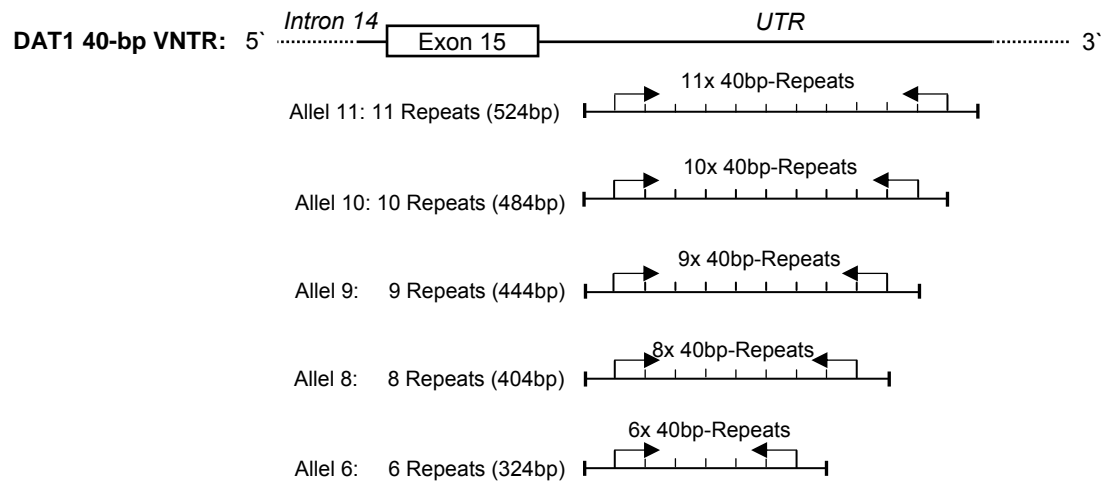
Tab. 2.3. Übersicht über die Primer zur Genotypisierung im SERT- und DAT1-Gen

Gen	Poly-morphismus	Primer	Primersequenz	Annealing-Temperatur
SERT	44-bp <i>Ins/Del</i>	44bp-1 44bp-2	5'-GGC GTT GCC GCT CTG AAT GC-3' 5'-GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACAC-3'	62°C
SERT	17-bp VNTR	17bp-3 17bp-4	5'-GGT CAG TAT CAC AGG CTG CGA GTA G-3' 5'-TGT TCC TAG TCT TAC GCC AGT GAA G-3'	62°C
DAT1	40-bp VNTR	DAT 1-F DAT 1-R	5'-TGT GGT GTA GGG AAC GGC CTG AGA-3' 5'-CTT CCT GGA GGT CAC GGC TCA AGG-3'	68°C

Tab.2.4. Tabellarische Darstellung der möglichen Allele der 44-bp *Ins/Del*-Mutation und des 17-bp VNTR im SERT-Gen und des 40-bp VNTR im DAT1-Gen

Gen	Polymorphismus	Position	Allel	Fragmentlänge (bp)
SERT	44-bp <i>Ins/Del</i>	5'-UTR	Ins (l)	528
			Del (s)	484
SERT	17- bp VNTR	Intron 2	12 Repeats	301
			10 Repeats	267
			9 Repeats	250
DAT1	40-bp VNTR	3'-UTR	12 Repeats	564
			11 Repeats	524
			10 Repeats	484
			9 Repeats	444
			8 Repeats	404
			6 Repeats	324

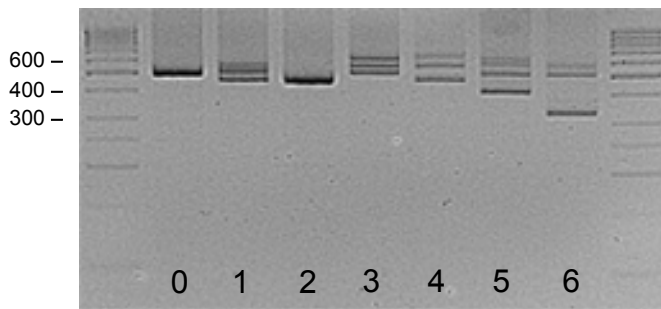
Abb. 2.1. PCR-Strategie zur Bestimmung des DAT1 40-bp VNTR



Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des Gens DAT1 mit der 3'UTR sowie darunter die einzelnen PCR-Produkte mit Angabe des entsprechenden Allels, der Anzahl der Repeats sowie der Länge des PCR-Produkts in bp. Die Repeats im VNTR sind durch Striche auf den PCR-Produkten markiert, die VNTR-Sequenz liegt jeweils zwischen den Pfeilen.

Tab. 2.5. DAT1 40-bp VNTR: Reaktionsbedingungen und Auswertung

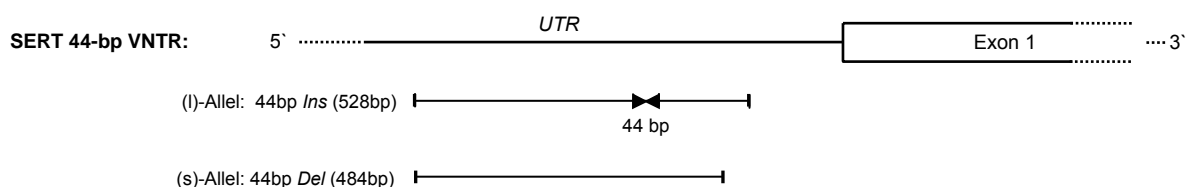
Reaktionsansatz:								
Mastermix 1 (15µl)	dNTPs (2mM)							6,25µl
	Primer DAT1-F(10µM)							0,75µl
	Primer DAT1-R (10µM)							0,75µl
	Taq-Polymerase Biotherm							0,35µl
	H ₂ O (steril, bidest)							6,9µl
	10*Puffer (Boehringer2)							2,7µl
Mastermix 2 (10µl)	H ₂ O (steril, bidest)							5,8µl
	0,1U/µl PWO							1,5µl
	+genomische DNA							2µl
Cycler-Programm:	2min 94°C-35x (30s 94°C-1min 68°C)-7min 72°C-30min 10°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)							
Elektrophorese:	120min bei 100V auf 4%-igem Agarosegel, Farbstoff Ethidiumbromid							
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)							
Auswertung:								
Genotyp (Anzahl Repeats)	10/10	10/9	9/9	11/10	11/9	10/8	10/6	12/10
Codierung	0	1	2	3	4	5	6	7
Muster (bp)	-	-	-	-	-	-	-	564
	-	-	-	524	524	-	-	-
	484	484	-	484	-	484	484	484
	-	444	444	-	444	-	-	-
	-	-	-	-	-	404	-	-
-	-	-	-	-	-	324	-	

Abb. 2.2. DAT1 40-bp VNTR: PCR

Marker: 100bp Marker, 0: 484bp (Genotyp 10/10), 1: 484/444bp (Genotyp 10/9), 2: 444bp (Genotyp 9/9), 3: 524/484bp (Genotyp 11/10), 4: 524/444bp (Genotyp 11/9), 5: 484/404bp (Genotyp 10/8), 6: 484/324bp (Genotyp 10/6). Ein Allel mit 12 Repeats wurde nicht gefunden. Bei den zusätzlichen Banden über den heterozygoten Proben (1,3,4,5,6) handelt es sich um Heteroduplex-DNA, die während der PCR durch Zusammenlagerung der PCR-Produkte entsteht, die Auswertung des Bandenmusters aber nicht beeinträchtigt.

2.2.4.2. Bestimmung der 44-bp *Insertions/Deletions*-Mutation und des 17-bp VNTR im Serotonintransportergen (SERT)

Für die Genotypisierung der 44-bp *Ins*-/*Del*-Mutation und des 17-bp VNTR wurden PCRs, die bei Kaiser et al. beschrieben wurden, angewandt (Kaiser et al., 2002). Reaktionsbedingungen und Ansätze sind in den Tab. 2.6. und 2.7. aufgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Primer können Tab. 2.3. entnommen werden. Im Reaktionsansatz zur Bestimmung der 44-bp *Ins*-/*Del*-Mutation wurden die dNTPs zur Stabilisierung des PCR-Produktes wie bei Kaiser et al. beschrieben durch dNTP-GTPs, dGTPs und deaza GTPs ersetzt.

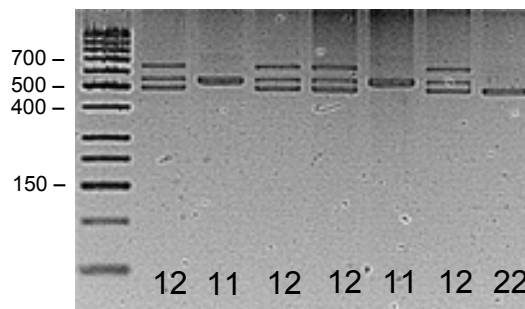
Abb. 2.3. PCR-Strategie zur Bestimmung der SERT 44-bp *Ins*-/*Del*-Mutation

Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des SERT-Gens mit der 5'UTR sowie darunter das lange (l)-Allel (die 44bp-Insertion ist durch Pfeile markiert) und das kurze (s)-Allel mit Angabe der Längen (bp).

Tab. 2.6. SERT 44-bp *Ins/Del*-Mutation: Reaktionsbedingungen und Auswertung

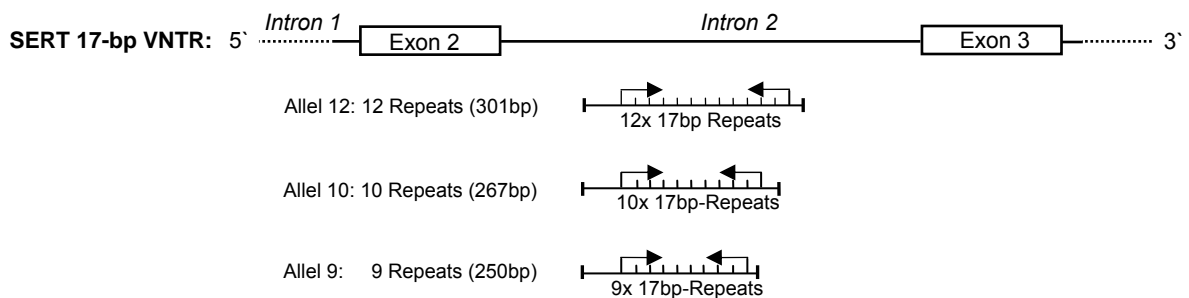
Reaktionsansatz (24µl):	10*Puffer (Boehringer1)	2,5µl		
	dNTP-GTPs (2mM)	2,5µl		
	dGTPs (1mM)	1,25µl		
	deaza GTPs (1mM)	1,25µl		
	Primer 44bp-1 (10µM)	0,5µl		
	Primer 44bp-2 (10µM)	0,5µl		
	<i>Taq</i> Polymerase Boehringer	0,15µl		
	H ₂ O (steril, bidest)	15,35µl		
	+genomische DNA	1,2µl		
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C- 30s 62°C-1min 72°C)-7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)			
Elektrophorese:	120min bei 100V auf 3,5%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®			
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)			
Auswertung:				
Genotyp (Ins=l, Del=s)	l/l	l/s	s/s	
Codierung	11	12	22	
Muster	528	528	-	
	-	484	484	

Abb. 2.4. SERT 44-bp *Ins/Del*-Mutation: PCR



Marker: 100bp Marker, 11: 528bp (l/l), 12: 528/484bp (l/s), 22: 484bp (s). Die zusätzlichen Banden über den heterozygoten Proben (12) stellen Heteroduplex-DNA dar, die durch Zusammenlagerung der PCR-Produkte der beiden verschiedenen Allele entsteht, die Auswertung des Bandenmusters aber nicht beeinträchtigt.

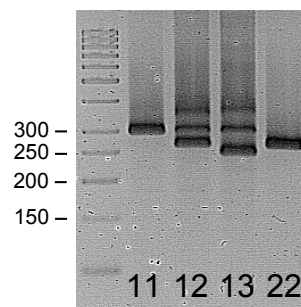
Abb. 2.5. PCR-Strategie zur Bestimmung des SERT 17-bp VNTR



Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des SERT-Gens mit dem Intron 2 sowie darunter die einzelnen PCR-Produkte mit Angabe des entsprechenden Allels, der Anzahl der Repeats sowie der Länge des PCR-Produkts in bp. Die Repeats im VNTR sind durch Striche auf den PCR-Produkten markiert, die VNTR-Sequenz liegt jeweils zwischen den Pfeilen.

Tab. 2.7. SERT 17-bp VNTR: Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (24µl):	10*Puffer (Boehringer1)	2,5µl			
	dNTPs (2mM)	1,75µl			
	Primer 17bp-3 (10µM)	0,5µl			
	Primer 17bp-4 (10µM)	0,5µl			
	Taq Polymerase Boehringer	0,15µl			
	H ₂ O (steril, bidest)	18,6µl			
	+ genomische DNA	1,2µl			
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C-20s 62°C- 1min 72°C)- 7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)				
Elektrophorese:	150min bei 100 Volt auf 3,0%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®				
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)				
Auswertung:					
Genotyp (Anzahl Repeats)	12/12	12/10	10/10	12/9	10/9
Codierung	11	12	22	13	23
Muster (bp)	301	301	-	301	-
	-	267	267	-	267
	-	-	-	250	250

Abb. 2.6. SERT 17-bp VNTR: PCR

Marker: 50bp Marker, 11: 301bp (Genotyp 12/12), 12: 301/267bp (Genotyp 12/10), 13: 301/250bp (Genotyp 12/9), 22: 267bp (Genotyp 10/10). Der Genotyp 10/9 wurde nicht gefunden. Bei den zusätzlichen Banden über den heterozygoten Proben (12,13) handelt es sich um Heteroduplex-DNA, die durch Zusammenlagerung der PCR-Produkte der beiden verschiedenen Allele entsteht, die Auswertung des Bandenmusters jedoch nicht beeinträchtigt.

2.2.5. Bestimmung der Varianten im Noradrenalintransportergen (NET)

Für die Bestimmung der genetischen Varianten im Noradrenalintransportergen (NET) (-182T>C, 1287G>A, Val69Ile, Thr99Ile, Val245Ile, Val449Ile, Gly478Ser) wurden zunächst mittels PCR die jeweiligen DNA-Abschnitte, welche die zu untersuchenden Mutationen enthielten, amplifiziert. Zur Kontrolle der PCR wurden 10µl des PCR-Produktes auf 2%ige Agarosegele aufgetragen, für 30 Minuten bei einer Spannung von 120 Volt in der Gelelektrophorese laufen gelassen und die Banden mit dem

Farbstoff SybrGold® gefärbt. Der Erfolg der PCR wurde anschließend mit Hilfe des digitalen Videosystems Eagleeye™ (Fa. Stratagene) dokumentiert.

Nach erfolgreicher PCR wurden die PCR-Produkte mit den entsprechenden Restriktionsenzymen verdaut und dabei gemäß ihrem Genotyp geschnitten. Die entstandenen DNA-Fragmente wurden anschließend in der Gelelektrophorese aufgetrennt. Nach Färbung der Banden und Dokumentation im Eagleeye™ wurden die Genotypen anhand des Restriktionsmusters bestimmt.

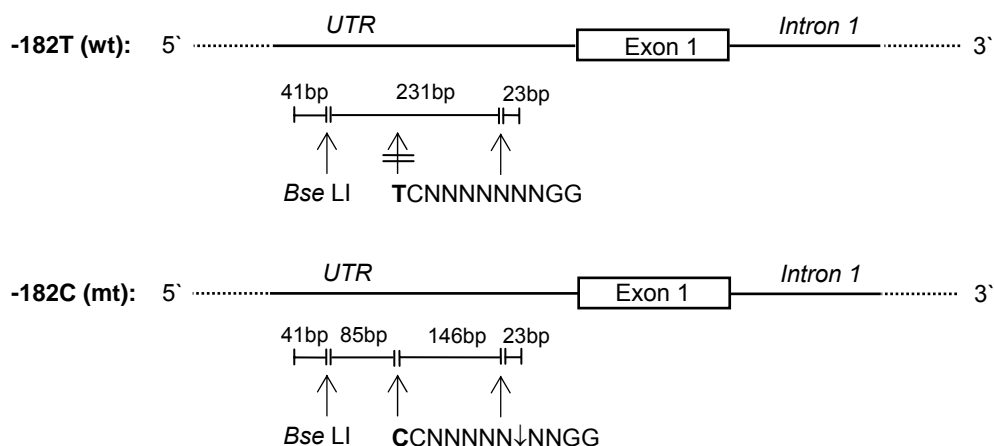
Die Genotypisierung der Mutationen in den Exons 2, 4, 9 und 10 wurde nach Verfahren von Stöber et al., im Exon 1 abgewandelt nach Stöber et al. durchgeführt (Stöber et al., 1996b). Für die PCRs zur Bestimmung der Mutationen *Val69Ile* im Exon 1, *Thr99Ile* im Exon 2 und *Val245Ile* im Exon 4 wurden mutierte Primer wie bei Stöber et al. beschrieben eingesetzt, um künstliche Schnittstellen für die verwendeten Enzyme zu schaffen. Die Methode für die Bestimmung des *-182T>C*-Polymorphismus in der Promoterregion wurde neu etabliert. Eine Übersicht über die Sequenzen der verwendeten Primer sowie die PCR-RFLP-Bedingungen vermitteln die Tab. 2.8. und 2.9. Schematische Darstellungen der einzelnen PCR-RFLP-Strategien sowie detaillierte Reaktionsbedingungen und Bandenmuster der einzelnen Reaktionen sind in den Abb. 2.7.-2.20. sowie in den Tab. 2.10.-2.16. dargestellt.

Tab. 2.8. Übersicht über die PCR-RFLP-Bedingungen für die Bestimmung der Varianten im NET-Gen

Mutation	Protein-variante	Exon	Primer	Fragmentlänge	Restriktionsenzym	Wildtyp-allel	Mutiertes Allel
NET -182T>C		5'UTR	5'UTR-F3/5'UTR-R3	295	<i>Bse</i> LI	231+41+23	146+85+41+23
NET 205G>A	Val69Ile	1	1F02/15M-R	252	<i>Rsa</i> I	235+17	252
NET 296C>T	Thr99Ile	2	1M-F/1-R	159	<i>Alw</i> 21I	140+19	159
NET 733G>A	Val245Ile	4	3-F/3M-R	144	<i>Nmu</i> CI	123+21	144
NET 1287G>A		9	8-F/8-R	241	<i>Cfr</i> 13I	113+76+31+21	113+97+31
NET 1345G>A	Val449Ile	9	8-F/8-R	241	<i>Nmu</i> CI	133+67+41	200+41
NET 1432G>A	Gly478Ser	10	9-F/9-R	214	<i>Bsp</i> LI	214	109+105

Tab. 2.9. Übersicht über die verwendeten Primer für die Genotypisierung der Varianten im NET-Gen

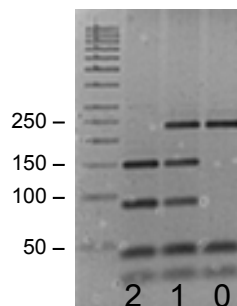
Mutation	Primer	Sequenz	Fragmentlänge (bp)	Annealing-Temperatur (°C)
NET -182T>C	5'UTR-F3 5'UTR-R3	5'-GCT GGC GAG AGG AAC TTT A-3' 5'-TGA ACG AGG AAA AGT GCT G -3'	295	62
NET Val69Ile	1F02 15M-R	5'-CGG TAA AGT TCC TCT CGC CA-3' 5'-CCA CTG CGA AGC CGA GTA-3'	252	60
NET Thr99Ile	1M-F 1R	5'- GCC TTC TTG ATC CCG TGC A-3' 5'- ACC GTG ACT TTC TCC CAC C-3'	159	57
NET Val245Ile	3-F 3M-R	5'- ATT TAC CCT GGT CCC CTC C-3' 5'- GCT AAA ATA CAA GAC GGT GA-3'	144	59
NET Val449Ile NET 1287G>A	8-F 8-R	5'-TCC AGG GAG ACC CTA ATT CC-3' 5'-TTG ACT TTA TTG AAA TGC GGC-3'	241	57
NET Gly478Ser	9-F 9-R	5'- CAC AAC AAT CAG TTC CCA CG-3' 5'- CAG GAT TCT AGG AGG ACT GGG-3'	214	66

Abb. 2.7. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET -182 T>C

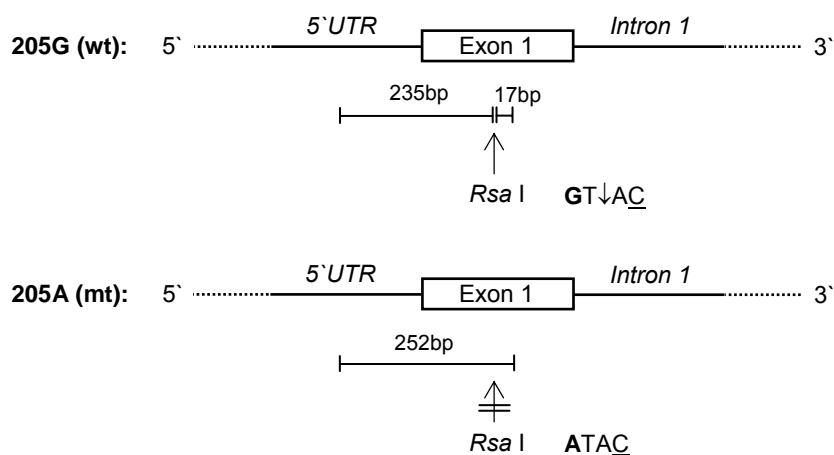
Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit der 5'UTR sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *Bse* LI. Pfeile markieren die Schnittstellen. Beim Wildtyp fällt eine Schnittstelle aufgrund der Thyminbase an Position -182 weg (durch zweifach durchgestrichenen Pfeil markiert). Die Sequenz, die *Bse* LI als Schnittstelle erkennt bzw. beim Wildtyp aufgrund der Thyminbase an Position -182 nicht erkennt, ist aufgeführt, die genaue Position der Schnittstelle in der Sequenz durch einen Pfeil nach unten markiert. Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.10. NET -182 T>C: Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl)	10*Puffer (GeneCraft)	2,5µl	
	MgCl ₂ (50mM)	0,5µl	
	dNTPs (2mM)	1,5µl	
	Primer 5'UTR-F3 (10µM)	0,5µl	
	Primer 5'UTR-R3 (10µM)	0,5µl	
	Taq Polymerase Biotherm	0,2µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	19,3µl	
	+genomische DNA	1µl	
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C- 40s 62°C-1min 72°C)-7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)		
Restriktion mit <i>Bse</i> LI:	PCR-Produkt	10µl	
	Puffer Y+	2µl	
	<i>Bse</i> LI	0,5µl	
	H ₂ O	7,5µl	
	Inkubation bei 55°C über 12h		
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®		
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)		
Auswertung:			
Genotyp	T/T	T/C	C/C
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	231	231	-
	-	146	146
	-	85	85
	41	41	41
	23	23	23

Abb. 2.8. NET -182 T>C: PCR-RFLP

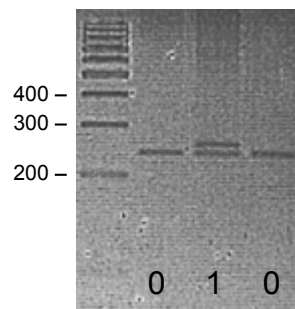
Marker: 50bp Marker, 0: 231/41/23bp (T/T), 1: 231/146/85/41/23bp (T/C), 2: 146/85/41/23bp (C/C)

Abb. 2.9. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET *Val69Ile* (205 G>A) (Exon1)

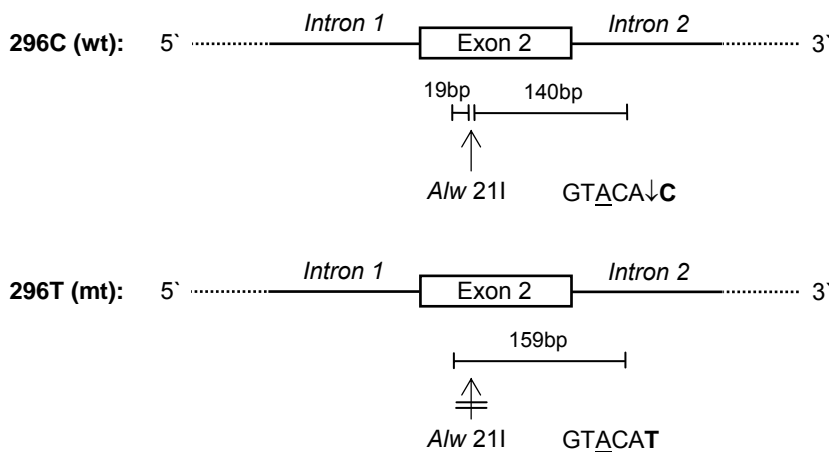
Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit der 5'UTR und dem Exon 1 sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *Rsa* I. Der Pfeil markiert die Schnittstelle im Wildtypallel. Die geschnittene Sequenz ist aufgeführt, der Pfeil nach unten markiert die genaue Position der Schnittstelle innerhalb der geschnittenen Sequenz. Die unterstrichene Base wurde mithilfe eines mutierten Primers in die Sequenz eingebracht, um eine künstliche Schnittstelle für *Rsa* I zu generieren. Im mutierten Allel erkennt das Enzym *Rsa* I aufgrund der Base Adenin an Position 205 keine Schnittstelle, das Allel bleibt ungeschnitten (durchgestrichener Pfeil). Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.11. NET *Val69Ile* (Exon1): Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl):	10*Puffer (GeneCraft)	2,5µl
	MgCl ₂ (50mM)	0,8µl
	dNTPs (2mM)	2,5µl
	Primer 1F02 (10µM)	0,5µl
	Primer 15M-R (10µM)	0,5µl
	<i>Taq</i> Polymerase Biotherm	0,2µl
	H ₂ O (steril, bidest)	18,0µl
	+genomische DNA	1,2µl
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C- 40s 60°C- 1min 72°C)- 7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)	
Restriktion mit <i>Rsa</i> I:	PCR-Produkt	7µl
	Puffer Y+	2µl
	<i>Rsa</i> I	0,5µl
	H ₂ O (steril, bidest)	7,5µl
	Inkubation bei 37°C über 12h	
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3,5%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®	
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)	
Auswertung:		
Genotyp	wt/wt	wt/mt
	mt/mt	
Aminosäure	Val/Val	Val/Ile
	Ile/Ile	
Codierung	0	1
	2	
Muster (bp)	-	252
	235	235
	17	17
	-	-

Abb. 2.10. NET *Val69Ile* (Exon1) : PCR-RFLP

Marker: 100bp Marker, 0 : 235/(17)bp (Val/Val), 1 : 252/235/(17)bp (Val/Ile). Ein homozygoter Träger der Mutation wurde nicht gefunden.

Abb. 2.11. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET *Thr99Ile* (296 C>T) (Exon 2)

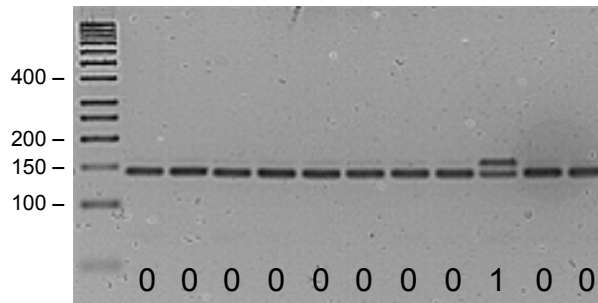
Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit dem Exon 2 sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *A/w 211*. Der Pfeil markiert die Schnittstelle im Wildtypallel. Die geschnittene Sequenz ist aufgeführt, der Pfeil nach unten markiert die genaue Position der Schnittstelle innerhalb der geschnittenen Sequenz. Die unterstrichene Base wurde mithilfe eines mutierten Primers in die Sequenz eingebracht, um eine künstliche Schnittstelle für *Rsa I* zu generieren. Im mutierten Allel erkennt das Enzym *A/w 211* aufgrund der Base Thymin an Position 296 keine Schnittstelle, das Allel bleibt ungeschnitten (durchgestrichener Pfeil). Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.12. NET *Thr99Ile* (Exon 2): Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl):	10*Puffer (Gene Craft)	2,5µl
	MgCl ₂ (50mM)	0,5µl
	dNTPs (2mM)	2,5µl
	Primer 1M-F (2µM)	0,5µl
	Primer 1-R (2µM)	0,5µl
	<i>Taq</i> Polymerase Biotherm	0,15µl
	H ₂ O (steril, bidest)	18,35µl
	+genomische DNA	1µl
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C- 40s 57°C- 1min 72°C)- 7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)	
Restriktion mit <i>A/w211</i> :	PCR-Produkt	7µl
	Puffer0+	2µl
	<i>A/w211</i>	0,5µl
	H ₂ O (steril, bidest)	7,5µl
	Inkubation bei 37°C über 12h	

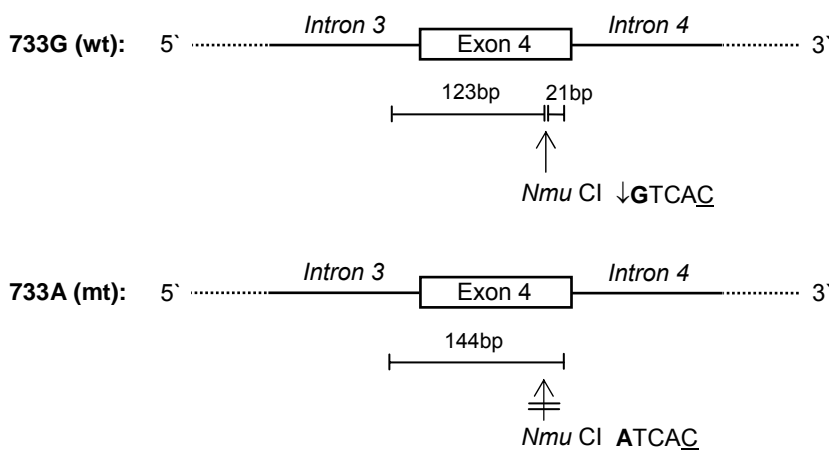
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3,5%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®		
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)		
Auswertung:			
Genotyp	wt/wt	wt/mt	mt/mt
Aminosäure	Thr/Thr	Thr/Ile	Ile/Ile
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	-	159	159
	140	140	-
	19	19	-

Abb. 2.12. NET *Thr99Ile* (Exon 2): PCR-RFLP



Marker: 50bp Marker, 0: 140/(19)bp (Thr/Thr), 1: 159/140/(19)bp (Thr/Ile). Ein homozygoter Träger der Mutation wurde nicht gefunden.

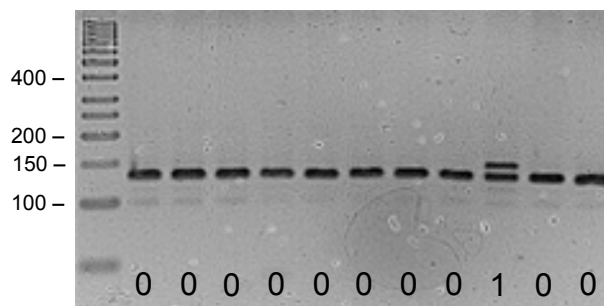
Abb.2.13. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET *Val245Ile* (733 G>A) (Exon 4)



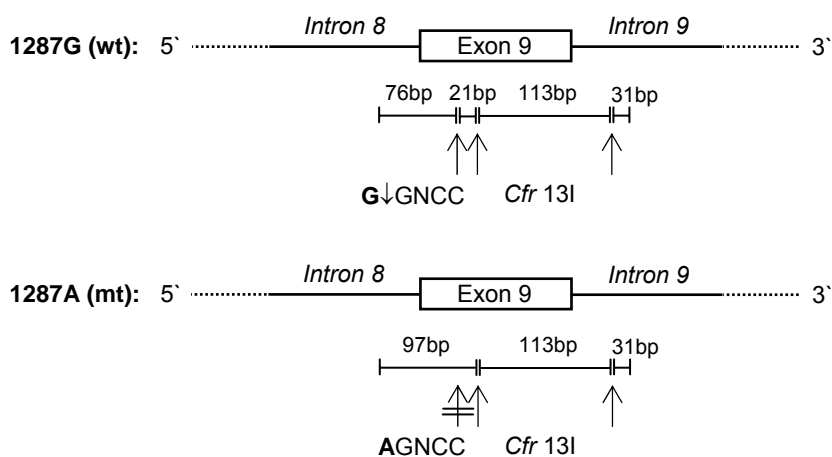
Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit dem Exon 4 sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *Nmu* CI. Der Pfeil markiert die Schnittstelle im Wildtypallel. Die geschnittene Sequenz ist aufgeführt, der Pfeil nach unten markiert die genaue Position der Schnittstelle innerhalb der geschnittenen Sequenz. Die unterstrichene Base wurde mithilfe eines mutierten Primers in die Sequenz eingebracht, um eine künstliche Schnittstelle für *Rsa* I zu generieren. Im mutierten Allel erkennt das Enzym *Nmu* CI aufgrund der Base Adenin an Position 733 keine Schnittstelle, das Allel bleibt ungeschnitten (durchgestrichener Pfeil). Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.13. NET *Val245Ile* (Exon 4): Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl):	10*Puffer (Gene Craft)	2,5µl	
	MgCl ₂ (50mM)	0,5µl	
	dNTPs (2mM)	2,5µl	
	Primer 3-F (10µM)	0,5µl	
	Primer 3M-R (10µM)	0,5µl	
	<i>Taq</i> Polymerase Biotherm	0,15µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	18,35µl	
	+genomische DNA	1µl	
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C- 40s 59°C-1min 72°C)-7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)		
Restriktion mit <i>NmuCI</i> :	PCR-Produkt	10µl	
	Puffer R+	2µl	
	<i>NmuCI</i>	0,5µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	7,5µl	
	Inkubation bei 37°C über 12h		
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3,5%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®		
DNA-Marker:	50bp (MBI Fermentas)		
Auswertung:			
Genotyp	wt/wt	wt/mt	mt/mt
Aminosäure	Val/Val	Val/Ile	Ile/Ile
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	-	144	144
	123	123	-
	21	21	-

Abb. 2.14. NET *Val245Ile* (Exon 4): PCR-RFLP

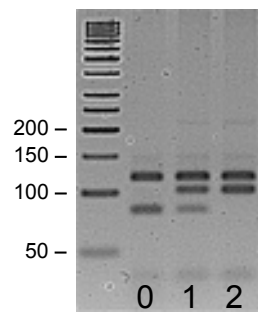
Marker: 50bp Marker, 0: 123/(21)bp (Val/Val), 1: 144/123/(21)bp (Val/Ile). Ein homozygoter Träger der Mutation wurde nicht gefunden.

Abb. 2.15. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET 1287G>A (Exon 9)

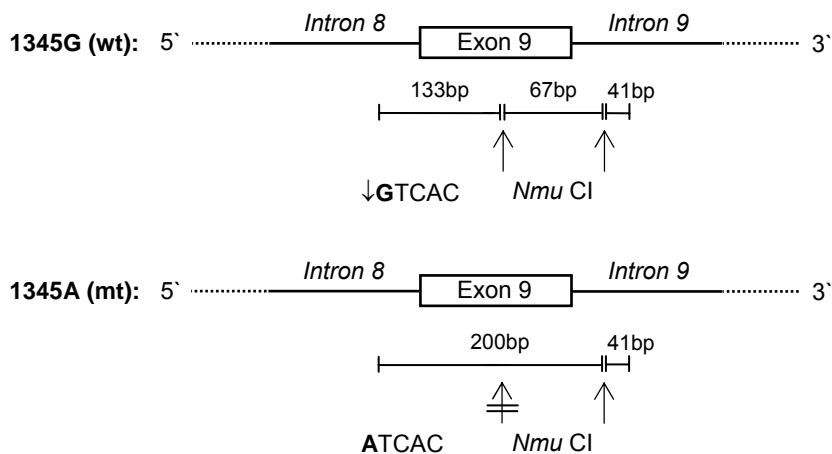
Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit dem Exon 9 sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *Cfr 13I*. Pfeile markieren die Schnittstellen. Beim mutierten Allel fällt eine Schnittstelle aufgrund der Base Adenin an Position 1287 weg (durch zweifach durchgestrichenen Pfeil markiert). Die Sequenz, die *Cfr 13I* als Schnittstelle erkennt bzw. beim mutierten Allel aufgrund der Base Adenin an Position 1287 nicht erkennt, ist aufgeführt, die genaue Position der Schnittstelle in der Sequenz durch einen Pfeil nach unten markiert. Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.14. NET 1287G>A (Exon 9): Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl)	10*Puffer (Gene Craft)	2,5µl	
	MgCl ₂ (50mM)	0,5µl	
	dNTPs (2mM)	2,5µl	
	Primer 8-F (10µM)	0,5µl	
	Primer 8-R (10µM)	0,5µl	
	<i>Taq</i> Polymerase Biotherm	0,15µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	18,35µl	
	+genomische DNA	1µl	
Cycler-Programm:	2min 94°C- 35x (30s 94°C- 40s 57°C- 1min 72°C)- 7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)		
Restriktion mit <i>Cfr13I</i> :	PCR-Produkt	10µl	
	Puffer Y+	2µl	
	<i>Cfr13I</i>	0,5µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	7,5µl	
	Inkubation bei 37°C über 12h		
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®		
Auswertung:			
Genotyp	G/G	G/A	A/A
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	113	113	113
	-	97	97
	76	76	-
	31	31	31
	21	21	-

Abb. 2.16. NET 1287G>A (Exon 9): PCR-RFLP

Marker: 50bp Marker, 0: 113/76/(31)/(21)bp (G/G), 1: 113/97/76/(31)/(21)bp (G/A), 2: 113/97/(31)bp (A/A).

Abb. 2.17. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET Val449Ile (1345 G>A) (Exon 9)

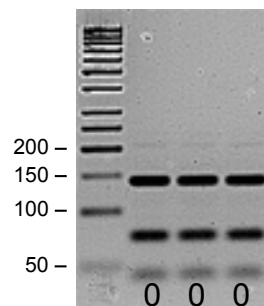
Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit dem Exon 9 sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *Nmu* CI. Pfeile markieren die Schnittstellen. Beim mutierten Allel fällt eine Schnittstelle aufgrund der Base Adenin an Position 1345 weg (durch zweifach durchgestrichenen Pfeil markiert). Die Sequenz, die *Nmu* CI als Schnittstelle erkennt bzw. beim mutierten Allel aufgrund der Base Adenin an Position 1345 nicht erkennt, ist aufgeführt, die genaue Position der Schnittstelle in der Sequenz durch einen Pfeil nach unten markiert. Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.15. NET Val449Ile (Exon 9): Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl):	10*Puffer (Gene Craft)	2,5µl
	MgCl ₂ (50mM)	0,5µl
	dNTPs (2mM)	2,5µl
	Primer 8-F (10µM)	0,5µl
	Primer 8-M (10µM)	0,5µl
	<i>Taq</i> Polymerase Biotherm	0,15µl
	H ₂ O (steril, bidest)	18,05µl
	+genomische DNA	1µl
Cycler-Programm:	2min 94°C - 35x (30s 94°C - 40s 57°C - 1min 72°C) – 7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)	
Restriktion mit <i>Nmu</i> CI:	PCR-Produkt	7µl
	Puffer R+	2µl
	<i>Nmu</i> CI	0,5µl
	H ₂ O (steril, bidest)	7,5µl
Inkubation bei 37°C über 12h		

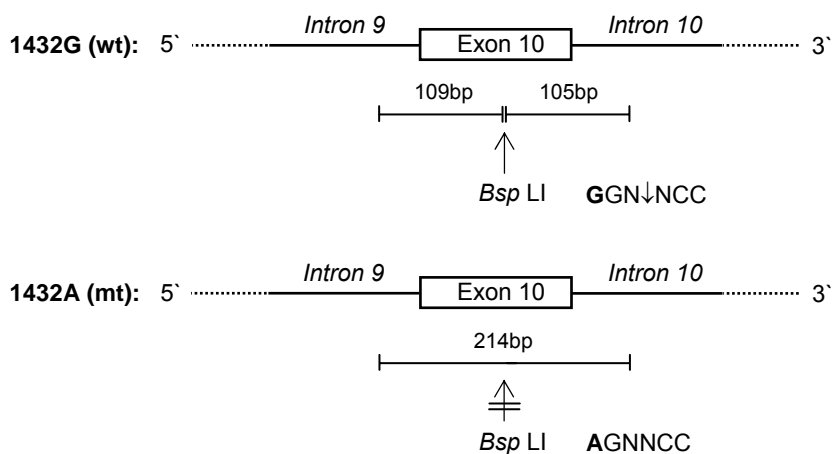
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®		
Auswertung:			
Genotyp	Val/Val	Val/Ile	Ile/Ile
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	-	200	200
	133	133	-
	67	67	-
	41	41	41

Abb. 2.18. NET *Val449Ile* (Exon 9): PCR-RFLP



Marker: 50bp Marker, 0: 133/67/(41)bp (Val/Val). Es wurde kein mutiertes Allel gefunden.

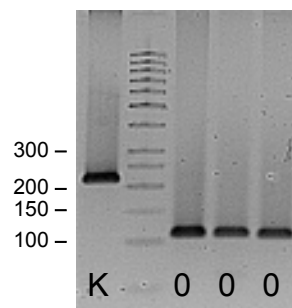
Abb. 2.19. PCR-RFLP-Strategie zur Bestimmung von NET *Gly478Ser* (1432 G>A) (Exon 10)



Schematisch dargestellt ist der Abschnitt des NET-Gens mit dem Exon 10 sowie darunter die RFLP-Produkte des Wildtyp- und des mutierten Allels nach Verdau mit *Bsp* LI. Der Pfeil markiert die Schnittstelle im Wildtypallel. Die geschnittene Sequenz ist aufgeführt, der Pfeil nach unten markiert die genaue Position der Schnittstelle innerhalb der geschnittenen Sequenz. Im mutierten Allel erkennt das Enzym *Bsp* LI aufgrund der Base Adenin an Position 1432 keine Schnittstelle, das Allel bleibt ungeschnitten (durchgestrichener Pfeil). Die Längen der RFLPs sind in bp angegeben.

Tab. 2.16. NET *Gly478Ser* (Exon 10): Reaktionsbedingungen und Auswertung

Reaktionsansatz (25µl):	10*Puffer (Gene Craft)	2,5µl	
	MgCl ₂ (50mM)	0,8µl	
	dNTPs (2mM)	2,5µl	
	Primer 9-F (10µM)	0,5µl	
	Primer 9-R (10µM)	0,5µl	
	<i>Taq</i> Polymerase Biotherm	0,15µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	18,05µl	
	+genomische DNA	1µl	
Cycler-Programm:	2min 94°C – 35x (30s 94°C – 40s 66°C – 1min 72°C) – 7min 72°C (Perkin-Elmer 9700 oder 9600)		
Restriktion mit <i>A/w21I</i> :	PCR-Produkt	10µl	
	Puffer Y+	2µl	
	<i>Bsp</i> L1	0,5µl	
	H ₂ O (steril, bidest)	7,5µl	
	Inkubation bei 37°C über 4h		
Elektrophorese:	90min bei 120V auf 3%-igem Agarosegel, Farbstoff SybrGold®		
Auswertung:			
Genotyp	Gly/Gly	Gly/Ser	Ser/Ser
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	-	214	214
	109	109	-
	105	105	-

Abb. 2.20. NET *Gly478Ser* (Exon 10): PCR-RFLP

Marker: 50bp Marker, K: Kontrolle (unverdautes PCR-Produkt) 214bp, 0: 109/105bp (Gly/Gly). Es wurde kein mutiertes Allel gefunden.

2.3. Software und statistische Analysen

Die erhobenen Patientendaten wurden in einer Access®-Datenbank (Microsoft, USA) archiviert.

Die statistische Testung für den Vergleich verschiedener Gruppen (z.B. der Medikamentengruppen) erfolgte anhand des nichtparametrischen *Kruskal-Wallis-Tests*. Der nichtparametrische Trendtest nach *Jonckheere-Terpstra* wurde für die Analyse genotypabhängiger Unterschiede in der Therapieresponse angewandt. Die

Reihenfolge der Genotypen für den 40-bp VNTR im DAT1-Gen wurde hierfür wie folgt festgelegt: (9/9)>(10/9)>(10/10) bzw. (9/9)<(10/9)<(10/10) (zweiseitig).

Die Häufigkeitsverteilung der untersuchten Allele und Unterschiede in den Frequenzen kategorischer Variablen wie Geschlecht oder Zahl der Responder wurden mittels *Chi-Quadrat-Test* (χ^2 -Test) analysiert, in kleinen Untergruppen kam der exakte Test nach Fisher zur Anwendung. Die Effektgröße wurde als *Odds-Quotient* mit 95%-Konfidenzintervall angegeben.

Für die Einschätzung multipler Effekte auf die Response wurde eine logistische Regressionsanalyse, welche Alter, Geschlecht, Art des Antidepressivums, Zahl der vorangegangenen depressiven Episoden, initiale Schwere der depressiven Episode, DAT1-Genotyp und SERT 44-bp *Insertions/Deletions*-Genotyp einschloss, mit der Eigenschaft Responder (binär) als abhängiger Variable ausgeführt.

Für alle statistischen Untersuchungen wurde das Programm SPSS® 11.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*; Inc., Chicago, USA) für Windows verwendet.

3. Ergebnisse

Von insgesamt 264 Patienten, die mit der Diagnose einer akuten depressiven Episode in die Studie eingeschlossen wurden, konnten nur 190 Patienten, darunter 67 Männer und 123 Frauen, über mindestens 21 Tage beobachtet werden. Die verbleibenden 74 Patienten nahmen nach Einschluss in die Studie an der Genotypisierung teil, brachen aber vor Ablauf von 21 Tagen die Studie ab, da sie entweder vorzeitig aus dem Krankenhaus entlassen worden waren (n=46 entsprechend dem ärztlichen Rat, n=21 entgegen dem ärztlichen Rat), in ein anderes Krankenhaus verlegt worden waren (n=3) oder Suizid begangen hatten (n=3). Es wurden keine Unterschiede in der Schwere der Depression bei Studieneinschluss zwischen der Gruppe der 190 Patienten, die der Studie über mindestens 21 Tage beiwohnten (mittlerer Punktwert auf der HDRS am Tag 1 = 30 ± 8) und der Gruppe der 74 vorzeitig ausgeschiedenen Patienten (mittlerer Punktwert auf der HDRS am Tag 1 = $30 \pm 7,5$) festgestellt. Es lagen ebenfalls keine erkennbaren Unterschiede in der Allelverteilung der untersuchten polymorphen Gene zwischen diesen beiden Gruppen vor (Daten nicht aufgeführt). Die 74 vorzeitig ausgeschiedenen Patienten wurden in der Auswertung zur Response nicht beachtet. Die im Folgenden dargestellten Daten beziehen sich also ausschließlich auf die 190 Patienten, bei denen der Beobachtungszeitraum mindestens 21 Tage betragen hatte.

Der Altersmedian der Studienteilnehmer lag bei 46 Jahren (range 19-72 Jahre). Der mediane Punktwert auf der HDRS bei Studieneinschluss lag bei 31 (range 8-53), was nach der Einteilung von Rabkin und Klein einem mittelschweren bis schweren depressiven Syndrom entspricht (Rabkin und Klein, 1987). 168 Patienten litten an einer unipolaren Depression, ca 15% der Patienten (n=22) wiesen eine Depression im Rahmen einer diagnostizierten bipolar affektiven Störung mit manischen Episoden in der Anamnese auf.

3.1. Häufigkeitsverteilung der untersuchten Varianten im DAT1-, SERT- und

NET-Gen und Vergleich mit der Kontrollgruppe

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Genotypisierung des 40-bp VNTR im DAT1-Gen, der 44-bp *Ins/Del*-Mutation und des 17-bp VNTR im SERT-Gen und der

genetischen Varianten *-182T>C*, *1287G>A*, *Val69Ile*, *Thr99Ile*, *Val245Ile*, *Val449Ile*, *Gly478Ser* im NET-Gen dargestellt und die ermittelten Genotyp- und Allelverteilungen in der Patientengruppe und der Kontrollgruppe verglichen. Einen gesammelten Überblick über die erhaltenen Genotyp- und Allelhäufigkeiten der untersuchten Polymorphismen im DAT1- und SERT-Gen und der Polymorphismen *-182T>C* und *1287G>A* im NET-Gen bieten die Tabellen 3.1-3.4.

Es fanden sich keine Unterschiede in den Allelfrequenzen zwischen der Gruppe der bipolaren und der Gruppe der unipolaren Patienten.

3.1.1. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 40-bp VNTR im DAT1-Gen

Bei der Bestimmung des 40-bp VNTR im Dopamintransportergen fand sich in der Patientengruppe folgende Genotypverteilung: 53,2% der Patienten waren homozygote Träger des 10-Repeat-Allels (10/10), 37,9% heterozygote Träger eines 10-Repeat- und eines 9-Repeat-Allels (10/9) und 8,4% homozygote Träger des 9-Repeat-Allels (9/9). Ein Patient (0,5%) war heterozygoter Träger eines 10-Repeat- und eines 8-Repeat-Allels (10/8). Bezüglich der Allelhäufigkeiten ergaben sich folgende Werte: 72,4% für das 10-Repeat-Allel, 27,4% für das 9-Repeat-Allel und 0,2% für das 8-Repeat-Allel.

In der Kontrollgruppe trugen 53,2% der Probanden den (10/10)-Genotyp, 38,4% den (10/9)-Genotyp, 6,3% den (9/9)-Genotyp, 1,1% waren heterozygote Träger eines 10-Repeat- und eines 11-Repeat-Allels (10/11) und jeweils ein Proband (je 0,5%) waren heterozygote Träger eines 10-Repeat- und eines 6-Repeat-Allels (10/6) bzw. eines 9-Repeat- und eines 11-Repeat-Allels (9/11). Insgesamt wurden das 10-Repeat-Allel zu 73,2%, das 9-Repeat-Allel zu 25,8%, das 11-Repeat-Allel zu 0,8% und das 6-Repeat-Allel zu 0,2% nachgewiesen. In der Literatur beschriebene 12- bzw. 7-Repeat-Allele wurden weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe gefunden.

Sowohl in der Patientengruppe als auch in der Kontrollgruppe lagen die ermittelten Genotyp- und Allelhäufigkeiten im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Genotypen ($\chi^2=4,1$; $df=3$; $p=0,3$) bzw. der Allele ($\chi^2= 3,4$; $df=2$; $p= 0,3$) zwischen der Gruppe der depressiven Patienten und der Gruppe der gesunden Kontrollen gefunden (Übersicht siehe Tab 3.1.).

Der einzelne Träger des 8-Repeat-Allels in der Patientengruppe wurde nicht in die weiteren Analysen zur Response eingeschlossen.

Tab. 3.1. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 40-bp VNTR im DAT1-Gen in der Patienten- und der Kontrollgruppe

Genotypen DAT1 40-bp VNTR	10/10	10/9	9/9	10/8	10/6	10/11	9/11
Patienten (n=190)	53,2%	37,9%	8,4%	0,5%	-	-	-
Kontrollen (n=190)	53,2%	38,4%	6,3%	-	0,5%	1,1%	0,5%
Allele (Anzahl Repeats) DAT1 40-bp VNTR	10	9	8	6	11		
Patienten	72,4%	27,4%	0,2%	-	-		
Kontrollen	73,2%	25,8%	-	0,2%	0,8%		

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Genotyp- und Allelverteilung zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt (Chi²-Test).

3.1.2. Genotyp- und Allelhäufigkeiten der 44-bp *Insertions/Deletions*-Mutation

in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens

Bei der Bestimmung der 44-bp *Ins/Del*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des Serotonintransportergens wurde folgende Genotypverteilung in der Patientengruppe festgestellt: 36,3% waren Träger zweier langer Allele (I/I), 47,9% waren Träger eines langen und eines kurzen Allels (I/s) und 15,8% waren Träger zweier kurzer Allele (s/s). Das lange Allel (I) wurde mit einer Häufigkeit von 60,3% und das kurze Allel (s) mit einer Häufigkeit von 39,7% angetroffen.

In der Kontrollgruppe traten der (I/I)-Genotyp in 37,9%, der (I/s)-Genotyp in 47,4% und der (s/s)-Genotyp in 14,7% der Fälle auf. Für die Allelverteilung ergaben sich folgende Werte: zu 61,6% wurde das (I)-Allel und zu 38,4% das (s)-Allel nachgewiesen.

Sowohl in der Patientengruppe als auch in der Kontrollgruppe lagen die ermittelten Genotyp- und Allelhäufigkeiten im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Genotyp- ($\chi^2=0,28$; $df=2$; $p=0,9$) bzw. der Allelverteilung ($\chi^2=0,28$; $df=1$; $p=0,6$) zwischen den beiden Gruppen festgestellt (Übersicht siehe Tab. 3.2.).

Tab. 3.2. Genotyp- und Allelhäufigkeiten der 44-bp *Ins/Del*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens in der Patienten- und der Kontrollgruppe

SERT 44-bp <i>Ins/Del</i>	Genotypen			Allele	
	I/I	I/s	s/s	I	s
Patienten (n=190)	36,3%	47,9%	15,8%	60,3%	39,7%
Kontrollen (n=190)	37,9%	47,4%	14,7%	61,6%	38,4%

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Genotyp- und Allelverteilung zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt (Chi²-Test).

3.1.3. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens

Das 12-Repeat-Allel des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens wurde in der Patientengruppe mit 61,1% häufiger angetroffen als in der Kontrollgruppe mit 53,7% ($\chi^2=8,30$; $df=1$; $p=0,004$). Die Allelhäufigkeiten für das 10-Repeat- und das 9-Repeat-Allel lagen bei 36,8% bzw. 2,1% in der Patientengruppe und bei 43,7% bzw. 2,6% in der Kontrollgruppe. Allerdings lag der Odds-Quotient für das Risiko, dass eine Depression vorliegt, für das 12-Repeat-Allel bei lediglich 1,2 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0,94-1,21 (n.s.).

Homozygote Träger des 12-Repeat-Allels (12/12) traten zwar mit 41,6% in der Patientengruppe häufiger als in der Kontrollgruppe (33,7%) auf. Bei einer weiteren Genotypverteilung von 37,9% für den (12/10)-Genotyp, 16,3% für den (10/10)-Genotyp, 3,1% für den (10/9)-Genotyp und 1,1% für den (12/9)-Genotyp in der Patientengruppe vs. 37,9% (12/10), 23,2% (10/10), 3,1% (10/9) und 2,1% (12/9) in der Kontrollgruppe konnte jedoch kein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung zwischen den beiden Gruppen gezeigt werden ($\chi^2=7,76$; $df=3$; $p=0,051$) (Übersicht siehe Tab 3.3.). Das seltene, in der Literatur beschriebene 7-Repeat-Allel trat weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe auf.

Tab. 3.3. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens in der Patienten- und der Kontrollgruppe

Genotypen SERT 17-bp VNTR	12/12	12/10	10/10	10/9	12/9
Patienten (n=190)	41,6%	37,9%	16,3%	3,1%	1,1%
Kontrollen (n=190)	33,7%	37,9%	23,2%	3,1%	2,1%
Allele SERT 17-bp VNTR	12	10		9	
Patienten	61,1%	36,8%		2,1%	
Kontrollen	53,7%	43,7%		2,6%	

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Genotypverteilung zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt (Chi²-Test).

Allele: $\chi^2= 8,30$; $df=1$; $p=0,004$

3.1.4. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des 1287G>A-Polymorphismus im Exon 9 des NET-Gens

46,9% der depressiven Patienten waren homozygote Träger des Wildtypallels (G/G), 42,6% waren heterozygote Träger eines mutierten Allels (G/A) und 10,5% Träger zweier mutierter Allele (A/A). Demgegenüber wiesen in der Kontrollgruppe 44,2% der Probanden zwei Wildtypallele auf (G/G), 41,6% waren heterozygote Träger des mutierten Allels (G/A) und 14,2% homozygote Träger des mutierten Allels (A/A). Die Allelhäufigkeiten lagen in der Patientengruppe bei 68,2% für das Wildtypallel (G) und bei 31,8% für das mutierte Allel (A) versus 65,0% (G) und 35,0% (A) in der Kontrollgruppe. Alle erhaltenen Genotyp- und Allelhäufigkeiten lagen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Genotyp- ($\chi^2=2,16$; $df=2$; $p=0,3$) bzw. Allelverteilung ($\chi^2=1,67$; $df=1$; $p=0,2$) zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe (Übersicht siehe Tab. 3.4.).

3.1.5. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion des NET-Gens

Bei der Bestimmung des -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion des Noradrenalintransportergens fand sich folgende Genotypverteilung: 50,5% der depressiven Patienten waren Träger zweier Wildtypallele (T/T), 42,1% trugen jeweils ein Wildtyp- und ein mutiertes Allel (T/C) und 7,4% waren Träger zweier mutierter

Allele (C/C). In der Kontrollgruppe fand sich der (T/T)-Genotyp in 46,8% der Fälle, der (T/C)- Genotyp in 45,3% der Fälle und der (C/C)-Genotyp in 7,9% der Fälle. Das Wildtypallel (T) trat in der Patientengruppe mit einer Häufigkeit von 71,6% und das mutierte Allel (C) mit einer Häufigkeit von 28,4% auf. In der Gruppe der gesunden Kontrollprobanden lag die Prävalenz des Wildtypallels (T) bzw. des mutierten Allels (C) bei 69,5% respektive 30,5%. Alle erhaltenen Genotyp- und Allelhäufigkeiten lagen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Es wurden keine Unterschiede in der Verteilung der Genotypen ($\chi^2=1,04$; $df=2$; $p=0,6$) und der Allele ($\chi^2=0,79$; $df=1$; $p=0,4$) zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt (Übersicht siehe Tab. 3.4.).

Tab. 3.4. Genotyp- und Allelhäufigkeiten des -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion und des 1287G>A-Polymorphismus im Exon 9 des NET-Gens in der Patienten- und der Kontrollgruppe

NET -182T>C	Genotypen			Allele	
	T/T	T/C	C/C	T	C
Patienten (n=190)	50,5%	42,1%	7,4%	71,6%	28,4%
Kontrollen (n=190)	46,8%	45,3%	7,9%	69,5%	30,5%
NET 1287G>A	Genotypen			Allele	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Patienten (n=190)	46,9%	42,6%	10,5%	68,2%	31,8%
Kontrollen (n=190)	44,2%	41,6%	14,2%	65,0%	35,0%

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Genotyp- und Allelverteilung zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt (Chi²-Test).

3.1.6. Genotyp- und Allelhäufigkeiten der fünf Missense-Mutationen (*Val69Ile*, *Thr99Ile*, *Val245Ile*, *Val449Ile*, *Gly478Ser*) im NET-Gen

Die fünf untersuchten Missense-Mutationen *Val69Ile*, *Thr99Ile*, *Val245Ile*, *Val449Ile* und *Gly478Ser* traten sowohl in der Patientengruppe als auch in der Kontrollgruppe äußerst selten auf. Im Folgenden werden die Auftretenshäufigkeiten der einzelnen Mutationen kurz dargestellt, auf eine weitere Auswertung im Rahmen der Studie wurde jedoch verzichtet.

6 Patienten (3,2%) waren heterozygote Träger der *Thr99Ile*-Mutation im Exon 2 des NET-Gens. In der Kontrollgruppe traf dies für 2 Probanden (1,1%) zu. Die Allelhäufigkeiten für das mutierte Allel lagen damit bei 1,6% in der Patientengruppe und 0,5% in der Kontrollgruppe.

Für die *Val245Ile*-Mutation im Exon 4 ergaben sich folgende Resultate: 4 Patienten (2,1%) und 3 gesunde Kontrollprobanden (1,6%) waren heterozygote Träger der Mutation. Die Prävalenz des mutierten Allels lag damit bei 1,1% in der Patientengruppe und bei 0,8% in der Kontrollgruppe:

Lediglich ein Proband (0,5%) der Kontrollgruppe war heterozygoter Träger der *Val69Ile*-Mutation im Exon 1 des NET-Gens. In der Patientengruppe wurde die *Val69Ile*-Mutation nicht angetroffen.

Die Mutationen *Val449Ile* im Exon 9 und *Gly478Ser* im Exon 10 traten weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe auf.

3.1.7. Korrelation der Variablen Initiale Schwere der Depression, Zahl vorangegangener depressiver Episoden und Geschlecht mit den untersuchten Polymorphismen im DAT1-, SERT- und NET-Gen

Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Schwere der Depression zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie und den Genotypen des 40-bp VNTR im DAT1-Gen, der 44-bp *Ins/Del*-Mutation und dem 17-bp VNTR im SERT-Gen und den Polymorphismen *-182T>C* und *1287G>A* im NET-Gen aufgedeckt werden (Daten siehe Tab. 3.6.-3.10.).

Auch die Anzahl der vorangegangenen depressiven Episoden war unabhängig vom Genotyp der o.g. Polymorphismen (Daten siehe Tab. 3.6.-3.10.).

Ebenso wenig ergaben sich Unterschiede in der Allelverteilung der genannten Polymorphismen im DAT1-, SERT- und NET-Gen zwischen der Gruppe der 123 Frauen und der Gruppe der 67 Männer (Daten siehe Tab. 3.6.-3.10.)

3.2. Die Therapieresponse

Der mediane Punktwert auf der HDRS lag bei 31 (range 8-53) zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie und war am Tag 21 auf 16 (range 0-41) gefallen. Die Response wurde als prozentualer Abfall des Punktwertes auf der HDRS betrachtet vom Tag des Studieneinschlusses (stationäre Aufnahme) bis zum Tag 21 nach Studienbeginn beschrieben. Der mediane prozentuale Abfall auf der HDRS betrug 44% (range -50%-100%). 42% der Patienten zeigten eine Verbesserung ihrer

individuellen HDRS-Punktwerte um mehr als 50% und wurden als Early Responder eingestuft.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede im mittleren Abfall der Punktwerte auf der HDRS zwischen Patienten mit bipolar affektiver Störung und Patienten mit unipolarer Depression festgestellt ($39,4\% \pm 30,2$ vs. $45,4\% \pm 30,5$), ebenso zeichneten sich keine Unterschiede in Abhängigkeit vom Geschlecht (Männer: $47\% \pm 31$, Frauen: $43\% \pm 30$), begleitendem Alkoholabusus, Rauchen oder Alter ab (Spearman Rank Correlation Analysis, $r^2 < 0,01$ für alle Analysen).

3.2.1. Therapieresponse innerhalb der einzelnen Antidepressivaklassen

Die Art der antidepressiven Medikation wurde nicht durch die Studie vorgegeben. Vielmehr sollten die einzelnen Substanzen wie im klinischen Alltag üblich verordnet werden. Die am häufigsten verabreichten Substanzen waren Mirtazapin ($n=59$), SSRI ($n=77$ mit Sertralin $n=15$, Citalopram $n=37$, Paroxetin $n=16$, Fluvoxamin $n=1$, Fluoxetin $n=8$), Venlafaxin ($n=39$) und Trizyklische Antidepressiva (TCA) ($n=37$ mit Amitriptylin $n=16$, Clomipramin $n=2$, Doxepin $n=14$, Trimipramin $n=5$). Zu den verbleibenden Antidepressiva, als „andere“ zusammengefasst, zählten: (Reboxetin $n=7$, Nefazodon $n=1$, Moclobemid $n=1$, Mianserin $n=1$, Johanniskraut $n=1$). Es wurden keine Unterschiede in der Therapieresponse zwischen den fünf großen Medikamentengruppen (Mirtazapin, SSRI, Venlafaxin, TCA, andere) gefunden (Daten siehe Tab. 3.5.).

Bei einigen Patienten wurde die Medikation im Laufe der Studie gewechselt. In diesen Fällen wurden Substanzen, die für mindestens eine Woche vor der zweiten Messung des Punktwertes auf der HDRS am Tag 22 der Studie eingenommen wurden, eingeschlossen, da sie bereits deutlich zum Therapieansprechen beigetragen haben können. Für diese Patienten sind zwei Antidepressiva aufgeführt. Sie wurden nicht von Patienten diskriminiert, die eine zeitgleiche Kombinationstherapie mit zwei antidepressiv wirksamen Medikamenten erhielten. Für die Analyse der medikamentenspezifischen Response ergibt sich somit eine Untergruppe von 31 Patienten, die zwei Medikamente und eine Untergruppe von 2 Patienten, die drei Medikamente im Laufe des Beobachtungszeitraumes eingenommen haben, welche alle zur gesamten Therapieresponse beigetragen haben können. Es wurde kein Unterschied des mittleren prozentualen Abfalls des Punktwertes auf der HDRS zwischen der Untergruppe von Patienten, die mehr als

ein Medikament eingenommen haben (mittlerer prozentualer Abfall auf der HDRS $45\% \pm 30$) und der Gruppe von Patienten, die nur ein Medikament verabreicht bekommen haben (mittlerer prozentualer Abfall auf der HDRS $41\% \pm 33$) festgestellt.

Tab. 3.5. Demographische Daten, Schwere der Depression und Therapieresponse innerhalb der einzelnen Medikamentengruppen

Medikamentengruppe	Mirtazapin	SSRI	TCA	Venlafaxin	Andere
Anzahl Patienten*	58	77	37	39	11
Demographische Daten und initiale Schwere der Depression					
Alter, Median (Range)	45 (19-71)	44 (21-72)	46 (20-69)	46 (19-68)	44 (20-61)
Anteil Frauen (%)	66%	71%	76%	62%	46%
Anzahl vorangegangener depressiver Episoden, Median (Range)	1 (0-20)	2 (0-20)	2 (0-20)	3 (0->20)	2 (0-20)
Anzahl vorangegangener manischer Episoden, Median (Range)	0 (0-5)	0 (0-15)	0 (0-4)	0 (0-25)	0 (0-4)
Summe der HDRS-Skala (Tag 1), Durchschnitt \pm SD	31 ± 8	30 ± 7	31 ± 8	31 ± 8	32 ± 4
Therapieresponse					
Anteil Responder in % (>50% Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen)	40%	44%	51%	41%	36%
Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen (%), Durchschnitt \pm SD	$43 \pm 31\%$	$42 \pm 31\%$	$48 \pm 33\%$	$45 \pm 31\%$	$38 \pm 21\%$

* Die Gesamtzahl überschreitet die Zahl der in die Studie eingeschlossenen Patienten, da Patienten, die mehr als ein Antidepressivum aus unterschiedlichen Klassen erhalten haben, doppelt gezählt wurden.

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in den aufgeführten Parametern zwischen den Medikamentengruppen festgestellt (Kruskal Wallis Test für Mediane, χ^2 -Test für Häufigkeiten Responder).

3.2.2. Therapieresponse in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen

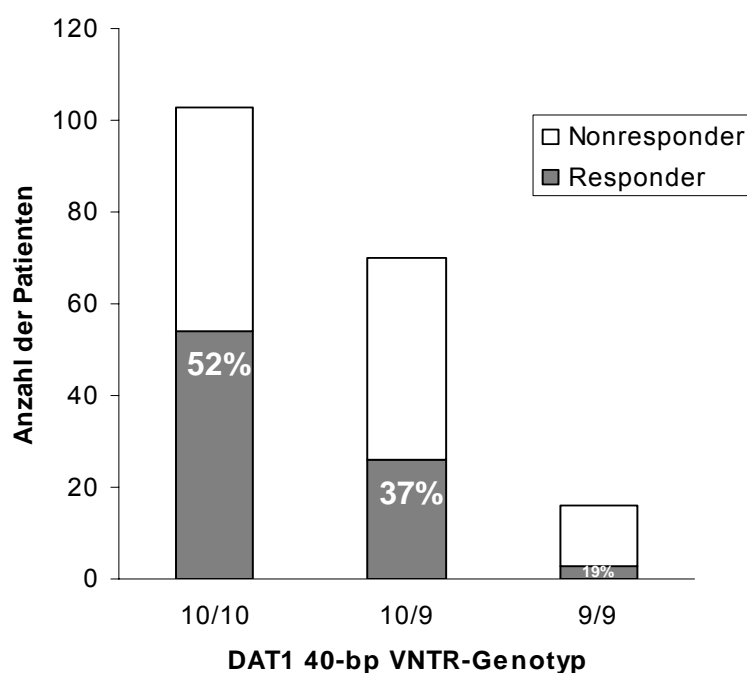
Es befanden sich signifikant weniger Responder unter den homozygoten Trägern des 9-Repeat-Allels des 40-bp VNTR im DAT1-Gen verglichen mit den heterozygoten und homozygoten Trägern des 10-Repeat-Allels (19% vs. 37% vs. 52%, $p=0,0037$, Chi²-Test für Häufigkeiten)(siehe Abb. 3.1.). Der mittlere prozentuale Abfall der Punktwerte auf der HDRS lag bei $32\pm 34\%$ für die Träger des (9/9)-Genotyps vs. $41\pm 29\%$ für Träger des (10/9)-Genotyps und $49\pm 31\%$ für Träger des (10/10)-Genotyps ($p=0,013$, Jonckhere Terpstra Trend Test für Trend $9/9 < 9/10 < 10/10$, zweiseitig) (siehe Tab.3.6.). Verglichen mit der Gruppe homozygoter Träger des 10-Repeat-Allels lag die Odds-Ratio für das Risiko, Nonresponder zu sein, bei 1,9 (95%-Konfidenzintervall: 1,0-3,5) für heterozygote Träger des 10-Repeat-Allels und bei 4,8 (95%-Konfidenzintervall:1,3-18) für homozygote Träger des 9-Repeat-Allels. In einer logistischen Regressionsanalyse, in welche die Variablen Alter, Geschlecht, Art des Antidepressivums, Zahl der vorangegangenen depressiven Episoden, initiale Schwere der depressiven Episode, DAT1-Genotyp und SERT 44-bp *Ins/Del* –Genotyp eingeschlossen wurden, erwies sich einzig der DAT1-Genotyp als signifikanter Prädiktor der Therapieresponse ($p=0,025$).

Beim Vergleich der bipolaren vs. der unipolaren Patienten zeigte sich, dass der 40-bp VNTR im DAT1-Gen bei Patienten mit einer Depression im Rahmen einer bipolar affektiven Störung einen anderen Einfluss auf die Therapieresponse haben könnte als bei Patienten mit unipolarer Depression, die Zahl der eingeschlossenen Patienten mit bipolar affektiver Störung ist jedoch zu klein, um klare Schlüsse zu ziehen. In der Gruppe der Patienten mit unipolarer Depression ($n=168$) befanden sich unter den Trägern des (10/10)-Genotyps 54% ($n=49$) Responder, unter den Trägern des (10/9)-Genotyps 37% ($n=23$) Responder und unter den Trägern des (9/9)-Genotyps 21% ($n=3$) Responder. In der Gruppe der Patienten mit bipolar affektiver Störung wurden hingegen nur 33% ($n=5$) der Träger des (10/10)-Genotyps, aber 43% ($n=3$) der Träger des (10/9)-Genotyps als Responder eingestuft (der (9/9)-Genotyp wurde unter den bipolaren Patienten nicht gefunden).

Tab. 3.6. Demographische Daten, Schwere der Depression und Therapieresponse in Abhängigkeit vom DAT1 40-bp VNTR-Genotyp

DAT1 40-bp VNTR-Genotyp	10/10	10/9	9/9	10/8	Stat. Sign.
Anzahl der Patienten	103	70	16	1	
Demographische Daten und initiale Schwere der Depression					
Alter, Median (Range)	46 (19-70)	44 (20-71)	53 (33-72)	32	n.s.
Anteil Frauen	63%	69%	63%		n.s.
Anzahl vorangegangener depressiver Episoden, (Range)	1 (0-20)	2 (0-20)	3 (0->20)		n.s.
Anzahl vorangegangener manischer Episoden, (Range)	0 (0-15)	0 (0-4)	1 (0->20)		n.s.
SUMHDRS (Tag 1), Durchschnitt±SD	31±8	30±7	28±9		n.s.
Therapieresponse					
Anteil Responder in % (>50% Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen)	52%	37%	19%		0,0037
Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen (%), Durchschnitt±SD	49±31%	41±29%	32±34%		0,013

Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der Chi²-Test für die Häufigkeit der Responder und der Jonckhere Terpstra Trend Test für den prozentualen Abfall auf der HDRS innerhalb der Genotyp-Gruppen benutzt.

Abb. 3.1. Anzahl der Responder und Nonresponder in Abhängigkeit vom DAT1 40-bp VNTR-Genotyp.

3.2.2.1. Medikamentenspezifische Analyse der Therapieresponse in

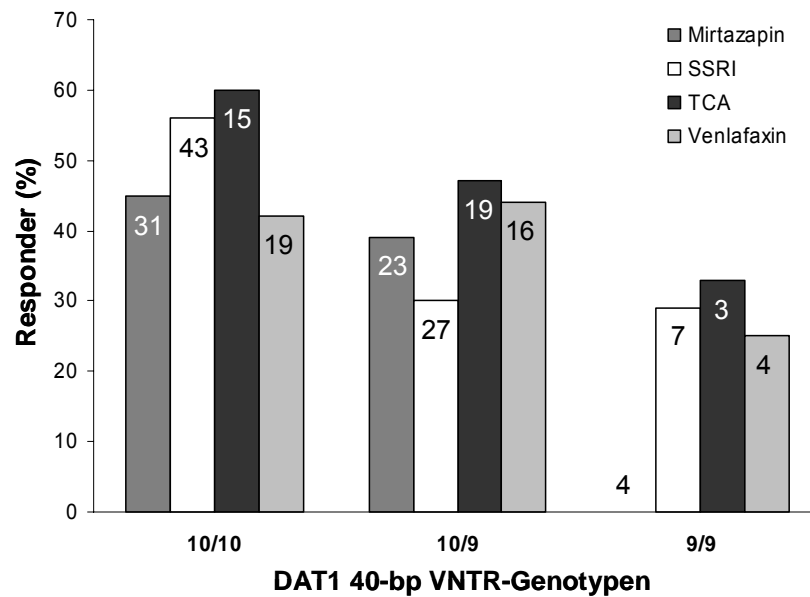
Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen

Für die Analyse des Einflusses des 40-bp VNTR im DAT1-Gen auf die Response auf unterschiedliche Klassen an Antidepressiva wurden die Patienten wie in Kapitel 3.4.1. beschrieben in fünf Gruppen eingeteilt (Mirtazapin, SSRI, TCA, Venlafaxin, „andere“ Antidepressiva). Die Untergruppenanalyse der Response (>50% Abfall auf der HDRS) in Abhängigkeit vom DAT1-Genotyp in den fünf Medikamentengruppen zeigte, dass der größte Einfluss in der Gruppe der SSRI (n=77) vorlag: der mittlere prozentuale Abfall der Punktwerte auf der HDRS lag bei 50±28% unter den (10/10)-Genotyp-Trägern, bei 37±28% unter den (10/9)-Genotyp-Trägern und bei 26±43% unter den (9/9)-Genotyp-Trägern (p=0,026, Jonckhere Terpstra Trend Test). Für Mirtazapin (n=58) lag der mittlere prozentuale Abfall auf der HDRS bei 44±31% unter den (10/10)-Genotyp-Trägern, bei 42±33% unter den (10/9)-Genotyp-Trägern und bei 33±8% unter den (9/9)-Genotyp-Trägern (p=n.s.). In der Gruppe der Trizyklischen Antidepressiva (n=32) lag der mittlere prozentuale Abfall der Punktwerte auf der HDRS unter Trägern des 10-Repeat-Allels bei 53±42% für (10/10)-Genotyp-Träger, bei 44±28% für (10/9)-Genotyp-Träger und bei 38±34% für (9/9)-Genotyp-Träger (p=n.s.). In den Gruppen Venlafaxin und andere Antidepressiva wurden keine Unterschiede in der Response zwischen den Untergruppen abhängig vom DAT1-Genotyp festgestellt.

Der Effekt des DAT1-Genotyps auf die Zahl der Responder in den einzelnen Gruppen war dagegen unabhängig von der Klasse des verabreichten Antidepressivums (siehe Abb. 3.2.).

Es lagen ebenfalls keine Unterschiede in der Verteilung der DAT1-Genotypen zwischen der Gruppe der Patienten, die mehr als ein Antidepressivum eingenommen haben (diese könnten die *difficult-to-treat*-Patienten darstellen) und der Gruppe der Patienten mit Monotherapie vor.

Abb. 3.2. Prozentualer Anteil der Responder in den einzelnen Genotypgruppen des DAT1 40-bp VNTR in Abhängigkeit von der Klasse des verabreichten Antidepressivums



Die Zahlen in den Säulen geben die exakte Zahl der Patienten in den einzelnen Genotypgruppen wieder. $P=0,037$ nach logistischer Regressionsanalyse

3.2.2.2. Analyse des langfristigen Therapieerfolgs (*Long Term Outcome*) in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen

Für die Einschätzung des langfristigen Therapieerfolgs (*Long Term Outcome*) wurde die Zahl der Patienten, die innerhalb von sechs Monaten nach Entlassung aus dem Krankenhaus wegen einer erneuten depressiven Episode stationär aufgenommen werden mussten, mit der Zahl der Patienten, die in der Lage waren, nach Remission zu arbeiten, verglichen. Von 77 Patienten wurden 10 (13%) innerhalb von sechs Monaten erneut stationär behandelt, während 22 (29%) arbeiten gehen konnten. Es fanden sich keine vom DAT1-Genotyp abhängigen Unterschiede in diesen Parametern.

Wie erwartet lag jedoch die Rate der Patienten, die ihre Arbeit wieder aufnehmen konnten, in der Gruppe der Early Responder signifikant höher als in der Gruppe der Nonresponder (43% vs. 19%, $p=0,036$).

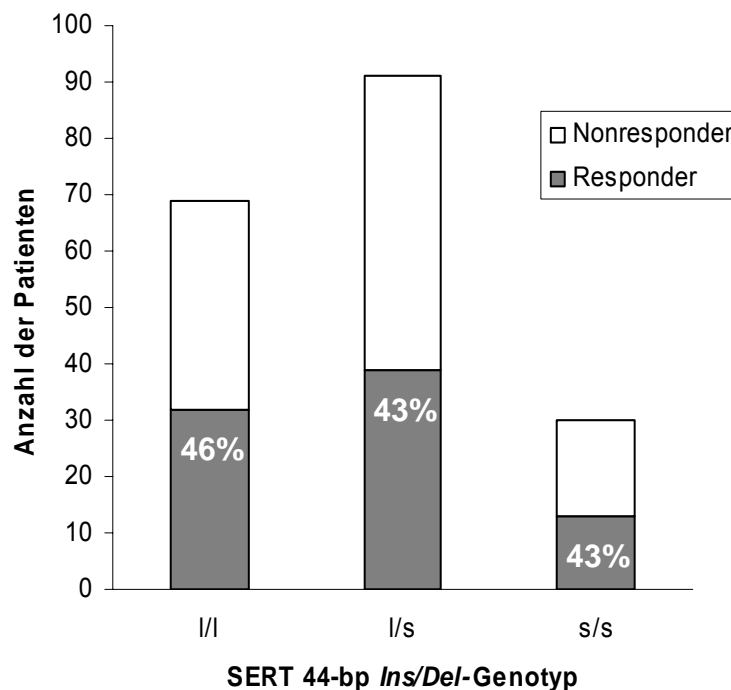
3.2.3. Therapieresponse in Abhängigkeit von der 44-bp *Insertions/Deletions*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens

In der Medikamentenübergreifenden Analyse zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der 44-bp *Insertions/Deletions*-Mutation und dem Therapieerfolg. 46% der Träger des (l/l)-Genotyps und jeweils 43% der Träger des (l/s)- bzw. (s/s)-Genotyps wurden als Responder eingestuft (siehe Abb. 3.3.). Der mittlere prozentuale Abfall der Punktwerte auf der HDRS lag bei $45\pm 28\%$ für Träger des (l/l)-Genotyps, $44\pm 32\%$ für Träger des (l/s)-Genotyps und $45\pm 33\%$ für Träger des (s/s)-Genotyps (siehe Tab. 3.7.). Unter den Patienten, die SSRI einnahmen, zeigte sich ein statistisch nicht signifikanter Trend zu besserem Therapieansprechen bei homozygoten und heterozygoten Trägern des (l)-Allels. Mit einem Anteil von 27% befanden sich unter den Trägern des (s/s)-Genotyps weniger Responder als unter den Trägern des (l/l)- und (l/s)-Genotyps mit einem Anteil von 47% ($p=n.s.$). Der mittlere prozentuale Abfall der Punktwerte auf der HDRS lag bei $39\pm 29\%$ unter den homozygoten Trägern des (s)-Allels und bei $44\pm 32\%$ unter den Trägern des (l/l)- und (l/s)-Genotyps ($p=n.s.$). In den Gruppen der Patienten, die Mirtazapin, Venlafaxin, Trizyklika oder andere Antidepressiva eingenommen hatten, konnten ebenfalls keine Unterschiede in der Response zwischen den einzelnen Genotypgruppen festgestellt werden.

Tab. 3.7. Demographische Daten, Schwere der Depression und Therapieresponse in Abhängigkeit vom 44-bp *Ins/Del*-Polymorphismus in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens

SERT 44-bp <i>Ins/Del</i> -Genotyp	l/l	l/s	s/s	stat. Sign.
Anzahl der Patienten	69	91	30	
Demographische Daten und initiale Schwere der Depression				
Alter, Median (Range)	46 (19-70)	46 (19-72)	45 (20-69)	n.s.
Anteil Frauen	58%	75%	50%	n.s.
Anzahl vorangegangener depressiver Episoden, Median (Range)	2 (0-20)	2 (0-20)	3 (0-20)	n.s.
Anzahl vorangegangener manischer Episoden, Median (Range)	0 (0-15)	0 (0->20)	1 (0-3)	n.s.
Summe der HDRS-Skala (Tag 1), Durchschnitt±SD	31±8	30±7	29±8	n.s.
Therapieresponse				
Anteil Responder in % (>50% Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen)	46%	43%	43%	n.s.
Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen (%), Durchschnitt±SD	45±28%	44±32%	45±33%	n.s.

Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der Chi²-Test für die Häufigkeit der Responder und der Jonckhere Terpstra Trend Test für den prozentualen Abfall auf der HDRS innerhalb der Genotyp-Gruppen benutzt.

Abb. 3.3. Anzahl der Responder und Nonresponder in Abhängigkeit vom SERT 44-bp *Ins/Del*-Genotyp.

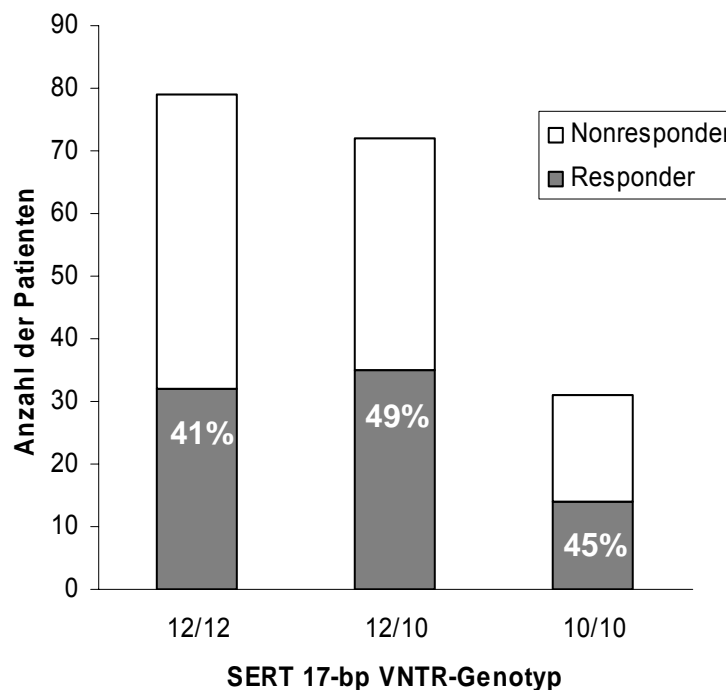
3.2.4. Therapieresponse in Abhängigkeit vom 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens

Es konnte kein Zusammenhang zwischen den einzelnen Genotypen des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens und der Response auf die antidepressive Medikamententherapie aufgedeckt werden. Homozygote Träger des 12-Repeat-Allels (12/12) zeigten nach drei Wochen einen mittleren prozentualen Abfall der Summenpunktwerte auf der HDRS von $43\pm 31\%$, heterozygote Träger eines 12- und eines 10-Repeat-Allels (12/10) zeigten einen Abfall von $47\pm 32\%$ und homozygote Träger des 10-Repeat-Allels (10/10) zeigten einen Abfall von $45\pm 27\%$. Der Anteil der Responder in den einzelnen Genotypgruppen lag bei 41% für den (12/12)-Genotyp, bei 49% für den (12/10)-Genotyp und bei 45% für den (10/10)-Genotyp (Übersicht siehe Tab. 3.8. und Abb. 3.4.). Patienten, die Träger eines 9-Repeat-Allels waren, wurden wegen der kleinen Zahl ($n=8$) nicht mit in die Auswertung eingeschlossen. Auch in den Medikamentenuntergruppen zeigte sich keine Assoziation der Therapieresponse mit dem 17-bp VNTR-Genotyp. Weder der mittlere prozentuale Abfall der Summenpunktwerte auf der HDRS noch der Anteil der Responder in den Untergruppen waren mit den einzelnen Genotypen des 17-bp VNTR korreliert.

Tab.3.8. Demographische Daten, Schwere der Depression und Therapieresponse in Abhängigkeit vom 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens

SERT 17-bp VNTR-Genotyp	12/12	12/10	10/10	12/9	10/9	Stat.Sign.
Anzahl der Patienten	79	72	31	2	6	
Demographische Daten und initiale Schwere der Depression						
Alter, Median (Range)	46 (21-67)	43 (19-72)	47 (19-72)	46(43-49)	47(38-60)	n.s.
Anteil Frauen	71%	57%	71%			n.s.
Anzahl vorangegangener depressiver Episoden, Median (Range)	2 (0->20)	2 (0-20)	1 (0-15)			n.s.
Anzahl vorangegangener manischer Episoden, Median (Range)	0 (0->20)	0 (0-5)	0 (0-4)			n.s.
Summe der HDRS-Skala (Tag 1), Durchschnitt±SD	29±8	31±8	31±7			n.s.
Therapieresponse						
Anteil Responder in % (>50% Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen)	41%	49 %	45%			n.s.
Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen (%), Durchschnitt±SD	43±31%	47±32%	45±27%			n.s.

Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der Chi²-Test für die Häufigkeit der Responder und der Jonckhere Terpstra Trend Test für den prozentualen Abfall auf der HDRS innerhalb der Genotyp-Gruppen benutzt.

Abb. 3.4. Anzahl der Responder und Nonresponder in Abhängigkeit vom SERT 17-bp VNTR-Genotyp

3.2.5. Therapieresponse in Abhängigkeit von den Polymorphismen -182T>C in der Promoterregion und 1287G>A im Exon 9 des NET-Gens

Auch für die Polymorphismen im NET-Gen konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Response auf die antidepressive Therapie festgestellt werden.

40% der Träger des G/G-Genotyps, 44% der Träger des G/A-Genotyps und 60% der Träger des A/A-Genotyps des 1287G>A-Polymorphismus wurden nach 3 Wochen als Responder eingestuft (siehe Abb. 3.6.). Der mittlere prozentuale Abfall auf der HDRS lag bei 43±32% für Träger des G/G-Genotyps, bei 41±29% für Träger des G/A-Genotyps und bei 44±29% für Träger des A/A-Genotyps (Übersicht siehe Tab.3.9.).

Des Weiteren zeigten 43% der Träger des T/T-Genotyps, 45% der Träger des T/C-Genotyps und 50% der Träger des C/C-Genotyps des -182T>C-Polymorphismus nach 3 Wochen eine Response auf die antidepressive Therapie (siehe Abb. 3.5.). Der mittlere prozentuale Abfall auf der HDRS betrug hierbei 41±29% für Träger des T/T-Genotyps, 43±30% für Träger des G/A-Genotyps und 48±42% für Träger des C/C-Genotyps (Übersicht siehe Tab 3.10.). Keines der aufgeführten Ergebnisse erreichte statistische Signifikanz.

Für eine Untergruppenanalyse wurden die Daten von Patienten, die noradrenerg wirkende Antidepressiva erhalten hatten, gesondert ausgewertet. In dieser Untergruppe waren Trizyklika mit n=37, Mirtazapin mit n=58, Venlafaxin mit n=39 und Reboxetin mit n=7 vertreten, die Gesamtzahl der verabreichten noradrenergen Antidepressiva belief sich auf 141. Für den 1287G>A-Polymorphismus im Exon 9 ergab sich ein statistisch nicht signifikanter Trend hin zu besserer Response bei homozygoten Trägern des mutierten Allels: der mittlere prozentuale Abfall der Summenpunktwerte auf der HDRS nach drei Wochen betrug 42±32% unter Trägern des G/G-Genotyps, 47±30% unter Trägern des G/A-Genotyps und 54±28% unter Trägern des A/A-Genotyps (p=n.s.). Der Anteil der Responder lag bei 40%, 45% und 64% respektive (p=n.s.).

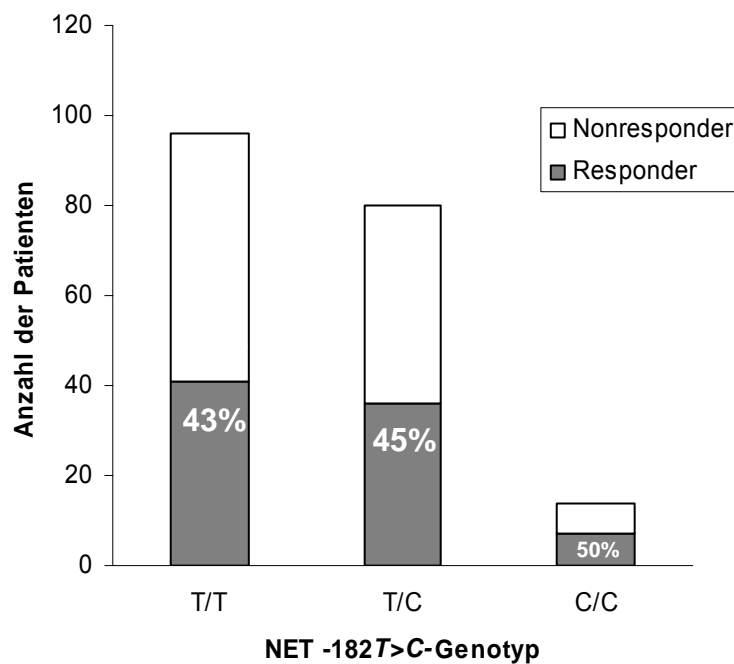
Für den -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion des NET-Gens ergaben sich keine Unterschiede in der Response in Abhängigkeit vom Genotyp. Der mittlere prozentuale Abfall der Summenpunktwerte auf der HDRS nach drei Wochen betrug 46±29% unter Trägern des T/T-Genotyps, 45±31% unter Trägern des T/C-Genotyps

und 43±38% unter Trägern des C/C-Genotyps. Der Anteil der Responder in den einzelnen Genotypgruppen lag bei jeweils 46%, 42% und 43%.

Tab. 3.9. Demographische Daten, Schwere der Depression und Therapieresponse in Abhängigkeit vom -182T>C-Genotyp in der Promoterregion des NET-Gens

NET -182T>C-Genotyp	<i>T/T</i>	<i>T/C</i>	<i>C/C</i>	stat. Sign.
Anzahl der Patienten	96	80	14	
Demographische Daten und initiale Schwere der Depression				
Alter, Median (Range)	49 (19-72)	44 (20-69)	42 (27-58)	n.s.
Anteil Frauen	66%	64%	64%	n.s.
Anzahl vorangegangener depressiver Episoden, Median (Range)	2 (0->20)	1 (0- 20)	1 (0-20)	n.s.
Anzahl vorangegangener manischer Episoden, Median (Range)	0 (0- >20)	0 (0-15)	0 (0)	n.s.
Summe der HDRS-Skala (Tag 1), Durchschnitt±SD	31±7	29±8	33±5	n.s.
Therapieresponse				
Anteil Responder in % (>50% Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen)	43%	45%	50%	n.s.
Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen (%), Durchschnitt±SD	41±29%	43±30%	48±42%	n.s.

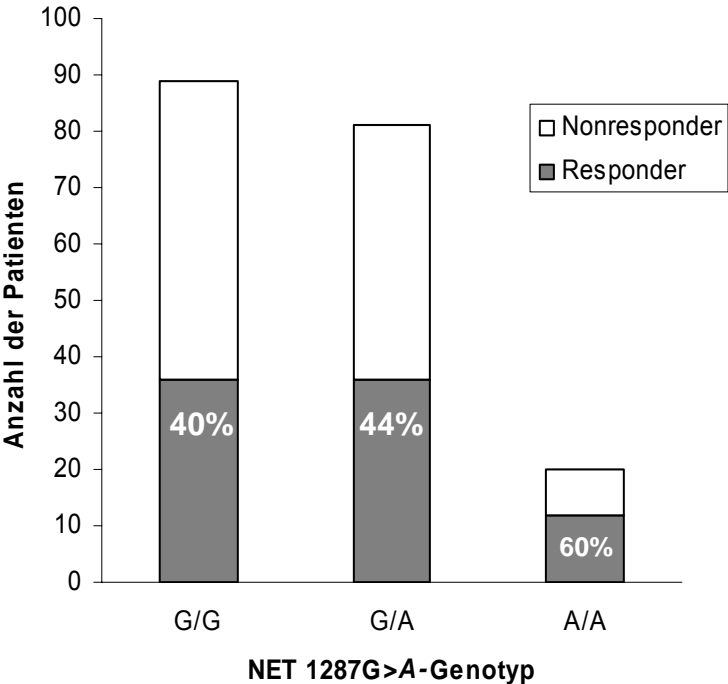
Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der Chi²-Test für die Häufigkeit der Responder und der Jonckhere Terpstra Trend Test für den prozentualen Abfall auf der HDRS innerhalb der Genotyp-Gruppen benutzt.

Abb. 3.5. Anzahl der Responder und Nonresponder in Abhängigkeit vom NET -182T>C-Genotyp**Tab 3.10.** Demographische Daten, Schwere der Depression und Therapieresponse in Abhängigkeit vom 1287G>A-Genotyp im Exon 9 des NET-Gens

NET 1287G>A-Genotyp	G/G	G/A	A/A	stat.Sign.
Anzahl der Patienten	89	81	20	
Demographische Daten und initiale Schwere der Depression				
Alter, Median (Range)	46 (20-72)	46 (19-69)	43 (33-62)	n.s.
Anteil Frauen	64%	64%	70%	n.s.
Anzahl vorangegangener depressiver Episoden, Median (Range)	2 (0-20)	2 (0->20)	2 (0-8)	n.s.
Anzahl vorangegangener manischer Episoden, Median (Range)	0 (0-5)	0 (0->20)	0 (0-4)	n.s.
Summe der HDRS-Skala (Tag 1), Durchschnitt±SD	31±7	31±8	28±8	n.s.
Therapieresponse				
Anteil Responder in % (>50% Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen)	40%	44%	60%	n.s.
Abfall auf der HDRS nach 21 Tagen (%), Durchschnitt±SD	43±32%	41±29%	44±29%	n.s.

Für die Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der Chi²-Test für die Häufigkeit der Responder und der Jonckhere Terpstra Trend Test für den prozentualen Abfall auf der HDRS innerhalb der Genotyp-Gruppen benutzt.

Abb. 3.6. Anzahl der Responder und Nonresponder in Abhängigkeit vom NET 1287G>A-Genotyp



4. Diskussion

4.1. Häufigkeitsverteilung der untersuchten Varianten im DAT1-, SERT- und NET-Gen und Vergleich mit der Kontrollgruppe

4.1.1. Häufigkeitsverteilung der Genotypen des 40-bp VNTR im DAT1-Gen

Zahlreiche Studien weisen auf eine veränderte Expression, Verteilung und Funktion des Dopamintransporters im Gehirn von depressiven Patienten hin (Brunswick et al., 2003, Jiao et al., 2003, Sheggi et al., 2002, Klimek et al., 2002, Meyer et al., 2001, Neumeister et al., 2001, Laasonen-Balk et al., 1999) und lassen somit das Dopamintransportergen als geeignetes Kandidatengen für depressive Störungen erscheinen.

In der vorliegenden Studie konnten keine Hinweise auf eine Assoziation des 40-bp VNTR im DAT1-Gen mit dem Risiko für das Vorliegen einer Depression gezeigt werden. Die ermittelten Genotyphäufigkeiten und Allelfrequenzen sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe unterschieden sich nicht von in anderen Populationsstudien an gesunden Kaukasiern beschriebenen Häufigkeitsverteilungen (Kang et al., 1999). Auch der Schweregrad der Depression bei Aufnahme in die Studie konnte nicht mit dem 40-bp VNTR-Genotyp in Zusammenhang gebracht werden.

In einer größeren Anzahl von Assoziationsstudien konnte in Übereinstimmung mit den Resultaten der vorliegenden Studie kein Zusammenhang des 40-bp VNTR im DAT1-Gen mit affektiven Störungen hergestellt werden (Manki et al., 1996, Frisch et al., 1999, Georgieva et al., 2002, Bocchetta et al., 1999, Kirov et al., 1999a, Souery et al., 1996, Gomez-Casero et al., 1996). Im Gegensatz dazu stehen jedoch einige Studien, deren Ergebnisse auf eine Assoziation des 40-bp VNTR im DAT1-Gen mit dem Auftreten einer bipolar affektiven Störung hindeuten (Greenwood et al., 2001, Waldman et al., 1997, Kelsoe et al., 1996). In der vorliegenden Studie war bei ca. 15% der Patienten eine bipolar affektive Erkrankung bekannt. Dies entspricht der üblicherweise beschriebenen Häufigkeit der bipolaren Erkrankung unter depressiven Patienten (Bauer et al, 2002, Berger, 1999)). Mit einer Größe von 22 Personen ist die Gruppe der bipolaren Patienten jedoch zu klein, um signifikante Unterschiede in der Allelfrequenz im Vergleich zu den unipolaren Patienten oder zur Kontrollgruppe erkennen zu können. Vielfach wird zwar von einer strikten Trennung der unipolaren Depression von der bipolar affektiven Störung ausgegangen, mehrere Studien stellen

diese strenge Einteilung jedoch in Frage und kommen zu dem Schluss, dass es sich bei der unipolaren Depression und der bipolar affektiven Störung um verschiedene Manifestationen einer gleichen genetischen Prädisposition handeln könnte (Waldman et al., 1997, Benazzi, 2005). Gestützt wird diese Annahme zum Einen durch die Überlappung der klinischen Symptome beider Krankheitsbilder (Benazzi, 2005), zum Anderen durch die Beobachtung, dass Angehörige von Patienten mit bipolar affektiver Störung ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung sowohl bipolar als auch unipolar affektiver Erkrankungen tragen (Nürnberger und Gershon, 1992, Gershon, 1990, McGuffin und Katz 1989). Zukünftige Untersuchungen müssen zeigen, welche Faktoren über die unterschiedliche Ausprägung der klinischen Symptome bei affektiven Erkrankungen entscheiden.

Mit einem Umfang von 190 Patienten und 190 Kontrollprobanden liegt die vorliegende Studie bezüglich ihrer Fallzahl im Bereich vergleichbarer Assoziationsstudien, erreicht aber sicher nicht die optimale Größe, die nötig gewesen wäre, um einen möglicherweise vorhandenen geringen Einfluss eines einzelnen Polymorphismus auf das Risiko für das Auftreten einer Depression aufzuzeigen. Die Probanden im Patienten- und im Kontrollkollektiv waren bezüglich ihres ethnischen Hintergrundes weitgehend homogen (ausschließlich Kaukasier) und im Geschlechterverhältnis ausgeglichen. Das durchschnittliche Alter der Studienteilnehmer in der Patienten- und der Probandengruppe unterschied sich zwar um 5 Jahre (Patienten: 46 Jahre, Probanden: 41 Jahre), so dass letztlich die Fehlermöglichkeit besteht, dass eine Zahl der als gesund eingestuften Kontrollprobanden in den nächsten Jahren an einer Depression erkrankt. Es ist jedoch nicht davon auszugehen, dass dieser Altersunterschied das Ergebnis maßgeblich beeinflusste.

4.1.2. Häufigkeitsverteilung der Genotypen der 44-bp *Insertions/Deletions*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens

In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass die Dichte und Funktion des Serotonintransporters, der eine zentrale Rolle in der Regulation der serotonergen Neurotransmission spielt, im Gehirn depressiver Patienten verändert ist (Mann et al., 2000, Malison et al., 1998, Heinz et al., 2002, Parsey et al., 2006).

Die in dieser Studie ermittelten Allelfrequenzen für die 44-bp *Insertions-/Deletions*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des Serotonintransportergens

stimmen mit in anderen kaukasischen Studienpopulationen beschriebenen Frequenzen überein (Heils et al., 1996, Lesch et al., 1996, Collier et al., 1996b). Es konnte keine Assoziation der 44-bp *Ins/Del*-Mutation mit dem Schweregrad bzw. dem Auftreten einer Depression aufgedeckt werden. Diese Resultate stehen im Einklang mit einer großen Zahl an Studien, die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der 44-bp *Ins/Del*-Mutation und dem Auftreten einer Depression herstellen konnten (Rees et al., 1997, Kunugi et al., 1997, Esterling et al., 1998, Gutiérrez et al., 1998, Ohara et al., 1998, Hoehe et al., 1998, Ewald et al., 1998, Vincent et al., 1999, Frisch et al., 1999, Minov et al., 2001).

Im Widerspruch dazu stehen zwei Studien von Furlong et al. und Collier et al., die ein gehäuftes Auftreten des mit einer erniedrigten Genexpression verbundenen (s)-Allels in zwei heterogenen Kollektiven von Patienten mit unipolarer Depression und bipolar affektiver Störung aufzeigen, wobei der Effekt auf das relative Risiko mit einem Odds-Quotienten von 1,2 in beiden Studien sehr klein bleibt (Furlong et al., 1998, Collier et al., 1996b). Die Ergebnisse dieser Studien können zwar gut mit Beobachtungen über eine erniedrigte Zahl an Serotonintransporterbindungsstellen sowohl im präfrontalen Cortex und im Diencephalon von depressiven Patienten als auch in der Rapheregion des Hirnstamms von alkoholabhängigen Patienten mit Depression in Übereinstimmung gebracht werden (Mann et al., 2000, Malison et al., 1998, Heinz et al., 2002, Parsey et al., 2006). Angesichts der überaus großen Zahl an Assoziationsstudien mit negativem Ergebnis, denen auch die vorliegende Studie zugerechnet werden muss, erscheint es jedoch sehr unwahrscheinlich, dass das (s)-Allel der 44-bp *Ins/Del*-Mutation ein bedeutsames Risiko für die Entstehung affektiver Erkrankungen darstellt. Auch ein neu entdeckter SNP im sechsten Repeat der 44-bp *Ins/Del*-Mutation, der offenbar ebenfalls die Genexpression beeinflusst, zeigte keine Korrelation mit dem Auftreten einer Depression (Parsey et al., 2006). Eine Studie von Mynnett-Johnson et al. zeigte hingegen eine Assoziation eines Multimarkerhaplotypen innerhalb des SERT-Gens, der auch die 44-bp *Ins/Del*-Mutation umfasst, mit der bipolar affektiven Störung auf und verdeutlicht damit, dass möglicherweise eher die Summe einer Vielzahl von Genen mit kleinem Effekt, zu denen auch die 44-bp *Ins/Del*-Mutation gehören könnte, zum Risiko für das Auftreten einer affektiven Erkrankung beiträgt (Mynnett-Johnson et al., 2000). Weitere Studien deuten wiederum darauf hin, dass ein möglicher Einfluss der 44-bp *Ins/Del*-Mutation auf das Risiko für eine Depression auch durch persönliche Charaktereigenschaften

wie Ängstlichkeit und neurotisches Verhalten aber auch traumatische Lebenserfahrungen moduliert sein könnte (Caspi et al., 2003, Lesch et al., 1996, Serretti et al., 2006, Munafò et al., 2006, Wilhelm et al., 2006).

4.1.3. Häufigkeitsverteilung der Genotypen des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens

Für den 17-bp VNTR im Intron 2 des Serotonintransportergens fand sich zwar ein Unterschied in der Verteilung des 12-Repeat-Allels zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe mit einer signifikant niedrigeren Allelfrequenz in der Kontrollgruppe ($p=0,004$). Der Odds-Quotient für das Risiko einer Depression lag für das 12-Repeat-Allel jedoch nur bei 1,2 (95%-Konfidenzintervall: 0,94-1,21) und spricht daher nicht dafür, dass das 12-Repeat-Allel in dieser Studie mit einem erhöhten Risiko für eine Depression assoziiert ist. Bezüglich der Genotypenverteilung und der initialen Schwere der Depression konnten keine Unterschiede zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt werden. Die Ursache für den Unterschied in der Allelfrequenz liegt am ehesten in einer veränderten Allelverteilung in der Kontrollgruppe: so trat das 12-Repeat-Allel mit 53,7% in der Kontrollgruppe dieser Studie erheblich seltener als in Kontrollkollektiven anderer Studien (60,2% in Hoehe et al., 1998, 59,3% in Ogilvie et al., 1996, 61,6% in Bellivier et al., 1997, 68,2% in Gutiérrez et al., 1998) auf. Demgegenüber unterschied sich die Auftretenshäufigkeit des 12-Repeat-Allels in der Patientengruppe mit 61,1% nicht von in anderen Studien beschriebenen Häufigkeiten. Das vorliegende Ergebnis spricht demnach nicht dafür, dass das 12-Repeat-Allel in der vorliegenden Studie mit dem Vorliegen einer Depression korreliert. Sowohl die Patienten als auch die Kontrollprobanden waren ausschließlich kaukasischen Ursprungs, sodass ethnische Unterschiede als Ursache für die abweichende Allelverteilung in der Kontrollgruppe unwahrscheinlich sind. Eher kann davon ausgegangen werden, dass eine zufällige Verschiebung der Allelverteilung in der Kontrollgruppe durch die begrenzte Zahl an Kontrollprobanden ($n=190$) begünstigt wurde.

Der Einfluss des 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens auf das Risiko der Entstehung affektiver Erkrankungen bleibt auch in der Literatur unklar. Ogilvie et al. beschrieben in einer sehr kleinen Gruppe von 39 Patienten mit unipolarer Depression eine signifikant erhöhte Frequenz des seltenen 9-Repeat-Allels im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (Ogilvie et al., 1996). In weiteren Studien konnte eine

Assoziation des 12-Repeat-Allels mit der bipolar affektiven Störung gezeigt werden (Collier et al., 1996a, Rees et al., 1997, Kirov et al., 1999b). Demgegenüber stehen mehrere Studien, die keine Assoziation des 17-bp VNTR mit affektiven Erkrankungen (Kunugi et al., 1996, Stöber et al., 1996a, Furlong et al., 1998, Hoehe et al., 1998, Bellivier et al., 1997, Gutiérrez et al., 1998, Bocchetta et al., 1999, Mynnett-Johnson et al., 2000) nachweisen konnten und im Einklang mit dem Ergebnis der vorliegenden Studie in der Summe eher gegen einen bedeutenden Einfluss des 17-bp VNTR auf das Risiko für affektive Störungen sprechen.

4.1.4. Häufigkeitsverteilung der Genotypen im NET-Gen

Beobachtungen einer erniedrigten Dichte des Noradrenlintransporters im Gehirn depressiver Patienten (Klimek et al., 1997) und die Tatsache, dass der Noradrenalintransporter ein wichtiges Zielprotein für zahlreiche Antidepressiva darstellt (Richelson, 2003), lassen auch das NET-Gen als mögliches Kandidatengen für affektive Erkrankungen erscheinen.

In dieser Studie konnten keine Anhaltspunkte für eine Assoziation der beiden hoch polymorphen Varianten *-182T>C* und *1287G>A* und der Missense-Mutationen *Val69Ile* (Exon 1), *Thr99Ile* (Exon 2) und *Val245Ile* (Exon 4) mit dem Risiko für das Auftreten einer Depression gefunden werden. Weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe wurden die Mutationen *Val449Ile* (Exon 9) und *Gly478Ser* (Exon 10) nachgewiesen. Die ermittelten Allel- und Genotyphäufigkeiten stimmten mit den in anderen kaukasischen Populationen beschriebenen Häufigkeiten überein (Stöber et al., 1996, Zill et al., 2002).

Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Einklang mit mehreren Studien, die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem *1287G>A*- Polymorphismus im Exon 9 des NET-Gens (Owen et al., 1999, Leszczynska-Rodziewicz et al., 2002, Zill et al., 2002) bzw. den genannten Missense-Mutationen (Stöber et al., 1996) und der Suszeptibilität für affektive Erkrankungen herstellen konnten.

Studien zum *-182T>C*-Polymorphismus in der Promoterregion des NET-Gens führten hingegen zu widersprüchlichen Ergebnissen: während in einer Studie an 112 koreanischen Patienten der Genotyp *T/T* im Vergleich zu allen anderen auftretenden Genotypen mit einem niedrigeren Risiko für das Vorhandensein einer Depression assoziiert war (Ryu et al., 2004), traf dies in einer Studie an 145 japanischen Patienten für den Genotyp *C/C* zu (Inoue et al., 2004). Zill et al. hingegen fanden in

einer Gruppe von 193 deutschen Patienten keine Anhaltspunkte für eine Verbindung des $-182T>C$ Polymorphismus mit dem Risiko für Depression (Zill et al., 2002), was die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstützt. Es werden weitere Studien mit einer möglichst großen Zahl an Teilnehmern nötig sein, um zu klären, ob der $-182T>C$ Polymorphismus in der Promoterregion des NET-Gens für die Entwicklung einer Depression von Bedeutung ist.

Es ist mittlerweile unbestritten, dass die depressive Störung neben zahlreichen weiteren Faktoren, die für die Pathogenese bedeutsam sind, eine multigenetische Grundlage hat. Eine Vielzahl an Genen mit kleinem Effekt tragen vermutlich zur genetischen Suszeptibilität für die Entwicklung einer Depression bei. Dass Polymorphismen in Monoamintransportergenen hierbei eine Rolle spielen, kann nicht ausgeschlossen werden, ein prominenter Effekt ist jedoch in Anbetracht der Ergebnisse sowohl der vorliegenden Studie als auch zahlreicher weiterer Studien unwahrscheinlich.

4.2. Die Therapieresponse

In der vorliegenden Studie wurde die Response auf die antidepressive Therapie bereits nach 3 Wochen anhand des Abfalls des Summenpunktwertes auf der HDRS eingeschätzt. In zahlreichen klinischen Studien wird die Therapieresponse hingegen erst nach einem Zeitraum von 4-6 Wochen nach Therapiebeginn gemessen. Die relativ zeitige Einschätzung der Response in der vorliegenden Studie schien jedoch angebracht, da bereits in mehreren Studien eine deutliche Korrelation zwischen zeitiger Response auf ein Antidepressivum und finalem Therapieerfolg nachgewiesen werden konnte und eine effektive antidepressive Medikamententherapie möglichst bereits nach einer kürzeren Zeitspanne als 4-6 Wochen wirksam werden sollte (Nierenberg et al., 2000, Nierenberg et al., 2004, Szegedi et al., 2005, Binder et al., 2004).

In der vorliegenden Studie wiesen 42% der Patienten nach 3 Wochen einen Punktwerteabfall von mehr als 50% auf der HDRS auf und wurden entsprechend als Responder eingestuft. Der mittlere Wert für den Abfall auf der HDRS im Patientenkollektiv lag zu diesem Zeitpunkt bei 44%, 18 Patienten zeigten gar kein Ansprechen auf die Therapie bei Verschlechterung ihrer Krankheitssymptome. Im

Vergleich hierzu lag der mittlere prozentuale Abfall auf der HDRS in einer pharmakogenetischen Studie an mexikanisch-stämmigen amerikanischen Tagesklinikpatienten mit Depression nach 3-wöchiger Behandlung mit Fluoxetin bzw. Desipramin bei 30% (Licinio et al., 2004). In einer weiteren Studie zu einem *Val/Met*-Polymorphismus im Gen für die Catechol-O-Methyltransferase zeigten die Patienten nach 3 Wochen Therapie mit Mirtazapin einen mittleren prozentualen Abfall der Punktwerte auf der HDRS-17 von 38% (Szegedi et al., 2005), was den Ergebnissen der vorliegenden Studie entspricht. Der Vergleich mit diesen Studien zeigt, dass das Patientenkollektiv der vorliegenden Studie eine typische Therapieresponserate aufweist.

Die Art der verabreichten antidepressiven Medikamente wurde nicht durch das Studiendesign vorgegeben. Zwischen den fünf Medikamentenuntergruppen, in welche die verabreichten Antidepressiva eingeteilt worden waren, wurden keine Unterschiede in den Response-Raten festgestellt, was Beobachtungen aus einer Untersuchung von Wong et al. entspricht und die Hypothese unterstützt, dass unterschiedliche Medikamentenklassen wie SSRI, SNRI, NaSSA und andere ihre Wirkung jenseits der primären Medikamentenbindungsstellen auf einer gemeinsamen funktionellen Endstrecke entfalten (Wong et al., 2004).

4.2.1. Therapieresponse in Abhängigkeit vom 40-bp VNTR im DAT1-Gen

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass dopaminerge Mechanismen eine Rolle im Wirkmechanismus von Antidepressiva spielen und die Verfügbarkeit des Dopamintransporters im Gehirn durch Antidepressiva verschiedener Klassen beeinflusst wird (Smith et al., 2000, Kugaya et al., 2003, Ichikawa et al., 1995, Willner et al., 2005, Zhou et al., 2005, Papakostas, 2006). Studien, die eine mögliche Assoziation des 40-bp VNTR im DAT1-Gen mit dem Therapieansprechen auf Antidepressiva untersuchen, lagen bisher jedoch nicht vor.

Die Response auf die medikamentöse Therapie mit Antidepressiva in dieser Studie variierte in Abhängigkeit von der Zahl der Repeats im 40-bp VNTR des DAT1-Gens entsprechend einem „Gendosis“-Schema: das 9-Repeat-Allel war mit einem im Vergleich mit dem 10-Repeat-Allel signifikant geringeren Ansprechen auf die Therapie mit Antidepressiva assoziiert. Dieses Ergebnis ist gut mit Befunden einer erhöhten Expression und Translation von DAT1 im Zusammenhang mit dem 10-

Repeat-Allel zu vereinbaren (Mill et al., 2002, Fuke et al., 2001, Miller und Madras, 2002, Heinz et al., 2000).

Der Einfluss des 40-bp VNTR im DAT1-Gen auf das Therapieansprechen gemessen am mittleren prozentualen Abfall der Punkte auf der HDRS war in der Gruppe der Patienten, die mit SSRI behandelt worden waren, am größten. Aber auch die Response auf Mirtazapin, Venlafaxin und Trizyklika wurde, wenn auch in geringerem Ausmaß, durch den VNTR beeinflusst. So war der Effekt des DAT1-Genotyps auf die Anzahl der Responder unabhängig von der Klasse des verabreichten Antidepressivums. Dieser Befund unterstützt ebenfalls die oben genannte Hypothese, dass Antidepressiva unterschiedlicher Klassen jenseits ihrer Bindung an die jeweils unterschiedlichen Zielproteine über letztlich gleiche Mechanismen zu Veränderungen der synaptischen Plastizität führen und somit Polymorphismen in Molekülen, die den primären Zielproteinen von Antidepressiva nachgeschaltet sind, in ihrem Einfluss nicht auf einzelne Wirkstoffe begrenzt sind (Wong et al., 2004, Manji et al., 2003). Auf welche Weise der Dopamintransporter und das DAT1-Gen in diese Mechanismen involviert sind, wurde bisher kaum untersucht.

Kugaya et al. konnten in einer Untersuchung an gesunden Probanden zeigen, dass sich die Dopamintransporterbindungskapazität im Gehirn nach mehrtägiger Einnahme von SSRI erhöht (Kugaya et al., 2003). In der vorliegenden Studie wurde der größte Effekt des 40-bp VNTR im DAT1-Gen auf die Therapieresponse bei Patienten, die mit SSRI behandelt wurden, festgestellt. Mehrere Studien deuten darauf hin, dass sowohl die Pathogenese der Depression als auch der Wirkmechanismus von Antidepressiva durch Veränderungen in der Interaktion des dopaminergen und serotonergen Neurotransmittersystems beeinflusst werden könnten (D'Aquila et al., 2000, Zangen et al., 2001, Willner et al., 2002). Eine weitere Untersuchung von Zhou et al. zeigt, dass die Gabe von Fluoxetin über eine Veränderung der Bindungsaffinität des Dopamintransporters im Striatum zu einer stark erhöhten Aufnahme von Serotonin durch den Dopamintransporter mit nachfolgend vermehrter Ausschüttung von Dopamin und Serotonin in den synaptischen Spalt führt (Zhou et al., 2005), was die Vermutung nahe legt, dass der Dopamintransporter durch Beeinflussung des serotonergen Signaltransports eine bis dahin unbekannte Rolle im Wirkmechanismus von serotonergen Antidepressiva spielen könnte.

Die vorliegende Arbeit könnte ein Hinweis dafür sein, dass der 40-bp VNTR im DAT1-Gen mit Veränderungen des Therapieansprechens auf Antidepressiva einhergeht. Die in dieser Studie beobachtete geringere Response auf eine medikamentöse Behandlung mit Antidepressiva bei Trägern des 9-Repeat-Allels könnte Veränderungen in der Funktion des dopaminergen Transportsystems in Abhängigkeit von der Anzahl der Repeats im 40-bp VNTR widerspiegeln. Die Hypothese, dass eine erhöhte Dichte und Verfügbarkeit des Dopamintransporters im Gehirn mit einem besseren Ansprechen auf eine antidepressive Therapie assoziiert ist, muss jedoch zunächst in weiteren Studien überprüft werden.

In einer Post-hoc Power-Analyse in der vorliegenden Studie, in der die Responder-Rate von 34% unter Trägern eines oder zweier 9-Repeat-Allele (n=86) mit der Responder-Rate von 52% unter homozygoten Trägern des 10-Repeat-Allels (n=103) verglichen wurde (für n=86 Probanden für beide Gruppen, p=0,016, Exakter Test nach Fisher), wurde eine Power von 60% erreicht.

Zukünftige Studien werden nötig sein, um den in dieser Arbeit hergestellten Zusammenhang zwischen dem 40-bp VNTR im DAT1-Gen und der Therapieresponse auf Antidepressiva zu überprüfen. Ungeachtet dessen gibt das Ergebnis der vorliegenden Studie Anlass für die weitere Untersuchung der molekulargenetischen Mechanismen, über die der 40-bp VNTR die Expression des DAT1-Gens beeinflusst und über die der Dopamintransport im ZNS die Therapieresponse auf Antidepressiva modulieren könnte.

4.2.2. Therapieresponse in Abhängigkeit von der 44-bp *Insertions/Deletions*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region und vom 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens

Die Ergebnisse einer großen Zahl an Responsestudien weisen darauf hin, dass die 44-bp *Ins/Del*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens an der individuellen Modulation der Therapieresponse auf SSRI (Fluvoxamin, Paroxetin, Fluoxetin, Citalopram und Sertralin) beteiligt ist (Rausch et al., 2002, Yu et al., 2002, Smeraldi et al., 1998, Zanardi et al., 2001, Pollock et al., 2000, Zanardi et al., 2000, Lee et al., 2004, Serretti et al., 2004, Murphy et al., 2004a, Arias et al., 2003). Der Effekt scheint jedoch relativ klein zu sein: in einer Metaanalyse der Ergebnisse aus mehreren Studien mit insgesamt 974 Patienten lag der Odds-Quotient für das Risiko,

Responder zu sein, für Träger mindestens eines langen Allels (l) bei 1,7 (Kirchheiner et al., 2004).

In der vorliegenden Studie betrug der Odds-Quotient für das Risiko, Responder zu sein, innerhalb des gesamten Patientenkollektives nur 1,03 (95%-Konfidenzintervall: 0,47-2,3) für Träger mindestens eines (l)-Allels (ll, l/s) im Vergleich mit homozygoten Trägern des (s)-Allels. Es konnte damit kein Effekt des 44-bp *Ins/Del*-Polymorphismus auf die die Medikamentengruppen übergreifende Therapieresponse gezeigt werden. Allerdings erhielten lediglich 77 der 190 Patienten in dieser Studie SSRI.

In der Untergruppe der mit SSRI behandelten Patienten lag das relative Risiko, auf die antidepressive Therapie anzusprechen, für Träger eines oder zweier (l)-Allele bei 2,4 (95%-Konfidenzintervall: 0,6-10), wobei der Effekt statistisch nicht signifikant war. Die Fallzahl in der SSRI-Untergruppe in dieser Studie ist mit n=77 nicht kleiner als die durchschnittliche Fallzahl in den o.g. Responsestudien, in denen eine Verbindung des (l)-Allels mit besserer Response auf SSRI nachgewiesen werden konnte. Allerdings wurde die Response in der vorliegenden Studie wie erwähnt bereits drei Wochen nach Behandlungsbeginn eingeschätzt. Im Gegensatz dazu lag der Zeitpunkt der Responsebestimmung in den o.g. Responsestudien im Schnitt bei sechs Wochen nach Behandlungsbeginn, der kürzeste Beobachtungszeitraum betrug vier Wochen (Übersicht siehe Kirchheiner et al., 2004). Dies könnte dafür sprechen, dass der Effekt, den der 44-bp *Ins/Del*-Genotyp auf die Response auf SSRI ausübt, erst nach einem Zeitraum von vier und mehr Wochen zum Tragen kommt, während die kurzfristige Response nicht beeinflusst wird. Demnach kann nicht völlig ausgeschlossen werden, dass nach einer längeren Behandlungszeit als drei Wochen auch in der vorliegenden Studie ein statistisch signifikanter Effekt der 44-bp *Ins/Del*-Mutation hätte festgestellt werden können. Aber auch Studien von Kato et al., Ng et al. und Kraft et al., die über einen Zeitraum von sechs Wochen geführt wurden, konnten keinen Zusammenhang zwischen dem 44-bp *Ins/Del*-Genotyp in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens und der Therapieresponse auf die SSRI Citalopram, Paroxetin, Fluvoxamin und Sertralin finden (Kato et al., 2005, Ng et al., 2006, Kraft et al., 2007). Insbesondere der Studie von Kraft et al. kommt hier eine besondere Bedeutung zu, da sie mit einer Studienpopulation von 1914 Patienten (Star*D-Studie) die mit Abstand größte Studie zu diesem Thema darstellt. Nach sechswöchiger Behandlung mit dem SSRI

Citalopram konnte in dieser umfangreichen Patientengruppe keine Assoziation des SERT 44-bp *Ins/Del*-Genotyps und 10 weiterer Varianten im SERT-Gen mit der Therapieresponse nachgewiesen werden, wodurch das Ergebnis der vorliegenden Studie unterstützt wird.

Ebenfalls im Widerspruch zu den Studien, die eine Korrelation zwischen dem (l)-Allel im 44-bp *Ins/Del*-Polymorphismus und besserer Response auf SSRI beschreiben, stehen einige Studien an koreanischen bzw. japanischen Patienten, in denen das (s)-Allel mit einer besseren Response auf die SSRI Fluoxetin, Paroxetin, Sertralin und Fluvoxamin verbunden ist (Kim et al., 1999, Yoshida et al., 2002, Kim et al., 2006). Für diese Diskrepanz wurden einerseits ethnische Unterschiede in der Verteilung der Allele der 44-bp *Ins/Del*-Mutation verantwortlich gemacht: die Frequenz für das (s)-Allel ist bei Asiaten tatsächlich mit 0,79 höher als bei Kaukasiern mit 0,42 (Kunugi et al., 1997, Steimer et al., 2001). Allerdings wurden auch die Studien von Yu et al. und Lee et al., in denen das (s)-Allel mit schlechterer Response auf SSRI assoziiert war, an asiatischen Patienten durchgeführt (Yu et al., 2002, Lee et al., 2004). Die in der vorliegenden Studie ermittelte Frequenz für das (s)-Allel unterscheidet sich mit 0,4 nicht von in anderen Studien an gesunden Kaukasiern beschriebenen Frequenzen, so dass die Möglichkeit einer zufällig abweichenden Allelverteilung in dieser Studie als Ursache für ein abweichendes Ergebnis ausscheidet.

Aber auch ein zusätzlicher *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) ($G>A$) im sechsten Repeat der 44-bp *Ins/Del*-Mutation könnte für abweichende Ergebnisse wie in der vorliegenden Studie verantwortlich sein (Hu et al., 2004). Es handelt sich bei diesem Polymorphismus um eine funktionelle Mutation, wobei die *G-Variante im (l)-Allel (I_G) in einer Zellkultur in ähnlichem Ausmaß wie das (s)-Allel deutlich weniger exprimiert wurde als die *A-Variante (I_A) (Hu et al., 2004). Man geht davon aus, dass die 44-bp *Ins/Del*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens die individuelle Response auf SSRI über eine Veränderung der Expression des Serotonintransporters beeinflussen könnte (Smeraldi et al., 1998). Widersprüchliche Ergebnisse zum Einfluss der 44-bp *Ins/Del*-Mutation auf die Proteinexpression in vivo in verschiedenen Bildgebungsstudien, die von einem biallelischen Polymorphismus ausgegangen waren, könnten möglicherweise durch die bis dahin unbekannte $G>A$ -Variante erklärt werden (Heinz et al., 2000, Willeit et al., 2001, Shioe et al., 2003, Van Dyck et al., 2004, Mann et al., 2000). Jedoch konnte in einer neueren Studie kein Einfluss des triallelischen Polymorphismus im Promoter des SERT-Gens auf die

mittels Positronenemissionstomographie gemessene Bindungskapazität des Serotonintransporters im menschlichen Gehirn nachgewiesen werden (Parsey et al., 2006). Studien von Kugaya et al. und Rausch et al. weisen aber darauf hin, dass die Response auf eine Therapie mit SSRI tatsächlich von der Dichte und Funktion des Serotonintransporters im Gehirn vor Therapiebeginn abhängen könnte (Kugaya et al., 2004, Rausch et al., 2002). Obwohl die Bedeutung des triallelischen Polymorphismus in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens auf die Expression des Serotonintransporters nicht vollends geklärt ist, scheint es sinnvoll, in zukünftigen Studien den zusätzlichen Einfluss der G>A-Variante im sechsten Repeat der 44-bp *Ins/Del*-Mutation auf die Response auf SSRI zu untersuchen. Zwei Assoziationsstudien an der o.g. Star*D-Studienpopulation von Kraft et al. und Hu et al., in denen die G>A-Variante in der Promoterassoziierten Region des SERT-Gens bereits berücksichtigt wurde, konnten jedoch keine Assoziation dieses Polymorphismus mit dem Ansprechen auf den Selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmer Citalopram nachweisen (Kraft et al., 2007, Hu et al., 2007). Weitere Studien, die dieses Ergebnis bestätigen können, stehen aus. Letztlich bleibt unklar, wie die Diskrepanzen in den bisherigen Responsestudien zum 44-bp *Ins/Del*-Polymorphismus in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens erklärt werden können. Einige Studien, zu denen auch die vorliegende Studie gezählt werden muss, sprechen nicht für eine Assoziation der 44-bp *Ins/Del*-Mutation mit dem Ansprechen auf eine Behandlung mit SSRI. Die divergenten Ergebnisse der bisherigen Studien lassen aber weiterhin auch an die Möglichkeit eines bisher unbekanntes, an den Polymorphismus in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens gekoppelten Marker denken, der die Therapieresponse auf SSRI beeinflussen könnte.

Ergebnisse zweier Studien von Whale et al. und Young et al. brachten das (l)-Allel auch mit einem besseren Ansprechen auf die Trizyklika Clomipramin und Nortriptylin in Verbindung (Whale et al., 2000, Young et al., 1999). Dem entgegen war in einer Studie von Kim et al. aber das (s)-Allel mit besserer Response auf Nortriptylin verbunden (Kim et al., 2006). Weitere Responsestudien scheiterten daran, einen Zusammenhang zwischen der 44-bp *Ins/Del*-Mutation in der Promoter-Assoziierten Region des SERT-Gens und dem Therapieansprechen auf Nortriptylin, das noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressivum Mirtazapin und den

Serotonin- und Noradrenalinwiederaufnahmehemmer Milnazipran und andere von SSRI verschiedene Antidepressiva zu zeigen und stehen damit im Einklang mit dem Ergebnis der vorliegenden Studie (Yoshida et al., 2004, Murphy et al., 2004, Pollock et al., 2000, Minov et al., 2001). Die Beobachtung, dass Labormäuse, die genetisch bedingt keinen Serotonintransporter exprimieren, in Modellversuchen für erlernte Hilflosigkeit wie dem Immobilitätstest oder dem forcierten Schwimmtest keine sonst übliche antidepressive Reaktion auf SSRI-Gabe zeigen, während die Reaktion auf Nicht-SSRI unverändert ist, legen nahe, dass die Blockade am Serotonintransporter offenbar für die Entfaltung der Wirksamkeit von SSRI, nicht aber für die von Antidepressiva mit Affinität sowohl zum serotonergen als auch zum noradrenergen System, notwendig ist (Holmes et al., 2002). Dieser Befund könnte möglicherweise eine Erklärung dafür sein, dass in der vorliegenden Studie auch die Response auf Venlafaxin und TCA, die ebenfalls an den Serotonintransporter binden und die Wiederaufnahme von Serotonin aus dem synaptischen Spalt hemmen, offenbar nicht mit dem Genotyp der 44-bp *Ins/Del*-Mutation assoziiert war.

Weder in der medikamentenübergreifenden Analyse der Gesamtgruppe noch in der Untergruppe für SSRI (n=77) konnte ein Zusammenhang zwischen der Response auf die antidepressive Medikamententherapie und dem Genotyp im 17-bp VNTR im Intron 2 des SERT-Gens nachgewiesen werden. Im Widerspruch dazu stehen zwei Studien an 120 bzw. 241 koreanischen Patienten, in denen die homozygoten Träger des 12-Repeat-Allels verglichen mit Trägern des (12/10)- und (10/10)-Genotyps nach sechs Wochen ein besseres Ansprechen auf die Behandlung mit SSRI aufwiesen (Kim et al., 1999, Kim et al., 2006). Eine Ursache für die Differenz zwischen diesen Studien und der vorliegenden Studie könnte erneut darin liegen, dass die Response in der vorliegenden Studie bereits nach einem Zeitabschnitt von drei Wochen bestimmt wurde. Andererseits scheint die Genotypverteilung des 17-bp VNTR im SERT-Gen ähnlich der des 44-bp *Ins/Del*-Polymorphismus ethnischen Unterschieden zu unterliegen, die für unterschiedlich ausgeprägte Assoziationen der jeweiligen Polymorphismen mit der Therapieresponse in den einzelnen Populationen verantwortlich sein könnten: während der (12/12)-Genotyp in der vorliegenden Studie im Einklang mit Ergebnissen anderer Studien an kaukasischen Patienten (Stöber et al., 1996, Furlong et al., 1998, Hoehe et al., 1998, Bellivier et al., 1997, Gutiérrez et al., 1998, Bocchetta et al., 1999) nur zu 42% angetroffen wurde, lag er in der

koreanischen Patientengruppe von Kim et al. zu 80% vor. Eine weitere Studie von Ito et al. hingegen, in der der (12/12)-Genotyp in einer Gruppe von 66 japanischen Patienten zu 74% nachgewiesen wurde, konnte im Einklang mit der vorliegenden Studie jedoch ebenfalls keinen Zusammenhang des 17-bp VNTR mit der Response auf SSRI herstellen (Ito et al., 2002).

4.2.3. Therapieresponse in Abhängigkeit vom -182T>C-Polymorphismus in der Promoterregion und vom 1287G>A-Polymorphismus im Exon 9 des NET-Gens

In der vorliegenden Arbeit konnte kein Zusammenhang zwischen den beiden Polymorphismen -182T>C in der Promoterregion und 1287G>A im Exon 9 des NET-Gens und der die Medikamentengruppen übergreifenden Response auf die verabreichten Antidepressiva aufgedeckt werden.

77 Patienten in der vorliegenden Studie wurden mit SSRI behandelt und stellen damit eine recht große Untergruppe in dieser Untersuchung dar. Zwar konnte gezeigt werden, dass auch SSRI wie Paroxetin und Fluoxetin bedingt in der Lage sind, die Funktion des Noradrenalintransporters zu hemmen bzw. die extrazelluläre NoradrenalinKonzentration im ZNS zu erhöhen (Shinkai et al., 2005, Owens et al., 2000, Gilmore et al., 2002, Bymaster et al., 2002), ein Einfluss von Polymorphismen im NET-Gen auf die Response auf SSRI war jedoch nicht zu erwarten.

Insgesamt 141-mal wurden jedoch Antidepressiva verabreicht, die ihre Wirkung zum großen Teil über einen Eingriff in das noradrenerge System entfalten, darunter 83-mal Antidepressiva, die direkt an den Noradrenalintransporter binden und die Wiederaufnahme von Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt hemmen (Venlafaxin (n=39), Trizyklika (n=37) und Reboxetin (n=7)), und 58-mal Mirtazapin, ein Agonist an präsynaptischen Alpha2-Adrenorezeptoren, welche in funktioneller Einheit mit dem Noradrenalintransporter stehen. Aber auch in der Untergruppe der noradrenergen Antidepressiva war die Response auf die antidepressive Therapie nicht vom Genotyp der -182T>C- und 1287G>A- Polymorphismen im NET-Gen abhängig.

Im Gegensatz dazu konnten Yoshida et al. in einer Studie an 96 japanischen Patienten mit Depression eine bessere Response auf den dualen Serotonin-/Noradrenalinwiederaufnahmehemmer Milnazipran bei Vorliegen eines oder zweier T-

Allele des $-182T>C$ -Polymorphismus im Vergleich zum C/C -Genotyp nachweisen. Zusätzlich wiesen Patienten, die Träger des A/A -Genotyps des $1287G>A$ -Polymorphismus waren, ein insgesamt langsames Ansprechen auf die medikamentöse Therapie mit Milnazipran auf als Patienten, die über mindestens ein Wildtyp-Allel (G) verfügten (Yoshida et al., 2004). Dieses Ergebnis wird von einer Studie von Kim et al. an 241 koreanischen Patienten unterstützt, in der nach sechs Behandlungswochen die Responderate auf das noradrenerge Antidepressivum Nortriptylin unter den homozygoten Trägern des G -Allels des $1287G>A$ -Polymorphismus signifikant höher war als unter den hetero- und homozygoten Trägern des A -Allels (Kim et al., 2006).

Die Antidepressiva Milnazipran und Nortriptylin wurden in der vorliegenden Studie nicht verabreicht. Es ist durchaus denkbar, dass sich ein Einfluss von Polymorphismen im NET-Gen auf die Response auf einzelne Wirkstoffe beschränkt, da z.B. die Bindungsaffinität und das Ausmaß der Inhibition am Transporter auch innerhalb der einzelnen Wirkstoffklassen stark variieren (Richelson, 2003, Tatsumi et al., 1997). Auch konnte z.B. gezeigt werden, dass Zellkulturen, die mit Milnazipran beimpft wurden, nach anfänglicher Inhibition letztlich eine erhöhte Funktion des Noradrenalintransporters ab dem dritten Tag des Experiments aufweisen (Shinkai et al., 2005). Demgegenüber wurde in mehreren in vivo- wie in vitro- Studien nach mindestens dreitägiger Gabe verschiedener Antidepressiva wie Desipramin, Reboxetin und auch Paroxetin eine Abnahme der Bindungskapazität und der Wiederaufnahmefunktion des Noradrenalintransporters beschrieben (Zhu et al., 2002, Zhu und Ordway, 1997, Zavosh et al., 1999, Gould et al., 2003, Hébert et al., 2001, Shinkai et al., 2005, Owens et al., 2000, Benmansour et al., 2004). Auch wenn diese Befunde zum Teil nicht bestätigt wurden (Biegon, 1986, Shores et al., 1994, Benmansour et al., 2004), könnten sie vielleicht ein Hinweis darauf sein, dass sich die Wirkung von Milnazipran auf die Expression des NET-Gens von der Wirkung anderer Antidepressiva, die im noradrenergen System ansetzen, unterscheidet. Studien zu Veränderungen der NET-mRNA-Konzentration in verschiedenen Zellkulturen nach Antidepressivagabe ergaben bisher jedoch widersprüchliche Ergebnisse (Shinkai et al., 2005, Zhu et al., 2002, Hébert et al., 2001, Szot et al., 1993, Zavosh et al., 1999).

Die Aussagekraft der vorliegenden Studie wird dadurch limitiert, dass die Fallzahl in den einzelnen Medikamentenuntergruppen relativ klein ist. Aussagen zu einzelnen

Medikamenten wie in den Studien von Yoshida et al. und Kim et al. können nicht getroffen werden. Auch wurden die Effekte der Polymorphismen im NET-Gen auf die Response auf Milnaziapran bei Yoshida et al. und auf Nortriptylin bei Kim et al. erst nach einer Behandlungszeit von sechs Wochen beschrieben, während in der vorliegenden Studie die kurzfristige Response bereits nach drei Wochen eingeschätzt wurde.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sprechen nicht dafür, dass die Polymorphismen $-182T>C$ und $1287G>A$ im NET-Gen einen Einfluss auf die kurzfristige Response auf noradrenerge Antidepressiva ausüben. Eine Aussage über den Effekt der genannten Polymorphismen auf Erfolg und Verlauf einer länger dauernden antidepressiven Therapie wie bei Yoshida et al. für Milnaziapran und bei Kim et al. für Nortriptylin beschrieben, kann in dieser Studie jedoch nicht getroffen werden.

5. Zusammenfassung

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, in einem naturalistischen Studiensetting zu untersuchen, ob Polymorphismen in den Genen für den Dopamin-, Serotonin- und Noradrenalintransporter mit der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Depression, mit dem Schweregrad der Erkrankung sowie mit dem Ansprechen auf eine antidepressive Therapie assoziiert sind.

Hierbei zeigte sich, dass die untersuchten Polymorphismen in den Genen für den Serotonin-, Noradrenalin- und Dopamintransporter in dieser Untersuchung an 190 Patienten nicht mit dem Risiko für eine Depression sowie dem Schweregrad der Erkrankung korreliert waren.

Es konnte gezeigt werden, dass das 10-Repeat-Allel im 40-bp VNTR im DAT1-Gen in dieser Studie mit einem besseren Ansprechen auf die antidepressive Medikamententherapie nach drei Wochen verbunden war. Die molekulargenetischen Mechanismen, über die der 40-bp VNTR die Wirksamkeit von Antidepressiva beeinflussen könnte, sind jedoch weitestgehend ungeklärt. Weitere Studien, die einen Zusammenhang zwischen dem DAT1-Genotyp und der Response auf Antidepressiva untersuchen und das Ergebnis dieser Studie überprüfen, liegen bisher nicht vor.

Demgegenüber war der Genotyp der 44-bp *Ins/Del*-Mutation nicht mit der medikamentenübergreifenden Response auf die antidepressive Therapie assoziiert. Im Gegensatz zu mehreren Studien, die beschreiben, dass Träger mindestens eines (I)-Allels eine bessere Response auf SSRI aufweisen, konnte in der vorliegenden Studie kein statistisch signifikanter Einfluss des 44-bp *Ins/Del*-Genotyps auf die Response auf SSRI festgestellt werden. Die Polymorphismen $-182T>C$ in der Promoterregion und $1287G>A$ im Exon 9 des NET-Gens konnten ebenfalls nicht mit interindividuellen Unterschieden der kurzfristigen Response auf Antidepressiva in Verbindung gebracht werden.

Auch wenn die untersuchten Polymorphismen im SERT- und NET-Gen in dieser Studie nicht mit der Response auf Antidepressiva assoziiert waren, bietet die vorliegende Studie einen bisher unbekanntem Anhaltspunkt dafür, dass der 40-bp VNTR im DAT1-Gen für die Response auf Antidepressiva von Bedeutung sein könnte.

Literaturverzeichnis

Arias et al., 2003, Arias B, Catalan R, Gasto C, Gutiérrez B, Fañanas L. 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene predicts non-remission in major depression patients treated with citalopram in a 12-weeks follow up study. *J Clin Psychopharmacol* 2003; **23**: 563-567

Bauer et al., 2002, Bauer M, Whybrow PC, Angst J, Versiani M, Möller HJ. World federation of societies of biological psychiatry (WFSBP) guidelines for biological treatment of unipolar depressive disorders, part 1: Acute and continuation treatment of major depressive disorder. *World J Biol Psychiatry* 2002; **3**: 5-43

Beique et al., 1998, Beique JC, Lavoie N, de Montigny C, Debonnel G. Affinities of venlafaxine and various reuptake inhibitors for the serotonin and norepinephrine transporters. *Eur J Pharmacol* 1998; **349**: 129-132

Bellivier et al., 1997, Bellivier F, Laplanche JL, Leboyer M, Feingold J, Bottos C, Allilaire JF, Launay JM. Serotonin transporter gene and manic depressive illness: an association study. *Biol Psychiatry* 1997; **41**: 750-752

Benazzi, 2005, Benazzi F. The relationship of major depressive disorder to bipolar disorder: continuous or discontinuous? *Curr Psychiatry Rep* 2005; **7(6)**: 462-470

Benmansour et al., 2004, Benmansour S, Altamirano AV, Jones DJ, Sanchez TA, Gould GG, Pardon MC, Morilak DA, Frazer A. Regulation of the norepinephrine transporter by chronic administration of antidepressants. *Biol Psychiatry* 2004; **55**: 313-316

Berger, 1999, Berger M, (Hrsg.): *Psychiatrie und Psychotherapie*. München Wien Baltimore: Urban & Schwarzenberg 1999 (pp. 487-491)

Bertilsson et al., 1997, Bertilsson L, Dahl M-L, Tybring G. Pharmacogenetics of antidepressants: clinical aspects. *Acta Psychiatr Scand* 1997; **96(Suppl 391)**: 14-21

Biegon, 1986, Biegon A. Effect of chronic desipramine treatment on dihydroalprenolol, imipramine and desipramine binding sites: a quantitative autoradiographic study in the rat brain. *J Neurochem* 1986; **47**: 77-80

Binder et al., 2004, Binder EB, Salyakina D, Lichtner P, Wochnik GM, Ising M, Putz B, Papiol S, Seaman S, Lucae S, Kohli MA, Nickel T, Kunzel HE, Fuchs B, Majer M, Pfennig A, Kern N, Brunner J, Modell S, Baghai T, Deiml T, Zill P, Bondy B, Rupprecht R, Messer T, Köhnelein O, Dabitz H, Bruckl T, Müller N, Pfister H, Lieb R, Mueller JC, Lohmussaar E, Strom TM, Bettecken T, Meitinger T, Uhr M, Rein T, Holsboer F, Müller-Myhsok B. Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat Genet* 2004; **36(12)**: 1319-1325

Bocchetta et al., 1999, Bocchetta A, Piccardi MP, Palmas MA, Chillotti C, Oi A, DelZompo M. Family-based association study between bipolar disorder and DRD2, DRD4, DAT, and SERT in Sardinia. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 1999; **88**: 522-526

- Bonhomme und Esposito, 1998, Bonhomme N, Esposito E. Involvement of serotonin and dopamine in the mechanism of action of novel antidepressant drugs: a review. *J Clin Psychopharmacol* 1998; **18**: 447-454
- Bowden et al., 1997, Bowden C, Cheetham SC, Lowther S, Katona CLE, Crompton MR, Horton RW. Reduced dopamine turnover in the basal ganglia of depressed suicides. *Brain Res* 1997; **769**: 135-140
- Brunswick et al., 2003, Brunswick DJ, Amsterdam JD, Mozley PD, Newberg A. Greater availability of brain dopamine transporters in major depression shown by [99mTc]TRODAT-1 SPECT imaging. *Am J Psychiatry* 2003; **160**: 1836-1841
- Caspi et al., 2003, Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington HL, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R. Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 2003; **301**: 386-389
- Charney, 1998, Charney DS. Monoamine dysfunction and the pathophysiology and treatment of depression. *J Clin Psychiatry* 1998; **59 (Suppl14)**: 11-14
- Collier et al., 1996a, Collier DA, Arranz MJ, Sham P, Battersby S, Vallada H, Gill P, Aitchison KJ, Sodhi M, Li T, Roberts GW, Smith B, Morton J, Murray RM, Smith D, Kirov G. The serotonin transporter is a potential susceptibility factor for bipolar affective disorder. *Neuroreport* 1996; **7(10)**: 1675-1679
- Collier et al., 1996b, Collier DA, Stöber G, Li T, Heils A, Catalano M, Di Bella D, Arranz MJ, Murray RM, Vallada HP, Bengel D, Müller CR, Roberts GW, Smeraldi E, Kirov G, Sham P, Lesch KP. A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Mol Psychiatry* 1996, **1(6)**: 453-60
- Cook et al., 1995, Cook EHJr, Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE, Leventhal BL. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* 1995; **56**: 993-998
- D'Aquila et al., 2000, D'Aquila PS, Collu M, Cessa GL, Serra G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *Eur J Pharmacol* 2000; **405**: 365-373
- Donovan et al., 1995, Donovan DM, Vandenberg DJ, Perry MP, Bird GS, Ingersoll R, Nanthakumar E, Uhl GR. Human and mouse dopamine transporter genes: Conservation of 5'-flanking sequence elements and gene structures. *Brain Res Mol Brain Res* 1995; **30**: 327-335
- Entsuah et al., 2001, Entsuah AR, Huang H, Thase ME. Response and remission rates in different subpopulations with major depressive disorder administered venlafaxine selective serotonin reuptake inhibitors, or placebo. *J Clin Psychiatry* 2001; **62**: 869-877

- Esterling et al., 1998, Esterling L, Yoshikawa T, Turner G, Badner J, Bengel D, Gershon E, Berrettini W, Detera-Wadleigh S. Serotonin transporter (5-HTT) gene and bipolar affective disorder. *Am J Med Genet* 1998, **81**: 37-40
- Evans und McLeod, 2003, Evans WE, McLeod HL. Genetic polymorphisms influencing drug disposition. *N Engl J Med* 2003; **348**: 538-549
- Ewald et al., 1998; Ewald H, Flint T, Degn B, Mors O, Kruse TA. A functional variant of the serotonin transporter gene in families with bipolar affective disorder. *J Affect Disorders* 1998, **48**: 135-144
- Frazer 1997, Frazer A. Pharmacology of antidepressants. *J Clin Psychopharm* 1997; **17(1)**: 2S-18S
- Frisch et al., 1999, Frisch A, Postilnick D, Rockah R, Michaelovsky E, Posilnick S, Birman E, Laor N, Rauchverger B, Kreinin A, Poyurovsky M, Schneidman M, Modai I, Weizman R. Association of unipolar major depressive disorder with genes of the serotonergic and dopaminergic pathways. *Mol Psychiatry* 1999, **4**: 389-392
- Fujita et al., 1997, Fujita M, Takatoku K, Nishiura M, Kobayashi K, Inoue O, Nishimura T. Enhancement of [¹²³I]β-CIT binding in the striatum with clomipramine: is there a serotonin-dopamine interaction? *Eur J Nucl Med* 1997; **24**: 403-408
- Fuke et al., 2001, Fuke S, Suo S, Takahashi N, Koike H, Sasagawa N, Ishiura S. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *Pharmacogenomics J* 2001; **1**: 152-156
- Fuke et al., 2005, Fuke S, Sasagawa N, Ishiura S. Identification and characterization of the Hesr1/Hey1 as a candidate trans-acting factor on gene expression through the 3' non-coding polymorphic region of the human dopamine transporter (DAT1) gene. *J Biochem* 2005; **137(2)**: 205-216
- Furlong et al., 1998, Furlong RA, Ho L, Walsh C, Rubinsztein JS, Jain S, Paykel ES, Easton DF, Rubinsztein DC. Analysis and meta-analysis of two serotonin transporter gene polymorphisms in bipolar and unipolar affective disorders. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr. Genet.)* 1998, **81**: 58-63
- Gelernter et al., 1994, Gelernter J, Kranzler HR, Satel SL, Rao PA. Genetic association between dopamine transporter protein alleles and cocaine-induced paranoia. *Neuropsychopharmacology* 1994; **11**: 195-200
- Georgieva et al., 2002, Georgieva L, Dimitrova A, Nikolov I, Koleva S, Tsvetkova R, Owen MJ, Toncheva D, Kirov G. Dopamine transporter gene (DAT1) VNTR polymorphism in major psychiatric disorders: family-based association study in the Bulgarian population. *Acta Psychiatr Scand* 2002; **105**: 396-399
- Gershon ES, 1990, Gershon ES. Genetics: In: Goodwin FK, Jamison KR (Hrsg): *Manic Depressive Illness*. New York: Oxford University Press 1990 (pp. 373-401)

Giros et al., 1992, Giros B, El Mestikawi S, Godinot N, Zheng K, Han H, Yang-Feng T, Caron MG. Cloning, pharmacological characterization, and chromosome assignment of the human dopamine transporter. *Mol Pharmacol* 1992; **42**: 383-390

Glowinski und Axelrod, 1964, Glowinski J, Axelrod J. Inhibition of uptake of tritiated-noradrenaline in the intact rat brain by imipramine and structurally related compounds. *Nature* 1964; **204**: 1318-1319

Gold et al., 1988, Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP. Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress. *N Engl J Med* 1988; **918**: 412-420

Gomez-Casero et al., 1996, Gomez-Casero E, Perez de Castro I, Saiz-Ruiz J, Llinares C, Fernandez-Piqueras J. No association between particular DRD3 and DAT gene polymorphisms and manic-depressive illness in a Spanish sample. *Psychiatr Genet* 1996; **6(4)**: 209-212

Gould et al., 2003, Gould GG, Pardon MC, Morilak DA, Frazer A. Regulatory effects of reboxetine treatment alone, or following paroxetine treatment, on brain noradrenergic and serotonergic systems. *Neuropsychopharmacology* 2003; **28(9)**: 1633-1641

Greenwood et al., 2001, Greenwood TA, Alexander M, Keck PE, McElroy S, Sadovnick AD, Remick RA, Kelsoe JR. Evidence for linkage disequilibrium between the dopamine transporter and bipolar disorder. *Am J Med Genet* 2001; **105**: 145-151

Greenwood und Kelsoe, 2003, Greenwood TA, Kelsoe JR. Promoter and intronic variants affect the transcriptional regulation of the human dopamine transporter gene. *Genomics* 2003; **82(5)**: 511-520

Gutiérrez et al., 1998, Gutiérrez B, Arranz MJ, Collier DA, Vallès V, Guillamat R, Bertranpetit J, Murray RM, Fañanás L. Serotonin transporter gene and risk for bipolar affective disorder: An association study in a Spanish population. *Biol Psychiatry* 1998; **43**: 843-847

Härter et al., 2004, Härter M, Sitta P, Ferdinand K, Metzger R, Wiegand W, Schell G, Stieglitz RD, Wolfersdorf M, Felsenstein M, Berger M. Externe Qualitätssicherung bei stationärer Depressionsbehandlung. *Dtsch Arztebl* 2004; **27**: S.101: A1970-1974

Hébert et al., 2001, Hébert C, Habimana A, Élie R, Reader TA. Effects of chronic antidepressant treatments on 5-HT and NA transporters in rat brain: An autoradiography study. *Neurochem Int* 2001; **38(1)**: 63-74

Heils et al., 1996, Heils A, Teufel A, Petri S, Stöber G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996; **66(6)**: 2621-2624

Heinz et al., 2000, Heinz A, Goldman D, Jones DW, Palmour R, Hommer D, Gorey JG, Lee KS, Linnoila M, Weinberger DR. Genotype influences *in vivo* dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* 2000; **22**: 133-139

- Heinz et al., 2002, Heinz A, Jones DW, Bissette G, Hommer D, Ragan P, Knable M, Wellek S, Linnoila M, Weinberger DR. Relationship between cortisol and serotonin metabolites and transporters in alcoholism (correction of alcoholism). *Pharmacopsychiatry* 2002; **35(4)**: 127-134
- Hirschfeld et al., 2002, Hirschfeld RMA, Montgomery SA, Aguglia E, Amore M, Delgado PL, Gastpar M, Hawley C, Kasper S, Linden M, Massana J, Mendlewicz J, Möller HJ, Nemeroff CB, Saiz J, Such P, Torta R, Versiani M. Partial response and nonresponse to antidepressant therapy: Current approaches and treatment options. *J Clin Psychiatry* 2002; **63**: 826-837
- Hoehe et al., 1998, Hoehe MR, Wendel B, Grunewald I, Chiaroni P, Levy N, Morris-Rosendahl D, Macher JP, Sander T, Crocq MA. Serotonin transporter (5-HTT) gene polymorphisms are not associated with susceptibility to mood disorders. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 1998; **81**: 1-3
- Holmes et al., 2002, Holmes A, Yang RJ, Murphy DL, Crawley JN. Evaluation of antidepressant-related behavioral responses in mice lacking the serotonin transporter. *Neuropsychopharmacology* 2002; **27**: 914-923
- Hu et al., 2004, Hu X, Zhu G, Lipsky R, Goldman D. HTTLPR allele expression is codominant, correlating with gene effects on fMRI and SPECT imaging intermediate phenotypes and behavior (abstract). *Biol Psychiatry* 2004; **55(Suppl 1)**: 191s
- Hu et al., 2007, Hu XZ, Rush AJ, Charney D, Wilson AF, Sorant AJM, Papanicolaou GJ, Fava M, Trivedi MH, Wisniewski SR, Laje G, Paddock S, McMahon FJ, Manji H, Lipsky RH. Association between a functional serotonin transporter promoter polymorphism and citalopram treatment in adult outpatients with major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2007; **64(7)**: 783-792
- Ichikawa und Meltzer, 1995, Ichikawa J, Meltzer HY. Effect of antidepressants on striatal and accumbens extracellular dopamine levels. *Eur J Pharmacol* 1995; **281**: 255-261
- Inoue et al., 2004, Inoue K, Itoh K, Yoshida K, Shimizu T, Suzuki T. Positive Association between T-182C polymorphism in the norepinephrine transporter gene and susceptibility to major depressive disorder in a Japanese population. *Neuropsychobiology* 2004; **50**: 301-304
- Ito et al., 2002, Ito K, Yoshida K, Sato K, Takahashi H, Kamata M, Higuchi H, Shimizu T, Itoh K, Inoue K, Tezuka T, Suzuki T, Ohkubo T, Sugawara K, Otani K. A variable number of tandem repeats in the serotonin transporter gene does not affect the antidepressant response to fluvoxamine. *Psychiatry Res* 2002; **111**: 235-239
- Jacobi et al., 2004, Jacobi F, Wittchen HU, Hölting C, Höfler M, Pfister H, Müller N, Lieb R. Prevalence, comorbidity and correlates of mental disorders in a general population: Results from the German Health Interview and Examination Survey (GHS). *Psychol Med* 2004; **34**: 597-611

Jiao et al., 2003, Jiao X, Paré WP, Tejani-Butt S. Strain differences in the distribution of dopamine transporter sites in rat brain. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; **27(6)**: 913-919

Jönsson et al., 1998, Jönsson EG, Nöthen MM, Gustavsson JP, Neidt H, Bunzel R, Propping P, Sedvall GC. Polymorphisms in the dopamine, serotonin and norepinephrine transporter genes and their relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers. *Psychiatry Res* 1998; **79**: 1-9

Kaiser et al., 2002, Kaiser R, Müller-Oehrlinghausen B, Filler D, Tremblay PB, Berghöfer A, Roots I, Brockmöller J. Correlation between serotonin uptake in human blood platelets with the 44-bp polymorphism and the 17-bp variable number of tandem repeat of the serotonin transporter. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 2002; **114**: 323-328

Kang et al., 1999, Kang AM, Palmatier MA, Kidd KK. Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (SLC6A3). *Biol Psychiatry* 1999; **46**: 151-160

Kapur und Mann, 1992, Kapur S, Mann JJ. Role of the dopaminergic system in depression. *Biol Psychiatry* 1992; **32**: 1-17

Kato et al., 2005, Kato M, Ikenaga Y, Wakeno M, Okugawa G, Nobuhara K, Fukuda T, Azuma J, Kinoshita T. Controlled clinical comparison of paroxetine and fluvoxamine considering the serotonin transporter promoter polymorphism. *Int Clin Psychopharmacol* 2005; **20**: 151-156

Kawarai et al., 1997, Kawarai T, Kawakami H, Yamamura Y, Nakamura S. Structure and organization of the gene encoding human dopamine transporter. *Gene* 1997; **195**: 11-18

Kelsoe et al., 1996, Kelsoe JR, Sadovnick AD, Kristbjarnarson H, Bergesch P, Mroczkowski-Parker Z, Drennan M, Rapaport MH, Flodman P, Spence MA, Remick RA. Possible locus for bipolar disorder near the dopamine transporter on chromosome 5. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 1996; **67**: 533-540

Kessler et al., 2003, Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, Rush AJ, Walters EE, Wang PS. The epidemiology of major depressive disorder: Results from the national comorbidity survey replication (NCS-R). *JAMA* 2003; **289**: 3095-3105

Kim et al., 1999, Kim CH, Kim HS, Cubells JF, Kim KS. A previously undescribed intron and extensive 5' upstream sequence, but not Phox2a-mediated transactivation, are necessary for high level cell type-expression of the human norepinephrine transporter gene. *J Biol Chem* 1999; **274**: 6507-6518

Kim et al., 2000, Kim DK, Lim SW, Lee S, Sohn SE, Kim S, Hahn CG, Carroll BJ. Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *NeuroReport* 2000, **11**: 215-219

- Kim et al., 2006, Kim H, Lim SW, Kim S, Kim JW, Chang YH, Carroll BJ, Kim DK. Monoamine Transporter Gene Polymorphisms and antidepressant response in Koreans with late-life depression. *JAMA* 2006; **296(13)**: 1609-1618
- Kirchheiner et al., 2001, Kirchheiner J, Brösen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjöqvist F, Spina E, Brockmüller J. CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* 2001; **104**: 173-192
- Kirchheiner et al., 2004, Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong M-L, Licinio J, Roots I, Brockmüller J. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Molecular Psychiatry* 2004; **9**: 442-473
- Kirov et al., 1999a, Kirov G, Jones I, McCandless F, Craddock N, Owen MJ. Family-based association studies of bipolar disorder with candidate genes involved in dopamine neurotransmission: DBH, DAT1, COMT, DRD2, DRD3 and DRD5. *Molecular Psychiatry* 1999; **4**: 558-565
- Kirov et al., 1999b, Kirov G, Rees M, Jones I, MacCandless F, Owen MJ, Craddock N. Bipolar disorder and the serotonin transporter gene: a family-based association study. *Psychol Med* 1999; **29**: 1249-1254
- Klimek et al., 1997, Klimek V, Stockmeier C, Overholser J, Meltzer HY, Kalka S, Dilley G, Ordway GA. Reduced levels of norepinephrine transporters in locus coeruleus in major depression. *J Neurosci* 1997; **17**: 8415-8485
- Klimek et al., 2002, Klimek V, Schenk JE, Han H, Stockmeier CA, Ordway GA. Dopaminergic abnormalities in amygdaloid nuclei in major depression: a postmortem study. *Biol Psychiatry* 2002; **52(7)**: 740-748
- Kraft et al., 2007, Kraft JB, Peters EJ, Slager SL, Jenkins GD, Reinalda MS, McGrath PJ, Hamilton SP. Analysis of association between the serotonin transporter and antidepressant response in a large clinical sample. *Biol Psychiatry* 2007; **61**: 734-742
- Kugaya et al., 2003, Kugaya A, Seneca NM, Snyder PJ, Williams SA, Malison RT, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB. Changes in human *in vivo* serotonin and dopamine transporter availabilities during chronic antidepressant administration. *Neuropsychopharmacology* 2003; **28**: 413-420
- Kugaya et al., 2004, Kugaya A, Sanacora G, Staley JK, Malison RT, Bozkurt A, Khan S, Anand A, van Dyck CH, Baldwin RM, Weibyl JP, Charney D, Innis RB. Brain serotonin transporter availability predicts treatment response to selective serotonin reuptake inhibitors. *Biol Psychiatry* 2004; **56(7)**: 497-502
- Kunugi et al., 1996, Kunugi H, Tatsumi M, Sakai T, Hattori M, Nanko S. Serotonin transporter gene polymorphism and affective disorder. *Lancet* 1996; **347**: 1340
- Kunugi et al., 1997, Kunugi H, Hattori M, Kato T, Tatsumi M, Sakai T, Sasaki T, Hirose T, Nanko S. Serotonin transporter gene polymorphisms: ethnic difference and possible association with bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry* 1997, **2**: 457-462

- Laasonen-Balk et al., 1999, Laasonen-Balk T, Kuikka J, Viinamäki H, Husso-Saastamoinen M, Lehtonen J, Tiihonen J. Striatal dopamine transporter density in major depression. *Psychopharmacol* 1999; **144**: 282-285
- Laine et al., 1999, Laine TPJ, Ahonen A, Räsänen P, Tiihonen J. Dopamine transporter availability and depressive symptoms during alcohol withdrawal. *Psychiatr Res: Neuroimaging Sect* 1999; **90**: 153-157
- Lake et al., 1982, Lake CR, Pickar D, Ziegler MG, Lipper S, Slater S, Murphy DL. High plasma norepinephrine levels in patients with major affective disorder. *Am J Psychiatry* 1982; **139**:1315-1318
- Lambert et al., 2000, Lambert G, Johansson M, Ågren H, Friberg P. Reduced brain norepinephrine and dopamine release in treatment-refractory depressive illness: evidence in support of the catecholamine hypothesis of mood disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2000; **57(8)**: 57(8):787-93
- Lee et al., 2004, Lee MS, Lee HY, Lee HJ, Ryu SH. Serotonin transporter promoter gene polymorphism and long-term outcome of antidepressant treatment. *Psychiatr Genet* 2004, **14(2)**: 111-115
- Lee et al., 2005, Lee SH, Lee KJ, Lee HJ, Ham BJ, Ryu SH, Lee MS Association between the 5-HT₆ receptor C267T polymorphism and response to antidepressant treatment in major depressive disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* 2005; **59(2)**: 140-145
- Lesch et al., 1994, Lesch KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL, Riederer P. Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect* 1994; **95(2)**: 157-162
- Lesch et al., 1996; Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Müller CR, Hamer DH, Murphy DL. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996; **274**: 1527-1531
- Leszczynska-Rodziewicz et al., 2002, Leszczynska-Rodziewicz A, Czerski PM, Kapelski P, Godlewski S, Dmitrzak-Weglarczyk M, Rybakowski JK, Hauser J. A Polymorphism of the norepinephrine transporter gene in bipolar disorder and schizophrenia: Lack of association. *Biol Psychiatry* 2002; **45**: 182-185
- Licinio et al., 2004, Licinio J, O'Kirwan F, Irizarry K, Merriman B, Thakur S, Jepson R, Lake S, Tantisira KG, Weiss ST, Wong ML. Association of a corticotropin-releasing hormone receptor 1 haplotype and antidepressant treatment response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 2004; **9(12)**: 1075-1082
- MacKenzie und Quinn, 1999, MacKenzie A, Quinn J. A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region, correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 15251-15255

- Malison et al., 1998, Malison RT, Price LH, Berman R, Van Dyck CH, Pelton GH, Carpenter L, Sanacora G, Owens MJ, Nemeroff CB, Rajeevan N, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB, Charney DS. Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropine and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry* 1998; **44**: 1090-1098
- Malizia et al., 1997, Malizia AL, Melichar JM, Brown DJ, Gunn RN, Reynolds A, Jones T, Nutt DJ. Demonstration of clomipramine and venlafaxine occupation at serotonin reuptake sites in man in vivo. *J Psychopharmacol* 1997; **11(3)**: 279-281
- Manji et al., 2003, Manji HK, Qzairoz JA, Spom J, Payne JL, Demiroff KA, Gray N, Zarate CA Jr, Charney DS. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry* 2003; **53**: 707-742
- Manki et al., 1996, Manki H, Kanba S, Muramatsu T, Higuchi S, Suzuki E, Matsushita S, Ono Y, Chiba H, Shintani F, Nakamura M, Yagi G, Asai M. Dopamine D2, D3 and D4 receptor and transporter gene polymorphisms and mood disorders. *Journal of Affective Disorders* 1996; **40**: 7-13
- Mann et al., 2000, Mann JJ, Huang YY, Underwood MD, Kassir SA, Oppenheim S, Kelly TM, Dwork AJ, Arango V. A serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) and prefrontal cortical binding in major depression and suicide. *Arch Gen Psychiatry* 2000; **57**: 729-738
- McGuffin und Katz, 1989, McGuffin P, Katz R. The genetics of depression and manic-depressive disorder. *Br J Psychiatry* 1989; **155**: 294-304
- Meyer et al., 2001, Meyer JH, Krüger S, Wilson AA, Christensen BK, Goulding VS, Schaffer A, Minifie C, Houle S, Hussey D, Kennedy SH. Lower dopamine transporter binding potential in striatum during depression. *NeuroReport* 2001; **12**: 4121-4125
- Mignone et al., 2002, Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G. Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol* 2002; **3**: REVIEWS0004
- Mill et al., 2002, Mill J, Asherson P, Browes C, D'Souza U, Craig I. Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3'-UTR VNTR: evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR. *Am J Med Genet* 2002; **114**: 975-979
- Mill et al., 2005, Mill J, Asherson P, Craig I, D'Souza UM. Transient expression analysis of allelic variants of a VNTR in the dopamine transporter gene (DAT1). *BMC Genet* 2005, **6**: 3
- Miller und Madras, 2002, Miller GM, Madras BK. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry* 2002; **7**: 44-55
- Minov et al., 2001, Minov C, Baghai TC, Schüle C, Zwanzger P, Schwarz MJ, Zill P, Rupprecht R, Bondy B. Serotonin-2A-receptor and -transporter polymorphisms: lack of association in patients with major depression. *Neurosci Letters* 2001, **303**: 119-122

- Munafò et al., 2006, Munafò MR, Clark TG, Roberts KH, Johnstone EC. Neuroticism mediates the association of serotonin transporter gene with lifetime major depression. *Neuropsychobiology* 2006; **53**: 1-8
- Murphy et al., 2004a, Murphy GM, Hollander SB, Rodriguez HE, Kremer C, Schatzberg AF. Effects of the serotonin transporter gene promoter polymorphism on mirtazapine and paroxetine efficacy and adverse events in geriatric major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2004, **61**: 1163-1169
- Murphy et al., 2004b, Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch KP. Serotonin transporter gene: genetic disorders and pharmacogenetics. *Mol Interv* 2004; **4**: 109-123
- Murray und Lopez, 1997, Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, and the contribution of risk factors: Global burden of disease study. *Lancet* 1997; **349**: 1436-42
- Mynett-Johnson et al., 2000, Mynett-Johnson L, Kealey C, Claffey E, Curtis D, Bouchier-Hayes L, Powell C, McKeon P. Multimarkerhaplotypes within the serotonin transporter gene suggest evidence of an association with bipolar disorder. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 2000, **96**: 845-849
- Nelson, 2003, Nelson JC. Managing treatment-resistant major depression. *J Clin Psychiatry* 2003; **64(Suppl 1)**: 5-12
- Neumeister et al., 2001, Neumeister A, Willeit M, Praschak-Rieder N, Asenbaum S, Stastny J, Hilger E, Pirker W, Konstantinidis A, Kasper S. Dopamine transporter availability in symptomatic depressed patients with seasonal affective disorder and healthy controls. *Psychological Med* 2001; **31**: 1467-1473
- Ng et al., 2006, Ng CH, Eastal S, Tan S, Schweitzer I, Ho BKW, Aziz S. Serotonin transporter polymorphisms and clinical response to sertraline across ethnicities. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2006; **30**: 953-957
- Nierenberg et al., 2000, Nierenberg AA, Farabaugh AH, Alpert JE, Gordon J, Worthington JJ, Rosenbaum JF, Fava M. Timing of onset of antidepressant response with fluoxetine treatment. *Am J Psychiatry* 2000; **157**: 1423-1428
- Nierenberg et al., 2004, Nierenberg AA, Quitkin FM, Kremer C, Keller MB, Thase ME. Placebo-controlled continuation treatment with mirtazapine: acute pattern of response predicts relapse. *Neuropsychopharmacology* 2004; **29**: 1012-1018
- Nürnbergger und Gershon, 1992, Nürnbergger Jr JI, Gershon ES. In: Paykel ES (Hrsg.) *Handbook of Affective Disorders*. London: Churchill Livingstone 1992 (pp.131-148)
- Ogilvie et al., 1996, Ogilvie AD, Battersby S, Bubb VJ, Fink G, Harmar AJ, Goodwin GM, Smith CAD. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet* 1996; **347**: 731-733
- Ohara et al., 1998, Ohara K, Nagai M, Tsukamoto T, Tani K, Suzuki Y, Ohara K. Functional polymorphism in the Serotonin transporter Promoter at the SLC6A4 Locus and mood disorders. *Biol Psychiatry* 1998, **44**: 550-554

Owen et al., 1999, Owen D, Du L, Bakish D, Lapierre YD, Hrdina PD. Norepinephrine transporter gene polymorphism is not associated with susceptibility to major depression. *Psychiatry Res* 1999; **87**: 1-5

Owens et al., 1995, Owens MJ, Ieni JR, Knight DL, Winders K, Nemeroff CB. The serotonergic antidepressant nefazodone inhibits the serotonin transporter: in vivo and ex vivo studies. *Life Sci* 1995; **57(24)**: PL373-380

Owens et al., 1997, Owens MJ, Mulchahey JJ, Stout SC, Plotsky PM. Molecular and neurobiological mechanisms in the treatment of psychiatric disorders. *Psychiatry*, vol 1. Edited by Tasman A, Kay J, Lieberman JA. Philadelphia: WB Saunders, 1997 (pp.210-257)

Owens et al., 2000, Owens MJ, Knight DL, Nemeroff CB. Paroxetine binding to the rat norepinephrine transporter in vivo. *Biol Psychiatry* 2000; **47**: 842-845

Owens und Nemeroff, 1998, Owens MJ, Nemeroff CB. The serotonin transporter and depression. *Depress Anxiety* 1998; **8 (Suppl 1)**: 5-12

Owens, 1997, Owens MJ. Molecular and cellular mechanisms of antidepressant drugs. *Depress Anxiety* 1997, **4**: 153-159

Pacholczyk et al., 1991, Pacholczyk T, Blakely RD, Amara SG. Expression cloning of a cocaine- and antidepressant-sensitive human noradrenaline transporter. *Nature* 1991; **350**: 350-354

Papakostas, 2006, Papakostas GI. Dopaminergic-based pharmacotherapies for depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006; **16(6)**: 391-402

Parsey et al., 2006, Parsey RV, Hastings RS, Oquendo MA, Hu X, Goldman D, Huang Y, Simpson N, Arcement J, Huang Y, Ogden RT, Van Heertum RL, Arango V, Mann JJ. Effect of a triallelic functional polymorphism of the serotonin-transporter-linked promoter region on expression of serotonin transporter in the human brain. *Am J Psychiatry* 2006; **163**: 48-51

Pena et al., 2005, Pena S, Baccichet E, Urbina M, Carreira I, Lima L. Effect of mirtazapine treatment on serotonin transporter in blood peripheral lymphocytes of major depressive patients. *Int Immunopharmacol* 2005; **5(6)**: 1069-1076

Persico et al., 1995, Persico AM, Wang ZW, Black DW, Andreasen NC, Uhl GR, Crowe RR. Exclusion of close linkage of the dopamine transporter gene with schizophrenia spectrum disorders. *Am J Psychiatry* 1995; **152(1)**: 134-136

Petrie et al., 1998, Petrie E, Veith R, Szot P. Bupropion and desipramine increase dopamine transporter mRNA expression in the ventral tegmental area/substantia nigra of rat brain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1998; **22**: 845-856

Pollock et al., 2000, Pollock BG, Ferrell RE, Mulsant BH, Mazumdar S, Miller M, Sweet RA, Davis S, Kirshner MA, Houck PR, Stack JA, Reynolds III CF, Kupfer DJ. Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 2000, **23**: 587-590

Pörzgen et al., 1995, Pörzgen P, Bönisch H, Brüss M. Molecular cloning and organization of the coding region of the human norepinephrine transporter gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; **215**: 1145-1150

Rabkin und Klein, 1987, Rabkin J, Klein D. The clinical measurement of depressive disorders. In: *Band The measurement of depression*. New York: Gilford 1987 (pp. 30-83)

Rausch et al., 2002, Rausch JL, Johnson ME, Fei Y-J, Li JQ, Shendarkar N, MacHobby H, Ganapathy V, Leibach FH. Initial conditions of serotonin transporter kinetics and genotype: influence on SSRI treatment trial outcome. *Biol Psychiatry* 2002, **51**: 723-732

Rausch et al., 2003, Rausch JL, Moeller FG, Johnson ME. Initial platelet serotonin (5-HTT) transport kinetics predict nortriptyline treatment outcome. *J Clin Psychopharmacol* 2003; **23(2)**: 138-144

Rees et al., 1997, Rees M, Norton N, Jones I, McCandless F, Scourfield J, Holmans P, Moorhead S, Feldman E, Sadler S, Cole T, Redman K, Farmer A, McGuffin P, Owen MJ, Craddock N. Association studies of bipolar disorder at the human serotonin transporter gene (hSERT; 5HTT). *Mol Psychol* 1997, **2**:398-402

Reyes-Haro et al., 2003, Reyes-Haro D, García-Alcocer G, Miledi R, García-Colunga J. Uptake of serotonin by adult rat corpus callosum is partially reduced by common antidepressants. *J Neurosci Res* 2003; **74**: 97-102

Richelson und Pfennig, 1984, Richelson E, Pfennig M. Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes: Most antidepressants selectively block norepinephrine uptake. *Eur J Pharmacol* 1984; **104**: 277-286

Richelson, 2003, Richelson R. Interactions of antidepressants with neurotransmitter transporters and receptors and their clinical relevance. *J Clin Psychiatry*, 2003; **64(Suppl 13)**: 5-12

Roy et al., 1985, Roy A, Pickar D, Linnoila M, Doran AR, Ninan P, Paul SM. Cerebrospinal fluid monoamine and monoamine metabolite concentrations in melancholia. *Psychiatry Res* 1985; **15**: 281-292

Roy et al., 1988, Roy A, Pickar D, Dejong J, Karoum F, Linnoila M. Norepinephrine and its metabolites in cerebrospinal fluid, plasma and urine: Relationship to hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in depression. *Arch Gen Psychiatry* 1988; **45**: 849-857

- Rush und Kupfer, 2001, Rush AJ, Kupfer DJ. Strategies and tactics in the treatment of depression. In: Gabbard GO (Hrsg.): *Treatment of Psychiatric Disorders. Third Edition*. American Psychiatric Publishing Inc., Washington, DC 2001 (pp.1417-1439)
- Ryu et al., 2004, Ryu S-H, Lee S-H Lee H-J, Cha J-H, Ham B-J, Han C-S, Choi M-J, Lee M-S. Association between norepinephrine transporter gene polymorphism and major depression. *Neuropsychobiology* 2004; **49**: 174-177
- Sano et al., 1993, Sano A, Kondoh K, Kakimoto Y, Kondo I. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* 1993; **91(4)**: 405-406
- Scheffel et al., 1994, Scheffel U, Kim S, Cline E, Kuhar M. Occupancy of the serotonin transporter by fluoxetine, paroxetine and sertraline: *in vivo* studies with [125I]RTI-55. *Synapse* 1994; **16**: 263-268
- Schmidt et al., 1998, Schmidt LG, Harms H, Kuhn S, Rommelspacher H Sander T. Modification of alcohol withdrawal by the A9 allele of the dopamine transporter gene. *Am J Psychiatr* 1998; **155**: 474-478
- Serretti et al., 2004, Serretti A, Cusin C, Rossini D, Artioli P, Dotoli D, Zanardi R. Further evidence of a combined effect of SERTPR and TPH on SSRIs response in mood disorders. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 2004, **129(1)**: 36-40
- Serretti et al., 2005, Serretti A, Artioli P, Quartesan R. Pharmacogenetics in the treatment of depression: pharmacodynamic studies [Mini-review]. *Pharmacogenetics and Genomics* 2005; **15(2)**: 61-67
- Serretti et al., 2006, Serretti A, Mandelli L, Lorenzi C, Landoni S, Calati R, Insacco C, Cloninger CR. Temperament and character in mood disorders: Influence of DRD4, SERTPR, TPH and MAO-A polymorphisms. *Neuropsychobiology* 2006; **53**: 9-16
- Sheehan et al., 1998 Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T, Baker R, Dunbar GC. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998; **59 (Suppl 20)**: 22-33; quiz 34-57
- Sheggi et al., 2002, Sheggi S, Leggio B, Masi F, Grappi S, Gambarana C, Nanni G, Rauggi R, DeMontis MG. Selective modifications in the nucleus accumbens of dopamine synaptic transmission in rats exposed to chronic stress. *J Neurochem* 2002; **83**: 895-903
- Shinkai et al., 2005, Shinkai K, Yoshimura R, Toyohira Y, Ueno S, Tsutsui M, Nakamura J, Yanagihara N. Effect of prolonged exposure to milnacipran on norepinephrine transporter in cultured bovine adrenal medullary cells. *Biochemical Pharmacology* 2005; **70(9)**: 1389-1397

- Shioe et al., 2003, Shioe K, Ichimiya T, Suhara T, Takano A, Sudo Y, Yasuno F, Hirano M, Shinohara M, Kagami M, Okubo Y, Nankai M, Kanba S. No association between genotype of the promoter region of serotonin transporter gene and serotonin transporter binding in human brain measured by PET. *Synapse* 2003; **48**: 184-188
- Shores et al., 1994, Shores MM, Szot P, Veith RC. Desipramine-induced increase in norepinephrine transporter mRNA is not mediated via alpha 2 receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 1994; **27**: 337-341
- Smeraldi et al., 1998, Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, DiBella D, Perez J, Catalano M. Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* 1998, **3**: 508-511
- Smith et al., 2000, Smith TD, Kuczenski R, George-Friedman K, Malley JD, Foote SL. In vivo microdialysis assessment of extracellular serotonin and dopamine levels in awake monkeys during sustained fluoxetine admission. *Synapse* 2000; **38**: 460-470
- Souery et al., 1996, Souery D, Lipp O, Mahieu B, Mendelbaum K, De Martelaer V, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J. Association study of bipolar disorder with candidate genes involved in catecholamine neurotransmission: DRD2, DRD3, DAT1, and TH genes. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 1996; **67**: 551-555
- Souery et al., 1999, Souery D, Amsterdam J, de Montigny C, Lecrubier Y, Montgomery S, Lipp O, Racagni G, Zohar J, Mendlewicz J. Treatment resistant depression: methodological overview and operational criteria. *Eur Neuropsychopharmacology* 1999; **9**: 83-91
- Staley et al., 2006, Staley J, Sanacora G, Tamagnan G, Maciejewski PK, Malison RT, Berman RM, Vythilingam M, Kugaya A, Baldwin RM, Seibyl JP, Charney D, Innis RB. Sex differences in diencephalon serotonin transporter availability in major depression. *Biol Psychiatry* 2006; **59(1)**: 40-47
- Steimer et al., 2001, Steimer W, Müller B, Leucht S, Kissling W. Pharmacogenetics: a new diagnostic tool in the management of antidepressive drug therapy. *Clinica Chimica Acta* 2001; **308**: 33-41
- Stöber et al., 1996a, Stöber G, Heils A, Lesch KP. Serotonin transporter gene polymorphism and affective disorder. *Lancet* 1996; **347**: 1340-1341
- Stöber et al., 1996b, Stöber G, Nöthen MM, Pörzgen P, Brüss M, Bönisch H, Knapp M, Beckmann H, Propping P. Systematic search for variation in the human norepinephrine transporter gene: Identification of five naturally occurring missense mutations and study of association with major psychiatric disorders. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 1996; **67**: 523-532
- Suzuki et al., 2004, Suzuki Y, Sawamura K, Someya T. The effects of a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism on the clinical response to fluvoxamine in depressed patients. *Pharmacogenomics* 2004; **4(4)**: 283-286

- Szegedi et al., 2005, Szegedi A, Rujescu D, Tadic A, Müller MJ, Kohlen R, Stassen HH, Dahmen N. The catechol-O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism affects short-term treatment response to mirtazapine, but not to paroxetine in major depression. *Pharmacogenomics J* 2005; **5**: 49-53
- Szot et al., 1993, Szot P, Ashleigh EA, Kohlen R, Petrie E, Dorsa DM, Veith R. Norepinephrine transporter mRNA is elevated in the locus coeruleus following short- and long-term desipramine treatment. *Brain Res* 1993; **618**: 308-312
- Thase et al., 2001, Thase ME, Entsuah AR, Rudolph RL. Remission rates during treatment with venlafaxine or selective serotonin reuptake inhibitors. *Br J Psychiatry* 2001; **178**: 234-241
- Thase und Rush, 1995, Thase ME, Rush AJ. Treatment-resistant depression. In: Bloom FE, Kupfer DJ (Hrsg.): *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York: Raven Press 1995 (pp.1081-1097)
- Thase, 2003a, Thase ME. Effectiveness of antidepressants: comparative remission rates. *J Clin Psychiatry* 2003; **64(Suppl 2)**: 3-7
- Thase, 2003b, Thase ME. New approaches to managing difficult-to-treat depressions. *J Clin Psychiatry* 2003; **64(Suppl 1)**: 3-4
- Van Dyck et al., 2004, Van Dyck CH, Malison RT, Staley JK, Jacobsen LK, Seibyl JP, Laruelle M, Baldwin RM, Innis RB, Gelernter J. Central serotonin transporter availability measured with [¹²³I]β-CIT SPECT in relation to serotonin transporter genotype. *Am J Psychiatry* 2004; **161**: 525-531
- Vandenberg et al., 1992, Vandenberg DJ, Persico AM, Hawkins AL, Griffin CA, Li X, Jabs EW, Uhl GR. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 1992; **14**: 1104-1106
- Veith et al., 1994, Veith RC, Lewis N, Linares OA, Barnes RF, Raskind MA, Villacres EC, Murburg HM, Ashleigh EA, Castillo S, Peskind ER, Pascualy M, Halter JB. Sympathetic nervous system activity in major depression. *Arch Gen Psychiatry* 1994; **51**: 411-422
- Vincent et al., 1999, Vincent JB, Masellis M, Lawrence J, Choi V, Gurling H, Parikh SV, Kennedy JL. Genetic association analysis of the serotonin system genes in bipolar affective disorder. *Am J Psychiatry* 1999; **156**: 136-138
- Waldman et al., 1997, Waldman ID, Robinson BF, Feigon SA. Linkage disequilibrium between the dopamine transporter gene (DAT1) and bipolar disorder: extending the transmission disequilibrium test (TDT) to examine genetic heterogeneity. *Genet Epidemiol* 1997; **14**: 699-704
- Whale et al., 2000, Whale R, Quedstedt DJ, Laver D, Harrison PJ, Cowen PJ. Serotonin transporter (5-HTT) promoter genotype may influence the prolactin response to clomipramine. *Psychopharmacology (Berl)* 2000; **150**: 120-122

- White et al., 2005, White KJ, Walline CC, Barker EL. Serotonin transporters: Implications for antidepressant drug development. *AAPS* 2005; **7(2)**: E421-E433
- Wilhelm et al., 2006, Wilhelm K, Mitchell PB, Niven H, Finch A, Wedgwood L, Scimone A, Blair IP, Parker G, Schofield PR. Life events, first depression onset and the serotonin transporter gene. *Br J Psychiatry* 2006; **188**: 210-215
- Willeit et al., 2001, Willeit M, Stastny J, Pirker W, Praschak-Rieder N, Neumeister A, Asenbaum S, Tauscher J, Fuchs K, Sieghart W, Hornik K, Aschauer HN, Brucke T, Kasper S. No evidence for in vivo regulation of midbrain serotonin transporter availability by serotonin transporter gene polymorphism. *Biol Psychiatry* 2001; **50**: 8-12
- Willner et al., 2005, Willner P, Hale AS, Argyropoulos S. Dopaminergic mechanism of antidepressant action in depressed patients. *J Affect Disord* 2005; **86**: 37-45
- Willner, 1995, Willner P. Dopaminergic mechanism in depression and mania. In: Bloom FE, Kupfer DJ (Hrsg): *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. New York, Raven Press 1995 (pp. 921-931)
- Willner, 1997, Willner P. The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *Int Clin Psychopharmacol* 1997; **12(Suppl 3)**: S7-S14
- Wittchen 2001, Wittchen HU. Epidemiology of affective disorders. In: *Band Contemporary Psychiatry*. Heidelberg: Springer Verlag 2001 (pp. 331-334)
- Wolfersdorf et al., 1997, Wolfersdorf M, Ruppe A, Keller F, König F. Chronifizierung bei depressiven Erkrankungen und psychosozialen Faktoren. In: Bauer M, Berghöfer A (Hrsg.): *Therapieresistente Depressionen*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1997 (pp. 37-46)
- Wong et al., 2004, Wong ML, O'Kirwan F, Hannestad JP, Irizarry KJL, Elashoff D, Licinio J. St John's wort and imipramine-induced gene expression profiles identify cellular functions relevant to antidepressant action and novel pharmacogenetic candidates for the phenotype of antidepressant treatment response. *Mol Psychiatry* 2004; **9**: 237-251
- Yadid et al., 2000, Yadid G, Nakash R, Deri I, Tamar G, Kinor N, Gispan I, Zangen A. Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. *Prog Neurobiol* 2000; **62**: 353-378
- Yau et al., 1999, Yau JL, Kelly PA, Olsson T, Noble J, Seckl JR. Chronic amitriptyline administration increases serotonin transporter binding sites in the hippocampus of aged rats. *Neurosci Lett* 1999; **261**: 183-185
- Yoshida et al., 2002, Yoshida K, Ito K, Sato K, Takahashi H, Kamata M, Higuchi H, Shimizu T, Itoh K, Inoue K, Tezuka T, Suzuki T, Ohkubo T, Sugawara K, Otani K. Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to fluvoxamine in Japanese depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002, **26**: 383-386

Yoshida et al., 2004, Yoshida K, Takahashi H, Higuchi H, Kamata M, Ito K, Sato K, Naito S, Shimizu T, Itoh K, Inoue K, Suzuki T, Nemeroff CB. Prediction of antidepressant response to milnacipran by norepinephrine transporter gene polymorphisms. *Am J Psychiatry* 2004; **161**: 1575-1580

Young et al., 1999, Young RC, Karaviorgou M, Kalayam B, Hull J, Alexopoulos GS. Serotonin transporter promoter polymorphism and response to nortriptyline in geriatric major depression. *Society for Neuroscience Meeting, 29th Annual Meeting*, Miami Beach, FL. Abstract 533.17

Yu et al., 2002, Yu YW-Y, Tsai S-J, Chen T-J, Lin C-H, Hong C-J. Association study of the serotonin transporter promoter polymorphism and symptomatology and antidepressant response in major depressive disorders. *Mol Psychiatry* 2002 **7**: 1115-1119

Zanardi et al., 2000, Zanardi R, Benedetti F, DiBella D, Catalano M, Smeraldi E. Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol* 2000, **20**: 105-107

Zanardi et al., 2001, Zanardi R, Serretti A, Rossini D, Franchini L, Cusin C, Lattuada E, Dotoli D, Smeraldi E. Factors affecting fluvoxamine antidepressant activity: influence of pindolol and 5-HTTLPR in delusional and nondelusional depression. *Biol Psychiatry* 2001, **50**: 323-330

Zangen et al., 2001, Zangen A, Nakash R, Overstreet DH, Yadid G. Association between depressive behavior and absence of serotonin-dopamine interaction in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology(Berl)* 2001; **155**: 434-439

Zavosh et al., 1999, Zavosh A, Schaefer J, Ferrel A, Figlewicz DP. Desipramine treatment decreases ³H-nisoxetine binding and norepinephrine transporter mRNA in SK-N-SHSY5Y cells. *Brain Res Bull* 1999; **49**: 291-295

Zhou et al., 2005, Zhou FM, Liang Y, Salas R, Zhang L, De Biasi M, Dani JA. Corelease of dopamine and serotonin from striatal dopamine terminals. *Neuron* 2005 ; **46**: 65-74

Zhu et al., 2002, Zhu MY, Kim CH, Hwang DY, Baldessarini RJ, Kim KS. Effects of desipramine treatment on norepinephrine transporter gene expression in the cultured SK-N-BE(2)M17 cells and rat brain tissue. *J Neurochem* 2002; **82**: 146-153

Zhu und Ordway, 1997, Zhu MY, Ordway GA. Down-regulation of norepinephrine transporter on PC12 cells by transporter inhibitors. *J Neurochem* 1997; **68**: 134-141

Zill et al., 2002, Zill P, Engel R, Baghai TC, Juckel G, Frodl T, Müller-Siecheneder F, Zwanzger P, Schüle C, Minov C, Behrens S, Rupprecht R, Hegerl U, Möller HJ, Bondy B. Identification of a naturally occurring polymorphism in the promoter region of the norepinephrine transporter and analysis in major depression. *Neuropsychopharmacology* 2002; **26**: 489-493

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Ivar Roots für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die Möglichkeit, die Arbeit am Institut für Klinische Pharmakologie der Charité anzufertigen.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Julia Kirchheiner für die engagierte, umsichtige und zuverlässige Betreuung der Arbeit. Sie hat mir viele Möglichkeiten eröffnet und meine Freude an der Wissenschaft bestärkt.

Bei Mark Goldammer, Pharmazeut am Institut für Klinische Pharmakologie, bedanke ich mich für die vielen guten Ratschläge und Hilfestellungen bei labortechnischen Fragen sowie für die zahlreichen kleinen Aufmunterungen zwischendurch, die den Laboralltag geprägt haben.

Den Medizinisch-Technischen Assistentinnen Anja Alfandega, Jasmin Jamal El-Din, Hannelore Maszynski und Petra Pietsch danke ich für die herzliche Aufnahme in die Laborgemeinschaft und die angenehme Arbeitsatmosphäre. Besonders danke ich Anja Alfandega, die mich geduldig in die praktischen Tätigkeiten im Labor eingeführt hat und mir jederzeit hilfreich zur Seite stand.

Meinen Eltern und meinem Bruder danke ich für ihre vielfältige und tatkräftige Unterstützung und das Vertrauen, das sie in mich gesetzt haben.

Meinem Mann danke ich für alle kritischen Anmerkungen und Anregungen, die mir sehr weitergeholfen haben. Ihm und meiner Tochter danke ich zudem sehr für die Geduld und das Verständnis, das sie mir während der gesamten Zeit der Erstellung dieser Arbeit entgegengebracht haben.

Erklärung

„Ich, Katharina Nickchen, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: **„Die Bedeutung von Polymorphismen in den Monoamintransportergenen für das Ansprechen der Therapie mit Antidepressiva bei depressiven Patienten“** 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 27.10.2008

Katharina Nickchen

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

Aus dieser Arbeit gingen folgende Veröffentlichungen hervor:**Originalarbeiten/Übersichtsartikel**

Kirchheiner J, **Nickchen K**, Bauer M, Wong M-L, Licinio J, Roots I, Brockmüller J (2004) Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Molecular Psychiatry* **9**: 442-473

Kirchheiner J, **Nickchen K**, Sasse J, Bauer M, Roots I, Brockmüller J (2006) A 40-basepair VNTR polymorphism in the dopamine transporter (DAT1) gene and the rapid response to antidepressant treatment. *Pharmacogenomics J* **7(1)**: 48-55

Buchbeiträge

Nickchen K, Priller J. Molekulare Theorien zur Ätiologie der Depression. In: Bauer M, Hrsg. *Neurobiologie und Therapie depressiver Erkrankungen*. Bremen: Uni-Med, 2004

Kongressbeiträge

Nickchen K, Kirchheiner J, Roots I, Brockmüller J (2002) "CYP2D6 and Human Norepinephrine Transporter Gene variants in patients with Major Depression"; 4. Jahreskongress für Klinische Pharmakologie 2002, Wiesbaden, Deutschland

Nickchen K, Kirchheiner J, Roots I, Brockmüller J (2003) "Human Norepinephrine Transporter Gene and G-protein beta3-gene variants in patients with Major Depression and Schizophrenia"; 14th European Students Conference; Charité University Hospital, Berlin, Germany