

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie (CCM)  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

## **DISSERTATION**

# **Einfluss genetischer Polymorphismen der G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit, der Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$ , der Inositol-Polyphosphat-1- Phosphatase und der Tryptophanhydroxylase 2 auf den Therapie- respons lithiumaugmentierter Patienten mit antidepressivaresistenter Depression: Gibt es einen Zusammenhang zwischen Genotyp und Therapierespons?**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Dorothea Lisa Hollinde  
aus Lübeck

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. A. Heinz  
2. Prof. Dr. med. J. Kirchheiner  
3. Priv.-Doz. Dr. med. T. Bschor

Datum der Promotion: 21.11.2008

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen</b>	<b>6</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1 Therapieresistenz depressiver Erkrankungen	10
1.1.1 Definition, Häufigkeit und Problematik der Therapieresistenz	10
1.1.2 Ursachen der Therapieresistenz und pharmakogenetische Respons- prädiktion in der Psychopharmakotherapie der Depression	12
1.1.3 Medikamentöse Behandlungsansätze bei depressiven Erkrankungen	14
1.2 Bedeutung von Lithium bei der Behandlung therapieresistenter Depressionen, seine Wirkweise sowie pharmakogenetische Responsprädiktion bei Lithiumaugmentationstherapie	18
1.2.1 Indikationen für Lithium	18
1.2.2 Wirkweise von Lithium	18
1.2.3 Genetische Prädiktoren für Respons und Non-Respons bei Lithiumaugmentation	21
1.3 Im Rahmen dieser Arbeit untersuchte genetische Polymorphismen	22
1.3.1 Genetischer Polymorphismus der G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit (GNB3)	23
1.3.2 Genetischer Polymorphismus der Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$ (GSK3B)	27
1.3.3 Genetischer Polymorphismus der Inositol-Polyphosphat-1-Phosphatase (INPP1)	28
1.3.4 Genetischer Polymorphismus der Tryptophanhydroxylase 2 (TPH2)	30
1.4 Ableitung der Fragestellung und Hypothesen	32
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>34</b>
2.1 Struktur	34
2.1.1 German Algorithm Project (GAP)	34
2.1.2 Patienten und Ablauf	34
2.1.3 Einschlusskriterien	36
2.1.4 Ausschlusskriterien	36
2.2 Molekulargenetische Laboranalysen	36
2.2.1 DNA-Extraktion	36

2.2.2	Genotypisierungen	37
2.2.2.1	Polymerase-Kettenreaktion	37
2.2.2.2	Restriktionsendonukleasen und Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen	38
2.2.2.3	Agarosegelelektrophorese	39
2.2.2.4	Bestimmung des GNB3-Polymorphismus	39
2.2.2.5	Bestimmung des GSK3B-Polymorphismus	40
2.2.2.6	Bestimmung des INPP1-Polymorphismus	41
2.2.2.7	Bestimmung des TPH2-Polymorphismus	41
2.2.3	Reagenzien, Untersuchungsmaterialien und Geräte	41
2.2.3.1	Herstellung der Agarosegelplatten	41
2.2.3.2	Materialien für die PCR und die RFLP-Analysen	42
2.2.3.3	Anmerkungen zu den molekulargenetischen Labormethoden	44
2.2.3.4	GNB3-Protokoll	44
2.2.3.5	GSK3B-Protokoll	47
2.2.3.6	INPP1-Protokoll	49
2.2.3.7	TPH2-Protokoll	52
2.3	Statistische Analyse	54
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>57</b>
3.1	Stichprobenbeschreibung	57
3.2	Effektivität der Lithiumaugmentation	61
3.3	Statistische Auswertung der vier SNP	63
3.3.1	GNB3	63
3.3.2	GSK3B	67
3.3.3	INPP1	77
3.3.4	TPH2	82
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>87</b>
4.1	Stichprobe und Studiendesign	87
4.2	GNB3	90
4.3	GSK3B	92
4.4	INPP1	95
4.5	TPH2	97
4.6	Abschließende Überlegungen und Ausblick	98

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>101</b>
<b>6</b>	<b>Literatur</b>	<b>102</b>
	<b>Internetadressen</b>	<b>113</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>114</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>115</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>116</b>

## Abkürzungen

$\alpha$	Signifikanzniveau
5-HT	5-Hydroxytryptophan=Serotonin
5-HTT	Serotonintransporter
5-HTTLPR	Serotonin Transporter-Linked Polymorphism Region
5-HT1A-Rezeptor	Serotonin-1A-Rezeptor
A	Adenosin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AD	Antidepressivum
AluI	Restriktionsendonuklease (GSK3B)
bp	Basenpaare
BRMS	Bech Rafaelsen Melancholia Scale
BseDI	Restriktionsendonuklease (GNB3)
C	Cytosin
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CDES	Computerized Documentation and Expert System
CREB	Cyclic Adenosine Monophosphate Regulatory Element-Binding Protein Transcription Factor
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
CYP2D6	Zytochrom-P450-2D6
DAG	Diazylglyzerin
Ddel	Restriktionsendonuklease (INPP1)
DEX/CRH-Test	Dexamethason/Corticotropin Releasing Hormone-Test
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSM IV	Diagnostisches und statistisches Manual psychischer Störungen IV
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKT	Elektrokrampftherapie
G	Guanin
GAP	German Algorithm Project
GDP	Guanosindiphosphat
GNB3	G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit
GSK3B	Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$
GTP	Guanosintriphosphat

H <sub>0</sub>	Nullhypothese
H <sub>1</sub>	Alternativhypothese
HAMD-17	Hamilton Depression Scale (17 Items)
HAMD-21	Hamilton Depression Scale (21 Items)
HHNA	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse
HR	Hazard Ratio
ICD-10	International Classification of Diseases 10
IMP	Inositol-Monophosphat-Phosphatase
INPP1	Inositol-Polyphosphat-1-Phosphatase
IP3	Inositol-1,4,5-Trisphosphat
kb	Kilobase
kBp	Kilobasenpaar
Magna Pure	Gerät zur DNA-Extraktion
MAOH	Monoaminoxidase-Hemmer
Mini-SCID	Structured Clinical Interview for DSM-III-R
mRNA	messenger-RNA
MspI	Restriktionsendonuklease (TPH2)
n	Stichprobengröße
nt	Nukleotid
NaSSA	Noradrenalin- und serotoninspezifisches Antidepressivum
NNR	Nebennierenrinde
p	Signifikanz
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PIP2	Phosphoinositol-4,5-Bisphosphat
PKC	Proteinkinase C
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
SD	Standardabweichung
SKID	Strukturiertes Klinisches Interview zur Diagnostik Psychischer Störungen
SNP	Single Nucleotid Polymorphism(s)
SNRI	Selective Norepinephrin Reuptake Inhibitor (Selektiver Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer)

SSNRI	Selective Serotonin Norepinephrin Reuptake Inhibitor (Selektiver Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer)
SSRI	Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (Selektiver Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer)
SSTR	Standard Stepwise Drug Treatment Regimen
STAR*D	Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression
T	Thymin
TAU	Treatment As Usual
TBE	Tris-Borsäure-Ethylendiamintetraacetat
TPH	Tryptophanhydroxylase
TZA	Tri-/tetrazyklisches Antidepressivum

## 1 Einleitung

Therapieresistenzen stellen in der Behandlung depressiver Erkrankungen ein noch nicht zufriedenstellend gelöstes Problem dar. Die dafür verantwortlichen Gründe sind bislang ungeklärt. Einen möglichen Einfluss auf den Respons oder Non-Respons bei antidepressiver Therapie im Allgemeinen und Lithiumaugmentationstherapie im Besonderen haben genetische Polymorphismen (z. B. Smeraldi, Zanardi et al., 1998; Serretti, Zanardi et al., 2001; Serretti, Artioli et al., 2005; Stamm, Adli et al., im Druck). Dieses mittlerweile sehr aktuelle Forschungsgebiet der Psychopharmakogenetik stellt einen vielversprechenden Ansatz bei der Erforschung der Responsibilität auf verschiedene Therapieansätze dar. So konnten beispielsweise Stamm, Adli et al. (im Druck) zeigen, dass ein Insertions-/Deletionspolymorphismus in der Promoterregion des Serotonintransporters den Respons auf Lithiumaugmentationstherapie bei uni- und bipolar depressiven Patienten beeinflusst.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit (s. auch Schloth, Kirchheiner et al., 2005; Adli, Hollinde et al., 2007) wurden an diese Befunde anknüpfend vier weitere genetische Polymorphismen und deren Einfluss auf den Respons bzw. Non-Respons von 72 unipolar und 11 bipolar depressiven Patienten auf Lithiumaugmentationstherapie untersucht, die auf mindestens einen initialen Behandlungsversuch mit antidepressiver Monotherapie nicht angesprochen hatten. Letztendliches Ziel derartiger Untersuchungen ist die Identifikation relevanter genetischer Marker, anhand derer eine individualisierte Psychopharmakotherapie eingeleitet und die Anzahl erfolgloser Therapieversuche reduziert werden könnte, was für die betroffenen Patienten einen großen Fortschritt bedeuten würde.

## 1.1 Therapieresistenz depressiver Erkrankungen

### 1.1.1 Definition, Häufigkeit und Problematik der Therapieresistenz

*„Depressionen sind die weltweit häufigste Ursache für mit Behinderung gelebte Lebensjahre. Durch keine andere Erkrankung gehen in den Industrieländern mehr gesunde Lebensjahre verloren als durch Depression.“ (Spießl, Hübner-Liebermann et al., 2006)*

Therapieresistenzen stellen nach wie vor ein großes Problem in der Depressionstherapie dar. Obwohl die Zahl und Art der in der klinischen Praxis verfügbaren Antidepressiva in den letzten Jahren deutlich zugenommen hat, fallen immer wieder Patienten auf, die auf einen adäquaten oder mehrere adäquate Behandlungsversuche nicht oder nicht zufriedenstellend ansprechen. Die Zahlen belaufen sich diesbezüglich auf 30 bis 40% depressiver Patienten, die auf einen ersten adäquaten Therapieversuch mit einem Antidepressivum nicht respondieren. Mehr als 50% der Nonresponder reagieren dabei auch auf einen zweiten Behandlungsversuch nicht im Sinne einer Remission. Von den Patienten, die wiederum auf einen initialen Therapieversuch ansprechen, erreichen bis zu 50% keine volle Remission, sondern leiden weiterhin unter Residualsymptomen (Adli, Bauer et al., 2006). Schwerwiegende Konsequenz dieser erfolglosen Behandlungsversuche ist eine Chronifizierung der Erkrankung, was angesichts persönlicher, sozialer und sozioökonomischer Folgen fatale Auswirkungen für den Einzelnen und sein Umfeld hat (Adli, Rush et al., 2003; Bschor, Lewitzka et al., 2003; Adli, Bauer et al., 2006). Das Problem der Therapieresistenz depressiver Erkrankungen bezieht sich dabei sowohl auf unipolar depressive Erkrankungen als auch auf depressive Phasen im Rahmen bipolarer („manisch-depressiver“) Störungen (s. Exkurs 1 und Exkurs 2).

#### **Exkurs 1: Depressive Episoden und rezidivierende depressive Störungen**

Depressive Episoden und rezidivierende depressive Störungen werden zu den unipolaren Störungen gerechnet, da ihnen der manische Pol der affektiven Beeinträchtigung fehlt. Sie sind gekennzeichnet durch einmalig auftretende (depressive Episoden) oder wiederkehrende (rezidivierende depressive Störungen) Phasen depressiver Gemüthsstimmung, kombiniert mit Interessenverlust, Unfähigkeit, Freude zu empfinden, Schlafstörungen, Schuldgefühlen, Energieverlust, Konzentrationsstörungen, Appetitveränderungen, psychomotorischen Beeinträchtigungen und Suizidgedanken/-handlungen. Darüber hinaus beschreiben auch hier, ebenso wie bei bipolaren affektiven Störungen, viele Patienten psychotische Erlebnisse wie Halluzinationen und Wahnvorstellungen (Dilling, Mombour et al., 2004).

Es sind etwa doppelt so viele Frauen wie Männer von depressiven Episoden und rezidivierenden depressiven Störungen betroffen. Das Durchschnittsalter liegt in der Mitte des dritten Lebensjahrzehntes, wobei eine Erkrankung jedoch prinzipiell in jedem Lebensalter möglich ist. Die Lebenszeitprävalenz für Major Depression wird auf 15 bis 17% geschätzt, die Einjahresprävalenz auf 6 bis 7% (APA, 1994; Kessler, Berglund et al., 2003; Ebmeier, Donaghey et al., 2006). Neben der generell nicht selten deutlich beeinträchtigten alltäglichen Lebensführung aufgrund der für eine depressive Episode charakteristischen Symptome stellt die erhöhte Mortalität der betroffenen Patienten einen wichtigen Aspekt dieser Störungsgruppe dar.

pe dar. So ist das relative Todesrisiko depressiver Patienten signifikant gegenüber nicht-depressiven Personen erhöht. Das Lebenszeitrisko, infolge eines Suizidversuches zu versterben, liegt zwischen 15 und 18% (Ebmeier, Donaghey et al., 2006), und etwa 66% aller Suizide geht eine depressive Symptomatik voraus (Remick, 2002).

Die durchschnittliche Dauer einer depressiven Episode liegt bei drei Monaten. Die meisten Fälle unipolar-depressiver Erkrankungen verlaufen episodisch, wobei bei etwa 35% innerhalb von zwei Jahren, bei etwa 60% innerhalb von 12 Jahren mit einem Rezidiv zu rechnen ist. Bei etwa einem Drittel der Patienten ist lediglich ein Partialresponz zu verzeichnen, bei 20% der Patienten entwickelt sich ein chronisches Krankheitsgeschehen. Ohne entsprechende Prophylaxe liegt das Rückfallrisiko nach einer ersten depressiven Episode, abhängig vom Schweregrad, zwischen 50 und 70%. Nur bei ungefähr einem Drittel ist die Remission von Dauer. Prognostisch günstig scheinen stabile psychosoziale Faktoren zu sein, ungünstig dagegen gleichzeitig bestehende psychische oder somatische Störungen. Diesbezüglich scheinen vor allem dem Substanzmissbrauch, den Persönlichkeitsstörungen und den Angststörungen eine besondere Bedeutung zuzukommen (Bauer, 2004; Spießl, Hübner-Liebermann et al., 2006).

Ätiopathogenetisch muss von einem multifaktoriellen Geschehen ausgegangen werden. Relevant scheinen hier genetische, biopsychosoziale, neurobiologische und psychologische Faktoren zu sein.

## **Exkurs 2: Bipolare affektive Störungen**

Bipolare affektive Störungen („manisch-depressive Erkrankungen“) sind durch alternierende Episoden gehobener und depressiver Stimmung gekennzeichnet. Das Krankheitsbild ist in der Regel schwer, verläuft episodisch und besteht zumeist lebenslang. Phasen gehobener Stimmung sind häufig mit vermehrtem Antrieb und gesteigerter Aktivität verbunden. Je nach Intensität wird diesbezüglich zwischen Manie und Hypomanie unterschieden. Depressive Episoden sind dagegen durch eine Stimmungssenkung sowie verminderten Antrieb und reduzierte Aktivität charakterisiert. Neben den Leitsymptomen Depression und Manie bzw. Hypomanie sind häufig auch andere Symptome wie Suizidgedanken, Konzentrationsstörungen, Schlafstörungen, Alkohol- oder Drogenmissbrauch, Hochrisikoverhalten und Verlust der Urteilsfähigkeit zu beobachten. Auch beschreiben viele Patienten psychotische Erlebnisse wie Halluzinationen und Wahnvorstellungen (Dilling, Mombour et al., 2004; Bauer, 2005a).

Bipolare Störungen gehören zu den häufigsten, schwersten und folgenreichsten psychiatrischen Erkrankungen. Sie werden unterschieden in die Bipolar I- und die Bipolar II-Störung. Erstere ist gekennzeichnet durch den Wechsel zwischen depressiven und manischen Episoden, während letztere durch sich abwechselnde depressive und hypomane Episoden charakterisiert ist (Dilling, Mombour et al., 2004; Bauer, 2005a).

Die weltweite Prävalenz bipolarer Störungen liegt bei 3 bis 5%, wobei Frauen und Männer, anders als bei unipolaren Störungen, gleich häufig betroffen sind. Darüber hinaus stellen bipolare Erkrankungen die Hauptursache für eine Behinderung dar und bestehen zumeist lebenslang; die Rückfallquote liegt bei etwa 90%. Der Erkrankungsgipfel liegt vor allem im jungen Erwachsenenalter zwischen 18 und 24 Jahren, grundsätzlich können bipolare Störungen aber in jedem Alter auftreten. Jedoch impliziert das zumeist junge Erkrankungsalter wichtige gesundheitspolitische, gesellschaftliche und soziale Aspekte (Fischer, 2004; Hirschfeld, 2004; Bauer, 2005a; Shastry, 2005). Der Behandlungsfokus lag bislang vor allem auf der manischen Komponente, obwohl depressive Symptome in der Regel sowohl häufiger auftreten als auch länger andauern (Hirschfeld, 2004). Ein wichtiger Punkt diesbezüglich ist, dass Suizidversuche bei Patienten mit gegenwärtig depressiven Phasen deutlich häufiger sind als in einer manischen Phase (Kupfer, Frank et al., 2002). Generell ist die Gesamtsterblichkeit von Patienten mit einer bipolaren Störung im Vergleich mit der Allgemeinbevölkerung deutlich erhöht (Bauer, 2005a).

Bipolare Störungen werden sehr häufig fehldiagnostiziert und somit auch inadäquat therapiert. So wird die korrekte Diagnose entweder nicht korrekt oder erst nach mehreren Jahren gestellt. Dies könnte zum einen daran liegen, dass hypomane Episoden nicht als solche erkannt werden, zum anderen, dass Patienten manische bzw. hypomanische Phasen häufig nicht als von der Norm abweichend wahrnehmen und ihrem Arzt dementsprechend auch nicht berichten (Hirschfeld, 2004; Bauer, 2005a). Bezüglich der depressiven Symptome ist denkbar, dass die depressiven Beschwerden aufgrund der häufig nicht im Sinne einer Major Depression vollständig ausgeprägten Symptome (Judd, Akiskal et al., 2002; 2003) ebenfalls nicht als solche erkannt werden.

Die Entstehungsbedingungen und Ursachen der bipolaren Erkrankungen sind bislang nicht zufriedenstellend geklärt. Vor dem Hintergrund bisheriger Erkenntnisse geht man von einem multifaktoriellen Erklärungsmodell aus, das sowohl genetische und neurobiologische/neuroendokrine als auch psychosoziale Faktoren einschließt (Bauer, 2005b).

### 1.1.2 Ursachen der Therapieresistenz und pharmakogenetische Responsprädiktion in der Psychopharmakotherapie der Depression

Die Gründe für eine Therapieresistenz depressiver Störungen sind bislang nicht vollständig identifiziert. Es werden diesbezüglich verschiedene Faktoren wie inadäquate Dosierung der verwendeten Antidepressiva, zu kurze Behandlungsdauer oder mangelnde Ausschöpfung der therapeutischen Möglichkeiten bei unvollständigem Respons auf eine einmal gewählte Therapiestrategie diskutiert (Adli, Rush et al., 2003). Einen weiteren wichtigen Faktor könnten genetische Faktoren wie z. B. genetische Polymorphismen (zur Erläuterung des Begriffs „genetischer Polymorphismen“ s. auch Kapitel 1.3) darstellen, die durch einen aktivierenden oder hemmenden Effekt auf die Neurotransmittersysteme des Gehirns bzw. die Metabolisierung von Arzneimitteln im Allgemeinen und Psychopharmaka im Besonderen Einfluss auf die Wirkung eines Antidepressivums nehmen könnten. Dieser Forschungsansatz der Psychopharmakogenetik hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen und könnte vielversprechende therapeutische Strategien bei der Behandlung therapieresistenter Depressionen eröffnen. In diesem Zusammenhang werden genetische Muster untersucht, die den Respons auf Psychopharmaka beeinflussen könnten (Serretti, Artioli et al., 2005). Der Fokus lag hierbei bislang vor allem auf genetischen Polymorphismen bei Enzymen der Zytochrom-P450-Familie sowie bei Genen, die im Rahmen des serotoninergen Systems von Bedeutung zu sein scheinen (Kirchheiner, Bertilsson et al., 2003; Binder & Holsboer, 2006). Enzyme der Zytochrom-P450-Familie sind für die Arzneimittelmetabolisierung von Bedeutung, wobei die meisten Antidepressiva durch das polymorphe Zytochrom-P450-2D6 (CYP2D6) metabolisiert werden. Aufgrund genetischer Varianten zeigt dieses Enzym eine ausgeprägte Variabilität bezüglich seiner Aktivität, so dass genetische Polymorphismen zu einem vollständigen Enzymdefizit oder zu einem extrem schnellen Metabolismus führen können, was entsprechende Folgen für die Wirkung antidepressiver Medikation hat (Kirchheiner, Bertilsson et al., 2003). Hinsichtlich des serotoninergen Systems wurden wohl Untersuchungen zum Serotonintransporter (5-HTT) am häufigsten repliziert, der Angriffspunkt vieler gebräuchlicher antidepressiver Substanzen ist. Der 5-HTT nimmt das Serotonin im synaptischen Spalt wieder in die Präsynapse auf, so dass es dem Neurotransmitterpool erneut zur Verfügung steht. In der Promoterregion (genauer der *Serotonin Transporter-Linked Polymorphism Region*, 5-HTTLPR) des Gens für diesen Transporter, über den viele moderne Medikamente ihren

antidepressiven Effekt erzielen, ist ein Insertions-/Deletionspolymorphismus (s. Abb. 1) lokalisiert, der die Expression des Transporters zu beeinflussen scheint (Lesch, Bengel et al., 1996; Lesch, 2001).

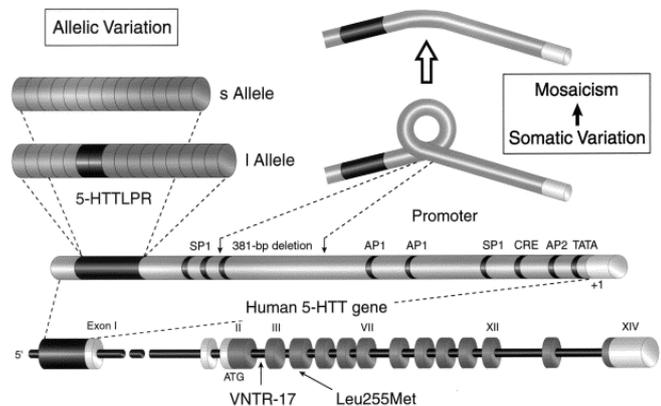


Abb. 1: Insertions-/Deletionspolymorphismus der 5-HTTLPR (aus Lesch, 2001).

Die kurze Variante, das s(hort)-Allel (im Gegensatz zum l(ong)-Allel), wurde ursprünglich mit ängstlichem Verhalten in Verbindung gebracht (Lesch, 1996), erregte dann aber vermehrt Aufmerksamkeit, da der gefundene Polymorphismus funktional und so zum einen für die Wirkung antidepressiver Medikamente von Bedeutung zu sein schien, zum anderen eine modulierende Rolle bei der Pathogenese affektiver Störungen spielen könnte. So ist das s-Allel als Risikofaktor für bipolare Erkrankungen beschrieben (Levinson, 2005). Auch konnten Caspi, Sugden et al. (2003) zeigen, dass Träger des s-Allels nach einem stressreichen Lebensereignis (*stressful life event*) mehr depressive Symptome und häufiger Suizidalität entwickelten als homozygote Träger des l-Allels. Smeraldi, Zanardi et al. (1998) untersuchten die Frage, ob der Respons unipolar-depressiver Patienten auf Fluvoxamin mit oder ohne Augmentation von Pindolol mit dem Genotyp der 5-HTTLPR zusammenhängt, und fanden, dass Träger des l-Allels einen besseren Respons auf Fluvoxamin aufwiesen als die Patienten, die homozygot für das s-Allel waren. Im Gegensatz dazu konnte dieser Effekt nicht in der Gruppe beobachtet werden, die Fluvoxamin und Pindolol (einen  $\beta$ - und Serotonin-1A-Rezeptor-Antagonisten) erhalten hatte. Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor ist präsynaptisch lokalisiert und fungiert als Autoinhibitionsrezeptor. Pindolol schien also den unterlegenen Respons der für das s-Allel homozygoten Patienten zu kompensieren. Denkbar wäre es in diesem Zusammenhang, dass das Autoinhibitionssystem bei Trägern des l-Allels nicht in dem Ausmaß aktiviert ist wie bei Trägern des s-Allels, so dass Träger des s-Allels letztlich

stärker profitieren. Diese Befunde konnten von derselben Arbeitsgruppe unter Verwendung von Paroxetin anstatt Fluvoxamin sowie von zahlreichen anderen Arbeitsgruppen repliziert werden (Zanardi, Benedetti et al., 2002; Serretti, Artioli et al., 2005).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass genetische Faktoren eine wichtige Rolle bei der medikamentösen Therapie depressiver Erkrankungen spielen könnten. Mit Kenntnis der Bedeutung genetischer Faktoren wäre es dementsprechend möglich, im Sinne einer pharmakogenetischen Responsprädiktion eine individualisierte Arzneimitteltherapie zu initiieren und so die Anzahl erfolgloser Therapieversuche zu minimieren. Ziel der Forschungsbemühungen in diesem Bereich wäre schlussendlich das richtige Medikament für den richtigen Patienten zur richtigen Zeit bei genotypbasierter Dosisanpassung des jeweiligen Medikamentes (Binder & Holsboer, 2006; Kirchheiner & Seeringer, 2007).

### 1.1.3 Medikamentöse Behandlungsansätze bei depressiven Erkrankungen

In der Bundesrepublik Deutschland stehen derzeit etwa 30 Antidepressiva zur Behandlung depressiver Erkrankungen zur Verfügung. Während die neueren Substanzen in Anlehnung an ihren Wirkmechanismus eingeteilt werden, wurden die älteren Antidepressiva nach ihrer chemischen Grundstruktur benannt (s. Tab. 1 und 2).

Die antidepressive Wirkung der meisten neueren Substanzen kommt primär über eine Hemmung der Wiederaufnahme von Noradrenalin und/oder Serotonin zustande. Aber auch die tri- und tetrazyklischen Antidepressiva wirken auf diese Weise. Ein Nachteil dieser älteren Antidepressiva liegt allerdings darin, dass es aufgrund zusätzlicher rezeptorantagonistischer Eigenschaften (z. B. Affinitäten zum Histamin-H1-Rezeptor, Muskarinrezeptor,  $\alpha$ 1-Rezeptor und 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptor des Amitriptylins) zu einer Vielzahl peripherer und zentraler Nebenwirkungen kommt, wie z. B. Müdigkeit, Schwindel, Mundtrockenheit und Akkommodationsstörungen (Benkert, Hippus et al., 2006). Dies führt häufig dazu, dass die Patienten mit zu niedrigen Dosierungen behandelt werden und der Spiegel des jeweiligen Wirkstoffes nicht im therapeutischen Zielbereich liegt. Aus diesen Gründen stellen tri- und tetrazyklische Antidepressiva in den meisten Ländern mittlerweile lediglich Reservesubstanzen dar, die zur Anwendung kommen, wenn eine Behandlung mit neueren Antidepressiva nicht den gewünschten Erfolg hat (Müller, 2005).

Tab. 1: Diagnostische Klassen und Substanzen neuerer Antidepressiva (in Anlehnung an Müller (2005)).

<b>Neuere Antidepressiva</b>	<b>Klasse</b>	<b>Substanz</b>
	Selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSRI)	Citalopram Escitalopram Fluoxetin Fluvoxamin Paroxetin Sertralin
	Selektive Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer (SNRI)	Reboxetin
	Selektive Serotonin- und Noradrenalin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSNRI)	Venlafaxin Duloxetin
	Noradrenalin- und serotoninspezifische Antidepressiva ( $\alpha$ 2-Antagonisten) (NaSSA)	Mirtazapin
	Reversible Inhibitoren der Monoaminoxidase	Moclobemid

Tab. 2: Diagnostische Klassen und Substanzen älterer Antidepressiva (in Anlehnung an Müller (2005)).

<b>Ältere Antidepressiva</b>	<b>Klasse</b>	<b>Substanz</b>
	Trizyklische Antidepressiva	Amitriptylin Clomipramin Desipramin Dosulepin Doxepin Imipramin
	Tetrazyklische Antidepressiva	Lofepramin Maprotilin Mianserin Nortriptylin Trazodon Trimipramin
	Irreversible Inhibitoren der Monoaminoxidase	Tranylcypromin

Im Regelfall wird eine medikamentöse Therapie durch Gabe eines einzelnen Antidepressivums (Monotherapie) eingeleitet. Die Wahl des jeweiligen Präparates hängt von

der klinischen Präsentation einzelner Symptome ab, also davon, ob z. B. eher gesteigerter oder verminderter Antrieb, psychomotorische Aktivierung oder Verlangsamung, Ängste, Wahnvorstellungen oder Schlafstörungen vorliegen.

Bei Patienten, die auf die initiale antidepressive Monotherapie nicht ansprechen, gibt es verschiedene Möglichkeiten, die Therapieform zu modifizieren:

1. Hochdosierung des Antidepressivums,
2. Wechsel des Antidepressivums,
3. Kombinationstherapie zweier verschiedener Antidepressiva oder
4. Augmentation anderer Medikamente, z. B. von Lithium.

Allerdings gibt es bislang kaum Daten dazu, wann welche Strategie zu bevorzugen ist. Auch die bis jetzt vorliegenden großen klinischen Studien zum Vergleich sequentieller Behandlungsstrategien (STAR\*D, GAP) liefern keine klaren klinischen Faktoren, die eine differenzielle Indikationsstellung erlauben (Adli, Wiethoff et al., 2006; Nierenberg, Fava et al., 2006; Trivedi, Fava et al., 2006). Wie bereits erwähnt, könnte auch die Bestimmung genetischer Prädiktoren eine differenzierte Therapie im Rahmen systematischer Behandlungsansätze ermöglichen (s. auch Kapitel 1.1.2 und 1.2.3; Serretti, Artioli et al., 2005; Binder & Holsboer, 2006; Kirchheiner und Seeringer, 2007).

Bezüglich der Behandlung bipolar erkrankter Patienten stehen für die pharmakologische Therapie Antidepressiva, Stimmungsstabilisierer (*mood stabilizers*) und (atypische) Antipsychotika zur Verfügung. Aufgrund des vielseitigen Krankheitsspektrums gibt es jedoch auch in diesem Bereich mehr als nur einen gängigen Behandlungsansatz, und der Umstand, ob vermehrt antipsychotische und antidepressive oder eher Stimmungsstabilisierer eingesetzt werden, wird in der Tat vom kulturellen Hintergrund mit beeinflusst. So werden in Europa Antipsychotika und Antidepressiva, in den USA dagegen eher stimmungsstabilisierende Substanzen bevorzugt (Fountoulakis, Vieta et al., 2005). Grundsätzlich sollten jedoch, wie auch bei unipolaren Depressionen, medikamentöse mit nicht-medikamentösen Therapieverfahren verknüpft werden. In ihrem Überblick zu aktuellen Therapierichtlinien bei bipolaren Erkrankungen konnten Fountoulakis, Vieta et al. (2005) zeigen, dass es folgende grundsätzliche Übereinstimmungen zwischen den verschiedenen Herausgebern therapeutischer Richtlinien gibt:

1. Unabhängig von der Richtung der aktuellen Phase sollten antimanische Substanzen bzw. Stimmungsstabilisierer angewendet werden.
2. Bei Depression sollte nie ausschließlich mit antidepressiver Monotherapie, sondern immer mit der Augmentation antimanischer Substanzen bzw. von Stimmungsstabilisierern behandelt werden.
3. Unklarheit besteht noch bezüglich der Behandlung gemischter Episoden und von Verläufen mit *rapid cycling*.
4. Hypomanie sollte genauso wie Manie behandelt werden.
5. Lithium, Valproat, Carbamazepin und Antipsychotika sind wirksam bei der Therapie und Prävention von Manie, aber auch bei Depression.
6. Im Gegensatz dazu ist Lamotrigin vornehmlich wirksam bei Depression, etwas weniger gut dagegen bei Manie.

Unter einer bipolaren Depression im engeren Sinn wird eine depressive Episode im Rahmen einer bipolaren Störung verstanden. Bei der Behandlung akuter bipolarer Depressionen ist die Wirksamkeit der Lithiumaugmentationstherapie wiederholt nachgewiesen worden. Hierbei werden antidepressive Substanzen, wie z. B. selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren, mit der Gabe von Lithium kombiniert. Dieses Vorgehen gilt bei bipolarer Depression als Mittel der ersten Wahl (Bauer, 2005c). Weil sich eine bipolare Störung in der überwiegenden Zahl der Fälle meist in Form einer Depression manifestiert, ist es zunächst schwierig, zwischen uni- und bipolarer Erkrankung zu unterscheiden. Da aber gerade der Einsatz klassischer, trizyklischer Antidepressiva zu einem Umschlagen der Depression in Manie führen kann (*Switch-Risiko*), vor allem dann, wenn keine Augmentation einer stimmungsstabilisierenden Substanz erfolgt, ist es besonders wichtig, diesem Aspekt, soweit möglich, Rechnung zu tragen (Lemke, 2004). Daher wird bei Diagnose einer bipolaren Depression vor allem der Einsatz selektiver Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren oder MAO-Inhibitoren in Kombination mit Stimmungsstabilisatoren wie z. B. Lithium empfohlen. Zusätzlich können außerdem Schlafentzug, Lichttherapie und Elektrokrampftherapie zum Einsatz kommen, die jedoch wiederum ein gewisses Switch-Risiko einschließen (Lemke, 2004), was bei der Therapieplanung zu berücksichtigen ist.

## 1.2 Bedeutung von Lithium bei der Behandlung therapieresistenter Depressionen, seine Wirkweise sowie pharmakogenetische Responsprädiktion bei Lithium-augmentationstherapie

### 1.2.1 Indikationen für Lithium

Das bereits seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannte Lithium ist heute das am weitesten verbreitete Präparat bei der Behandlung wiederkehrender affektiver Störungen. Die positiven Effekte des Lithiums bei manisch-depressiven Erkrankungen wurden 1949 durch Zufall von John Cade, einem australischen Arzt, entdeckt, der den sedierenden Effekt des Lithiums bei Hamstern beobachtete, die er aufgrund von Gicht mit Lithium behandelt hatte. Es folgte eine Serie von Studien, bis Lithium 1971 schließlich von der US-amerikanischen *Food and Drug Administration* für die Behandlung manischer Episoden bipolarer Patienten zugelassen wurde. Seitdem wird Lithium weltweit bei der Behandlung akuter manischer Phasen sowie zur Prophylaxe bei rezidivierenden manischen und depressiven Episoden eingesetzt (Serretti, 2002; Schöpf & Müller-Oerlinghausen, 2005; Bauer, Crossley et al., 2006; Licht, 2006). Wenn Lithium auch in diesem Sinne zunächst ein *first line treatment* bei bipolaren Erkrankungen war, wird es seit mehr als 20 Jahren im Rahmen von Augmentationsstrategien zunehmend auch zur Behandlung therapieresistenter unipolarer Depressionen eingesetzt (Bauer, Adli et al., 2003; Bauer, Crossley et al., 2006). In ihrem systematischen Überblick konnten Bauer, Adli und Kollegen (2003) zeigen, dass Lithiumaugmentation zum einen eine effektive Strategie bei der Behandlung therapieresistenter Depressionen darstellt, zum anderen, dass sie anderen Augmentationsstrategien überlegen zu sein scheint. Daraus folgerten sie, dass Lithiumaugmentation bei Patienten mit Major Depression, die auf einen ersten adäquaten Monotherapieversuch nicht ansprechen, als *first line treatment* in Erwägung gezogen werden sollte. Des Weiteren stellt die Lithiumaugmentationstherapie das am besten belegte Augmentationsverfahren bei therapieresistenter Depression dar, dessen Wirksamkeit auch meta-analytisch bestätigt werden konnte (Crossley & Bauer, 2007).

### 1.2.2 Wirkweise von Lithium

Obwohl Lithium, wie oben bereits ausgeführt, eine sehr gängige Substanz in der Behandlung (therapieresistenter) unipolarer und bipolarer Depressionen darstellt, ist seine

genaue Wirkweise bis heute nicht zufriedenstellend geklärt. Ein entscheidender Ansatzpunkt scheint das serotoninerge System zu sein, das eine Schlüsselrolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung depressiver Erkrankungen einnimmt. Lithium könnte in diesem Zusammenhang über eine Verbesserung serotoninerger Funktionen seine suizidpräventive und antidepressive Wirkung entfalten (Schöpf & Müller-Oerlinghausen, 2005).

Im Tierexperiment konnte nachgewiesen werden, dass Lithium zu einer Steigerung der Serotoninaktivität führt, was vermutlich durch eine verstärkte Bereitstellung und Umwandlung von Serotonin-Vorstufen sowie vermehrte Freisetzung von Serotonin an der Präsynapse vermittelt wird. Des Weiteren gibt es Belege dafür, dass es unter Lithium zu einem funktionellen Antagonismus an hemmenden präsynaptischen 5-HT<sub>1A</sub>-Autorezeptoren kommen könnte (Müller-Oerlinghausen, 1997). McCance-Katz, Price et al. (1992) verwendeten in einer Studie den Prolaktin-Respons auf IV-L-Tryptophan als Marker für die zentrale Serotonin-Aktivität und konnten feststellen, dass eine Lithium-augmentationstherapie in einem signifikanten Prolaktin-Anstieg resultierte, was in den Vergleichsgruppen (Plazebo und Antidepressivamonotherapie) nicht der Fall war. Mittlerweile gibt es zahlreiche Studien, die nahelegen, dass Lithium unterstützend auf verschiedene Wege der serotoninergen Neurotransmission einzuwirken scheint. Eine Verstärkung der serotoninergen Neurotransmission im Rahmen von Augmentationsstrategien könnte dabei Folge eines synergistischen Effekts von Lithium und antidepressiver Therapie auf zentrale serotoninerge Wirkmechanismen sein, wobei der dafür verantwortliche Mechanismus von Lithium, möglicherweise ähnlich wie bei Pindolol (s. auch Kapitel 1.1.2), in einer Antagonisierung des 5-HT<sub>1A</sub>-Autorezeptors zu suchen ist, entweder durch eine Blockade oder eine *down regulation* (Artigas, Celada et al., 2001).

Indirekte Befunde zur Wirkweise von Lithium sind Veränderungen im kombinierten Dexamethason/Corticotropin Releasing Hormone-Test (DEX/CRH-Test). Die Entwicklung und der Verlauf einer Depression ist mit einer zentralen Funktionsbeeinträchtigung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HHNA) verbunden, und für Patienten mit einer Major Depression konnte im kombinierten DEX/CRH-Test eine Überstimulierbarkeit als Testantwort gezeigt werden (vgl. Holsboer, 2000). Auf der Suche nach brauchbaren Prädiktoren für einen Therapierespons depressiver Patienten auf eine Behandlung mit trizyklischen Antidepressiva fanden Holsboer-Trachsler, Hemmeter et al. (1994) eine Assoziation zwischen einem hohen ACTH-Respons auf den kombinierten DEX/CRH-Test und Non-Repsons auf eine Behandlung mit trizyklischen Antidepressi-

va, wohingegen jedoch eine weitere Studie keinen prädiktiven Wert des DEX/CRH-Test für den Respons oder Non-Respons auf antidepressive Behandlung mit Amitriptylin nachweisen konnte (Heuser, Schweiger et al., 1996).

Hinsichtlich der Frage, ob es Veränderungen der HHNA infolge einer Lithiumaugmentation und einen Zusammenhang zwischen diesen Veränderungen und dem klinischen Respons auf eine Lithiumaugmentationstherapie gibt, untersuchten Bschor, Adli et al. (2002) 30 unipolar depressive Patienten, die nicht auf eine initiale vierwöchige Antidepressiva-Monotherapie angesprochen hatten. Bei diesen wurde der basale Cortisol- bzw. ACTH-Wert gemessen sowie am Tag vor Beginn einer Lithiumaugmentationsbehandlung ein kombinierter DEX/CRH-Test durchgeführt. 24 dieser Patienten erhielten im weiteren Verlauf eine Lithiumaugmentationstherapie, wobei der kombinierte DEX/CRH-Test nach zwei bis vier Wochen wiederholt wurde. In Anlehnung an frühere Studien (z. B. Carroll, Feinberg et al., 1981) bezüglich der Behandlung depressiver Patienten mit trizyklischen Antidepressiva wurde eine Normalisierung der Überstimulation von ACTH und Cortisol erwartet. Das Gegenteil war jedoch der Fall: Sowohl der ACTH- als auch der Cortisol-Respons waren nach zwei bis vier Wochen höher als zu Beginn der Lithiumaugmentationstherapie. Dieser Effekt war unabhängig vom Respons-Status, so dass dieses Ergebnis möglicherweise einen Lithium-Effekt widerspiegelt, der unabhängig vom psychopathologischen Status ist. Serotonerge Lithiumeffekte könnten hierbei eine Rolle spielen: Serotonerge Axone projizieren auf verschiedene diskrete neuroanatomische Strukturen im gesamten Gehirn, innervieren jedoch nachhaltig limbische Strukturen und den Nucleus paraventricularis des Hypothalamus, also den Bereich des Gehirns, in dem CRH synthetisiert und freigesetzt wird. Sowohl in vivo- als auch in vitro-Studien (Gibbs & Vale, 1983; Torres, Horowitz et al., 1998) konnten in diesem Zusammenhang zeigen, dass Stoffe mit Einfluss auf den Serotoninstoffwechsel (wie z. B. SSRI) die CRH-Synthese und -Freisetzung steigern. Dementsprechend könnte Lithium die ACTH- und Cortisol-Sekretion verstärken, und zwar durch seinen stimulierenden Effekt auf das serotonerge System, was wiederum einen Anstieg von CRH im Hypothalamus und damit eine vermehrte Freisetzung von ACTH und schließlich Cortisol induzieren könnte.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bezüglich der Wirkweise von Lithium scheint außerdem in dessen Einflussnahme auf neuronale Signalwege zu liegen, z. B. in der Beeinflussung regulatorischer G-Proteine, von Inositolphosphatasen, der Proteinkinase C, verschiedener Ionenkanäle und der Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$  (Steen, Løvlie et al., 1998).

Über Inhibierung eines Schrittes im intrazellulären Phosphatidylinositolsystem, der Inhibierung der Phosphatidylmonophosphatase, spielt Lithium eine Rolle im Rahmen intrazellulärer Signalsysteme. Es resultiert eine verringerte intrazelluläre Bereitstellung sogenannter *second messenger*, was zur Folge haben könnte, dass in der Manie oder Depression überaktive Nervenzellen gedämpft werden (Schöpf & Müller-Oerlinghausen, 2005).

Auf einige dieser Aspekte soll in den folgenden Subkapiteln noch weiter eingegangen werden. Abschließend soll jedoch noch einmal betont werden, dass der genaue Mechanismus der Lithiumwirkung bis heute nicht zufriedenstellend geklärt ist.

### 1.2.3 Genetische Prädiktoren für Respons und Non-Respons bei Lithiumaugmentation

Auch wenn die Lithiumaugmentation schon seit längerem als effektive Strategie in der Behandlung therapieresistenter unipolarer und bipolarer Depressionen eingesetzt wird und in diesen Fällen durchaus als *first line treatment* empfohlen wird (Bauer, Adli et al., 2003), so ist es dennoch auffällig, dass nur etwa 50% der lithiumaugmentierten Patienten unter dieser Behandlung innerhalb von zwei bis sechs Wochen remittieren (DeBattista, 2006). Weder die klinischen Prädiktoren für einen Respons noch der genaue Wirkmechanismus von Lithium sind heute zufriedenstellend geklärt. Ebenso wie bei der Ursachensuche für Therapieresistenz von uni- und bipolaren Depressionen werden jedoch in diesem Zusammenhang genetische Faktoren diskutiert, die beispielsweise über Modulation der serotonergen Neurotransmission den Respons auf Lithium bzw. Lithiumaugmentation beeinflussen könnten (Serretti, Malitas et al., 2004; Alda, Grof et al., 2005; Serretti, Artioli et al., 2005). Stamm, Adli und Kollegen (im Druck) fanden bei einer Stichprobe von n=50 Patienten, dass der Insertions-/Deletionspolymorphismus in der Promoterregion des Serotonintransporters (5-HTTLPR) bei Patienten mit therapieresistenter uni- bzw. bipolarer Depression den Respons auf Lithiumaugmentation beeinflusst. Diesbezüglich zeigten die für das s-Allel homozygoten Patienten einen überlegenen Respons, verglichen mit den Patienten, die heterozygot oder homozygot für das l-Allel waren. In diesem Zusammenhang ist es denkbar, dass Lithium durch Verstärkung der serotonergen Neurotransmission den ursprünglich unterlegenen Respons der für das s-Allel homozygoten Patienten auf antidepressive Monotherapie ausgleicht, homozygote Träger des s-Allels also mehr von einer Lithiumaugmentation profitieren als die Träger anderer Genotypen. Dieser Befund geht in eine ähnliche Richtung wie die oben

bereits erwähnten Ergebnisse von Smeraldi, Zanardi et al. (1998), die zeigen konnten, dass Träger des l-Allels einen besseren Respons auf Fluvoxamin aufwiesen als die Patienten, die homozygot für das s-Allel waren, ein Effekt, der anscheinend durch zusätzliche Gabe von Pindolol kompensiert werden konnte. Serretti, Lilli et al. (2001) untersuchten über die Lithiumaugmentation hinausgehend, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Insertions-/Deletionspolymorphismus in der Promoterregion des Serotonintransporters und dem Erfolg einer Phasenprophylaxe mit Lithium bei affektiven Störungen gibt. Hierfür beobachteten sie insgesamt 201 Patienten (167 bipolare, 34 unipolare Patienten) über einen durchschnittlichen Zeitraum von 58 Monaten während einer Phasenprophylaxe mit Lithium und fanden, dass Patienten, die homozygot für das s-Allel waren, einen schlechteren Respons zeigten als Patienten mit dem l/s- bzw. l/l-Genotyp, woraus die Autoren folgerten, dass der Polymorphismus in der Promoterregion des Serotonintransporters durchaus als beeinflussender Faktor bei der Phasenprophylaxe mit Lithium von Bedeutung sein könnte. Bei dem Versuch einer Replikation dieser Ergebnisse konnte bei 83 bipolaren Patienten jedoch lediglich ein insgesamt besserer Respons der Patienten mit dem l/s-Genotyp beobachtet werden (Serretti, Malitas et al., 2004).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es zahlreiche Anhaltspunkte dafür gibt, dass genetische Faktoren hinsichtlich des Respons bzw. Non-Respons auf Lithium- respektive Lithiumaugmentationstherapie eine Rolle spielen könnten, was Anlass dazu gab, im Rahmen der vorliegenden Arbeit unter Einbeziehung einer größeren Stichprobe als bei Stamm, Adli et al. (im Druck) vier andere genetische Polymorphismen hinsichtlich eines besseren oder schlechteren Respons auf Lithiumaugmentation zu untersuchen.

### 1.3 Im Rahmen dieser Arbeit untersuchte genetische Polymorphismen

Unter einem Polymorphismus (von griech. πολυμορφος/polymorphos: vielgestaltig) versteht man das Auftreten einer Genvariation (eines Allels) in einer Population. Dabei muss die Häufigkeit des Auftretens der betreffenden Genvariation, die Allelfrequenz, größer als ein Prozent sein, im anderen Fall wird von einer Mutation gesprochen. Ein anderer Begriff, der sich bislang jedoch noch nicht vollständig durchgesetzt hat, ist der der Sequenzvariation. Es können drei Arten von Sequenzvariationen unterschieden

werden: *Single Nucleotid Polymorphisms* (SNP), *Insertions-/Deletionspolymorphismen* und *Multiplikationen*.

Bei *Single Nucleotid Polymorphisms* kommt es zum Austausch eines Nukleotids im DNA-Molekül. Man geht davon aus, dass auf 200 bis 1000 Basenpaare (bp) ein SNP kommt. Wenn dieser SNP im kodierenden Bereich einer Gensequenz liegt, kann es zu einem Aminosäureaustausch im zu kodierenden Protein kommen. Da aber viele Aminosäuren durch mehrere unterschiedliche Basentriplets (Codons) kodiert werden, kommt es nicht immer zum Austausch der jeweiligen Aminosäure. Man spricht daher auch von der *Degeneriertheit* des genetischen Codes und, bezogen auf den Polymorphismus, von einer stillen Mutation. Allerdings können stille Mutationen, auch wenn sie bei unverändertem Proteinprodukt keine direkte Konsequenz haben, wiederum an funktionelle DNA-Veränderungen gekoppelt und somit indirekt Indikatoren für bedeutsame genetische Veränderungen sein. Definitiv ausgeschlossen werden kann aber auch ein direkter Effekt einer stillen Mutation auf die mRNA-Expression, Stabilität oder Translationseffizienz nicht. Bei *Insertions- und Deletionspolymorphismen* kommt es zum Einbau oder Verlust mindestens eines Nukleotids, während man unter *Multiplikationen* Verdopplungen oder Vervielfachungen versteht, die das gesamte Gen betreffen (Berg, Tymoczko et al., 2003; Löffler, Petrides et al., 2006).

An die oben angestellten Ausführungen anknüpfend war es nunmehr Ziel der vorliegenden Arbeit, exemplarisch vier SNP in den im Folgenden erläuterten Kandidatengenen und ihren Zusammenhang mit Repons bzw. Non-Respons auf Lithiumaugmentation zu untersuchen. Kriterien, die zur Auswahl der entsprechenden vier Kandidatengene führten, waren diesbezüglich Hinweise in der Literatur, dass diese eine Rolle im Lithiumstoffwechsel und somit auch bei der Behandlung depressiver Störungen mit Lithiumaugmentationstherapie spielen könnten.

### 1.3.1 Genetischer Polymorphismus der G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit (GNB3)

G-Proteine sind Schlüsselemente in der zellulären Signalvermittlung. So koppeln G-Proteine an etwa 80% der bekannten Membranrezeptoren mit verschiedenen Effektoren. 7-Transmembrandomänen-Rezeptoren benötigen z. B. immer ein G-Protein zur Signalübermittlung. G-Proteine bestehen aus drei Untereinheiten:  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ . Bindet ein Ligand an den Rezeptor, so kommt es an der  $\alpha$ -Untereinheit zum Austausch von GDP gegen GTP und zur Dissoziation in eine  $G\alpha$ - sowie eine  $G\beta\gamma$ -Untereinheit. Die GTP-

beladene  $G\alpha$ -Untereinheit kann dann z. B. die Adenylatzyklase aktivieren oder hemmen oder auch die Phospholipase  $\beta$  aktivieren. Dabei entstehen als intrazelluläre Signale (*second messenger*) zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) oder aus Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat (PIP<sub>2</sub>) Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP<sub>3</sub>) und Diazylglyzerine (DAG) (s. auch Abb. 2 und Tab. 3) (Zill, Baghai et al., 2000; Löffler, 2001).

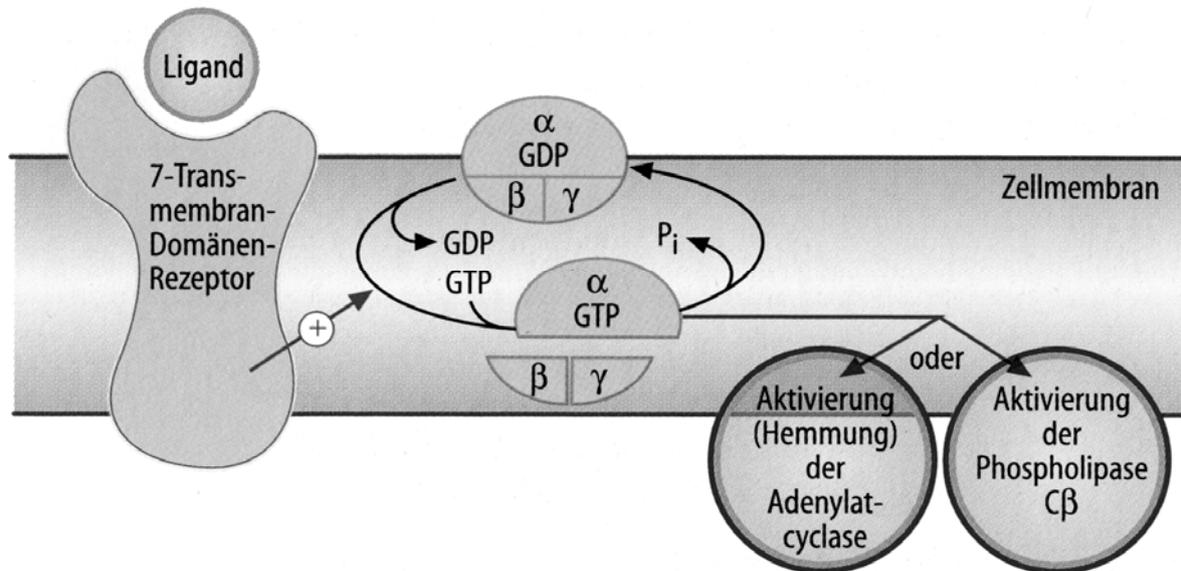


Abb. 2: Mechanismus der Signaltransduktion von 7-Transmembrandomänen-Rezeptoren (aus Löffler, 2001).

Die freie GTP-bindende  $\alpha$ -Untereinheit moduliert also spezifische Effektoren. Es gibt darüber hinaus jedoch Hinweise dafür, dass auch die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten zur Spezifität der Interaktion zwischen Rezeptoren und Effektoren beitragen (Kleuss, Scherübl et al., 1992; Zill, Baghai et al., 2000).

Tab. 3: Effekte von cAMP, Inositol-1,4,5-Trisphosphat und Diazylglyzerin (nach Löffler, 2001).

	<b>Effekt</b>	<b>Folge</b>
<b>cAMP</b>	Aktivierung der Proteinkinase A	Phosphorylierung und Aktivierung/Inaktivierung regulierter Enzyme (z. B. im Glykogenstoffwechsel, in der Lipolyse etc.)
<b>Inositoltrisphosphat</b>	Aktivierung des ligandenaktivierten Kalziumkanals im endoplasmatischen Retikulum	Erhöhung der zytosolischen Kalziumkonzentration, Aktivierung von Zellen
<b>Diazylglyzerin</b>	Aktivierung der Proteinkinase C	Phosphorylierung von Rezeptoren, Transkriptionsfaktoren u. a.

Einer der konsistentesten Befunde zum Zusammenhang zwischen bipolarer Erkrankung und erhöhter G-Protein-Funktion besteht in der Beobachtung einer erhöhten  $Ca^{++}$ -Konzentration in peripheren Zellen bei akut manischen Patienten. Bislang gibt es noch keinen Beweis dafür, dass Veränderungen der  $G\alpha$ -Funktion durch Mutationen im  $G\alpha$ -Gen selbst bedingt sind. Die G-Protein- $\alpha$ -Funktion wird jedoch von zahlreichen Transkriptions- und Posttranskriptions-Mechanismen reguliert, und erhöhte  $G\alpha$ -Level könnten so die Effekte von Einflüssen auf jeden dieser biochemischen Signalwege repräsentieren. Andererseits könnten auch Mutationen in den G-Protein- $\beta$ - und - $\gamma$ -Untereinheiten für die beobachteten Veränderungen mit verantwortlich sein (Ram & Guedj, 1997; Zill, Baghai et al., 2000). Die Arbeitsgruppe um Siffert, Roszkopf et al. entdeckte 1998 den C825T-Polymorphismus (Exon 10) in dem Gen, das die G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit (GNB3) heterotrimerer G-Proteine kodiert. Das GNB3-Gen ist auf Chromosom 12p13.3 lokalisiert (Lee, Sung et al., 2005). Das 825T-Allel ist diesbezüglich mit dem Auftreten einer Splice-Variante ( $G\beta_s$ ) und mit der Deletion von 41 Aminosäuren sowie verstärkter Signaltransduktion verbunden (Siffert, Roszkopf et al., 1998; Roszkopf, Busch et al., 2000; Zill, Baghai et al., 2000; Lee, Sung et al., 2005). Diese Splice-Variante ist dabei offensichtlich nicht nur mit Bluthochdruck und Adipositas assoziiert, sondern auch mit einer Erhöhung von Signaltransduktion und Ionentransport. Zill, Baghai et al. (2000) verglichen daher Patienten mit Bipolar I-Störung (derzeit depressive Episode, n=10) und Major Depression (n=68) mit Patienten mit einer Schizophrenie-Diagnose (n=68)

und gesunden Kontrollpersonen (n=111) bezüglich des Auftretens dieses Polymorphismus und überprüften darüber hinaus eine Assoziation zwischen dem Respons auf antidepressive Medikation und dem C825T-Genotyp. Sie fanden eine signifikant höhere Frequenz des T-Allels bei depressiven Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit einer Schizophrenie-Diagnose. Darüber hinaus hatten Patienten mit T/T-Genotyp eine statistisch signifikant höhere Baseline in der HAMD-17 (*Hamilton Depression Scale*, 17 Items), als Patienten mit C/T- oder C/C-Genotyp. Die Reduktion im HAMD-17 nach vier Wochen antidepressiver Behandlung (TCA, NaSSA, SSRI) war außerdem bei Patienten, die homozygot für das T-Allel waren, deutlich größer (fast doppelt so hoch) als bei den in einer Gruppe zusammengefassten Patienten mit C/T- und C/C-Genotyp. Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass der C825T-Polymorphismus der G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit ein bedeutsamer Faktor nicht nur bei der Entstehung affektiver Störungen sein, sondern auch einen Einfluss auf den Therapierespons haben könnte (Zill, Baghai et al., 2000). Auch Lee, Cha und Kollegen (2004) konnten in einer Studie bei 106 depressiven Patienten im Vergleich zu 133 gesunden Kontrollpersonen signifikant mehr Träger des 825T-Allels identifizieren, die darüber hinaus auch höhere Baseline-Werte in der HAMD aufwiesen. Ebenso fanden sie eine Assoziation zwischen dem T-Allel und Respons auf antidepressive Medikation. Prestes, Marques et al. (2007) konnten außerdem den heterozygoten Genotyp des C825T-Polymorphismus bei alkoholabhängigen Patienten mit komorbider Major Depression häufiger nachweisen als bei alkoholabhängigen Patienten ohne Depression. Der Vergleich verschiedener Abhängigkeitsgruppen (Alkohol und Nikotin/ nur Nikotin/ keine Abhängigkeit) ergab keinen Unterschied zwischen den Genotypen. Auch bei Patienten mit affektiven Störungen mit saisonalem Muster (*Seasonal Affective Disorder*) konnten die oben beschriebenen Muster gefunden werden (Willeit, Praschak-Rieder et al., 2003). Im Gegensatz dazu stehen Befunde von Lin, Tsai et al. (2001), die in einer Assoziationsstudie insgesamt 144 Patienten (79 Patienten mit bipolarer Störung, 65 Patienten mit Major Depression) mit 153 gesunden Kontrollpersonen hinsichtlich des C825T-Polymorphismus verglichen und keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen finden konnten. Zum Zusammenhang zwischen dem C825T-Polymorphismus und Respons auf Lithiumaugmentation bei depressiven Störungen lagen zum Zeitpunkt der Planung und Durchführung dieser Arbeit keine Veröffentlichungen vor.

### 1.3.2 Genetischer Polymorphismus der Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$ (GSK3B)

Das für die Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$  (GSK3B) kodierende Gen befindet sich am Genort 3q13.3, nahe einer Region, von der Badenhop, Moses et al. (2002) zeigen konnten, dass sie vermutlich mit bipolaren Erkrankungen assoziiert ist. Die GSK3B ist eine Serin-Threonin-Kinase, die in allen Gewebszellen, vor allem aber im Gehirn aktiv ist und auf verschiedenen Signalwegen deaktiviert wird (Woodgett, 1990). Als Beispiel sei der Wnt/beta-Catenin-Signalweg genannt, der bei der Kontrolle der Gentranskription, der Zell-Adhäsion, der Zell-Polarität, der Zell-Lebensdauer, der neuronalen und synaptischen Plastizität und der neuronalen Entwicklung von Bedeutung ist (Grimes & Jope, 2001; Gould & Manji, 2002; Gould, Zarate et al., 2004). Darüber hinaus ist die GSK3B in die tau-Phosphorylierung involviert, einen neurodegenerativen Mechanismus beim Morbus Alzheimer. Die Inhibition der GSK3B wird mit neurotrophen und neuroprotektiven Effekten, der Modulation zirkadianer Rhythmen und evtl. auch einem antidepressiven Effekt in Verbindung gebracht (Gould, Quiroz et al., 2004; Yin, Wang et al., 2006). Des Weiteren hat die Inhibition der GSK3B generell eine anti-apoptotische Wirkung und führt zur Aktivierung von CREB (*Cyclic Adenosine Monophosphate Regulatory Element-Binding Protein Transcription Factor*) (Chuang & Priller, 2006).

Bezüglich eines möglichen Zusammenhangs zwischen der GSK3B und Lithiumwirkung konnten mehrere Arbeitsgruppen Hinweise dafür finden, dass Lithium einen direkten und indirekten inhibitorischen Effekt auf die GSK3B hat (Klein & Melton, 1996; Hong, Chen et al., 1997; Munoz-Montano, Moreno et al., 1997; Gould & Manji, 2002; Jope & Bijur, 2002; Chin, Majdzadeh et al., 2005; s. auch Abb. 3 in Kapitel 1.3.3).

Die Transkription der GSK3B wird von einer Region oberhalb des Start-Codons reguliert, die einige *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) umfasst (Russ, Lovestone et al., 2001). Einer dieser SNP (-50T/C) fällt in die effektive Promoterregion (nt -171 bis +29) des Gens für die GSK3B, was mit einer funktionellen Rolle dieses Polymorphismus verbunden sein könnte. Kwok, Hallupp et al. (2005) konnten zeigen, dass das T-Allel dieses Polymorphismus mit einer vermehrten Transkriptionsaktivität verbunden ist, was wiederum eine vermehrte tau-Phosphorylierung nach sich zieht. Diese Ergebnisse sind konsistent mit den Befunden von Mateo, Infante et al. (2006), die eine Assoziation des T/T-Genotyps mit Morbus Alzheimer (später Beginn) fanden.

Bezogen auf den -50T/C-Polymorphismus wurde des Weiteren postuliert, dass das mutante C-Allel eine protektive Rolle bei bipolaren Patienten spielen könnte. So unter-

suchten Benedetti, Serretti und Kollegen (2005) den Respons auf Lithiumprophylaxe bei bipolaren Patienten und fanden, dass Patienten mit dem C/C- bzw. C/T-Genotyp besser auf Lithiumprophylaxe ansprachen als Patienten, die homozygot für den T/T-Genotyp (Wildtyp) waren, ein Ergebnis, das die mögliche Bedeutung des -50T/C-SNP bezüglich des Ansprechens auf Lithium unterstreicht. Allerdings konnten Szczepankiewicz, Rybakowski et al. (2006) diese Ergebnisse bei einer ähnlichen Stichprobengröße nicht replizieren. Neben diesen Resultaten zeigten Benedetti, Serretti et al. (2004) bei bipolaren Patienten, dass für das C-Allel homozygote Patienten signifikant später bipolar erkrankten, weniger hohe Werte auf der HAMD aufwiesen und besser auf Schlafentzug im Rahmen einer antidepressiven Therapie ansprachen. In einer anderen unabhängigen Stichprobe mit Bipolar I-Patienten fanden Benedetti, Bernasconi et al. (2004) ein früheres Erkrankungsalter bei Patienten, die homozygot für das T-Allel waren, verglichen mit Trägern des mutanten C-Allels. Ein genereller Zusammenhang zwischen dem -50T/C-SNP und dem Risiko für bipolare Erkrankungen konnte bislang jedoch nicht nachgewiesen werden (Nishiguchi, Breen et al., 2006). Auch stand zum Zeitpunkt der Planung und Durchführung der vorliegenden Arbeit die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen dem -50T/C-SNP und dem Therapieerfolg einer Lithiumaugmentationstherapie bei depressiven Patienten noch aus, weshalb dieser Fragestellung im Rahmen der vorliegenden Arbeit nachgegangen werden sollte (s. auch Adli, Hollinde et al., 2007).

### 1.3.3 Genetischer Polymorphismus der Inositol-Polyphosphat-1-Phosphatase (INPP1)

Das INPP1-Gen liegt auf Chromosom 2q32 und umfasst sechs Exons sowie insgesamt 25 kb (York, Veile et al., 1993; Løvlie, Gulbrandsen et al., 1999). In einer Expressionsanalyse von Løvlie, Gulbrandsen und Kollegen (1999) zeigte sich, dass die INPP1 als 1,9 kb-mRNS-Transkript in allen untersuchten Organen und Geweben einschließlich des zentralen Nervensystems präsent ist.

Die Aktivierung einiger G-Proteine induziert über Phospholipase C eine Hydrolyse von Phosphoinositol-4,5-Bisphosphat (PIP<sub>2</sub>) zu Diazylglyzerin (DAG) und Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP<sub>3</sub>). DAG aktiviert die Proteinkinase C (PKC). IP<sub>3</sub> bindet an den IP<sub>3</sub>-Rezeptor, der in der Zelle auch als Kalzium-Kanal fungiert. Diese Interaktion hat die Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Reservoirs (dem endoplasmatischen Retikulum) zur Folge. Kalzium ist ein Aktivator zahlreicher Enzyme und spielt eine prominente Rolle im Rahmen vieler zellulärer Signalwege. IP<sub>3</sub> wird seinerseits durch die En-

zyme Inositol-Monophosphat-Phosphatase (IMP) und Inositol-Polyphosphat-1-Phosphatase (INPP1) dephosphoryliert und wieder dem Kreislauf zugeführt. Beide Enzyme, IMP und INPP1, werden durch Lithium inhibiert. In diesem Zusammenhang besagt die *Inositol-Depletionshypothese*, dass die therapeutische Wirkung des Lithiums aus einer Depletion freien Inositols herrührt und so die Aktivierung anhängiger Signalwege in Neuronen dämpft (Steen, Løvlie et al., 1998; Gould, Quiroz et al., 2004; s. auch Abb. 3). Schon 1971 konnten Allison und Stewart im Rahmen der Untersuchung von Rattenhirnen zeigen, dass die Konzentration freien Inositols durch Lithium nachweislich gesenkt wird.

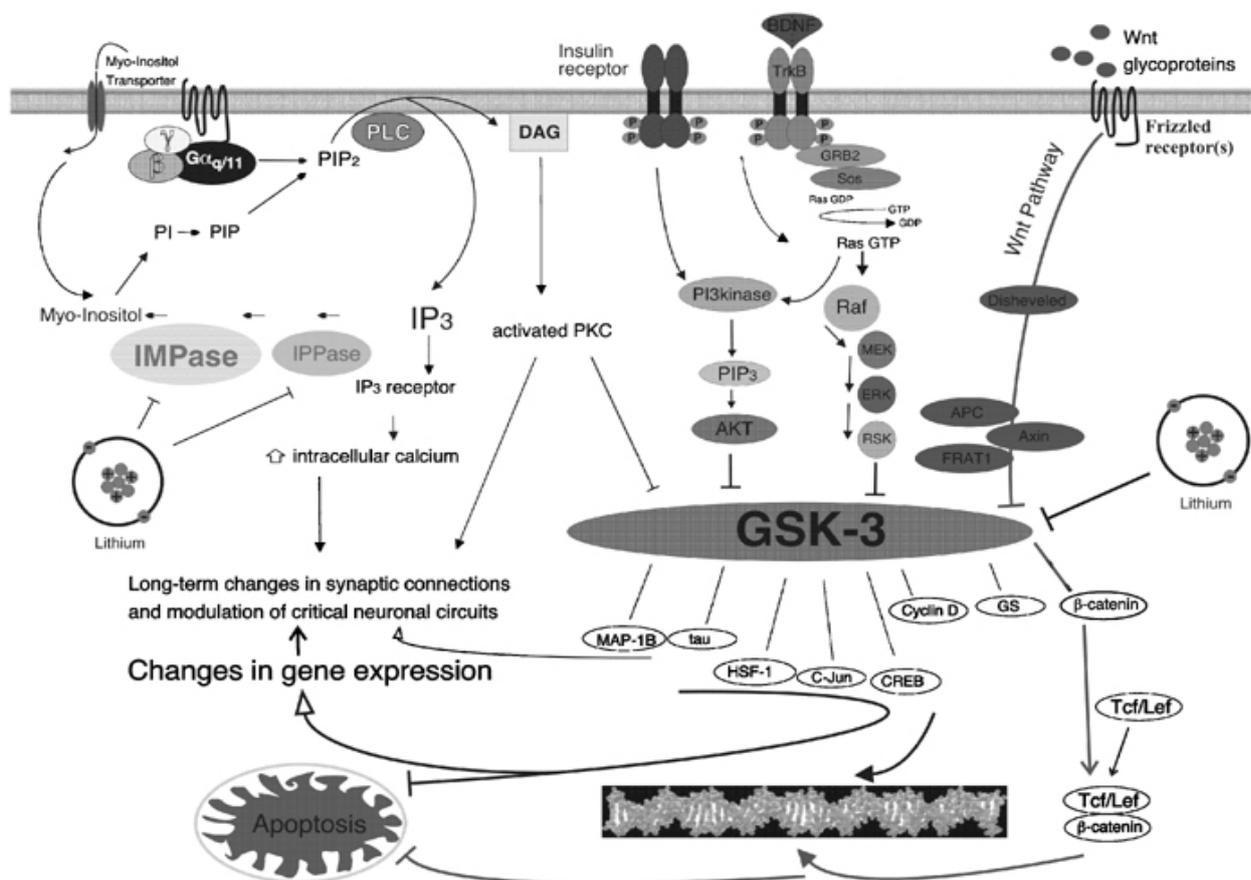


Abb. 3: INPP1 (IPPase) und GSK3B (GSK-3) als direkte Angriffspunkte von Lithium (aus Gould, Quiroz et al., 2004).

In der Annahme, dass die Inositol-Polyphosphat-1-Phosphatase ein direkter Angriffspunkt von Lithium sein könnte, untersuchten Steen, Løvlie et al. (1998) vier häufige INPP1-Polymorphismen in der kodierenden Region des INPP1-Gens und ihren Zusammenhang mit dem Respons auf Lithiumgabe bei 23 bipolaren Patienten. Bei den DNA-Veränderungen handelte es sich durchweg um den Austausch einzelner Basen, von denen nur einer (A682G) einen Aminosäureaustausch nach sich zog, während die

anderen drei stille Mutationen waren (G153T, G348A und C973A). Nach Analyse dieser vier Polymorphismen konnten Steen, Løvlie und Kollegen (1998) finden, dass lediglich die C973A-Transversion einen Effekt auf den Lithiumrespons hatte. So wiesen Lithiumresponder eine höhere Frequenz des C973A-Polymorphismus auf. Die Häufigkeit des C973A-Austausches war dabei in der Patientengruppe nicht höher als in der Kontrollgruppe gesunder Personen (n=20). Kritisch zu bemerken ist jedoch die sehr geringe Fallzahl dieser Studie. Im Rahmen derselben Studie wurde außerdem eine Stichprobe israelischer Patienten untersucht, bei denen dieses Ergebnis nicht bestätigt werden konnte. Die Autorengruppe merkte diesbezüglich jedoch selbst kritisch an, dass der Einschluss sowohl aschkenasischer als auch nicht-aschkenasischer jüdischer Patienten in eine gemeinsame Stichprobe die Interpretation der Daten erschwert habe, da die Häufigkeit des C973A-Polymorphismus in diesen beiden Gruppen unterschiedlich war. Auch Michelson, Meira-Lima et al. (2006) untersuchten neben einigen anderen genetischen Polymorphismen den Einfluss des INPP1-C973A-Polymorphismus auf den Lithiumrespons bei Bipolar I-Patienten (n=134) und konnten keine Assoziation zwischen Genotyp und Respons finden. Die Datenlage zum Zusammenhang zwischen Lithiumrespons und INPP1-Genotyp ist also uneindeutig. Daten zum möglichen Zusammenhang zwischen Lithiumaugmentationsstrategien bei depressiven Patienten und INPP1-Genotyp lagen zum Zeitpunkt der Planung und Durchführung dieser Arbeit nicht vor.

#### 1.3.4 Genetischer Polymorphismus der Tryptophanhydroxylase 2 (TPH2)

Die Dysregulation des neuronalen Serotoninstoffwechsels stellt einen wichtigen Faktor bei der Entstehung vieler psychiatrischer Krankheitsbilder dar. So sind zentrale Serotoninneurone die primären Ansatzpunkte für trizyklische Antidepressiva und selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer ebenso wie für Psychostimulanzien und halluzinogene Substanzen (Bonasera & Tecott, 2000; Gingrich & Hen, 2001; Murphy, Uhl et al., 2003). Bis vor kurzem galt die Tryptophanhydroxylase (TPH) als das einzige *rate-limiting* Enzym in der Serotoninbiosynthese und schien eine wichtige Rolle bei der Regulation der Serotoninfunktion zu spielen. Walther, Peter et al. (2003) konnten jedoch mit der Tryptophanhydroxylase 2 (TPH2) eine Isoform des Enzyms identifizieren, die vorzugsweise im Gehirn exprimiert wird, während die jetzt TPH1 genannte Isoform vornehmlich in der Peripherie anzutreffen ist. Bei den Genen, die für die TPH-Isoformen kodieren, liegt eine hochgradige Homologie vor. So sind 71% der Aminosäuren gleich,

und alle strukturell und funktionell wichtigen Sequenzen von TPH1 sind auch in TPH2 enthalten, so dass die meisten Eigenschaften von TPH1 also auch in TPH2 präsent sein sollten (Walther & Bader, 2003). Zill, Büttner et al. (2004a) konnten anhand der post mortem-Analyse des Gewebes zweier menschlicher Gehirne zeigen, dass die zwei Isoformen der TPH in einigen Gehirnregionen ähnlich exprimiert wurden, so z. B. im frontalen Cortex, im Thalamus, im Hippocampus und in der Amygdala. Im Hirnstamm jedoch, also dem Hauptlokalisationsort für serotoninproduzierende Neurone, war die Expression der TPH2-Isoform vorherrschend. Dagegen konnten sie nachweisen, dass TPH1-RNA exklusiv in peripheren Geweben wie Herz, Lunge, Niere, Duodenum, Leber und Nebennieren vorkommt.

Das TPH2-Gen ist auf Chromosom 12q15 lokalisiert, umfasst 11 Exons und eine Region von 93,5 kb (Zill, Büttner et al., 2004b). Die Bedeutung genetischer Polymorphismen der TPH wurde schon vor Entdeckung der zweiten Isoform untersucht. So prüften Serretti, Lilli et al. (1999) bei 108 depressiven Patienten (90 bipolare, 18 unipolare Patienten) die Assoziation des A218C-SNP mit dem Respons auf Lithiumprophylaxe und fanden einen mit  $p=,046$  gerade noch signifikanten Effekt in der Hinsicht, dass Patienten, die homozygot für das A-Allel waren, einen schlechteren Respons zeigten als Patienten mit dem A/C- oder dem C/C-Genotyp. Zahlreiche Assoziationsstudien vor Entdeckung der Isoform TPH2 zum Zusammenhang zwischen genetischen Varianten bzw. unterschiedlicher Expression der TPH und Depression, Schizophrenie, Alkoholismus, Drogenabusus, Aggression oder Suizidalität führten jedoch insgesamt nicht zu überzeugenden Ergebnissen (Zill, Baghai et al., 2004). Zum Zusammenhang zwischen verschiedenen SNP der TPH2 und komplettiertem Suizid untersuchten Zill, Büttner et al. (2004b) zehn SNP der TPH2 bei 263 Personen, die Suizid begangen hatten, und verglichen diese mit einer 265 Personen umfassenden Kontrollgruppe. Die Analyse einzelner SNP ergab lediglich für den SNP rs1386494 (A/G-Polymorphismus an Position 19918 relativ zum 5'-Ende, im Folgenden als A19918G-SNP bezeichnet) ein mit  $p=,0038$  signifikantes Ergebnis, das selbst nach Anwendung der konservativen Bonferroni-Korrektur ( $p=,038$ ) noch statistisch bedeutsam war und auf eine höhere Frequenz des G-Allels in dieser Gruppe zurückzuführen war. Darüber hinaus lieferte die anschließende Haplotypenanalyse Hinweise dafür, dass einige Haplotypen mit komplettiertem Suizid assoziiert waren. In einer weiteren Studie untersuchten Zill, Baghai et al. (2004) dieselben zehn SNP der TPH2 bei Patienten mit Major Depression (300 Kaukasier mit Major Depression verglichen mit 265 gesunden Kontrollpersonen) und fanden wiederum nur bezogen

auf den oben schon genannten A19918G-SNP ein statistisch relevantes Ergebnis, das auch nach Bonferroni-Korrektur noch signifikant war. Auch hier war der Effekt auf eine höhere Frequenz des G-Allels zurückzuführen. Auch die Haplotypen-Analysen ergaben Hinweise darauf, dass es einen Zusammenhang zwischen Genotyp und Major Depression gibt. Auch Harvey, Shink und Kollegen (2004) untersuchten fünf SNP der TPH2, und zwar deren Zusammenhang mit bipolarer Störung. Dabei verglichen sie 213 Patienten mit Bipolar I- oder Bipolar II-Störung mit 214 gesunden Kontrollpersonen. Die Assoziationsanalysen ergaben dabei keinen Zusammenhang zwischen Genotyp und bipolarer Erkrankung (der A19918G-SNP, der bei Zill, Büttner et al. (2004b) sowie Zill, Baghai et al. (2004) untersucht wurde, war jedoch nicht Bestandteil der Analysen), wohingegen die Haplotypen-Analysen eine signifikante Assoziation ergaben. Dies geht in die Richtung der These von Zill, Büttner et al. (2004b) und Zill, Baghai et al. (2004), dass es mit affektiven Störungen assoziierte Haplotypen im TPH2-Gen gibt. De Luca, Hlousek und Kollegen (2006) untersuchten zwei weitere SNP der TPH2 (rs11178997 und rs4131347) hinsichtlich ihrer Bedeutung für komplettierten Suizid bei psychotischen Patienten (69 Patienten mit Schizophrenie oder bipolarer Störung, von denen 22 infolge eines Suizids starben) und fanden weder eine Assoziation für einen der beiden Polymorphismen noch ein bedeutsames Ergebnis in der Haplotypen-Analyse.

Wie diese Ausführungen zeigen, gibt es zahlreiche Studien zu den verschiedenen SNP der TPH2. Von den einzelnen SNP schien der Studienlage folgend der A19918G-SNP am bedeutsamsten, so dass wir uns entschieden, diesen hinsichtlich seiner möglichen Assoziation mit dem Respons auf Lithiumaugmentation bei depressiven Patienten zu untersuchen, was zum Zeitpunkt der Planung und Durchführung dieser Arbeit noch nicht geschehen war.

#### 1.4 Ableitung der Fragestellung und Hypothesen

In Anlehnung an die obigen Ausführungen sollen im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende Hypothesen bezogen auf die vier untersuchten SNP (GNB3, GSK3B, INPP1, TPH2) überprüft werden:

Nullhypothese  $H_0$ : Es gibt keine Assoziation zwischen den jeweils drei Genotyp-Ausprägungen eines jeden SNP und dem Respons auf Lithiumaugmentationstherapie.

Alternativhypothese  $H_1$ : Es gibt eine Assoziation zwischen den jeweils drei Genotyp-Ausprägungen eines jeden SNP und dem Respons auf Lithiumaugmentationstherapie, das heißt, mindestens einer der drei Genotypen eines SNP unterscheidet sich von den anderen durch einen besseren oder schlechteren Respons.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Struktur

#### 2.1.1 German Algorithm Project (GAP)

Bei dem *German Algorithm Project* (GAP; Adli, Bauer et al., 2006) handelt es sich um ein dreiphasiges Forschungsprojekt, in dessen Rahmen algorithmusgesteuerte Behandlungsansätze bei stationären Patienten mit depressiven Störungen evaluiert wurden. In der Phase 1 (GAP1) wurde in einer Singlecenter-Studie über zwei Jahre hinweg die Behandlung 119 uni- oder bipolar depressiver Patienten im Rahmen eines *Standard Stepwise Drug Treatment Regimen* (SSTR) hinsichtlich der Effektivität, Durchführbarkeit und Akzeptanz evaluiert (Adli, Berghöfer et al., 2002). Die Phase 2 (GAP2) stellte eine randomisierte und kontrollierte Singlecenter-Studie dar, die einen Vergleich zwischen SSTR und einem *Treatment As Usual* (TAU) bei insgesamt 148 uni- oder bipolar depressiven Patienten ermöglichen sollte (Bauer et al., eingereicht). Die vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderte und durch das „Kompetenznetz Depression“ durchgeführte Phase 3 (GAP3) schließlich stellte ein im Rahmen einer Multi-center-Studie deutschlandweit durchgeführtes Forschungsprojekt dar, das den Vergleich zwischen SSTR, TAU und einem computerisierten Dokumentations- und Expertensystem (CDES) bei 475 unipolar depressiven Patienten beinhaltete. Die SSTR-Gruppe wurde diesbezüglich unterteilt in drei Untergruppen, die verschiedene Alternativstrategien umfassten (Lithiumaugmentation, Dosisescalation oder Wechsel auf ein anderes Antidepressivum), die zum Einsatz kamen, wenn nach vier Wochen initialer antidepressiver Monotherapie kein Therapieerfolg zu verzeichnen war (Adli, Bauer et al., 2006). Blutproben für Genotypisierungen wurden lediglich im Rahmen von GAP2 und GAP3 entnommen, so dass lediglich diese zwei Studienabschnitte für die Rekrutierung entsprechender (lithiumaugmentierter) Patienten für die vorliegende Arbeit in Frage kamen.

#### 2.1.2 Patienten und Ablauf

Alle Patienten, die in die vorliegende Arbeit eingeschlossen wurden, hatten an der Berliner Stufenplanstudie (mehrphasiges Berliner Algorithmusprojekt, German Algorithm

Project 2, GAP2) oder der Algorithmusstudie (German Algorithm Project 3, GAP3) teilgenommen. Die Baseline-Diagnostik im Rahmen des GAP2 wurde mit Hilfe des Mini-SCID (*Structured Clinical Interview for DSM-III-R*; First, Gibbon et al., 1990), für das GAP3 mit dem *Strukturierten Klinischen Interview Psychischer Störungen* Teil I und Teil II (SKID I und II, Spitzer, Williams et al., 1992; First, Spitzer et al., 1995) durchgeführt. Dem Studienprotokoll folgend wurden alle Patienten zu Beginn der Behandlung sowie dann im zweiwöchigen Abstand hinsichtlich des Ausprägungsgrades der aktuellen depressiven Episode beurteilt. Für das GAP2 kam diesbezüglich die *Bech Rafaelsen Melancholia Scale* (BRMS; Bech & Rafaelsen, 1986), für das GAP3 die *Hamilton Depression Scale* (21 Items) (HAMD-21; Hamilton, 1960) als jeweils primäre Outcomevariable zur Anwendung. Die Remission war bezogen auf die BRMS mit einem Wert  $< 8$ , hinsichtlich der HAMD mit einem Wert  $< 10$  definiert.

Sämtliche in die Genotypisierung einbezogenen Patienten hatten im Rahmen des GAP2 bzw. des GAP3 mindestens einen erfolglosen Behandlungsversuch mit einer adäquaten Antidepressiva-Monotherapie durchlaufen und den Algorithmusvorgaben des GAP2 bzw. GAP3 folgend eine Lithiumaugmentationstherapie erhalten. Die Lithiumaugmentation erfolgte in beiden Projektteilen gleich. Zu dem vorher nicht ausreichend wirksamen Antidepressivum wurde Lithium hinzugegeben, wobei das Lithium in der Regel am ersten Tag mit 12 mmol und ab dem zweiten Tag mit zweimal 12 mmol verabreicht wurde (bei Patienten  $\geq 65$  Jahren erfolgte die Eindosierung von Lithium mit 6 mmol an Tag 1 und zweimal 6 mmol ab Tag 2). Nach Erreichen von Steady-State-Bedingungen erfolgte an Tag 7 eine Bestimmung des Lithiumserumspiegels. Die weitere Lithiumdosierung erfolgte nach Serumspiegel. Der therapeutische Zielbereich lag diesbezüglich zwischen 0,5 und 0,8 mmol/l.

Die Genotypisierungen wurden im Labor des Instituts für Klinische Pharmakologie der Charité Campus Mitte durchgeführt. Die Datensicherheit wurde durch Kodierung aller Patientenunterlagen sowie der zugehörigen Laborproben gewährleistet. Beide Studien, GAP2 und GAP3, sind durch entsprechende Anträge von der entsprechenden Ethikkommission genehmigt worden. Alle eingeschlossenen Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie sowie zur Genotypisierung ihres Blutes. Datengewinnung und Genotypisierungen für die vorliegende Arbeit erfolgten retrospektiv anhand der jeweiligen Patientenakten und durch die entsprechenden Laboruntersuchungen. Die Blutentnahmen wurden in der Regel kurz nach dem Einschluss eines Patienten in die Studie durchgeführt.

### 2.1.3 Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten, bei denen

1. eine depressive Episode (einzeln oder rezidivierend im Rahmen einer unipolaren bzw. bipolaren Störung) nach ICD 10 bzw. DSM IV (s. Tab. 4),
2. ein Alter von mindestens 18 Jahren sowie
3. ein schriftliches Einverständnis vorlag.

Tab. 4: Einschlussdiagnosen für die vorliegende Arbeit (Kodierung nach ICD-10, Dilling, Mombour et al., 2004).

<b>Diagnoseschlüssel</b>	<b>Kategorie</b>
F31.3-5/F31.8	Bipolare affektive Störungen mit gegenwärtig depressiver Episode/sonstige bipolare affektive Störungen
F32	Depressive Episode
F33	Rezidivierende depressive Störungen

### 2.1.4 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren

1. mentale Retardierung sowie
2. das Vorliegen einer organisch bedingten affektiven Störung.

## 2.2 Molekulargenetische Laboranalysen

### 2.2.1 DNA-Extraktion

Die genomische DNA wurde im Rahmen der vorliegenden Studie mit Hilfe des vollautomatischen *Magna Pure LC Systems* (Roche) extrahiert. Die Proben (EDTA-Vollblut) wurden im Rahmen dieses Verfahrens durch Inkubation mit einem speziellen Puffer zunächst lysiert. Dann wurden *Magnetic Glass Particles* (MGP) zugesetzt, an deren Oberfläche sich die DNA anlagern konnte. Ungebundene Substanzen wurden durch mehrere Reinigungsschritte entfernt. Ein Durchlauf, in dessen Verlauf bis zu 32 Blut-

proben verarbeitet werden konnten, dauerte 90 Minuten. Anschließend konnte die fertige DNA in sterile Reaktionsgefäße pipettiert und bei 4°C gelagert werden.

## 2.2.2 Genotypisierungen

Für die Genotypisierungen wurde aus EDTA-Vollblut extrahierte DNA verwendet. Nach Amplifikation der entsprechenden Zielsequenz im Rahmen einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und Nachweiskontrolle durch eine Agarosegelelektrophorese erfolgte der Verdau mit Restriktionsendonukleasen sowie abermalige Auftrennung in einer Agarosegelelektrophorese. Nach Färbung und Visualisierung mit Hilfe eines Videosystems (Eagle Eye™ II, Stratagene®) konnten schließlich die einzelnen Allele sichtbar gemacht werden.

### 2.2.2.1 Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde 1983 von Kary Mullis entwickelt und stellte einen Durchbruch für die Gentechnik dar, da es mit dieser Methode möglich geworden war, selbst kleinste Mengen genetischen Materials zu analysieren.

Das Prinzip sieht folgendermaßen aus (s. auch Abb. 4):

1. Zunächst wird das DNA-Ausgangsmolekül auf 90°C erhitzt und damit denaturiert, so dass zwei Einzelstränge entstehen. Nach Herunterkühlung des Reaktionsproduktes auf 50°C werden zwei aus 15 bis 25 Basen bestehende Oligonukleotide zugesetzt. Diese stellen zwei kurze Stücke chemisch synthetisierter DNA dar, die für die noch hinzuzufügende Polymerase als *Primer* fungieren: Sie sind zur Sequenz an den 5'-Enden der beiden Einzelstränge komplementär und binden an diese in Abhängigkeit ihres mittleren Schmelzwertes ( $T_m$ -Wertes) (*Annealing*).
2. Um unspezifische Hybridisierungen zu verhindern, muss hierbei die Temperatur meist auf 60-70°C erhöht werden. Die beiden Primer bilden nun zwei spezifische Bindungsstellen für die Polymerase, die
3. im nächsten Schritt hinzugefügt wird. Es handelt sich hierbei um eine hitzestabile DNA-Polymerase (beispielsweise Taq aus dem Bakterium *Thermus aquaticus*, das in heißen Quellen siedelt), die an die Oligonukleotidprimer bindet und die beiden Einzelstränge zum jeweiligen Doppelstrang komplementiert, so dass nun zwei Doppelstränge entstehen.

Nach Durchlaufen dieser drei Schritte werden die ersten beiden wiederholt. Da die Taq-Polymerase hitzestabil ist, ist es nicht notwendig, diese im nächsten Schritt wieder zuzusetzen. Die einmal zugegebene Polymerase steht der Reaktion auf diese Weise für weitere Durchläufe zur Verfügung. Da sich die Anzahl der zu amplifizierenden DNA-Moleküle nach jedem Zyklus verdoppelt, ist es nun also möglich, die Zielsequenz nach 25 Zyklen auf das  $10^6$ fache zu amplifizieren (Linz, 1990; Calladine, Drew et al., 2006).

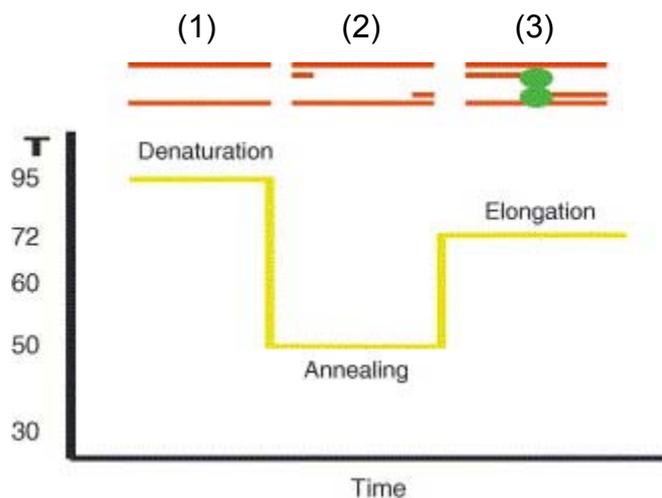


Abb. 4: Ablauf des PCR-Temperatur-Zyklus: (1) Erhitzen auf 90 °C, um die Doppelstrang-DNA zu denaturieren und zwei Einzelstränge herzustellen. (2) Absenken der Temperatur, damit sich die Oligonukleotidprimer anlagern können (Annealing). (3) Zufügen der hitzestabilen Polymerase, die an die Oligonukleotidprimer bindet und die beiden Einzelstränge zum jeweiligen Doppelstrang komplementiert (Elongation), so dass nun zwei Doppelstränge entstehen. (T=Temperatur in °C; aus Kubista, Andrade et al., 2006).

#### 2.2.2.2 Restriktionsendonukleasen und Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen

Restriktionsendonukleasen greifen innerhalb einer Nukleinsäurekette an und kommen in der Natur nur bei Bakterien vor. Sie spalten ausschließlich doppelsträngige DNA und nur an spezifischen Sequenzen, die aus mindestens vier Basen bestehen und sich durch palindromische Struktur auszeichnen, d. h. die Basensequenz in den beiden Einzelsträngen muss, jeweils vom 5'-Ende her gelesen, identisch sein. Der Vorteil dieser Endonukleasen besteht darin, dass die sonst außerordentlich langen DNA-Moleküle in spezifische und genau definierte Bruchstücke gespalten werden können. Dies ist besonders zum Nachweis von Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen nützlich: Kommt es durch eine Mutation zur Veränderung einer Nukleotidsequenz einer Schnittstelle, so kann die Restriktionsendonuklease das PCR-Produkt nicht wie gewohnt

schneiden. Dies hat zur Folge, dass unterschiedlich lange Fragmente (*Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen*, RFLP) entstehen, die dann, im Rahmen einer Gelelektrophorese untersucht, auf den jeweiligen Genotyp schließen lassen (Berg, Tymoczko et al., 2003; Löffler, Petrides et al., 2006).

#### 2.2.2.3 Agarosegelelektrophorese

Nach der Amplifizierung oder nach einem Verdau durch Restriktionsendonukleasen können die resultierenden PCR-Produkte im Rahmen einer Agarosegelelektrophorese sichtbar gemacht und somit nachgewiesen werden. Ein Gel stellt im Prinzip eine dreidimensionale Struktur dar, durch die verschieden große Moleküle mit unterschiedlicher Geschwindigkeit hindurchwandern können. Die Agarosegelplatte wird zwischen zwei Glasplatten auf einer ebenen Fläche einem elektrischen Feld ausgesetzt. Dabei wandert die negativ geladene DNA in Richtung der Anode, so dass die DNA-Fragmente entsprechend ihrer Größe aufgetrennt werden. Je nach Größe der gesuchten DNA-Zielsequenz muss das Gel dichter oder weniger dicht sein, was durch die Menge der verwendeten Agarose gesteuert werden kann. Das PCR-Produkt wird mit einem Auftragspuffer (Bromphenolblau) gefärbt und in kleine Taschen auf der Gelplatte pipettiert. Des Weiteren wird in eine weitere Tasche ein Größenstandard (z. B. Fermentas, GeneRuler™ 100bp Ladder) aufgetragen, der die spätere Größenzuordnung (in Basenpaaren, bp) der gefundenen Banden ermöglicht. Abhängig von ihrer Größe und Ladung wandern nun die einzelnen Moleküle in dem angelegten elektrischen Feld unterschiedlich weit in das Gel hinein und bilden schließlich verschiedene Banden aus. Diese Banden können dann mit einem Fluoreszenzfarbstoff (SYBR® Gold, Invitrogen™) eingefärbt und unter Einsatz eines Videosystems mit UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert werden. Durch Vergleich mit dem Größenstandard können die PCR-Produkte schließlich hinsichtlich ihrer bp-Größe zugeordnet werden.

#### 2.2.2.4 Bestimmung des GNB3-Polymorphismus

Die genetische Variante (C825T) befindet sich in Exon 10 des für die  $\beta$ 3-Untereinheit heterotrimerer G-Proteine kodierenden Gens. Zur Bestimmung der GNB3-Allele wurde eine PCR-RFLP-Analyse durchgeführt. Die für die Amplifikation im Rahmen der PCR verwendeten Primer waren G-beta3-1-F (TgACCCACTTgCCACCCgTgC, vorwärts, TIB

MOLBIOL) sowie G-beta3-1-R (gCAGCAGCCAgggCTggC, rückwärts, TIB MOLBIOL). Zum Nachweis der amplifizierten DNA-Sequenz wurde eine Agarosegelelektrophorese (2,5%) durchgeführt, in deren Rahmen positive Proben eine 268 bp-Bande aufwiesen und anschließend verdaut werden konnten. Dies erfolgte mit Hilfe des Enzyms BseDI (Fermentas). Nach Sichtbarmachung auf einem 3,5%igen Agarosegel konnten die Ergebnisse mit einem digitalen Videosystem dokumentiert werden. Das unverdaute PCR-Produkt hatte eine Größe von 268 bp (T/T-Genotyp), während eine komplette Restriktion zwei Banden von 116 und 152 bp generierte (C/C-Genotyp). Heterozygote Proben mit dem C/T-Genotyp wiesen drei Banden auf (268 bp, 152 bp, 116 bp).

#### 2.2.2.5 Bestimmung des GSK3B-Polymorphismus

Für den Nachweis des -50T/C-SNP wurde vor der Restriktion zunächst eine *touch-down-PCR* durchgeführt. Diese ermöglicht es, die Spezifität von PCR-Reaktionen zu verbessern. Es wird diesbezüglich ein Cyler-Programm gewählt, in dessen Rahmen die Annealing-Temperatur schrittweise reduziert wird (z. B. 1-2°C in jedem zweiten Zyklus). Die initiale Annealing-Temperatur sollte einige Grade über dem geschätzten  $T_m$ -Wert der Primer liegen. Dann wird die Annealing-Temperatur graduell gesenkt, bis sie dem geschätzten  $T_m$ -Wert der Primer entspricht oder etwas darunter liegt. Die Amplifizierung der DNA-Zielsequenz wird dann unter Anwendung dieser Annealing-Temperatur fortgesetzt. Die *touch-down-PCR* erhöht die Spezifität der ersten Primer-Template-Hybridisierung und somit die Spezifität der PCR-Reaktion. Die im Rahmen dieser *touch-down-PCR* verwendeten Primer waren GSK3\_101 (gATTCCCAgACgCCTgTTAC, vorwärts, TIB MOLBIOL) sowie GSK3\_201 (CTCgCTTCCTTCCTTCCTTT, rückwärts, TIB MOLBIOL). Nach Sichtbarmachung des PCR-Produktes in der Agarosegelelektrophorese (2,5%-Gel) wurde es mit Hilfe des Enzyms AluI (Fermentas) verdaut. Nach einer weiteren Agarosegelelektrophorese (2,5%-Gel) zur Identifizierung der einzelnen Genotypen wies unverdautes PCR-Produkt eine Größe von 235 bp (C/C-Genotyp), komplett verdautes PCR-Produkt eine zweifache Bandenbildung (150 und 85 bp, T/T-Genotyp) auf. Die heterozygote Ausprägung (C/T-Genotyp) war durch drei Banden erkennbar (235, 150, 85 bp).

### 2.2.2.6 Bestimmung des INPP1-Polymorphismus

Der C973A-SNP der INPP1, der durch das INPP1-Gen auf Chromosom 2q32 enkodiert wird, wurde durch eine PCR-RFLP-Analyse nachgewiesen. Die im Rahmen der Amplifikation verwendeten Primer waren INPP1\_101 (TAACCAgCAACAggACAAAg, vorwärts, TIB MOLBIOL) und INPP1\_201 (CTAgAAgAAACggCAgTgAAAC, rückwärts, TIB MOLBIOL). Das PCR-Produkt konnte in der anschließenden Agarosegelelektrophorese (2,5%-Gel) nachgewiesen werden und umfasste 584 bp. Es erfolgte anschließend der Verdau mit Ddel (New England BioLabs) sowie eine weitere Agarosegelelektrophorese (2,5%-Gel) zur Sichtbarmachung der Genotypen. Das 973C-Allel wurde dabei durch die Banden bei 256 bp, 143/142 bp und 43 bp abgebildet, das 973A-Allel durch Banden bei 215 bp, 143/142 bp, und 43/42 bp. Der heterozygote Genotyp (C/A) umfasste die Banden bei 256 bp, 215 bp, 143/142 bp sowie 43/42 bp.

### 2.2.2.7 Bestimmung des TPH2-Polymorphismus

Der A19918G-SNP wurde ebenfalls mit PCR-RFLP-Analysen nachgewiesen. Die angewendeten Primer waren TPH2\_101 (gCCTgACCCTCgTgAgATACA, vorwärts, TIB MOLBIOL) und TPH2\_203 (gCACAgTACTgAATCTCAgTCCCggAg, rückwärts, TIB MOLBIOL). Die Agarosegelelektrophorese zur Identifikation des PCR-Produktes mit 481 bp erfolgte mit 2,5%igem Gel, der anschließende Verdau mit MspI (Fermentas). Nach Sichtbarmachung durch eine weitere Agarosegelelektrophorese mit einem 2,5%igem Gel war der A/A-Genotyp zu identifizieren durch Banden bei 457 bp und 24 bp, der G/G-Genotyp durch Banden bei 370 bp, 87 bp und 24 bp und der heterozygote Genotyp A/G durch Banden bei 457 bp, 370 bp, 87 bp und 24 bp.

## 2.2.3 Reagenzien, Untersuchungsmaterialien und Geräte

### 2.2.3.1 Herstellung der Agarosegelplatten

Für die Herstellung einer 2,5%igen Agarosegelplatte wurden je 100 ml 1xTBE (Tris-Borsäure-EDTA) (10xTBE 1:10 mit H<sub>2</sub>O (steril, bidest.) verdünnt) 2,5 g Agarose zugegeben, in der Mikrowelle mehrfach aufgekocht und unter ständigem Rühren auf einem Magnetrührer wieder etwas abgekühlt, bis die Flüssigkeit klar war. Nach erneutem Ab-

kühlen auf etwa handwarme Temperatur wurde das flüssige Gel in einen vorbereiteten Elektrophoreseschlitten gegossen, wobei die Bildung von Luftblasen zu vermeiden war. Anschließend wurden für die Ausformung der Geltaschen entsprechende Kämmen in den Schlitten gehängt, wodurch bis zu vier Reihen à 25 Geltaschen erzeugt werden konnten. Das so angesetzte Gel musste nun noch erkalten und erhärten und konnte danach für die Agarosegelelektrophorese in eine Elektrophoresekammer gelegt werden. Für eine 3,5%ige Agarosegelplatte wurde äquivalent verfahren, jedoch wurden je 100 ml Agarosegel statt 2,5 g Agarose 3,5 g Agarose verwendet.

### 2.2.3.2 Materialien für die PCR und die RFLP-Analysen

Die im Rahmen der Analysen eingesetzten Geräte, Reagenzien und Verbrauchsartikel sind in Tab. 5 bis 7 zusammengefasst.

Tab. 5: Geräte für die PCR-/RFLP-Analysen.

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>
Laborwaage	owa Labor
Magnetrührer	IKA Labortechnik
Thermomixer	Eppendorf
Pipetten	Eppendorf
Halbautomatischer Schüttler	Heidolph, IKA-Labortechnik
Tischzentrifuge	Eppendorf
Zentrifuge	Beckman
Thermocycler GeneAmp PCR System 9600 und 9700	Perkin Elmer, Applied Biosystems
Inkubationsschränke	Biometra
Mikrotiterplatten	Falcon
Flachbrettelektrophoresekammern und -kämme	Protrans
Elektrophorese-Spannungsgeräte	Protrans
Wipp-Schüttler	Hoefer
Videosystem Eagle Eye II	Stratagene

Tab. 6: Reagenzien für PCR-/RFLP-Analysen.

<b>Reagens</b>	<b>Hersteller</b>
10x Puffer	Rapidozym
dNTP (2mM)	MBI Fermentas
Oligonukleotid-Primer G-beta3-1-F und G-beta3-1-R TPH2_101 und TPH2_203 GSK_101 und GSK_201 INPP1_101 und INPP1_201	TIB MOLBIOL TIB MOLBIOL TIB MOLBIOL TIB MOLBIOL
BioTherm™ DNA Polymerase	Rapidozym
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	Rapidozym
DMSO	Merck
Puffer Y+	Fermentas
Puffer Tango	Fermentas
10x NEBuffer 3	New England BioLabs
Restriktionsendonukleasen BseDI AluI DdeI MspI	Fermentas Fermentas New England BioLabs Fermentas
Agarose (Molecular Biology Grade)	Eurogentec
1xTBE	Merck (10xTBE 1:10 mit H <sub>2</sub> O (steril, bidest.) verdünnt)
DNA-Größenstandards GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder	Fermentas Fermentas
Laufpuffer Bromphenolblau	Merck
Fluoreszenzfarbstoff SYBR Gold	Invitrogen

Tab. 7: Verbrauchsartikel.

<b>Artikel</b>	<b>Hersteller</b>
Einmalhandschuhe	Ansell
96er PCR-Platten	Abgene
Eppendorfgefäße	Eppendorf
Pipettenspitzen	Sarstedt

### 2.2.3.3 Anmerkungen zu den molekulargenetischen Labormethoden

Die Zusammenführung der Reagenzien erfolgte auf Eis. Die Herstellung der Reaktionsansätze für die PCR wurde in einem Non-DNA-Laborraum durchgeführt, um eine Kontamination zu vermeiden. Verbrauchsmaterialien wie Pipettenspitzen und H<sub>2</sub>O-enhaltende Gefäße wurden vor Verwendung autoklaviert. Das jeweilige Enzym wurde dem Probenansatz erst als letztes Reagens zugefügt und der Ansatz dann mit der DNA zusammengebracht. Anschließend erfolgte die Einstellung in den Cyclyer bzw. Inkubationsschrank, um eine Reaktion unter nicht kontrollierten Bedingungen zu vermeiden. Alle Ansätze wurden nach der Herstellung mit Hilfe eines halbautomatischen Schüttlers gut vermischt und vor Einstellen in den Cyclyer oder Inkubationsschrank zentrifugiert.

### 2.2.3.4 GNB3-Protokoll

Die folgenden Tabellen 8 und 9 geben einen Überblick über Reaktionsansatz, Cyclyerprogramm und Elektrophorese für die PCR sowie über Reaktionsansatz, Inkubation und Elektrophorese für den Verdau. In den Abbildungen 5 und 6 sind beispielhaft entsprechende Elektrophoresen dargestellt.

Tab. 8: Reaktionsansatz, Cyclerprogramm und Elektrophorese der PCR für den GNB3-SNP.

Reaktionsansatz (für eine Probe à 26 µl)	10x Puffer	2,50 µl
	dNTP (2mM)	2,50 µl
	Primer G-beta3-1-F	0,50 µl
	Primer G-beta3-1-R	0,50 µl
	BioTherm™ DNA Polymerase	0,10 µl
	MgCl <sub>2</sub> (50mM)	1,60 µl
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	17,30 µl
	DNA	1,00 µl
Cycler-Programm	05:00 min. 94°C 33 x (01:00 min. 94°C, 00:45 min. 70°C, 01:00 min. 72°C) 07:00 min. 72°C, dann auf 4°C herunterkühlen	
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 2,50% 00:30 h 120 V Auftragsvolumen: 10 µl PCR-Produkt und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (50bp, GeneRuler™)	
PCR-Zielsequenz	Fragment mit 268 bp	

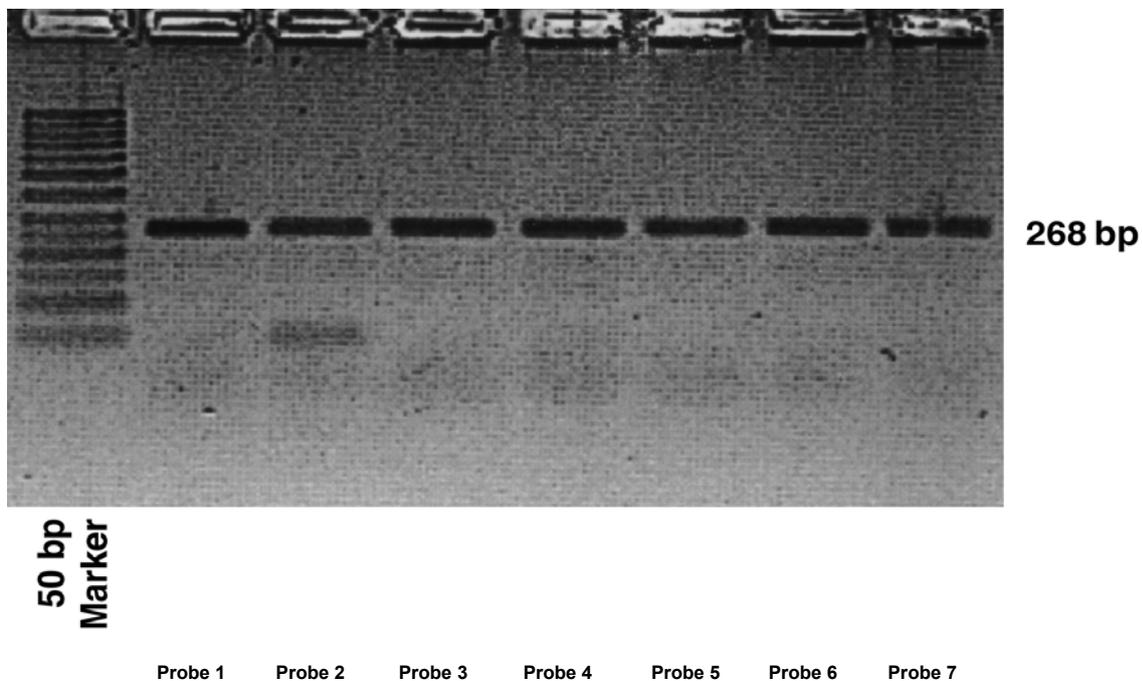


Abb. 5: Agarosegelelektrophorese der PCR für den GNB3-SNP (Ausschnitt für sieben DNA-Proben).

Tab. 9: Reaktionsansatz, Inkubation und Elektrophorese des Verdaus für den GNB3-SNP.

Reaktionsansatz für den Verdaus (für eine Probe à 28 µl)	PCR-Produkt	16,00 µl		
	Puffer Y+	2,00 µl		
	Restriktionsendonuklease BseDI	0,50 µl		
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	9,50 µl		
Inkubation	55°C über 1 h			
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 3,50% 01:30 h 120 V Auftragsvolumen: 28 µl Verdaus und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (50bp, GeneRuler™)			
Auswertung	Genotyp	CC	CT	TT
	Kodierung	0	1	2
	Muster (bp)	- 152 116	268 152 116	268 - -

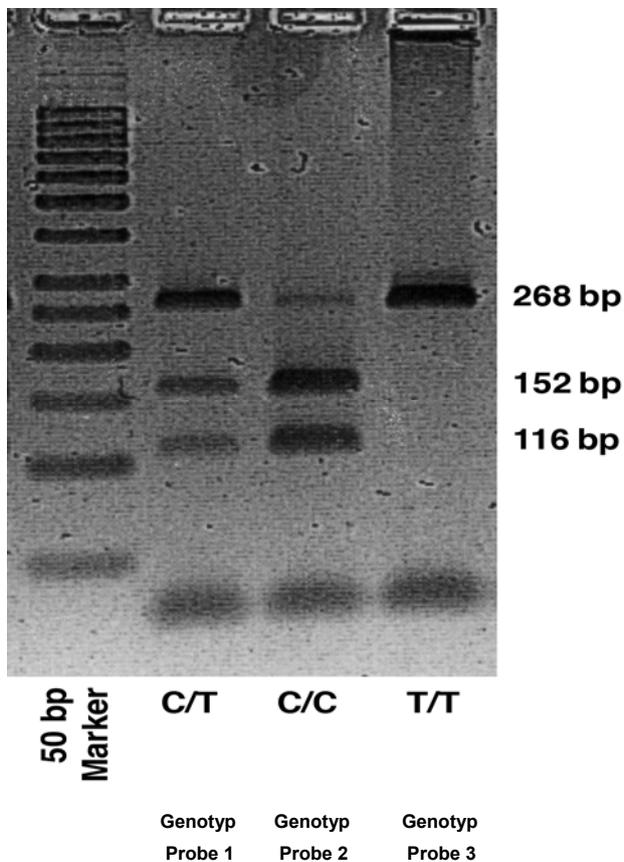


Abb. 6: Agarosegelelektrophorese des Verdaus für den GNB3-SNP (Ausschnitt für drei DNA-Proben).

### 2.2.3.5 GSK3B-Protokoll

Die folgenden Tabellen 10 und 11 geben einen Überblick über Reaktionsansatz, Cyclerprogramm und Elektrophorese für die PCR sowie über Reaktionsansatz, Inkubation und Elektrophorese für den Verdau. In den Abbildungen 7 und 8 sind beispielhaft entsprechende Elektrophoresen dargestellt.

Tab. 10: Reaktionsansatz, Cyclerprogramm und Elektrophorese der *touch-down-PCR* für den GSK3B-SNP.

Reaktionsansatz (für eine Probe à 40 µl)	10x Puffer	4,00 µl
	dNTP (2mM)	1,00 µl
	Primer GSK3_101	2,00 µl
	Primer GSK3_201	0,20 µl
	BioTherm™ DNA Polymerase	0,20 µl
	MgCl <sub>2</sub> (50mM)	1,00 µl
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	27,60 µl
	DMSO	2,00 µl
	DNA	2,00 µl
Cycler-Programm der touch-down-PCR	02:00 min. 94°C 10 x (00:40 min. 94°C, 00:40 min. 66°C/bei jedem Zyklus -1°C, 02:00 min. 72°C) 25 x (00:40 min. 94°C, 00:40 min. 56°C, 02:00 min. 72°C) 03:00 min. 72°C, dann auf 10°C herunterkühlen	
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 2,50% 00:50 h 120 V Auftragsvolumen: 10 µl PCR-Produkt und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (100 bp, GeneRuler™)	
PCR-Zielsequenz	Fragment mit 235 bp	

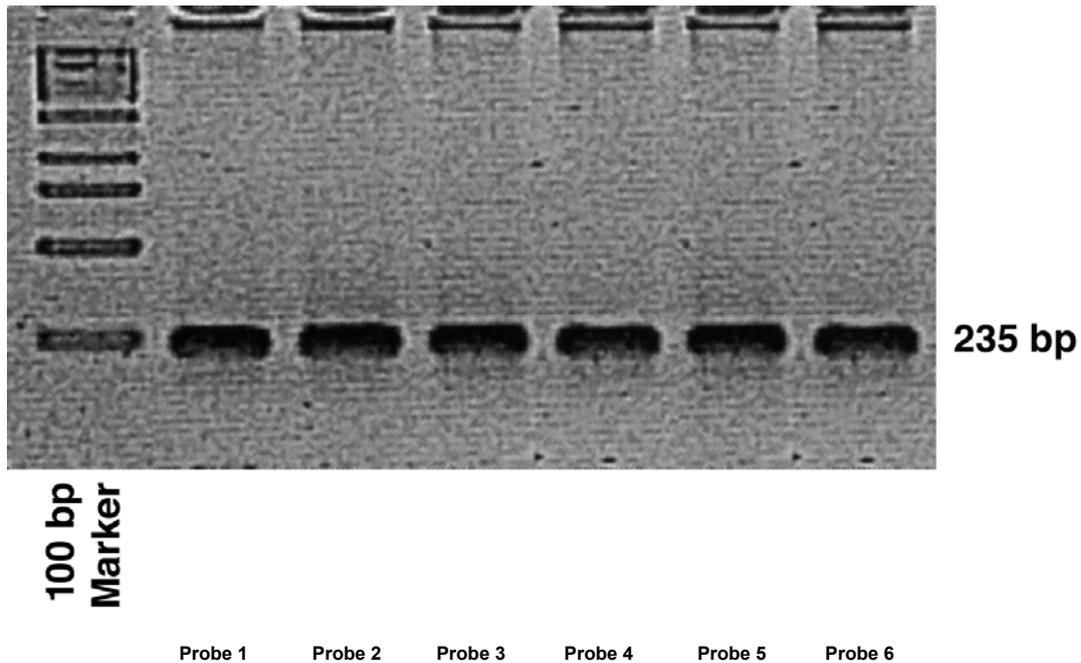


Abb. 7: Agarosegelelektrophorese der touch-down-PCR für den GSK3B-SNP (Ausschnitt für sechs DNA-Proben).

Tab. 11: Reaktionsansatz, Inkubation und Agarosegelelektrophorese des Verdaus für den GSK3B-SNP.

Reaktionsansatz für den Verdaus (für eine Probe à 18 µl)	PCR-Produkt	8,00 µl		
	Puffer Tango	2,00 µl		
	Restriktionsendonuklease AluI	0,50 µl		
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	7,50 µl		
Inkubation	37°C über Nacht			
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 2,50% 02:00 h 100 V Auftragsvolumen: 18 µl Verdaus und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (50bp, GeneRuler™)			
Auswertung	Genotyp	CT	CC	TT
	Kodierung	0	1	2
	Muster (bp)	235 150 85	235 - -	- 150 85

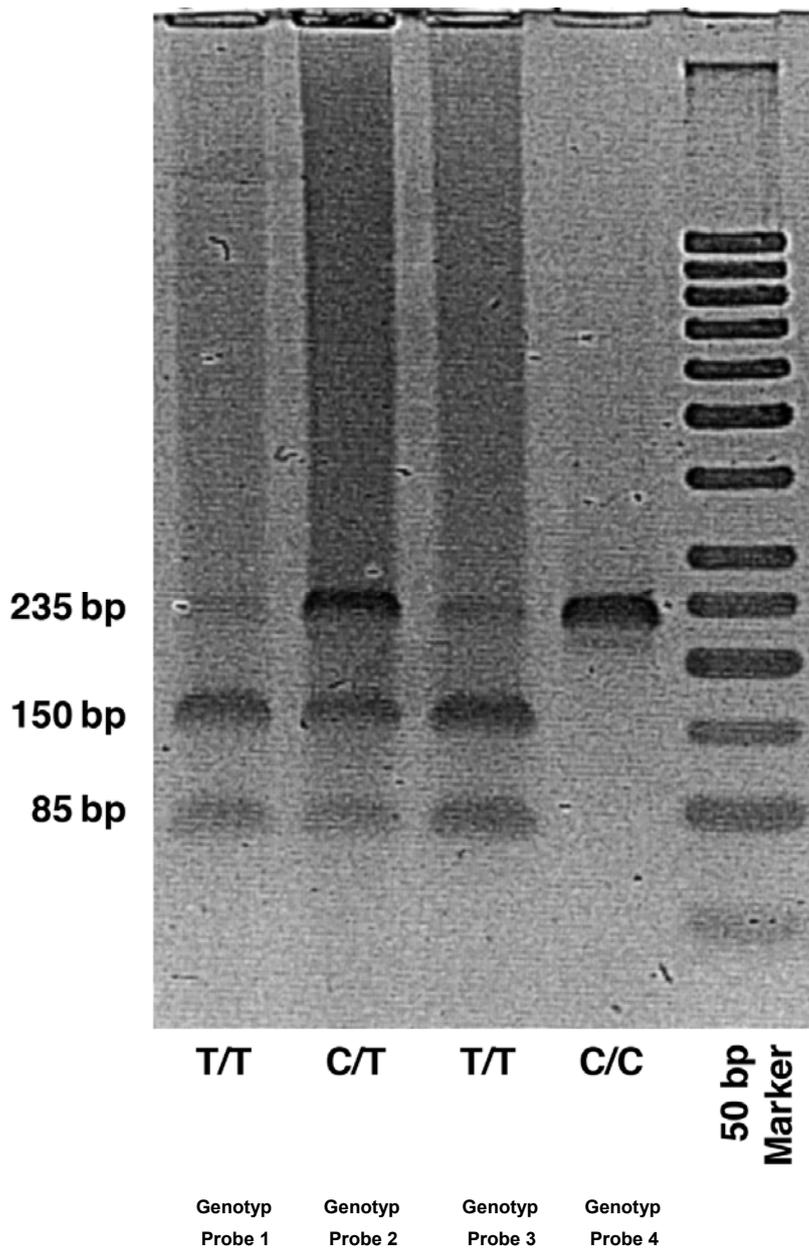


Abb. 8: Agarosegelelektrophorese des Verdaus für den GSK3B-SNP (Ausschnitt für vier DNA-Proben).

#### 2.2.3.6 INPP1-Protokoll

Die folgenden Tabellen 12 und 13 geben einen Überblick über Reaktionsansatz, Cyc-  
lerprogramm und Elektrophorese für die PCR sowie über Reaktionsansatz, Inkubation  
und Elektrophorese für den Verdaus. In den Abbildungen 9 und 10 sind beispielhaft ent-  
sprechende Elektrophoresen dargestellt.

Tab. 12: Reaktionsansatz, Cyclerprogramm und Agarosegelelektrophorese der PCR für den INPP1-SNP.

Reaktionsansatz (für eine Probe à 40 µl)	10x Puffer	4,00 µl
	dNTP (2mM)	1,00 µl
	Primer INPP1_101	0,50 µl
	Primer INPP1_201	0,50 µl
	BioTherm™ DNA Polymerase	0,20 µl
	MgCl <sub>2</sub> (50mM)	1,00 µl
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	30,80 µl
	DNA	2,00 µl
Cycler-Programm	02:00 min. 94°C 35 x (00:40 min. 94°C, 00:40 min. 60°C, 02:00 min. 72°C) 03:00 min. 72°C, dann auf 10°C herunterkühlen	
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 2,50% 00:50 h 120 V Auftragsvolumen: 10 µl PCR-Produkt und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (100 bp, GeneRuler™)	
PCR-Zielsequenz	Fragment mit 584 bp	

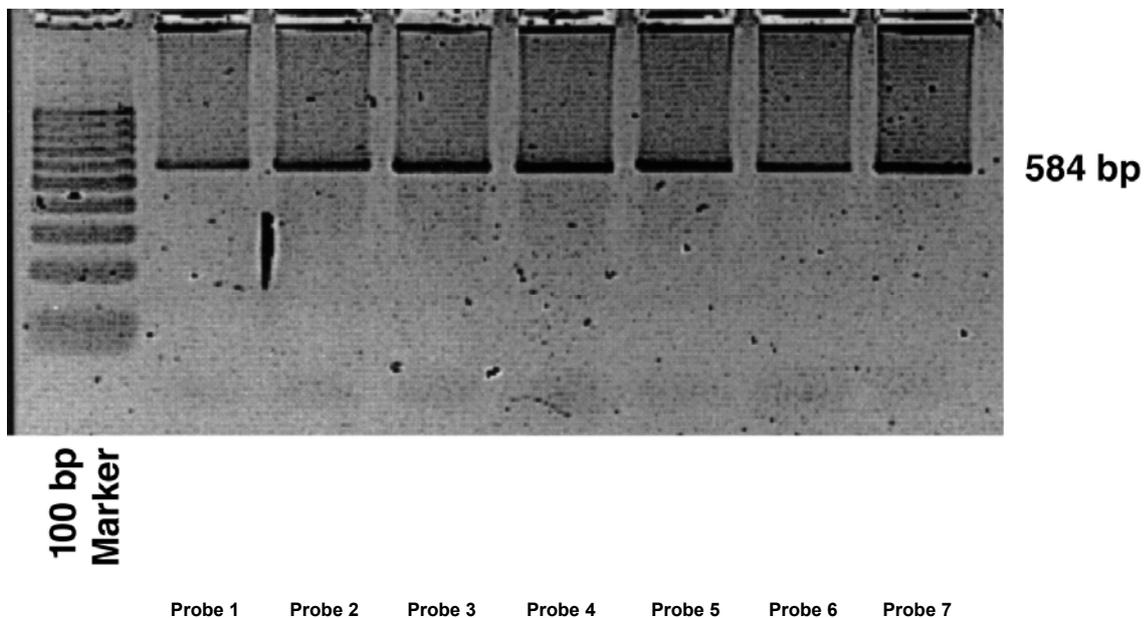


Abb. 9: Agarosegelelektrophorese der PCR für den INPP1-SNP (Ausschnitt für sieben DNA-Proben).

Tab. 13: Reaktionsansatz, Inkubation und Agarosegelelektrophorese des Verdaus für den INPP1-SNP.

Reaktionsansatz für den Verdau (für eine Probe à 17 µl)	PCR-Produkt	7,00 µl		
	10x NEBuffer 3	2,00 µl		
	Restriktionsendonuklease Ddel	0,50 µl		
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	7,50 µl		
Inkubation	37°C über Nacht			
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 2,50% 01:30 h 100 V Auftragsvolumen: 17 µl Verdau und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (50bp, GeneRuler™)			
Auswertung	Genotyp	CC	AA	CA
	Kodierung	0	1	2
	Muster (bp)	256	-	256
		-	215	215
	143/142	143/142	143/142	
	43	43/41	43/41	

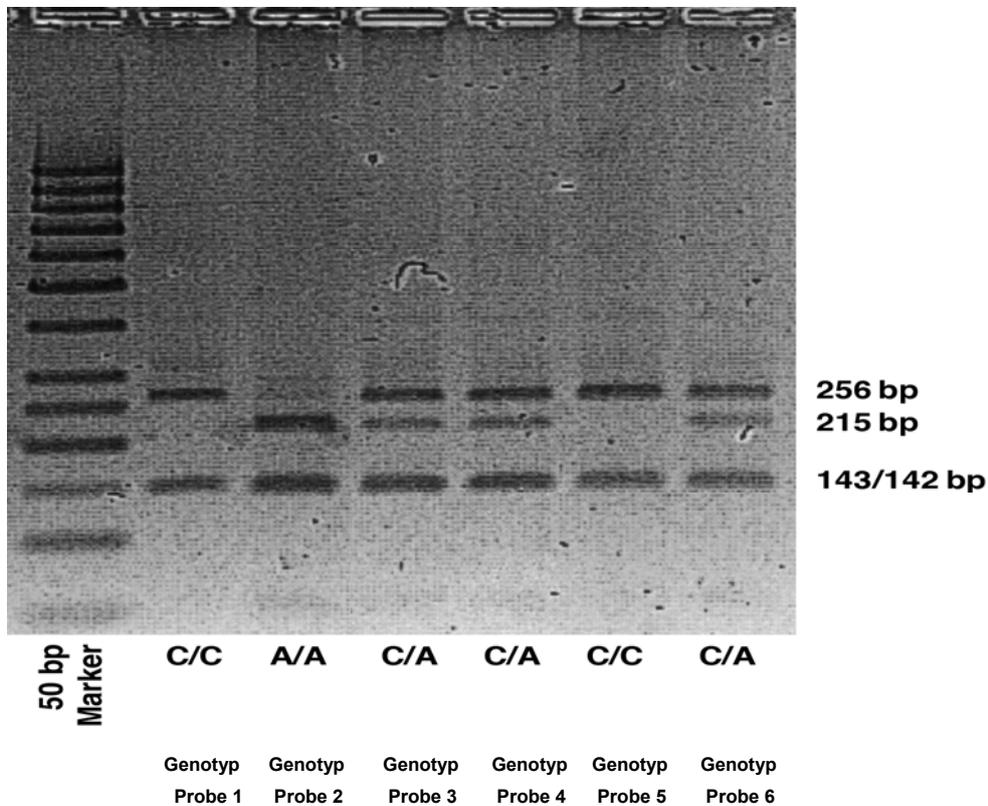


Abb. 10: Agarosegelelektrophorese des Verdaus für den INPP1-SNP (Ausschnitt für sechs DNA-Proben).

### 2.2.3.7 TPH2-Protokoll

Die folgenden Tabellen 14 und 15 geben einen Überblick über Reaktionsansatz, Cyc-  
lerprogramm und Elektrophorese für die PCR sowie über Reaktionsansatz, Inkubation  
und Elektrophorese für den Verdau. In den Abbildungen 11 und 12 sind beispielhaft  
entsprechende Elektrophoresen dargestellt.

Tab. 14: Reaktionsansatz, Cyc-lerprogramm und Agarosegelelektrophorese der PCR für den TPH2-SNP.

Reaktionsansatz (für eine Probe à 21,20 µl)	10x Puffer	2,00 µl
	dNTP (2mM)	0,50 µl
	Primer TPH2_101	0,40 µl
	Primer TPH2_203	0,40 µl
	BioTherm™ DNA Polymerase	0,10 µl
	MgCl <sub>2</sub> (50mM)	1,00 µl
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	15,60 µl
	DNA	1,20 µl
Cyc-ler-Programm	02:00 min. 94°C 35 x (00:40 min. 94°C, 00:40 min. 62,5°C, 02:00 min. 72°C) 03:00 min. 72°C, dann auf 10°C herunterkühlen	
Agarosegelelektropho- rese	Agarosegel 2,50% 00:50 h 120 V Auftragsvolumen: 10 µl PCR-Produkt und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (100 bp, GeneRuler™)	
PCR-Zielsequenz	Fragment mit 481 bp	

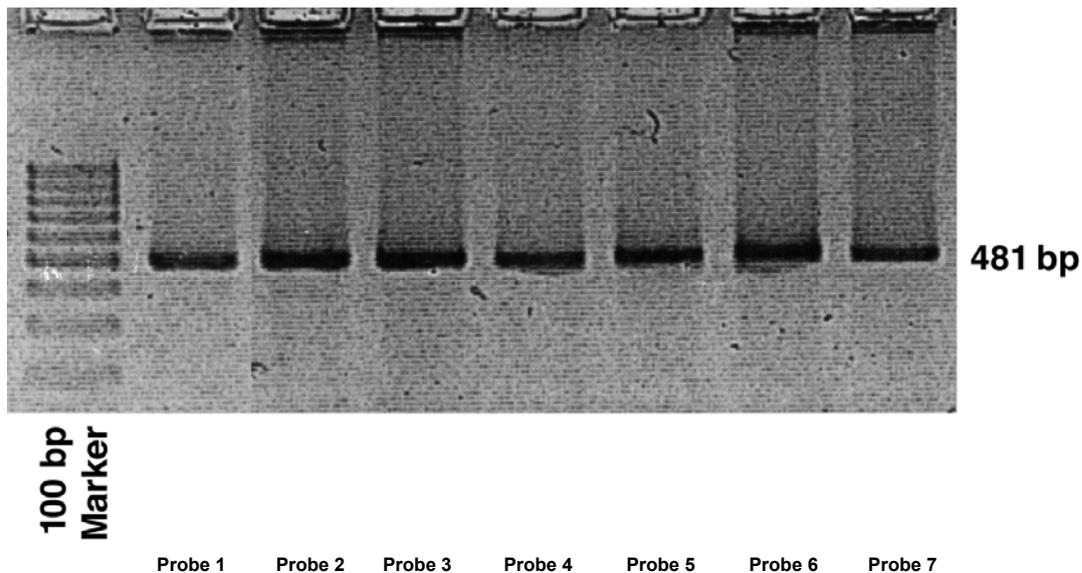


Abb. 11: Agarosegelelektrophorese der PCR für den TPH2-SNP (Ausschnitt für sieben DNA-Proben).

Tab. 15: Reaktionsansatz, Inkubation und Agarosegelelektrophorese des Verdau für den TPH2-SNP.

Reaktionsansatz für den Verdau (für eine Probe à 15 µl)	PCR-Produkt	5,00 µl		
	Puffer Y+	2,00 µl		
	Restriktionsendonuklease MspI	0,50 µl		
	H <sub>2</sub> O (steril, bidest.)	7,50 µl		
Inkubation	37°C über Nacht			
Agarosegelelektrophorese	Agarosegel 2,50% 02:00 h 100 V Auftragsvolumen: 15 µl Verdau und 10 µl Laufpuffer 4 µl DNA-Marker (50bp, GeneRuler™)			
Auswertung	Genotyp	AG	GG	AA
	Kodierung	1	2	3
	Muster (bp)	457	-	457
		370	370	-
87		87	-	
24		24	24	

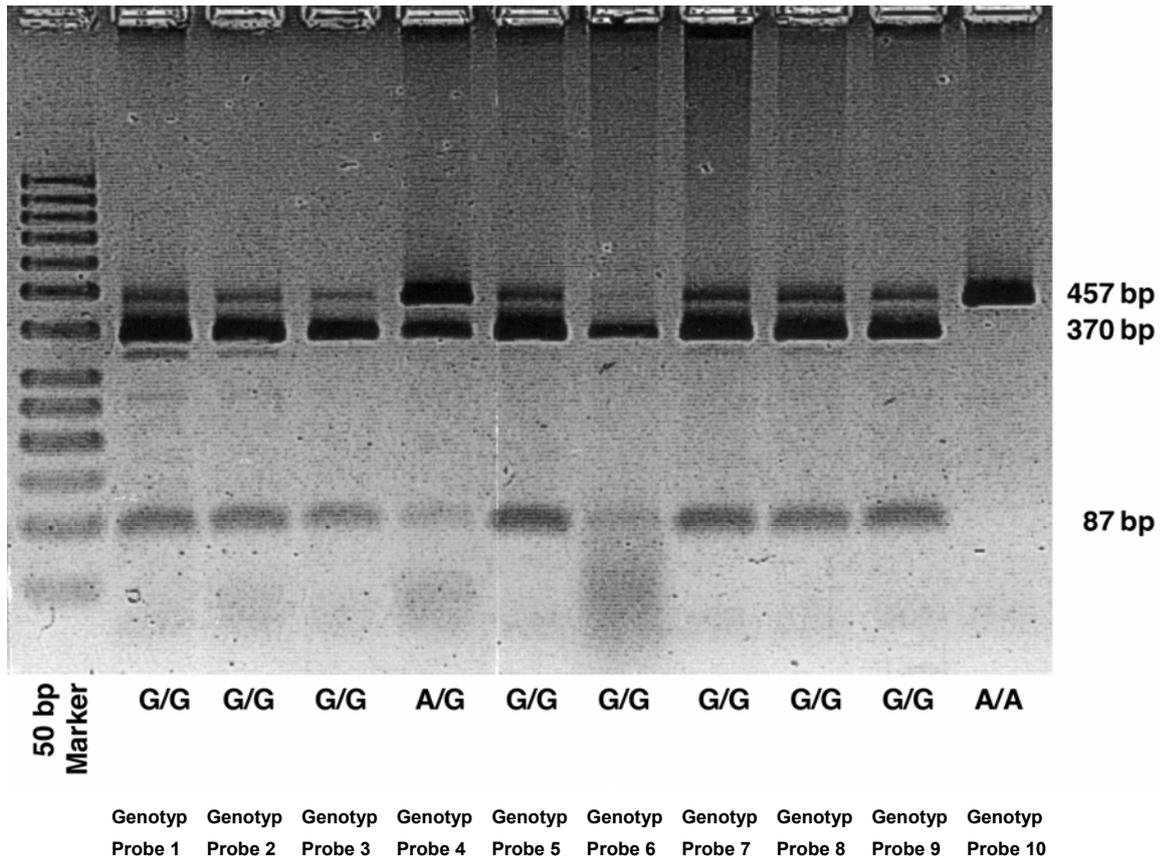


Abb. 12: Agarosegelelektrophorese des Verdaus für den TPH2-SNP (Ausschnitt für zehn DNA-Proben).

### 2.3 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem computerisierten *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, Version 12.0). Die Genotypverteilungen und Präsenz des Hardy-Weinberg-Equilibriums wurden mit dem  $\chi^2$ -Test (<http://krunch.med.yale.edu/hwsim>) überprüft, wobei unter Anwendung dieses Programms bei Häufigkeiten  $<5$  automatisch auch die *Point Probability* nach dem Monte Carlo Permutation Test angegeben wurde. Statistische Tests, bezogen auf Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen, wurden für metrische Daten mit univariaten Varianzanalysen, für kategoriale Daten mit  $\chi^2$ -Tests überprüft. Zwar wird für kleine Stichproben, bei denen zudem häufiger Zellen mit  $n=0$  beobachtet werden, konventionell der exakte Test nach Fisher empfohlen; jedoch fanden D'Agostino, Chase et al. (1988), dass die Anwendung dieses Testverfahrens nicht angemessen ist, da die Prüfung extrem konservativ erfolgt. Sie konnten zeigen, dass auch für kleine Stichproben der unkorrigierte  $\chi^2$ -Test gegen Verletzungen robust ist, und empfahlen, dieses Prüfverfahren

auch weiterhin anzuwenden. Um generelle Effekte der Genotypen auf die Remission festzustellen, wurde für jeden einzelnen Genotyp zunächst eine Kaplan-Meier-Überlebensanalyse berechnet. Nur für die Genotypen, für die hier ein statistisch signifikantes Ergebnis gefunden wurde, wurde eine Cox-Regressionsüberlebensanalyse (Einschluss-Methode) angeschlossen. Die Kaplan-Meier-Überlebenskurven ermöglichen die Beurteilung von Ereignissen im zeitlichen Verlauf. Im vorliegenden Fall interessierte es, ob ein Patient zwischen Beginn und Ende der Lithiumaugmentation remittierte. Das Ende der Lithiumaugmentation wurde diesbezüglich definiert durch das Eintreten einer Remission, den Wechsel der Therapiestrategie, die Entlassung oder Rücknahme des Einverständnisses zur Teilnahme an der Studie vor Erreichen einer Remission. Der Vorteil dieses Analyseverfahrens liegt darin, dass auch so genannte zensierte Fälle mit in die Analyse einbezogen werden können, also Fälle, für die nicht bestimmt werden kann, ob eine Remission im Verlauf vorliegt, da z. B. ein Therapiestrategiewechsel vorgenommen oder der Patient entlassen wurde bzw. nicht weiter an der Studie teilnehmen wollte. Die statistische Prozedur der Kaplan-Meier-Überlebenskurven stellt also ein Verfahren dar, das bei Präsenz zensierter Fälle eingesetzt werden kann. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit beschrieb dabei die Überlebenszeit die Zeit, in der es bislang nicht zur Remission kam. Die Cox-Regressionsüberlebensanalyse ermöglicht es darüber hinaus, bedeutsame Kovariaten, die ebenfalls einen Einfluss auf das Eintreten einer Remission nehmen könnten, in die Berechnungen mit einzubeziehen. Die Anwendung einer Cox-Regressionsüberlebensanalyse erübrigt sich, wenn die Kaplan-Meier-Kurven kein statistisch bedeutsames Ergebnis für die interessierende Hauptvariable (im vorliegenden Fall für den jeweiligen Genotyp) ergeben. Eine wichtige statistische Größe bei Überlebensanalysen ist die so genannte Hazard Ratio (HR). Dies ist eine zur Odd Ratio korrespondierende Größe, wobei  $p$  die Wahrscheinlichkeit dafür angibt, dass ein bestimmtes Ereignis in einem Zeitraum eintritt (Guggenmoos-Holzmann & Wernecke, 1995). Einzuschließende, möglicherweise ebenfalls auf die Remission Einfluss nehmende Variablen waren im Rahmen der vorliegenden Arbeit neben dem Genotyp auch noch Geschlecht, Alter, Schweregrad der Depression (leicht, mittel, schwer, wahnhaft), Polarität der Depression (uni- versus bipolar), Vorhandensein einer Persönlichkeitsstörung, Gebrauch antipsychotischer Medikation während Lithiumaugmentation sowie Dauer der Vorbehandlung vor Beginn der Lithiumaugmentation. Das  $\alpha$ -Signifikanzniveau, also die Wahrscheinlichkeit, mit der das gefundene empirische Ergebnis (bzw. Ergebnisse, die noch extremer als das gefundene sind) auftreten kann,

wenn die Populationsverhältnisse der Nullhypothese ( $H_0$ ) entsprechen, wurde den Konventionen folgend bei  $\alpha=5\%$  (signifikant) und  $\alpha=1\%$  (hoch signifikant) festgelegt. Bei signifikantem oder hoch signifikantem Ergebnis wurde  $H_0$  verworfen und  $H_1$  akzeptiert, andernfalls wurde die Nullhypothese beibehalten und die Alternativhypothese verworfen (Bortz & Bongers, 1984). Da es sich hinsichtlich der Haupthypothese um insgesamt vier Genotypen handelte, sollte bei entsprechenden signifikanten Testergebnissen die  $\alpha$ -Adjustierung nach Bonferroni zur Anwendung kommen. Diese ist zwar, da sie von vollständiger Unabhängigkeit der Variablen ausgeht, recht konservativ, wertet jedoch ein Ergebnis bei auch nach Adjustierung noch bestehender Signifikanz auf ( $\alpha_{\text{kor1}}=\alpha/\text{Anzahl der SNP}$ ; dementsprechend ergeben sich  $\alpha_{\text{kor1}}=0,05/4=0,0125$  (signifikant) bzw.  $\alpha_{\text{kor2}}=0,01/4=0,0025$  (hoch signifikant) (Hays, 1994)).

### 3 Ergebnisse

Sofern es sich nicht um statistisch bedeutsame Kenngrößen handelte, wurden zur besseren Lesbarkeit der Ergebnisdarstellung alle Zahlen auf eine Stelle hinter dem Komma gerundet.

#### 3.1 Stichprobenbeschreibung

Insgesamt konnten 83 kaukasische Patienten (36 Männer, 47 Frauen) mit einer depressiven Episode in die Berechnungen eingeschlossen werden. Tab. 16 gibt einen Überblick über Art der Diagnosen, Geschlechtsverteilung, Polarität der Depression, Vorliegen wahnhafter Symptome, Schweregrad der Depression, Nebendiagnose einer Persönlichkeitsstörung sowie Verabreichung von Neuroleptika während des Augmentationszeitraumes.

Weitere wichtige Stichprobencharakteristika sind in Tab. 17 aufgeführt. Aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit wurden Tabellenfelder mit signifikanten Ergebnissen ( $p < ,05$ ) unterlegt. Nicht für alle Patienten konnte jeder der vier hier zu analysierenden SNP untersucht werden, was vermutlich an der Qualität der DNA der Patienten aus dem GAP2 lag. Von einigen sehr früh eingeschlossenen Patienten stand nur noch wenig DNA und kein EDTA-Blut mehr zur Verfügung. Einige Patienten konnten zur nachträglichen Blutentnahme nochmals einbestellt werden, während dies bei zwei Patienten nicht mehr möglich war. Die Anzahl der Genotypbestimmungen variierte daher von  $n=83$  (GNB3) über  $n=82$  (TPH2) bis  $n=81$  (INPP1 und GSK3B). Die jeweiligen Werte sind in den entsprechenden Subkapiteln nochmals angegeben.

Tab. 16: Verteilung von Diagnose, Geschlecht, Polarität, wahnhafter Depression, Schweregrad, Nebendiagnose einer Persönlichkeitsstörung sowie Neuroleptikagabe.

	<b>Häufigkeit</b>	<b>Prozent</b>
<b>Diagnose</b>		
Depressive Episode (F32)	29	34,9
Rezidivierende Depressive Störung (F33)	43	51,8
Bipolare affektive Störung, derzeit depressive Episode (F31.3-5/31.8)	11	13,3
<b>Geschlecht</b>		
männlich	36	43,4
weiblich	47	56,6
<b>Polarität</b>		
unipolar	72	86,7
bipolar	11	13,3
<b>Wahnhafte Depression</b>		
ja	9	10,8
nein	74	89,2
<b>Schweregrad der Depression</b>		
leicht	5	6
mittel	23	27,7
schwer	46	55,4
wahnhaft	9	10,8
<b>Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose</b>		
ja	9	10,8
nein	74	89,2
<b>Neuroleptikagabe</b>		
ja	23	27,7
nein	60	72,3

Tab. 17: Weitere Stichprobencharakteristika.

	<b>N</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>
<b>Alter</b>	83	19	74	46,4	12,4
<b>Erstmani- festationsalter</b>	66	16	68	36,5	11,9
<b>Antidepressive Vorbehandlungs- dauer in der Index- episode (Tage)</b>	83	0	104	35,8	16,7
<b>Dauer der Index- episode (Tage)</b>	79	14	1750	192,8	244,8
<b>Anzahl bisheriger depressiver Episoden</b>	75	1	10	2,7	2,2
<b>Alter bei Erst- manifestation</b>	66	16	68	36,5	11,9
<b>Anzahl psychiatri- scher Neben- diagnosen</b>	82	0	2	0,4	0,6
<b>BRMS-Score vor Lithiumaugmen- tation (Baseline)</b>	50	6	26	15,3	4,6
<b>BRMS-Score nach 28 Tagen Lithium- augmentation</b>	43	1	25	9,1	4,9
<b>HAMD-Score vor Lithiumaugmen- tation (Baseline)</b>	33	10	33	20,3	5,5
<b>HAMD-Score nach 28 Tagen Lithium- augmentation</b>	23	1	27	15,3	7,3

Aufgrund zensierter Ereignisse (vorzeitige Entlassung, Therapiestrategiewechsel, Rücknahme des Einverständnisses) sind bei Variablen wie dem BRMS-/HAMD-Score nach 28 Tagen nicht mehr alle ursprünglich eingeschlossenen Patienten erfasst, so dass hier die Stichprobengröße von der Ursprungsgröße abweicht. Auch bezüglich der anderen Variablen liegen nicht immer für jeden Patienten alle Angaben vollständig vor, weshalb diese im Rahmen der statistischen Analysen als *missing data* kodiert wurden. Alle lithiumaugmentierten Patienten sind vor Beginn der Augmentationsbehandlung mit einer Antidepressiva-Monotherapie behandelt worden. Diesbezüglich kamen insgesamt 13 verschiedene Antidepressiva zur Anwendung. Diese sind in ihrer Verteilung in Tab. 18 dargestellt.

Tab. 18: Antidepressivum vor Beginn der Lithiumaugmentation.

<b>Substanzgruppe</b>	<b>Name</b>	<b>Häufigkeit</b>	<b>Prozent</b>
SSNRI	Venlafaxin	32	gesamt 38,6
Tri-/Tetrazyklische Antidepressiva	Amitriptylin	13	15,7
	Clomipramin	1	1,2
	Doxepin	1	1,2
	Maprotilin	1	1,2
	Nortriptylin	3	3,6
	Trazodon	1	1,2
	Trimipramin	3	3,6
			gesamt 27,7
SSRI	Paroxetin	5	18,1
	Sertralin	2	2,4
			gesamt 20,5
SNRI	Reboxetin	4	gesamt 4,8
NaSSA	Mirtazapin	3	gesamt 3,6
Sonstige/keine Angabe		4	gesamt 4,8

Bei 11 von 83 Patienten (13,3%) wurde das Antidepressivum vor Beginn der Lithiumaugmentation einmal gewechselt. 70 Patienten (84,3%) erhielten lediglich ein einziges Antidepressivum, bis bei ihnen mit der Lithiumaugmentation begonnen wurde. Bei zwei Patienten (2,4%) konnten hierzu keine Angaben gemacht werden.

Mit Beginn des Beobachtungszeitraums wurde der bereits bestehenden Gabe eines Antidepressivums Lithium hinzugefügt. Diesbezüglich bekamen 75 Patienten (90,4%) ein Antidepressivum sowie Lithium verabreicht, während acht Patienten (9,6%) im Verlauf der Augmentationsbehandlung zwei Antidepressiva zeitgleich zur Lithiumaugmentation erhielten. Tab. 19 zeigt die zu Beginn der Lithiumaugmentation verabreichten Antidepressiva.

Tab. 19: Zu Beginn der Lithiumaugmentation verabreichte Antidepressiva.

<b>Substanzgruppe</b>	<b>Name</b>	<b>Häufigkeit</b>	<b>Prozent</b>
SSNRI (41%)	Venlafaxin	34	41,0
Tri-/Tetrazyklische Antidepressiva (24,1%)	Amitriptylin	13	15,7
	Nortriptylin	3	3,6
	Clomipramin	1	1,2
	Imipramin	1	1,2
	Trimipramin	1	1,2
	Trazodon	1	1,2
SSRI (20,5%)	Paroxetin	14	16,9
SNRI (2,4%)	Fluoxetin	1	1,2
	Sertralin	2	2,4
	Reboxetin	2	2,4
NaSSA (7,2%)	Mirtazapin	6	7,2
MAO-Hemmer (1,2%)	Tranlylcypromin	1	1,2
Kombination (2,4%)		2	2,4
Sonstige/keine Angabe (4,8%)		1	1,2

### 3.2 Effektivität der Lithiumaugmentation

Insgesamt erreichten 45 Patienten (54,2%) im Rahmen der Lithiumaugmentationstherapie eine Remission (BRMS < 10 bzw. HAMD < 8). Der Anteil der Patienten, die nach 4 Wochen remittiert waren, lag bei 44,6% (n=37).

Da zur Beurteilung des Schweregrades der Depression mit der BRMS bzw. der HAMD zwei unterschiedliche Ratingverfahren zur Anwendung gekommen waren, wurde im Rahmen der statistischen Auswertung geprüft, inwieweit die beiden Skalen möglicherweise mit einer besseren oder schlechteren Remissionsrate verknüpft waren. Hierzu

wurde ein  $\chi^2$ -Test gerechnet ( $\chi^2=0,002$ ,  $p=0,961$ ; s. Tab. 20). Die Anwendung zweier verschiedener Ratingskalen zur Verlaufsbeurteilung schien sich also nicht im Sinne unterschiedlicher Remissionshäufigkeiten bei den jeweiligen Patienten niederzuschlagen, weshalb eine gemeinsame Auswertung des gesamten Patientenkollektivs berechtigt erschien.

Tab. 20: Häufigkeiten,  $\chi^2$  und p bezogen auf die Remissionsrate in Abhängigkeit von der jeweiligen Ratingskala.

	Ratingskala		total	Statistik
	BRMS	HAMD		
<b>Remission nach Ende der Lithiumaugmentation</b>				
ja	27	18	45	$\chi^2=0,002$ $p=0,961$
nein	23	15	38	
<b>total</b>	50	33	83	

Des Weiteren warf die gemeinsame Untersuchung uni- und bipolarer Patienten die Frage auf, ob dieses Vorgehen zu Ungunsten einer homogenen Stichprobe zulässig ist. Auch hier wurde ein  $\chi^2$ -Test durchgeführt, um zu überprüfen, ob sich die Remissionszeiten abhängig von der Polarität per se unterscheiden. Das Ergebnis dieser Analyse war nicht signifikant ( $\chi^2=0,453$ ,  $p=0,501$ ; s. Tab. 21).

Tab. 21: Häufigkeiten,  $\chi^2$  und p bezogen auf die Remissionsrate in Abhängigkeit von der Polarität.

	Polarität		total	Statistik
	unipolar	bipolar		
<b>Remission nach Ende der Lithiumaugmentation</b>				
ja	38	7	45	$\chi^2=0,453$ $p=0,501$
nein	34	4	38	
<b>total</b>	72	11	83	

Vor diesem Hintergrund erschien die gemeinsame Auswertung uni- und bipolarer Patienten zulässig.

### 3.3 Statistische Auswertung der vier SNP

Im Folgenden soll die statistische Analyse für die vier SNP dargestellt werden. Diese bezieht sich zum einen auf die Analyse einzelner Stichprobenmerkmale und zum anderen auf die Berechnung der Kaplan-Meier-Überlebenskurven und ggf. der Cox-Regressionsüberlebensanalysen.

#### 3.3.1 GNB3

Die Verteilung der Genotypen und der Remissionsraten für den untersuchten Polymorphismus ist der Tab. 22 zu entnehmen.

Tab. 22: Verteilung der Genotypen und der Remissionsraten (GNB3).

<b>Genotyp</b>	<b>Häufigkeit (Prozent)</b>	<b>Zeit (Median) bis zur Remission in Tagen</b>	<b>Remissionsrate unter Lithiumaugmentation (Prozent)</b>	<b>Remissionsrate nach vier Wochen Lithium- augmentation (Prozent)</b>
<b>C/C</b>	37 (44,6)	30	20/37 (54,1)	16/35 (45,7)
<b>C/T</b>	39 (47)	40	20/39 (51,3)	16/37 (43,2)
<b>T/T</b>	7 (8,4)	28	5/7 (71,4)	5/7 (71,4)
<b>total</b>	83 (100)			

Die Allelfrequenzen lagen bei 0,68 (C-Allel) und 0,32 (T-Allel). Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium waren nicht signifikant ( $\chi^2=0,5443$ ;  $p>0,05$ ). Das Durchschnittsalter betrug 47 Jahre (SD=12,4). Die univariate Varianzanalyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Genotypen bezogen auf die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung (s. Tab. 23).

Tab. 23: Verteilung, F und p für *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung bezogen auf die drei Genotypen (GNB3).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	C/C	C/T	T/T		
<b>Alter (Jahre) ± SD</b>	47 ±12,5	45,4 ±12,7	48,6 ±11,3	47 ±12,4	F=0,272 p=0,763
<b>Erstmanifestationsalter</b>	35,3 ±11,9	37,7 ±12,5	36,4 ±8,5	36,5 ±11,9	F=0,284 p=0,754
<b>Vorbehandlungsdauer (Tage) ± SD</b>	35 ±20,2	36,6 ±13,7	35,4 ±11,3	35,8 ±16,7	F=0,089 p=0,915
<b>Dauer der Indexepisode (Tage) ± SD</b>	190,8 ±19,7	204 ±300,5	141,6 ±111,3	192,8 ±244,8	F=0,190 p=0,826
<b>Anzahl depressiver Episoden insgesamt ± SD</b>	2,6 ±1,6	2,1 ±2,7	1,9 ±0,9	2,7 ±2,2	F=0,863 p=0,426
<b>BRMS-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	15,9 ±5,3 (18)	15,1 ±4,4 (28)	14,5 ±3,7 (4)	15,3 ±4,6 (50)	F=0,235 p=0,792
<b>BRMS-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	10,5 ±5,3 (14)	8,8 ±4,5 (26)	6 ±5,6 (3)	9,1 ±4,9 (43)	F=1,251 p=0,297
<b>HAMD-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	21,6 ±5,7 (19)	19,2 ±5,4 (11)	16,7 ±3,1 (3)	20,3 ±5,5 (33)	F=1,424 p=0,257
<b>HAMD-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	13,7 ±7,7 (14)	18,7 ±5,5 (7)	14 ±9,9 (2)	15,3 ±7,3 (23)	F=1,148 p=0,337

Bezogen auf die Variablen *Wahnhafte Depression* und *Schweregrad* ergaben die entsprechenden  $\chi^2$ -Tests einen signifikanten Unterschied bezogen auf die drei Genotypen, für alle anderen Variablen war die statistische Analyse nicht signifikant (s. Tab. 24).

Tab. 24: Verteilung,  $\chi^2$ -Wert und p für *Geschlecht, Polarität, Wahnhafte Depression, Schweregrad, Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* bezogen auf die drei Genotypen (GNB3).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	C/C	C/T	T/T		
<b>Geschlecht</b>					
männlich	14	18	4	36	$\chi^2=1,125$ p=0,570
weiblich	23	21	3	47	
total	37	39	7	83	
<b>Polarität</b>					
unipolar	30	35	7	72	$\chi^2=2,407$ p=0,300
bipolar	7	4	0	11	
total	37	39	7	83	
<b>Wahnhafte Depression</b>					
ja	6	1	2	9	$\chi^2=6,146$ p=0,046
nein	31	38	5	74	
total	37	39	7	83	
<b>Schweregrad</b>					
leicht	4	1	0	5	$\chi^2=13,908$ p=0,031
mittel	8	11	4	23	
schwer	19	26	1	46	
wahnhaft	6	1	2	9	
total	37	39	7	83	
<b>Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose</b>					
ja	6	3	0	9	$\chi^2=2,357$ p=0,308
nein	31	36	7	74	
total	37	39	7	83	
<b>Neuroleptikagabe</b>					
ja	14	8	1	23	$\chi^2=3,533$ p=0,171
nein	23	31	6	60	
total	37	39	7	83	

Aufgrund der signifikanten Ergebnisse für *Wahnhafte Depression* bzw. *Schweregrad* wurden die Variablen verdichtet (vgl. Zill, Baghai et al., 2000; Prestes, Marques et al., 2007), indem leichte und mittelgradige Depressionen, schwere und wahnhafte Depressionen sowie der C/T- mit dem C/C-Genotyp zu jeweils neuen Variablen zusammengefasst und schließlich erneut getestet wurden. Das Ergebnis war nach diesem Schritt nicht mehr signifikant ( $\chi^2=0,051$ ,  $p=0,822$ ; s. Tab. 25). Auf eine separate Testung der Variable *Wahnhafte Depression* mit zusammengefassten Genotypen wurde verzichtet, da diese in der Variable *Schweregrad* enthalten ist.

Tab. 25:  $\chi^2$  und p für die verdichteten Variablen (GNB3).

Variable	Genotyp		total	Statistik
	C/C+C/T	T/T		
<b>Schweregrad</b>				$\chi^2 = 1,874$
leicht und mittel	24	4	28	$p=0,171$
schwer und wahnhaft	52	3	55	
total	76	7	83	

Anschließend wurden die Kaplan-Meier-Überlebenskurven berechnet, um zu überprüfen, ob es hinsichtlich des Remissionsstatus im Verlauf der Lithiumaugmentationsbehandlung einen Unterschied zwischen den drei Genotypen gab. Dies war nicht der Fall (Log Rank = 0,28,  $p=0,8704$ ), wie auch der Tab. 26 sowie der Abb. 13 zu entnehmen ist.

Tab. 26: Verteilungsparameter sowie Statistik der Überlebenszeit für die einzelnen Genotypen (GNB3).

Genotyp	Überlebenszeit		Standardfehler		Konfidenzintervall		Statistik
	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	
C/C	42	30	5,1	4,2	31,96; 52,11	21,69; 38,31	Log Rank=0,28 $p=0,8704$
C/T	38,1	40	3,8	8,4	30,70; 45,50	23,61; 56,39	
T/T	39,1	28	12,2	7,8	15,33; 62,96	12,77; 43,23	

Der Begriff der Überlebenszeit bezieht sich hierbei auf die Zeit bis zu einer Remission. Als zensierte Ereignisse werden all jene Verläufe bezeichnet, in denen es zwar nicht zu einer Remission kam, jedoch zu einem Ende der Lithiumaugmentationsbehandlung, sei es durch Wechsel der Therapiestrategie, Entlassung aus der Klinik oder Abbruch der Studie auf Wunsch des Patienten.

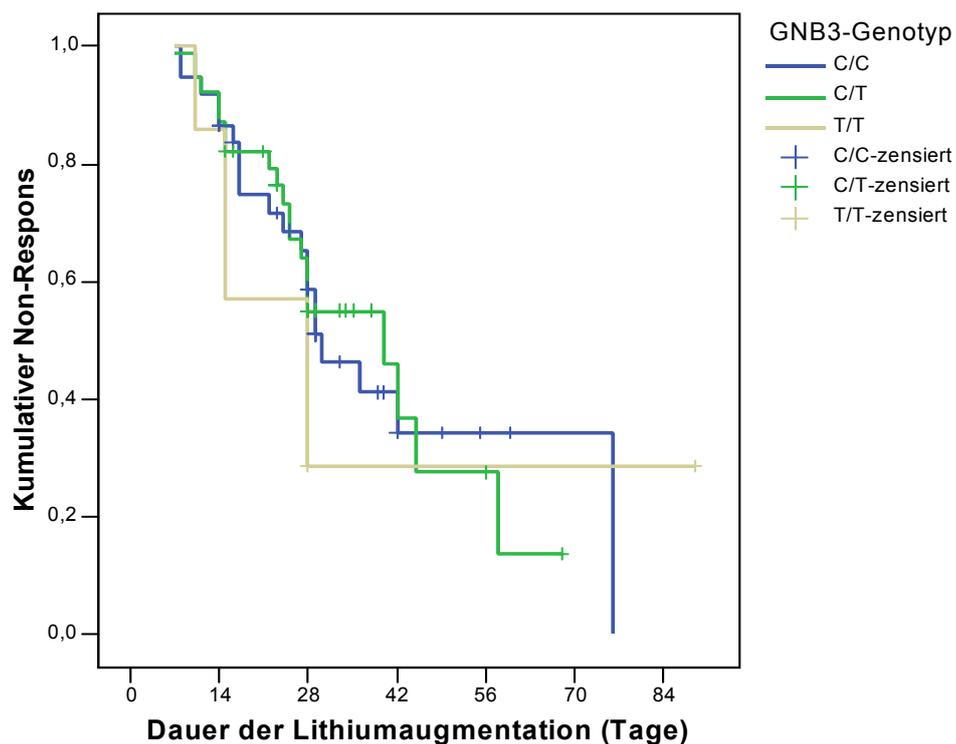


Abb. 13: Kaplan-Meier-Überlebenskurven für die drei GNB3-Genotypen (n=83).

Auf die Berechnung einer Cox-Regressionsüberlebensanalyse wurde aufgrund des nicht signifikanten Ergebnisses der Kaplan-Meier-Überlebenskurven verzichtet, da nicht zu erwarten gewesen wäre, hier ein signifikantes Ergebnis zu finden.

### 3.3.2 GSK3B

Die Verteilung der Genotypen und der Remissionsraten für den untersuchten Polymorphismus ist in Tab. 27 dargestellt. Es konnten bei zwei der insgesamt 83 Patienten keine Genotypisierungen vorgenommen werden, da hier nicht mehr genügend DNA

bzw. EDTA-Blut zur Verfügung stand und der Versuch einer Wiedereinbestellung dieser zwei Personen zur Blutentnahme erfolglos war.

Tab. 27: Verteilung der Genotypen und der Remissionsraten (GSK3B).

<b>Genotyp</b>	<b>Häufigkeit (Prozent)</b>	<b>Zeit (Median) bis zur Remission in Tagen</b>	<b>Remissionsrate unter Lithiumaugmentation (Prozent)</b>	<b>Remissionsrate nach vier Wochen Lithium- augmentation (Prozent)</b>
<b>C/T</b>	39 (47)	28	25/39 (64,1)	21/39 (53,9)
<b>C/C</b>	12 (14,5)	28	6/12 (50)	6/10 (60)
<b>T/T</b>	30 (36,1)	45	13/30 (43)	9/29 (31)
<b>missing</b>	2 (2,4)			
<b>total</b>	83 (100)			

Die Allelfrequenzen lagen bei 0,39 (C-Allel) und 0,61 (T-Allel). Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium waren nicht signifikant ( $\chi^2=0,0137$ ;  $p>0,05$ ). Das Durchschnittsalter betrug 46,5 Jahre (SD=12,4). Die univariate Varianzanalyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Genotypen bezogen auf die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung ( s. Tab. 28).

Tab. 28: Verteilung, F und p für *Alter, Erstmanifestationsalter, Vorbehandlungsdauer, Dauer der Indexepisode, Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung bezogen auf die drei Genotypen (GSK3B).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	C/T	C/C	T/T		
<b>Alter (Jahre) ± SD</b>	46,4 ±11,8	45,2 ±11,7	47,1 ±13,6	46,5 ±12,4	F=0,100 p=0,905
<b>Erstmanifestationsalter</b>	37,2 ±11,7	39,7 ±14,7	34,7 ±11,3	36,6 ±12	F=0,676 p=0,512
<b>Vorbehandlungsdauer (Tage) ± SD</b>	31,9 ±16,6	36,9 ±14	40 ±17,5	35,6 ±16,8	F=2,057 p=0,135
<b>Dauer der Indexepisode (Tage) ± SD</b>	178,4 ±175,6	161,1 ±210,2	215,2 ±328,7	189,1 ±244,6	F=0,268 p=0,765
<b>Anzahl depressiver Episoden insgesamt ± SD</b>	2,9 ±2,4	1,9 ±1	2,7 ±2,2	2,7 ±2,1	F=1,025 p=0,364
<b>BRMS-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	15,2 ±5,6 (25)	14 ±2,4 (9)	16,6 ±3,6 (14)	15,4 ±4,6 (48)	F=0,883 p=0,420
<b>BRMS-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	10 ±6 (22)	6,4 ±2,2 (7)	8,9 ±3,3 (12)	9,1 ±4,9 (41)	F=1,428 p=0,252
<b>HAMD-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	21,4 ±6,1 (14)	15,7 ±5,1 (3)	20,3 ±4,9 (16)	20,3 ±5,5 (33)	F=1,384 p=0,266
<b>HAMD-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	12,8 ±8,6 (10)	19 (1)	17 ±6 (12)	15,3 ±7,3 (23)	F=1,050 p=0,368

Bezogen auf die Variablen *Geschlecht, Polarität, Wahnhafte Depression, Schweregrad, Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* ergaben die entsprechenden  $\chi^2$ -Tests keinen signifikanten Unterschied bezogen auf die drei Genotypen (s. Tab. 29).

Tab. 29: Verteilung,  $\chi^2$ -Wert und p für *Geschlecht, Polarität, Wahnhafte Depression, Schweregrad, Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* bezogen auf die drei Genotypen (GSK3B).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	C/T	C/C	T/T		
<b>Geschlecht</b>					
männlich	15	5	15	35	$\chi^2=0,934$ p=0,627
weiblich	24	7	15	46	
total	39	12	30	81	
<b>Polarität</b>					
unipolar	34	10	26	70	$\chi^2=0,118$ p=0,943
bipolar	5	2	4	11	
total	39	12	30	81	
<b>Wahnhafte Depression</b>					
ja	5	0	4	9	$\chi^2=1,765$ p=0,414
nein	34	12	26	72	
total	39	12	30	81	
<b>Schweregrad</b>					
leicht	2	1	2	5	$\chi^2=2,145$ p=0,906
mittel	10	4	9	23	
schwer	22	7	15	44	
wahnhaft	5	0	4	9	
total	39	12	30	81	
<b>Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose</b>					
ja	4	2	3	9	$\chi^2=0,441$ p=0,802
nein	35	10	27	72	
total	39	12	30	81	
<b>Neuroleptikagabe</b>					
ja	13	1	8	22	$\chi^2=2,905$ p=0,234
nein	26	11	22	59	
total	39	12	30	81	

Die anschließende Berechnung der Kaplan-Meier-Überlebenskurven zur Überprüfung eines möglichen Unterschiedes hinsichtlich des Remissionsstatus im Verlauf der Lithiumaugmentationsbehandlung zwischen den drei Genotypen ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den drei Genotypen (Log Rank = 7,28,  $p=0,0262$ , s. auch Tab. 30 sowie Abb. 14). Nach  $\alpha$ -Adjustierung nach Bonferroni wäre dieses Ergebnis jedoch nicht mehr signifikant gewesen.

Tab. 30: Verteilungsparameter sowie Statistik der Überlebenszeit für die einzelnen Genotypen (GSK3B).

Genotyp	Überlebenszeit		Standardfehler		Konfidenzintervall		Statistik
	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	
C/T	30,9	28	3,1	1,9	24,76; 36,94	24,36; 31,64	Log Rank=7,28 $p=0,0262$
C/C	27,3	28	3,2	2,4	21,06; 33,48	23,39; 32,61	
T/T	52,7	45	6,6	8,9	39,70; 65,69	27,50; 62,50	

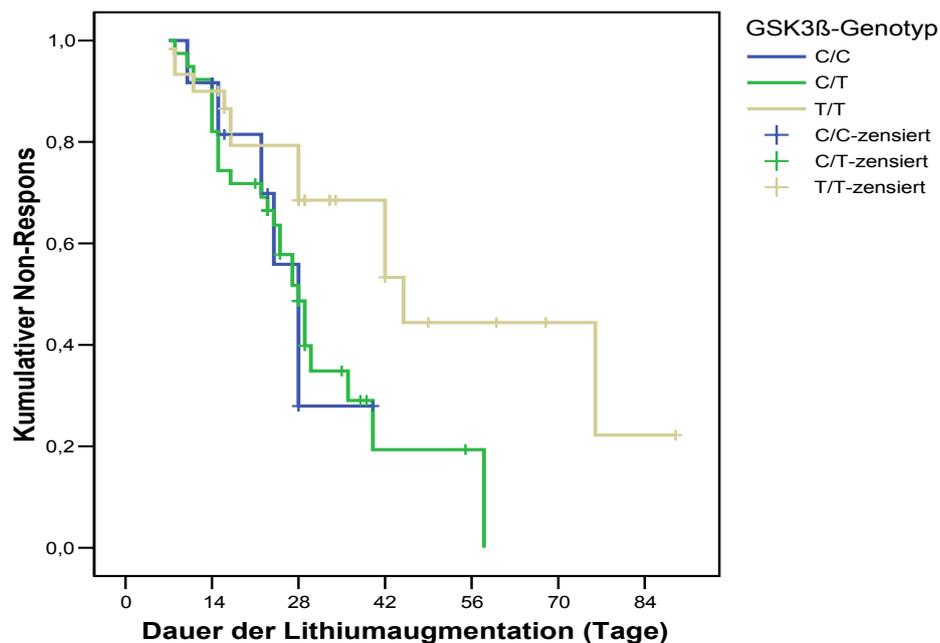


Abb. 14: Kaplan-Meier-Überlebenskurven für die drei GSK3B-Genotypen (n=81).

Da die Werte der zentralen Tendenz für die Genotypen C/C und C/T sehr nahe beieinander lagen und der C/C-Genotyp mit einem n=12 sehr schwach vertreten war, wurden diese beiden Genotypen zu einer neuen Variablen zusammengefasst und gegen den T/T-Genotyp erneut getestet. Das hieraus resultierende Ergebnis war hochsignifikant (Log Rank=7,28,  $p=,007$ ), die für das T-Allel homozygoten Patienten waren den anderen beiden Genotypen hinsichtlich des Erreichens einer Remission deutlich unterlegen (s. auch Tab. 31 sowie Abb. 15). Auch nach Bonferroni-Korrektur war dieses Ergebnis noch immer signifikant.

Tab. 31: Verteilungsparameter sowie Statistik der Überlebenszeit für die Genotypen (GSK3B).

Genotyp	Überlebenszeit		Standardfehler		Konfidenzintervall		Statistik
	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	
C/C+C/T	31,3	28	2,8	1,5	25,82; 36,73	25,05; 30,95	Log Rank=7,28 $p=0,007$
TT	52,7	45	6,6	8,9	39,70; 65,69	27,50; 62,50	

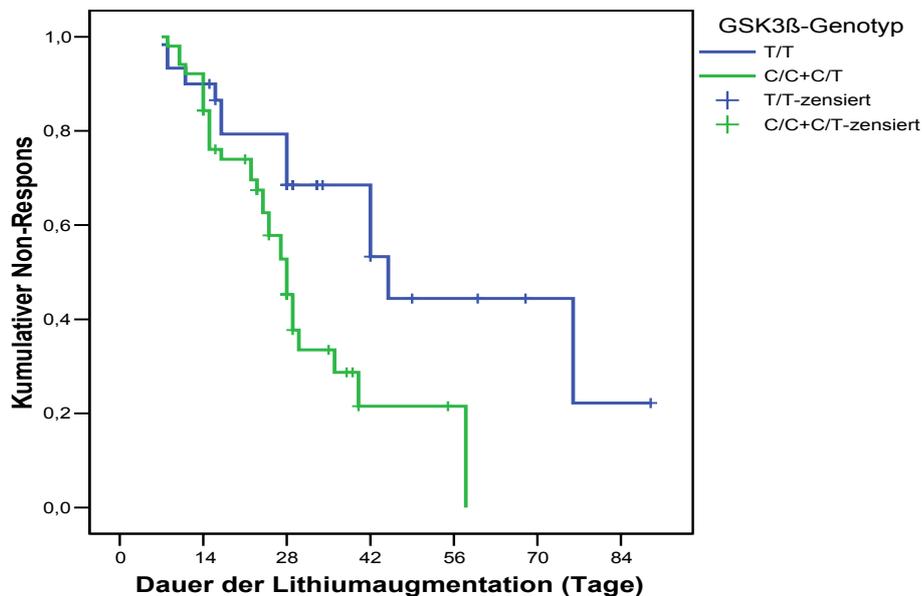


Abb. 15: Kaplan-Meier-Überlebenskurven für die GSK3B-Genotypen (C/C+C/T vs. T/T, n=81).

Im Anschluss an die Kaplan-Meier-Überlebenskurven wurde nun noch eine Cox-Regressionsüberlebensanalyse angeschlossen. Als möglicherweise ebenfalls für das Erreichen einer Remission bedeutsame Variablen wurden neben dem GSK3B-Genotyp noch das Geschlecht, das Alter, der Schweregrad sowie die Polarität der Depression, das zusätzliche Vorliegen einer Persönlichkeitsstörung, die additive Gabe von Neuroleptika und die Dauer der Vorbehandlung bis zum Beginn der Lithiumaugmentation in die Analyse einbezogen. Es ergab sich diesbezüglich lediglich für die GSK3B ein signifikantes Ergebnis (Wald=7,594,  $p=0,022$ ). Dabei wies der C/T-Genotyp im Verhältnis zum T/T-Genotyp eine 2,9fach höhere Wahrscheinlichkeit (Hazard Ratio, HR) für eine Remission auf, die mit  $p=0,006$  hochsignifikant und auch nach Bonferroni-Korrektur noch signifikant war. Demgegenüber war die 2,2fach höhere Wahrscheinlichkeit (HR) für eine Remission bezogen auf den C/C-Genotyp im Verhältnis zum T/T-Genotyp nicht signifikant ( $p=0,160$ ). Eine Übersicht findet sich in Tab. 32 (zum Verlauf der Überlebenskurven s. Abb. 14). Bezüglich aller anderen für das Erreichen einer Remission möglicherweise bedeutsamen Variablen zeigte sich kein signifikantes Ergebnis.

Tab. 32: Ergebnisse der Cox-Regressionsüberlebensanalyse (GSK3B).

Variable	Wald	p	HR	Konfidenzintervall für HR
<b>GSK3B-Genotyp</b>	7,594	0,022	-	-
C/T vs. T/T	7,540	0,006	2,9	1,353; 6,125
C/C vs. T/T	1,972	0,160	2,2	0,737; 6,346
<b>Geschlecht</b>				
männlich vs. weiblich	0,412	0,521	1,2	0,644; 2,383
<b>Alter</b>	0,296	0,586	1	0,981; 1,034
<b>Schweregrad</b>	2,151	0,542	-	-
mittel vs. leicht	1,308	0,253	3,4	0,413; 28,741
schwer vs. leicht	0,561	0,454	2,2	0,270; 18,661
wahnhaft vs. leicht	0,622	0,430	2,7	0,228; 32,115
<b>Polarität</b>				
bipolar vs. unipolar	1,999	0,157	2	0,765; 5,217
<b>Persönlichkeitsstörung</b>				
nein vs. ja	0,105	0,746	1,2	0,326; 4,789
<b>Neuroleptikagabe</b>				
nein vs. ja	0,427	0,514	1,4	0,505; 3,913
<b>Dauer der Behandlung bis zum Beginn der Lithiumaugmentation</b>	2,176	0,140	1	0,994; 1,043

Wie bereits bei den Kaplan-Meier-Überlebenskurven wurden auch hier die GSK3B-Genotypen aufgrund der geringen Häufigkeit des C/C-Genotyps zu zwei neuen Variablen zusammengefasst und im Rahmen einer weiteren Cox-Regressionsüberlebensanalyse gegeneinander getestet (C/C+C/T vs. T/T). Diese ergab mit  $p=0,007$  ( $HR=2,7$ ), verglichen mit dem T/T-Genotyp (s. auch Tab. 33 und Abb. 15), eine hochsignifikant höhere Wahrscheinlichkeit für eine Remission für die C/T- bzw. C/C-Genotypen, die auch nach Bonferroni-Korrektur noch signifikant war. Für alle anderen Variablen ergab sich abermals kein signifikantes Ergebnis. Bezogen auf den Behandlungszeitraum während der ersten vier Wochen remittierten 27 von 48 (56,3%) der Patienten mit dem C/C- oder C/T-Genotyp, während nur neun von 29 (31%) der Patienten eine Remission erreichten, die homozygot für das T-Allel waren.

Tab. 33: Ergebnisse der Cox-Regressionsüberlebensanalyse (GSK3B, C/C+C/T vs. T/T).

Variable	Wald	p	HR	Konfidenzintervall für HR
<b>GSK3B-Genotyp</b> C/C+C/T vs. TT	7,273	0,007	2,7	1,312; 5,556
<b>Geschlecht</b> männlich vs. weiblich	0,384	0,535	1,2	0,641; 2,355
<b>Alter</b>	0,529	0,467	1	0,984; 1,035
<b>Schweregrad</b>	1,996	0,573	-	-
mittel vs. leicht	1,172	0,279	3,2	0,390; 26,265
schwer vs. leicht	0,480	0,489	2,1	0,256; 17,251
wahnhaft vs. leicht	0,557	0,455	2,6	0,217; 30,150
<b>Polarität</b> bipolar vs. unipolar	1,726	0,189	1,9	0,736; 4,736
<b>Persönlichkeitsstörung</b> nein vs. ja	0,136	0,712	1,3	0,341; 4,824
<b>Neuroleptikagabe</b> nein vs. ja	0,308	0,579	1,3	0,488; 3,618
<b>Dauer der Behandlung bis zum Beginn der Li- thiumaugmentation</b>	1,998	0,157	1	0,993; 1,042

Obwohl es bereits im Rahmen der Stichprobenbeschreibung keine Hinweise dafür gab, dass sich die Remissionsraten der Patienten in Abhängigkeit von der Polarität (uni- vs. bipolare Depression) unterscheiden, was auch durch die Cox-Regressionsüberlebensanalysen bestätigt werden konnte, wurden dennoch in einem weiteren explorativen Schritt nur unipolare Patienten in die Berechnungen einbezogen. Die Cox-Regressionsüberlebensanalyse ergab für diese homogenere Stichprobe (n=70) einen für den Genotyp (C/C+C/T vs. T/T) mit p=0,001 hochsignifikanten Befund, der auch nach  $\alpha$ -Adjustierung noch immer hochsignifikant war. So hatten Patienten mit den C/C- bzw. C/T-Genotypen eine 4fach höhere Wahrscheinlichkeit für eine Remission im Behandlungsverlauf als Patienten, die homozygot für das T-Allel waren (s. auch Tab. 34 und Abb. 16). Bezogen auf den Behandlungszeitraum während der ersten vier Wochen remittierten fünf von acht (62,5%) bzw. 19 von 33 (57,6%) der Patienten mit dem C/C-

respektive C/T-Genotyp, während nur sieben von 25 (28%) der Patienten eine Remission erreichten, die homozygot für das T-Allel waren.

Tab. 34: Ergebnisse der Cox-Regressionsüberlebensanalyse für unipolare Patienten (GSK3B, C/C+C/T vs. T/T, n=70).

Variable	Wald	p	HR	Konfidenzintervall für HR
<b>GSK3B-Genotyp</b> C/C+C/T vs. TT	10,139	0,001	4	1,704; 9,391
<b>Geschlecht</b> männlich vs. weiblich	0,497	0,481	1,3	0,635; 2,622
<b>Alter</b>	0,024	0,876	1	0,972; 1,034
<b>Schweregrad</b>	1,833	0,608	-	-
mittel vs. leicht	0,480	0,489	2,3	0,225; 22,794
schwer vs. leicht	0,055	0,814	1,3	0,131; 13,309
wahnhaft vs. leicht	0,140	0,709	1,7	0,100; 29,717
<b>Persönlichkeitsstörung</b> nein vs. ja	0,496	0,481	1,7	0,405; 6,796
<b>Neuroleptikagabe</b> nein vs. ja	0,227	0,634	1,3	0,449; 3,726
<b>Dauer der Behandlung bis zum Beginn der Lithiumaugmentation</b>	1,642	0,200	1	0,991; 1,047

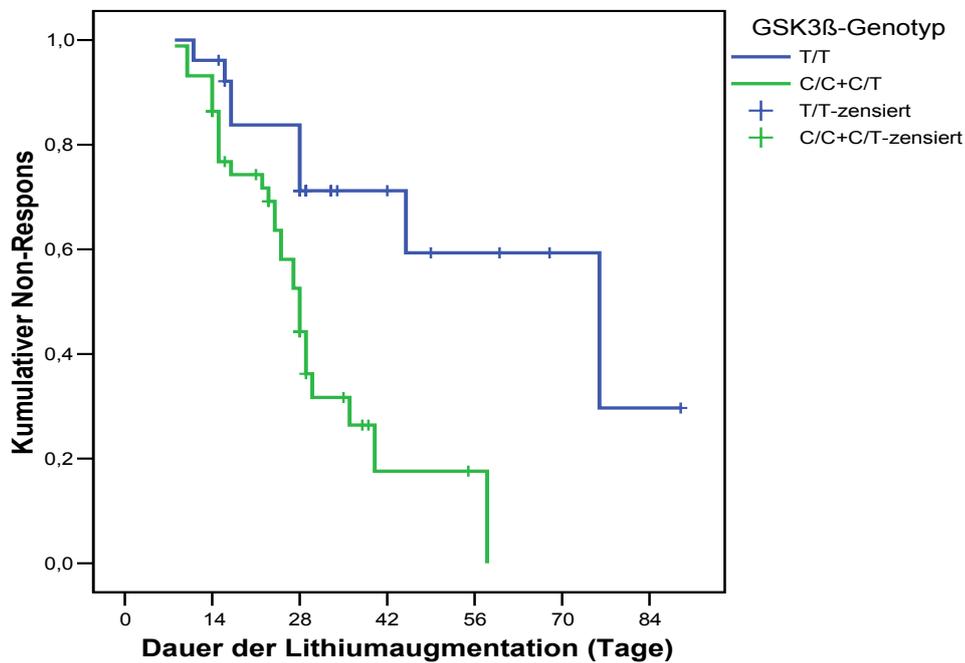


Abb. 16: Überlebenskurven für die GSK3B-Genotypen unipolarer Patienten (n=70, C/C+C/T vs. T/T).

### 3.3.3 INPP1

Die Verteilung der Genotypen und der Remissionsraten für den untersuchten Polymorphismus ist in der Tab. 35 dargestellt. Wie schon für GSK3B konnte für zwei Patienten des Kollektivs keine Genotypisierung vorgenommen werden, so dass insgesamt n=81 Patienten für die Auswertung zur Verfügung standen.

Tab. 35: Verteilung der Genotypen und Remissionszeiten (INPP1).

<b>Genotyp</b>	<b>Häufigkeit (Prozent)</b>	<b>Zeit (Median) bis zur Remission in Tagen</b>	<b>Remissionsrate unter Lithiumaugmentation (Prozent)</b>	<b>Remissionsrate nach vier Wochen Lithiumaugmentation (Prozent)</b>
<b>C/C</b>	54 (65,1)	30	31/54 (57,4)	24/52 (46,2)
<b>A/A</b>	2 (2,4)	8	2/2 (100)	2/2 (100)
<b>C/A</b>	25 (30,1)	42	11/25 (44)	10/23 (43,5)
<b>missing</b>	2 (2,4)			
<b>total</b>	83 (100)			

Die Allelfrequenzen lagen bei 0,82 (C-Allel) und 0,18 (A-Allel). Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium waren nicht signifikant ( $\chi^2=0,2028$ ;  $p>0,05$ ; wegen der Häufigkeit des A/A-Genotyps  $<5$  wurde der Monte Carlo Permutation Test durchgeführt, die Point Probability war hierbei  $p=0,1977$ ). Das Durchschnittsalter betrug 46,5 Jahre (SD=12,4). Die univariate Varianzanalyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Genotypen bezogen auf die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung (s. Tab. 36).

Bezogen auf die Variablen *Geschlecht*, *Polarität*, *Wahnhafte Depression*, *Schweregrad*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* ergaben die entsprechenden  $\chi^2$ -Tests ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse (s. Tab. 37).

Tab. 36: Verteilung, F und p für *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung bezogen auf die drei Genotypen (INPP1).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	C/C	A/A	C/A		
<b>Alter (Jahre) ± SD</b>	45,8 ±12,3	62,5 ±9,2	46,8 ±12,2	46,5 ±12,4	F=1,815 p=0,170
<b>Erstmanifestationsalter</b>	35,6 ±12,4	47 - (n=1)	38,5 ±11,1	36,6 ±12	F=0,752 p=0,476
<b>Vorbehandlungsdauer (Tage) ± SD</b>	33,9 ±16,9	45 ±4,2	38,7 ±16,9	35,6 ±16,6	F=1,023 p=0,364
<b>Dauer der Indexepisode (Tage) ± SD</b>	198,6 ±277,8	220 ±28,3	166,3 ±170,3	189,1 ±244,6	F=0,155 p=0,857
<b>Anzahl depressiver Episoden insgesamt ± SD</b>	2,7 ±2	3 ±1,41	2,7 ±2,5	2,7 ±2,1	F=0,024 p=0,976
<b>BRMS-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	15,7 ±5 (32)	15,5 ±0,7 (2)	14,7 ±4,2 (14)	15,4 ±4,6 (48)	F=0,197 p=0,822
<b>BRMS-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	10 ±5,2 (27)	1 - (1)	7,8 ±3,6 (13)	9,1 ±5 (41)	F=2,429 p=0,102
<b>HAMD-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	19,9 ±4,5 (22)	- - (0)	21,3 ±7,3 (11)	20,3 ±5,5 (33)	F=0,471 p=0,498
<b>HAMD-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	13,5 ±5,9 (16)	- - (0)	19,3 ±9 (7)	15,3 ±7,28 (23)	F=3,411 p=0,079

Tab. 37: Verteilung,  $\chi^2$ -Wert und p für *Geschlecht, Polarität, Wahnhafte Depression, Schweregrad Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* bezogen auf die drei Genotypen (INPP1).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	C/C	A/A	C/A		
<b>Geschlecht</b>					
männlich	20	1	14	35	$\chi^2=2,543$ p=0,280
weiblich	34	1	11	46	
total	54	2	25	81	
<b>Polarität</b>					
unipolar	47	1	22	70	$\chi^2=2,331$ p=0,312
bipolar	7	1	3	11	
total	54	2	25	81	
<b>Wahnhafte Depression</b>					
ja	5	1	3	9	$\chi^2=3,270$ p=0,195
nein	49	1	22	72	
total	54	2	25	81	
<b>Schweregrad</b>					
leicht	4	0	1	5	$\chi^2=7,633$ p=0,266
mittel	18	1	4	23	
schwer	27	0	17	44	
wahnhaft	5	1	3	9	
total	54	2	25	81	
<b>Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose</b>					
ja	6	0	3	9	$\chi^2=0,270$ p=0,874
nein	48	2	22	72	
total	54	2	25	81	
<b>Neuroleptikagabe</b>					
ja	15	1	6	22	$\chi^2=0,664$ p=0,717
nein	39	1	19	59	
total	54	2	25	81	

Anschließend wurden wieder Kaplan-Meier-Überlebenskurven berechnet, um zu überprüfen, ob es hinsichtlich des Remissionsstatus im Verlauf der Lithiumaugmentationsbehandlung einen Unterschied zwischen den drei Genotypen gab. Dies war nicht der Fall (Log Rank = 3,28,  $p=0,1938$ ; s. auch Tab. 38 sowie Abb. 17).

Tab. 38: Verteilungsparameter sowie Statistik der Überlebenszeit für die einzelnen Genotypen (INPP1).

Genotyp	Überlebenszeit		Standardfehler		Konfidenzintervall		Statistik
	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	
C/C	41	30	4,5	3,7	32,20; 49,87	22,80; 37,20	Log Rank=3,28 $p=0,1938$
A/A	18	8	10	-	0,00; 37,60	-	
C/A	37,6	42	4,7	9,1	28,39; 46,76	24,14; 59,86	

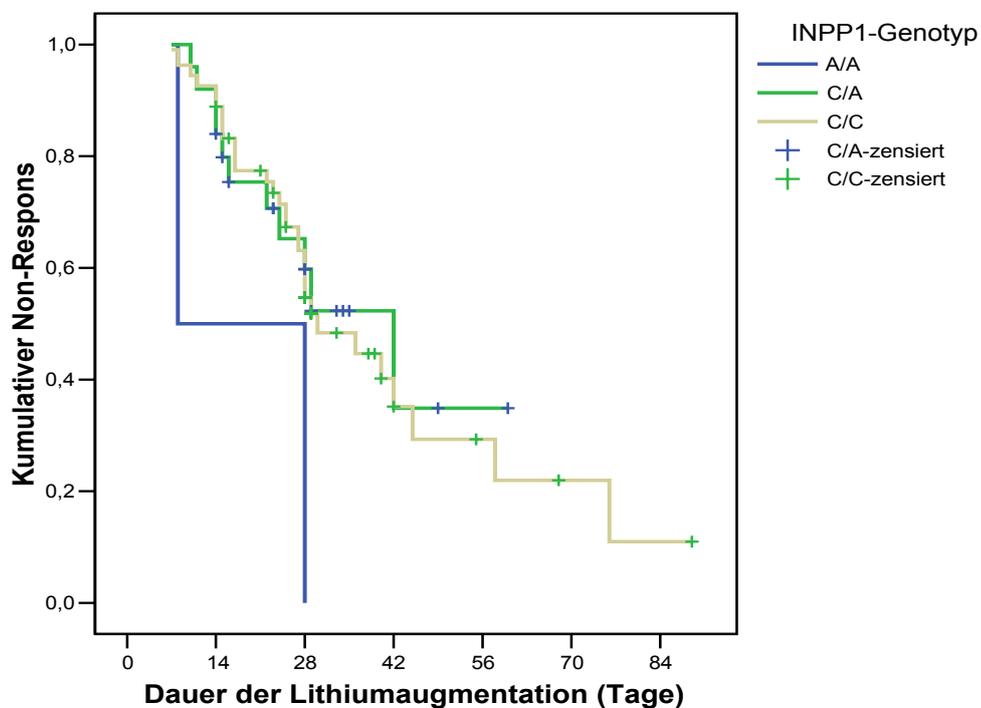


Abb. 17: Kaplan-Meier-Überlebenskurve für die drei INPP1-Genotypen (n=81).

Wie schon aus der Tab. 35 ersichtlich wurde, ist der Genotyp A/A mit n=2 nur sehr schwach vertreten. Auch hier würde es sich daher anbieten, zwei Genotypen zu einer Variablen zusammenzufassen. Dies ist jedoch in diesem Fall nicht sinnvoll, da sich die Remissionszeiten vor allem zwischen A/A und C/C bzw. C/A unterscheiden. Auch wurde auf die Berechnung einer Cox-Regressionsüberlebensanalyse aufgrund des nicht signifikanten Ergebnisses der Kaplan-Meier-Überlebenskurven verzichtet, da ein signifikantes Ergebnis nicht zu erwarten gewesen wäre.

### 3.3.4 TPH2

Die Verteilung der Genotypen und der Remissionsraten für den untersuchten Polymorphismus ist in Tab. 39 zusammengefasst. Wie schon bei GSK3B und INPP1 lag auch für diesen Analyseschritt nicht für jeden Patienten ausreichend DNA bzw. EDTA-Blut vor, so dass bei einem Patienten auf die Genotypbestimmung verzichtet werden musste (n=82).

Tab. 39: Verteilung der Genotypen und Remissionsraten (TPH2).

<b>Genotyp</b>	<b>Häufigkeit (Prozent)</b>	<b>Zeit (Median) bis zur Remission in Tagen</b>	<b>Remissionsrate unter Lithiumaugmentation (Prozent)</b>	<b>Remissionsrate nach vier Wochen Lithiumaugmentation (Prozent)</b>
<b>G/G</b>	59 (71,1)	29	29/59 (49,2)	26/55 (47,3)
<b>A/G</b>	21 (25,3)	30	14/21 (66,7)	10/21 (47,6)
<b>A/A</b>	2 (2,4)	28	2/2 (100)	1/2 (50)
<b>missing</b>	1 (1,2)			
<b>total</b>	82 (100)			

Die Allelfrequenzen lagen bei 0,85 (G-Allel) und 0,15 (A-Allel). Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Equilibrium waren nicht signifikant ( $\chi^2=0,0065$ ;  $p>0,05$ ; wegen der Häufigkeit des A/A-Genotyps <5 wurde der Monte Carlo Permutation Test durchgeführt, die Point Probability war hierbei  $p=0,2729$ ). Das Durchschnittsalter betrug 46,3 Jahre (SD=12,5). Die univariate Varianzanalyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Genotypen bezogen auf die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insge-*

samt sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung ( s. Tab. 40).

Tab. 40: Verteilung, F und p für *Alter, Erstmanifestationsalter, Vorbehandlungsdauer, Dauer der Indexepisode, Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* bei Beginn bzw. nach vier Wochen der Lithiumaugmentationsbehandlung bezogen auf die drei Genotypen (INPP1).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	G/G	A/G	A/A		
<b>Alter (Jahre) ± SD</b>	47 ±13,4	44,1 ±9,5	47,5 ±14,9	46,3 ±12,5	F=0,440 p=0,646
<b>Erstmanifestationsalter</b>	36,3 ±12,45	37,7 ±11,2	29,5 ±6,4	36,5 ±11,9	F=0,435 p=0,649
<b>Vorbehandlungsdauer (Tage) ± SD</b>	37 ±18,7	32,5 ±10,3	30,5 ±3,5	35,7 ±16,7	F=0,663 p=0,518
<b>Dauer der Indexepisode (Tage) ± SD</b>	223,3 ±279,1	121,2 ±121,2	138 ±82	193,6 ±246,3	F=1,369 p=0,261
<b>Anzahl depressiver Episoden insgesamt ± SD</b>	2,7 ±2,1	2,6 ±2,4	3 - (n=1)	2,7 ±2,1	F=0,047 p=0,954
<b>BRMS-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	15 ±4,3 (35)	16 ±5,6 (13)	14 - (1)	15,3 ±4,6 (49)	F=0,239 p=0,789
<b>BRMS-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	8,8 ±4,9 (29)	9,8 ±5 (12)	5 - (1)	9 ±4,9 (42)	F=0,515 p=0,602
<b>HAMD-Score vor Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	20,1 ±5,7 (24)	19,4 ±3,1 (8)	33 - (1)	20,3 ±5,5 (33)	F=3,148 p=0,057
<b>HAMD-Score nach 28 Tagen Lithiumaugmentation ± SD (n)</b>	15,1 ±7,5 (16)	14,2 ±7 (6)	24 - (1)	15,3 ±7,3 (23)	F=0,775 p=0,474

Tab. 41: Verteilung,  $\chi^2$ -Wert und p für *Geschlecht, Polarität, Wahnhafte Depression, Schweregrad, Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* bezogen auf die drei Genotypen (TPH2).

Variable	Genotyp			total	Statistik
	G/G	A/G	A/A		
<b>Geschlecht</b>					
männlich	25	10	1	36	$\chi^2=0,204$ p=0,903
weiblich	34	11	1	47	
total	59	21	2	82	
<b>Polarität</b>					
unipolar	52	17	2	71	$\chi^2=1,006$ p=0,605
bipolar	7	4	0	11	
total	59	21	2	82	
<b>Wahnhafte Depression</b>					
ja	6	3	0	9	$\chi^2=0,521$ p=0,771
nein	53	18	2	73	
total	59	21	2	82	
<b>Schweregrad</b>					
leicht	3	2	0	5	$\chi^2=3,471$ p=0,748
mittel	19	3	1	23	
schwer	31	13	1	45	
wahnhaft	6	3	0	9	
total	59	21	2	82	
<b>Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose</b>					
ja	4	4	1	9	$\chi^2=5,581$ p=0,061
nein	55	17	7	73	
total	59	21	2	82	
<b>Neuroleptikagabe</b>					
ja	15	6	1	22	$\chi^2=0,639$ p=0,727
nein	44	15	1	60	
total	59	21	2	82	

Bezogen auf die Variablen *Geschlecht*, *Polarität*, *Wahnhafte Depression*, *Schweregrad*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und *Neuroleptikagabe* ergaben die entsprechenden  $\chi^2$ -Tests ebenfalls kein signifikantes Ergebnis (s. Tab. 41).

Anschließend wurden abermals die Kaplan-Meier-Überlebenskurven berechnet, um zu überprüfen, ob es hinsichtlich des Remissionsstatus im Verlauf der Lithiumaugmentationsbehandlung einen Unterschied zwischen den drei Genotypen gab. Dies war wieder nicht der Fall (Log Rank = 0,58, p=0,7491; s. auch Tab. 42 sowie Abb. 18).

Tab. 42: Verteilungsparameter sowie Statistik der Überlebenszeit für die einzelnen Genotypen (TPH2).

Genotyp	Überlebenszeit		Standardfehler		Konfidenzintervall		Statistik
	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	Mittelwert	Median	
GG	44,8	29	5,1	5,4	34,82; 54,71	18,47; 39,53	Log Rank=0,58 p=0,7491
AG	36,3	30	4,6	7,8	27,24; 45,38	14,76; 45,24	
AA	32	28	4	-	24,16; 39,84	-	

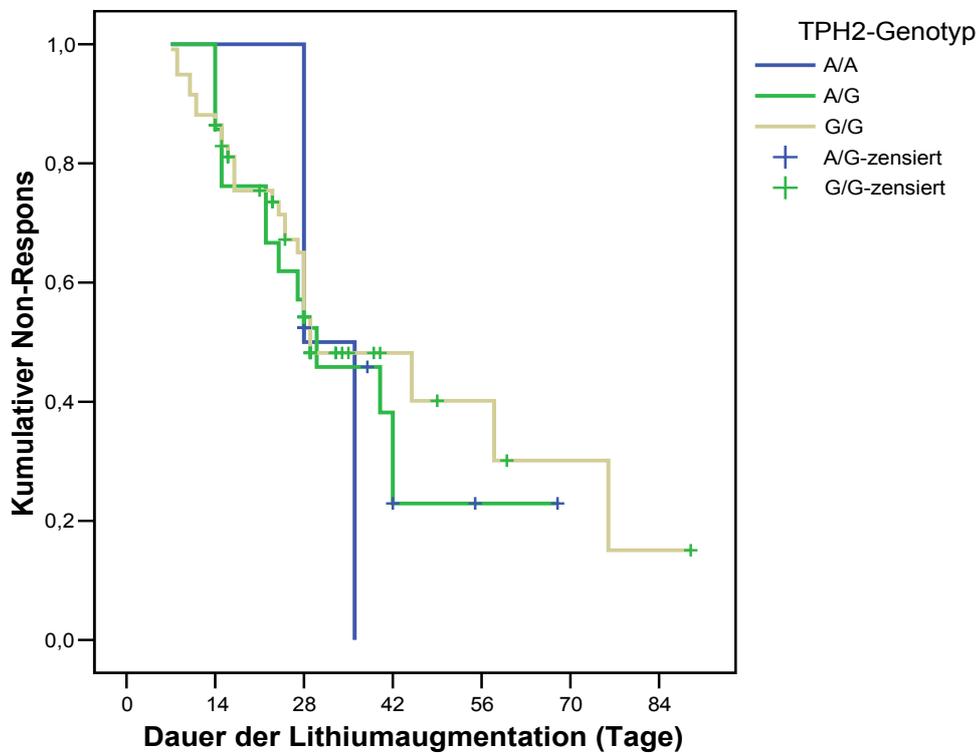


Abb. 18: Kaplan-Meier-Überlebenskurven für die drei TPH2-Genotypen (n=82).

Auch in diesem Fall hätte sich bei einem mit n=2 nur schwach vertretenen Genotyp A/A die Fusion zweier Variablen angeboten. Aufgrund der sehr ähnlichen Überlebenszeiten der Genotypen wurde jedoch darauf verzichtet, da kein bedeutsames Ergebnis zu erwarten gewesen wäre. Ebenso wurde von der Berechnung einer Cox-Regressionsüberlebensanalyse aufgrund des nicht signifikanten Ergebnisses der Kaplan-Meier-Überlebenskurven abgesehen.

## 4 Diskussion

### 4.1 Stichprobe und Studiendesign

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 81 bis 83 uni- oder bipolar depressive Patienten, die auf eine initiale Antidepressiva-Monotherapie nicht angesprochen hatten, hinsichtlich ihres Respons auf Lithiumaugmentation in Abhängigkeit von den Genotypen der GNB3-, GSK3B-, INPP1- und TPH2-SNP untersucht. Diesbezüglich hatten 29 Patienten eine depressive Episode, 43 eine rezidivierende depressive Störung und 11 eine derzeit depressive Störung im Rahmen einer bipolaren affektiven Störung. Da jedoch die vordergründige Diagnose eine therapieresistente Depression war, wurde hier hypothetisch angenommen, dass eine gemeinsame Auswertung uni- und bipolarer Patienten zulässig ist. Der entsprechende  $\chi^2$ -Test, mit dem das Vorliegen einer Remission nach Ende der Lithiumaugmentation in Abhängigkeit von der Polarität der Depression überprüft wurde, bestätigte diese Annahme ( $\chi^2=0,453$ ,  $p=0,501$ ). Folglich kann davon ausgegangen werden, dass das Vorgehen einer gemeinsamen Auswertung zulässig ist. Natürlich ist jedoch zu bedenken, dass, bezogen auf die vier ausgewerteten SNP, die jeweiligen Untergruppen (uni- vs. bipolar) für sich betrachtet eine größere Homogenität aufweisen könnten. Also wäre es eine wichtige Überlegung bei der Planung weiterer psychopharmakogenetischer Studien, aus Gründen der Homogenität nur eine klar umgrenzte Diagnosegruppe in die Berechnungen einzubeziehen.

Ein weiteres Problem besteht in der Anzahl möglicher *hidden bipolars*, also von Patienten, die eine Erstmanifestation einer bipolaren affektiven Störung in Form einer depressiven Episode erleben und daher nicht korrekt als bipolar erkrankt identifiziert werden, sondern als unipolar depressive Patienten (Angst, Gamma et al., 2003). Diesem Problem ist nur bedingt zu begegnen, da es noch keine sicheren prognostischen Kriterien gibt, anhand derer sich die Wahrscheinlichkeit für einen möglichen bipolaren Verlauf abschätzen ließe.

Die Geschlechter waren in der Gesamtstichprobe mit 36 (männlich) und 47 (weiblich) zugunsten der Frauen etwas stärker vertreten. Die unipolare Teilstichprobe setzte sich aus 42 Frauen und 30 Männern zusammen, wohingegen sechs Männer und fünf Frauen die Teilstichprobe der bipolaren Patienten ausmachten. Dies entspricht von der Tendenz her der Studienlage, nach der bipolare Erkrankungen bei Männern und Frauen etwa gleich häufig sind, bei unipolaren depressiven Störungen jedoch Frauen doppelt

so häufig wie Männer betroffen sind (APA, 1994; Shastry, 2005; Ebmeier, Donaghey et al., 2006).

Hinsichtlich des Schweregrades der Depression litten 69 Patienten unter einer mittelgradigen bis schweren Depression, während nur fünf bzw. neun Patienten mit einer leichten bzw. wahnhaften depressiven Störung diagnostiziert worden waren. Sicherlich wäre es wünschenswert, zugunsten der Stichprobenhomogenität auch hier möglichst einheitliche Diagnosegruppen auszuwerten, was im Fall der vorliegenden Arbeit jedoch zu Lasten der Stichprobengröße gegangen wäre. Auch ist in diesem Zusammenhang zu berücksichtigen, dass GAP2 und GAP3 nicht als genetische Studien konzipiert worden sind und für die Interventionsgruppen die Evaluierung algorithmusgestützten Vorgehens bei allen Schweregradgruppen im Mittelpunkt des Interesses stand. Um daher mögliche Häufungen von Inhomogenitäten auf einen bestimmten Genotyp weitestgehend kontrollieren zu können, wurden die Variablen *Alter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt*, *BRMS-/HAMD-Scores* zu Beginn bzw. nach 28 Tagen, *Geschlecht*, *Polarität*, *Wahnhafte Depression*, *Schweregrad*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* und zusätzliche *Neuroleptikagabe* in weitere statistische Berechnungen (Varianzanalysen bzw.  $\chi^2$ -Tests zur Verteilung dieser Variablen auf die jeweiligen Genotypen) miteinbezogen. Auf diese Weise kann davon ausgegangen werden, dass, sollten diese Variablen signifikant ungleich auf die Genotypen verteilt gewesen sein, dies zumindest hätte detektiert werden können. Da dies in der Regel nicht der Fall war, können die beschriebenen Stichprobeninhomogenitäten als tolerabel hingenommen werden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt, der im Rahmen der vorliegenden Arbeit nur schwer kontrolliert werden konnte, stellt die Variabilität der verabreichten antidepressiven Medikamente dar. So stellten SSNRI mit Venlafaxin (38,6%) die am häufigsten verordnete Antidepressiva-Monotherapie dar, gefolgt von tri- oder tetrazyklischen Antidepressiva (27,7%), SSRI (20,5%), SNRI (4,8%), NaSSA (3,6%) und sonstigen Antidepressiva (4,8%). Bezüglich der Antidepressiva zu Beginn der Lithiumaugmentation zeigte sich folgendes Bild: SSNRI (41%), tri- oder tetrazyklische Antidepressiva (24,1%), SSRI (20,5%), NaSSA (7,2%), SNRI oder Kombinationen (jeweils 2,4%), MAO-Hemmer (1,2%), sonstige (1,2). Natürlich wäre es wünschenswert gewesen, diese Variable zu homogenisieren, was jedoch im vorliegenden Fall wieder zu Lasten der Stichprobengröße gegangen wäre. Über die Art der verabreichten Antidepressiva hinaus variierte auch die Anzahl der im Vorfeld verabreichten Antidepressiva. So wurde bei 11 von 83

Patienten (13,3%) das Antidepressivum vor Beginn der Lithiumaugmentation einmal gewechselt. Außerdem erhielten acht von 83 Patienten (9,6%) zwei Antidepressiva gleichzeitig zur Lithiumaugmentation. Dies sind Unterschiede, die zur Stichprobeninhomogenität beigetragen haben. Es wurde jedoch davon ausgegangen, dass diese sich nicht auf den Respons bzw. Non-Respons auf eine Lithiumaugmentation auswirken, da es hierzu keine Hinweise in der Literatur gab.

Ein weiteres Problem stellte mit der Verwendung der BRMS (GAP2) und der HAMD (GAP3) die Anwendung zweier verschiedener Ratingskalen zur Ermittlung des Zielkriteriums (Respons/Non-Respons) dar. Da die Remissionskriterien jedoch anhand klinischer Erfahrungswerte für beide Ratingskalen definiert waren, wurde davon ausgegangen, dass das Remissionskriterium der BRMS dem der HAMD äquivalent anzusehen ist und vice versa. Um jedoch sicher zu gehen, dass die Anwendung der einen oder anderen Ratingskala nicht zur Häufung von Respons oder Non-Respons führt, wurde ein  $\chi^2$ -Test durchgeführt, der keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Ratingskalen und dem Erreichen einer Remission erbrachte ( $\chi^2=0,002$ ,  $p=0,961$ ).

Die Rekrutierung der Patientenstichprobe aus zwei verschiedenen Projekten mag ebenfalls ein Kritikpunkt hinsichtlich der Zusammensetzung der Stichprobe sein. Die Vorgehensweise bezüglich der Lithiumaugmentation war jedoch in beiden Fällen gleich, so dass eine gemeinsame Auswertung von Patienten aus den beiden Teilstichproben gerechtfertigt erschien.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass im Rahmen der vorliegenden Arbeit einige methodische Zugeständnisse hinsichtlich der Zusammensetzung der Stichprobe gemacht werden mussten. Diese wurden jedoch nach Möglichkeit durch statistische Analysen weitestgehend kontrolliert, so dass eine entsprechende Aussagefähigkeit der Ergebnisse erhalten bleibt und die erwähnten Zugeständnisse aus Sicht der Verfasserin tolerabel waren. Ausschließen lassen sich mögliche Einflüsse der einzelnen oben genannten Aspekte natürlich nicht vollständig. Erst durch eine konsequente Homogenisierung der Stichprobe, wie es durch eine prospektive, randomisierte Studie ermöglicht werden würde, könnte diesem Anspruch Genüge getan werden. Dies ist jedoch in der klinischen Praxis nicht immer ohne Weiteres zu realisieren.

## 4.2 GNB3

Bezüglich des GNB3-SNP wurden 37 Patienten (44,6%) mit dem Genotyp C/C, 39 (47%) mit dem Genotyp C/T sowie 7 (8,4%) mit dem Genotyp T/T identifiziert. Dieses Muster entspricht dabei, vor allem in Bezug auf den T/T-Genotyp, eher der bei Zill, Baghai et al. (2000) gefundenen Verteilung bei gesunden Kontrollpersonen (C/C=52%, C/T=41%, T/T=7%), jedoch nicht der bei Patienten mit affektiven Störungen gefundenen Verteilung (C/C=38%, C/T=41%, T/T=21%). Die Stichprobe von Zill, Baghai et al. (2000) erscheint vor allem deshalb als Vergleichsmaßstab gut geeignet, als auch hier 11,4% der Patienten eine bipolare Störung aufwiesen, während 88,6% mit einer Major Depression diagnostiziert wurden, was der in dieser Arbeit untersuchten Verteilung entspricht (86,6% unipolare versus 13,3% bipolare Patienten). Nun stellt sich natürlich die Frage, ob die hier untersuchte Stichprobe depressiver Patienten nicht für Patienten mit affektiven Störungen repräsentativ ist. Dies erscheint zunächst unwahrscheinlich, da es sich um stationär behandelte depressive Patienten handelte, die im Verlaufe ihrer Behandlung in das GAP2 bzw. GAP3 eingeschlossen worden waren. Es ist jedoch denkbar, dass die Tatsache, dass nur lithiumaugmentierte Patienten eingeschlossen wurden, ein gewisses Selektionskriterium darstellte, da es sich somit um therapieresistente Patienten handelte. Da bis dato jedoch keine Studien zum Respons auf Lithiumaugmentation bei (therapieresistenten) depressiven Patienten und entsprechenden Genotypverteilungen vorliegen, ist derzeit kein Vergleich mit der aktuellen Literatur möglich, entsprechende Befunde stehen noch aus.

Bezüglich der Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* zu Beginn (Baseline) und nach 28 Tagen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei GNB3-Genotypen C/C, C/T und T/T. Ebenso wenig gab es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den drei Genotypen bezogen auf die Variablen *Geschlecht*, *Polarität*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* sowie *Neuroleptikagabe*. Dies war insofern eine wichtige Voraussetzung für weitere Berechnungen, als es natürlich denkbar gewesen wäre, dass Unterschiede bezüglich der Remission im Rahmen der Kaplan-Meier- bzw. Cox-Regressionsüberlebensanalysen auf ebendiese unterschiedliche Verteilung auf die drei Genotypen zurückzuführen gewesen wäre. Für folgende zwei Variablen wurden jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Genoty-

pen gefunden: *Wahnhafte Depression* ( $\chi^2=6,146$ ,  $p=0,046$ ) und *Schweregrad* ( $\chi^2=13,908$ ,  $p=0,031$ ). Die Häufigkeiten in den einzelnen Zellen weichen signifikant voneinander ab, was als Nebenbefund ein interessantes Ergebnis darstellt. Um zu überprüfen, ob dieses Ergebnis literaturkonform ist, ob also der T-homozygote Genotyp mit einer schwerwiegenderen Ausprägung der Depression einhergeht, wurden die Variablen verdichtet und erneut getestet. Dieser Schritt war jedoch nicht mehr mit einem signifikanten Ergebnis verbunden ( $\chi^2=1,874$ ,  $p=0,171$ ), was im Widerspruch zu den in der Literatur gefundenen Ergebnissen steht. Diesem folgend würde man für Patienten, die homozygot für das T-Allel sind, eine schwerere Depressionsausprägung erwarten (Zill, Baghai et al., 2000), was jedoch nicht der Fall war. Jedoch muss darauf hingewiesen werden, dass der T/T-Genotyp verglichen mit den C/C- bzw. C/T-Genotypen nicht sehr zahlreich vertreten war. Natürlich stellt sich auch in diesem Zusammenhang wieder die Frage, ob die in die Analysen einbezogene Stichprobe repräsentativ ist, da die gefundenen Häufigkeiten eher mit denen bei gesunden Kontrollpersonen übereinstimmen. Die Möglichkeit, dass die Tatsache einer Lithiumaugmentation als Selektionskriterium fungiert haben könnte, sollte bei der Bewertung der Ergebnisse ebenfalls berücksichtigt werden.

Die eigentlich im Zentrum des Interesses stehenden Überlebensanalysen im Sinne der zunächst durchzuführenden Kaplan-Meier-Überlebensanalysen zeigten keinen unterschiedlichen Respons auf Lithiumaugmentation in Abhängigkeit von den drei Genotypen (Log Rank=0,28,  $p=0,8704$ ). Die drei Genotypen unterschieden sich also hinsichtlich ihrer Remissionsrate nicht. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den bisher in der Literatur berichteten Ergebnissen zum Therapierespons bei Antidepressiva-Behandlung. So fanden sowohl Lee, Cha und Kollegen (2004) als auch Zill, Baghai et al. (2000), dass der T/T-Genotyp (Zill, Baghai et al., 2000) bzw. das T-Allel (Lee, Cha et al., 2004) mit einem besseren Respons auf Antidepressivabehandlung verbunden ist. Dieser Befund konnte für eine Lithiumaugmentationsbehandlung im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden. Mögliche Gründe hierfür könnte das von einer Antidepressiva-Monotherapie verschiedene Prinzip der Lithiumaugmentationsbehandlung sein. Der im Rahmen dieser Arbeit postulierte Unterschied hinsichtlich des Respons auf Lithiumaugmentationsbehandlung konnte theoretisch damit begründet werden, dass die aus der Mutation resultierende Splicevariante *Gβs* mit einer Erhöhung von

Signaltransduktion und Ionentransport verbunden war. Da auch Lithium scheinbar einen Effekt auf die intrazelluläre Signalvermittlung hat (s. auch Kapitel 1.3.2), erschien es naheliegend, dass der untersuchte GNB3-Polymorphismus nicht nur einen Einfluss auf den Erfolg einer antidepressiven Monotherapie, sondern auch einer Lithiumaugmentationsbehandlung hat. Hinsichtlich des hier gefundenen negativen Ergebnisses muss abschließend jedoch nochmals festgehalten werden, dass (1) zum einen das Selektionskriterium einer Lithiumaugmentationsbehandlung zu einer anderen Genotypverteilung geführt haben könnte, (2) die Stichprobe zu klein war, um wirklich klare Aussagen machen zu können und schließlich (3), wie oben bereits angemerkt, eine prospektive Studienplanung mit Homogenisierung der Stichprobencharakteristika sinnvoll wäre, um diese Befunde zu überprüfen.

#### 4.3 GSK3B

Bezüglich des GSK3B-SNP (missing: n=2; 2,4%) wurden 39 Patienten (47%) mit dem Genotyp C/T, 12 (14,5%) mit dem Genotyp C/C sowie 30 (36,1%) mit dem Genotyp T/T identifiziert (s. auch Adli, Hollinde et al., 2007). Dieses Muster entspricht dabei sehr gut der von Nishiguchi, Breen et al. (2006) gefundenen Verteilung bei Patienten mit bipolarer Störung (n=280, C/T=45%, C/C=17%, T/T=37,5%) und 407 gesunden Kontrollpersonen (C/T=51%, C/C=10%, T/T=38%). Auch Benedetti et al. (2005) fanden für ihre Stichprobe mit 88 bipolar erkrankten Patienten eine ähnliche Verteilung (C/T=45,5%, C/C=17%, T/T=37,5%). Vor diesem Hintergrund kann von der Repräsentativität der hier analysierten Stichprobe ausgegangen werden, auch wenn der Stichprobenumfang mit n=81 deutlich kleiner war als bei Nishiguchi, Breen et al. (2006). Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Interpretation der Daten.

Bezogen auf die drei Genotypausprägungen ergab die univariate Varianzanalyse keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Genotypen für die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* zu Beginn (Baseline) bzw. nach 28 Tagen der Lithiumaugmentationsbehandlung. Auch gab es keinen Zusammenhang zwischen den drei Genotypausprägungen bezogen auf die Variablen *Geschlecht*, *Polarität*, *Wahnhafte Depression*, *Schweregrad*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* sowie *Neuroleptikagabe*. Aus diesem Grund kann davon ausgegangen werden, dass diese Merkmale nicht überzufällig häufig bei einem der drei Genotypen ausgeprägt

sind und somit auf diesem Wege einen Einfluss auf das Erreichen einer Remission nehmen könnten. Anders als bei Benedetti, Bernasconi et al. (2004) sowie Benedetti, Serretti et al. (2004), die ein späteres Erkrankungsalter bei bipolaren Patienten sowie höhere Scores auf der HAMD beobachteten, konnte in dieser Arbeit kein unterschiedliches Erstmanifestationsalter oder eine unterschiedliche Ausprägung der Depression in Abhängigkeit vom Genotyp ausgemacht werden. In diesem Zusammenhang ist jedoch festzuhalten, dass für die vorliegenden Analysen ein vorwiegend unipolares Patientenkollektiv herangezogen wurde, was grundsätzlich eine andere Entität darstellt als eine rein bipolare Stichprobe, wie sie bei Benedetti, Bernasconi et al. (2004) sowie Benedetti, Serretti et al. (2004) analysiert wurde. Dies könnte die gefundenen Ergebnisdifferenzen erklären.

Die Kaplan-Meier-Überlebensanalysen ergaben für die drei Genotypen ein mit  $p=0,0262$  signifikantes Ergebnis (Log Rank=7,28), wobei offensichtlich war, dass für das T-Allel homozygote Patienten deutlich später und seltener remittierten als Patienten mit dem C/T- oder dem C/C-Genotyp. Auch wenn es sich bei der hier dargestellten Datenanalyse um explorative Auswertungsschritte handelte, wurde interessehalber für alle signifikanten Ergebnisse eine  $\alpha$ -Adjustierung nach Bonferroni durchgeführt. Auf dieses Ergebnis angewendet war der Unterschied zwischen den Genotypen dann nicht mehr signifikant. Es ist entsprechend zu vermuten, dass die Stichprobe letztlich zu klein war, um ein klares statistisches Ergebnis zu erhalten, wenn auch eine deutliche Tendenz hinsichtlich eines schlechteren Remissionsverhalten der T/T-Genotypen zu erkennen ist, was in Einklang mit der in der Literatur gefundenen Datenlage steht. Folglich lag die Datenaggregation nahe, da der C/C-Genotyp mit  $n=12$  relativ selten war und der Median bis zur Remission (Median=28) mit dem Median des C/T-Genotyps identisch war. Die resultierende Kaplan-Meier-Überlebensanalyse zeigte für diese Situation ein mit  $p=0,007$  hochsignifikantes Ergebnis (Log Rank=7,28), das auch nach  $\alpha$ -Adjustierung noch immer signifikant war, was das gefundene Ergebnis aufwertet.

Es kann also festgehalten werden, dass den Daten Benedettis, Serrettis et al. (2005) entsprechend eine Unterlegenheit des T/T-Genotyps gegenüber den C/C- und C/T-Genotypen gefunden werden konnte, wohingegen Szczepankiewicz, Rybakowski und Kollegen (2006) diese Ergebnisse nicht finden konnten.

Auch wenn ein möglicher Einfluss der Stichprobencharakteristika *Alter, Dauer der Behandlung bis zur Lithiumaugmentation, Geschlecht, Polarität, Schweregrad, Persönlich-*

*keitsstörung als Nebendiagnose und Neuroleptikagabe* bereits im Vorfeld bezüglich ihrer Verteilung auf die Genotypen überprüft worden waren und keine signifikant unterschiedliche Verteilung gefunden werden konnte, wurden zur Kontrolle dieser Befunde Cox-Regressionsüberlebensanalysen gerechnet. Auf diesem Weg sollte überprüft werden, ob bei dieser statistischen Analyse­methode neben dem GSK3B-Genotyp auch andere Variablen als Kovariaten einen Einfluss auf den Respons bei Lithiumaugmentation haben. Für alle drei Genotypen berechnet ergab sich ein signifikantes Ergebnis in der Hinsicht, als der C/T-Genotyp im Verhältnis zum T/T-Genotyp eine 2,9fach höhere Wahrscheinlichkeit für eine Remission aufwies ( $p=0,006$ ). Aus den oben bereits erläuterten Gründen wurde auch hier erneut mit aggregierten Daten analysiert, indem die C/T- und C/C-Genotypen zu einer gemeinsamen Variablen zusammengefasst wurden. Das Ergebnis für diesen Analyseschritt war hochsignifikant ( $p=0,007$ ; nach Bonferroni-Korrektur noch immer signifikant) in dem Sinne, dass die Genotypen C/C und C/T eine 2,7fach höhere Wahrscheinlichkeit für eine Remission aufwiesen als der T/T-Genotyp. Alle anderen Variablen waren weder im ersten noch im zweiten Analyseschritt von statistischer Bedeutung. Interessant war, dass diese Ergebnisse in einem weiteren explorativen Analyseschritt für ausschließlich unipolar depressive Patienten ( $n=70$ ) noch deutlicher wurden. Die 4fach höhere Wahrscheinlichkeit der C/T- bzw. C/C-Genotypen, eine Remission zu erreichen, war mit  $p=0,001$  sogar nach  $\alpha$ -Adjustierung noch hochsignifikant, was dafür spricht, dass die gemeinsame Auswertung uni- und bipolarer Patienten auf Kosten der Stichprobenhomogenität geht, auch wenn absichernde Analyseschritte im Vorfeld keinen Unterschied in Bezug auf die relevanten Stichprobencharakteristika gezeigt haben.

Diese Ergebnisse zeigen die offensichtliche Bedeutung des GSK3B-Genotyps für das Ansprechen auf eine Lithiumaugmentation bei unipolar und bipolar depressiven Patienten, was im Einklang mit den Daten von Benedetti, Serretti et al. (2005) steht, jedoch den Ergebnissen von Szczepankiewicz, Rybakowski et al. (2006) widerspricht. Die Tatsache, dass der GSK3B-Genotyp einen Einfluss auf die Remissionsraten bei depressiven Patienten haben könnte, wird durch mehrere theoretische Erkenntnisse gestützt. So wird, wie in Kapitel 1.3.2 bereits ausgeführt, eine Inhibition der GSK3B mit neurotrophen und neuroprotektiven Effekten, der Modulation zirkadianer Rhythmen und evtl. auch einem antidepressiven Effekt in Verbindung gebracht (Gould, Quiroz et al., 2004; Yin, Wang et al., 2006). Im Zusammenhang mit Lithiumtherapie konnten mehrere Hinweise

dafür gefunden werden, dass Lithium einen direkten und indirekten inhibitorischen Effekt auf die GSK3B hat (Klein & Melton, 1996; Hong, Chen et al., 1997; Munoz-Montano, Moreno et al., 1997; Gould & Manji, 2002; Jope & Bijur, 2002; Chin, Majzadeh et al., 2005). Neben einem anti-apoptotischen Effekt führt die Inhibition der GSK3B zur Aktivierung von CREB (Chuang & Priller, 2006). Darüber hinaus gibt es Hinweise dafür, dass der -50T/C-SNP funktional ist. So konnten Kwok et al. (2005) zeigen, dass das T-Allel dieses Polymorphismus mit einer vermehrten Transkriptionsaktivität verbunden ist, was wiederum eine vermehrte tau-Phosphorylierung nach sich zieht. Mateo et al. (2006) gelang der Nachweis einer Assoziation des T/T-Genotyps mit Morbus Alzheimer (später Beginn), was den funktionalen Charakter dieses SNP in diesem Zusammenhang ebenfalls betont.

Diese Fakten unterstreichen die mögliche Bedeutsamkeit des -50T/C-SNP für einen möglichen Einfluss auf einen Therapieerfolg einer Lithiumaugmentation. Fazit der hier diskutierten Ergebnisse ist, dass der -50T/C-SNP eine prädiktive Funktion für den Respons auf Lithiumaugmentation bei depressiven Patienten, die nicht auf initiale antidepressive Monotherapie ansprechen, haben könnte. Für das T-Allel homozygote Patienten haben in diesem Sinne eine geringere Wahrscheinlichkeit für eine Remission als Patienten mit dem C/T- oder dem C/C-Genotyp.

Selbstverständlich sind weitere Studien unter Einbeziehung größerer und homogenerer Stichproben im Rahmen eines prospektiven Studiendesigns notwendig, um diese Resultate zu bestätigen. Auch wäre ein wichtiger und interessanter Aspekt, das Responsverhalten in Abhängigkeit vom Genotyp zwischen unipolar und bipolar depressiven Patienten zu vergleichen.

#### 4.4 INPP1

Hinsichtlich des INPP1-Polymorphismus (missing: n=2; 2,4%) wurden 54 Patienten (65,1%) mit dem Genotyp C/C, nur 2 (2,4%) mit dem Genotyp A/A sowie 25 (30,1%) mit dem Genotyp C/A identifiziert. Dieses Verteilungsmuster kommt dabei dem bei Steen, Løvlie et al. (1998; n=23 bipolare Patienten, C/C=65%, A/A=4%, C/A=31%) sehr nahe. Die bei Steen, Løvlie et al. (1998) genotypisierten gesunden Kontrollpersonen (n=20) zeigten eine andere Verteilung: C/C=90%, A/A=5%, C/A=5%. Auch wenn die Stichproben bei Steen, Løvlie et al. (1998) mit n=23 bzw. n=20 relativ klein waren, so stellen sie zumindest einen Anhaltspunkt für die Verteilung bei depressiven und gesunden Men-

schen dar. Gestützt wird dieses Verteilungsmuster durch Daten von Michelon, Meira-Lima et al. (2006), die bei 132 bipolaren Patienten 72,73% mit dem C/C-, 2,27% mit dem A/A- und 25% mit dem C/A-Genotyp fanden. Einschränkend muss hinsichtlich dieser Stichprobe jedoch festgehalten werden, dass es sich um keine rein kaukasische Stichprobe handelte. Prinzipiell kann aber zunächst davon ausgegangen werden, dass die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gefundenen Genotyphäufigkeiten für depressiv erkrankte Patienten repräsentativ sind, so dass weitere statistische Analysen angeschlossen werden konnten. Ein kritischer Aspekt ist jedoch darin zu sehen, dass der A/A-Genotyp mit  $n=2$  nur sehr schwach vertreten ist. Um diesbezüglich überhaupt eine Aussage zur Responsibilität auf Lithiumaugmentation treffen zu können, müsste eine deutlich größere Stichprobe analysiert werden, um größere Zellenhäufigkeiten zu erreichen.

Die univariate Varianzanalyse ergab bezüglich der drei Genotypen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Genotypen bezogen auf die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* zu Beginn (Baseline) bzw. nach 28 Tagen der Lithiumaugmentationsbehandlung. Darüber hinaus wurden keine Zusammenhänge zwischen den drei Genotypausprägungen und den Variablen *Geschlecht*, *Polarität*, *Wahnhafte Depression*, *Schweregrad*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* sowie *Neuroleptikagabe* gefunden. Es kann daher angenommen werden, dass diese Merkmale nicht überzufällig häufig bei einem der drei Genotypen aufgetreten sind und auf diesem Wege einen Einfluss auf das Erreichen einer Remission hätten nehmen können.

Im Rahmen der Kaplan-Meier-Überlebensanalysen konnte kein signifikantes Ergebnis bezüglich der Remissionsrate in Abhängigkeit vom Genotyp detektiert werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Steen, Løvlie und Kollegen (1998; Respons bipolarer Patienten auf Lithiumbehandlung) konnte also kein Hinweis dafür gefunden werden, dass ein bestimmter Genotyp mit einem besseren oder schlechteren Respons in unserem Fall auf Lithiumaugmentationstherapie bei unipolar und bipolar depressiv erkrankten Patienten - verbunden ist (Log Rank=3,28,  $p=0,1938$ ). Eher entsprechen die Befunde den Ergebnissen von Michelon, Meira-Lima et al. (2006), die bei bipolaren Patienten unter Lithiumprophylaxe ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Genotyp und Therapierespons finden konnten. Es muss jedoch kritisch festgehalten werden, dass die vorliegende Arbeit die bislang erste Studie zur Assoziation des INPP1-C973A-SNP mit dem Respons auf Lithiumaugmentation bei depressiven Patienten ist. Ein Zu-

sammenhang ist nach wie vor durchaus denkbar, zumal die *Inositol-Depletionshypothese* besagt, dass die therapeutische Wirkung des Lithiums aus einer Depletion freien Inositols herrühren und Lithium so die Aktivierung anhängiger Signalwege in Neuronen dämpfen könnte (Steen, Løvlie et al., 1998; Gould, Quiroz et al., 2004). Auch konnten Allison und Stewart im Rahmen der Untersuchung von Rattenhirnen schon 1971 zeigen, dass die Konzentration freien Inositols durch Lithium nachweislich gesenkt wird. Weitere prospektiv geplante Studien mit größeren Patientenzahlen stehen noch aus, um die Frage nach einem Zusammenhang zwischen dem INPP1-C973A-Polymorphismus und Respons auf Lithiumaugmentation bei depressiven Patienten befriedigend klären zu können.

#### 4.5 TPH2

Bezüglich des hier untersuchten TPH2-SNP (missing: n=1; 1,2%) wurde bei 59 Patienten (71,1%) der G/G-Genotyp, bei 21 (25,3%) der A/G-Genotyp und bei 2 (2,4%) der A/A-Genotyp gefunden. Die Allelfrequenzen (G-Allel=0,85, A-Allel=0,15) entsprechen dabei nahezu exakt den bei Zill, Baghai et al. (2004) und Zill, Büttner et al. (2004b) gefundenen Häufigkeiten (G-Allel=0,86, A-Allel=0,14) bei Suizidopfern und Patienten mit Major Depression. Gesunde Kontrollpersonen wiesen in derselben Arbeit eine Häufigkeit von 0,79 für das G-Allel auf sowie eine von 0,21 für das A-Allel, was bezogen auf eine häufigere Frequenz des G-Allels bei Suizidopfern und Patienten mit Major Depression einen signifikanten Effekt hatte. Es kann davon ausgegangen werden, dass die in der vorliegenden Arbeit gefundenen TPH2-Genotypen für die Patientengruppe repräsentativ sind.

In Bezug auf die Variablen *Alter*, *Erstmanifestationsalter*, *Vorbehandlungsdauer*, *Dauer der Indexepisode*, *Anzahl depressiver Episoden insgesamt* sowie *BRMS-/HAMD-Score* zu Beginn (Baseline) und nach 28 Tagen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei TPH2-Genotypen G/G, A/G und A/A beobachtet werden. Darüber hinaus gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Genotypen bezogen auf die Variablen *Geschlecht*, *Polarität*, *Wahnhafte Depression*, *Schweregrad*, *Persönlichkeitsstörung als Nebendiagnose* sowie *Neuroleptikagabe*, was eine wichtige Voraussetzung für weitere Berechnungen darstellte.

Die zunächst durchgeführte Kaplan-Meier-Überlebensanalyse zeigte keinen unterschiedlichen Respons auf Lithiumaugmentation in Abhängigkeit von den drei Genotypen (Log Rank=0,58, p=0,7491). Die drei Genotypen unterschieden sich also hinsichtlich ihrer Remissionsraten nicht. Im Gegensatz dazu konnten Serretti, Lilli et al. (1999) bezüglich der Frage, ob der Genotyp mit einer unterschiedlichen Responstrate auf Lithiumprophylaxe verbunden ist, einen signifikant schlechteren Respons eines der drei Genotypen finden. Da es sich aber um einen anderen SNP als den in der vorliegenden Arbeit untersuchten handelte, ist ein Vergleich natürlich nicht möglich. In der vorliegenden Arbeit wurde der A199918G-SNP untersucht, der bei Zill, Büttner et al. (2004b) und Zill, Baghai et al. (2004) eine Häufung des G-Allels sowohl bei Patienten mit Major Depression als auch bei Suizidopfern aufwies. Die fast identischen Häufigkeiten der beiden Allele sprechen für die These von Zill, Baghai et al. (2004) und Zill, Büttner et al. (2004b), dass das G-Allel tatsächlich bei depressiv erkrankten Patienten häufiger vorkommt. Eine Konsequenz für den Respons auf Lithiumaugmentation scheint es jedoch nicht zu geben, folgt man den Befunden der vorliegenden Arbeit. Dabei wären SNP der TPH2 durchaus mögliche Bedingungen für einen unterschiedlichen Therapierespons, da die Tryptophanhydroxylase das *rate-limiting* Enzym in der Serotoninbiosynthese darstellt und so eine wichtige Rolle bei der Regulation der Serotoninfunktion spielt, auf die auch Lithium einen Einfluss zu haben scheint. Für den hier untersuchten SNP liegen keine Vergleichsstudien zum Therapierespons auf antidepressive Monotherapie oder sogar Lithiumaugmentation vor. Sicher sind auch in diesem Zusammenhang größere und prospektive Studien notwendig, um die hier gestellte Frage nach einem unterschiedlichen Respons depressiver Patienten auf Lithiumaugmentation befriedigend klären zu können, zumal auch bei dem hier untersuchten SNP der A/A-Genotyp bei nur zwei Patienten nachgewiesen werden konnte.

#### 4.6 Abschließende Überlegungen und Ausblick

Wenn auch für die vier SNP unterschiedliche Hinweise bezüglich ihrer Bedeutung für den Respons auf Lithiumaugmentation gefunden wurden, unterstreichen die oben angestellten Überlegungen mehrere wichtige methodische Aspekte sehr deutlich:

1. Studienplanung: GAP2 und GAP3 wurden nicht ursächlich als genetische Studien geplant. Dies hatte zur Folge, dass das Patientenkollektiv für die vorliegende Arbeit nicht die Homogenität aufwies, wie dies für genetische Fragestellungen wün-

schenswert gewesen wäre. Auch erfolgte die Studienplanung nicht prospektiv. Auf der anderen Seite soll an dieser Stelle auch unterstrichen werden, dass die vorliegende Arbeit explorativen Charakter hatte und so einen Impuls für weitere Untersuchungen geben sollte. Die gefundenen Ergebnisse zeigen, dass weiterführende Untersuchungen vielversprechend sind.

2. Stichprobengröße: Es ist wichtig, unsere Ergebnisse an einer größeren Stichprobe zu replizieren, um zu klinisch validen Daten zu gelangen. Dies stellt aber ein im klinischen Alltag häufig limitierendes Problem dar, da phänotypisch homogene Stichproben therapieresistenter lithiumaugmentierter Patienten schwer zu erhalten sind und entsprechende Studien über einen sehr langen Zeitraum laufen müssten. Auch wenn die Untersuchung größerer Stichproben zur Validierung entsprechender Ergebnisse wünschenswert ist, sollte berücksichtigt werden, dass das hier untersuchte Patientenkollektiv bezüglich Lithiumaugmentationstherapie im aktuellen Literaturvergleich relativ umfangreich ist. Dies stellt auch eine Stärke der vorliegenden Arbeit dar.
3. Homogenität der Stichprobe: Für die hier vorgelegten Analysen wurden uni- und bipolar depressive Patienten gemeinsam untersucht. Zwar erschien dieses Vorgehen aufgrund der Dominanz depressiver Symptome gerechtfertigt. Allerdings war dies nicht unproblematisch, da unipolare und bipolare Störungen von der Ätiopathogenese her unterschiedliche Entitäten darstellen. Zwar unterschieden sich die beiden Gruppen in den statistischen Eingangsanalysen hinsichtlich ihres Remissionsverhaltens nicht, jedoch zeigten die explorativ durchgeführten Überlebensanalysen für die unipolar depressiven Patienten, dass die Ergebnisse für den GSK3B-SNP dann noch deutlicher ausfielen. Natürlich wäre auch eine separate Auswertung der bipolar-depressiven Patienten interessant gewesen, was jedoch aufgrund der dann sehr kleinen Stichprobengröße ( $n=11$ ) nicht sinnvoll erschien. Aber nicht nur bezüglich der Polarität bestanden Inhomogenitäten, auch die vor Augmentationstherapie verabreichten und schließlich augmentierten Antidepressiva wiesen eine große Bandbreite auf, ebenso der Schweregrad der Indexepisode. Weiterhin stellt die Anwendung zweier verschiedener Ratingskalen eine Limitierung dar, auch wenn im Rahmen der statistischen Analyse kein Zusammenhang zwischen Ratingskala und Erreichen einer Remission gefunden werden konnte. Um künftige Studien hinsichtlich ihres Designs aufzuwerten, ist dementsprechend neben einer prospektiven Planung eine möglichst homogene Zusammensetzung der Stichprobe erstrebenswert.

4. Kontrollgruppe: Eigentlich gehört die Untersuchung einer Kontrollgruppe zum Standard einer qualitativ hochwertigen Studie. Da im Rahmen der vorliegenden Arbeit jedoch nicht die Genotypverteilung von depressiven Patienten mit der bei Gesunden verglichen werden sollte, sondern zentrales Anliegen die Detektion bestimmter Genotypen war, die mit einem Respons respektive Non-Respons auf Lithiumaugmentation bei depressiven Patienten verbunden waren (Case-Control-Design), wurde dieser ressourcenaufwändige Aspekt vernachlässigt und zum Vergleich der Genotypverteilung bei Patienten und Gesunden Zahlen aus der Literatur hinzugezogen, was einen gangbaren Kompromiss darstellte.

Diese Überlegungen stellen Aspekte dar, die bezüglich weiterführender Untersuchungen berücksichtigt werden sollten. Auch scheint hinsichtlich der GSK3B die Identifizierung weiterer assoziierter Polymorphismen, z. B. auf dem Wnt/beta-Catenin-Signalweg, von Interesse zu sein.

Nichtsdestotrotz soll an dieser Stelle festgehalten werden, dass die gefundenen Ergebnisse als bedeutender Schritt auf dem Weg zu einer individualisierten Psychopharmakotherapie anzusehen sind. Dass nicht nur ein einzelner genetischer Polymorphismus für den Respons bzw. Non-Respons auf eine medikamentöse Therapie im Allgemeinen und Lithiumaugmentation im Besonderen verantwortlich ist, lässt sich schon jetzt aufgrund der Fülle und Variabilität der bisher gefundenen Daten sagen. Weitere Forschungsbemühungen sind daher notwendig, um genetische Muster zu identifizieren, anhand derer eine Erfolgsvorhersage getroffen werden könnte. Sollte es dann in der Zukunft möglich sein, Patienten abhängig von ihrem Genotypmuster zu behandeln, so würde dies insbesondere für die bislang als therapieresistent bezeichneteten Patienten einen großen und wünschenswerten Fortschritt darstellen. Frustrane Therapieversuche könnten vermieden und eine Lithiumaugmentationstherapie gezielt bei den Patienten angewendet werden, die eine hohe Responswahrscheinlichkeit haben. Insgesamt wäre eine individualisierte Pharmakotherapie (*Tailoring*) und dadurch eine Steigerung der Effizienz der angebotenen Therapie möglich.

## 5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit ist nach Kenntniss der Verfasserin die erste, die die vier genetischen Polymorphismen C825T (GNB3), -50T/C (GSK3B), C973A (INPP1), A19918G (TPH2) hinsichtlich ihres Einflusses auf den Respons bzw. Non-Respons auf Lithiumaugmentationstherapie analysiert hat. Es wurden 72 unipolar und 11 bipolar depressive Patienten untersucht, die auf mindestens einen initialen Behandlungsversuch mit antidepressiver Monotherapie nicht angesprochen hatten. Im Rahmen der statistischen Analyse kamen u. a. Kaplan-Meier- und Cox-Regressionsüberlebensanalysen zur Anwendung. Für die GNB3-, INPP1- und TPH2-Genotypen konnten keine Zusammenhänge zwischen Genotyp und Respons bzw. Non-Respons auf Lithiumaugmentationstherapie gefunden werden. Die Analyse des -50T/C-SNP der GSK3B zeigte jedoch sowohl im Rahmen der Kaplan-Meier- als auch der Cox-Regressionsüberlebensanalysen eine signifikant höhere Remissionswahrscheinlichkeit für heterozygote und homozygote Träger des C-Allels im Vergleich zu homozygoten Trägern des T-Allels. Diese Ergebnisse wurden noch deutlicher, nachdem die Genotypen C/T und C/C aufgrund der geringen Anzahl des C/C-Genotyps (n=12) zu einer neuen Variablen aggregiert worden waren. Darüber hinaus wurde der Unterschied nochmals offensichtlicher, als zu Gunsten der Homogenität der Stichprobe nur die unipolar depressiven Patienten in die Auswertung einbezogen wurden.

Als limitierende Faktoren müssen die mit n=83 relativ kleine Stichprobengröße, die Heterogenität der Stichprobe (Einschluss sowohl uni- als auch bipolar depressiver Patienten, Gabe unterschiedlicher Antidepressiva im Rahmen der Augmentationstherapie, verschiedene Schweregrade der Depression) sowie das Fehlen einer auf die Genotypen bezogenen Gruppe gesunder Kontrollpersonen genannt werden. Weitere, gezielt als genetische Untersuchungen geplante Studien sind notwendig, um die hier gefundenen Ergebnisse zu bestätigen und diese schließlich für den Klinikalltag im Sinne einer Prädiktion des Therapieerfolges und entsprechenden Therapiewahl nutzbar zu machen. Dies würde im Optimalfall die Anzahl erfolgloser Therapieversuche bei depressiven Patienten reduzieren und eine maßgeschneiderte Therapie (*Tailoring*) ermöglichen.

## 6 Literatur

- 1 Adli M, Bauer M, Rush AJ. Algorithms and Collaborative-care Systems for Depression: Are They Effective and Why? *Biol Psychiatry* 2006;59(11):1029-38.
- 2 Adli M, Berghöfer A, Linden M, et al. Effectiveness and feasibility of a standardized stepwise drug treatment algorithm for inpatients with depressive disorders – results of a two-year observational study. *J Clin Psychiatry* 2002;63(9):782-90
- 3 Adli M, Hollinde DL, Stamm T, et al. Response to lithium augmentation treatment in depression is associated with the glycogen synthase kinase 3-beta 50T/C-single nucleotide polymorphism. *Biol Psychiatry* 2007;62(11):1295-302.
- 4 Adli M, Rush AJ, Möller HJ, Bauer M. Algorithms for Optimizing the treatment of Depression: Making the Right Decision at the Right Time. *Pharmacopsychiatry* 2003;36(3):222-9.
- 5 Adli M, Wiethoff K, Baghai T, et al. Algorithm-guided treatment of depression compared to treatment as usual and genetic response to lithium augmentation: the German Algorithm Project (GAP3). Annual Meeting of the American Psychiatric Association (APA): Toronto, Canada, 2006.
- 6 Alda M, Grof P, Rouleau GA, Turecki G, Young LT. Investigating responders to lithium prophylaxis as a strategy for mapping susceptibility genes for bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29(6):1038-45.
- 7 Allison JH, Stewart MA. Reduced brain inositol in lithium-treated rats. *Nat New Biol* 1971;233(43):267-8.
- 8 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders DSM-IV. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.
- 9 Angst J, Gamma A, Benazzi F, Ajdacic V, Eich D, Rössler W. Diagnostic issues in bipolar disorder. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003;13(2):43-50.
- 10 Artigas F, Celada P, Larnelle M, Adell A. How does pindolol improve antidepressant action? *Trends Pharmacol Sci* 2001;22(5):224-8.

- 11 Badenhop RF, Moses MJ, Scimone A, et al. A genome screen of 13 bipolar affective disorder pedigrees provides evidence for susceptibility loci on chromosome 3 as well as chromosome 9, 13 and 19. *Mol Psychiatry* 2002;7(8):851-9.
- 12 Bauer M. Epidemiologie der depressiven Störungen. In: Bauer M, Hrsg. *Neurobiologie und Therapie depressiver Erkrankungen*. 1. Aufl. Bremen: UNI-MED Verlag, 2004:48-56.
- 13 Bauer M. Bipolare Störungen – ein Überblick. In: Bauer M, Hrsg. *Neurobiologie und Therapie bipolarer Erkrankungen*. 1. Aufl. Bremen: UNI-MED Verlag, 2005a:15-7.
- 14 Bauer M. Neurobiologie bipolarer Erkrankungen. In: Bauer M, Hrsg. *Neurobiologie und Therapie bipolarer Erkrankungen*. 1. Aufl. Bremen: UNI-MED Verlag, 2005b:18-31.
- 15 Bauer M. Medikamentöse Therapie der bipolaren Depression. In: Bauer M, Hrsg. *Neurobiologie und Therapie bipolarer Erkrankungen*. 1. Aufl. Bremen: UNI-MED Verlag, 2005c:68-90.
- 16 Bauer M, Adli M, Baethge C, et al. Lithium Augmentation Therapy in Refractory Depression: Clinical Evidence and Neurobiological Mechanisms. *Can J Psychiatry* 2003;48(7):440-6.
- 17 Bauer M, Crossley NA, Gerber S, Bschor T. The acute antidepressive effects of lithium: from monotherapy to augmentation. In: Bauer M, Grof P, Müller-Oerlinghausen B, eds. *Lithium in neuropsychiatry - The comprehensive guide*. 1<sup>st</sup> ed. Abingdon: Informa Health Care, 2006:109-27.
- 18 Bauer M, Pfennig A, Linden M, et al. Efficacy of an Algorithm-Guided Treatment Compared to Treatment as Usual: A Randomized Controlled Study of Inpatients with Depression. Eingereicht.
- 19 Bech P, Rafaelsen OJ. The melancholia scale: development, consistency, validity and utility. In: Sartorius N, Ban TA, eds. *Assessment of Depression*. Berlin: Springer, 1986:259-69.

- 20 Benedetti F, Bernasconi A, Lorenzi C, et al. A single nucleotide polymorphism in glycogen synthase kinase 3-beta promoter gene influences onset of illness in patients affected by bipolar disorder. *Neurosci Lett* 2004;355(1-2):37-40.
- 21 Benedetti F, Serretti A, Colombo C, Lorenzi C, Tubazio V, Smeraldi E. A glycogen synthase kinase 3- $\beta$  promoter gene single nucleotide polymorphism is associated with age at onset and response to total sleep deprivation in bipolar depression. *Neurosci Lett* 2004;368(2):123-6.
- 22 Benedetti F, Serretti A, Pontiggia A, et al. Long-term response to lithium salts in bipolar illness is influenced by the glycogen synthase kinase 3- $\beta$  -50T/C SNP. *Neurosci Lett* 2005;376(1):51-5.
- 23 Benkert O, Hippus H, Anghelescu I, Hrsg. Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie. 6. Aufl. Berlin: Springer, 2006.
- 24 Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemie. 5. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag, 2003.
- 25 Binder EB, Holsboer F. Pharmacogenomics and antidepressant drugs. *Annals of Medicine* 2006;38(2):82-94.
- 26 Bonasera SJ, Tecott LH. Mouse models of serotonin receptor function: toward a genetic dissection of serotonin systems. *Pharmacol Ther* 2000;88(2):133-42.
- 27 Bortz J, Bongers D. Lehrbuch der empirischen Forschung. Für Sozialwissenschaftler. Berlin: Springer, 1984.
- 28 Bschor T, Adli M, Baethge C, et al. Lithium augmentation increases the ACTH and cortisol response in the combined DEX/CRH test in unipolar major depression. *Neuropsychopharmacology* 2002;27(3):470-8.
- 29 Bschor T, Lewitzka U, Sasse J, Adli M, Köberle U, Bauer M. Lithium Augmentation in Treatment-Resistant Depression: Clinical Evidence, Serotonergic and Endocrine Mechanisms. *Pharmacopsychiatry* 2003;36(3):230-4.
- 30 Calladine CR, Drew HR, Luisi BF. DNA – Das Molekül und seine Funktionsweise. 3. Aufl. München: Spektrum Akademischer Verlag, 2006.

- 31 Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF, et al. A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia: Standardization, validation, and clinical utility. *Arch Gen Psychiatry* 1981;38(1):15-22.
- 32 Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, et al. Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. *Science* 2003;301(5631):386-9.
- 33 Chin PC, Majdzadeh NM, D'Mello SR. Inhibition of GSK3 $\beta$  is a common event in neuroprotection by different survival factors. *Brain Res Mol Brain Res* 2005;137(1-2):193-201.
- 34 Chuang DM, Priller J. Potential use of lithium in neurodegenerative disorders. In: Bauer M, Grof P, Müller-Oerlinghausen B, eds. *Lithium in neuropsychiatry - The comprehensive guide*. 1<sup>st</sup> ed. Abingdon: Informa Health Care, 2006:381-97.
- 35 Crossley NA, Bauer M. Acceleration and augmentation of antidepressants with lithium for depressive disorders: two meta-analyses of randomized, placebo-controlled trials. *J Clin Psychiatry* 2007;68(6):935-40.
- 36 D'Agostino RB, Chase W, Belanger A. The appropriateness of some common procedures for testing the equality of two independent binomial populations. *The American Statistician* 1988;42(3):198-202.
- 37 DeBattista C. Augmentation and combination strategies for depression. *Journal of Psychopharmacology* 2006;20(3):11-8.
- 38 De Luca V, Hlousek D, Likhodi O, Van Tol HH, Kennedy JL, Wong AH. The interaction between TPH2 promoter haplotypes and clinical-demographic risk factors in suicide victims with major psychoses. *Genes, Brain and Behavior* 2006;5(1):107-10.
- 39 Dilling H, Mombour W, Schmidt MH, Hrsg. *Internationale Klassifikation psychischer Störungen, Klinisch-diagnostische Leitlinien*. 4. Aufl. Bern: Verlag Hans Huber, 2004.
- 40 Ebmeier, KP, Donaghey, C, Steele JD. Recent developments and current controversies in depression. *Lancet* 2006;367(9505):153-67.
- 41 First MB, Gibbon M, Williams JBW, Spitzer RL. *Mini-SCID*. Toronto: Multi Health Systems Inc., 1990.

- 42 First MB, Spitzer RL, Gibbon M, et al. The structured Clinical Interview for DSMIII-R Personality disorders (SCID-II), Part I: Description. *J of Personality Disorders* 1995;9:2.
- 43 Fischer, CJ. Epidemiologie affektiver Erkrankungen. In: Lemke MR, Hrsg. *Affektive Störungen*. 1. Aufl. Stuttgart: Thieme, 2004:19-32.
- 44 Fountoulakis KN, Vieta E, Sanchez-Moreno J, Kaprinis SG, Goikolea JM, Kaprinis GS. Treatment guidelines for bipolar disorder: A critical review. *J affective disorders* 2005;86(1):1-10.
- 45 Gibbs MD, Vale W. Effect of the serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on corticotropin-releasing factor and vasopressin secretion into hypophysial portal blood. *Brain Research* 1983;280(1):176-9.
- 46 Gingrich JA, Hen R. Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. *Psychopharmacology* 2001;155(1):1-10.
- 47 Gould TD, Manji HK. The wnt signaling pathway in bipolar disorder. *Neuroscientist* 2002;8(5):497-511.
- 48 Gould TD, Quiroz JA, Singh J, Zarate CA, Manji HK. Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers. *Molecular Psychiatry* 2004;9:734-55.
- 49 Gould TD, Zarate CA, Manji HK. Glycogen synthase kinase-3: A target for novel bipolar disorder treatments. *J Clin Psychiatry* 2004;65(1):10-21.
- 50 Grimes CA, Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  in cellular signalling. *Prog Neurobiol* 2001;65(4):391-426.
- 51 Guggenmoos-Holzmann I, Wernecke K-D. *Medizinische Biostatistik*. 1. Aufl. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1995.
- 52 Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960;23:56-62.
- 53 Harvey M, Shink E, Tremblay M, et al. Support for the involvement of TPH2 gene in affective disorders. *Molecular Psychiatry* 2004;9(11):980-1.

- 54 Hays W. Statistics. 5<sup>th</sup> ed. Orlando: Holt, Rinehart and Winston, Inc, 1994.
- 55 Heuser IJE, Schweiger U, Gotthardt U, et al. Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *American Journal of Psychiatry* 1996;153(1):93-9.
- 56 Hirschfeld, RMA. Bipolar depression. The real challenge. *European Neuropsychopharmacology* 2004;14(2):83-8.
- 57 Holsboer F. The Corticosteroid Receptor Hypothesis of Depression. *Neuropsychopharmacology* 2000;23(5):477-501.
- 58 Holsboer-Trachsler E, Hemmeter U, Hatzinger M, Seifritz E, Gerhard U, Hobi V. Sleep deprivation and bright light as potential augmenters of antidepressant drug treatment – neurobiological and psychometric assessment of course. *Journal of Psychiatric Research* 1994;28(4):381-99.
- 59 Hong M, Chen DCR, Klein PS, Lee VM-Y. Lithium reduces tau phosphorylation by inhibition of glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem* 1997;272(40):25326-32.
- 60 Jope RS, Bijur GN. Mood stabilizers, glycogen synthase kinase-3 $\beta$  and cell survival. *Mol Psychiatry* 2002;7(1):35-45.
- 61 Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, et al. The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2002;59(6):530-7.
- 62 Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, et al. A prospective investigation of the natural history of the long-term weekly symptomatic status of bipolar II disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60(3):261-9.
- 63 Kessler RC, Berglund P, Demler O, et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the national comorbidity survey replication (NCS-R). *JAMA* 2003;289(23):3095-105.
- 64 Kirchheiner J, Bertilsson L, Bruns, Wolff A, Roots I, Bauer M. Individualized Medicine – Implementation of Pharmacogenetic Diagnostics in Antidepressant Drug Treatment of Major Depressive Disorders. *Pharmacopsychiatry* 2003;36(3):235-43.

- 65 Kirchheiner J, Seeringer A. Clinical implications of pharmacogenetics of cytochrome P450 drug metabolizing enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007;1770(3):489-94.
- 66 Klein PS, Melton DA. A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *PNAS* 1996;93(16):8455-9.
- 67 Kleuss C, Scherübl H, Hescheler J, Schultz G, Wittig B. Different beta-subunits determine G-protein interaction with transmembrane receptors. *Nature* 1992;358(6385):424-6.
- 68 Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, et al. The real-time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med* 2006;27(2-3):95-125.
- 69 Kupfer DJ, Frank E, Grochocinski VJ, Cluss PA, Honck PR, Stapf DA. Demographic and clinical characteristics of individuals in a bipolar disorder case registry. *J Clin Psychiatry* 2002;63(2):120-5.
- 70 Kwok JB, Hallupp M, Loy CT, et al. GSK3B polymorphisms alter transcription and splicing in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2005;58(6):819-20.
- 71 Lee HJ, Cha JH, Ham BJ, et al. Association between a G-Protein beta 3 subunit gene polymorphism and the symptomatology and treatment responses of major depressive disorders. *Pharmacogenomics* 2004;4(1):29-33.
- 72 Lee HJ, Sung SM, Han CS, et al. G-Protein  $\beta$ 3 Subunit C825T Polymorphism Tends to Be Associated with Seasonal Variation in Young Male College Students. *Neuropsychobiology* 2005;52(3):135-9.
- 73 Lemke MR. *Affektive Störungen*. 1. Aufl. Stuttgart: Thieme, 2004.
- 74 Lesch KP. Serotonergic gene expression and depression: implications for developing novel antidepressants. *J Affect Disord* 2001;62(1-2):57-76.
- 75 Lesch KP, Bengel D, Heils A, et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274(5292):1527-31.

- 76 Levinson DF. Meta-analysis in Psychiatric genetics. *Curr Psychiatry Rep* 2005;7(2):143-51.
- 77 Licht RW. Lithium in the treatment of acute mania. In: Bauer M, Grof P, Müller-Oerlinghausen B, eds. *Lithium in neuropsychiatry - The comprehensive guide*. Abingdon: Informa Health Care, 2006:59-71.
- 78 Lin CN, Tsai SJ, Hong CJ. Association Analysis of a Functional G Protein  $\beta 3$  Subunit Gene Polymorphism (C825T) in Mood disorders. *Neuropsychobiology* 2001;44(3):118-21.
- 79 Linz U. Die Polymerase-Kettenreaktion. *Naturwissenschaften* 1990;77:515-30.
- 80 Löffler G. *Basiswissen Biochemie*. 4. Aufl. Berlin: Springer, 2001.
- 81 Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie und Pathobiochemie*. 8. Aufl. Berlin: Springer, 2006.
- 82 Løvlie R, Gulbrandsen AK, Molven A, Steen VM. Genomic structure and sequence analysis of a human inositol polyphosphate 1-phosphatase gene (INPP1). *Pharmacogenetics* 1999;9(4):517-28.
- 83 Mateo I, Infante J, Llorca J, Rodríguez E, Berciano J, Combarros O. Association between glycogen synthase kinase-3 $\beta$  genetic polymorphism and late-onset Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2006;21(4):228-32.
- 84 McCance-Katz E, Price LH, Charney DS, Heninger GR. Serotonergic function during lithium augmentation of refractory depression. *Psychopharmacology* 1992;108(1-2):93-7.
- 85 Michelon L, Meira-Lima I, Cordeiro O, et al. Association study of the INPP1, 5HTT, BDNF, AP-2 $\beta$  and GSK-3 $\beta$  GENE variants and retrospectively scored response to lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Neuroscience Letters* 2006;403(3):288-93.
- 86 Müller, WE. Auswahl des Antidepressivums anhand pharmakologischer Wirkprofile. In: Bauer M, Berghöfer A, Adli M, Hrsg. *Akute und therapieresistente Depressionen*. 2. Aufl. Berlin: Springer, 2005:151- 63.

- 87 Müller-Oerlinghausen B. Die Wirkung von Lithium auf serotoninerge Funktionen. In: Müller-Oerlinghausen B, Greil W, Berghöfer A, Hrsg. Die Lithiumtherapie: Nutzen, Risiken, Alternativen. 2. Aufl. Berlin: Springer, 1997:61-67.
- 88 Munoz-Montano JR, Moreno FJ, Avila J, Diaz-Nido J. Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau-protein phosphorylation in neurons. *FEBS Lett* 1997;411(2-3):183-8.
- 89 Murphy DL, Uhl GR, Holmes A, et al. Experimental gene interaction studies with SERT mutant mice as models for human polygenic and epistatic traits and disorders. *Genes Brain Behav* 2003;2(6):350-64.
- 90 Nierenberg AA, Fava M, Trivedi MH, et al. A comparison of lithium and T<sub>3</sub> augmentation following two failed medication treatments for depression: A STAR\*D report. *Am J Psychiatry* 2006;163(9):1519-30.
- 91 Nishiguchi N, Breen G, Russ C, St Clair D, Collier D. Association analysis of the glycogen kinase-3 $\beta$  gene in bipolar disorder. *Neurosci Lett* 2006;394(3):243-5.
- 92 Prestes AP, Marques FZC, Hutz MH, Bau CH. The GNB3 C825T polymorphism and depression among subjects with alcohol dependence. *J Neural Transm* 2007;114(4):469-72.
- 93 Ram A, Guedj F. No abnormality in the gene for the G protein stimulatory alpha subunit in patients with bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1997;54(1):44-8.
- 94 Remick, AR. Diagnosis and management of depression in primary care: clinical update and review. *CMAJ* 2002;167(11):1253-60.
- 95 Roskopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W. G Protein  $\beta$ 3 Gene: Structure, Promoter, and Additional Polymorphisms. *Hypertension* 2000;36(1):33-41.
- 96 Russ C, Lovestone S, Powell JF. Identification of sequence variants and analysis of the role of the glycogen synthase kinase 3 beta gene and promoter in late onset Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 2001;6(3):320-4.
- 97 Schloth DL, Kirchheiner J, Nickchen K, et al. Response to lithium augmentation treatment in depression: influence of polymorphisms in glycogen synthase kinase 3-beta (GSK3-beta) gene but not of tryptophan hydroxylase-2 (TPH2) gene. Poster auf

dem 24. Symposium der Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie: München, 2005.

98 Schöpf J, Müller-Oerlinghausen B. Standardpräparate der Psychopharmakotherapie: Lithium. 2. Aufl. Darmstadt: Steinkopff Verlag, 2005.

99 Serretti A. Lithium long-term treatment in mood disorders: clinical and genetic predictors. *Pharmacogenomics* 2002;3(1):117-29.

100 Serretti A, Artioli P, Quartesan R. Pharmacogenetics in the treatment of depression: pharmacodynamic studies. *Pharmacogenetics and Genomics* 2005;15(2):61-7.

101 Serretti A, Lilli R, Lorenzi C, Gasperini M, Smeraldi E. Tryptophan hydroxylase gene and response to lithium prophylaxis in mood disorders. *J Psychiatric Res* 1999;33(5):371-7.

102 Serretti A, Lilli R, Mandelli L, Lorenzi C, Smeraldi E. Serotonin transporter gene associated with lithium prophylaxis in mood disorders. *Pharmacogenomics J* 2001;1(1):71-77.

103 Serretti A, Malitas PN, Mandelli L, et al. Further evidence for a possible association between serotonin transporter gene and lithium prophylaxis in mood disorders. *Pharmacogenomics J* 2004;4(4):267-73.

104 Serretti A, Zanardi R, Cusin C, Rossini D, Lorenzi C, Smeraldi E. Tryptophan hydroxylase gene associated with paroxetine antidepressant activity. *Eur Neuropsychopharmacology* 2001;11(5):375-80.

105 Shastry BS. Bipolar disorder: an update. *Neurochemistry International* 2005;46(4):273-9.

106 Siffert W, Roskopf D, Siffert G, et al. Association of a human G-protein  $\beta 3$  subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 1998;18(1):45-8.

107 Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M. Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* 1998;3(6):508-11.

- 108 Spießl, H, Hübner-Liebermann, Hajak G. Volkskrankheit Depression – Epidemiologie, Versorgungssituation, Diagnostik, Therapie und prävention. Deutsche Med Wochenschau 2006;131(1-2):35-40.
- 109 Spitzer RL, Williams JB, Gibbon M, First MB. The Structured Clinical Interview for DSM-III-R (SCID). I: History, rationale, and description. Arch Gen Psychiatry 1992;49(8):624-9.
- 110 Stamm T, Adli M, Kirchheimer J, et al. Serotonin transporter gene and response to lithium augmentation in depression. Psychiatric Genet, im Druck.
- 111 Steen VM, Løvlie R, Osher Y, Belmaker RH, Berle JO, Gulbrandsen AK. The polymorphic inositol polyphosphate 1-phosphatase gene as a candidate for pharmacogenetic prediction of lithium-responsive manic-depressive illness. Pharmacogenetics 1998;8(3):259-68.
- 112 Szczepankiewicz A, Rybakowski JK, Suwalska A, et al. Association study of the glycogen synthase kinase-3beta gene polymorphism with prophylactic lithium response in bipolar patients. The World Journal of Biological Psychiatry 2006;7(3):158-61.
- 113 Torres G, Horowitz JM, Laflamme N, Rivest S. Fluoxetine induces the transcription of genes encoding c-fos, corticotropin-releasing factor and its type 1 receptor in rat brain. Neuroscience 1998;87(2):463-77.
- 114 Trivedi MH, Fava M, Wisniewski SR, et al. Medication augmentation after the failure of SSRIs for depression. N Engl J Med 2006;354(12):1243-52.
- 115 Walther DJ, Bader M. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. Biochem Pharmacol 2003;66(9):1673-80.
- 116 Walther DJ, Peter J-U, Bashammakh S, et al. Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. Science 2003;299(5603):76.
- 117 Willeit M, Praschak-Rieder N, Zill P, et al. C825T polymorphism in the G-protein  $\beta$ 3-subunit gene is associated with seasonal affective disorder. Biol Psychiatry 2003;54(7):682-86.

- 118 Woodgett JR. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *EMBO J* 1990;9(8):2431-8.
- 119 Yin L, Wang J, Klein PS, Lazar MA. Nuclear Receptor Rev-erb $\alpha$  is a critical lithium-sensitive component of the circadian clock. *Science* 2006;311(5763):1002-5.
- 120 York JD, Veile RA, Donis-Keller H, Majerus PW. Cloning, heterologous expression, and chromosomal localization of human inositol polyphosphate 1-phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(12):5833-7.
- 121 Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Catalano M, Smeraldi E. Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol* 2002;20(1):105-7.
- 122 Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, et al. Evidence for an association between a G-Protein  $\beta$ 3-gene variant with depression and response to antidepressant treatment. *NeuroReport* 2000;11(9):1893-7.
- 123 Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, et al. SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (TPH2) gene provide evidence for association with major depression. *Molecular Psychiatry* 2004;9(11):1030-6.
- 124 Zill P, Büttner A, Eisenmenger W, Bondy B, Ackenheil M. Regional mRNA expression of a second tryptophan hydroxylase isoform in postmortem tissue samples of two human brains. *Eur Neuropsychopharmacol* 2004a;14(4):282-4.
- 125 Zill P, Büttner A, Eisenmenger W, Möller HJ, Bondy B, Ackenheil M. Single Nucleotide Polymorphism and Haplotype Analysis of a Novel Tryptophan Hydroxylase Isoform (TPH2) Gene in Suicide Victims. *Biol Psychiatry* 2004b;56(8):581-6.

### **Internetadressen**

<http://krunch.med.yale.edu/hwsim>: Rechenprogramm zur Bestimmung des Hardy-Weinberg-Equilibriums.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich, Dorothea Lisa Hollinde (geb. Schloth), erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Einfluss genetischer Polymorphismen der G-Protein- $\beta$ 3-Untereinheit, der Glykogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$ , der Inositol-Polyphosphat-1-Phosphatase und der Tryptophanhydroxylase 2 auf den Therapierespons lithiumaugmentierter Patienten mit antidepressivaresistenter Depression: Gibt es einen Zusammenhang zwischen Genotyp und Therapierespons?“ 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.

Lübeck, 20. März 2008

Dorothea Lisa Hollinde

## **Lebenslauf**

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

Lübeck, 20. März 2008

## Danksagungen

Herrn Prof. Dr. Andreas Heinz gilt mein Dank für seine Unterstützung und die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik anzufertigen. Herrn Prof. Dr. Ivar Roots möchte ich dafür danken, dass ich die Laborarbeiten im pharmakogenetischen Labor der Klinischen Pharmakologie der Charité (CCM) durchführen konnte.

Herrn Dr. Mazda Adli danke ich für die Betreuung dieser Arbeit, die in seiner Arbeitsgruppe entstanden ist und diesbezüglich besonders für die Unterstützung bei der Erarbeitung der Fragestellung, Strukturierung der Arbeit sowie die kritische Begleitung, die immer wieder mit wertvollen Anregungen verbunden war.

Herrn Prof. Dr. Dr. Michael Bauer möchte ich als ehemaligem Leiter der AG „Affektive Störungen“ für wertvolle Anregungen zum Thema danken.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des pharmakogenetischen Labors der Klinischen Pharmakologie (CCM) danke ich für die stete Unterstützung in labortechnischen Belangen, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Besonders danken möchte ich Frau Dr. Martina Tsahuridu, die mich in die Labormethodik eingearbeitet, bei der Entwicklung verschiedener Methoden unterstützt und immer ein offenes Ohr für Fragen meinerseits gehabt hat.

Meinen Freunden danke ich für die Begleitung durch diese Zeit. Diesbezüglich möchte ich insbesondere Andra Zimmermann, Volker Böhm und Sigrid Podewski nennen und ihnen für ihre Unterstützung in computertechnischen und Korrekturbedingen meinen Dank aussprechen. Mein besonderer Dank gilt meiner Schwester Gabriele Schütte nicht nur für die Durchsicht dieser Arbeit, sondern auch für die Korrektur nach neuer deutscher Rechtschreibung.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, derer ich mir stets sicher sein konnte und die mich während meines Zweitstudiums Medizin bedingungslos unterstützt hat; an dieser Stelle seien insbesondere meine Schwester Dr. Stephanie Troßbach und meine Mutter Hannelore Schloth genannt. Ohne diesen Hintergrund wäre vieles nicht denkbar und möglich gewesen.

Dem Evangelischen Studienwerk Villigst e. V. danke ich für die finanzielle und ideelle Unterstützung während meines Medizinstudiums.

Zu guter Letzt möchte ich meinem Mann Michael danken, der mir stets ein kritischer und aufmerksamer Zuhörer war und diese Arbeit durch all die Zeit begleitet hat.