

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Campus Benjamin Franklin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Assoziation von Gewichtszunahme unter Behandlung mit
atypischen Antipsychotika mit Polymorphismen des
Serotoninrezeptor-, des Leptin- und des Insulin-induzierten
Gens

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Eva Janina Brandl
aus Erlangen

Gutachter: 1. Prof. Dr. M. Dettling
2. Prof. Dr. H. J. Freyberger
3. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. I. Cascorbi

Datum der Promotion: 20.11.2009

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Einleitung..... | 1 |
| 1.1 | Klinische Bedeutung und Mechanismen der Gewichtszunahme unter der Behandlung mit atypischen Antipsychotika | 1 |
| 1.2 | Überblick über Kandidatengene der Gewichtszunahme | 6 |
| 1.3 | Zielsetzung der Arbeit | 11 |
| 2 | Methoden | 14 |
| 2.1 | Studiendesign | 14 |
| 2.2 | Genotypisierung..... | 15 |
| 2.2.1 | DNA-Extraktion | 15 |
| 2.2.2 | TaqMan®-PCR..... | 16 |
| 2.3 | Statistische Auswertung..... | 19 |
| 3 | Ergebnisse | 22 |
| 3.1 | Klinische Charakteristik des Studienkollektivs..... | 22 |
| 3.2 | HTR2C..... | 25 |
| 3.2.1 | Genotyp- und allelträgerabhängige Gewichtszunahme | 25 |
| 3.2.2 | Univariate Varianzanalyse..... | 28 |
| 3.2.3 | Logistische Regressionsanalyse | 32 |
| 3.2.4 | Untersuchung der Haplotypen..... | 34 |
| 3.3 | Leptin..... | 35 |
| 3.3.1 | Genotypabhängige Gewichtszunahme | 35 |
| 3.3.2 | Univariate Varianzanalyse..... | 36 |
| 3.3.3 | Logistische Regressionsanalyse | 37 |
| 3.4 | INSIG2..... | 37 |
| 3.4.1 | Genotypabhängige Gewichtszunahme | 37 |
| 3.4.2 | Univariate Varianzanalyse..... | 39 |
| 3.4.3 | Logistische Regressionsanalyse | 40 |
| 3.4.4 | Untersuchung der Haplotypen..... | 40 |
| 4 | Diskussion | 42 |
| 4.1 | Gewichtszunahme unter Behandlung mit Antipsychotika | 43 |
| 4.2 | HTR2C..... | 44 |
| 4.3 | Leptin..... | 49 |
| 4.4 | INSIG2..... | 51 |
| 4.5 | Limitationen der Untersuchung | 53 |
| 4.6 | Ausblick | 55 |
| 5 | Zusammenfassung | 57 |

| | | |
|----|--------------------------------|----|
| 6 | Literaturverzeichnis..... | 58 |
| 7 | Lebenslauf..... | 68 |
| 8 | Publikationsverzeichnis | 69 |
| 9 | Selbständigkeitserklärung..... | 70 |
| 10 | Danksagungen | 71 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Untersuchte Gene mit jeweiligen Polymorphismen | 16 |
| Tabelle 2: Verwendete TaqMan-Assays von Applied Biosystems..... | 18 |
| Tabelle 3: Gewichtsdaten mit Standardabweichung (SD) vor und nach sechswöchiger antipsychotischer Behandlung | 23 |
| Tabelle 4: Vergleich klinischer Variablen bei Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme | 24 |
| Tabelle 5: Genotyp-/Hemizygotie-Frequenz der HTR2C-Polymorphismen | 26 |
| Tabelle 6: Ausgangs-BMI der Genotypen/Allelträger der HTR2C-Polymorphismen..... | 26 |
| Tabelle 7: Gewichtszunahme (%) nach sechswöchiger Behandlung in der Gesamtstichprobe sowie für Männer und Frauen getrennt bei HTR2C-Polymorphismen..... | 27 |
| Tabelle 8: Anzahl Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme bei HTR2C | 27 |
| Tabelle 9: Häufigkeit der Genotypen von rs7799039 | 35 |
| Tabelle 10: Ausgangs-BMI und Gewichtszunahme in % abhängig vom rs7799039-Genotyp ... | 36 |
| Tabelle 11: Anzahl Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme bei rs7799039 | 36 |
| Tabelle 12: Häufigkeit der Genotypen der INSIG2-Polymorphismen | 37 |
| Tabelle 13: Ausgangs-BMI und Gewichtszunahme (%), abhängig vom INSIG2-Genotyp..... | 38 |
| Tabelle 14: Anzahl Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme bei INSIG2 | 38 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Einfluss von rs498207 auf die Gewichtszunahme.. | 30 |
| Abbildung 2: Einfluss des Allelträgerstatus von rs498207 auf die Gewichtszunahme bei Männern | 30 |
| Abbildung 3: Einfluss des rs498207-Genotyps auf die Gewichtszunahme bei Frauen..... | 31 |
| Abbildung 4: Kopplungsungleichgewicht zwischen den Polymorphismen im HTR2C..... | 34 |
| Abbildung 5: Kopplungsungleichgewicht zwischen den Polymorphismen in INSIG2..... | 41 |

1 Einleitung

1.1 *Klinische Bedeutung und Mechanismen der Gewichtszunahme unter der Behandlung mit atypischen Antipsychotika*

Mit einer Lebenszeitprävalenz von ca. 1% stellt die Schizophrenie eine in der Bevölkerung relativ häufige Erkrankung dar. Ihre pharmakologischen Therapiemöglichkeiten haben sich in den letzten Jahrzehnten durch die Entdeckung und Weiterentwicklung der Antipsychotika deutlich verbessert, da eine Vielzahl von Symptomen -vorwiegend aus der Gruppe der Positivsymptome wie z.B. Wahnerleben, formale Denkstörungen und Halluzinationen- durch eine adäquate antipsychotische Behandlung nachhaltig und zuverlässig reduziert bzw. zur Remission gebracht werden kann. Vor allem die Substanzen der zweiten Generation der Antipsychotika, die *atypischen* Antipsychotika bzw. *Atypika* haben in der Behandlung der Schizophrenie und der schizoaffektiven Erkrankungen, aber auch zunehmend in der Behandlung affektiver Störungen heutzutage einen sehr hohen Stellenwert. Während die Therapie mit Substanzen der ersten Generation, *typische* bzw. *klassische* Antipsychotika, wie z.B. Perphenazin oder Haloperidol vor allem mit Nebenwirkungen in Form extrapyramidal-motorischer Störungen wie Früh- und Spätdyskinesien oder Parkinsonismus verbunden ist, treten diese bei Antipsychotika der zweiten Generation, wie z.B. Clozapin, Olanzapin und Risperidon, die zusätzlich u. a. eine höhere Affinität zu Serotoninrezeptoren (5HT) besitzen [1], deutlich seltener auf. Jedoch stellen hier metabolische Veränderungen mit signifikanter Gewichtszunahme, Störungen der Glukosehomöostase und des Fettstoffwechsels eine häufige und von Patienten oft als ausgesprochen störend empfundene Nebenwirkung der Behandlung dar. Diese metabolischen Nebenwirkungen können zwar auch bei der Behandlung mit Substanzen der ersten Generation auftreten, hier sind Ausmaß und negativer Effekt auf die Morbidität und Mortalität der Patienten jedoch deutlich geringer. Durch den vermehrten Einsatz der Atypika sind die metabolischen Nebenwirkungen dieser Substanzen zunehmend in das Bewusstsein von Behandelnden und Patienten gerückt. So gaben über 90% der teilnehmenden Ärzte in einer Studie von Buckley und Mitarbeitern an, Gewichtszunahme und metabolische Veränderungen unter antipsychotischer Therapie für ein bedeutendes bis sehr bedeutendes Problem zu halten. Trotz dieses Bewusstseins erfolgten nur bei weniger als 50% der

Behandlungen regelmäßige Kontrollen von Gewicht, Taillenumfang, Blutdruck, Nüchtern-glucose und Lipidprofil der behandelten Patienten [2].

Mit zunehmendem Übergewicht (Body Mass Index $>25\text{kg/m}^2$) und Adipositas (Body Mass Index $>30\text{kg/m}^2$) steigt das Risiko der Entwicklung eines metabolischen Syndroms mit Insulinresistenz, arterieller Hypertonie und Dyslipidämie deutlich an. Hieraus resultierend kann es zu kardiovaskulären Erkrankungen sowie zur Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 kommen, wobei das Risiko für eine gestörte Glucosetoleranz und Diabetes mellitus Typ 2 von an Schizophrenie Erkrankten bereits ohne eine regelmäßige antipsychotische Medikation deutlich erhöht ist [3,4]. Auch andere Folgeerscheinungen von Adipositas wie Gelenkerkrankungen, Cholezystolithiasis oder respiratorische Störungen wie das obstruktive Schlafapnoesyndrom können zu der erhöhten medikationsbedingten Morbidität dieser Patientengruppe beitragen.

Nicht zuletzt stellt die meist erhebliche Gewichtszunahme unter atypischer antipsychotischer Medikation einen sehr häufigen Grund für einen Therapieabbruch oder mangelnde Zuverlässigkeit bei der Medikamenteneinnahme der Erkrankten dar. So gaben Patienten in einer Studie mehr als doppelt so häufig an, ihre Medikation unregelmässig einzunehmen, wenn sie einen Body Mass Index $> 30\text{ kg/m}^2$ und eine hohe subjektive Belastung durch die erreichte Gewichtszunahme hatten [5].

All diese Faktoren machen die Gewichtszunahme unter Behandlung mit atypischen Antipsychotika zu einem klinisch relevanten Problem, das in Zusammenschau mit dem weiteren Nebenwirkungsprofil der einzelnen Substanzen eine sorgfältige Auswahl des eingesetzten Medikamentes erforderlich macht.

Im Ausmaß der Gewichtszunahme bestehen teilweise große Unterschiede zwischen den einzelnen atypischen Substanzen. So wurde bei 30% der mit Olanzapin behandelten Patienten eine Gewichtszunahme von mehr als 7% des Ausgangsgewichtes beobachtet, während bei Patienten unter Therapie mit Ziprasidon lediglich 7% eine solche Zunahme zeigten [6]. Während einer 10-wöchigen Behandlung wurde eine Gewichtszunahme von im Schnitt 4,45 kg unter Clozapin, 4,15 kg unter Olanzapin, 2,1 kg unter Risperidon und 0,04 kg unter Ziprasidon gegenüber einer Gewichtsabnahme von 0,74 kg unter Placebo beobachtet [7].

Die exakten Mechanismen der Gewichtszunahme unter Therapie mit Antipsychotika sind noch nicht genau bekannt, allerdings existieren verschiedene Erklärungsansätze. Zum Teil mag es sich bei Gewichtszunahme während der medikamentösen Behandlung mitunter auch um eine indirekte Zunahme handeln, denn es kann z.B. im Vorfeld erkrankungsbedingt durch einen Vergiftungswahn mit verminderter Nahrungsaufnahme zu einem Gewichtsverlust gekommen sein, der durch ausreichende Nahrungszufuhr nach Besserung des Wahnerlebens unter Behandlung wieder behoben wird. Eine Gewichtszunahme weit über das prämorbid Körpergewicht hinaus ist hierdurch jedoch nicht erklärbar. Auch ein veränderter Energieumsatz wäre als Ursache denkbar, wobei aber z.B. für Olanzapin keine Veränderung des basalen Grundumsatzes gezeigt werden konnte [8].

Viele Patienten berichten über vermehrten Appetit und erhöhte Nahrungsaufnahme durch ein nicht oder nur verzögert eintretendes Sättigungsgefühl unter der medikamentösen Behandlung, was durch eine rezeptorvermittelte Modulation zentralnervöser hypothalamischer Regelkreise der Energiehomöostase zustande kommen könnte.

Ein interessanter Ansatz hierzu, und auch zur Erklärung der zum Teil erheblichen Unterschiede bezüglich des Ausmaßes der induzierten Gewichtszunahme zwischen den einzelnen Antipsychotika findet sich in einer Studie von Kim und Mitarbeitern [9]. Kim konnte im Tiermodell zeigen, dass stark Gewichtszunahme induzierende Substanzen wie Clozapin, Olanzapin und auch Quetiapin durch Histamin-1-Rezeptorblockade die hypothalamische AMP-Kinase mittels Phosphorylierung aktivieren, während Risperidon, Ziprasidon, Haloperidol und Aripiprazol, die eine deutlich geringere Gewichtszunahme verursachen, keine Aktivierung der AMP-Kinase hervorrufen. Eine erhöhte Aktivität der hypothalamischen AMP-Kinase ist mit gesteigerter Nahrungsaufnahme und Gewichtszunahme verbunden; durch diesen Mechanismus verursachen auch die meisten Antihistaminika eine Erhöhung des Körpergewichtes.

Da fast alle Antipsychotika antagonistisch am D2-Dopaminrezeptor wirken, ist es ebenfalls möglich, dass die Gewichtszunahme durch die pharmakologische Modulation des dopaminergen Systems, das ebenfalls an der Regulation von Nahrungsaufnahme, Appetit und Ernährungsverhalten sowie am „Belohnungssystem“ des Gehirns beteiligt ist [10], erfolgt.

Deutliche Hinweise finden sich auch für eine antagonistische Wirkung von Antipsychotika an Untergruppen des Serotoninrezeptors (5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptor) sowie für eine agonistische Wirkung am 5-HT_{1A}-Rezeptor, die ebenfalls an der Regulation der Nahrungsaufnahme beteiligt sind. Während Agonisten an 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptoren, wie das seit 1997 nicht mehr auf dem Markt befindliche D-Fenfluramin, eine appetitzügelnde Wirkung besitzen, ist eine gesteigerte Nahrungsaufnahme durch Antagonismus am 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptor sowie Agonismus am 5-HT_{1A}-Rezeptor bekannt. Eher gegen diese serotonerge Hypothese der Gewichtszunahme unter Antipsychotika spricht, dass zwar Clozapin und Olanzapin, die ein hohes Maß an Gewichtszunahme verursachen, aber auch Ziprasidon, eine Substanz, unter der kaum Gewichtszunahme beobachtet wird, an diesen Rezeptoren antagonistisch bzw. agonistisch wirkt [11].

Es unterscheiden sich jedoch nicht nur die einzelnen Substanzen in Hinblick auf das Ausmaß der induzierten Gewichtszunahme. Auch das Risiko der einzelnen Patienten für eine Zunahme unter antipsychotischer Therapie ist individuell verschieden. So werden immer wieder Fälle von Patienten mit gesicherter regelmäßiger Medikamenteneinnahme beschrieben, die unter Behandlung mit Olanzapin und Clozapin ein stabiles Körpergewicht halten, obwohl diese Substanzen generell mit der höchsten Gewichtszunahme verbunden sind. Auf der anderen Seite existieren Berichte über Patienten, die während der Therapie mit Antipsychotika, die im Allgemeinen weniger Zunahme verursachen, eine deutliche Adipositas entwickeln. Bislang sind keine zuverlässigen Prädiktoren für das Ausmaß der individuellen Gewichtszunahme unter Medikation mit Antipsychotika beschrieben. Kontrovers diskutiert werden ein niedriger BMI bei Behandlungsbeginn und jugendliches Alter [12]. Hinsichtlich von Geschlechtseffekten wurde sowohl für Frauen als auch für Männer ein erhöhtes Risiko für eine Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme berichtet [12, 13].

Das Körpergewicht ist in einem hohen Ausmaß genetisch determiniert, wobei es sich um einen komplexen und polygenen Vererbungsmodus handelt, d.h. es sind mehrere Gene an der Ausbildung des Phänotypen beteiligt, die jedoch nicht zusammenhängend nach Mendelschen Gesetzen vererbt werden. Bislang sind mehr als 600 Gene, Marker oder DNA-Regionen bekannt, die als Risikofaktoren für Adipositas gelten [14]. Auch die großen interindividuellen Unterschiede bezüglich der

Prädisposition für die Entwicklung von Übergewicht bzw. Adipositas während der Einnahme antipsychotischer Substanzen legen genetische Einflüsse als Ursache nahe. Gestützt wird diese Hypothese auch durch Fallberichte mit extremer, das übliche und zu erwartende Ausmaß deutlich überschreitender Gewichtszunahme bei monozygoten Zwillingen durch antipsychotische Medikation [15].

Es können verschiedene Veränderungen der DNA-Sequenz auftreten, die entweder längere DNA-Abschnitte oder nur einzelne Basen betreffen, z.B. in Form von Insertions- oder Deletionspolymorphismen, Multiplikationen oder als Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs). Diese Veränderungen können sowohl in regulatorischen Regionen (z.B. der Promoterregion eines Genabschnittes) als auch in Protein-kodierenden und in nicht-kodierenden DNA-Abschnitten lokalisiert sein. Durch die Veränderung in der DNA-Sequenz kann es zu funktionellen Veränderungen der synthetisierten Proteine und so beispielsweise zu einer veränderten Affinität eines Rezeptors zu einem Neurotransmitter kommen, was letztendlich auch zu einer veränderten Reaktion auf eingenommene Substanzen führen kann. Ebenso können Polymorphismen die Stabilität der mRNA und damit den Translationsprozess beeinflussen oder auch völlig ohne funktionelle Folgen bleiben. Schließlich ist es auch möglich, dass ein einzelner Polymorphismus mit einem anderen, im gleichen Allel liegenden Polymorphismus zusammen vererbt wird. Liegt ein solches Kopplungs-Ungleichgewicht vor, kann beispielsweise ein Polymorphismus, der ohne funktionelle Relevanz für die Expression eines Gens ist, einen Marker für das Vorliegen einer genetischen Variante, die einigen Syndromen bzw. Phänotypen zugeordnet wird, darstellen [11].

Die Untersuchung einzelner Polymorphismen innerhalb verschiedener Kandidatengene, die anhand ihrer hypothetischen oder bekannten Funktion identifiziert werden, spielt eine wichtige Rolle in der Erforschung der genetischen Grundlagen der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme. Bislang wurden verschiedenste Gene aus mehreren an der Gewichtsregulation beteiligten Systemen in unterschiedlichen Populationen untersucht, die zwar einige viel versprechende, aber auch kontroverse Ergebnisse lieferten.

1.2 Überblick über Kandidatengene der Gewichtszunahme

Wie im ersten Abschnitt bereits erwähnt, sind mehrere neuronale und humorale Regelkreise an der Gewichtsregulation beteiligt, um den Energiehaushalt des Körpers stabil zu halten. Im zentralen Nervensystem dienen zahlreiche neuronale Strukturen im Hypothalamus, Hirnstamm, limbischen System sowie im Kortex, die über verschiedene Transmitter miteinander kommunizieren, dieser Aufgabe. Sie erhalten von der Peripherie über unterschiedliche Hormone Informationen über den Energiehaushalt des Körpers, und sezernieren im Anschluss Neuropeptide, wobei sowohl anabole als auch katabole Moleküle unter den Hormonen und Neuropeptiden unterschieden werden [16], die dann an spezifischen Rezeptoren wirken.

Aufgrund der hohen Affinität vor allem der stark Gewichtszunahme induzierenden Antipsychotika zu serotonergen Rezeptoren stellen die für diese kodierenden Gene vielversprechende Kandidatengene dar. 5-HT_{2C} Rezeptoren werden auf POMC-Neuronen exprimiert, deren Aktivierung zu verminderter Nahrungsaufnahme führt [17]. 5-HT_{2A}-Rezeptoren am paraventriculären Nucleus modulieren die anabolen Effekte von NPY [18], während die Aktivierung von 5-HT_{1A}-Rezeptoren zu erhöhter Nahrungsaufnahme führt [19].

Das X-chromosomal vererbte 5-HT_{2C}-Gen (*HTR2C*) wurde in zahlreichen Studien zur Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme untersucht. Während sich für den -997G/A- Polymorphismus (dbSNP: rs3813928) bislang kein signifikanter Einfluss auf die Gewichtszunahme fand [20] und auch für den Cys23Ser-Polymorphismus (dbSNP: rs6318) mit Ausnahme einer Studie [21] vorwiegend Negativergebnisse vorliegen [22], zeigen verschiedene andere Studien eine geringere Gewichtszunahme bei Trägern des T-Allels im -759C/T Polymorphismus (dbSNP: rs3813929) unter Therapie mit verschiedenen Antipsychotika, z.B. [23,24]. Allerdings gibt es auch Studien, in denen sich keine Assoziation dieses Polymorphismus mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme zeigte [25], sowie eine Studie, in der es einen nichtsignifikanten Trend dahingehend gab, dass das T-Allel zumindest bei Männern nicht mit einer geringeren, sondern mit einer höheren Gewichtszunahme verbunden war [26]. Zu den weiteren bislang untersuchten Genen des serotonergen Systems (5-HT₁-, 5-HT_{2A}-, 5-HT₆-Rezeptor und 5-HT-Transporter) fanden sich in zwei Studien signifikante Effekte des -102C/T Polymorphismus im 5-HT_{2A}-Gen [27,21] sowie in

einer Studie Effekte des -267C/T-Polymorphismus im 5-HT6-Gen [27]. In allen weiteren Studien wurden keine signifikanten Ergebnisse gefunden [28], so dass das 5-HT2C-Gen weiterhin das Kandidatengen mit den konsistentesten Befunden zur Gewichtszunahme ist.

Leptin wird von Adipozyten sezerniert und wirkt gemeinsam mit Insulin als kataboles Hormon, das nach Aktivierung hypothalamischer Regelkreise in der Folge zu verringerter Nahrungszufuhr und Fettspeicherung führt. Menschen, bzw. Versuchstiere, denen der Leptinrezeptor fehlt, entwickeln durch eine massive Hyperphagie aufgrund eines fehlenden Sättigungsgefühls eine ausgeprägte Adipositas [29]. Auch in der Hirnentwicklung und -reifung sowie bei der Regulation von Verhaltensweisen wie Schlaf, Sexualverhalten und Steuerung motorischer Aktivität, spielt Leptin eine wichtige Rolle [30]. Die beiden am stärksten eine Zunahme des Gewichtes verursachenden Atypika Clozapin und Olanzapin bewirken bereits während der ersten zwei Wochen der Therapie und noch vor einer klinisch beobachtbaren Gewichtszunahme einen signifikanten Anstieg der Leptinplasmaspiegel, während weniger Gewicht steigernde Substanzen keinen solchen Einfluss zeigen [31]. Somit scheint eine Verbindung zwischen einer Veränderung im Leptinhaushalt und Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme zu bestehen. In verschiedenen Studien wurde bislang ein Polymorphismus des Leptingens (*LEP*) untersucht, der sich in der Promoterregion des Gens befindet (-2548A/G, dbSNP: rs7799039). und dessen G-Allel mit niedrigeren Nüchternleptinwerten verbunden ist. Das Vorliegen des GG-Genotyps bzw. des G-Allels wurde bisher sowohl mit Adipositas bei psychisch Gesunden [32] als auch mit Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme unter Olanzapin [33] und Clozapin [34] in Verbindung gebracht. Allerdings war in einer Studie nicht das G-Allel, sondern das A-Allel mit Gewichtszunahme unter Antipsychotika assoziiert [35]. Auch für den Q223R-Polymorphismus (G>A) im Leptinrezeptor-Gen finden sich Hinweise für eine Assoziation des 223QQ-Variante zu einem höheren Körpergewicht bei antipsychotisch behandelten Patienten [36], so dass genetische Einflüsse im Leptinhaushalt auf mehreren Ebenen eine Rolle zu spielen scheinen.

Insulin ist gemeinsam mit Leptin das wichtigste katabole periphere Hormon. Es wird von β -Zellen der Bauchspeicheldrüse infolge eines durch Nahrungsaufnahme induzierten Blutzuckeranstieges sezerniert. Der Plasmaspiegel des Hormons steigt bei intaktem Regelkreis gemeinsam mit dem Körperfettanteil. Wie auch Leptin tritt

Insulin proportional zum Plasmaspiegel in das Zentralnervensystem ein und wirkt hier im Zusammenspiel mit Leptin vor allem an Rezeptoren von Neuronen im Nucleus arcuatus im Hypothalamus, wobei Nervenzellen, die in der Folge katabole Substanzen ausschütten, aktiviert, und solche, die anabol wirksame Transmitter freisetzen, inhibiert werden. Durch Leptin und Insulin werden Neuronen, die Proopiomelanocortin (POMC) und Cocain- und Amphetamin-regulierte Transkripte (CART, cocaine- and amphetamine-regulated transcript) exprimieren, aktiviert. Das exprimierte POMC wird in andere Melanocortine gespalten, u.a. in α -MSH, was im paraventriculären Nucleus des Hypothalamus an Melanocortinrezeptoren (Melanocortin-3 und Melanocortin-4-Rezeptor) bindet. Deren Aktivierung führt in der Folge zu verminderter Nahrungsaufnahme und damit zu Gewichtsverlust.

Niedrige Plasmaspiegel von Leptin und Insulin bewirken eine Aktivierung von Neuronen, die anabole Prozesse bewirken. Diese exprimieren verstärkt Neuropeptid-Y (NPY) sowie Agouti-related protein (AgRP), welche in der Folge eine vermehrte Nahrungsaufnahme und damit die Entwicklung von Übergewicht fördern [37]. Mit steigendem Insulinspiegel im Rahmen von Gewichtszunahme, die in ein metabolisches Syndrom mit Insulinresistenz münden kann, ist dieser Regelkreis gestört.

Daher ist das insulin-induzierte Gen (*INSIG*), das in den Isoformen *INSIG1* und *INSIG2* vorliegt und durch Insulin reguliert wird, ein weiteres wichtiges Kandidatengen für die interindividuelle Varianz der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme. *INSIG* blockiert die Cholesterinsynthese der Zelle, indem es mit SREBP (sterol regulatory element-binding protein) und SCAP (SREBP-cleavage activating protein) einen Komplex bildet, der verhindert, dass SREBP mit Hilfe von SCAP in den Golgiapparat der Zelle transportiert und hier aktiviert wird. Diese Aktivierung hat eine gesteigerte Cholesterin- und Fettsäuresynthese der Zelle zur Folge [38]. Stark Gewichtszunahme-induzierende Antipsychotika wie Clozapin haben eine aktivierende Wirkung auf die SREBP-Transkriptionsfaktoren, was eine erhöhte Cholesterinsynthese bewirkt [39], während z.B. Ziprasidon diesbezüglich nur einen minimalen Effekt aufweist [40]. Eine Funktionsstörung, die u. a. durch genetische Veränderungen des *INSIG*-Gens hervorgerufen sein kann, führt somit zu einer vermehrten Lipidsynthese. Von Le Hellard und Mitarbeitern wurde eine Assoziation von drei Polymorphismen (rs17587100, rs10490624 und rs17047764) in *INSIG2* mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme bei schizophrenen Patienten

beschrieben [41]. Zu einem anderen Polymorphismus (rs7566605) nahe *INSIG2* werden kontroverse Ergebnisse berichtet. So wurde eine Assoziation zu Adipositas bei psychisch gesunden Erwachsenen und Kindern beschrieben [42], was andere Studien jedoch sowohl bei psychisch Gesunden, als auch bei schizophrenen Patienten mit antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme nicht bestätigen konnten [41].

Ein Beispiel für ein anaboles, appetitanregendes peripheres Hormon ist Ghrelin, das im Gastrointestinaltrakt sezerniert wird und die Wahrnehmung von Hunger bzw. Appetit im zentralen Nervensystem stimuliert [43]. Es existieren verschiedene Studien zum Einfluss von appetitsteigernden Antipsychotika auf die Plasmaspiegel von Ghrelin, hier fanden sich jedoch sowohl Hinweise auf erhöhte [44], als auch auf verminderte [45] oder unveränderte [46,47] Plasmaspiegel. Es gibt auch Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der der Entwicklung von Adipositas und Polymorphismen im Ghrelin-Gen [48]; in einer Studie zur Gewichtsveränderung unter Olanzapin konnte jedoch keine Assoziation des untersuchten Polymorphismus (-72Leu/Met) im Ghrelin-Gen mit der Gewichtszunahme gefunden werden [21].

Es gibt noch eine Reihe weiterer zumindest theoretisch interessanter Kandidatengene im Kontext Gewichtszunahme unter Antipsychotikabehandlung: das dopaminerge System z.B. stellt einen der wichtigsten Angriffspunkt der Antipsychotika dar, wobei vor allem der Dopamin-D2-Rezeptor (*DRD2*) eine zentrale Rolle in der Energiehomöostase spielt [49]. In bislang veröffentlichten Studien fand sich jedoch kein Hinweis auf signifikante Assoziationen von Polymorphismen im *DRD2*- und *DRD4*-Gen mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme [50,51].

Das sympathische Nervensystem spielt in der Energiehomöostase des Körpers ebenfalls eine wichtige Rolle. Es wird durch den Hypothalamus reguliert und innerviert fast alle Organe. Im braunen Fettgewebe moduliert Noradrenalin β 3-Adrenorezeptoren und steuert hierdurch die Wärmeproduktion durch Lipolyse, wohingegen die Aktivierung von α -Rezeptoren diese inhibiert [52]. Polymorphismen, die Änderungen in der Rezeptorsensitivität und Expression der Rezeptoren bewirken, wurden mit der Entwicklung von Adipositas assoziiert [53]. Bei der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme fand sich eine signifikante Assoziation des -1291C/G-Polymorphismus im Adrenorezeptor α 2A-Gen (*ADR α 2A*) mit einer höheren Gewichtszunahme bei Trägern des GG-Genotyps [54,55]. In einer Studie wurde eine

Assoziation des Arg/Arg-Genotyps im 64Trp/Arg-Polymorphismus mit Olanzapin-induzierter Gewichtszunahme gefunden [21].

Die intrazelluläre Kopplung monoaminerger Rezeptoren, wie z.B. der Serotoninrezeptoren, an G-Proteine macht diese ebenfalls zu interessanten Kandidatengen für Gewichtszunahme unter Antipsychotika. Im *GNB3*-Gen, das die β -Untereinheit 3 des G-Proteins kodiert, wurde das T-Allel des -825C/T-Polymorphismus, das mit einer verbesserten Symptomreduktion unter Antipsychotika verbunden ist [56], mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme assoziiert [57], wobei auch Studien existieren, die keine Assoziation nachweisen konnten [58].

Der Einfluss der Affinität von Antipsychotika zum Histamin-Rezeptor 1 (HR-1) auf die induzierte Gewichtszunahme, wie von Kim und Mitarbeitern [9] beschrieben, legt auch das HR-1-Gen (*HRH1*) als Kandidatengen nahe. Bislang wurde jedoch keine Assoziation zu Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme gefunden [59,21], wobei in einer Studie gezeigt wurde, dass hohe Gewichtszunahme verursachende Substanzen wie Olanzapin die Histamin-1 Rezeptor-mRNA-Expression im Hypothalamus signifikant reduzieren [60].

Eine Assoziation von Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme fand sich bislang auch für Polymorphismen im Gen des Synaptosom-assoziierten Protein mit 25 Kilodalton (*SNAP-25*), einem präsynaptischen Membranprotein, das die Sekretion von Neurotransmittern in den synaptischen Spalt reguliert. Der Ddel-, MnlI- und Tail-Polymorphismus, die vermutlich die mRNA-Stabilität beeinflussen, in der 3'UTR-Region des Gens zeigten einen nichtsignifikanten Trend [61] bzw. eine signifikante Assoziation [62] mit Gewichtszunahme unter antipsychotischer Therapie.

Für den *Brain-derived-neurotropic-factor* (*BDNF*), der neben zahlreichen weiteren zentralnervösen Funktionen eine appetithemmende Wirkung besitzt und dessen Plasmaspiegel während antipsychotischer Behandlung signifikant erniedrigt sind [63], finden sich Hinweise, dass Träger des Met-Allels im 66-Val/Met-Polymorphismus unter antipsychotischer Medikation weniger Gewicht zunehmen als Nicht-Träger [27,63].

Des Weiteren wurden unter Therapie mit Antipsychotika erhöhte Serumwerte des inflammatorischen Neuropeptids Tumornekrose Faktor-alpha (*TNF- α*), der in der Gewichtsregulation, Immunabwehr und bei der Pathogenese des Diabetes mellitus eine wichtige Rolle spielt, beobachtet [8], so dass funktionelle Veränderungen im *TNF- α* -Gen ebenfalls eine Rolle bei der Antipsychotika- assoziierten

Gewichtszunahme spielen könnten. Bislang fanden sich jedoch nur nichtsignifikante Trends für einen Polymorphismus (-308G/A) in der Promoterregion des Gens [64].

Da antipsychotische Substanzen mit wenigen Ausnahmen vorwiegend durch das hepatische Cytochrom-P450-System abgebaut werden, wurden auch Polymorphismen in den Genen für wichtige Enzyme (*CYP2D6* und *CYP1A2*) untersucht, die die Funktion der Enzyme und damit den Plasmaspiegel von Antipsychotika beeinflussen. Für *CYP1A2* fand sich lediglich ein nichtsignifikanter Trend [65], während in einer Studie Träger des *3- und *4-Genotyps signifikant mehr und homozygote Träger des *1-Genotyps, des Wildtyps, weniger Gewicht zunahmen [66].

Schließlich zeigten genomweite Assoziationsstudien zur Gewichtszunahme deutliche Hinweise auf eine Relevanz des Polycystic-kidney-and-hepatic-diseases 1-Gens (*PKHD1*) und des Peptidylglycine- α -amidating-monooxygenase-Gens (*PAM*) sowie auf einen Genort auf Chromosom 12q24, in dessen Region das Pro-Melanin-Concentrating-Hormone-Gen (*PMCH*) liegt, das an der Regulation der Nahrungszufuhr beteiligt ist [67].

1.3 Zielsetzung der Arbeit

In einer Vielzahl von Studien konnten bislang Hinweise auf die Bedeutung genetischer Einflüsse auf die Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme gezeigt werden. Dabei fanden sich jedoch teilweise widersprüchliche Ergebnisse in den unterschiedlichen Untersuchungen, was durch verschiedene Faktoren, wie z.B. geringe Fallzahl, variierende eingesetzte antipsychotische Substanzen, unterschiedliche Beobachtungszeiträume, Erkrankungsdauer der Probanden, Erkrankungszeiträume, Ethnizität und weitere klinische Charakteristik der Patienten, erklärbar ist.

Trotz der genannten Einschränkungen gelten inzwischen einige Gene als vielversprechende Kandidatengene für die Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme, obwohl bislang kein Gen existiert, zu dem in verschiedenen Studien ausschließlich eindeutig positive Assoziationen gezeigt werden konnten.

Das Ziel pharmakogenetischer Forschungsbemühungen ist es jedoch, in Zukunft bereits vor der Einstellung auf ein Medikament vom Vorliegen eines Risikogens bzw.

-allels Rückschlüsse auf die zu erwartende Gewichtszunahme eines Individuums zu ziehen. Die individualisierte und Genotyp-gestützte Pharmakotherapie ist bezüglich der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme aufgrund der widersprüchlichen Studienlage aktuell noch nicht realisiert.

Weitere genetische Studien sind somit erforderlich, um bereits existierende Befunde durch eine unabhängige Replikation zu bestätigen oder zu widerlegen und um die Bedeutung potentieller neuer Kandidatengene bzw. bislang nicht untersuchte Polymorphismen für das Ausmaß der Gewichtszunahme unter Antipsychotika zu erforschen.

Solche Untersuchungen sind grundsätzlich sowohl als Kopplungs- als auch als Assoziationsstudien durchführbar. Klassische Kopplungsstudien werden mit Kollektiven von Verwandten ersten Grades durchgeführt und eignen sich vorwiegend für die Erforschung monogen vererbter Erkrankungen, wobei ein eindeutig klassifizierbarer Phänotyp mit mehreren betroffenen Personen in der Familie und Kenntnisse des Erbgangs erforderlich sind. Demgegenüber erfordern Assoziationsstudien, bei denen im sogenannten *Kandidatengenansatz* strukturelle Veränderungen in für die Entstehung eines Merkmals potentiell relevanten Kandidatengenen untersucht werden, zwar eine höhere Fallzahl mit einer ausreichend großen Kontrollgruppe. Diese sind jedoch trotz höherer Anfälligkeit für Störfaktoren [68] auch für Fragestellungen bezüglich polygener und komplex vererbter Merkmale, wie z.B. die Veranlagung zur Entwicklung von Übergewicht, und für die Untersuchung von Genen mit nur moderatem Effekt auf den Phänotyp geeignet. Um ein funktionales Allel identifizieren zu können, muss dieses allerdings entweder den Phänotyp direkt beeinflussen oder in signifikantem Kopplungsungleichgewicht zu dem genotypisierten Marker stehen, was eine sorgfältige Auswahl der Kandidatengene für Assoziationsstudien erforderlich macht. Im Fall der Gewichtszunahme unter Antipsychotika sind an drei Systemen beteiligte Gene von besonderem Interesse: Gene, die I) in molekulare pathogenetische Effektorgrößen der Gewichtsregulation eingreifen, II) für Rezeptoren kodieren, an denen Antipsychotika angreifen und die III) in die Pharmakokinetik, d.h. in den Metabolismus oder die Bioverfügbarkeit der Antipsychotika im Organismus involviert sind[48].

In der vorliegenden genetischen Assoziationsstudie sollen vielversprechende Kandidatengene aus den ersten beiden genannten Systemen untersucht werden.

Es wird zum einen das Kandidatengen mit den bislang konsistentesten Befunden untersucht, *HTR2C*, das für den 5-HT_{2C}-Rezeptor kodiert, und ein Angriffspunkt der meisten atypischen Antipsychotika ist. Hierbei soll gezeigt werden, ob sich die bisher in einigen, wenn auch nicht allen Studien mit unterschiedlichen Studiendesigns gefundenen Positivergebnisse zum -759C/T- und zum Cys23Ser-Polymorphismus in unserer Stichprobe replizieren lassen. Zusätzlich sollen Polymorphismen in *HTR2C* untersucht werden, die bislang wenig berücksichtigt wurden, wie der -997G/A-Polymorphismus, bzw. zu denen noch keine Veröffentlichungen im Zusammenhang mit Gewichtszunahme unter Antipsychotika beschrieben sind, wie der -1165A/G-Polymorphismus (dbSNP: rs498207).

Zum zweiten soll versucht werden, die vorliegenden Positivergebnisse zu Kandidatengen, die an für die Entstehung von Adipositas relevanten Regelkreisen beteiligt sind, zu replizieren. Hierfür wurde der -2548A/G-Polymorphismus in der Promoterregion des Leptingens ausgewählt, da sich auch hier widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Assoziation des Polymorphismus zur Gewichtszunahme fanden und dessen Einfluss damit bisher nicht abschließend geklärt ist.

Zum dritten werden vier Polymorphismen (rs7566605, rs17587100, rs10490624 und rs17047764) untersucht, die im bzw. nahe dem *INSIG2*-Gen lokalisiert sind, das ebenfalls am Fettstoffwechsel und damit an der Entstehung von Adipositas beteiligt ist. Zum rs7566605-Polymorphismus existieren mehrere Studien in der Allgemeinbevölkerung und zur Gewichtszunahme unter Antipsychotika, die jedoch widersprüchliche Ergebnisse lieferten. Zu den anderen drei Polymorphismen existiert nur eine einzelne Studie, die jedoch vielversprechende Hinweise auf eine Assoziation zu Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme lieferte. Auch hier soll geprüft werden, ob sich die vorliegenden Ergebnisse in unserer Stichprobe belegen und damit die Hinweise auf eine Rolle von *INSIG2* in der Pathogenese der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme bestätigen lassen.

2 Methoden

2.1 Studiendesign

Die genetischen Grundlagen der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme in drei Kandidatengenen (*HTR2C*, *LEP* und *INSIG2*) wurden im Rahmen einer Assoziationsstudie mit retrospektivem, naturalistischem Fall-Kontroll-Studiendesign untersucht.

Einschlusskriterien der Studie waren das gesicherte Vorliegen einer Schizophrenie oder schizoaffektiven Störung nach DSM-IV- bzw. ICD-10-Kriterien, ein Alter der Patienten zwischen 18-70 Jahren und die vorangegangene Behandlung mit einem atypischen Antipsychotikum mit hohem Risiko für eine Gewichtszunahme (Clozapin, Olanzapin, Risperidon, Amisulprid und Quetiapin) [7] bzw. einer antipsychotischen Kombinationstherapie, die mindestens ein Atypikum enthalten sollte, über mindestens 6 Wochen mit und ohne signifikante Gewichtszunahme (>7% des Ausgangsgewichtes) nach den Kriterien der Food and Drug Administration (FDA). Vor Einstellung auf die Behandlung mit Antipsychotika sollten die Patienten für mindestens vier Monate kein Atypikum erhalten haben. Es wurden sowohl Patienten mit Erstmanifestation und erstmaliger Exposition gegenüber der Substanz, als auch Patienten mit längerem Krankheitsverlauf und früherer antipsychotischer Vorbehandlung in die Studie eingeschlossen.

Ausschlusskriterien waren ein Bodymass-Index >30 kg/m² und/oder das Vorliegen eines Diabetes mellitus zum Zeitpunkt der Einstellung auf die antipsychotische Medikation sowie eine bestehende Substanzabhängigkeit.

Daten zur Diagnose, Medikation und zu den Gewichtsverläufen wurden in den Jahren 2004-2008 retrospektiv aus Krankengeschichten voll- und teilstationärer Aufenthalte der teilnehmenden Patienten in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité Campus Benjamin Franklin sowie in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Charité Campus Mitte erhoben. Dabei wurden Körpergewicht und Größe der Probanden zum Zeitpunkt der Einstellung auf das Atypikum und der Verlauf des Körpergewichtes sowie eine eventuell vorliegende Begleitmedikation der folgenden sechs Wochen aus den Patientenakten erfasst. Als Maß für die Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung bzw. zur Beurteilung der klinischen Wirksamkeit der antipsychotischen Behandlung wurde die während der Behandlungszeit regelmäßig durchgeführte Positive

and Negative Syndrom Scale (PANSS) gewählt [69]. Eine höhere Punktzahl in dieser Fremdbeurteilungsskala spricht für einen höheren aktuellen Schweregrad der Erkrankung, wobei allerdings keine *Cut-off*-Werte existieren.

Soweit sie nicht aus den Krankenakten zu entnehmen und von den Patienten und Behandelnden zuverlässige Angaben zu erhalten waren, wurden Daten bezüglich früherer antipsychotischer Behandlung vor dem Beobachtungszeitraum der Studie, Substanzkonsum und Erkrankungsdauer anamnestisch erfasst.

Alle Patienten wurden vor der Teilnahme an der Studie ausführlich über die Durchführung und Zielsetzung der Untersuchung aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin geprüft und genehmigt und entspricht der Deklaration von Helsinki.

2.2 Genotypisierung

Für die Genotypisierung wurde den Patienten durch eine venöse Punktion einmalig 20 ml Vollblut entnommen, welches in EDTA-Röhrchen bis zur weiteren Verarbeitung bei -60°C gelagert wurde.

2.2.1 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion erfolgte durch Aussalzen. Zu je 6ml des aufgetauten Vollblutes wurden jeweils 40ml Puffer A (Succhrose, 1M MgCl, Triton-X, 1M Tris-Hcl pH 8,0) hinzugegeben. Nach 15-minütiger Lyse bei 4°C, Abzentrifugieren bei 5000 rpm für 5 Minuten und Verwerfen des Überstandes wurden zu dem Pellet 2 ml Puffer B (1M Tris-Hcl ph 8,0,0,5M Na-EDTA, 1M NaCl) sowie nach Resuspension 500µl 5M Na-perchlorat und 2 ml Chloroform zur Lösung von Lipiden und hydrophoben Proteinen hinzugefügt. Nach erneutem Zentrifugieren über 10 Minuten bei 13000 rpm wurde 1 ml des Überstandes in ein neues Röhrchen überführt und mit 2 ml Isopropanol vorsichtig geschwenkt, um die DNA auszufällen. Das entstandene DNA-Pellet wurde erneut in ein neues Röhrchen überführt und mit 1 ml 80% Ethanol ausgewaschen. Nach kurzem Zentrifugieren wurde der Überstand verworfen und das Pellet getrocknet. Anschließend

wurde die DNA vorsichtig in 300 µl Aqua bidest gelöst. Vor Durchführung der Taqman-PCR wurde die DNA-Konzentration in allen Proben photometrisch bestimmt.

2.2.2 TaqMan®-PCR

Die Untersuchungen zur Genotypisierung wurden in Laboren des Max-Delbrück-Zentrums in Berlin-Buch in der Arbeitsgruppe von Priv.-Doz. Dr.med. Sander durchgeführt. Tabelle 1 zeigt die einzelnen untersuchten Polymorphismen mit Angabe der Referenznummer (rs-Nummer) des jeweiligen SNPs laut SNP-Datenbank (dbSNP) des National Center for Biology Information (NCBI), des Wildtypallels, Angabe des häufigeren bzw. selteneren Allels des Polymorphismus (Major- und Minorallel) sowie der Position im jeweiligen Gen nach HapMap Data Rel 21/phasell Jul06, NCBI B35 Assembly, dbSNP b125 (www.hapmap.org).

Tabelle 1: Untersuchte Gene mit jeweiligen Polymorphismen

| Gen | Polymorphismus | dbSNP | Majorallel | Minorallel | Position |
|---------------|----------------|------------|------------|------------|------------------|
| <i>HTR2C</i> | Cys23Ser | rs 6318 | G | C | Chr. X 113871991 |
| | -1165A/G | rs498207 | A** | G | Chr. X 113641096 |
| | -997G/A | rs3813928 | G | A | Chr. X 113641262 |
| | -759C/T | rs3813929 | C | T | Chr. X 113641500 |
| <i>LEP</i> | -2548A/G | rs7799039 | A | G | Chr. 7 127472734 |
| <i>INSIG2</i> | n.a. | rs17587100 | A | C | Chr. 2 118554880 |
| | n.a. | rs10490624 | T** | C | Chr. 2 118578962 |
| | n.a. | rs17047764 | G | C | Chr. 2 118585052 |
| | n.a.* | rs7566605 | G | C | Chr. 2 118552255 |

Anmerkungen: * nicht anwendbar; ** Minus-Strang.

Um den jeweiligen Genotyp zu bestimmen, erfolgte die Genotypisierung mit TaqMan® 5'-Exonuklease Assays von Applied Biosystems, Roster City, CA, USA [70].

Mit dieser Methode ist es möglich, bekannte Mutationen oder Polymorphismen mit wenigen und automatisierten Abläufen zu untersuchen, da mit einem einzelnen Arbeitsschritt Amplifikation und Detektion in der PCR, einer sogenannten „Real-time“-PCR, erfolgen. Für alle Assays werden das gleiche thermozyklische Protokoll sowie die gleichen Reaktionspuffer benutzt.

Um die spezifischen Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) zu detektieren, werden zwei allelspezifische Sonden verwendet (bi-allelisches System), die die Untersuchung beider Allele in derselben Probe ermöglichen. Die Sonden bestehen aus Oligonukleotiden, die zur Zielsequenz des zu untersuchenden DNA-Abschnittes komplementär sind. Sie sind jeweils mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluoreszein-Derivat) markiert, z.B. VIC und FAM, dessen Emission durch einen Quencher-Farbstoff (Rhodamin-Derivat) unterdrückt wird, solange Reporter und Quencher an die Sonde binden. Dabei wird der sogenannte „Förster resonance energy transfer“ (FRET) ausgenutzt, indem das Donor-Fluorochrom (Reporter) durch die räumliche Nähe einen Teil seiner Energie an das Akzeptor-Fluorochrom (Quencher) abgibt und somit zunächst nicht fluoresziert. Das 3'-Ende der Sonde wird durch den Quencher blockiert, so dass dieses nicht als Primer während der PCR-Amplifikation dienen kann. Während der PCR hybridisieren zunächst die spezifischen Primer sowie die Fluoreszenz-markierte Sonde an den Matrizenstrang. Bei der folgenden Extension des Gegenstrangs durch die Taq-Polymerase wird die Sonde am 5'-Ende verdrängt. Schließlich wird das Reportermolekül durch die Taq-Polymerase mittels 5'→3'-Exonukleaseaktivität durch Hydrolyse abgespalten. Durch die größere räumliche Trennung vom Quencher, der an die Sonde gebunden bleibt, und somit abnehmenden FRET wird die charakteristische Fluoreszenz des Reporter-Farbstoffes emittiert, deren Menge proportional zur gebildeten PCR-Produktmenge ist. Die Messung der Fluoreszenz erfolgt am Ende von jedem Zyklus mittels Laser, als Ergebnis wird ein Streudiagramm ausgegeben. Sind Fluoreszenzsignale beider in der Probe enthaltener Farbstoffe messbar, liegt Heterozygotie vor, ist nur einer der zugesetzten Farbstoffe erhöht messbar, lässt das auf Homozygotie des jeweiligen Polymorphismus schließen. Die Detektion der Fluoreszenz nach jedem PCR-Zyklus ermöglicht auch die Quantifizierung der Ausgangsmenge an DNA, indem das Fluoreszenzniveau, das proportional zur Amplifikationsmenge ist, in einer logarithmischen Funktion gegen die benötigte Zyklenzahl dargestellt wird. Dabei wird als Maß der CT-Wert definiert, der für jede cDNA-Probe angibt, bei welcher Zykluszahl in der exponentiellen Phase ein

Fluoreszenzniveau erreicht wird, das die Hintergrundfluoreszenz zum ersten Mal messbar übersteigt (Baseline). Zum Vergleich der Expression eines Gens in verschiedenen DNA-Proben kann die relative Expression im Verhältnis zu einem ubiquitär exprimierten Gen, einem sogenannten „Housekeeping-Gene“ wie β -Actin oder GAPDH, bestimmt werden.

Da die Quantifizierung *während* der Amplifikation erfolgt, ist im Anschluss keine Gelelektrophorese mehr nötig.

Für die vorliegende Untersuchung wurden sämtliche Sonden und Primer aus vorgefertigten TaqMan® SNP Genotypisierungs-Assays (Assays on Demand) bezogen. Jeder Assay enthielt zwei nicht-gelabelte forward und reverse Primer sowie je eine VIC®-gelabelte Sonde zur Detektion von Allel 1 und eine FAM™-gelabelte Sonde für Allel 2.

Im Einzelnen wurden folgende Assays der Firma Applied Biosystems benutzt:

Tabelle 2: Verwendete TaqMan-Assays von Applied Biosystems

| Gen | SNP | Assay-ID |
|---------------|------------|---------------|
| <i>HTR2C</i> | rs6318 | C_2270166_10 |
| | rs498207 | C_2308054_10 |
| | rs3813928 | C_32343284_10 |
| | rs3813929 | C_27488117_10 |
| <i>LEP</i> | rs7799039 | C_1328079_10 |
| <i>INSIG2</i> | rs17587100 | C_34598497_10 |
| | rs10490624 | C_3262741_10 |
| | rs17047764 | C_34598524_10 |
| | rs7566605 | C_29404113_20 |

In einer 384 Well-Titerplatte wurden pro Well jeweils 5 ng DNA in einem Gesamtvolumen von 4 μ l amplifiziert, das 2,5 μ l TaqMan Universal PCR-Mastermix mit AmpliTaq® Gold DNA Polymerase, 0,15 μ l des jeweiligen Assays mit den jeweiligen Primern (Tabelle 3) und Sonden für beide Allele mit VIC- und FAM-Fluoreszenzfarbstoff

und 1,85 µl Aqua bidest enthielt. Nach Abdecken der Platten mit einer Deckmatte fand die Amplifikation im vorgeheizten Cycler wie folgt statt:

- 50° für 2 Minuten
- Inkubation bei 95° für 10 Minuten
- 45 Zyklen mit jeweils
 - 95° für 15 Sekunden
 - 60° für eine Minute
- 16° ∞

Im Anschluss an die Amplifikation wurden die Platten kurz zentrifugiert, nach Abziehen der Deckmatte mit TaqMan-Folie beklebt und für 2 Minuten bei 2400 rpm erneut zentrifugiert.

Die Messung der Fluoreszenz zur Ermittlung der vorliegenden Genotypen erfolgte mit dem Prism 7900HT Fast Real-Time PCR System mit der Software SDS 2.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

2.3 Statistische Auswertung

Alle statistischen Analysen außer der Berechnung von Kopplungsungleichgewicht und Vorliegen des Hardy-Weinberg-Equilibriums (s.u.) wurden mit dem Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) in Version 15.0 und 16.0 durchgeführt.

Zur Untersuchung der Assoziation der jeweiligen Polymorphismen mit der Gewichtszunahme wurden univariate Varianzanalyse (ANOVA, *analysis of variance*) sowie eine logistische Regressionsanalyse angewendet. Für Mittelwertvergleiche im Rahmen der deskriptiven Statistik klinischer Variablen in der Stichprobe wurde ebenfalls die univariate ANOVA eingesetzt.

Zunächst wurde für die Berechnung der Assoziation zur Gewichtszunahme für alle Polymorphismen eine univariate Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Mittels Varianzanalyse kann die Varianz einer oder mehrerer Zielvariablen (abhängige Variablen) durch den Einfluss einer oder mehrerer Einflussvariablen (unabhängige Variablen) geprüft bzw. erklärt werden. Überprüft wird die Hypothese, dass die Mittelwerte der verglichenen Gruppen gleich sind. Voraussetzungen für die Durchführung einer ANOVA sind Varianzhomogenität und eine Normalverteilung der

Stichprobenvariablen, außerdem sollten die Variablen innerhalb der einzelnen Gruppen möglichst homogen sein, wobei der Test relativ unempfindlich gegenüber Inhomogenität ist.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Gewichtszunahme in % gegenüber dem Ausgangsgewicht als abhängige Variable sowie das Vorliegen der jeweiligen Genotypen (1/1, 1/2, 2/2) bzw. der Allelträgerstatus (Allel vorliegend ja/nein) eines Polymorphismus als unabhängige Variable angenommen, das Signifikanzniveau lag bei 5%. Die Homogenität der Variablen zwischen den Gruppen, die eine Voraussetzung für die ANOVA darstellt, wurde mit Hilfe des Levene-Tests überprüft. Anschließend an die ANOVA wurden, soweit mehr als zwei Vergleichsgruppen vorhanden waren, Posthoc-Tests durchgeführt um durch Mehrfachvergleiche zu ermitteln, welche Mittelwerte sich signifikant unterscheiden. Hierzu wurde der *LSD-Test* (Least significant difference, geringste signifikante Differenz) benutzt, der via T-Tests paarweise Vergleiche zwischen Gruppenmittelwerten ohne Korrektur der Fehlerrate bei Mehrfachvergleichen durchführt. Für die *HTR2C*-Polymorphismen wurden aufgrund der X-chromosomalen Vererbung mit Hemizygotie der Männer, d.h. Vorliegen nur eines Allels, geschlechtsgetrennte Analysen durchgeführt.

Im Anschluss wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Die logistische Regression ist ein multivariates Verfahren, das die Abhängigkeit einer kategorialen Variablen von verschiedenen unabhängigen Variablen überprüft. Sie ähnelt dem linearen Regressionsmodell, ist jedoch auf Modelle mit dichotomen abhängigen Variablen, wie bei den vorliegenden Daten, sowie bei fehlender Normalverteilung oder Varianzhomogenität anwendbar. Für die logistische Regression wurden aus *HTR2C* und *INSIG2* nur diejenigen Polymorphismen ausgewählt, die in der ANOVA ein signifikantes Ergebnis (*HTR2C*) bzw. einen nichtsignifikanten Trend (*INSIG2*) ergaben. Diese Selektion wurde vorgenommen, da die Polymorphismen in beiden Genen jeweils Hinweise auf eine gemeinsame Vererbung (Kopplungsungleichgewicht) zeigten und miteinander korrelierte Variablen in einer logistischen Regression zu falsch positiven Ergebnissen führen können. Zunächst wurden nur die einzelnen Polymorphismen als unabhängige Variablen sowie die Gewichtszunahme als abhängige dichotome Variable gewählt. Anschließend wurden weitere klinische Variablen als Kovariaten (Alter, Geschlecht und Erkrankungsdauer) in die Analyse mit einbezogen.

Für den Polymorphismus in *HTR2C* mit den robustesten Ergebnissen wurde in einem nächsten Schritt eine Analyse unter Ausschluss aller weiteren Polymorphismen

durchgeführt, um möglichst wenig Störgrößen in die Berechnung einzubeziehen. Anschließend wurden statistische Ausreißer bezüglich der Erkrankungsdauer aus der Rechnung unter Beibehaltung der weiteren klinischen Variablen (Alter, Geschlecht und Erkrankungsdauer) ausgeschlossen, da solche ebenfalls nicht in die Berechnungen einbezogen werden sollten, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Zuletzt erfolgte aufgrund der X-chromosomalen Vererbung von *HTR2C* abschließend eine geschlechtsgetrennte logistische Regressionsanalyse dieses Polymorphismus.

Aufgrund des explorativen Designs der Untersuchung wurde keine Korrektur für multiples Testen durchgeführt.

Um zu untersuchen, ob die verschiedenen Polymorphismen in *HTR2C* und in *INSIG2* gemeinsam miteinander vererbt werden, d.h. ob verschiedene Haplotypen existieren, wurde Haploview wie von Barrett und Mitarbeitern beschrieben [71] in Version 4.1 verwendet, die sich auch für Analysen von X-chromosomal vererbten Genen eignet. Dieses Programm berechnet die Haplotypenverteilung in einer gegebenen Stichprobe und testet die Assoziation von Allelen und Haplotypen mit einer Erkrankung bzw. einer klinischen Variable durch Anwendung eines Pearson goodness-of-fit χ^2 -Test. Für die Untersuchung wurden die Patienten anhand des Vorliegens bzw. Nicht-Vorliegens einer signifikanten Gewichtszunahme ($\geq 7\%$) in zwei Gruppen eingeteilt. Nur Haplotypen mit einer Frequenz ≥ 0.10 wurden in die folgende Berechnung der Haploblocks mit einbezogen.

Das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Equilibriums (HWE), das ein mathematisches Modell für eine ideale Population mit stabilen Allelfrequenzen darstellt und als Qualitätsmarker für die Genotypisierungsergebnisse dient, wurde ebenfalls mittels Haploview Version 4.1 überprüft. Bei einem $p > 0.05$ wird davon ausgegangen, dass keine Verletzung des HWE vorliegt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Charakteristik des Studienkollektivs

Es wurden 128 Patienten mit der Diagnose einer Schizophrenie (N=109) oder einer schizoaffektiven Störung (N=19) gemäß Kriterien von ICD-10 und DSM-IV in die Studie eingeschlossen. Dabei bestand bei 98 Patienten eine paranoide Schizophrenie, bei vier Patienten eine desorganisierte sowie bei sieben Patienten eine undifferenzierte Schizophrenie. Zum überwiegenden Teil stammten die eingeschlossenen Patienten aus Westeuropa (N=110), zehn Patienten stammten aus der Türkei sowie acht aus Osteuropa. An der Studie nahmen 80 Männer und 48 Frauen teil. Das mittlere Alter der Patienten lag bei 32,87+/-11,6 Jahren, die mittlere Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der Einstellung auf ein Antipsychotikum lag bei 82,34+/-93,46 Monaten bzw. 6,86 Jahren. Dabei waren die Patienten im Durchschnitt bereits über 31,08 Monate bzw. 2,59+/-1,107 Jahre während des Krankheitsverlaufs mit einem anderen Antipsychotikum vorbehandelt worden. 22 Patienten waren ersterkrankte und wurden zum ersten Mal antipsychotisch behandelt. Von den bereits zu einem früheren Zeitpunkt mit einem Antipsychotikum behandelten Patienten hatten 32 unter der Vorbehandlung signifikant an Gewicht zugenommen.

Alle Patienten erhielten im Untersuchungszeitraum eine antipsychotische Medikation, die mit einem hohen Risiko für eine Gewichtszunahme behaftet war. 69 Patienten wurden bis Woche 6 in Monotherapie mit Clozapin (N=24), Olanzapin (N=33), Risperidon (N=8), Amisulprid (N=2) oder Quetiapin (N=2) behandelt. 59 Patienten hatten im Beobachtungszeitraum zwei (N=52) oder mehr (N=7) verschiedene Antipsychotika erhalten, wobei die Kombination bei 17 Patienten mit zwei Substanzen und bei zwei Patienten mit mehr Substanzen ein typisches Antipsychotikum beinhaltete. Bei den weiteren Patienten mit mehr als einem Antipsychotikum setzte sich die Behandlung aus Clozapin (N=25), Olanzapin (N=24), Risperidon (N=30), Amisulprid (N=12) und Quetiapin (N=12) zusammen.

55 Patienten erhielten des Weiteren im Beobachtungszeitraum eine potentiell gewichtsrelevante Begleitmedikation mit Valproat (N=23), Lithium (N=5), Carbamazepin (N=5), Lamotrigin (N=1) oder einem Antidepressivum (N=40), wobei 21 Patienten mit mehr als einer begleitenden Substanz behandelt wurden.

Die durchschnittlich erreichte Punktzahl in der Positive and Negative Syndrom Scale (PANSS) lag zum Zeitpunkt der Einstellung auf Medikation bei 21,80+/-6,07 Punkten für Positivsymptome sowie bei 23,28+/-6,54 Punkten für Negativsymptome. Nach sechswöchiger antipsychotischer Behandlung lag die durchschnittliche Punktzahl bei 14,11+/-5,27 Punkten für Positivsymptome sowie bei 18,89+/-7,81 Punkten für Negativsymptome. Diese Punktwertreduktion reflektiert eine relevante klinische Verbesserung [72].

Die Mittelwerte des Ausgangsgewichtes sowohl der Gesamtstichprobe als auch für Männer und Frauen getrennt sowie bei Woche sechs nach Beginn der Medikamenteneinnahme sind mit Angabe der Standardabweichung (SD) in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Gewichtsdaten mit Standardabweichung (SD) vor und nach sechswöchiger antipsychotischer Behandlung

| Klinische Variable | Gesamt (N=128) | Männer (N=80) | Frauen (N=48) |
|--------------------------------|----------------|---------------|---------------|
| BMI bei Baseline | 23,45+/-3,69 | 24,03+/-3,47 | 22,48+/-3,89 |
| BMI Woche 6 | 25,13+/-4,06 | 25,72+/-3,85 | 24,16+/-4,26 |
| Gewicht Baseline in kg | 71,92+/-14,54 | 77,52+/-13,08 | 62,52+/-11,80 |
| Gewicht Woche 6 in kg | 77,09+/-15,95 | 83,03+/-14,53 | 67,21+/-13,16 |
| Gewichtszunahme in kg | 5,18+/-4,11 | 5,47+/-4,38 | 4,69+/-3,61 |
| Gewichtszunahme in % | 7,26+/-5,54 | 7,10+/-5,50 | 7,53+/-5,73 |
| Gewichtszunahme \geq 7 % (N) | 62 | 37 | 25 |
| Gewichtszunahme \geq 7% (%) | 48,4 | 46,2 | 52,1 |

Da der *Cut-off*-Wert für eine signifikante Gewichtszunahme bei 7% des Ausgangsgewichtes angelegt wurde, wurden Patienten mit und ohne Gewichtszunahme bezüglich Alter, Geschlecht, BMI bei Baseline und Erkrankungsdauer in Monaten verglichen, um auszuschließen, dass Unterschiede bezüglich der Gewichtszunahme lediglich durch Störgrößen in Form unterschiedlicher klinischer Variablen bedingt sind. Dabei fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen (Alter: $df=38$, $F=1.116$, $p=.331$; Geschlecht: $df=1$, $F=.404$, $p=.526$, BMI bei Baseline: $df=107$, $F=1.265$, $p=.281$; Erkrankungsdauer: $df=32$, $F=.773$, $p=.790$), so dass von ähnlichen Ausgangsbedingungen auszugehen ist. Demgegenüber waren die Unterschiede im

Ausmaß der Gewichtszunahme zwischen beiden Gruppen hochsignifikant ($df=1$, $F=173.006$, $p=.000$). Die Daten der Stichprobe sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Vergleich klinischer Variablen bei Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme

| Klinische Variable | Zunahme >7% (N=62) | Zunahme <7 % (N=66) |
|---------------------------|--------------------|---------------------|
| BMI bei Baseline | 23,35+/-3,91 | 24,03+/-3,47 |
| BMI in Woche 6 | 26,04+/-4, 35 | 25,72+/-3,85 |
| Alter (Jahre) | 39,65+/-12,36 | 37,68+/-11,47 |
| Mittlere Zunahme (%) | 11,59+/-4,42 | 3,19+/-2,64 |
| Erkrankungsdauer (Monate) | 5,18+/-4,11 | 5,47+/-4,38 |

Da die in die Studie eingeschlossenen Patienten mit unterschiedlichen antipsychotischen Substanzen behandelt wurden, wurde die durchschnittliche Gewichtszunahme auch für die verschiedenen Substanzen getrennt analysiert, wobei alle Patienten, die während des Beobachtungszeitraums mit mehr als einer antipsychotischen Substanz behandelt wurden, zu einer Gruppe zusammengefasst wurden. Dabei fanden sich beim Vergleich der Mittelwerte weder beim Ausgangs- BMI bei Baseline ($df=5$, $F=1.617$, $p=.161$) noch in der Gewichtszunahme nach sechswöchiger Behandlung ($df=5$, $F=.219$, $p=.954$) signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Somit konnte für die folgenden Berechnungen zur Assoziation zwischen einzelnen Polymorphismen mit der substanzinduzierten Gewichtszunahme weitgehend ausgeschlossen werden, dass die interindividuellen Unterschiede der Stichprobe im Ausmaß der Zunahme lediglich durch die unterschiedliche medikamentöse Behandlung bedingt ist.

Da 55 Patienten im Beobachtungszeitraum eine das Körpergewicht beeinflussende Begleitmedikation in Mono- oder Kombinationstherapie erhielten, wurde auch untersucht, ob Unterschiede in der durchschnittlichen Gewichtszunahme zwischen den Patienten mit und ohne (N=73) Begleitmedikation bestanden.

Die Patienten, die keine Begleitmedikation erhielten, nahmen im Mittel 6,78+/-4,98 % des Ausgangsgewichtes zu, während die Patienten mit Begleitmedikation im Mittel 7,89+/-6,20% des Ausgangsgewichtes zunahmen. Dies spricht zwar für einen gewissen Einfluss der Begleitmedikation auf die Gewichtszunahme, die Unterschiede zwischen

den Gruppen waren jedoch in der univariaten ANOVA nicht statistisch signifikant ($df=1$, $F=1.250$, $p=.266$). Es bestand ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied in der Gewichtszunahme zwischen den verschiedenen als Begleitmedikation eingesetzten Substanzen ($df=5$, $F=1.333$, $p=.266$).

3.2 HTR2C

3.2.1 Genotyp- und allelträgerabhängige Gewichtszunahme

Zunächst wurde die Assoziation von vier Polymorphismen (dbSNP rs6318, rs498207, rs3813928 und rs3813929) in *HTR2C* mit der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme untersucht. Da sich *HTR2C* auf dem X-Chromosom befindet und Männer somit lediglich hemizygot sind, d.h. nur ein Allel des jeweiligen Polymorphismus besitzen, wurden die Analysen nicht nur für die Gesamtstichprobe, sondern auch nach Geschlecht getrennt durchgeführt.

Die Häufigkeit der Allele bzw. Genotypen (bei Frauen) der einzelnen Polymorphismen in der Stichprobe sind im Vergleich zu Daten der europäischen Allgemeinbevölkerung in Tabelle 5 dargestellt und entsprechen in etwa dem Verteilungsmuster der gesunden Bevölkerung, wie es in ReferenceSNP angegeben ist. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi).

Tabelle 6 zeigt den Ausgangs -BMI der verschiedenen Allelträger bzw. Genotypen für alle *HTR2C*-Polymorphismen zum Zeitpunkt der Einstellung auf antipsychotische Medikation sowohl für die Gesamtstichprobe als auch geschlechtsgetrennt

Die durchschnittliche prozentuale Gewichtszunahme nach sechswöchiger antipsychotischer Behandlung abhängig von Genotyp ist in Tabelle 7 dargestellt.

Schließlich zeigt Tabelle 8 eine Zuordnung des Genotyps bzw. des Allelträgerstatus zum Vorliegen einer signifikanten Gewichtszunahme $>7\%$ des Ausgangsgewichtes.

Tabelle 5: Genotyp-/Hemizygotie-Frequenz der HTR2C-Polymorphismen

| SNP | Genotyp | Häufigkeit (N, M/W) | Prozent | Allgemeinpopulation (%) |
|-----------|---------|---------------------|---------|-------------------------|
| rs6318 | G/GG | 96 (66/30) | 75 | 76,7 |
| | GC* | 16 | 12,5 | 15,0 |
| | C/CC | 16 (14/2) | 12,5 | 8,3 |
| rs498207 | A/AA | 70 (54/16) | 54,7 | 52,2 |
| | AG* | 21 | 16,4 | 21,7 |
| | G/GG | 37 (26/11) | 28,9 | 26,1 |
| rs3813928 | G/GG | 99 (69/30) | 78,0 | 68,3 |
| | GA* | 15 | 11,8 | 18,3 |
| | A/AA | 13 (10/3) | 10,2 | 13,3 |
| rs3813929 | C/CC | 99 (69/30) | 78,6 | 73,9 |
| | CT* | 14 | 11,1 | 17,4 |
| | T/TT | 13 (10/3) | 10,3 | 8,7 |

Anmerkungen: M=männlich, W=weiblich; Männer tragen jeweils nur ein Allel des Polymorphismus (Hemizygotie). *: nur Frauen.

Tabelle 6: Ausgangs-BMI der Genotypen/Allelträger der HTR2C-Polymorphismen

| SNP | Genotyp | Gesamt | Männer | Frauen |
|-----------|---------|--------------|--------------|--------------|
| rs6318 | G/GG | 23,49+/-3,73 | 23,95+/-3,48 | 22,45+/-4,13 |
| | GC | - | - | 22,57+/-3,80 |
| | C/CC | 24,12+/-3,39 | 24,44+/-3,55 | 22,21+/-0,30 |
| rs498207 | A/AA | 23,89+/-3,81 | 24,23+/-3,54 | 22,51+/-4,46 |
| | AG | - | - | 21,59+/-3,32 |
| | G/GG | 23,68+/-3,42 | 23,48+/-3,31 | 24,13+/-3,78 |
| rs3813928 | G/GG | 23,66+/-3,69 | 24,30+/-3,51 | 22,17+/-3,72 |
| | GA | - | - | 22,39+/-4,35 |
| | A/AA | 23,22+/-3,05 | 22,37+/-2,95 | 26,02+/-1,18 |
| rs3813929 | C/CC | 23,63+/-3,69 | 24,26+/-3,52 | 22,17+/-3,72 |
| | CT | - | - | 22,57+/-4,46 |
| | T/TT | 22,22+/-3,05 | 22,37+/-2,95 | 26,02+/-1,18 |

Tabelle 7: Gewichtszunahme (%) nach sechswöchiger Behandlung in der Gesamtstichprobe sowie für Männer und Frauen getrennt bei HTR2C-Polymorphismen

| SNP | Genotyp | Gesamtstichprobe | Männer | Frauen |
|-----------|---------|------------------|-------------|--------------|
| rs6318 | G/GG | 7,68+/-5,75 | 7,55+/-5,63 | 7,98+/-6,09 |
| | GC | - | - | 6,85+/-4,34 |
| | C/CC | 5,19+/-5,17 | 4,97+/-4,38 | 6,77+/-12,10 |
| rs498207 | A/AA | 8,38+/-6,01 | 7,90+/-5,82 | 9,99+/-6,58 |
| | AG | - | - | 7,15+/-4,35 |
| | G/GG | 5,21+/-4,64 | 5,44+/-4,41 | 4,66+/-5,32 |
| rs3813928 | G/GG | 7,72+/-5,80 | 7,29+/-5,63 | 8,70+/-6,14 |
| | GA | - | - | 6,22+/-3,91 |
| | A/AA | 4,84+/-4,80 | 5,60+/-4,74 | 2,32+/-4,77 |
| rs3813929 | C/CC | 7,76+/-5,79 | 7,35+/-5,63 | 8,70+/-6,14 |
| | CT | - | - | 6,52+/-3,87 |
| | T/TT | 4,84+/-4,77 | 5,60+/-4,74 | 2,32+/-4,77 |

Tabelle 8: Anzahl Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme bei HTR2C

| SNP | Genotyp | Zunahme >7% (N, M/W) | Zunahme <7% (N, M/W) |
|-----------|---------|----------------------|----------------------|
| rs6318 | G/GG | 49 (32/17) | 46 (34/12) |
| | GC* | 7 | 10 |
| | C/CC | 6 (5/1) | 10 (9/1) |
| rs498207 | A/AA | 40 (28/12) | 30 (26/4) |
| | AG* | 10 | 11 |
| | G/GG | 12 (9/3) | 25 (17/8) |
| rs3813928 | G/GG* | 52 (33/19) | 47 (36/11) |
| | GA* | 5 | 10 |
| | A/AA* | 4 (3/1) | 9 (7/2) |
| rs3813929 | C/CC | 53 (34/19) | 46 (35/11) |
| | CT* | 5 | 9 |
| | T/TT | 4 (3/1) | 9 (7/2) |

Anmerkung: N= Anzahl Patienten, M=männlich, W=weiblich; *=nur Frauen.

3.2.2 Univariate Varianzanalyse

Zur Berechnung einer Assoziation der jeweiligen *HTR2C*-Polymorphismen zur Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme wurde zunächst für jeden Polymorphismus eine univariate Varianzanalyse (ANOVA) für die Gesamtstichprobe sowie nach Geschlechtern getrennt mit anschließenden Posthoc-Tests durchgeführt, sofern mehr als zwei Gruppen existierten.

Die Voraussetzung der Varianzhomogenität der Gewichtszunahme zwischen den Vergleichsgruppen, d.h. der Träger unterschiedlicher Allele (Männer) bzw. Genotypen (Frauen) der Polymorphismen, wurde nicht verletzt (rs6318: Levene-Wert=.434, $df_1=2$, $df_2=125$, $p=.649$; rs498207: Levene-Wert=.586, $df_1=2$, $df_2=125$, $p=.558$; rs3813928: Levene-Wert=.508, $df_1=2$, $df_2=124$, $p=.603$; rs3813929: Levene-Wert=.489, $df_1=2$, $df_2=123$, $p=.614$).

In der ANOVA der Gesamtstichprobe für rs6318 zeigte sich zunächst kein signifikantes Ergebnis für eine Assoziation des Polymorphismus zur Gewichtszunahme unter Antipsychotika ($df=2$, $F=1.445$, $p=.240$). Der folgende LSD-(least significant difference) Test zur Posthoc-Analyse ergab einen nichtsignifikanten Unterschied in der prozentualen Gewichtszunahme zwischen Trägern des GG-Genotyps (Frauen) und G-hemizygoter Männer und Trägern des GC-Genotyps (nur Frauen) (Standardfehler=1.45, $p=.568$). Beim Vergleich von Trägern des GG-Genotyps bzw. des G-Allels und des CC-Genotyps bzw. des C-Allels fand sich ein nichtsignifikanter Trend (Standardfehler 1.489, $p=.098$). Die Gewichtszunahme bei Trägern des GC-Genotyps unterschied sich ebenfalls nicht signifikant von denen des CC-Genotyps bzw. des C-Allels (Standardfehler=1.92, $p=.390$). Wurde in der ANOVA der Allelträgerstatus betrachtet, d.h. beim Vergleich von Trägern des C-Allels gegenüber Nicht-Trägern (Genotyp CC/GC bzw. C-Hemizygote vs. GG-Genotyp bzw. G-Hemizygote) fand sich ebenfalls kein signifikantes Ergebnis ($df=1$, $F=2.152$, $p=.145$). C-Allelträger wiesen im Mittel eine Gewichtszunahme von 6,05 +/-4,76% auf, demgegenüber nahmen (homozygote) Träger des G-Allels bzw. G-Hemizygote 7,68 +/-5,75% des Ausgangsgewichtes zu.

Auch in der folgenden geschlechtsgetrennten Analyse fand sich in der ANOVA weder beim Vergleich männlicher Hemizygoter ($df=1$, $F=2.603$, $p=.111$) noch für die verschiedenen Genotypen bei Frauen ($df=2$, $F=.223$, $p=.801$) ein signifikantes Ergebnis, ebensowenig in der Posthoc-Analyse bei den Frauen (GG- vs. GC-Genotyp: Standardfehler=1.76, $p=.525$; GG-vs. CC-Genotyp: Standardfehler=4.2, $p=.776$, GC- vs.

CC-Genotyp: Standardfehler=4.3, $p=.985$). Wurde in der geschlechtsgetrennten Analyse bei Frauen nicht der Genotyp, sondern der Allelträgerstatus betrachtet, fand sich ebenfalls kein signifikantes Ergebnis ($df=1$, $F=456$, $p=.503$) zwischen Trägerinnen des C-Allels (Genotyp CC und GC) mit einer mittleren Gewichtszunahme von $6,84\pm 4,99\%$ gegenüber homozygoten Trägerinnen des G-Allels mit einer Zunahme von $7,98\pm 6,09\%$.

Im rs498207-Polymorphismus zeigte sich bei der Analyse der Gesamtstichprobe ein signifikanter Unterschied der prozentualen Gewichtszunahme zwischen den Gruppen ($df=2$, $F=4.161$, $p=.018$). Die Posthoc-Analyse ergab eine signifikante Differenz zwischen weiblichen Trägern von AA-Genotyp und männlichen A-Allelträgern gegenüber Trägern des GG-Genotyps bzw. männlichen G-Allelträgern (Standardfehler=1.10, $p=.005$). Die Unterschiede zwischen dem AG- und dem GG-Genotyp bzw. G-Allelträgern (Standardfehler=1.48, $p=.190$) und zwischen dem AA- (bzw. A-Allelträgern) und dem AG-Genotyp (Standardfehler=1.35, $p=.365$) waren nicht statistisch signifikant (Abbildung 1). Auch beim Vergleich aller A-Allelträger (Genotyp AA und AG bzw. A-Hemizygote) gegenüber Nichtträgern des A-Allels (Genotyp GG bzw. G-Hemizygote) zeigte sich ein signifikantes Ergebnis in der ANOVA ($df=1$, $F=7.504$, $p=.007$), wobei die A-Allelträger im Mittel $8,1 \pm 5,68\%$ des Ausgangsgewichts zunahmen gegenüber Nicht-Allelträgern, die lediglich $5,21 \pm 6,34\%$ Gewichtszunahme aufwiesen.

Die folgende geschlechtsgetrennte ANOVA zeigte bei Männern (Abbildung 2) einen nichtsignifikanten Trend zwischen A- und G-Hemizygoten ($df=1$, $F=3,618$, $p=.061$). Bei Frauen (Abbildung 3) waren signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Genotypen vorhanden ($df=2$, $F=3.269$, $p=.047$). In der Posthoc-Analyse zeigte sich eine signifikante Differenz der Gewichtszunahme des AA- gegenüber der des GG-Genotyps (Standardfehler=2.11, $p=.015$). Zwischen AA- und GA- Genotyp (Standardfehler=1.79, $p=.120$) bzw. zwischen GA- und GG-Genotyp (Standardfehler=2.00, $p=.221$) waren die Unterschiede in der Gewichtszunahme nicht signifikant. Wurde bei Frauen der Allelträgerstatus des A-Allels betrachtet, ergab sich bei einer mittleren Gewichtszunahme von $8,38\pm 5,53\%$ des Ausgangsgewichtes von A-Allelträgerinnen (AA- und AG-Genotyp) gegenüber Nicht-A-Allelträgern mit $4,66\pm 5,32\%$ ein nichtsignifikanter Trend ($df=1$, $F=3.903$, $p=.054$).

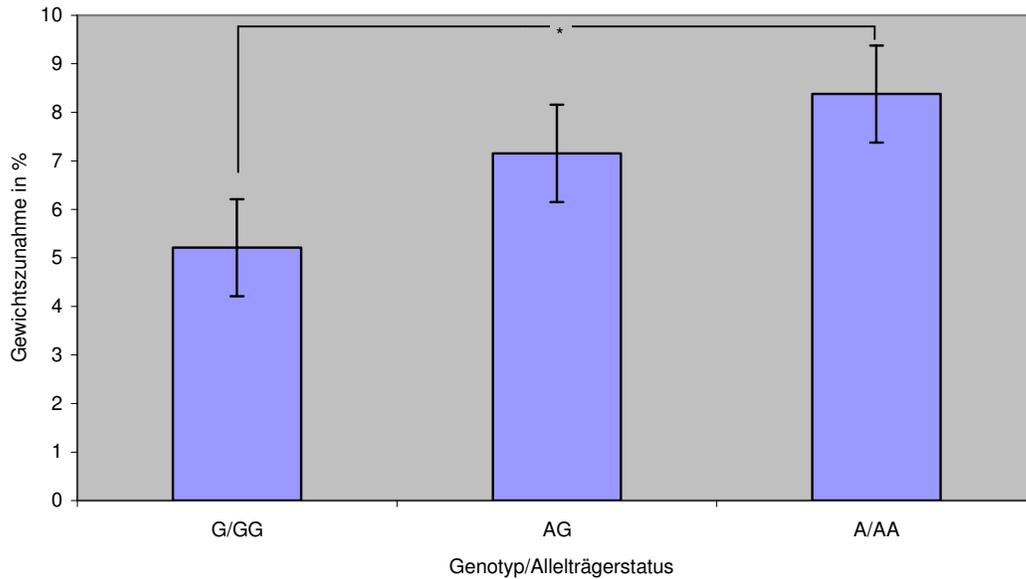


Abbildung 1: Einfluss von rs498207 auf die Gewichtszunahme. Trägerinnen des AA-Genotypen bzw. A-hemizygoten Männer nahmen signifikant mehr Gewicht zu als Trägerinnen des GG-Genotypen und G-hemizygoten Männer ($p=0.005$).

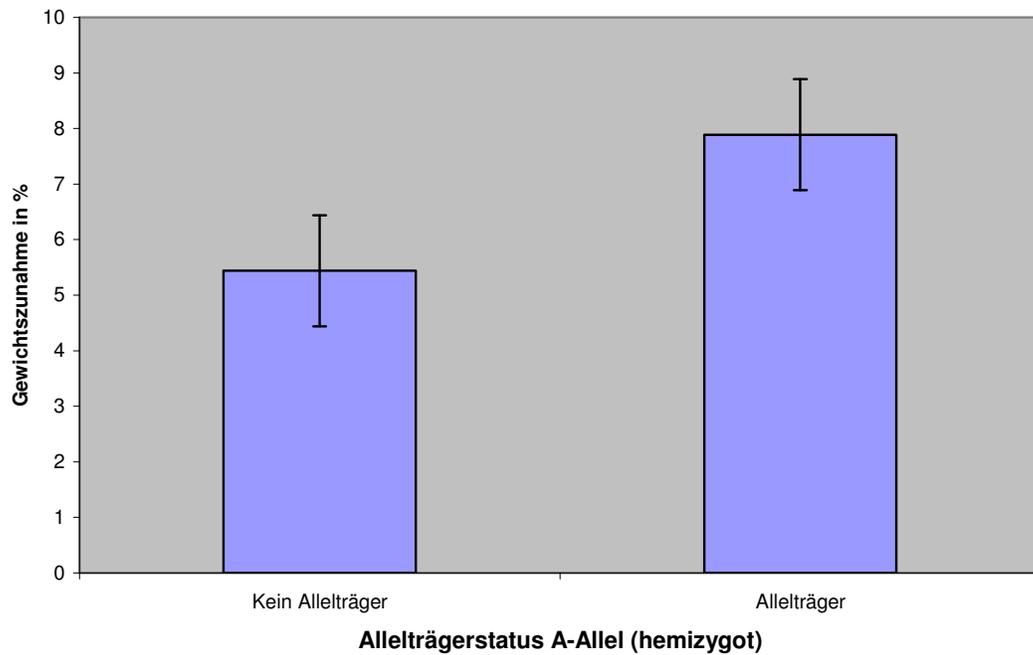


Abbildung 2: Einfluss des Allelträgerstatus von rs498207 auf die Gewichtszunahme bei Männern. Es zeigt sich ein nichtsignifikanter Trend ($p=0.061$).

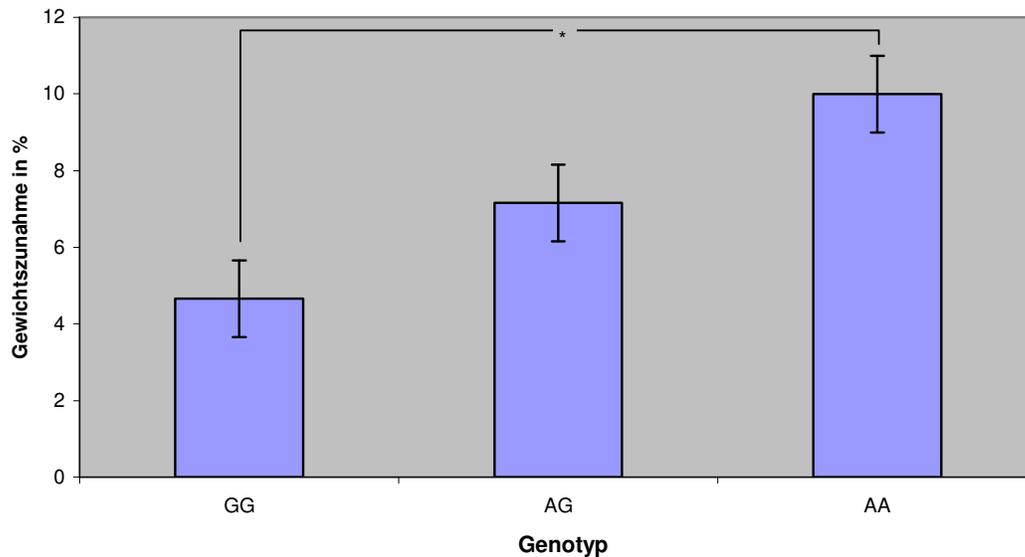


Abbildung 3: Einfluss des rs498207-Genotyps auf die Gewichtszunahme bei Frauen. Trägerinnen des AA-Genotyps nahmen signifikant mehr Gewicht zu als Trägerinnen des GG-Genotyps (p=.047)

Die ANOVA für die Gesamtstichprobe ergab bei dem rs3813928-Polymorphismus keinen Hinweis auf signifikante Unterschiede bei der Gewichtszunahme (df=2, F=1.851, p=.161). Die Posthoc-Analyse ergab einen nichtsignifikanten Trend im Vergleich von Trägern des GG- mit Trägern des AA-Genotyps bzw. G- und A-Hemizygoter (Männer) (Standardfehler=1.63, p=.080), die weiteren Vergleiche zeigten kein signifikantes Ergebnis (G-Hemizygote und GG- vs. GA-Genotyp: Standardfehler=1.53, p=.330; GA- vs. AA-Genotyp und A-Hemizygote: Standardfehler=2.10, p=.511). Beim Vergleich von A-Allelträgern (A-Hemizygote, GA- und AA-Genotyp) mit Nicht-Trägern (G-Hemizygote und GG-Genotyp) fand sich ebenfalls ein nichtsignifikanter Trend (df=1, F=3.283, p=.072) mit einer mittleren Gewichtszunahme von 5,58 +/-4,30% bei A-Allelträgern gegenüber 7,72 +/-5,80% bei Nicht-Allelträgern.

Die geschlechtsgetrennte ANOVA ergab bei Männern ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtszunahme zwischen A- und G-Allelträgern (df=1, F=.813, p=.370). Bei Frauen fand sich in der ANOVA beim Vergleich der unterschiedlichen Genotypen ein nichtsignifikanter Trend (df=2, F=2.47, p=.096). Der Posthoc-Test zeigte einen nichtsignifikanten Trend im Vergleich von GG- und AA- Genotyp (Standardfehler=3.32, p=.061), zwischen GG- und GA-Genotyp (Standardfehler=1.73,

$p=.159$) und zwischen GA- und AA- Genotyp (Standardfehler=3.47 $p=.267$) fanden sich keine signifikanten Ergebnisse. Wurde bei Frauen der Allelträgerstatus betrachtet, zeigte sich ebenfalls ein nichtsignifikanter Trend ($df=1$, $F=3.652$, $p=.062$) mit einer mittleren Gewichtszunahme von $5,57\pm 4,19\%$ von A-Allelträgern gegenüber $8,70\pm 6,14\%$ bei homozygoten G-Allelträgern.

Die ANOVA für rs3813929 in der Gesamtstichprobe zeigte ebenfalls keinen Hinweis auf eine Assoziation des Polymorphismus zur Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme ($df=2$, $F=1.764$, $p=.176$). Der Posthoc-Test ergab allerdings einen nichtsignifikanten Trend im Vergleich der Zunahme des CC-Genotyps und C-hemizygoter Männer gegenüber und dem TT-Genotyp und T-Hemizygoten (Standardfehler=1.63, $p=.076$), zwischen C-Hemizygoten und CC- gegenüber CT-Genotyp (Standardfehler=1.58, $p=.436$) und zwischen CT- und TT- Genotyp bzw. T-Hemizygoten (Standardfehler=2.13, $p=.431$) fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Zwischen Trägern des T-Allels und Nicht-Trägern fand sich ebenfalls ein nichtsignifikanter Trend ($df=1$, $F=2.912$, $p=.090$), wobei Allelträger im Mittel $5,71\pm 4,33\%$ des Ausgangsgewichtes zunahmen und Nicht-Träger $7,76\pm 5,79\%$, welches für einen protektiven Effekt des T-Allels spricht.

Die geschlechtsgetrennte ANOVA für Männer erbrachte kein signifikantes Ergebnis ($df=1$, $F=.872$ $p=.353$). Bei Frauen war die ANOVA ebenfalls nicht signifikant ($df=2$, $F=2.25$, $p=.118$), die Posthoc-Analyse ergab einen nichtsignifikanten Trend beim Vergleich der Gewichtszunahme von CC- und TT- Genotyp (Standardfehler=3.33, $p=.062$), CT- und TT- Genotyp (Standardfehler=3.50, $p=.237$) und CC- und CT- Genotyp (Standardfehler=1.78, $p=.228$) zeigten keine signifikanten Unterschiede. Beim Vergleich von T-Allelträgerinnen mit $5,78\pm 4,21\%$ Gewichtszunahme gegenüber Nicht-Trägerinnen mit $8,70\pm 6,14\%$ Zunahme gegenüber dem Ausgangsgewicht blieb weiterhin ein nichtsignifikanter Trend bestehen ($df=1$, $F=3.025$, $p=.089$).

3.2.3 Logistische Regressionsanalyse

Anschließend an die ANOVA wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Da sich für die anderen Polymorphismen in der ANOVA außer einigen nichtsignifikanten Trends im Posthoc-Vergleich keine Hinweise auf eine Assoziation zur Gewichtszunahme gefunden hatten und aufgrund des hohen

Kopplungsungleichgewichtes (siehe unten) der untersuchten Polymorphismen in *HTR2C*, die in der logistischen Regression miteinander korrelierte Variablen dargestellt hätten - welche möglichst vermieden werden sollten - wurde von den *HTR2C*-Polymorphismen nur rs498207 zusammen mit den *LEP*- und *INSIG2*-Polymorphismen (s.u.) in die Regressionsanalyse mit einbezogen. Hier zeigte sich wie in der vorangehenden ANOVA ein signifikanter Einfluss von rs498207 auf die Gewichtszunahme (Odds Ratio (OR)=1.549, 95%-Konfidenzintervall: 1.019-2.353, p=.040). Im nächsten Analyseschritt wurden weitere Variablen als Kovariaten hinzugefügt (Alter zum Zeitpunkt der Einstellung auf die Medikation, Geschlecht und Erkrankungsdauer). Auch hier zeigten sich für rs498207 die viel versprechendsten Ergebnisse, allerdings auch nur ein nichtsignifikanter Trend (OR=1.505, 95%-Konfidenzintervall: .953-2.377, p=.080). Um weniger Störfaktoren, die das Ergebnis der Regressionsanalyse beeinflussen, in die Rechnung einzubeziehen, wurde dieser Analyseschritt unter Ausschluss aller weiteren untersuchten Polymorphismen aus den anderen Genen wiederholt. Hier zeigte sich ein signifikantes Ergebnis für rs498207 (OR=1.650, 95%-Konfidenzintervall: 1.085-2.511, p=.019). Anschließend wurden statistische Ausreißer bezüglich der Erkrankungsdauer aus der Analyse ausgeschlossen, da auch diese das Ergebnis der Berechnungen beeinflussen können. Dadurch verkleinerte sich die Fallzahl zwar deutlich (N=109), das Ergebnis dieses Analyseschrittes kann jedoch als das robusteste, weil am wenigsten durch Störgrößen beeinflusste Ergebnis angesehen werden. Hier fand sich ebenfalls ein signifikantes Ergebnis für rs498207 (OR=1.661, 95%-Konfidenzintervall: 1.031-2.674, p=.037). Zuletzt wurde aufgrund der x-chromosomalen Lage des Gens eine geschlechtsgetrennte Analyse unter Ausschluss der statistischen Ausreißer bezüglich der Erkrankungsdauer durchgeführt, auch wenn sich hier in den Gruppen nur eine sehr geringe Fallzahl fand, die die Aussagekraft des Ergebnisses einschränkt. Für Männer (N=69) fand sich kein signifikantes Ergebnis (OR=1.450, 95%-Konfidenzintervall: .836-2.517, p=.186). Bei Frauen (N=40) ergab sich ein nichtsignifikanter Trend (OR=2.345, 95%-Konfidenzintervall: .881-6.238, p=.088).

3.2.4 Untersuchung der Haplotypen

Das Vorliegen eines Kopplungsungleichgewichtes, d.h. von Hinweisen auf eine gemeinsame Vererbung durch verschiedene Haplotypen, zwischen den einzelnen Polymorphismen in der Stichprobe sowie das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Equilibriums in der Stichprobe wurde mit Haploview Version 4.1 untersucht.

Alle untersuchten Polymorphismen befanden sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium (rs498207: $p=.559$, rs3813928: $p=.771$, rs3813929: $p=.656$, rs6318: $p=1.0$), so dass eine Fehlbestimmung der Genotypen weitgehend auszuschließen ist. Es fand sich eine signifikante Assoziation des A-Allels im rs498207-Polymorphismus mit einer signifikanten Gewichtszunahme ($\chi^2=7.911$, $p=.005$). Auch für das G-Allel von rs3813928 ($\chi^2=4.152$, $p=.038$) und das C-Allel von rs 3813929 ($\chi^2=4.028$, $p=.041$) konnte eine Assoziation gefunden werden. Für rs6318 zeigte sich kein signifikantes Ergebnis ($\chi^2=1.644$, $p=.212$).

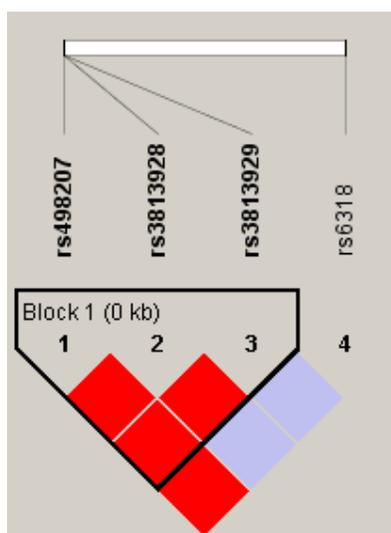


Abbildung 4: Kopplungsungleichgewicht zwischen den Polymorphismen im HTR2C. rs498207, rs3813928 und rs3813929 zeigen sich in hohem Ausmaß gemeinsam vererbt und ergeben einen gemeinsamen Haplotyp (s.Text). Die Farbkodierung entspricht von weiß bis rot einem D'-Wert (Kopplungsmaß) von 0 bis 1, wobei ein D'-Wert von 1 bedeutet, dass zwei Marker zu 100% miteinander vererbt werden. Blaue Farben kodieren für einen niedrigen LOD (logarithm of the odds)-score (<2) trotz hohem D'-Wert, was anzeigt, dass zwei Marker weit auf dem Chromosom auseinander liegen und nicht gemeinsam vererbt werden.

Bei der Bestimmung der Haplotypen fand sich ein hohes Kopplungsungleichgewicht zwischen rs498207, rs3813928 und rs3813929 (Abbildung 4). Das A-Allel von rs498207, das G-Allel von rs3813928 und das C-Allel von rs3813929, also der AGC-

Haplotyp, waren mit einer Frequenz von .608 gemeinsam vorhanden und signifikant mit einer Gewichtszunahme >7% assoziiert ($\chi^2=7.911$, $p=.005$). Der GAT-Haplotyp (G-Allel von rs498207, A-Allel von rs3813928 und T-Allel von rs3813929) mit einer Frequenz von .176 war signifikant häufiger in der Gruppe mit Gewichtszunahme <7% vertreten ($\chi^2=4.44$, $p=.035$). Ein dritter Haplotyp (GGC) mit einer Frequenz von .216 zeigte keine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme ($\chi^2=1.923$, $p=.166$).

Zusammenfassend ergab die Untersuchung deutliche Hinweise auf einen signifikanten Einfluss des Genotyps im rs498207-Polymorphismus auf die Antipsychotika- assoziierte Gewichtszunahme, wobei dieser vorwiegend bei Frauen eine Rolle zu spielen scheint, wie die geschlechtsgetrennten Analysen zeigten. Bei rs6318, rs3813928 und rs3813929 konnte keine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme gefunden werden, allerdings zeigte sich ein nichtsignifikanter Trend für eine höhere Gewichtszunahme des GG-Genotyps bzw. von G-Allelträgern in rs6318 sowie in rs3813928 und für eine höhere Gewichtszunahme des CC-Genotyps bzw. von C-Allelträgern in rs3813929. Der Haplotyp aus dem A-Allel von rs498207, dem G-Allel von rs3813928 sowie dem C-Allel von rs3813929 zeigte sich signifikant mit Gewichtszunahme assoziiert.

3.3 *Leptin*

3.3.1 Genotypabhängige Gewichtszunahme

Die Frequenzen der unterschiedlichen Genotypen des im Leptin-Gen (*LEP*) untersuchten Polymorphismus rs7799039 entsprachen ungefähr denen in der Allgemeinbevölkerung und sind in Tabelle 9 gezeigt. Das Hardy-Weinberg-Equilibrium war auch für diesen Polymorphismus nicht verletzt ($p=.228$).

Tabelle 9: Häufigkeit der Genotypen von rs7799039

| SNP | Genotyp | Häufigkeit(N) | Prozent | Allgemeinpopulation (%) |
|-----------|---------|---------------|---------|-------------------------|
| rs7799039 | GG | 40 | 31,2 | 25,9 |
| | GA | 57 | 44,5 | 46,6 |
| | AA | 31 | 24,2 | 27,6 |

Ausgangs -BMI und prozentuale Gewichtszunahme der verschiedenen Genotypen werden in Tabelle 10 dargestellt, Tabelle 11 zeigt die Genotypverteilung bei Vorliegen signifikanter Gewichtszunahme >7% gegenüber nichtsignifikanter Gewichtszunahme.

Tabelle 10: Ausgangs-BMI und Gewichtszunahme in % abhängig vom rs7799039-Genotyp

| SNP | Genotyp | Ausgangs-BMI | Gewichtszunahme in % |
|-----------|---------|--------------|----------------------|
| rs7799039 | GG | 22,96+/-3,50 | 7,44+/-6,63 |
| | GA | 23,15+/-3,42 | 7,39+/-4,47 |
| | AA | 24,63+/-4,25 | 6,80+/-5,93 |

Tabelle 11: Anzahl Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme bei rs7799039

| SNP | Genotyp | Gewichtszunahme >7% (N) | Gewichtszunahme <7%(N) |
|-----------|---------|-------------------------|------------------------|
| rs7799039 | GG | 19 | 21 |
| | GA | 29 | 28 |
| | AA | 14 | 17 |

3.3.2 Univariate Varianzanalyse

Zunächst wurde ebenfalls eine univariate ANOVA durchgeführt. Der Levene-Test zeigte keinen Hinweis auf Varianzheterogenität zwischen den Gruppen (Levene-Wert=1.452, df1=2, df2=125, p=.238), so dass die Voraussetzungen für die ANOVA erfüllt waren. Diese ergab keinen Hinweis auf eine Assoziation des rs7799039-Polymorphismus zur Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme (df=2, F=.139, p=.870). Auch die Posthoc-Analyse zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtszunahme zwischen den Gruppen (GG- vs. GA-Genotyp: Standardfehler=1.15, p=.963; GG- vs. AA-Genotyp: Standardfehler=1.3, p=.634; GA- vs. AA-Genotyp: Standardfehler=1.24, p=.640). Dementsprechend ergab sich auch beim Vergleich von Trägern des mit einer leicht höheren Gewichtszunahme verbundenen G-Allels (mittlere Zunahme von 7,41+/-5,43%) mit Nicht-Trägern des Allels (mittlere Zunahme von 6,80+/-5,93%) kein signifikantes Ergebnis (df=1, F=.272, p=.599).

3.3.3 Logistische Regressionsanalyse

Die logistische Regressionsanalyse ergab sowohl im ersten Berechnungsschritt, in dem nur die einzelnen Polymorphismen betrachtet wurden (Odds Ratio=1.015, 95%-Konfidenzintervall: .612-1.682, $p=.995$), als auch im zweiten Analyseschritt, in dem zusätzlich Alter bei Einstellung auf die antipsychotische Substanz, Geschlecht und Erkrankungsdauer in die Berechnung einbezogen wurden (Odds Ratio=1.137, 95%-Konfidenzintervall: .655-1.975, $p=.649$), ebenfalls kein signifikantes Ergebnis für rs7799039.

3.4 *INSIG2*

3.4.1 Genotypabhängige Gewichtszunahme

Die Frequenz der verschiedenen Genotypen der untersuchten *INSIG2*-Polymorphismen ist in Tabelle 12 dargestellt. In unserer Stichprobe war entsprechend der niedrigen Frequenz in der Bevölkerung kein homozygoter Träger des CC-Genotyps von rs10490624 vorhanden.

Tabelle 12: Häufigkeit der Genotypen der *INSIG2*-Polymorphismen

| SNP | Genotyp | Häufigkeit (N) | Prozent | Allgemeinpopulation (%) |
|------------|---------|----------------|---------|-------------------------|
| rs17587100 | AA | 108 | 85,7 | 75,0 |
| | AC | 16 | 12,7 | 20,8 |
| | CC | 2 | 1,6 | 4,2 |
| rs10490624 | TT | 97 | 77,6 | 84,7 |
| | TC | 28 | 22,5 | 13,6 |
| | CC | 0 | 0 | 1,7 |
| rs17047764 | GG | 86 | 68,8 | 69,0 |
| | GC | 34 | 27,2 | 27,1 |
| | CC | 5 | 4,0 | 3,9 |
| rs7566605 | GG | 59 | 46,1 | 45,5 |
| | GC | 54 | 42,2 | 45,5 |
| | CC | 15 | 11,7 | 9,1 |

Tabelle 13 zeigt die Unterschiede des Ausgangs-BMI sowie der Gewichtszunahme in Prozent in Abhängigkeit vom jeweiligen Genotyp der einzelnen Polymorphismen, Tabelle 14 die Anzahl von Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme.

Tabelle 13: Ausgangs-BMI und Gewichtszunahme (%), abhängig vom INSIG2-Genotyp

| SNP | Genotyp | Ausgangs-BMI | Gewichtszunahme in % |
|------------|---------|----------------|----------------------|
| rs17587100 | AA | 23,17+/-3,39 | 7,22+/-5,62 |
| | AC | 25,12+/-5,15 | 6,58+/-4,71 |
| | CC | 21,40+/-1,13 | 6,60+/-2,00 |
| rs10490624 | TT | 23,08+/-3,43 | 7,43+/-5,31 |
| | TC | 24,96+/-4,33 | 6,26+/-5,26 |
| rs17047764 | GG | 22,81+/-3,41 | 7,66+/-5,71 |
| | GC | 25,00+/-4,09 | 5,78+/-5,18 |
| | CC | 24,19+/-3,86 | 9,80+/-4,02 |
| rs7566605 | GG | 22,96+/-3,22 | 7,90+/-6,71 |
| | GC | 23,72 +/- 4,15 | 7,10 +/- 4,20 |
| | CC | 24,31 +/- 3,74 | 5,12 +/- 4,45 |

Tabelle 14: Anzahl Patienten mit und ohne signifikante Gewichtszunahme bei INSIG2

| SNP | Genotyp | Gewichtszunahme >7 % (N) | Gewichtszunahme <7 %(N) |
|------------|---------|--------------------------|-------------------------|
| rs17587100 | AA | 53 | 55 |
| | AC | 6 | 10 |
| | CC | 1 | 1 |
| rs10490624 | TT | 49 | 48 |
| | TC | 11 | 17 |
| rs17047764 | GG | 45 | 41 |
| | GC | 12 | 22 |
| | CC | 4 | 1 |
| rs7566605 | GG | 27 | 32 |
| | GC | 30 | 24 |
| | CC | 4 | 10 |

3.4.2 Univariate Varianzanalyse

Vor Durchführung der ANOVA und der Posthoc-Tests wurde auch für die *INSIG2*-Polymorphismen die Varianzhomogenität mit Hilfe des Levene-Tests untersucht. Auch hier fanden sich für rs17587100, rs10490624 und rs17047764 keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (rs17587100: Levene-Wert=.634, $df_1=2$, $df_2=123$ $p=.532$; rs10490624: Levene-Wert=.402, $df_1=1$ $df_2=123$, $p=.527$; rs17047764: Levene-Wert=.196, $df_1=2$, $df_2=122$, $p=.822$). Für rs7566605 konnte die Voraussetzung der Varianzhomogenität nicht erfüllt werden (Levene-Wert=3.758, $df_1=2$, $df_2=124$, $p=.026$). Da durch die folgende Posthoc-Analyse mittels LSD-Test die einzelnen Gruppen jedoch aufgeschlüsselt waren, wurde die Verletzung der Homogenität in diesem Fall akzeptiert und auch hier eine univariate ANOVA durchgeführt.

Für rs17587100 ergab die ANOVA keinen Hinweis auf einen Einfluss des Polymorphismus auf die Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme ($df=2$, $F=.105$, $p=.901$). Auch im Posthoc-Vergleich waren keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtszunahme zwischen den Genotypen vorhanden (AA- vs. AC-Genotyp: Standardfehler=1.47, $p=.663$; AA- vs. CC-Genotyp: Standardfehler=3,93, $p=.875$; CC- vs. AC-Genotyp: Standardfehler=4.13, $p=.995$), ebenso wenig beim Vergleich von Trägern des selteneren C-Allels mit einer mittleren Gewichtszunahme von 6,58+/-4,45% gegenüber Nicht-Trägern mit einer mittleren Zunahme von 7,22+/-5,62% ($df=1$, $F=.211$, $p=.647$).

Auch für rs10490624 ergab die ANOVA keinen Einfluss des Genotyps auf die Gewichtszunahme ($df=1$, $F=1.069$, $p=.303$). Da kein homozygoter Träger des CC-Genotyps in der Stichprobe vorhanden war und somit nur zwei Vergleichsgruppen existierten, wurden keine Posthoc-Mehrfachvergleiche zwischen den Gruppen durchgeführt.

Bei rs17047764 zeigte sich in der ANOVA ebenfalls kein signifikantes Ergebnis ($df=2$, $F=1.976$, $p=.143$). Im Posthoc-Test ergab sich ein nichtsignifikanter Trend im Vergleich des GG- mit dem GC-Genotyp (Standardfehler=1.12, $p=.095$), zwischen CC- und GG-Genotyp (Standardfehler=2.54, $p=.402$) und zwischen CC- und GC-Genotyp (Standardfehler=2.65, $p=.131$) waren die Unterschiede allerdings nicht signifikant, ebenso beim Vergleich von Trägern des selteneren C-Allels gegenüber Nicht-

Allelträgern mit einer mittleren Gewichtszunahme von 6,29+/-5,18% gegenüber 7,66+/-5,71% des Ausgangsgewichtes (df=1, F=1.628, p=.204).

Auch für rs7566605 ergab die ANOVA kein signifikantes Ergebnis (df=2, F=1.464, p=.235), so dass ebenfalls kein Hinweis auf eine Assoziation zur Gewichtszunahme in der Stichprobe vorlag. Der Posthoc-Vergleich zwischen den unterschiedlichen Genotypen war ebenfalls nicht signifikant, wobei sich zwischen GG- und CC-Genotyp ein nichtsignifikanter Trend zeigte (GG- vs. GC-Genotyp: Standardfehler=1.04, p=.445; GG- vs. CC-Genotyp: Standardfehler=1.65, p=.093; GC- vs. CC-Genotyp: Standardfehler=1.66, p=.235). Im Vergleich von C-Allelträgern (6,69+/-4,30% Gewichtszunahme) mit Nicht-Trägern (7,90+/-6,71% Gewichtszunahme) zeigte sich ebenfalls kein Hinweis auf eine Assoziation (df=1, F=1.498, p=.223).

3.4.3 Logistische Regressionsanalyse

Auch für *INSIG2* wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Da sich bei rs17047764 ein nichtsignifikanter Trend im Posthoc-Vergleich zwischen GG- und GC-Genotyp gezeigt hatte, wurde dieser Polymorphismus ausgewählt. Des Weiteren wurde rs7566605 untersucht, da sich keine Hinweise auf eine gemeinsame Vererbung mit den anderen *INSIG2*-Polymorphismen gezeigt hatten. Im ersten Analyseschritt, in dem alle Polymorphismen, aber keine weiteren unabhängigen Variablen einbezogen wurden, zeigte sich sowohl für rs17047764 (OR=.640, 95%-Konfidenzintervall: 0.320-1.280, p=.207) als auch für rs7566605 (OR=.979, 95%-Konfidenzintervall: .557-1.721, p=.941) kein signifikantes Ergebnis. Auch nach Einbeziehung von Alter, Geschlecht und Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der Einstellung auf antipsychotische Medikation zeigte sich für beide Polymorphismen kein signifikantes Ergebnis (rs17047764: OR=.594, 95%-Konfidenzintervall: .272-1.297, p=.191; rs7566605: OR=1.106, 95%Konfidenzintervall: .576-2.125, p=.762).

3.4.4 Untersuchung der Haplotypen

Das Kopplungsungleichgewicht der einzelnen Polymorphismen und das Hardy-Weinberg-Equilibrium wurden wie bei *HTR2C* mit Haploview 4.1 untersucht.

Alle Polymorphismen waren im Hardy-Weinberg-Equilibrium (rs7566605: $p=.873$, rs17587100: $p=.334$, rs10490624: $p=.364$, rs17047764: $p=.638$). Es fanden sich Hinweise auf eine gemeinsame Vererbung von rs17587100, rs10490624 und rs17047764 (siehe Abbildung 5), jedoch kein gemeinsamer Haplotyp. Für keinen der einzelnen Polymorphismen wurde - übereinstimmend mit den Ergebnissen von ANOVA und logistischer Regressionsanalyse - eine signifikante Assoziation zur Gewichtszunahme gefunden (rs7566605: $\chi^2=0.139$, $p=.710$, rs17587100: $\chi^2=0.506$, $p=.477$, rs10490624: $\chi^2=0.959$, $p=.327$, rs17047764: $\chi^2=0.239$, $p=.625$).

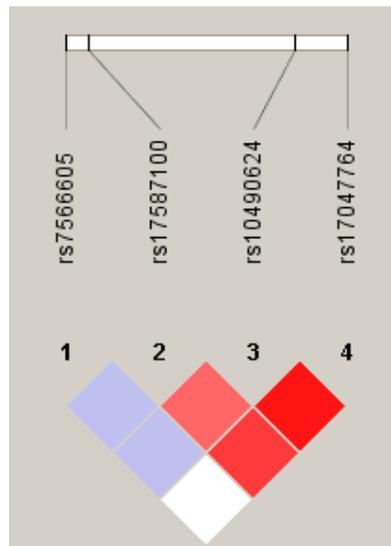


Abbildung 5: Kopplungsungleichgewicht zwischen den Polymorphismen in *INSIG2*. Es finden sich Hinweise auf eine gemeinsame Vererbung (rot, Erläuterung s. Abb. 4) jedoch kein Haplotyp.

Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Studie trotz einiger nichtsignifikanter Trends keine Hinweise auf eine Assoziation der untersuchten *INSIG2*-Polymorphismen mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme gefunden werden.

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss von insgesamt neun Polymorphismen in drei wichtigen Kandidatengenen auf die Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme. Angesichts der Vielzahl der bislang im Zusammenhang mit Gewichtszunahme unter antipsychotischer Behandlung untersuchten Gene und einer großen Zahl widersprüchlicher Ergebnisse unterschiedlicher Studien sollten einerseits bereits publizierte Ergebnisse in dieser Patientenstichprobe überprüft und andererseits Polymorphismen untersucht werden, zu denen bislang nur wenige oder keine veröffentlichten Studien existieren. Daher wurde das *HTR2C*-Gen ausgewählt, zu dem bisher die konsistentesten Ergebnisse publiziert wurden. Hier wurden drei Polymorphismen, zu denen bereits verschiedene Studien mit teils kontroversen Ergebnissen existieren (rs6318 (Cys23Ser), rs3813928 (-997G/A) und rs3813929 (-759C/T)) sowie ein Polymorphismus, für den bislang keine Untersuchungen im Zusammenhang mit Antipsychotika-assoziiertes Gewichtszunahme vorlagen (rs498207 (-1165A/G)), untersucht. Des Weiteren wurde versucht, existierende Befunde für Polymorphismen im *LEP* (rs7799039 (-2548A/G), zu dem widersprüchliche Ergebnisse vorliegen, und im *INSIG2* (rs7566605, rs17587100, rs17047764 und rs10490624), zu denen bislang nur wenige Studien existieren zu replizieren. Hierfür wurde eine retrospektive Untersuchung in einem mit verschiedenen Antipsychotika mit hohem Risiko für eine Gewichtszunahme behandelten Patientenkollektiv durchgeführt und nach Genotypisierung mittels TaqMan®-PCR die Assoziation der genannten Polymorphismen mit der Gewichtszunahme unter Pharmakotherapie mit antipsychotischen Substanzen analysiert.

In der vorliegenden Untersuchung fanden sich deutliche Hinweise auf eine wichtige Rolle von *HTR2C* bei der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme, obwohl bereits vor beschriebene Positivergebnisse zum *HTR2C*-Gen nicht auf Allel-Ebene repliziert werden konnten (s. u.). Soweit bekannt, ist die vorliegende Studie die erste zum rs498207-Polymorphismus im *HTR2C*-Gen im Zusammenhang mit Antipsychotika-assoziiertes Gewichtszunahme. Somit stellt diese Studie einen weiteren, wichtigen Beleg für die bedeutende Rolle des 5HT_{2C}-Rezeptors für die Antipsychotika-assoziiertes Gewichtszunahme dar, zeigt jedoch auch, dass weitere Untersuchungen erforderlich sind.

4.1 Gewichtszunahme unter Behandlung mit Antipsychotika

Für die vorliegende Untersuchung wurden retrospektiv Patienten mit bzw. ohne signifikante Gewichtszunahme (>7% des Ausgangsgewichtes nach FDA-Kriterien) ausgewählt, um eine ausreichend hohe Anzahl von Patienten mit signifikanter Gewichtszunahme in die Studie einschließen zu können. 48,4%, also knapp die Hälfte, der Patienten hatten während einer sechswöchigen Behandlung mehr als 7% des Ausgangsgewichtes zugenommen. Dabei zeigten sich keine Abweichungen der klinischen Variablen wie Alter oder Erkrankungsdauer zwischen der Gruppe mit Zunahme <7% gegenüber der Gruppe mit Gewichtszunahme >7% des Ausgangsgewichtes, so dass diese Störfaktoren weitgehend ausgeschlossen werden konnten. Es zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im Ausmaß der Gewichtszunahme zwischen den mit unterschiedlichen Antipsychotika behandelten Patienten, so dass ausgeschlossen werden konnte, dass festgestellte Unterschiede bezüglich der Gewichtszunahme zwischen den Patienten lediglich durch die verschiedenen eingesetzten Substanzen erklärbar waren. Somit konnten für die Assoziationstests trotz des heterogen behandelten Kollektivs alle Patienten zu einer Gruppe zusammengefasst werden, wie es auch in anderen retrospektiv angelegten Untersuchungen beschrieben wurde [36,73].

Die fehlenden Unterschiede im Ausmaß der Gewichtszunahme zwischen den verschiedenen Substanzen stehen zwar im Widerspruch zu bislang veröffentlichten Untersuchungen, z.B. [7], sind jedoch durch das gewählte Studiendesign erklärbar. Ein großer Teil der Patienten erhielt im Beobachtungszeitraum mehr als ein Antipsychotikum gleichzeitig, was der realen Situation im klinischen Alltag entspricht und weshalb u. a. auch von additiven Effekten der verschiedenen Substanzen auszugehen ist. Auch handelt es sich um eine gezielte *retrospektive* Auswahl von Patienten, die mit verschiedenen Antipsychotika behandelt worden waren, so dass der Prozentsatz an Patienten, die mehr als 7% des Ausgangsgewichtes zugenommen hatten, mit knapp der Hälfte der Stichprobe deutlich höher lag als in *prospektiven* Studien, die gezielt die Unterschiede in der Gewichtszunahme zwischen einzelnen Substanzen untersuchten [74].

4.2 HTR2C

Die konsistentesten Befunde in der vorliegenden Untersuchung ergaben sich für den rs498207-Polymorphismus, einen Polymorphismus in der Promoterregion des *HTR2C*-Gens. Dabei erwies sich das A-Allel, der Wildtyp, als mit einer signifikant höheren Gewichtszunahme verbunden als die Mutation, das G-Allel. Homozygote Trägerinnen des AA-Genotyps bzw. A-hemizygoten Männer hatten im Mittel 8,38% des Ausgangsgewichtes zugenommen, während Träger des GG-Genotyps bzw. G-Hemizygoten lediglich eine Gewichtszunahme von 5,21% aufwiesen. In der geschlechtsgetrennten Analyse zeigte sich, dass die Unterschiede im Ausmaß der Gewichtszunahme bei Frauen deutlicher ausgeprägt waren. Hier hatten Trägerinnen des AA-Genotyps im Mittel 9,99% und Trägerinnen des GG-Genotyps im Mittel 4,65% an Gewicht zugenommen. Heterozygote Trägerinnen des AG-Genotyps wiesen im Mittel eine Gewichtszunahme von 7,15% des Ausgangsgewichtes auf, so dass sich eine lineare Steigerung der Gewichtszunahme abhängig von der Allel-Last im Genotypen zeigte. Bei Männern fielen die Unterschiede deutlich geringer aus, es zeigte sich lediglich ein nichtsignifikanter Trend zwischen A- und G-Hemizygoten (7,90% vs. 5,44% Gewichtszunahme). Der größere Einfluss des Polymorphismus auf die Gewichtszunahme bei Frauen könnte durch die Lage des Gens auf dem X-Chromosom bedingt sein, so dass im Sinne eines Gendosis-Effektes das Risiko für eine Gewichtszunahme bei weiblichen AA-Genotypen gegenüber männlichen A-Hemizygoten größer sein könnte. Zwar wird üblicherweise beim weiblichen Geschlecht ein X-Chromosom bereits in frühen Entwicklungsstadien zum *Barr-Körperchen* inaktiviert, es existieren jedoch Untersuchungen, die gezeigt haben, dass einige Gene, etwa 15%, dieser Inaktivierung entgehen [75,76]. Auch konnte für einige andere Erkrankungen, wie z.B. für die Autoimmunerkrankung Lupus erythematodes, tierexperimentell gezeigt werden, dass das Vorliegen zweier X-Chromosomen das Risiko für diese Krankheiten erhöht [77].

Geschlechtsabhängige Unterschiede in der Gewichtszunahme wurden bereits im Rahmen von Studien zu anderen Polymorphismen in *HTR2C* beschrieben, z.B. zum -759C/T-Polymorphismus, wobei sich hier jedoch in beiden Studien bei männlichen Individuen die größeren Effekte zeigten. Allerdings waren in einer der Studien nur 11 weibliche Patienten enthalten, von denen in der gesamten Stichprobe durch die Allelfrequenz bedingt keine homozygot für das T-Allel war, so dass die Aussagekraft

hierdurch deutlich eingeschränkt ist [78]. Die andere Untersuchung zeigte in einer ethnisch heterogenen Stichprobe zudem auch ein gegenteiliges Risikoallel im Vergleich mit allen anderen Studien [26]. Aufgrund der komplexen Regulationsvorgänge auf genetischer Ebene sowie im Bereich der Rezeptorexpression und der Vielzahl an weiteren potentiell involvierten Faktoren, wie z.B. Sexualhormonen, lässt sich die Ursache der Geschlechtsunterschiede derzeit nicht abschließend und mit Sicherheit klären.

Die höhere Gewichtszunahme von Trägern des A-Allels gegenüber Trägern des G-Allels lässt auf einen protektiven Effekt des letzteren schließen. Ob es eine funktionelle Relevanz von rs498207 gibt bzw. wie ausgeprägt diese ist, konnte in bisherigen Untersuchungen bislang nicht abschließend geklärt werden. In einer Untersuchung von Buckland und Mitarbeitern [79] fanden sich keine Hinweise auf einen Einfluss des rs498207-Genotyps auf die Expression von 5-HT_{2C}-Rezeptoren, allerdings wurde die Studie nicht in vivo, sondern an zwei verschiedenen humanen Zellkulturlinien durchgeführt. Auch in einer postmortem-Untersuchung an Gehirnen schizophrener Patienten konnte weder für rs498207 noch für die beiden weiteren untersuchten Promoterpolymorphismen in *HTR2C* (rs3813928, rs521018) oder für die gemeinsamen Haplotypen ein Einfluss auf die mRNA-Expression gefunden werden [80].

Da sich der Haplotyp mit dem A-Allel von rs498207, dem G-Allel von rs3813928 und dem C-Allel von rs3813929 in der vorliegenden Untersuchung als signifikant mit einer relevanten Gewichtszunahme unter Antipsychotika assoziiert und alle drei Polymorphismen sich in einem hohen Ausmaß gemeinsam vererbt erwiesen, wäre schließlich auch denkbar, dass rs498207 als *Marker* für einen Haplotyp, der ein hohes Risiko für Gewichtszunahme besitzt, dienen kann, ohne selbst funktionelle Relevanz zu besitzen.

Für die anderen in *HTR2C* untersuchten Polymorphismen konnten teils übereinstimmend, teils abweichend zu anderen Studien keine signifikante Assoziation der einzelnen SNPs zur Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme festgestellt werden, jedoch einige nichtsignifikante Trends.

Bei dem Cys23Ser-Polymorphismus (rs6318), handelt es sich um eine Substitution des G-Allels durch ein C-Allel in Nukleotid 68 in *HTR2C*, was zu einem Austausch von Cystein gegen Serin im Protein führt, wobei in vitro gezeigt werden konnte, dass die 23Ser-Variante mit einer höheren Aktivität des Rezeptors verbunden ist und der

Polymorphismus somit eine funktionelle Relevanz zu besitzen scheint [81]. Übereinstimmend mit den meisten bislang publizierten Untersuchungen konnte in der vorliegenden Studie keine Assoziation des Polymorphismus mit der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme gefunden werden, wenn sich auch ein nichtsignifikanter Trend im Vergleich von GG-Genotyp bzw. G-Hemizygoten gegenüber dem CC-Genotyp bzw. C-Hemizygoten hin zu einer höheren Zunahme von G-Allelträgern (Cys23-Variante) fand. Dieses Resultat kann die Ergebnisse der einzigen veröffentlichten Studie, die eine signifikante Assoziation des Polymorphismus zur Gewichtszunahme beschreibt, nicht bestätigen. Hier wurde bei 164 japanischen, über 8-24 Wochen vorwiegend mit Olanzapin behandelten Patienten eine signifikante Assoziation der 23Ser-Variante mit Gewichtszunahme gefunden, wobei jedoch nur neun Patienten Träger dieser Variante waren [21]. Auch Basile und Mitarbeiter beschrieben zwar in einer Untersuchung an 80 über sechs Wochen mit Clozapin behandelten Patienten eine höhere Gewichtszunahme bei homozygoten Trägern der 23Ser-Variante, allerdings waren die Unterschiede nicht statistisch signifikant [65].

Hong und Mitarbeiter [82] konnten keine Assoziation mit Gewichtszunahme feststellen, wobei allerdings von 93 chinesischen Patienten, die über vier Monate mit Clozapin behandelt wurden, nur ein Patient Träger des C-Allels war. Eine Untersuchung an 152 mit Clozapin behandelten kaukasischen Patienten konnte ebenfalls keine Assoziation des Cys23Ser-Polymorphismus zur Gewichtszunahme feststellen, ebenso wenig mit dem Auftreten anderer Nebenwirkungen der antipsychotischen Behandlung [83]. Auch eine weitere Studie an 102 kaukasischen Patienten mit gemischter antipsychotischer Medikation über 28 Tage [22] konnte, ebenso wie eine Untersuchung an 139 Patienten mit gemischter Medikation über im Schnitt 11,2 Wochen [84], keine Assoziation des Polymorphismus zur Gewichtszunahme finden, wobei in letzterer ein gemeinsamer Haplotyp der 23Ser-Variante mit dem C-Allel im -759C/T-Polymorphismus einen protektiven Effekt auf die Gewichtszunahme zu haben schien. Insgesamt ist bei widersprüchlichen, jedoch vorwiegend negativen Ergebnissen nach aktuellem Forschungsstand davon auszugehen, dass der Cys23Ser-Polymorphismus selbst keinen Einfluss auf die Gewichtszunahme unter Antipsychotika auszuüben scheint.

Auch für den-997G/A-Polymorphismus (rs3813928) in der Promoterregion von *HTR2C* wurde in der vorliegenden Studie keine signifikante Assoziation mit

Gewichtszunahme gefunden, wobei sich allerdings ein bei Frauen deutlicher ausgeprägter nichtsignifikanter Trend für eine höhere Gewichtszunahme des GG-Genotyps gegenüber dem AA-Genotyp zeigte. Dieses Ergebnis ist ebenfalls übereinstimmend mit der bisher publizierten Literatur. So konnten Mulder und Mitarbeiter weder für das Vorliegen eines metabolischen Syndroms bei 112 mit verschiedenen Antipsychotika behandelten Patienten [85], noch für das Vorliegen von Adipositas bei 127 Patienten unter antipsychotischer Medikation [20] eine signifikante Assoziation finden. Die funktionelle Relevanz des Polymorphismus ist nicht eindeutig belegt. So beschrieben Buckland und Mitarbeiter [79] *in vitro* eine niedrigere Expression von *HTR2C* bei Vorliegen des A-Allels, allerdings konnten Castensson und Mitarbeiter [80] in einer postmortem-Studie keinen Einfluss des Polymorphismus auf die mRNA-Expression von *HTR2C* feststellen.

Schließlich zeigte sich auch für den bislang meistuntersuchten Polymorphismus in der Promoterregion von *HTR2C*, den -759C/T-Polymorphismus (rs3813929) in der vorliegenden Untersuchung zwar kein signifikantes Ergebnis, allerdings ergab sich ein nichtsignifikanter Trend für eine höhere Gewichtszunahme von Trägern des C-Allels gegenüber Trägern des T-Allels, der bei Frauen mit CC-Genotyp gegenüber dem TT-Genotyp am deutlichsten ausgeprägt war ($p=.062$). Dieser Trend weist in dieselbe Richtung wie die meisten publizierten Untersuchungen zu -759C/T, die einen protektiven Effekt des T-Allels gegenüber der Gewichtszunahme beschreiben. So fanden Reynolds und Mitarbeiter [24] in einer Studie zu diesem Polymorphismus bei 123 Han-Chinesen unter erstmaliger Behandlung mit verschiedenen Antipsychotika ebenso eine niedrigere Gewichtszunahme bei Trägern des T-Allels. Dieselbe Arbeitsgruppe beschrieb in einer kleineren Stichprobe von 32 über sechs Wochen mit Clozapin behandelten Han-chinesischen Patienten, dass der Effekt bei Männern stärker ausgeprägt sei als bei Frauen [78]. Allerdings waren bei sehr kleiner Fallzahl keine für das T-Allel homozygoten Frauen in der Stichprobe enthalten. Lane und Mitarbeiter [27] konnten bei 123 mit Risperidon bis zu sechs Wochen behandelten chinesischen Patienten das niedrigere Risiko von Trägern des T-Allels für eine signifikante Gewichtszunahme bestätigen.

Die in der vorliegenden Untersuchung beobachtete, wenn auch nichtsignifikant höhere, Gewichtszunahme bei Trägern des C-Allels konnte auch in anderen Studien an Patienten kaukasischer Herkunft gezeigt werden, wobei sich sowohl bei 42 über sechs Wochen mit Olanzapin [86] als auch bei 41 über sechs Monate mit Clozapin

[87] behandelten Patienten ein signifikantes Ergebnis zeigte. Schließlich zeigte sich auch in einer Studie von Templeman und Mitarbeitern [88] eine signifikant höhere Gewichtszunahme bei Trägern des C-Allels in einer Stichprobe mit 73 kaukasischen Patientinnen sowohl bei kurzer als auch nach mehrmonatiger Behandlungsdauer.

Lediglich in einer Studie von Basile und Mitarbeitern mit 80 ethnisch heterogenen, über sechs Wochen mit Clozapin behandelten Patienten [26] zeigte sich eine höhere Gewichtszunahme bei Vorliegen des T-Allels, wobei dieser Effekt nur bei Männern auftrat und nicht signifikant war. Dagegen existieren mehrere Untersuchungen, die keinen Einfluss des Polymorphismus auf die Gewichtszunahme nachwiesen. So konnten Kuzman und Mitarbeiter [89] in einer Untersuchung an 108 kroatischen Patientinnen, die für vier Monate überwiegend zum ersten Mal antipsychotisch mit Olanzapin oder Risperidon behandelt wurden, keine Assoziation des Polymorphismus zur Gewichtszunahme feststellen, ebenso wie Park und Mitarbeiter in einer Studie mit 79 über drei Monate mit Olanzapin behandelten koreanischen Patienten [25] sowie De Luca und Mitarbeiter in einer weiteren Studie an 139 ethnisch heterogenen Patienten [84], wobei hier, wie oben beschrieben, der Haplotyp des 23Ser- und des C-Allels in -759C/T einen protektiven Effekt zu haben schien. Schließlich konnten auch in einer Studie mit 97 mitteleuropäischen, über 12 Wochen mit Clozapin behandelten Patienten [90] sowie in einer Untersuchung mit 80 chinesischen Patienten [91] keine Assoziationen gefunden werden.

Zusammenfassend zeigt sich bislang eine sehr heterogene Datenlage bezüglich des -759C/T-Polymorphismus. Zwar könnten widersprüchliche Ergebnisse zum Teil durch unterschiedliche Medikation, Ethnizität und Behandlungsdauer bedingt sein, allerdings fanden sich auch bei gleicher Ethnizität und ähnlichem Studiendesign teils unterschiedliche Ergebnisse. Das C-Allel, das mit einer niedrigeren Gen-Expression von *HTR2C* verbunden [79] und somit von funktioneller Bedeutung ist, zeigt sich dennoch insgesamt mit einem höheren Risiko für Antipsychotika-assoziierte Gewichtszunahme behaftet. Trotzdem bleiben weitere Studien erforderlich, insbesondere solche mit höherer Fallzahl, um die Relevanz des Polymorphismus abschließend zu klären und die Ergebnisse auch bei größeren Kollektiven zu replizieren.

4.3 Leptin

In der vorliegenden Untersuchung konnte keine Assoziation des -2548A/G-Polymorphismus mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme gefunden und somit[bislang publizierte Positivergebnisse nicht repliziert werden.

Während die meisten vorliegenden Studien eine Assoziation des G-Allels mit Gewichtszunahme beschrieben, war in einer Untersuchung von Zhang und Mitarbeitern [36] das Vorliegen des *AA-Genotyps* bei 128 nicht antipsychotisch vorbehandelten chinesischen Patienten mit Gewichtszunahme und Zunahme des intraabdominellen Fettgewebes unter Risperidon oder Chlorpromazin assoziiert.

Demgegenüber wurde in einer Studie bei 73 mit unterschiedlichen Antipsychotika behandelten kaukasischen Patienten [88] ein signifikant höherer Anstieg des BMI bei Trägern des GG-Genotyps gegenüber dem AA- und dem GA-Genotyp gefunden. Dabei waren die Unterschiede nur nach einer Behandlung über neun Monate signifikant, jedoch nicht nach sechs Wochen und drei Monaten. Auch Zhang und Mitarbeiter konnten bei 102 Han-chinesischen Patienten mit *mehrfähriger* Clozapin-Behandlung diese höhere Gewichtszunahme bei Trägern des GG-Genotyps finden [35].

Ellingrod und Mitarbeiter [92] beschrieben in einer Studie mit 37 kaukasischen Patienten, die für sechs Wochen Olanzapin erhielten, eine höhere Gewichtszunahme bei Trägern des G-Allels, wobei das Ergebnis jedoch nur bei Olanzapin-Plasmaspiegeln $\geq 20.6 \text{ ng/mL}$ und gleichzeitigem Vorliegen mindestens eines G-Allels im Q223R-Polymorphismus im Leptinrezeptor-Gen (*LEPR*) signifikant war, übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie nicht aber für den -2548A/G-Polymorphismus allein.

Eine weitere Untersuchung zeigte bei 74 koreanischen Patienten eine signifikant höhere Gewichtszunahme des AG-Genotyps gegenüber dem AA-Genotyp unter mindestens dreimonatiger Langzeitbehandlung mit Olanzapin. Es waren keine Patienten mit GG-Genotyp vorhanden, so dass die Aussagekraft der Studie hierdurch eingeschränkt ist.

Schließlich konnten Gregoor und Mitarbeiter [36] in einer retrospektiven Untersuchung bei 200 kaukasischen Patienten, die über mindestens drei Monate mit verschiedenen Antipsychotika vorbehandelt waren, keine Assoziation des -2548A/G-Polymorphismus zum Vorhandensein von Adipositas finden, wobei jedoch keine Daten zum Gewicht vor Einstellung auf die Medikation vorlagen, so dass keine Assoziation zur *Gewichtsänderung* untersucht werden konnte.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien könnten auf verschiedene Faktoren wie verschiedene Ethnizitäten der untersuchten Patienten, Abweichungen von Erkrankungs- und Beobachtungsdauer sowie variable eingesetzte Substanzen zurückzuführen sein. Da Positivergebnisse für den -2548A/G-Polymorphismus vorwiegend für *Langzeitbehandlungen* vorliegen, ist auch denkbar, dass dieser zwar bei längerfristiger Einnahme von Antipsychotika eine Rolle spielt, aber bei kürzerer Behandlungszeit nur einen geringen Einfluss auf die Zunahme nimmt, z.B. indem er auf langsamer wirkende Pathomechanismen der Energiehomöostase Einfluss nimmt. In der vorliegenden Untersuchung mit einer relativ kurzen Beobachtungsdauer von sechs Wochen waren die Unterschiede zwar nicht signifikant, es zeigte sich jedoch eine moderat höhere Gewichtszunahme des GG-Genotyps mit 7,44% gegenüber dem AA-Genotyp mit 6,80%, so dass nicht auszuschließen ist, dass sich bei längerer Beobachtungsdauer signifikante Unterschiede gezeigt hätten.

Andererseits existieren auch für die Allgemeinbevölkerung Untersuchungen, die keine Verbindung zwischen dem -2548A/G-Polymorphismus und der Entwicklung von Übergewicht und Adipositas finden konnten [93,94], so dass trotz Hinweisen auf funktionelle Relevanz des Polymorphismus auch anderen am Leptinhaushalt beteiligten Genen Beachtung geschenkt werden sollte, z.B. dem Q223R-Polymorphismus (G>A) im Leptinrezeptor-Gen. Träger der RR-Variante (AA-Genotyp) zeigten in einigen Studien in der Allgemeinbevölkerung ein deutlich niedrigeres Körpergewicht [94,95]. Auch bei der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme konnten Gregoor und Mitarbeiter [36] zumindest bei Frauen ein signifikant höheres Gewicht bei Trägerinnen der 223QQ-(GG-Genotyp) gegenüber Trägerinnen der 223RR-Variante beobachten. Da sowohl in der Allgemeinbevölkerung [95] als auch im Rahmen der Gewichtszunahme [92] eine höhere Gewichtszunahme des Haplotypen mit dem G-Allel im Q223R-Polymorphismus und dem G-Allel im -2548A/G-Polymorphismus beschrieben wurde, wäre letztendlich auch ein additiver Effekt bei Vorliegen der Risikoallele in beiden Genen nicht sicher auszuschließen. Auch hier sind weitere Studien erforderlich, um die Rolle von Leptin- und Leptinrezeptor-Gen bei der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme abschließend zu klären.

4.4 *INSIG2*

Das ubiquitär exprimierte Insulin- induzierte Gen (*INSIG*) moduliert die Cholesterinsynthese von Zellen, indem es die Aktivität des *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP), einem Transkriptionsfaktor mit drei verschiedenen Isoformen, der eine gesteigerte Cholesterin- und Fettsäuresynthese der Zelle bewirkt, hemmt. Während der Differenzierung von Adipozyten wird die Expression vor allem von *INSIG2* deutlich hochreguliert [96], so dass funktionelle Veränderungen, z.B. durch genetische Variationen, einen großen Einfluss auf den Metabolismus der Adipozyten und damit auf den BMI haben können. Dies macht *INSIG2* zu einem interessanten Kandidatengen auch bei der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme. Für die nahe bzw. in *INSIG2* lokalisierten Polymorphismen rs7566605, rs17587100, rs17047764 und rs10490624 konnte in der vorliegenden Untersuchung jedoch keine Assoziation nachgewiesen werden.

Zwischen den verschiedenen Genotypen von rs7566605, einem intergenetischen Polymorphismus nahe *INSIG2*, fanden sich keine signifikanten Unterschiede im Ausmaß der Gewichtszunahme. Es bestand lediglich ein nichtsignifikanter Trend zu einer geringeren Gewichtszunahme bei Trägern des CC-Genotyps gegenüber Trägern des GG-Genotyps. Dieses Negativergebnis steht in Einklang zu den zwei weiteren veröffentlichten Studien zur Assoziation dieses Polymorphismus mit Antipsychotika-induzierter Gewichtszunahme. Auch Skelly und Mitarbeiter [97] genotypisierten 756 Teilnehmer der CATIE-Studie, konnten jedoch weder für das Ausgangsgewicht noch für eine BMI-Veränderung unter Medikation eine statistisch signifikante Assoziation feststellen, ebenso wie Le Hellard und Mitarbeiter [41], die ebenfalls keine Hinweise auf einen Einfluss des Polymorphismus auf die Antipsychotika-induzierte Gewichtszunahme fanden. Somit ist nach derzeitigem Kenntnisstand nicht von einem Einfluss von rs7566605 im Zusammenhang mit Gewichtszunahme unter Antipsychotika auszugehen. Im Zusammenhang mit Gewichtszunahme und Adipositas in der Allgemeinbevölkerung existieren mehrere Studien mit kontroversen Ergebnissen. Herbert und Mitarbeiter [42] wiesen in einer genomweiten Assoziationsstudie einen signifikant höheren BMI bei Trägern des CC-Genotyps, der in der vorliegenden Untersuchung mit einer *geringeren* Gewichtszunahme verbunden war, bei Teilnehmern der Framingham-Studie nach und konnten dieses Ergebnis anschließend in vier von fünf weiteren unabhängigen Studienkohorten replizieren. Lyon und Mitarbeiter [98] konnten dieses Ergebnis in fünf

von neun verschiedenen Kohorten bestätigen, allerdings wurde in mehreren anderen Studien in verschiedenen Populationen keine Assoziation gefunden [99,100], so dass auch in der Allgemeinbevölkerung die Hinweise auf einen Einfluss von rs7566605 auf die Entwicklung von Übergewicht nicht eindeutig sind.

Auch für die in *INSIG2* gelegenen Polymorphismen rs17587100, rs17047764 und rs10490624 konnte in der vorliegenden Studie keine Assoziation zur Gewichtszunahme unter Antipsychotika festgestellt werden, wobei die Frequenz homozygoter Träger des selteneren Allels allerdings entweder sehr niedrig (rs17587100) war oder sogar keine vorhanden waren (rs10490624). Dieses Ergebnis kann die von Le Hellard und Mitarbeitern [41] beschriebene Assoziation der Polymorphismen mit der Gewichtszunahme nicht bestätigen. Diese Abweichungen sind teilweise durch die unterschiedlichen Studiendesigns erklärbar. So wurde die Assoziation zur Gewichtszunahme in der Studie von Le Hellard und Mitarbeitern zum einen retrospektiv vom ersten Zeitpunkt der Einstellung auf ein typisches oder atypisches Antipsychotikum bis zur Einstellung auf Clozapin, zum anderen prospektiv ab dem Zeitpunkt der Einstellung auf Clozapin bis zu 12 Wochen nach Beginn der Behandlung mit Clozapin untersucht. Die Assoziation der Polymorphismen wurde von Le Hellard sowohl im prospektiven als auch im retrospektiven Teil der Studie gefunden.

Dabei waren die Patienten im Mittel über 2,7+/-5,3 Jahre (0,02-31 Jahre) antipsychotisch vorbehandelt, so dass gegenüber der vorliegenden Untersuchung mit einem retrospektiven Zeitraum von 6 Wochen ein wesentlich längerer und heterogenerer Beobachtungszeitraum bestand. Auch der prospektive Teil der Studie war mit 12 Wochen Beobachtungszeitraum deutlich länger. Somit ist denkbar, dass ein potentieller Einfluss dieser *INSIG2*-Polymorphismen erst bei einer längeren Beobachtungszeit bzw. bei der Langzeitentwicklung von Übergewicht eine Rolle spielt bzw. dass der Einfluss eher gering ist und während einer kurzen Beobachtungszeit die potentiellen Effekte der Polymorphismen von denen anderer überlagert werden. Da bislang keine weiteren Assoziationsstudien zu diesen drei Polymorphismen publiziert wurden, sind weitere Untersuchungen notwendig, um deren generelle funktionelle Relevanz sowie die Bedeutung bei der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme abschließend zu klären. Auch bleibt die Möglichkeit offen, dass andere, bislang noch nicht im Zusammenhang mit Antipsychotika untersuchte genetische Variationen im *INSIG2*-Gen eine Rolle spielen, wie beispielsweise der -102G/A-Polymorphismus, für

den eine Assoziation zu höherem BMI bei gesunden Männern beschrieben wurde und auch eine funktionelle Relevanz im Fettgewebe nachgewiesen werden konnte [96]. Dennoch muss letztendlich auch diskutiert werden, wie groß der Einfluss von *INSIG2* selbst auf die Gewichtszunahme unter Antipsychotika wirklich ist. Fernø und Mitarbeiter [39] beschrieben eine *direkte* aktivierende Wirkung von Clozapin auf die SREBP-Transkriptionsfaktoren durch proteolytische Spaltung, was eine erhöhte Lipogenese in Gliazellen zur Folge hatte. Jedoch zeigte auch Haloperidol, das deutlich weniger Gewichtszunahme verursacht [7] einen vergleichbaren Effekt auf die Zellen, wenn auch erst in deutlich höheren Konzentrationen als sie im klinischen Gebrauch üblich sind [40]. Die direkte Aktivierung von SREBP könnte nach Fernø und Mitarbeitern zum einen Teil des Wirkmechanismus von Antipsychotika, aber auch verschiedener Antidepressiva sein, zum anderen auch eine Ursache metabolischer Veränderungen, da die Aktivierung von SREBP und eine dadurch gesteigerte Lipidsynthese auch in der Peripherie außerhalb des ZNS gezeigt werden konnte [101]. Denkbar ist, dass diese direkte Wirkung, die bislang allerdings nur in Zellkulturen und Tierversuchen nachgewiesen wurde, unabhängig von INSIG ist und die modulierende Wirkung von INSIG auf SREBP eine eher untergeordnete Rolle bei der Gewichtszunahme durch Antipsychotika spielt, was mit den in der aktuellen Untersuchung vorliegenden Negativergebnissen vereinbar ist.

4.5 Limitationen der Untersuchung

Wie bei allen anderen Untersuchungen existieren auch für die vorliegende Studie Einschränkungen, die bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten sind. Diese ergeben sich zunächst aus den Schwierigkeiten für klinische Studien, insbesondere mit retrospektivem Studiendesign, Störfaktoren mit einem Einfluss auf das Ergebnis so sicher reduzieren zu können, wie es z.B. bei Laboruntersuchungen der Fall ist. So bestehen nur eingeschränkte Möglichkeiten, Faktoren, die eine Gewichtszunahme der Patienten mit beeinflussen können, zu kontrollieren, wie z.B. das Ernährungsverhalten, da keine Essprotokolle während des Behandlungszeitraumes geführt wurden. Eine potentiell erkrankungsbedingte Gewichtsabnahme der Patienten vor Beginn der Behandlung, z.B. durch einen Vergiftungswahn, die zu einer erhöhten Gewichtszunahme unter Medikation führen kann, konnte für die vorliegende Studie

nicht sicher ausgeschlossen werden. Eine weitere Störgröße könnte in der stationären Behandlung an sich bestehen, die durch die Einnahme regelmäßigerer Mahlzeiten und weniger körperliche Aktivität der Patienten während des Klinikaufenthaltes ebenfalls eine Gewichtszunahme begünstigen könnte.

Limitationen bestehen auch bezüglich der heterogen zusammengesetzten Patientenstichprobe. Es bestanden große Abweichungen bezüglich der Erkrankungsdauer, so dass ein Einfluss durch den bisherigen Erkrankungsverlauf und die bereits früher erfolgte antipsychotische Medikation bei Patienten, die nicht zum ersten Mal erkrankt waren, nicht ausgeschlossen werden konnte. Daten zu einer Gewichtszunahme unter Vormedikation ließen sich nur von einem Teil der Patienten sicher erheben, so dass sie in die Auswertung der Studie nicht mit einfließen konnten. Auch bezüglich der aktuellen antipsychotischen Medikation war die Stichprobe heterogen zusammengesetzt. Ein großer Teil der Patienten erhielt im Beobachtungszeitraum mehr als ein Antipsychotikum bzw. Begleitmedikation, z.B. ein Antidepressivum oder Stimmungsstabilisierende Substanzen. Im Rahmen der statistischen Auswertung der Studie konnte jedoch gezeigt werden, dass keine signifikanten Abweichungen im Ausmaß der Gewichtszunahme zwischen den unterschiedlich behandelten Patienten bestand, so dass die jeweilige Medikation als Störfaktor weitgehend ausgeschlossen werden konnte.

Da die Aussagekraft genetischer Untersuchungen mit der Fallzahl steigt, muss schließlich auch die Anzahl der teilnehmenden Patienten bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden. Diese ist in der vorliegenden Untersuchung mit anderen Studien zur Gewichtszunahme unter Antipsychotika vergleichbar, vgl. [28], grundsätzlich wäre für die Bearbeitung genetischer Fragestellungen jedoch eine höhere Fallzahl wünschenswert um die Aussagekraft zu erhöhen, was beispielsweise durch multizentrische, größere Studien wie z.B. die CATIE-Studie (Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness), eine Studie des NIMH (National Institute of Mental Health, USA), welche die Effektivität typischer und atypischer Antipsychotika in der Behandlung der Schizophrenie untersuchte [6], angestrebt wird.

4.6 Ausblick

Die hohe klinische Relevanz der Gewichtszunahme unter Antipsychotika mit sowohl erheblichen gesundheitlichen Folgen als auch negativem Einfluss auf die Therapieadhärenz der Patienten hat in den letzten Jahren zu vermehrten Bestrebungen geführt, nach aussagekräftigen Prädiktoren und Risikofaktoren dieser Nebenwirkung zu suchen. Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, existieren zahlreiche Studien, die ein genetisch determiniertes Risiko für eine Gewichtszunahme untersucht haben. Dabei wurde eine Vielzahl an Kandidatengenen gefunden, wobei - ähnlich anderer komplexer Phänotypen wie z.B. der Entstehung von Adipositas in der Allgemeinbevölkerung - eine multifaktorielle Genese anzunehmen ist. Die vorliegende Arbeit unterstützt die bislang vorliegenden Hinweise auf den Einfluss eines der bislang vielversprechendsten Kandidatengene, *HTR2C*, das für den 5-HT_{2C}-Serotoninrezeptor kodiert, auf die Gewichtszunahme unter antipsychotischer Medikation. Bei jedoch teilweise widersprüchlichen Ergebnissen bislang publizierter Untersuchungen bezüglich Positiv- und Negativbefunden und Risikoallelen sowie aufgrund der hohen Komplexität der an der Gewichtsregulation beteiligten Prozesse lässt sich nach heutigem Wissensstand noch kein individuelles Risikoprofil für eine Gewichtszunahme bestimmen. Die Einrichtung eines individuell angepassten Therapieregimes wird nicht zuletzt auch durch die vermutlich bestehende Vielzahl an genetischen Komponenten, die bei der Gewichtszunahme untereinander und mit Umweltfaktoren interagieren und teils eher geringe bis mittelgradige Effekte auf den Phänotyp ausüben, weiter erschwert. Angesichts der großen Zahl an Untersuchungen und ersten richtungweisenden Befunden ist dennoch denkbar, dass in den nächsten Jahren Verfahren entwickelt werden, z.B. in Form von DNA-Chips, die als Hilfestellung bei der individuellen Risikoabschätzung und damit bei der Auswahl geeigneter Substanzen dienen könnten. Ein solches Beispiel klinischer Anwendung von Genotypisierungen stellt die bereits zum Teil im Alltag eingesetzte Untersuchung der auf die Pharmakokinetik wirkenden Gene *CYP2C9* und *VKORC1* zur Dosisfindung bei Therapie mit Cumarinen dar, wobei bislang noch keine allgemeinen Empfehlungen für den routinemäßigen Einsatz bestehen [102].

Auch die weiteren Ansätze, dem Problem der Gewichtszunahme unter atypischen Antipsychotika beizukommen z.B. die zusätzliche Gabe von Metformin [103] oder von GLP-1 Analoga wie Liraglutide, das sich im Tierversuch als protektiv gegenüber

Gewichtszunahme unter Olanzapin erwies [104], sind ebenfalls noch nicht im klinischen Alltag relevant.

Daher bleibt derzeit die individuelle Gewichtszunahme ein bedeutendes Problem bei der Behandlung von Patienten mit Antipsychotika, dem im Alltag größere Beachtung geschenkt werden sollte. Die negativen Folgen der Pharmakotherapie führen zu einer erheblich erhöhten Morbidität der behandelten Patienten bzw. letztendlich zu Therapieabbrüchen, die ihrerseits die Prognose der Erkrankung negativ beeinflussen. Regelmäßige Kontrollen von Körpergewicht, Blutdruck und Laborwerten sind erforderlich, um die Entwicklung von Adipositas und/oder eines metabolischen Syndroms frühzeitig zu erkennen und Gegenmaßnahmen – bis hin zur Umstellung der Pharmakotherapie - zu ergreifen. Empfehlungen wie das „Consensus Statement on Antipsychotic Drugs and Obesity and Diabetes“ der American Diabetes Association aus dem Jahr 2004, die Leitlinien für die regelmäßige Überwachung von metabolischen Parametern enthält, sind Schritte in die richtige Richtung. Allerdings war der Einfluss dieser Empfehlung auf die Praxis nur gering [105]. Es wäre wünschenswert, dass sich routinemäßige Kontrollen, Ernährungsberatung und Bewegungsprogramme für mit atypischen Antipsychotika behandelte Patienten im klinischen Alltag fest etablieren, um das Risiko exzessiver Gewichtszunahme als Nebenwirkung der Behandlung zu reduzieren - zumindest, bis Möglichkeiten existieren, dieses bereits *vor* Einstellung auf die Medikation zu erkennen. Hier kann der Beitrag pharmakogenetischer Studien – wie z.B. der vorliegenden Arbeit - zur Verbesserung der klinischen Versorgung liegen.

5 Zusammenfassung

Eine klinisch relevante Gewichtszunahme stellt unter antipsychotischer Behandlung mit Substanzen der zweiten Generation, den atypischen Antipsychotika, eine häufige und ernstzunehmende Nebenwirkung dar. Es bestehen jedoch große interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der Gewichtszunahme, was unter anderem genetische Faktoren als Ursache vermuten lässt. Unter den zahlreichen bislang identifizierten Kandidatengenomen zeigten Polymorphismen im X-chromosomal vererbten *HTR2C*-Gen, das für den 5-HT_{2C}-Serotoninrezeptor kodiert, bislang die vielversprechendsten Assoziationsbefunde. Interessante Ergebnisse fanden sich bislang auch für das Leptinogen (*LEP*) und für *INSIG2*. In der vorliegenden Arbeit sollten vorliegende Positivbefunde repliziert und ein bislang nicht untersuchter Polymorphismus (-1165A/G) in *HTR2C* betrachtet werden.

Dazu wurde eine retrospektive Assoziationsstudie an 128 europäischen Patienten durchgeführt, die über mindestens sechs Wochen mit verschiedenen atypischen Antipsychotika mit einem hohen Risiko für Gewichtszunahme behandelt worden waren. Die Genotypisierung erfolgte mittels TaqMan®-Exonukleaseassays, die anschließende statistische Auswertung wurde mittels ANOVA und logistischer Regressionsanalyse durchgeführt, Haplotypen wurden mit dem Programm Haploview 4.1 untersucht.

Es zeigte sich eine signifikante Assoziation des -1165A/G-Polymorphismus in *HTR2C* zur Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme, der in hohem Maße gemeinsam mit dem vielfach voruntersuchten -759C/T-Polymorphismus vererbt wird. Auch ein gemeinsamer Haplotyp des A-Allels des -1165A/G-, des C-Allels des -759C/T- und des G-Allels des -997G/A-Polymorphismus zeigte sich signifikant mit dem Ausmaß der Gewichtszunahme assoziiert. Vorliegende Positivergebnisse für die Polymorphismen in *INSIG2* und *LEP* konnten nicht repliziert werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind ein weiterer, wichtiger Beleg für die Rolle des *HTR2C*-Gens bei der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme. Aufgrund der heterogenen bislang publizierten Datenlage und teilweise widersprüchlicher Ergebnisse sind dennoch weitere Studien, vor allem in Stichproben mit größerer Fallzahl, erforderlich, um das Ausmaß des Einflusses von *HTR2C* genauer zu bestimmen und somit eine künftige klinische Anwendbarkeit der Ergebnisse genetischer Untersuchungen zu erreichen.

6 Literaturverzeichnis

1. Benkert O, Hippus H. Kompendium der Psychiatrischen Pharmakotherapie. 6. überarbeitete Auflage, Heidelberg 2007. S. 187-188.
2. Buckley PF, Miller DD; Singer B et al. Clinicians' recognition of the metabolic adverse effects of antipsychotic medications. *Schizophr Res.* 2005 Nov 15; 79(23): 281-8.
3. Ryan MC, Collins P, Thakore JH. Impaired fasting glucose tolerance in first-episode, drug-naive patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2003 Feb; 160(2): 284-9.
4. Holt RI, Peveler RC. Association between antipsychotic drugs and diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2006 Mar; 8(2): 125-35.
5. Weiden PJ, Mackell JA; McDonnell DD. Obesity as a risk factor for antipsychotic noncompliance. *Schizophr Res.* 2004 Jan 1; 66(1): 51-7.
6. Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med.* 2005 Sep 22; 353(12): 1209-23.
7. Allison DB, Mentore JL, Heo M et al. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am J Psychiatry.* 1999 Nov;156(11):1686-96.
8. Zimmermann U, Kraus T, Himmerich H et al. Epidemiology, implications and mechanisms underlying drug-induced weight gain in psychiatric patients. *J Psychiatr Res.* 2003 May-Jun;37(3):193-220.
9. Kim SF, Huang AS, Snowman AM et al: From the Cover: Antipsychotic drug-induced weight gain mediated by histamine H1 receptor-linked activation of hypothalamic AMP-kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Feb 27;104(9):3456-9.
10. Heinz A. Dopaminergic dysfunction in alcoholism and schizophrenia--psychopathological and behavioral correlates. *Eur Psychiatry.* 2002 Mar;17(1):9-16.
11. Müller DJ, Muglia P, Fortune T et al. Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain. *Pharmacol Res.* 2004 Apr;49(4):309-29.

12. Aichhorn W, Whitworth AB, Weiss EM et al. Neuere Antipsychotika-Unterschiede im Nebenwirkungsprofil bei Männern und Frauen. *Nervenarzt*. 2007 Jan;78(1):45-52.
13. Basson BR, Kinon BJ, Taylor CC et al. Factors influencing acute weight change in patients with schizophrenia treated with olanzapine, haloperidol, or risperidone. *J Clin Psychiatry*. 2001 Apr;62(4):231-8.
14. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Apr; 14(4):529-644.
15. Wehmeier PM, Gebhardt S, Schmidtke J et al. Clozapine: weight gain in a pair of monozygotic twins concordant for schizophrenia and mild mental retardation. *Psychiatry Res*. 2005 Feb 28;133(2-3):273-6.
16. Barsh GS, Schwartz MW. Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. *Nat Rev Genet*. 2002 Aug;3(8):589-600.
17. Heisler LK, Cowley MA, Tecott LH et al. Activation of central melanocortin pathways by fenfluramine. *Science*. 2002 Jul 26; 297 (5581):609-11.
18. Currie PJ, Saxena N, Tu AY. 5-HT_{2A/2C} receptor antagonists in the paraventricular nucleus attenuate the action of DOI on NPY-stimulated eating. *Neuroreport*. 1999 Sep 29; 10 (14):3033-6.
19. Jhanwar-Uniyal M, Beck B, Jhanwar YS et al. Neuropeptide Y projection from arcuate nucleus to parvocellular division of paraventricular nucleus: specific relation to the ingestion of carbohydrate. *Brain Res*. 1993 Dec 17; 631(1): 97-106.
20. Mulder H, Franke B, van der-BEEK van der AA et al: The association between HTR2C polymorphisms and obesity in psychiatric patients using antipsychotics: a cross-sectional study. *Pharmacogenomics J*. 2007 Oct; 7(5):318-24.
21. Ujike H, Nomura A, Morita Y et al. Multiple genetic factors in olanzapine-induced weight gain in schizophrenia patients: a cohort study. *J Clin Psychiatry*. 2008 Sep; 69 (9):1416-22.
22. Popp J, Leucht S, Heres S. DRD4 48 bp VNTR but not 5-HT_{2C} Cys23Ser receptor polymorphism is related to antipsychotic-induced weight gain. *Pharmacogenomics J*. 2009 Feb;9(1):71-7.

23. De Luca V, Müller DJ, de Bartolomeis A et al. Association of the HTR2C gene and antipsychotic induced weight gain: a meta-analysis. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2007 Oct;10(5):697-704.
24. Reynolds GP, Zhang ZJ, Zhang XB. Association of antipsychotic drug-induced weight gain with a 5-HT_{2C} receptor gene polymorphism. *Lancet*. 2002 Jun 15;359(9323):2086-7.
25. Park YM, Cho JH, Kang SG et al. Lack of association between the -759C/T polymorphism of the 5-HT_{2C} receptor gene and olanzapine-induced weight gain among Korean schizophrenic patients. *J Clin Pharm Ther*. 2008 Feb;33 (1):55-60.
26. Basile VS, Masellis M, De Luca V et al. 759C/T genetic variation of 5HT_{2C} receptor and clozapine-induced weight gain. *Lancet*. 2002 Nov 30; 360 (9347):1790-1.
27. Lane HY, Liu YC, Huang CL et al. Risperidone-related weight gain: genetic and nongenetic predictors. *J Clin Psychopharmacol*. 2006 Apr;26(2):128-34.
28. Müller DJ, Kennedy JL. Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. *Pharmacogenomics*. 2006 Sep;7(6):863-87.
29. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. 1997 Jun 26; 87 (6636):903-8.
30. Pollmächer T. Leptin und psychiatrische Erkrankungen. *Nervenarzt*. 2002 Sep; 73(9):897-902.
31. Kraus T, Haack M, Schuld A et al. Body weight and leptin plasma levels during treatment with antipsychotic drugs. *Am J Psychiatry*. 1999 Feb; 156 (2):312-4.
32. Mammès O, Betoulle D, Aubert R et al. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Ann Hum Genet*. 2000 Sep;64(Pt 5):391-4.
33. Kang SG, Lee HJ, Park YM et al. Possible association between the -2548A/G polymorphism of the leptin gene and olanzapine-induced weight gain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008 Jan 1; 32 (1):160-3.

34. Zhang XY, Tan YL, Zhou DF et al. Association of clozapine-induced weight gain with a polymorphism in the leptin promoter region in patients with chronic schizophrenia in a Chinese population. *J Clin Psychopharmacol*. 2007 Jun;27(3):246-51.
35. Zhang ZJ, Yao ZJ, Mou XD et al. Association of -2548A/G functional polymorphism in the promoter region of leptin gene with antipsychotic agent-induced weight gain. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2003 Dec 25;83 (24):2119-23.
36. Gregoor JG, van der Weide J, Mulder H et al. Polymorphisms of the LEP- and LEPR gene and obesity in patients using antipsychotic medication. *J Clin Psychopharmacol*. 2009 Feb; 29 (1):21-5.
37. Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr et al. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000 Apr 6; 404(6778):661-71.
38. Yabe D, Brown MS, Goldstein JL. Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Oct 1;99(20):12753-8.
39. Fernø J, Raeder MB, Vik-Mo AO et al. Antipsychotic drugs activate SREBP-regulated expression of lipid biosynthetic genes in cultured human glioma cells: a novel mechanism of action? *Pharmacogenomics J*. 2005; 5 (5):298-304.
40. Fernø J, Skrede S, Vik-Mo AO et al. Drug-induced activation of SREBP-controlled lipogenic gene expression in CNS-related cell lines: marked differences between various antipsychotic drugs. *BMC Neurosci*. 2006 Oct 20; 7: 69.
41. Le Hellard S, Theisen FM, Haberhausen M et al. Association between the insulin-induced gene 2 (INSIG2) and weight gain in a German sample of antipsychotic-treated schizophrenic patients: perturbation of SREBP-controlled lipogenesis in drug-related metabolic adverse effects? *Mol Psychiatry*. 2009 Mar; 14 (3):308-17.
42. Herbert A, Gerry NP, McQueen MB. A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity. *Science*. 2006 Apr 14; 312 (5771):279-83.
43. Badman MK, Flier JS. The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. *Science*. 2005 Mar 25;307(5717):1909-14.

44. Esen-Danaci A, Sarandöl A, Taneli F, et al.: Effects of second generation antipsychotics on leptin and ghrelin. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008 Aug 1;32(6):1434-8.
45. Hosojima H, Togo T, Odawara T et al. Early effects of olanzapine on serum levels of ghrelin, adiponectin and leptin in patients with schizophrenia. *J Psychopharmacol*. 2006 Jan; 20 (1):75-9.
46. Theisen FM, Gebhardt S, Brömel T et al. A prospective study of serum ghrelin levels in patients treated with clozapine. *J Neural Transm*. 2005 Oct; 112(10): 1411-6.
47. Himmerich H, Fulda S, Künzel HE et al. Ghrelin plasma levels during psychopharmacological treatment. *Neuropsychobiology*. 2005;52(1):11-6.
48. Correll CU; Malhotra AK. Pharmacogenetics of antipsychotic-induced weight gain. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004 Auf; 174(4): 477-89.
49. Kapur S, Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003 Oct;27(7):1081-90.
50. Zhang ZJ, Yao ZJ, Zhang XB, et al: No association of antipsychotic agent-induced weight gain with a DA receptor gene polymorphism and therapeutic response. *Acta Pharmacol Sin*. 2003 Mar; 24 (3):235-40.
51. Rietschel M, Naber D, Oberländer H. Efficacy and side-effects of clozapine: testing for association with allelic variation in the dopamine D4 receptor gene. *Neuropsychopharmacology*. 1996 Nov; 15 (5):491-6.
52. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev*. 2004 Jan;84 (1):277-359.
53. Van Baak MA. The peripheral sympathetic nervous system in human obesity. *Obes Rev*. 2001 Feb; 2 (1):3-14.
54. Park YM, Chung YC, Lee SH et al. Weight gain associated with the alpha2a-adrenergic receptor -1,291 C/G polymorphism and olanzapine treatment. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2006 Jun 5; 141B (4):394-7.

55. Wang YC, Bai YM, Chen JY et al. Polymorphism of the adrenergic receptor alpha 2a -1291C>G genetic variation and clozapine-induced weight gain. *J Neural Transm.* 2005 Nov; 112 (11):1463-8.
56. Müller DJ, De Luca V, Sicard T et al. Suggestive association between the C825T polymorphism of the G-protein beta3 subunit gene (GNB3) and clinical improvement with antipsychotics in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2005 Oct; 15 (5):525-31.
57. Wang YC, Bai YM, Chen JY et al. C825T polymorphism in the human G protein beta3 subunit gene is associated with long-term clozapine treatment-induced body weight change in the Chinese population. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Oct; 15 (10):743-8.
58. Tsai SJ, Yu YW, Lin CH et al. Association study of adrenergic beta3 receptor (Trp64Arg) and G-protein beta3 subunit gene (C825T) polymorphisms and weight change during clozapine treatment. *Neuropsychobiology.* 2004;50(1):37-40.
59. Hong CJ, Lin CH, Yu YW et al. Genetic variant of the histamine-1 receptor (glu349asp) and body weight change during clozapine treatment. *Psychiatr Genet.* 2002 Sep;12(3):169-71.
60. Han M, Deng C, Burne TH. Short- and long-term effects of antipsychotic drug treatment on weight gain and H1 receptor expression. *Psychoneuroendocrinology.* 2008 Jun; 33 (5):569-80.
61. Müller DJ, Klempan TA, De Luca V et al. The SNAP-25 gene may be associated with clinical response and weight gain in antipsychotic treatment of schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2005 May 6;379(2):81-9.
62. Musil R, Spellmann I, Riedel M et al. SNAP-25 gene polymorphisms and weight gain in schizophrenic patients. *J Psychiatr Res.* 2008 Oct; 42(12):963-70.
63. Zhang XY, Zhou DF, Wu GY et al. BDNF levels and genotype are associated with antipsychotic-induced weight gain in patients with chronic schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2008 Aug; 33 (9):2200-5.
64. Zai G, Müller DJ, Volavka J et al. Family and case-control association study of the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene with schizophrenia and

- response to antipsychotic medication. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Oct;188 (2):171-82.
65. Basile VS, Masellis M, McIntyre RS et al. Genetic dissection of atypical antipsychotic-induced weight gain: novel preliminary data on the pharmacogenetic puzzle. *J Clin Psychiatry*. 2001;62 Suppl 23:45-66.
 66. Ellingrod VL, Miller D, Schultz SK et al. CYP2D6 polymorphisms and atypical antipsychotic weight gain. *Psychiatr Genet*. 2002 Mar;12(1):55-8.
 67. Müller DJ, Peter C, Puls I et al. Genetik der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme. *Nervenarzt* 2009 May;80(5):556-63.
 68. Risch N, Teng J. The relative power of family-based and case-control designs for linkage disequilibrium studies of complex human diseases I. DNA pooling. *Genome Res*. 1998 Dec;8 (12):1273-88.
 69. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13 (2):261-76.
 70. Livak KJ. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 1999 Feb;14:143-149.
 71. Barrett JC, Fry B, Maller J et al. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005 Jan 15;21(2):263-5.
 72. Leucht S, Kane JM, Kissling W et al. What does the PANSS mean? *Schizophr Res*. 2005 Nov 15; 79 (2-3):231-8.
 73. Mulder H, Cohen D, Scheffer H et al. HTR2C gene polymorphisms and the metabolic syndrome in patients with schizophrenia: a replication study. *Clin Psychopharmacol*. 2009 Feb; 29 (1):16-20.
 74. Parsons B, Allison DB, Loebel A et al. Weight effects associated with antipsychotics: A comprehensive database analysis. *Schizophr Res*. 2009 May; 110(1-3): 103-10.
 75. Chow JC, Yen Z, Ziesche SM et al. Silencing of the mammalian X chromosome. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2005. 6:69-92.
 76. Carrel L, Willard HF. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature*. 2005 Mar 17; 434(7031): 400-4.

77. Smith-Bouvier DL, Divekar AA, Sasidhar M et al. A role for sex chromosome complement in the female bias in autoimmune disease. *J Exp Med* 2008 May 12; 205(5): 1099-108.
78. Reynolds GP, Zhang Z, Zhang X. Polymorphism of the promoter region of the serotonin 5-HT (2C) receptor gene and clozapine-induced weight gain. *Am J Psychiatry*. 2003 Apr; 160 (4):677-9.
79. Buckland PR, Hoogendoorn B, Guy CA et al. Low gene expression conferred by association of an allele of the 5-HT_{2C} receptor gene with antipsychotic-induced weight gain. *Am J Psychiatry*. 2005 Mar;162(3):613-5.
80. Castensson A, Aberg K, McCarthy S et al. Serotonin receptor 2C (HTR_{2C}) and schizophrenia: examination of possible medication and genetic influences on expression levels. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005 Apr 5;134B (1):84-9.
81. Okada M, Northup JK, Ozaki N et al. Modification of human 5-HT(2C) receptor function by Cys23Ser, an abundant, naturally occurring amino-acid substitution. *Mol Psychiatry*. 2004 Jan;9(1):55-64.
82. Hong CJ, Lin CH, Yu YW et al. Genetic variants of the serotonin system and weight change during clozapine treatment. *Pharmacogenetics*. 2001 Apr;11(3):265-8.
83. Rietschel M, Naber D, Fimmers R et al. Efficacy and side-effects of clozapine not associated with variation in the 5-HT_{2C} receptor. *Neuroreport*. 1997 May 27;8(8):1999-2003.
84. De Luca V, Müller DJ, Hwang R et al. HTR_{2C} haplotypes and antipsychotics-induced weight gain: X-linked multimarker analysis. *Hum Psychopharmacol*. 2007 Oct; 22 (7):463-7.
85. Mulder H, Franke B, van der-Beek van der AA et al: The association between HTR_{2C} gene polymorphisms and the metabolic syndrome in patients with schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol*. 2007 Aug;27 (4):338-43.
86. Ellingrod VL, Perry PJ, Ringold JC et al. Weight gain associated with the -759C/T polymorphism of the 5HT_{2C} receptor and olanzapine. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005 Apr 5; 134B (1):76-8.

87. Miller DD, Ellingrod VL, Holman TL et al. Clozapine-induced weight gain associated with the 5HT_{2C} receptor -759CT polymorphism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2005 Feb 5;133B (1):97-100.
88. Templeman LA, Reynolds GP, Arranz B et al. Polymorphisms of the 5-HT_{2C} receptor and leptin genes are associated with antipsychotic drug-induced weight gain in Caucasian subjects with a first-episode psychosis. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Apr;15(4):195-200.
89. Kuzman MR, Medved V, Bozina N et al. The influence of 5-HT (2C) and MDR1 genetic polymorphisms on antipsychotic-induced weight gain in female schizophrenic patients. *Psychiatry Res.* 2008 Sep 30;160(3):308-15.
90. Theisen FM, Hinney A, Brömel T et al. Lack of association between the -759CT polymorphism of the 5-HT_{2C} receptor gene and clozapine-induced weight gain among German schizophrenic individuals. *Psychiatr Genet.* 2004 Sep; 14(3):139-42.
91. Tsai SJ, Hong CJ, Yu YW et al. -759CT genetic variation of 5HT (2C) receptor and clozapine-induced weight gain. *Lancet.* 2002 Nov 30; 360(9347):1790.
92. Ellingrod VL, Bishop JR, Moline J. Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and increases in body mass index (BMI) from olanzapine treatment in persons with schizophrenia. *Psychopharmacol Bull.* 2007;40(1):57-62.
93. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005 Jul 15;162(2):101-14.
94. Portolés O, Sorlí JV, Francés F et al. Effect of genetic variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol.* 2006;21(8):605-12.
95. Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu VA et al. LEPR p.Q223R, beta3-AR p.W64R and LEP c.-2548G>A gene variants in obese Brazilian subjects. *Genet Mol Res.* 2007 Oct 5; 6(4):1035-43.
96. Krapivner S, Popov S, Chernogubova E et al. Insulin-induced gene 2 involvement in human adipocyte metabolism and body weight regulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 May; 93 (5):1995-2001.

97. Skelly T, Pinheiro AP, Lange LA et al. Is rs7566605, a SNP near INSIG2, associated with body mass in a randomized clinical trial of antipsychotics in schizophrenia? *Mol Psychiatry*. 2007 Apr;12(4):321-2.
98. Lyon HN, Emilsson V, Hinney A et al. The association of a SNP upstream of INSIG2 with body mass index is reproduced in several but not all cohorts. *PLoS Genet*. 2007 Apr 27;3(4):e61.
99. Wiedmann S, Neureuther K, Stark K et al. Lack of Association Between a Common Polymorphism Near the INSIG2 Gene and BMI, Myocardial Infarction, and Cardiovascular Risk Factors. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Feb 5.
100. Vimalaswaran KS, Franks PW, Brage S et al. Absence of Association Between the INSIG2 Gene Polymorphism (rs7566605) and Obesity in the European Youth Heart Study (EYHS). *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Feb 5.
101. Fernø J, Vik-Mo AO, Jassim G et al. Psychopharmacology (Berl). Acute clozapine exposure in vivo induces lipid accumulation and marked sequential changes in the expression of SREBP, PPAR, and LXR target genes in rat liver. 2009 Mar;203 (1):73-84.
102. Flockhart DA; O'Kane D, Williams MS et al. Pharmacogenetic testing of CYP2C9 and VKORC1 alleles for warfarin *Genet Med*. 2008 Feb; 10(2): 139-50.
103. Baptista T, Rangel N, Fernández V et al. Metformin as an adjunctive treatment to control body weight and metabolic dysfunction during olanzapine administration: a multicentric, double-blind, placebo-controlled trial. *Schizophr Res*. 2007 Jul;93(1-3):99-108.
104. Lykkegaard K, Larsen PJ, Vrang N et al. The once-daily human GLP-1 analog, liraglutide, reduces olanzapine-induced weight gain and glucose intolerance. *Schizophr Res*. 2008 Aug; 103 (1-3):94-103.
105. Morrato EH, Newcomer JW, Allen RR et al. Prevalence of baseline serum glucose and lipid testing in users of second-generation antipsychotic drugs: a retrospective, population-based study of Medicaid claims data. *J Clin Psychiatry*. 2008 Feb;69(2):316-22.

7 Lebenslauf

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

8 Publikationsverzeichnis

Publikationen zum Thema der Dissertation:

Müller DJ, Puls I, **Brandl EJ**; Lang UE, Gallinat J, Heinz A. Genetik der Antipsychotika-assoziierten Gewichtszunahme. *Nervenarzt*. 2009 May; 80(5): 556-63.

Opgen-Rhein C*, **Brandl EJ***, Müller DJ, Neuhaus AH, Tiwari AK, Sander T, Dettling M (*:geteilte Erstautorenschaft). Association of *HTR2C*, but not *leptin* or *INSIG2* genes with Antipsychotic-induced weight gain in a German sample. (*Manuskript in Vorbereitung*)

weitere Publikationen:

Brandl EJ, Opgen-Rhein C, Kraschewski A, Tuszewski M, Neu P. Zwangsbehandlung bei schwerer Anorexia nervosa. *Neurotransmitter*. 2008, 7-8: 60-61.

Luborzewski A, Hahn E, **Brandl EJ**; Opgen-Rhein C, Neu P, Dettling M. Leitsymptom bizarrer Verhaltensweisen. *Neurotransmitter*. 2008, 12: 56-61.

Brandl EJ, Opgen-Rhein C, Müller DJ; Neuhaus AH, Faller V, Sander T, Dettling M. Association of genetic alterations in *GAD2* with antipsychotic-induced weight gain in a German sample. Poster 64th Annual meeting Society of Biological Psychiatry (SOBP), Vancouver, Canada, 14.-16.05.2009.

9 Selbständigkeitserklärung

Ich, Eva Janina Brandl, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:
„Assoziation von Gewichtszunahme unter Behandlung mit atypischen Antipsychotika
mit Polymorphismen des Serotoninrezeptor-, des Leptin- und des Insulin-induzierten
Gens“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt,
ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer
Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, 04.06.09

10 Danksagungen

Ich möchte mich abschließend bei all denen bedanken, die mich auf vielfältige Weise bei der Durchführung der Dissertation unterstützt haben.

Prof. Dr. Michael Dettling danke ich für die Bereitstellung des Themas und die große Unterstützung bei meiner klinischen und wissenschaftlichen Arbeit.

Bei Dr. Carolin Opgen-Rhein möchte ich mich herzlich für die hervorragende Betreuung, stete Präsenz und die zahlreichen hilfreichen Ratschläge bedanken. Eric Hahn, Dr. Andres Neuhaus, Dr. Carsten Urbanek und Verena Faller danke ich für tatkräftiges Anpacken und die angenehme Zusammenarbeit.

Ich bedanke mich bei Dr. med. habil. Daniel Müller für viele, viele e-mails und Antworten auf alle meine Fragen.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, Elisabeth Hienert-Brandl und Prof. Dr. Ulrich Brandl, für unablässige Motivation und zahlreiche Hilfestellungen beruflich und privat.

Ich danke Oliver Semrau für Rückhalt in allen Lebenslagen. Dr. Martin Köhnlein verdanke ich die Motivation, den ersten Satz zu schreiben und danach auch weiterzumachen.

Bei Katharina Gaupp möchte ich mich für das wahrscheinlich beste Korrekturlesen der Welt bedanken. Des Weiteren danke ich Tania Kan, Björn Gallas, Jan Siggel, Juliane Rau, Marion Semrau, Ulrich Semrau, Simon Brandl, Christiane Stenz, Katrin Ziemann, Gudrun Thiem, Christian Bänisch, Karsten Eichler, Natalie Joeres, PD Dr. Tom Bschor, PD Dr. Peter Neu, Dr. Juliane Teich-Belohradsky und Ikbal Ucar für große und kleine Ratschläge und immer offene Ohren.

Ohne die teilnehmenden Patienten wäre die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen, daher möchte ich diesen ganz besonders danken.