

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

DISSERTATION

Genetische Assoziationsstudien zwischen Polymorphismen des  
MDR1- und CYP1A2-Gens und therapeutischer Wirksamkeit  
sowie Gewichtszunahme in der antipsychotischen Therapie bei  
Schizophrenie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marilyn Mager

aus Rüdersdorf

Gutachter:           1. Prof. Dr. med. I. Puls  
                          2. Prof. Dr. med. M. Dettling  
                          3. Prof. Dr. med. D. Rujescu

Datum der Promotion: 19.03.2010

Meiner Familie Henry, Gertraude, Marcel Mager,

Tim Franke gewidmet

und in Erinnerung an Erna-Helene Schlott

# INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	Schizophrenie	1
1.1.1	Ätiologie und Prognose	2
1.1.2	Antipsychotische Therapie und Nebenwirkungen	3
1.1.3	Pharmakogenetik	5
1.2	Das CYP1A2-Gen	7
1.2.1	Allgemeiner Hintergrund	7
1.2.2	Substrate und Inhibitoren	8
1.2.3	Polymorphismen	8
1.3	Das MDR1-Gen	9
1.3.1	Allgemeiner Hintergrund	9
1.3.2	Substrate und Inhibitoren	9
1.3.3	Polymorphismen	10
<b>2</b>	<b>FRAGESTELLUNG</b>	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>13</b>
3.1	Materialien und Chemikalien	13
3.2	Klinische Methodik	14
3.2.1	Studienteilnehmer	14
3.2.2	Ein- und Ausschlusskriterien	15
3.2.3	Psychometrische Messinstrumente und klinische Untersuchungen	15
3.3	Experimentelle Methodik	19
3.3.1	DNA-Extraktion	19
3.3.2	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	20
3.4	Statistik	22
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>24</b>
4.1	Demographische und klinische Daten	25
4.2	Homogenitätsanalysen innerhalb der Ethnien	26
4.3	Voraussetzungen ANOVA und ANCOVA	28
4.3.1	Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest	28
4.3.2	Levene-Test	29
4.4	Einfluss der demographischen und klinischen Daten auf Gewichtszunahme und therapeutische Wirksamkeit	29
4.5	Genetische Analysen der Gewichtsveränderung	31
4.6	Genetische Analysen der therapeutischen Wirksamkeit	34
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>40</b>
5.1	Übersicht zu den experimentellen Analysen	40

5.1.1	Der CYP1A2*1F-Polymorphismus: Einfluss auf Gewicht und therapeutische Wirksamkeit.....	40
5.1.2	Der C3435T-Polymorphismus: Einfluss auf Gewicht und therapeutische Wirksamkeit .....	44
5.1.3	Gewichtszunahme und Geschlecht.....	46
5.1.4	Gewichtszunahme und Ethnizität.....	48
5.2	Limitationen der Studie.....	49
5.3	Ausblick auf zukünftige Studien .....	51
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>55</b>
<b>7</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>59</b>
	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>VI</b>
	<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG .....</b>	<b>VII</b>
	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>VIII</b>
	<b>PUBLIKATIONS LISTE.....</b>	<b>IX</b>

# 1 EINLEITUNG

---

## 1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie gehört in die Hauptgruppe endogener Psychosen und ist eine tiefgreifende psychiatrische Erkrankung bei der eine multifaktorielle Entstehung angenommen wird und genetische Einflüsse eine starke Relevanz besitzen [1]. Sie ist durch ein charakteristisches Störungsmuster verschiedener psychischer Bereiche wie Wahrnehmung, Denken, Ich-Funktionen, Affektivität, Antrieb und Psychomotorik beschrieben.

Die Lebenszeitprävalenz eines Menschen mindestens einmal an Schizophrenie zu erkranken beträgt, in Abhängigkeit von der Spanne der Definition der Krankheitsdiagnose und der Lebenserwartung der Bevölkerung, weltweit zwischen 0,5 – 1,6 %. Die Erkrankung tritt bevorzugt zwischen dem 15. und 35. Lebensjahr auf. Die jährliche Inzidenzrate liegt bei 0,05 % [2, 3].

Die aktuell geläufige Gliederung in die paranoid-halluzinatorische, hebephrene und katatone Schizophrenie wurde 1896 von Emil Kraepelin unter dem Begriff *Dementia praecox* zusammengefasst [4]. Eugen Bleuler gab dem Krankheitsbild 1911 den Namen Schizophrenie [5]. Kurt Schneider et al. beschrieben 1957 Symptome ersten und zweiten Ranges und orientierten sich an der unterschiedlichen diagnostischen Wertigkeit einzelner Symptome aus den abnormen Erlebniskategorien Halluzination, schizophrene Ich-Störung und Wahn [6]. Erst seit den siebziger Jahren des 20. Jahrhunderts wird von einer Positiv- und Negativsymptomatik gesprochen [7]. Dabei stellen Wahn, Größenideen, Verfolgungsideen, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Erregung und Feindseeligkeit Positivsymptome dar. Zu den Negativsymptomen zählen Affektverflachung, Mangel an affektiven Rapport, Spontanität und Flüssigkeit der Sprache, Schwierigkeiten im abstrakten Denken, stereotype Gedanken, soziale Passivität und emotionaler Rückzug. Der Ansatz von Kraepelin bildete die Basis für die heutigen Klassifikationssysteme, wie ICD-10 (International Classification of Diseases) und DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders).

### 1.1.1 Ätiologie und Prognose

In der Genese der Schizophrenie stehen genetisch-biologische und psychosoziale Ursachen in einem Wechselspiel. Dieses Wechselspiel wurde von Zubin und Spring erstmals als „Vulnerabilitäts-Stress-Modell“ bezeichnet [8]. Dabei stellt die familiäre genetische Belastung einen gesicherten Risikofaktor bei der Entwicklung der Schizophrenie dar [9], wobei das Risiko proportional zur Nähe des Verwandtschaftsgrades steigt [10]. Auch toxische Faktoren, wie der Cannabis-Wirkstoff Tetrahydrocannabinol - v. a. in Kombination mit Amphetaminen, erhöht das Risiko an einer Schizophrenie zu erkranken und begünstigt den Ausbruch in jüngeren Lebensjahren [11]. Als Ursache für die Positivsymptomatik wurde eine dopaminerge Überaktivität im Striatum [12] und für die Negativsymptomatik eine Minderfunktion der Dopaminaktivität im präfrontalen Kortex beschrieben [13]. Derzeit häufig eingesetzte atypische Antipsychotika (AP) wirken meist antagonistisch auf den Serotonin 5HT<sub>2A</sub>-Rezeptor (5-Hydroxy-Tryptamin-Rezeptor) und haben eine erhöhte Bindungsaffinität zum DRD<sub>4</sub>-Rezeptor (Dopamin 4-Rezeptor), wobei allen AP ein Antagonismus des DRD<sub>2</sub>-Rezeptors gemein ist [14]. Eine Minderdurchblutung [15] des Frontalhirns, Erweiterungen des Ventrikelsystems [16] und Volumenreduktion bestimmter Hirnareale [17] werden zu den neuropathologischen Ursachen der Schizophrenie gezählt. Psychosoziale Faktoren wie belastende Lebenssituationen, die subjektiv mit Stress verbunden sind, können akute Episoden sowie den Ausbruch der Schizophrenie verursachen. Bereits vor Ausbruch der Erkrankung (sogenannte Prodromalphase) können kognitive und interaktionale Defizite bzw. Auffälligkeiten zu einem Abstieg in niedrigere soziale Schichten führen („Drift-Hypothese“) [18]. Emotionales Überengagement sowie vermehrte Kritik und Feindseeligkeit gegenüber dem Erkrankten in der Familie („High-Expressed-Emotion-Theorie“) haben einen verstärkten Einfluss auf Verlauf, Rückfallrisiko und Prognose der Erkrankung [19].

Die Schizophrenie stellt eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung dar, der eine multifaktorielle Genese zugrunde liegt und Patienten in ihrer Lebensqualität stark einschränkt. Die Rate der Suizidalität ist mit 4 – 15 % gegenüber der Normalbevölkerung etwa 50-fach erhöht [20]. In 20 % der Fälle ist durch eine adäquate Therapie eine volle Wiederherstellung psychischer Gesundheit zu erreichen. Bei 80 % der Betroffenen entwickelt sich eine Remission verschiedener Qualität [1].

### 1.1.2 Antipsychotische Therapie und Nebenwirkungen

Die Therapie der Schizophrenie ist komplex und beinhaltet im Allgemeinen drei wichtige Kategorien: Pharmakologie, Psychotherapie/Psychoedukation und Soziotherapie. Die einzelnen Kategorien können im Verlauf der Erkrankung unterschiedliche Bedeutung einnehmen. Eine Besonderheit der pharmakologischen Behandlung besteht darin, dass eine Therapie nicht nur im Akutstadium sondern auch als Rezidivprophylaxe von zentraler Bedeutung ist [1].

In der pharmakologischen Therapie schizophrener Erkrankter kommen Antipsychotika (früher: Neuroleptika) zum Einsatz. In den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurde - eher zufällig - mit Chlorpromazin das erste Antipsychotikum entdeckt. Seither sind eine Vielzahl von AP entwickelt worden, die sich im Allgemeinen durch ältere (typische) und neuere (atypische) AP charakterisieren lassen. In der Behandlung der Schizophrenie hat sich ein Wandel zugunsten der atypischen AP vollzogen.

Antipsychotika unterscheiden sich in ihrer Pharmakokinetik und Pharmakodynamik und können somit zu einer unterschiedlichen therapeutischen Wirksamkeit bzw. Ausbildung von Nebenwirkungen führen. Hohe Metabolisierungskapazitäten können bei der Gabe konventioneller Medikamentendosen zu niedrigen Serumspiegeln und verminderter Wirkung führen, niedrige Metabolisierungskapazitäten zu hohen Plasmaspiegeln und verstärkt auftretenden Nebenwirkungen. Die Metabolisierungskapazitäten sind vom jeweiligen Enzym, dessen Induktion und Inhibition durch eventuelle externe Einflussfaktoren oder Enzyminteraktionen abhängig und werden durch relevante genetische Polymorphismen beeinflusst.

Die typischen AP zeichnen sich im Verlauf durch beeinträchtigende Nebenwirkungen, wie v. a. extrapyramidale Bewegungsstörungen einschließlich Spätdyskinesien, aus [21]. In der Therapie mit atypischen AP zeigen sich diese Nebenwirkungen weitaus geringer [22]. Dafür leiden die Patienten im Verlauf relativ häufig unter metabolischen Komplikationen, wie Hyperglykämie, Dyslipidämie und Gewichtszunahme. So sind insbesondere Clozapin und Olanzapin als atypische AP mit durchschnittlichen Gewichtszunahmen von ca. 4 – 5 kg nach zehnwöchiger Einnahme besonders hervorzuheben [23]. Verglichen mit diesen beiden AP sind die Gewichtsveränderungen unter



## Einleitung

Risperidon und Quetiapin weniger deutlich ausgeprägt [21, 24, 25]. Unter Ziprasidon finden sich bisher keine Hinweise für eine Gewichtszunahme [22, 26].

Die Folgen der Gewichtszunahme sind häufig verheerend (vgl. Tabelle 1), da auch ohne antipsychotische Behandlung an Schizophrenie erkrankte Personen gegenüber der Allgemeinbevölkerung ein etwa doppelt so hohes Risiko besitzen bestimmte körperliche Erkrankungen, wie z. B. Diabetes, Übergewichtigkeit, Lipidstoffwechselstörungen und koronare Herzerkrankungen, zu entwickeln. Die koronaren Herzerkrankungen sind, neben dem erhöhten Suizidvorkommen, auch ein Grund für die um 20 % verkürzte Lebenserwartung schizophrener Erkrankter. Weitere Gründe der Gewichtszunahme sind genetische Prädisposition, Mangel an körperlicher Bewegung, einseitige Ernährung und die verminderte Inanspruchnahme von Gesundheitsdiensten. In den westlichen Industrieländern wird Adipositas oft mit dem Stigma von „Faulheit“ und Willensschwäche verbunden. Betroffene Personengruppen sind bei der Suche oder Vermittlung von Arbeitsstellen, Wohnungen und auch Schließung von Partnerschaften benachteiligt [27]. In einer Studie an 565 schizophrenen Patienten aus Deutschland wurde herausgestellt, dass bei der Beurteilung der am stärksten die Lebensqualität einschränkenden Nebenwirkungen die Gewichtszunahme nach extrapyramidalen Störungen und Sedierung den dritten Platz einnahm [28].

<b>Anstieg Körpergewicht (BMI)-Zentrale Adipositas</b>				
<b>Insulin-Resistenz-Hyperinsulinismus</b>				
Verminderte Glukosetoleranz	Anstieg Harnsäure	Dyslipidämie (Triglyceridanstieg, erniedrigtes HDL)	Natriumretention, Bluthochdruck	Zusätzliche RF wie CRP, TNF und Fibrinogenanstieg
Häufigste Folgeerkrankungen:				
Diabetes mellitus Typ 2; arterielle Hypertonie; koronare Herzkrankheit; Zerebrovaskuläre Erkrankungen; Gallensteine; Osteoarthritis; Gelenkerkrankungen; respiratorische Erkrankungen; eingeschränkte Fruchtbarkeit; Menstruationsstörungen; Schwangerschaftsrisiken; Krebs (Gallenblase, Darm, Endometrium, Prostata); Stressinkontinenz; Demenz				

**Tabelle 1: Das metabolische Syndrom als Komplikation des Übergewichts [29]**

Aufgrund des sehr unterschiedlichen Wirkungs- und Nebenwirkungsprofils bei schizophrenen Erkrankten unter antipsychotischer Therapie, ist die Suche nach dem geeigneten Antipsychotikum häufig ein langwieriger Prozess. Dies kann mit verlängerten Kranken-

hausaufenthalt und zum Teil auch mit gravierenden Nebenwirkungen verbunden sein. Mit Hilfe pharmakogenetischer Untersuchungen soll ein Grundstein gelegt werden, Patienten mit erhöhter Disposition für eine AP-bedingte Gewichtszunahme vor Therapiebeginn zu identifizieren [30].

### 1.1.3 Pharmakogenetik

Neben klinischen und demographischen Charakteristika wird die interindividuelle Varianz unter antipsychotischer Behandlung auf genetische Faktoren zurückgeführt [31]. Das menschliche Genom besteht aus 46 Chromosomen, drei Milliarden Basenpaaren, ca. 25.000 Genen und enthält genkodierende und nicht genkodierende Abschnitte. Ein Gen besteht aus der Folge entsprechender DNA-Nukleotide. Bei Änderungen der DNA-Sequenz spricht man von genetischen Polymorphismen. Diese können entweder ohne funktionelle Bedeutung bleiben oder zur Bildung von Proteinen führen, die eine strukturelle Modifikation oder eine veränderte Expression erfahren [30]. Durch Identifikation dieser Genkonstellationen ist es möglich, bei Vorliegen von schweren Arzneimittelnebenwirkungen vor Beginn einer Therapie Risikopatienten zu identifizieren. Dieses Wissenschaftsgebiet bezeichnet man als Pharmakogenetik, ein Begriff, den Vogel 1959 prägte [32]. Ihr Gegenstand sind die Zusammenhänge zwischen Variationen im menschlichen Genom und unterschiedliche Reaktionen auf Medikamente [33]. Dabei wird speziell untersucht, inwieweit Polymorphismen für die interindividuellen Unterschiede in der Wirkung und dem Auftreten von Nebenwirkungen verantwortlich sind. Diese Variationen bzw. Polymorphismen können an der Kontrolle pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Prozesse eines Arzneimittels beteiligt sein. Sind Gene betroffen, die die Synthese der Medikamente abbauenden Enzyme beeinflussen, können hierbei Schwankungen der Plasma- bzw. Gewebekonzentrationen entstehen, die sich auf die therapeutische Wirksamkeit und die Inzidenz von Nebenwirkungen auswirken können. Als Beispiel kann hier das Cytochrom CYP2C9 dienen, das für den Abbau von Cumarinen verantwortlich ist. Dabei werden v. a. zwei Varianten des Cytochroms (CYP2C9\*2 und CYP2C9\*3) mit verringerter Aktivität und somit vermindertem Metabolismus von Cumarinderivaten beschrieben. Für Träger dieser Varianten waren geringere Dosen notwendig, um eine therapeutische Wirksamkeit zu gewährleisten [34].

Desweiteren können in der Blut-Hirnschranke lokalisierte Transporter durch Mutationen verändert sein und somit in ihrer Expression und Funktion variieren. Trotz vergleich-

## Einleitung

barer Plasmakonzentrationen eines Medikamentes können sich die Patienten dann in ihrem Nebenwirkungsprofil unterscheiden. Ein weiterer Wirkpunkt von Medikamenten ist die Bindung an bestimmte Zellstrukturen wie Rezeptoren, die durch Mutation zu einem veränderten Wirkungsprofil führen können.

In pharmakogenetischen Untersuchungen können zwei Klassen unterschieden werden:

- 1) **Pharmakokinetik**, die die Resorption, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung eines Medikamentes beschreibt.
- 2) **Pharmakodynamik**, die den Einfluss von Medikamenten auf den Organismus in Bezug auf das Zielorgan untersucht.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Polymorphismen kodieren für Enzyme aus dem pharmakokinetischen (CYP1A2\*1F, C3435T) Bereich. Im Folgenden werden hinsichtlich der Gewichtszunahme bzw. der Ausbildung von Nebenwirkungen relevante pharmakokinetische und pharmakodynamische Polymorphismen zusammengefasst, die kürzlich in einem Übersichtsartikel zusammengefasst wurden [30].

Im Bereich der Pharmakokinetik wurde für Polymorphismen des CYP2D6-Gens (Allel \*3/\*4, 188C/T) unter Olanzapin- bzw. Risperidoneinnahme eine signifikante Gewichtszunahme beschrieben [35, 36]. Für den C→A Polymorphismus im Intron 1 des CYP1A2-Gens konnte bezüglich dem Auftreten von Spätdyskinesien Signifikanz nachgewiesen werden [37].

Im pharmakodynamischen Bereich konnten wiederholt signifikante Befunde im 5-HT<sub>2C</sub>-Gen, Leptin-Gen, SNAP-25-Gen (synaptosome-associated protein of 25 kDa) [30, 38] und dem ADR $\alpha$ 2a-Gen (alpha-2a adrenergic receptor) [30, 39] gefunden werden. Das Leptin-Gen ist im Fettstoffwechsel involviert und führt bei Ausschüttung im Serum zu einer verminderten Nahrungszufuhr und zu einer verringerten Fettspeicherung. Die Ergebnisse des Promoter-Polymorphismus-2458A/G zeigten eine signifikante Assoziation hinsichtlich der AP-induzierten Gewichtszunahme [27, 40]. Nachdem Untersuchungen des 5-HT<sub>2C</sub>-Gens an 5-HT<sub>2C</sub>-Knockout-Mäusen durchgeführt wurden und diese eine Hyperphagie entwickelten, stieg das Interesse am 5-HT<sub>2C</sub>-Gen im Zusammenhang mit der Gewichtsregulation. Verschiedene Studien zeigten seither signifikante Assoziationen der Genvarianten des 5-HT<sub>2C</sub>-Gens mit AP-induzierter Gewichtszunahme.

me [41, 42]. Die Alpha-Rezeptoren des sympathischen Nervensystems wirken der Lipolyse im Fettgewebe entgegen [43]. Dabei fanden sich für den -1291C/G-Polymorphismus des  $ADRA2a$ -Gens signifikante Assoziationen [44].

In der Behandlung schizophrener Patienten mit manchen atypischen AP wurde beobachtet, dass viele Patienten erheblich an Gewicht zunahmen. Die zu beobachtende interindividuelle Variabilität wird unter anderem auch auf genetische Faktoren zurückgeführt [30]. Diese genetischen Faktoren sind möglicherweise zum Teil in Enzymen zu vermuten, die an der Pharmakokinetik beteiligt sind. In dieser Studie sollen zwei wichtige Enzyme (MDR1, CYP1A2), für deren SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) ein Einfluss auf die Kinetik einiger AP beschrieben wurde, hinsichtlich Veränderungen des Gewichts und der therapeutischen Wirksamkeit in einem Zeitraum von sechs Wochen untersucht werden. Diese sind in den folgenden Kapiteln näher beschrieben.

### **1.2 Das CYP1A2-Gen**

#### **1.2.1 Allgemeiner Hintergrund**

Die Cytochrom-P450-Enzyme bilden eine Superfamilie von Isoenzymen, deren Anzahl beim Menschen schätzungsweise bei 60 – 200 liegt [45]. Cytochrome sind wesentlicher Bestandteil der Biotransformation von etwa 50 % aller Medikamente [46]. Desweiteren sind sie an der Biosynthese von Steroiden beteiligt, können Karzinoide aktivieren oder deaktivieren [47] und wirken an wichtigen Funktionsabläufe (Wachstum, Differenzierung etc.) im menschlichen Organismus mit [48]. Bei jedem Menschen können CYP-Enzyme in ihrer Struktur oder Menge variieren [49]. Das CYP1A2-Gen metabolisiert rund 15 % der verwendeten Arzneimittel und katalysiert unter den AP primär Clozapin und Olanzapin sowie weitere AP [50], wobei CYP1A2 nur an einem Teil des Metabolismus dieser Medikamente beteiligt ist. Als am Clozapinmetabolismus beteiligte Enzyme wurden zudem auch CYP2D6 und CYP3A4 beschrieben [51]. Enzyme der Cytochrom-P450-Superfamilie sind ubiquitär im gesamten menschlichen Körper vorhanden (ZNS [52], Lunge [53], vaskuläre Endothelialzellen [54]) und sind dort teils an der inneren Membran der Mitochondrien, teils an der Membran des endoplasmatischen Retikulums gebunden [55]. Cytochrome sind Hämproteine, die aus einer Hämgruppe und 400 – 500 Aminosäuren bestehen. Sie zeichnen sich durch ihre starke Absorption bei 450 nm aus. Ihre Einteilung in verschiedene Subfamilien erfolgt mittels Aminosäuresequenzhomologie.

### 1.2.2 Substrate und Inhibitoren

Substrate des CYP1A2-Gens finden sich in verschiedenen Stoffgruppen. Im Bereich der AP sind Clozapin, Olanzapin, Levomepromazin, Haloperidol und Zotepin vertreten. Desweiteren werden Genussmittel (Koffein), Antihistaminika (Theophyllin), Antidepressiva (Fluvoxamin, Amitryptilin), NSAR (Naproxen) und Sexualhormone (Östradiol), Nitrosamine, Mykotoxine, Nitroaromate und aromatische und heterozyklische Amine über CYP1A2 verstoffwechselt [56]. Zu den Inhibitoren des CYP1A2-Gens zählen Fluvoxamin, Grapefruitsaft, Amiodaron, Cimetidin und Ciprofloxacin. Induktoren sind Carbamazepin, Hyperforin, Nikotin, Phenobarbital und Rifampicin [57]. Da Clozapin und Olanzapin als Substrate des CYP1A2-Enzyms fungieren, ist eine Beteiligung von Varianten des CYP1A2-Gens vorstellbar, die durch den Einfluss auf die Enzymaktivität auch einen Einfluss auf die Wirkung von Clozapin und Olanzapin haben.

### 1.2.3 Polymorphismen

In-vivo-Messungen stellten bezüglich der CYP1A2-Aktivität eine große interindividuelle Variabilität heraus. Einerseits wird die Variabilität der CYP1A2-Aktivität auf eine unterschiedliche Expression durch Induktion einer Vielzahl von Diät- und Umweltchemikalien (auch Tabakrauchen) zurückgeführt, andererseits trägt auch eine polymodale Verteilung der CYP1A2-Aktivität durch eine polymorphe Kontrolle der Enzymaktivität zur Variabilität der CYP1A2-Aktivität bei [58]. Nakajama et al. als auch Yokoi et al. berichteten über Polymorphismen im Exon 2 und 7 und im Intron 1 des CYP1A2-Gens. Bei dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten SNP im Intron 1 handelt es sich um eine Substitution der Base Cytosin durch Adenin 734 bp (Basenpaare) strangabwärts vom ersten transkribierten Nukleotid. Für Genotypen dieses Polymorphismus (CYP1A2\*1F) wird ein Einfluss auf die Enzymaktivität des CYP1A2 unter Tabakrauch [59] beschrieben. Schizophrene Patienten, die Träger des C/C-Genotypen im CYP1A2\*1F-Polymorphismus sind, weisen ein höheres Risiko für die Entwicklung von Spätdyskinesien auf [37].

### **1.3 Das MDR1-Gen**

#### **1.3.1 Allgemeiner Hintergrund**

Das P-Glykoprotein (Pgp) ist ein Produkt des polymorphen ABCB1-Gens, welches auch als MDR1-Gen (Multidrug Resistenz Protein) beschrieben wird. Es ist auf Chromosom 7q21 lokalisiert und wurde erstmals in Tumorzellen beschrieben [60]. Beim Menschen wurden bisher zwei MDR-Gene identifiziert, MDR1 und MDR2. Der Pgp-Transporter kann durch Einschränkung der oralen Absorption, Gewebepenetration und auch durch die vermittelnde eingeschränkte Elimination zu pharmakokinetischen Unterschieden seiner Substrate führen [61]. In der Blut-Hirnschranke lokalisiert, fungiert das Protein als energieabhängiger Effluxtransporter, der zum Auswärtstransport zentral wirksamer Medikamente führt [62]. Das P-Glykoprotein ist in Tumorzellen und in normalem, gesundem Gewebe mit Ausscheidungsfunktion zu finden (Testis, Plazenta, Niere, Darm) [63]. Desweiteren ist es Teil der Zellmembran von CD34+-Stammzellen im Knochenmark [64] und von Leukozyten (CD56+, CD4+, CD15+, CD19+, CD14+-Zellen) [65]. Es ist ein 170 kDa großes Membranprotein, das aus 1280 Aminosäuren besteht und sechs hydrophobe transmembranäre Domänen und eine zytoplasmatische Domäne (ATP-bindende Region) besitzt.

#### **1.3.2 Substrate und Inhibitoren**

Substrate des MDR1-Gens finden sich in vielfältigen Stoffgruppen. Dazu gehören Zytostatika (Taxane), Steroide (Dexamethason), Statine (Lovastatin), Herzglykoside (Digoxin), HIV-Proteaseinhibitoren (Nelfinavir) und Immunsuppressiva (Cyclosporin) [66]. Haldol, Chlorpromazin und der Risperdalmetabolit 9-OH-Risperidone zeigten inhibitorische Effekte auf die Pgp-Aktivität. Für Quetiapin ist die bisherige Datenlage noch uneindeutig [67-69] und für Clozapin [70] wurde im Gegensatz zu seinem aktiven Metaboliten N-Desmethylclozapin [67] bisher keine Substrateigenschaften für das P-Glykoprotein nachgewiesen. Studien zeigten sowohl am Tiermodell als auch in vitro, dass Risperdal [69, 70] und Amisulprid [71, 72] Effluxsubstrate des P-Glykoproteins sind. Auch Olanzapin [73] und Aripiprazol wurden kürzlich als Substrate des MDR1-Gens beschrieben [40]. Johanniskraut, Chinidin, Vincristin und Rifampicin wirken eher induzierend auf das P-Glykoprotein [74].

### 1.3.3 Polymorphismen

Es wurden drei verschiedene SNPs beschrieben, die primär mit der Pgp-Aktivität und -Expression einhergehen (C1236T, G2677TA, C3435T) [75]. Hoffmeyer et al. fanden bei der Untersuchung von Patienten europäischer Herkunft auf 28 Exone des MDR1-Gens 15 relevante Polymorphismen [76]. Ein im Exon 26 des MDR1-Gens vorzufindender Cytosin-Thymin Basenaustausch (C3435T) war mit einer erniedrigten P-Glykoproteinexpression und -funktion beim Menschen assoziiert. Dabei führte v. a. das T-Allel durch vermutliche Hemmung der Pgp-Aktivität zu einer höheren ZNS-Konzentration seiner Substrate [61, 76].

## 2 FRAGESTELLUNG

---

Atypische AP können in einigen Fällen mit dem Risiko behaftet sein, eine erhebliche, klinisch relevante Gewichtszunahme zu erzeugen. Die daraus entstehende Adipositas kann neben den verheerenden metabolischen Sekundärkomplikationen, wie z. B. arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus, ein psychologisches Leiden verursachen und die Stigmatisierung der Patienten verstärken. Dabei ist jedoch beobachtet worden, dass sich schizophrene Erkrankte hinsichtlich ihrer Ausbildung von Nebenwirkungen und ihres Ansprechens auf AP unterscheiden. Diese interindividuelle Varianz ist vermutlich auf genetische Faktoren zurückzuführen, deren Identifikation die Entwicklung von prädiktiven Tests fördert und somit in Zukunft schizophren erkrankten Patienten eine nebenwirkungsarme, optimal angepasste Therapie ermöglicht. Die in diesem Rahmen untersuchten SNPs sind am Metabolismus von AP beteiligt.

Im CYP1A2-Gen wird in der vorliegenden Arbeit der funktionelle Einzelnukleotidpolymorphismus CYP1A2\*1F (ID:rs762551) untersucht, für dessen Genotypen ein Einfluss auf die Enzymaktivität des CYP1A2 unter Tabakrauch beschrieben wurde [59]. Daher ist zu vermuten, dass bei diesen Patienten der Stoffwechsel von CYP1A2-Substraten beeinflusst ist und es in Abhängigkeit von der Enzymaktivität vermutlich zu einer vermehrten oder verminderten Konzentration von Substraten im Blut kommt. Daraus könnte eine unterschiedlich starke Ausprägung von Nebenwirkungen, wie der Gewichtszunahme, sowie der therapeutischen Wirksamkeit resultieren.

Für den zweiten untersuchten Einzelnukleotidpolymorphismus C3435T (ID:rs1045642) des MDR1-Gens wurde eine funktionelle Relevanz beschrieben, wonach Träger des T-Allels eine Hemmung der Pgp-Aktivität aufwiesen [61, 76], die vermutlich zu einer zentralen Wirkung der AP mit einer Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit und aufgrund von erhöhten Plasmakonzentrationen der Substrate im ZNS zu einem vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen, wie beispielsweise einer Gewichtszunahme, führt.



## Fragestellung

Ziel dieser Studie ist es folglich zu untersuchen, ob die einzelnen Polymorphismen der beiden Kandidatengene CYP1A2 und MDR1 mit einer Veränderung des Gewichts bzw. der Symptomatik unter Therapie mit atypischen AP einhergehen. Hierzu ist ein Kollektiv von n=109 untersucht worden, wobei für die Analysen von CYP1A2 bevorzugt Patienten unter Clozapin- und Olanzapineinnahme und für MDR1 bevorzugt Patienten unter Amisulprid- , Aripiprazol- , Olanzapin- und Risperdaleinnahme betrachtet wurden, da diese Medikamente, bzw. im Falle des Clozapins sein Metabolit Norclozapin, als Substrate des CYP1A2- bzw. MDR1-Gens fungieren. Neben diesen molekulargenetischen Faktoren wurden auch andere Faktoren berücksichtigt, die an der Genese von AP-induzierter Gewichtszunahme und therapeutischer Wirksamkeit beschrieben worden sind bzw. in unserem Kollektiv identifiziert werden konnten. Diese Faktoren beinhalten die Ethnizität sowie die Punkte der Responseanalysen mittels PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) und GAF-Skala (Global Assessment Functioning) zu Studienbeginn und wurden in den Analysen als Korrekturfaktoren integriert.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, einen möglichen Zusammenhang zwischen Variationen der Kandidatengene und der Gewichtszunahme sowie der therapeutischen Wirksamkeit unter antipsychotischer Therapie zu untersuchen. Mit Hilfe dieser pharmakogenetischen Untersuchungen soll ermöglicht werden, interindividuelle Varianzen herauszustellen und Patienten mit erhöhter Disposition für eine AP-bedingte Gewichtszunahme vor Therapiebeginn zu identifizieren. Hiermit können Ansatzpunkte für eine optimierte, nebenwirkungsarme Therapie schizophrener Erkrankter gewährleistet werden.

### 3 MATERIAL UND METHODEN

---

#### 3.1 Materialien und Chemikalien

In den folgenden Tabellen (Tabelle 2, Tabelle 3, Tabelle 4) sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Geräte, Chemikalien und Softwareprogramme aufgelistet.

Mikrowelle	Pro-I, Panasonic
Schüttler	Fisher Vortex Genie 2, Fisher Scientific
Pipetten	10 µl, 20 µl, 200 µl, Rainin
Pipettenspitzen	10 µl, 20 µl, 200 µl, Rainin
Zentrifuge	GPR Centrifuge, Beckman, Fullerton, CA, USA
Waage	XP-300, Denver Instrument
Thermocycler	PTC-225 (dyad/tetrad), MJ Research, Waltham, MA, USA
Tiefkühlschrank (Primer, Taq)	-20 °C, Wood's
Kühlschrank (DNA-Lösungen)	4 °C, Fisher Scientific
Inkubator	Gravity Convection Incubator, Precision
UV-Transluminator	Gel Doc, Bio-Rad, Hercules, CA, USA
Elektrophoresekammer	GNA 200, Amersham Pharmacia Biotech
Glaskolben	1000 ml, Pyrex
Eppendorfgefäße	1,5 ml; 2 ml Eppendorf; Sarstedt
Falcon-Röhrchen	50 ml, Sarstedt
96 Well Platte (Real-Time PCR)	Applied Biosystems
96 Well Platte (PCR mit Gel)	Sarstedt
Abdeckmatte (Platte)	Applied Biosystems
Sichtfolie	Applied Biosystems

**Tabelle 2: Übersicht der verwendeten Geräte**

## Material und Methoden

ABI Prism® 7500 Sequence Detection System	ABI 7500 Real-Time System, Applied Biosystem, Foster City, CA, USA
Statistiksoftware	SPSS 15.0, Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2007

**Tabelle 3: Übersicht der verwendeten Software**

TKM 1-Puffer	10 mM Tris-HCl (pH 7,6); 10 mM KCl; 10 mM MgCl <sub>2</sub> ; 2 mM EDTA; Applied Biosystems
TKM 2-Puffer	10 mM Tris-HCl (pH 7,6); 10 mM KCl; 10 mM MgCl <sub>2</sub> ; 0,4 M NaCl; 2 mM EDTA; Applied Biosystems
TE-Puffer	10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA; pH 8,0; Applied Biosystems
TBE Elektrophorese-Puffer	89 mM Tris-HCl, 89 mM Borsäure, 2 mM EDTA, Applied Biosystems
SDS, Nonidet P-40	Sodiumdodecylsulfat, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
PCR-Puffer	GenAmp® 10X, Applied Biosystems
Primer CYP1A2 *1F (Apa1)	Applied Biosystems
PCR Nukleotid Mix (dNTP)	100 mM, Applied Biosystems
Taq-Polymerase	250 Einheiten, 5 U/μl, AmpliTaq® DNA Polymerase, Applied Biosystems
Restriktionsendonuklease Apa1 (NEB)- <i>Thermus aquaticus</i>	Schnittsequenz 5'-TCGA-3', Applied Biosystems
NEB 4-Puffer	20 mM Tris-Essigsäure (pH 7,9); 10 mM Magnesiumacetat; 50 mM Kaliumacetat; 1 mM DTT, Applied Biosystems
Taq Man® Mastermix/Puffer	Applied Biosystems
Taq Man® Primer Assay	Applied Biosystems
Loading buffer	100 μl TBE, 400 μl 40 % Glycerol, 500 μl Aqua dest.
MgCl <sub>2</sub>	25 mM; 1,5 ml; Applied Biosystems

**Tabelle 4: Übersicht der verwendeten Chemikalien**

### 3.2 Klinische Methodik

Im Rahmen der klinischen Methodik wurden anhand von psychometrischen Messinstrumenten und anhand von strukturierten Untersuchungsleitlinien relevante Befunde für die Analysen erhoben.

#### 3.2.1 Studienteilnehmer

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte in zwei psychiatrischen Einrichtungen der Charité (Standort St. Hedwig Krankenhaus und Charité Campus Mitte, Klinik für Psychiatrie

und Psychotherapie, Berlin) von September 2006 bis September 2007 sowie in verschiedenen US-amerikanischen Kliniken (Ohio, New York). Insgesamt wurden n=109 schizophrene Patienten in die Studie eingeschlossen von denen n=56 aus Berlin und n=53 aus den USA stammen. Davon sind n=19 afroamerikanischer und n=90 europäischer Herkunft sowie n=67 männlichen und n=42 weiblichen Geschlechts.

### 3.2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Bei der Auswahl des Patientenkollektivs wurden verschiedene Ein- und Ausschlusskriterien berücksichtigt, die in Tabelle 5 dargestellt sind. Die Verteilung einzelner Kriterien im gesamten Kollektiv wird im folgenden Ergebniskapitel beschrieben.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erkrankung an einer Schizophrenie nach DSM-IV-Kriterien</li> <li>- Freie Wahl des einzusetzenden Antipsychotikums</li> <li>- Patienten zwischen 18 – 65 Jahren</li> <li>- GAF-Wert von mindestens 60 Punkten</li> <li>- Unterzeichnung Einverständniserklärung nach mündlicher Aufklärung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Schwangerschaft oder Stillzeit</li> <li>- Hirnorganische oder klinisch relevante neurologische Störungen oder Zustand nach Schädel-Hirn-Trauma</li> <li>- Cannabis- oder Alkoholabhängigkeit, Polytoxikomanie</li> <li>- Schwere Persönlichkeitsstörungen</li> <li>- klinisch relevante mentale Retardierung</li> <li>- schwerwiegende internistische Erkrankungen (Hepatitis C, HIV, Schilddrüsenerkrankungen)</li> </ul>

**Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien**

Nach Erfüllung der obigen Kriterien wurden die Patienten über einen Zeitraum von sechs Wochen interviewt und in Hinblick auf eine Gewichtszunahme untersucht.

### 3.2.3 Psychometrische Messinstrumente und klinische Untersuchungen

Im Berliner Kollektiv wurde das Gewicht der Patienten einmal pro Woche im nüchternen Zustand bestimmt. Außerdem erfolgten die Entnahme von 15 ml Blut zur Blutfettwertbestimmung (LDL/HDL/Cholesterin/Triglyceride/Glucose/HbA1c) und regelmäßige EKG-Kontrollen. Diese Untersuchungen wurden nach den allgemeinen Kontrollrichtlinien laut der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AMWF) [1] zur Erfassung von Nebenwirkungen unter der Therapie mit AP durchgeführt. Zur späteren Extraktion der DNA und zur sukzessiven molekulargenetischen Ana-

lyse im Labor ist den Patienten einmalig 40 ml EDTA-Blut (Ethyldiamintetraacetat) abgenommen worden. Desweiteren wurden die Patienten bezüglich eines familiären Diabetes mellitus befragt und bei ihnen einmalig die Körpergröße bestimmt. Die bis zum Studienabschluss verabreichte Medikation sowie die Krankenvorgeschichte wurden anhand von Krankenunterlagen erfasst. Tabelle 6 gibt einen Überblick über die Zeitpunkte der für die folgenden Analysen relevanten psychometrischen und klinischen Untersuchungen.

Tag	Rating-Bogen	PANSS	Blut: Genetik	GAF	Gewicht	Größe	Medikamente
0	X	X	X	X	X	X	X
7		X		X	X		X
14		X		X	X		X
21		X		X	X		X
28		X		X	X		X
35		X			X		X
42		X		X	X		X

**Tabelle 6: Psychometrische und klinische Untersuchungen am deutschen Kollektiv**

Im US-amerikanischen Kollektiv wurde einmalig Blut für molekulargenetische Untersuchung gewonnen. Gewichtskontrollen sowie die Vergabe der GAF-Punkte wurden zu Studienbeginn und nach sechs Wochen, drei Monaten und sechs Monaten verzeichnet. Eine Übersicht bietet Tabelle 7.

Wochen	SCID	BPRS	Blut: Genetik	GAF	Gewicht	Medikamente
0	X	X	X	X	X	X
6		X		X	X	X
12		X		X	X	X
24		X		X	X	X

**Tabelle 7: Psychometrische und klinische Untersuchungen am US-amerikanischen Kollektiv**

### **3.2.3.1 Anamnestischer Rating-Bogen**

Um anamnestische Informationen zu erhalten wurde das Berliner Kollektiv anhand eines erstellten Rating-Bogens befragt. Dieser beinhaltete folgende Charakteristika: Fragen zur Eigen- (Name, Vorname, Geburtsdatum, Geburtsort, Ethnizität), Familien- (genetische Herkunft Mutter und Vater, Zahl leiblicher Geschwister, Zahl schizophrener bzw. schizoaffektiver erst- oder zweitgradiger Verwandter) und Sozialanamnese (höchster Schulabschluss, weiterer Bildungsweg, momentane finanzielle Bezüge) sowie Fragen zur Krankenvorgeschichte (Alter bei Erstmanifestation, Alter bei erster stationärer Behandlung, bisherige Episodenzahl, Zahl stationärer Behandlungen, kumulative APBehandlung), Suizidalität, Alkohol-, Cannabis-, Nikotinkonsum, Komplikationen bei der Geburt oder während der Schwangerschaft, Alter des Vaters und der Mutter bei der Geburt sowie Erkrankungen, wie beispielsweise Meningitis, Epilepsie, Minderbegabung und Migräne. Desweiteren wurden Dauer der Krankheit und weitere psychiatrische Diagnosen erfragt. Im US-amerikanischen Sample wurden hauptsächlich eigenanamnestische Daten wie Name, Alter, Geschlecht, psychiatrische Diagnosen und Ethnizität erfasst bzw. ein SCID (Structured Clinical Interview for DSM-IV) durchgeführt.

### **3.2.3.2 PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale)**

Das Vorliegen schizophrenietyperischer, psychopathologischer Symptome wurde mittels der PANSS [77] zu Studienbeginn und dann in wöchentlichen Abständen durchgeführt. Die PANSS untersucht 30 Symptome anhand einer siebenstufigen Skala von eins (nicht vorhanden) bis sieben (extrem ausgeprägt). Dabei ist die Symptomatik drei Kategorien zugeordnet: Positiv-, Negativ- und psychopathologische Globalskala. Im Rahmen der Untersuchungen wurde dabei der Gesamtwert aller drei Kategorien betrachtet. Anhand der vergebenen Punkte über einen bestimmten Zeitraum kann die Schwere der Symptomatik und somit der Therapieverlauf beurteilt werden. Die einzelnen Ausprägungen sind in Tabelle 8 sichtbar.

Positivskala	Negativskala	Globalskala
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wahnideen</li> <li>- Formale Denkstörungen</li> <li>- Halluzinationen</li> <li>- Erregung</li> <li>- Größenideen</li> <li>- Misstrauen/Verfolgungsideen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Feindseeligkeit</li> <li>- Affektverflachung</li> <li>- Emotionaler Rückzug</li> <li>- Mangelnder affektiver Rapport</li> <li>- Passiver, apathischer sozialer Rückzug</li> <li>- Schwierigkeiten im abstrakten Denken</li> <li>- Mangelnde Spontanität und Gesprächsfähigkeit</li> <li>- Stereotype Gedanken</li> <li>- Sorge um körperliche Gesundheit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Angst/Schuldgefühle</li> <li>- Anspannung/Depression</li> <li>- Manieriertheit und Posieren</li> <li>- Motorische Verlangsamung</li> <li>- Unkooperatives Verhalten</li> <li>- Ungewöhnliche Denkinhalte</li> <li>- Desorientiertheit</li> <li>- Mangelnde Aufmerksamkeit</li> <li>- Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht</li> <li>- Willensschwäche</li> <li>- Mangelnde Impulskontrolle</li> <li>- Selbstversunkenheit</li> <li>- Aktives soziales Vermeidungsverhalten</li> </ul>

**Tabelle 8: Kategorien PANSS-Fragebogen**

Die PANSS-Befragung wurde nur bei den in Berlin rekrutierten Patienten durchgeführt. Im US-amerikanischen Sample wurde die BPRS (Brief Psychiatric Rating Scale), die eine Kurzversion der PANSS darstellt, genutzt.

### 3.2.3.3 GAF (Global Assessment Functioning)

Die GAF-Skala [78] findet Anwendung zur Einschätzung des Funktionsniveaus eines Individuums und beinhaltet die Beurteilung psychischer, sozialer und beruflicher Funktionsbereiche. Diese Funktionsbereiche können von vollständiger psychischer Gesundheit bis zu extremer Krankheit reichen. Dabei sollen reine körperliche Einschränkungen ausdrücklich nicht eingeschlossen werden. Die GAF-Skala wurde bei der Rekrutierung des Berliner Kollektivs und bei der Hälfte des US-amerikanischen Kollektivs erfasst. Es ist eine Kodierung von 1 – 100 möglich, wobei auch Zwischenwerte angegeben werden können. In Zehnerschritten erfolgt eine Zustandsbeschreibung des Patienten. Dabei zeigen Patienten mit Punkten von 1 – 10 schwerste Symptome und Patienten von 81 – 90 keine oder kaum Symptome.

### 3.3 Experimentelle Methodik

Das von den Patienten abgenommene Blut wurde im Rahmen eines Praktikums in der Abteilung für Neurogenetik im Centre for Addiction and Mental Health, Klinik für Psychiatrie, Universität von Toronto (Kanada) analysiert.

#### 3.3.1 DNA-Extraktion

Die Methode der DNA-Extraktion beruht auf eine Veröffentlichung von K. Lahiri und John I. Nurnberger [79] und wird für Studien mit Restriktionslängenpolymorphismen empfohlen, die große Mengen an Blutproben umfassen. Das Blut wurde zu Beginn in einem Vakutainerröhrchen gesammelt, das 100 µl 15 %ige EDTA enthielt. Anschließend wurden 5 ml des Blutes und 5 ml schwacher Salzpuffer (TKM 1-Puffer, siehe Tabelle 4) in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen gefüllt. In einem weiteren Schritt wurden 125 µl Nonidet p-40 zur Lyse der Zellen hinzugefügt und die hergestellte Suspension mehrere Male geschüttelt sowie bei 2200 rpm (rounds per minute) für zehn Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Nach Verwerfen des Überstandes wurde das Zellpellet mit 5 ml des TKM 1-Puffers ausgewaschen und wie zuvor zentrifugiert. Im Zuge dessen wurde das Zellpellet mit 0,8 ml eines stärkeren Salzpuffers (TKM 2-Puffer, siehe Tabelle 4) resuspendiert. Danach wurden 50 µl zehnpromzentiges SDS (Sodiumdodecylsulfat) hinzugefügt und die gesamte Suspension durch mehrmaliges Hin- und Rückpipettieren gemischt und anschließend für zehn Minuten bei 55 °C inkubiert. Nach Hinzufügen von 0,3 ml NaCl (6 M) wurde die Suspension bei 12000 rpm für fünf Minuten zentrifugiert, der DNA-enhaltende Überstand zurückgehalten und die ausgefallenen Proteinzellen verworfen. Zum Überstand wurden zwei 100 %ige Ethanolvolumina gegeben und das Röhrchen gedreht bis sich die DNA absetzte. Die ausgefällte DNA wurde anschließend mit 1 ml 70 %-igem eiskaltem Ethanol bei 4 °C für fünf Minuten mit 12000 rpm zentrifugiert. Anschließend wurde das Zellpellet mittels Speed-Vac getrocknet und dann mit 0,5 ml von 10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA bei 65 °C (pH 8,0) für 15 Minuten in Lösung gebracht. Abschließend wurden die DNA-Konzentrationen mit  $A_{260}$  und  $A_{280}$  und die DNA-Qualität durch Agarosegelelektrophorese gemessen.



### 3.3.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Um den gewünschten Abschnitt der beiden Genpolymorphismen zu vervielfachen, wurde eine Polymerase-Kettenreaktion durchgeführt. Im Melting-Schritt (96 °C, 30 – 600 Sekunden) wird dabei die doppelsträngige DNA in ihre beiden Einzelstränge aufgetrennt. Im folgenden Annealing-Schritt (ca. 37 – 65 °C, 30 – 120 Sekunden) können sich durch Herabsetzen der Temperatur auf 55 °C Primer (DNA-Oligonukleotid) und DNA verbinden, so dass auf diese Weise der Anfang der Synthese einer doppelsträngigen DNA gegeben ist, der im Elongations-Schritt (65 – 80 °C, 30 – 120 Sekunden) mit Hilfe einer DNA-Polymerase komplettiert wird. Zur Optimierung der Ergebnisse wurden die jeweils eingesetzten Temperaturen variiert. In den durchgeführten Analysen kamen zwei verschiedene PCR-Methoden in Betracht, die einfache quantitative PCR für den CYP1A2\*1F-Polymorphismus des CYP1A2-Gens und die Real-Time-quantitative PCR für den C3435T-Polymorphismus des MDR1-Gens.

#### 3.3.2.1 Einfache quantitative PCR

Mit Hilfe der einfachen quantitativen PCR wurde der Polymorphismus (C→A 370 bp Segment) des CYP1A2-Gens untersucht. Dieser befindet sich im Intron 1 (ID:rs762551) und wurde mit folgenden Primern amplifiziert:

F:5'-CTA CTC CAG CCC CAG AAG TG-3'

R:5'-GAA GGG AAC AGA CTG GGA CA-3'

Die gesamte Reaktion belief sich auf ein Gesamtvolumen von 25 µl, bestehend aus 50 ng/µl DNA (4 µl), PCR-Puffer (2,5 µl), MgCl<sub>2</sub> 25 mM (1,5 µl), Primer VMMB-F 10 µM (1 µl), Primer VMMB-R 10 µM (1 µl), dNTP 2 mM jeweils (2,5 µl), Taq 5 U/ µl (0,2 µl) und H<sub>2</sub>O (12,3 µl). Der PCR-Puffer bestand in seiner finalen Konzentration aus 10 mM Tris-HCl (pH 3,8), 50 mM KCl und 0,001 % Gelatine. Der hergestellte Mix wurde bei 95 °C für drei Minuten denaturiert. Nachfolgend wurden für jeweils eine Minute 30 Zyklen mit folgenden Phasen durchlaufen: 94 °C, 57 °C und 72 °C. Die letzte Phase (72 °C) wurde anschließend für sieben Minuten einmalig wiederholt. Das PCR-Produkt (7,5 µl) wurde dann über Nacht bei 37 °C mit einer Einheit von Apa1 (Restriktionsendonuklease), H<sub>2</sub>O (17,5 µl) und NEB 4-Puffer (10x; 3,0 µl) verdaut. Mit Hilfe des Restriktionslängenverdaus (Digestion) ist es möglich Punktmutationen in DNA-

Abschnitten nachzuweisen. Entsprechende Restriktionsnukleasen schneiden die DNA an genau determinierten Stellen und ermöglichen so einen einfachen und schnellen Nachweis von Punktmutationen innerhalb der DNA. Die nach der Digestion entstehenden verschiedenen DNA-Fragmente lassen auf das zugrundeliegende Allel zurückschließen und werden als Restriktionslängenpolymorphismus (RFLP) bezeichnet.

Nach der Digestion erfolgte die Visualisierung der DNA mittels 2,5 % Agarosegel (400 ml TBE-Puffer, 10 g Agarose) für eine Stunde bei 100 V mit 4 µl des Farbstoffs Ethidiumbromid. Zur Formgebung des Gels wurde die erzeugte Mischung auf einen Gelschlitten gegossen und Kämmen zur Bildung von Geltaschen eingesetzt. Nach Füllung der einzelnen Geltaschen mit dem jeweiligen Produkt wurde in der Elektrophoresekammer eine Spannung von 100 V erzeugt, die zur Wanderung einzelner Fragmente führte. Die für jedes spezifische Fragment zurückgelegte Strecke und Zuordnung der Bandengröße wurde im Geldoc mit Hilfe eines zuvor applizierten 100 bp DNA-Längenstandards und Farbmärkern möglich. Eine Stunde nach angelegter Spannung zeigte sich im Gelbetrachtungssystem für Allel A eine einzelne 318 bp Bande und für Allel C eine 189 bp und eine 129 bp Bande (siehe Tabelle 9).

SNP/Restriktionsenzym	Homozygot I	Heterozygot	Homozygot II
ID:rs762551/ApaI	318 bp	318/189/129 bp	189/129 bp
Genotyp	A/A	A/C	C/C

**Tabelle 9: Darstellung Bandengrößen CYP1A2\*1F**

### 3.3.2.2 Real-Time-quantitative PCR

Die Real-Time-quantitative PCR wurde zur Genotypisierung des C3435T-Polymorphismus im Exon 26 (ID:rs1045642) durchgeführt. Bei der Real-Time-quantitativen PCR handelt es sich um eine Methode, bei der mit Hilfe fluoreszenzmarkierter DNA-Sonden während einer PCR allelspezifisch Fluoreszenzfarbstoffe freigesetzt werden. Diese werden anschließend gemessen und ausgewertet. Dabei führt der Abbau dieser Sonde durch die Taq-Polymerase und eine Unterbrechung der räumlichen Nähe zwischen Reporter und Quencher zur Freisetzung des Farbstoffs. Durch Messung der Fluoreszenz ist eine allelspezifische Zuordnung der DNA-Probe möglich. Diese Methode besitzt eine höhere Präzision als die einfache PCR mit Gel. Zur Amplifizierung des gewählten DNA-Produktes wurden folgende Primer gewählt:

F:5'-GCT CCC AGG CTG TTT ATT TG-3'

R:5'-TGT TTT CAG CTG CTT GAT GG-3'

Der PCR-Mix wurde mit einem Reaktionsvolumen von 10 µl, bestehend aus TaqMan® Mastermix (5 µl), TaqMan® Primer Assay (0,25 µl), H<sub>2</sub>O (3,75 µl) und DNA (1 µl) hergestellt. Das TaqMan® SNP Genotyping Assay besteht aus Primern und allelspezifischen Fluoreszenzmarkern. Der fertiggestellte Mix wurde in der PCR-Maschine für zehn Minuten bei 95 °C denaturiert und weitere 15 Sekunden bei 92 °C und eine Minute bei 60 °C erhitzt. Dieser Zyklus wiederholte sich 60-fach. Anschließend konnte die allelspezifische Frequenz mit Hilfe des ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems) Sequence Detection System gemessen und ausgewertet werden. Je nachdem ob der Wildtyp oder die Variante/Mutation vorlagen, waren unterschiedliche Farbsignale sichtbar, die nach Anregung durch Laserlicht in einer Photozelle detektiert wurden. Das System ergab nach kurzer Zeit eine Verteilung, die eine Zuordnung zuließ.

### 3.4 Statistik

Die statistischen Analysen wurden mit dem Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), Version 15.0 analysiert. In dem ersten Schritt wurden deskriptive Analysen für demographische und klinische Daten wie Geschlecht, Alter, Medikation, PANSS-, GAF-Punkte und Gewicht zu Studienbeginn in Bezug zu den Ethnizitäten durchgeführt. Mittels Chi-Quadrat-Test wurden Unterschiede in den Genotyp- und Allelfrequenzen der verschiedenen Polymorphismen zwischen Patienten europäischer und afroamerikanischer Herkunft analysiert. Die therapeutische Wirksamkeit (PANSS-/GAF-Punktedifferenz zwischen Studienbeginn und -ende) und die Gewichtsveränderungen (Differenz zwischen Studienbeginn und -ende in kg) wurden als abhängige Variablen definiert. Eine Assoziation zwischen beiden wurde mittels Korrelation nach Spearman berechnet.

Die ANOVA bzw. ANCOVA (Analysis of Covariance) wurden zur Analyse der Hauptfragestellungen angewandt. Zur Überprüfung der Durchführbarkeit dieser statistischen Analysen wurden der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest und der Levene-Test durchgeführt. Mittels linearer Regressionsanalysen und Mann-Whitney-U-Tests konnten demographische und klinische Daten in Bezug auf Gewichtszunahme und therapeutischer Wirksamkeit untersucht werden. Die sich signifikant darstellenden Parameter

## Material und Methoden

gingen als Kovariaten in die ANCOVA ein. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz innerhalb der einzelnen Kovariaten wurde der Student's t-Test durchgeführt. Mit Hilfe von Posthoc-Tests nach Scheffé wurden Unterschiede der einzelnen Genotypen in Bezug auf Gewichtsveränderung und therapeutischer Wirksamkeit untersucht. Insgesamt wurde das Signifikanzniveau für alle Untersuchungen auf  $\alpha=0,05$  (zweiseitig) festgelegt.

## 4 ERGEBNISSE

---

In dieser Arbeit wurden Varianten von zwei Genen untersucht, die bei der Verteilung von AP im Organismus beteiligt sind: Der CYP1A2\*1F-Polymorphismus (ID:rs762551) des CYP1A2-Gens und der C3435T-Polymorphismus (ID:rs1045642) des MDR1-Gens. Diese Varianten sind von funktioneller Relevanz, wodurch die Verteilung der wirksamen Metabolite im Blut und im Gewebe beeinflusst wird. Dies hat möglicherweise Einfluss auf Wirkungen bzw. Nebenwirkungen in der antipsychotischen Behandlung. Der CYP1A2\*1F-SNP ist am Metabolismus zahlreicher atypischer AP beteiligt. Der zweite untersuchte Einzelnukleotidpolymorphismus C3435T des MDR1-Gens führt vermutlich durch Hemmung des P-Glykoproteins zu einer gesteigerten zentralen Wirkung von AP. Für beide Polymorphismen existieren bislang noch keine abschließenden Aussagen bezüglich der AP-induzierten Gewichtszunahme.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Auftreten des CYP1A2\*1F- und des C3435T-SNPs in 109 schizophrenen Patienten europäischer und afroamerikanischer Herkunft mittels RFLP und Taq-Man-Sonden untersucht. Während die deskriptiven Analysen am gesamten Kollektiv unter Einschluss sämtlicher AP erfolgten, konzentrierten sich die Hauptanalysen mittels ANOVA und ANCOVA speziell auf die Substrate der einzelnen Polymorphismen. Dabei wurden zur Untersuchung des CYP1A2\*1F-Polymorphismus nur Patienten unter Einnahme von Olanzapin und Clozapin und zur Untersuchung des MDR1-Polymorphismus nur Patienten unter Einnahme von Olanzapin, Risperdal, Aripiprazol und Amisulprid betrachtet.

## Ergebnisse

### 4.1 Demographische und klinische Daten

	n (%)	Afroamerikaner (n=19)	Patienten europäischer Herkunft (n=90)
<b>Geschlecht</b>	109		
männlich	67 (61,5)	12	55
weiblich	42 (38,5)	7	35
<b>Alter</b> (MW ± SD)	109 33,32 ± 10,84	33,21 ± 11,59	33,34 ± 10,75
<b>PANSS</b>	55	2	53
PANSS Studienbeginn (MW ± SD)	82,95 ± 18,90	94,50 ± 31,82	82,52 ± 18,61
PANSS Studienende (MW ± SD)	60,27 ± 9,87	54,50 ± 4,95	60,49 ± 9,97
PANSS- Punkteveränderung (MW ± SD)	-24,18 ± 15,87	-40,00 ± 26,87	-23,58 ± 15,42
<b>GAF-Skala</b>	91	16	75
GAF Studienbeginn (MW ± SD)	43,69 ± 12,03	37,25 ± 9,65	44,71 ± 12,40
GAF Studienende (MW ± SD)	54,71 ± 13,37	44,44 ± 12,31	56,91 ± 12,62
GAF- Punkteveränderung (MW ± SD)	11,02 ± 10,06	7,19 ± 6,49	11,84 ± 10,51
<b>Gewicht (kg)</b>	109	19	90
Gewicht Studienbeginn (MW ± SD)	78,27 ± 16,48	75,50 ± 14,30	78,85 ± 16,92
Gewicht Studienende (MW ± SD)	82,67 ± 17,57	82,08 ± 14,57	82,80 ± 18,21
Gewichtsveränderung (MW ± SD)	4,49 ± 3,99	6,56 ± 4,21	4,05 ± 3,82

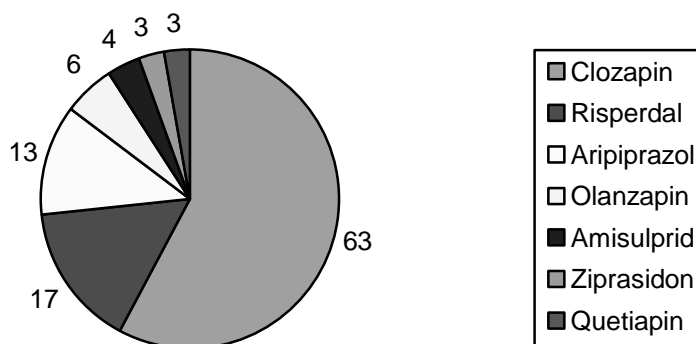
**Tabelle 10: Demographische und klinische Daten des Kollektivs (nach Ethnizität)**

In Tabelle 10 sind demographische und klinische Daten des Gesamtkollektivs (n=109) nach Ethnizitäten dargestellt. Dabei ist mit n=67 (61,5 %) ein Überwiegen des männlichen Geschlechts im Vergleich zum weiblichen Geschlecht mit n=42 (38,5 %) festzustellen. Wie in Tabelle 10 erkennbar, ist der Anteil afroamerikanischer Patienten mit

## Ergebnisse

17,4 % des Gesamtkollektivs geringer als bei Patienten europäischer Herkunft mit 82,6 %.

Im afroamerikanischen Kollektiv wurde die therapeutische Wirksamkeit überwiegend durch Eruiierung der GAF-Skala ermittelt, wohingegen im europäischen Kollektiv die PANSS eingesetzt wurde. Daher ist der Anteil der Afroamerikaner mit PANSS-Punkten geringer. Wie in Tabelle 10 sichtbar, besitzen Patienten europäischer Herkunft im Mittel eine Verbesserung der Response (therapeutische Wirksamkeit) mittels PANSS um ca. -23,50 Punkte. Die GAF-Skala zeigt im Vergleich der Ethnizitäten eher für Patienten europäischer Herkunft erhöhte Werte. Hinsichtlich der Gewichtsveränderung in sechs Wochen zeigen Afroamerikaner mit ca. 6,60 kg die ausgeprägteste Gewichtszunahme im Vergleich zu Patienten europäischer Herkunft.



**Abbildung 1: Medikamentenverteilung im Patientenkollektiv**

Wie in Abbildung 1 sichtbar, wurde über die Hälfte des Kollektivs mit Clozapin (n=63) behandelt, gefolgt von Risperdal und Aripiprazol. Insgesamt sechs Patienten nahmen Olanzapin ein und jeweils drei Patienten Ziprasidon und Quetiapin.

### 4.2 Homogenitätsanalysen innerhalb der Ethnien

Mittels Chi-Quadrat-Test wurden Genotyp- und Allelfrequenzen der beiden untersuchten Polymorphismen in Bezug zu den Ethnizitäten gesetzt. Die Datenauswertungen am gesamten Kollektiv ergaben die in Tabelle 11 veranschaulichten Verteilungen innerhalb

## Ergebnisse

der zwei verschiedenen Ethnizitäten für die Varianten des CYP1A2\*1F- und des C3435T-Polymorphismus.

Allele/Genotypen	Ethnizitäten		
	Afroamerikaner n (%)	Patienten europäischer Herkunft n (%)	Gesamt n (%)
<b>CYP1A2*1F-Allele</b>			
Gesamt n (%)	36 (100)	174 (100)	210 (100)
A	19 (52,8)	126 (72,4)	145 (69,1)
C	17 (47,2)	48 (27,6)	65 (30,9)
$\chi^2=5,38$ ; df=1; p<0,05			
<b>CYP1A2*1F-Genotypen</b>			
Gesamt n (%)	18 (100)	87 (100)	105 (100)
AA	5 (27,8)	51 (58,6)	56 (53,3)
AC	9 (50,0)	24 (27,6)	33 (31,4)
CC	4 (22,2)	12 (13,8)	16 (15,2)
$\chi^2=5,74$ ; df=2; p=0,06			
<b>C3435T-Allele</b>			
Gesamt n (%)	36 (100)	180 (100)	216 (100)
T	10 (27,8)	77 (42,8)	87 (40,3)
C	26 (72,2)	103 (57,2)	129 (59,7)
$\chi^2=2,81$ ; df=1; p=0,09			
<b>C3435T-Genotypen</b>			
Gesamt n (%)	18 (100)	90 (100)	108 (100)
TT	2 (11,1)	21 (23,3)	23 (21,3)
TC	6 (33,3)	35 (38,9)	41 (38,0)
CC	10 (55,6)	34 (37,8)	44 (40,7)
$\chi^2=2,34$ ; df=2; p=0,31			

**Tabelle 11: Allel- und Genotypfrequenzen (nach Ethnizität)**

Wie in Tabelle 11 bezüglich des CYP1A2\*1F-Polymorphismus ersichtlich, weisen Patienten europäischer Herkunft ein häufigeres Auftreten des A-Allels bzw. des A/A-Genotypen auf. Bei den Afroamerikanern ist das Vorkommen von Trägern des C- und A-Allels fast gleich groß und es finden sich vermehrt Träger des A/C-Genoytpen. In der Allelverteilung von CYP1A2\*1F konnte (siehe Tabelle 11) zwischen Afroamerikanern und Patienten europäischer Herkunft ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden; der in der Genotypverteilung ein knapp nicht signifikantes Ergebnis zeigte.



## Ergebnisse

In Tabelle 11 zeigen sich bezüglich des C3435T-Polymorphismus für das afroamerikanische Kollektiv und für Patienten europäischer Herkunft vermehrt Träger des C-Allels. Hinsichtlich der Genotypen finden sich für Patienten europäischer Herkunft bevorzugt Träger des T/C-Genotypen und C/C-Genotypen bzw. für Afroamerikaner Träger des C/C-Genotypen. Insgesamt konnte jedoch, wie in Tabelle 11 dargestellt, für die Genotyp- und Allelfrequenzen des C3435T-Polymorphismus kein signifikanter Unterschied zwischen Afroamerikanern und Patienten europäischer Herkunft gefunden werden.

### 4.3 Voraussetzungen ANOVA und ANCOVA

Zur Analyse der Hauptfragestellung galt es herauszustellen, ob die ANOVA bzw. ANCOVA als statistische Verfahren in Frage kommen bzw. ob ihre Voraussetzungen erfüllt sind. Dafür wurden nicht-parametrische Tests wie der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest und der Levene-Test angewandt.

#### 4.3.1 Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest

In Tabelle 12 sind die jeweiligen Z- und p-Werte (zweiseitig) der einzelnen Genotypen des CYP1A2\*1F- und des C3435T-Polymorphismus in Bezug auf die abhängigen Variablen Gewicht-, PANSS- und GAF-Veränderungen in sechs Wochen dargestellt.

Genotypen	Gewichtsveränderung in sechs Wochen			Therapeutische Wirksamkeit in sechs Wochen					
				PANSS			GAF-Skala		
	n	Kolmogorov-Smirnov-Z	p-Wert	n	Kolmogorov-Smirnov-Z	p-Wert	n	Kolmogorov-Smirnov-Z	p-Wert
<b>C3435T</b>									
TT	10	0,475	0,978	10	0,499	0,965	10	0,549	0,924
TC	13	0,512	0,956	13	1,017	0,252	13	0,570	0,901
CC	16	0,907	0,383	16	0,637	0,811	16	0,722	0,675
<b>CYP1A2*1F</b>									
AA	32	0,444	0,989	6	0,743	0,639	23	0,992	0,278
AC	24	0,585	0,884	5	0,433	0,992	17	0,553	0,920
CC	12	0,751	0,626	3	0,570	0,902	10	0,400	0,997

**Tabelle 12: Test auf Normalverteilung der Genotypen hinsichtlich der Veränderung von Gewicht und therapeutischer Wirksamkeit in sechs Wochen**

## Ergebnisse

Die zu testende Verteilung zeigt in allen Genotypen eine annähernde Normalverteilung, womit sich die Voraussetzung zur Durchführung der ANOVA/ANCOVA erfüllt hat.

### 4.3.2 Levene-Test

SNP	Gewichtsveränderung in sechs Wochen		Therapeutische Wirksamkeit in sechs Wochen			
	n		n	PANSS	n	GAF-Skala
<b>CYP1A2*1F</b>	68	F[2,65]=0,30; p=0,74	14	F[2/11]=4,76; p=0,03	50	F[2,47]=0,29; p=0,75
<b>C3435T</b>	39	F[2,36]=0,13; p=0,88	39	F[2/36]=0,67; p=0,51	39	F[2,36]=2,86; p=0,07

**Tabelle 13: Homogenitätsanalysen der Varianzen der SNPs hinsichtlich der Veränderung von Gewicht und therapeutischer Wirksamkeit in sechs Wochen**

Der Levene-Test prüft die Homogenität der Varianzen und zeigt, wie in Tabelle 13 sichtbar, für die jeweiligen Polymorphismen des CYP1A2- und MDR1-Gens, mit Ausnahme der PANSS-Veränderungen des CYP1A2\*1F-Polymorphismus, keine signifikanten Unterschiede. Der signifikante Unterschied der PANSS-Veränderungen ist am ehesten auf eine kleine Fallzahl zurückzuführen. Es ist daher für alle Gruppen eine gleiche Fehlervarianz der abhängigen Variablen anzunehmen und damit die Voraussetzung zur Durchführbarkeit der ANOVA bzw. ANCOVA erfüllt.

### 4.4 Einfluss der demographischen und klinischen Daten auf Gewichtszunahme und therapeutische Wirksamkeit

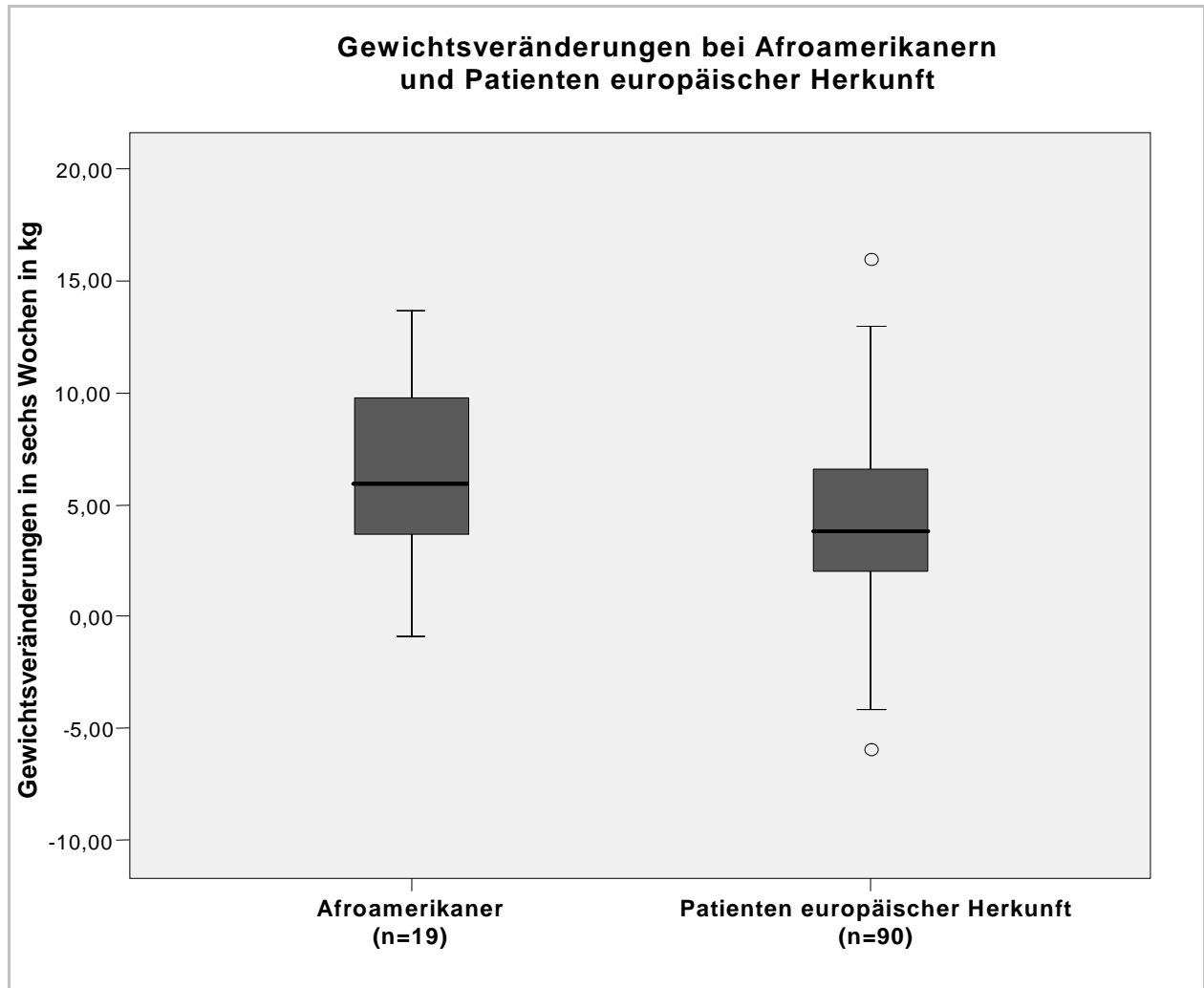
Zwischen Veränderungen der PANSS-Punkte und des Gewichts konnte keine signifikante Korrelation gefunden werden ( $r=0,08$ ;  $p=0,52$ ).

Für die einzelnen demographischen und klinischen Daten (Alter, Geschlecht, jeweiliges Substrat, Ethnizität, PANSS-, GAF-Punkte und Gewicht zu Studienbeginn) zeigten sich vereinzelt signifikante Assoziationen bezüglich der Gewichtszunahme bzw. therapeutischen Wirksamkeit:

In univariaten Analysen von Zwischensubjekteffekten konnte für die Ethnizitäten ein signifikantes Ergebnis bezüglich der Gewichtsveränderungen in sechs Wochen gefunden werden ( $F[1/107]=6,52$ ;  $p<0,05$ ). Die mittels Mann-Whitney-U-Test dargestellten (siehe Boxplot in Abbildung 2) Unterschiede in den verschiedenen Ethnizitäten im Zu-

## Ergebnisse

sammenhang mit der Gewichtsveränderung in sechs Wochen bestätigten die signifikant stärkere Gewichtszunahme bei Afroamerikanern im Vergleich zu Patienten europäischer Herkunft [Z=-2,26; p=<0,05; zweiseitig=0,02]. Die getrennte Untersuchung der einzelnen demographischen und klinischen Daten für die einzelnen Ethnizitäten führte zu keinem signifikanten Ergebnis.



**Abbildung 2: Gewichtsveränderungen in sechs Wochen bei Afroamerikanern und Patienten europäischer Herkunft**

Die PANSS- bzw. GAF-Punkte zu Studienbeginn korrelierten signifikant ( $r=0,8$ ;  $p=0,01$ / $r=0,28$ ;  $p=0,008$ ) mit PANSS- bzw. GAF-Punkteveränderungen im Zeitraum von sechs Wochen.

Olanzapin mit einem Mittelwert von 7,75 kg (SD  $\pm$  5,72) und Clozapin mit einem Mittelwert von 4,50 kg (SD  $\pm$  4,39) zeigten im gesamten Kollektiv die stärkste Gewichtszu-

## Ergebnisse

nahme. Die übrigen Medikamente bewegten sich ca. um 4,00 kg und weniger. Die geringste Gewichtszunahme mit 0,13 kg (SD  $\pm$  0,86) war unter Therapie mit Quetiapin zu finden. Bezüglich der Assoziation zwischen sämtlichen vom Patientenkollektiv eingenommenen AP und der Gewichtszunahme und therapeutischen Wirksamkeit konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden.

Beide Geschlechter unterschieden sich nicht hinsichtlich einer Gewichtszunahme. Speziell für die Gewichtszunahme des weiblichen Geschlechts zeigte sich für den CYP1A2\*1F- und den C3435T-Polymorphismus kein signifikantes Ergebnis.

Die signifikanten Ergebnisse der einzelnen demographischen und klinischen Daten wurden als Kovariaten in die Kovarianzanalysen miteinbezogen. Dabei wurden zur Responseuntersuchung PANSS und GAF-Skala zu Studienbeginn und die Ethnizität eingeschlossen. In die Analysen der Gewichtsveränderungen wurde die Ethnizität als Kovariate integriert.

### 4.5 Genetische Analysen der Gewichtsveränderung

Die Ergebnisse der Varianzanalysen sind in Tabelle 14 zusammengefasst und zeigten keine Assoziation zwischen den Polymorphismen CYP1A2\*1F und C3435T und deren Allele und der Gewichtsveränderung. Da die jeweiligen Polymorphismen verschiedene Substrate metabolisieren wurden für den CYP1A2\*1F-Polymorphismus Patienten, die mit Clozapin und Olanzapin, für den C3435T-Polymorphismus Patienten, die mit Risperdal, Olanzapin, Aripiprazol und Amisulprid behandelt wurden, getrennt untersucht. Auch bei getrennter Analyse der Ethnien konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden.

SNP	Gewichtsveränderung in sechs Wochen		
	n	ANOVA	ANCOVA
CYP1A2*1F	68	F[2/65]=0,08; p=0,93	F[df=2]=0,35; p=0,71
C3435T	39	F[2/36]=0,55; p=0,58	F[df=2]=0,54; p=0,58

**Tabelle 14: Varianzanalysen der Polymorphismen hinsichtlich der Gewichtsveränderung in sechs Wochen**

## Ergebnisse

Innerhalb des Untersuchungszeitraumes von sechs Wochen haben alle Patienten im Kollektiv (n=109) im Mittel 4,49 kg (SD  $\pm$  3,99) zugenommen. Das männliche und weibliche Geschlecht zeigten dabei eine homogene Gewichtszunahme, wobei das männliche Geschlecht die größten Maxima und Minima (-5,90 kg – 16,00 kg) aufwies.

Für CYP1A2\*1F finden sich, wie in Tabelle 15 ersichtlich, zwischen den einzelnen Allel- und Genotypausprägungen ähnlich ausgeprägte Gewichtsveränderungen mit einer geringfügigen Zunahme für das A-Allel bzw. den A/A-Genotypen und der geringsten Zunahme (ca. 0,50 kg) des Gewichts bei Trägern des C/C-Genotypen. Hinsichtlich des C3435T-Polymorphismus (siehe Tabelle 15) des MDR1-Gens nehmen Träger des C/C-Genotypen ca. 1,45 kg mehr an Gewicht zu als Träger des T/C-Genotypen.

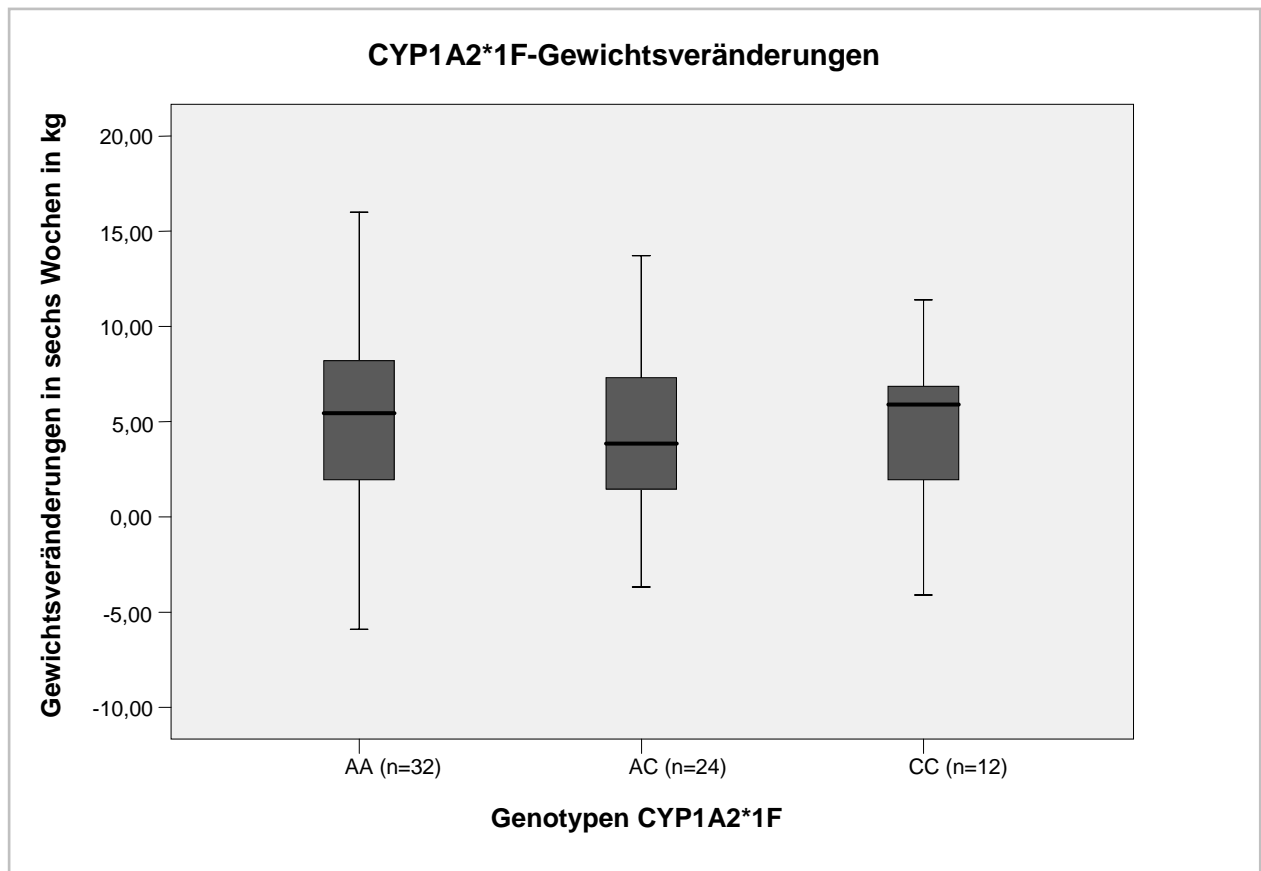
Trotz Einbezug der Kovariaten in die ANCOVA konnte, wie in Tabelle 14 sichtbar, keine Signifikanz zwischen den Polymorphismen und der Gewichtsveränderung gefunden werden. Auch die einzelnen Allele stellten sich weiterhin nicht signifikant dar.

Gewichtsveränderungen sechs Wochen	n (%)	MW $\pm$ SD (kg)
<b>CYP1A2*1F</b>	68	4,81 $\pm$ 4,59
A/A-Genotyp	32	5,03 $\pm$ 4,90
A/C-Genotyp	24	4,65 $\pm$ 4,56
C/C-Genotyp	12	4,51 $\pm$ 4,08
A-Allel	88	4,93 $\pm$ 4,76
C-Allel	48	4,58 $\pm$ 4,24
<b>C3435T</b>	39	4,37 $\pm$ 3,60
T/T-Genotyp	10	4,47 $\pm$ 3,72
T/C-Genotyp	13	3,54 $\pm$ 3,59
C/C-Genotyp	16	4,97 $\pm$ 3,65
T-Allel	33	4,12 $\pm$ 3,58
C-Allel	45	4,56 $\pm$ 3,61

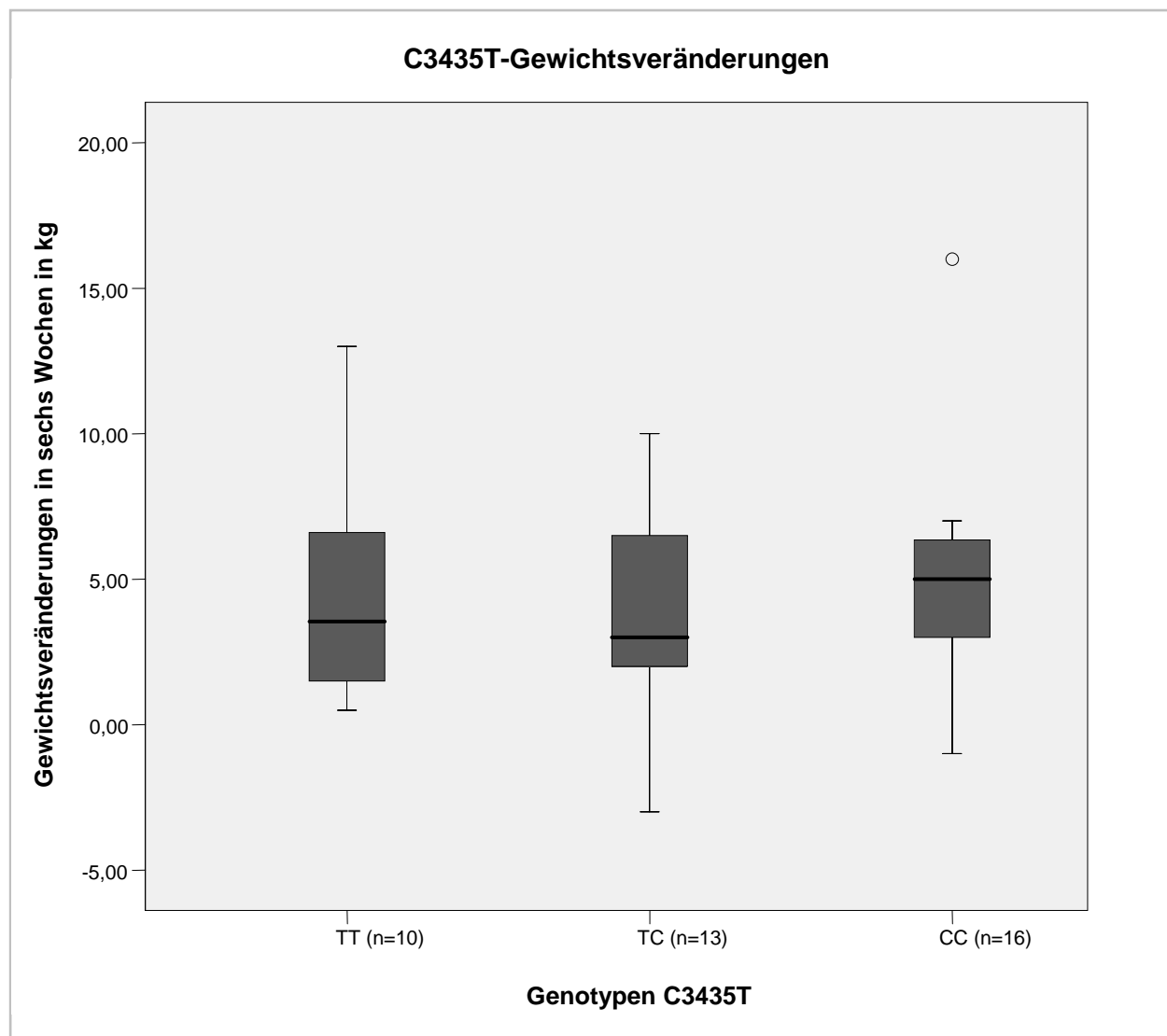
**Tabelle 15: MW und SD der Gewichtsveränderungen in sechs Wochen**

## Ergebnisse

Im Folgenden sind die Verteilungen der einzelnen Genotypen der Polymorphismen in Bezug zur Gewichtsveränderung in Boxplots dargestellt (Abbildung 3 und Abbildung 4).



**Abbildung 3: Genotypverteilungen CYP1A2\*1F hinsichtlich der Gewichtsveränderung in sechs Wochen**



**Abbildung 4: Genotypverteilungen C3435T hinsichtlich der Gewichtsveränderung in sechs Wochen**

Mittels Posthoc-Testung nach Scheffé wurden zwischen den einzelnen Genotypen der jeweiligen Polymorphismen in Bezug auf die Gewichtszunahme keine signifikanten Unterschiede ( $p > 0,50$ ) gefunden.

#### 4.6 Genetische Analysen der therapeutischen Wirksamkeit

Die Ergebnisse der Varianzanalysen sind in Tabelle 16 und Tabelle 17 zusammengefasst und zeigten keine signifikante Assoziation zwischen den Polymorphismen CYP1A2\*1F und C3435T und deren Allele und der therapeutischen Wirksamkeit (GAF, PANSS). Die Selektion nach Substraten führte zu einer statistisch kleinen Untersu-

## Ergebnisse

chungsgruppe bezüglich der Response-Analysen. Auch bei getrennter Analyse der Ethnien konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden.

SNP	Therapeutische Wirksamkeit in sechs Wochen		
	n	ANOVA	ANCOVA
<b>CYP1A2*1F</b>	14	F[2,11]=0,81; p=0,47	F[df=2]=0,38; p=0,69
<b>C3435T</b>	39	F[2,36]=0,17; p=0,84	F[df=2]=1,74; p=0,19

**Tabelle 16: Varianzanalysen der Polymorphismen hinsichtlich therapeutischer Wirksamkeit in sechs Wochen mittels PANSS**

SNP	Therapeutische Wirksamkeit in sechs Wochen		
	n	ANOVA	ANCOVA
<b>CYP1A2*1F</b>	50	F[2,47]=0,15; p=0,86	F[df=2]=0,41; p=0,67
<b>C3435T</b>	39	F[2,36]=0,32; p=0,73	F[df=2]=0,15; p=0,86

**Tabelle 17: Varianzanalysen der Polymorphismen hinsichtlich therapeutischer Wirksamkeit in sechs Wochen mittels GAF-Skala**

Der PANSS-Fragebogen und die GAF-Skala dienen zur Darstellung der Krankheitsausprägung und können so den Verlauf einer Erkrankung widerspiegeln. Somit ist es möglich, die Wirksamkeit einer therapeutischen Maßnahme durch wiederholte Interviews zu überprüfen.

Genotypen/Allele	PANSS		GAF-Skala	
	n	MW ± SD	n	MW ± SD
<b>CYP1A2*1F</b>	14	-19,14 ± 16,40	50	8,98 ± 12,37
AA	6	-16,00 ± 5,73	23	9,50 ± 14,91
AC	5	-26,60 ± 19,37	17	7,65 ± 10,89
CC	3	-13,00 ± 26,29	10	10,10 ± 8,61
A	17	-19,12 ± 11,79	63	8,98 ± 13,75
C	11	-19,20 ± 21,84	37	8,97 ± 9,56
<b>C3435T</b>	39	-25,25 ± 14,35	39	12,23 ± 5,63
TT	10	-25,50 ± 17,68	10	13,30 ± 4,40
TC	13	-23,38 ± 11,96	13	11,38 ± 8,45
CC	16	-26,63 ± 14,66	16	12,25 ± 3,19
T	33	-24,70 ± 15,19	33	12,55 ± 6,21
C	45	-25,69 ± 13,70	45	12,00 ± 5,16

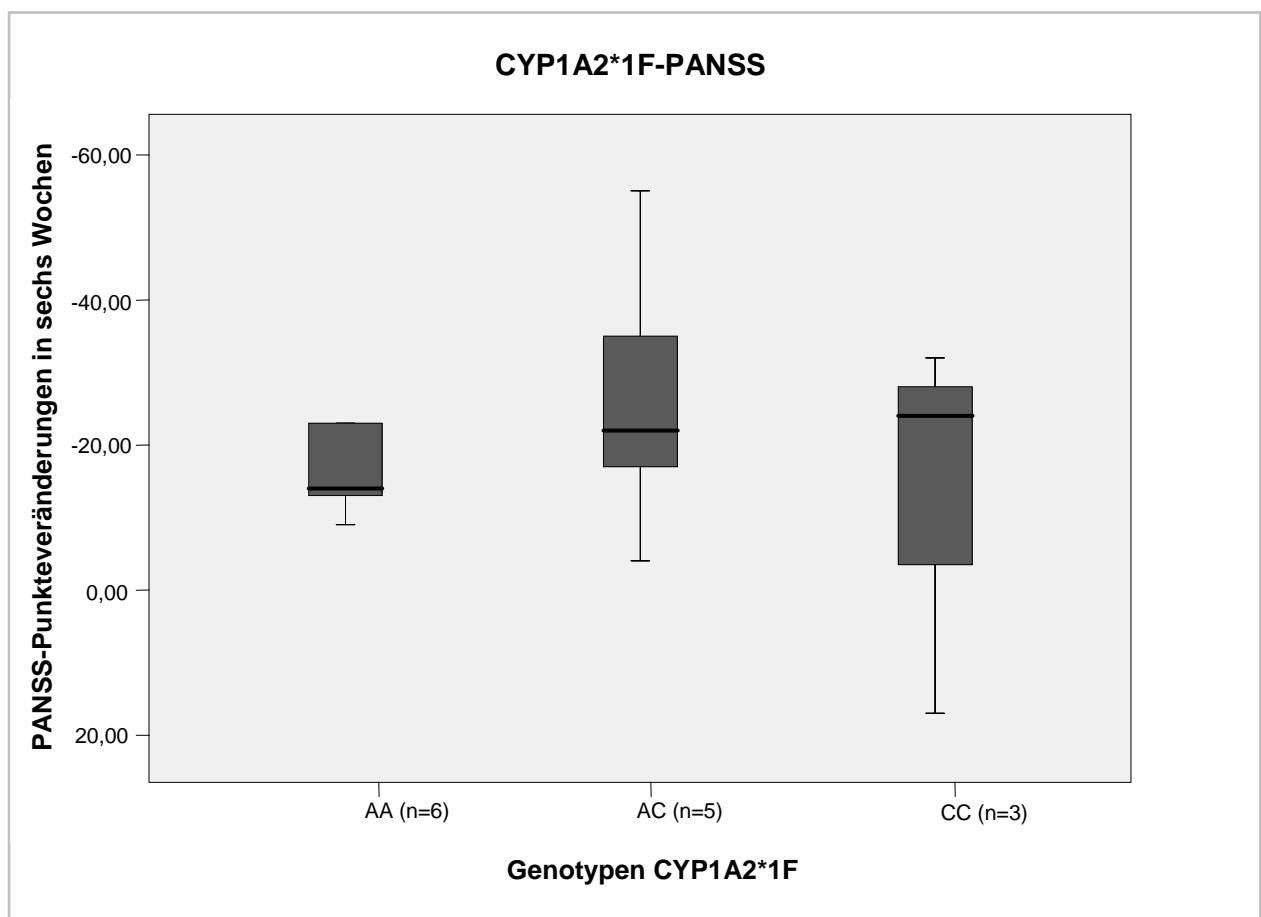
**Tabelle 18: MW und SD der therapeutischen Wirksamkeit in sechs Wochen**



## Ergebnisse

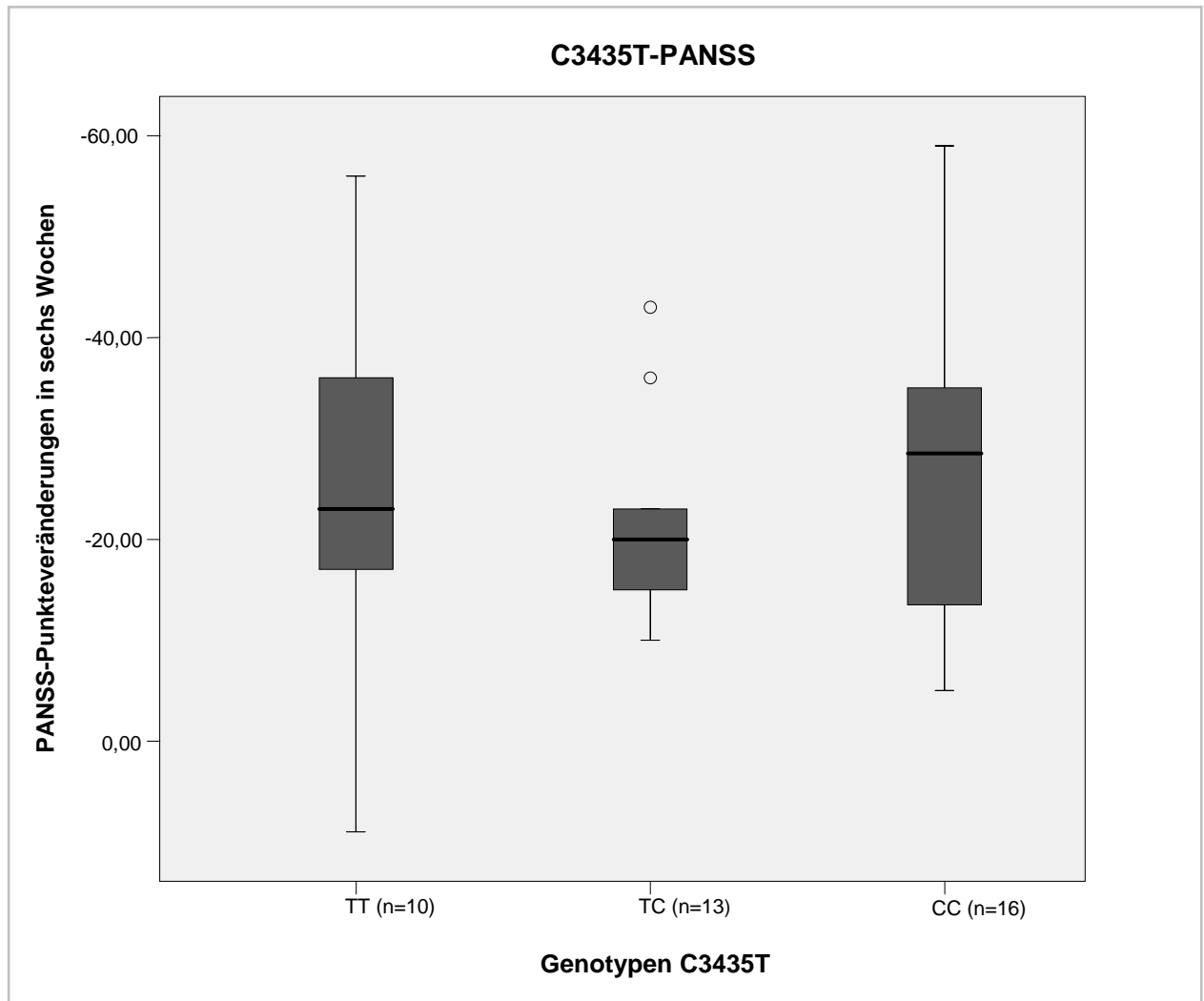
Jeder Patient konnte bei der Befragung, je nach Schwere der Symptomatik, mittels PANSS mindestens 30 und maximal 210 Punkte erzielen. Die in Tabelle 18 veranschaulichten PANSS-Veränderungen zeigen, dass der A/C-Genotyp (-26,60 Punkte) des CYP1A2-Polymorphismus im Vergleich zu den anderen Genotypen im Mittel die ausgeprägteste Tendenz zur Verbesserung der Symptomatik in sechs Wochen darstellt. Träger des C/C-Genotypen hingegen zeigen nur eine Verbesserung von ca. -13,00 Punkten, so dass sich zwischen den Genotypen eine Differenz von etwa 14,00 Punkten findet. Für den C/C-Genotyp des MDR1-Polymorphismus (siehe Tabelle 18) ist im Mittel die stärkste Tendenz zur Verbesserung der Symptomatik sichtbar. Dabei beträgt der Unterschied zu den anderen Genotypen maximal 3,25 Punkte.

In den folgenden Boxplots (Abbildung 5 und Abbildung 6) sind die Verteilungen der einzelnen Genotypen in Bezug auf die PANSS-Punkteveränderungen dargestellt.



**Abbildung 5: Genotypverteilungen CYP1A2-\*1F hinsichtlich der PANSS-Punkteveränderungen in sechs Wochen**

## Ergebnisse

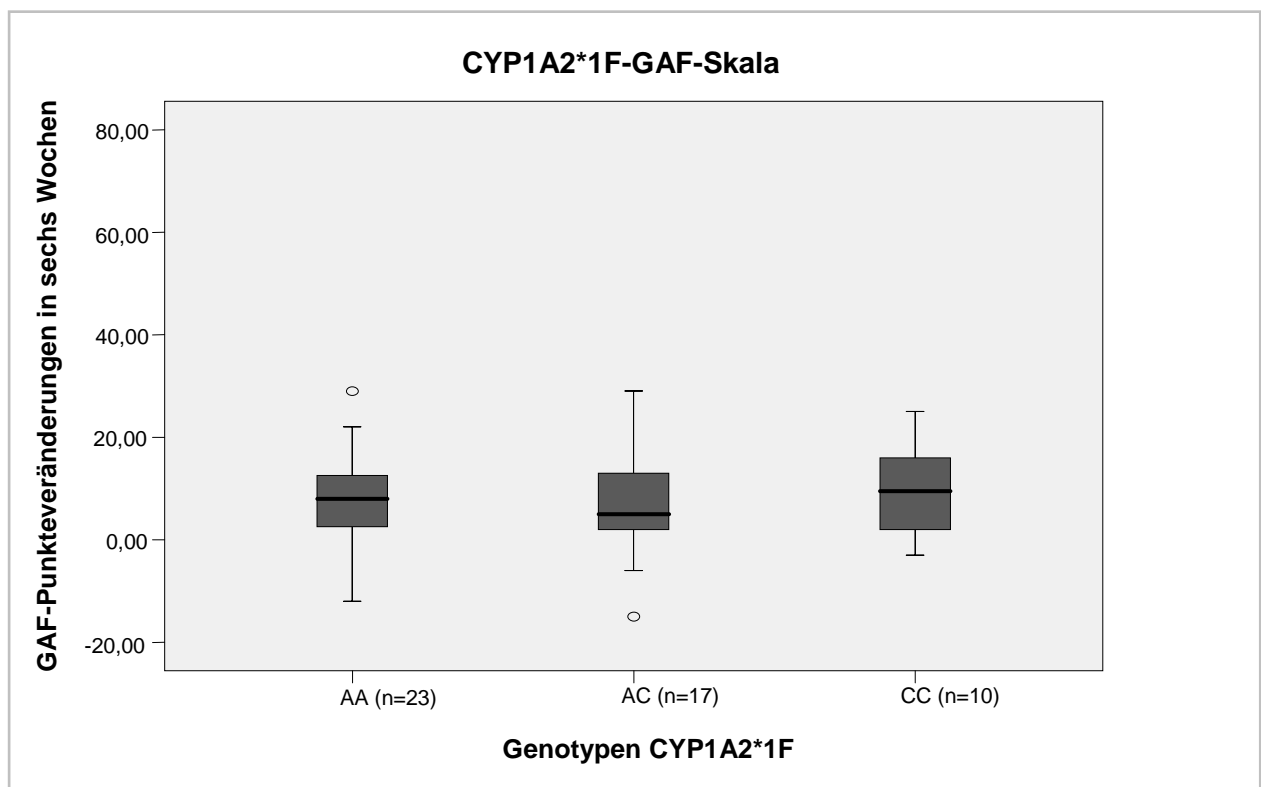


**Abbildung 6: Genotypverteilungen C3435T hinsichtlich der PANSS-Punkteveränderungen in sechs Wochen**

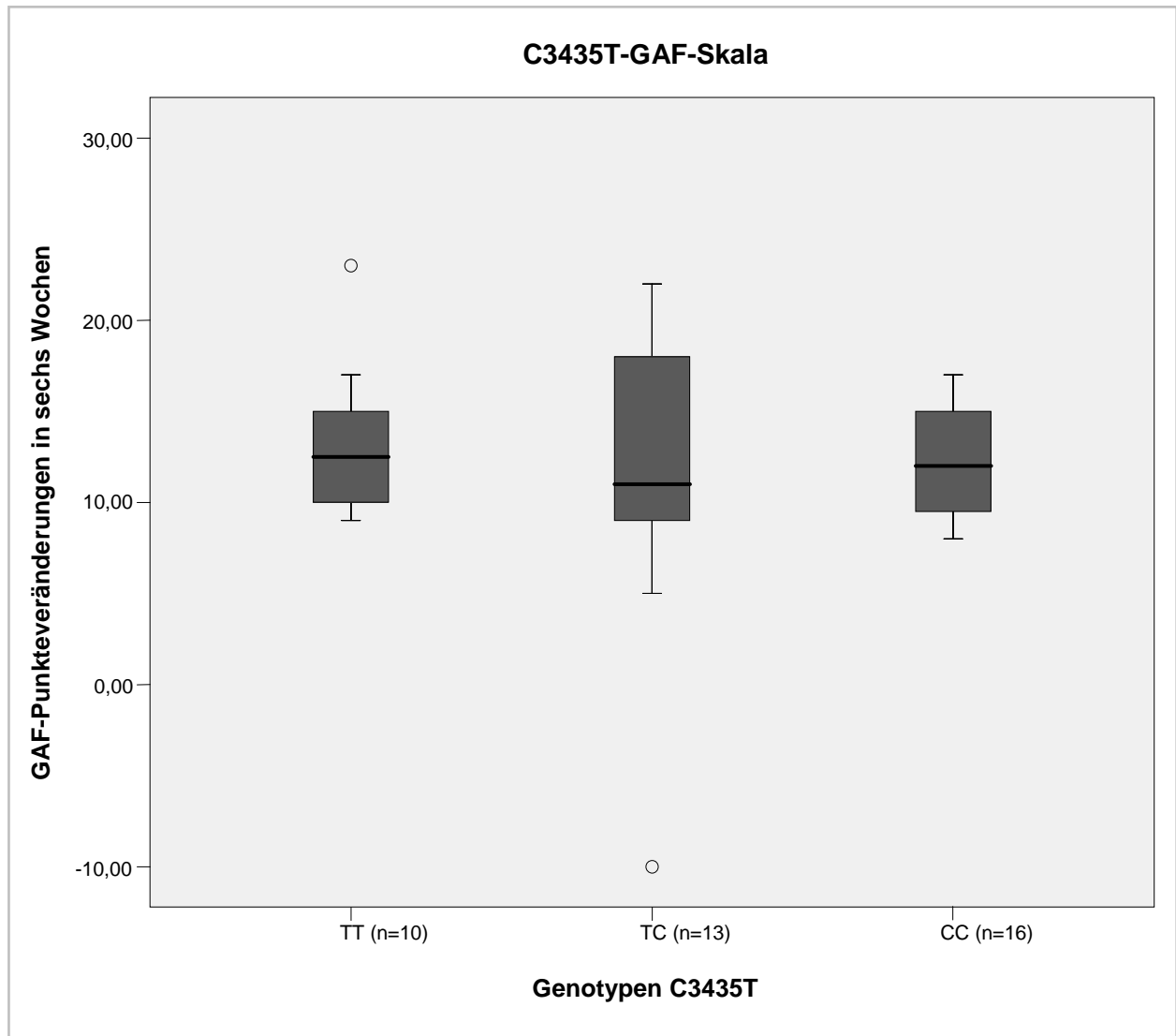
## Ergebnisse

In den Analysen der GAF-Skala zeigt sich für Träger des C/C-Genotypen des CYP1A2-Polymorphismus (siehe Tabelle 18) mit 10,10 Punkten (SD  $\pm$  8,61) die stärkste Verbesserung der Symptomatik in sechs Wochen. Dabei liegt der Unterschied zu den anderen Genotypen des Polymorphismus bei ca. 2,50 Punkten. Die Genotypen des C3435T-Polymorphismus (siehe Tabelle 18) zeigen Punkteunterschiede von ca. 2,00 Punkten zwischen Trägern des T/T-Genotypen und T/C-Genotypen.

Im Folgenden sind die Verteilungen der einzelnen Genotypen der Polymorphismen bezüglich der GAF-Punkteveränderungen dargestellt (Abbildung 7 und Abbildung 8).



**Abbildung 7: Genotypverteilungen CYP1A2\*1F hinsichtlich der GAF-Punkteveränderungen in sechs Wochen**



**Abbildung 8: Genotypverteilungen C3435T hinsichtlich der GAF-Punkteveränderungen in sechs Wochen**

Trotz Einbezug der Kovariaten in die ANCOVA konnte, wie in Tabelle 16 und Tabelle 17 sichtbar, keine Signifikanz zwischen den Polymorphismen und deren einzelnen Allele und der therapeutischen Wirksamkeit gefunden werden. Auch mittels Posthoc-Testung nach Scheffé waren zwischen den einzelnen Genotypen ( $p > 0,50$ ) der jeweiligen Polymorphismen in Bezug zur therapeutischen Wirksamkeit keine signifikanten Unterschiede darstellbar.

## 5 DISKUSSION

---

In der pharmakologischen Behandlung der Schizophrenie werden zunehmend genetische Faktoren erforscht, weil ein genetischer Einfluss auf die interindividuelle Variabilität in der Medikamenten-Wirksamkeit und -Sicherheit vermutet wird, deren Erkenntnisse potentiell für eine individuelle Medikamentenbehandlung genutzt werden können [80]. Dabei ist wiederholt beschrieben worden, dass genetische Faktoren auch im Medikamenten-Metabolismus eine wichtige Rolle spielen können, wonach sich der Plasmaspiegel und die Verteilung der Medikamente im Zielgewebe (Pharmakokinetik) auf Genvarianten der beteiligten Enzyme zurückführen lassen [81]. Diese Eigenschaft kann möglicherweise ein Teil der zu beobachtenden interindividuellen Variabilität auf die Medikamentenresponse erklären.

In der Behandlung schizophrener Patienten mit manchen atypischen AP (v. a. Clozapin und Olanzapin) wurde beobachtet, dass viele Patienten erheblich an Gewicht zunehmen. Die genaue Genese ist bisher unklar, doch auch hier wird die zu beobachtende interindividuelle Variabilität unter anderem auch auf genetische Faktoren zurückgeführt [30]. Diese genetischen Faktoren sind möglicherweise zum Teil in Enzymen zu vermuten, die an der Pharmakokinetik beteiligt sind.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei wichtige Enzyme (MDR1, CYP1A2), für deren SNPs ein Einfluss auf die Kinetik einiger AP beschrieben wurde, hinsichtlich Veränderungen des Gewichts und therapeutischer Wirksamkeit in einem Zeitraum von sechs Wochen untersucht.

### 5.1 Übersicht zu den experimentellen Analysen

#### 5.1.1 Der CYP1A2\*1F-Polymorphismus: Einfluss auf Gewicht und therapeutische Wirksamkeit

CYP1A2 stellt mit ca. 13 % das zweithäufigste Arzneistoff metabolisierende Cytochrom dar [82]. Für Genotypen des CYP1A2\*1F-Polymorphismus wurde ein Einfluss auf die Enzymaktivität des CYP1A2 unter Tabakrauch beschrieben [59]. Daher ist zu vermuten, dass bei diesen Patienten der Stoffwechsel von CYP1A2-Substraten, wie Clozapin,

## Diskussion

Olanzapin und Levopromazin beeinflusst ist und es in Abhängigkeit von der Enzymaktivität vermutlich zu einer vermehrten oder verminderten Konzentration von Substraten im Blut kommt. Daraus könnte eine unterschiedlich starke Ausprägung von Nebenwirkungen sowie der therapeutischen Wirksamkeit resultieren.

Aus den vorliegenden Analysen ergaben sich für die einzelnen Genotypen keine signifikanten Unterschiede. Bisherige Untersuchungen zeigten jedoch für Träger des A/A-Genotypen eine erhöhte und für Träger des C/C-Genotypen eine verminderte CYP1A2-Aktivität bei Rauchern [59, 83]. Vor allem für Träger des A/A-Genotypen wurde bisher aufgrund der erhöhten CYP1A2-Aktivität bei Rauchern ein beschleunigter Metabolismus von Substraten beschrieben [59, 84]. Für Träger des C/C-Genotypen konnte bisher ein vermehrtes Auftreten von Nebenwirkungen, wie Spätdyskinesien, unter antipsychotischer Therapie aufgezeigt werden [37].

Bei genauer Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lässt sich jedoch aufgrund des Verteilungsmusters (siehe Abbildung 3) für Träger des C/C-Genotypen eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine verstärkte Gewichtszunahme im Vergleich zu Trägern des A/A-Genotypen unter Substrateinnahme vermuten. Es sind jedoch Untersuchungen mit größeren Fallzahlen nötig um die Stabilität der Verteilung prüfen zu können. Für Träger des A/A-Genotypen hingegen zeigt sich bei einer relativ großen Kollektivzahl (n=32) eine als stabil anzunehmende symmetrische Verteilung mit starker Streuung, so dass hier eine vergleichsweise schwache Aussage über die Wahrscheinlichkeit einer Gewichtszunahme unter Substrateinnahme möglich ist.

In Anbetracht der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der bisherigen Datenlage ist anzunehmen, dass Träger des C/C-Genotypen im Vergleich zu den anderen Genotypen eine Neigung zur Entwicklung einer verstärkten Gewichtszunahme aufweisen, die sowohl auf einer verringerten CYP1A2-Aktivität als auch auf einer verringerten Induktion durch den Polymorphismus beruhen kann. Eine verringerte CYP1A2-Induktion führt vermutlich zu einem langsameren Abbau des Medikamentes und somit höhere Konzentration von Substraten im Blut. Es ist anzunehmen, dass es daher zu einer vermehrten Ausprägung von Nebenwirkungen, wie einer Gewichtszunahme, kommt. Darüber hinaus sind möglicherweise andere enzymatische Wechselwirkungen, unabhängig von CYP1A2, an der Bildung von bisher unbekanntem neurotoxischen Metaboliten beteiligt.

## Diskussion

Wie in bisherigen Studien erwähnt, basiert die schwankende CYP1A2-Aktivität nicht nur auf genetischen, sondern auch auf externen Einflussfaktoren. In den Analysen von Eap et al. [83] waren Raucher (n=4), die eine Non-response unter Clozapin aufwiesen, Träger des A/A-Genotypen. In einer Studie von Sachse et al. [59] wurde in n=185 gesunden Nichtrauchern und in n=51 Rauchern die Bedeutung des CYP1A2\*1F-Polymorphismus unter Gabe von Koffein (100 mg oral) untersucht. Die Nichtraucher besaßen in den Urin-Entnahmen bezüglich des Koffeingehaltes keinen signifikanten Unterschied im Verhältnis Metaboliten/Koffein zwischen den einzelnen Gruppen. In der Gruppe der 51 Raucher zeigte sich jedoch für Träger des A/A-Genotypen ein signifikanter Unterschied bezüglich des Verhältnisses Metaboliten/Koffein im Blut im Vergleich zu Trägern des C/C-Genotypen, die im Mittel eine 40 % geringere CYP1A2-Aktivität aufwiesen.

Die in bisherigen Studien beschriebene erhöhte CYP1A2-Induktion bei Rauchern, die Träger des A/A-Genotypen sind, führt zu einem beschleunigten Metabolismus von Substraten. Dadurch kann es vermutlich unter gängiger antipsychotischer Dosierung zu einer Non-response der Patienten kommen, so dass erst höhere Dosierungen zu einer therapeutischen Wirksamkeit führen. Ausgehend von der Hypothese, dass es bei Rauchern aufgrund einer erhöhten CYP1A2-Aktivität zu einer geringeren Konzentration an Substraten im Blut kommt, ist ein potentiell geringeres Auftreten von Nebenwirkungen, wie der Gewichtszunahme, möglich. In der vorliegenden Untersuchung ist jedoch kein Zusammenhang zwischen Trägern des A/A-Genotypen und der Gewichtsveränderung und der therapeutischen Wirksamkeit gefunden worden. Ursache dafür kann die fehlende Trennung von Rauchern und Nichtrauchern sein, da für das US-amerikanische Kollektiv keine Daten bezüglich des Rauchens vorlagen. Insgesamt kann jedoch im gesamten Kollektiv von einem hohen Anteil an Rauchern ausgegangen werden, da die Prävalenz des Rauchens bei schizophren Erkrankten sehr hoch ist und auf 62 – 81 % geschätzt wird [85]. In einer Studie von Bondolfi et al. konnte nachgewiesen werden, dass Patienten, die mit dem Rauchen aufhörten eine dreifach höhere Clozapinkonzentration im Blut aufwiesen [86]. Vermutlich führt der CYP1A2\*1F-Polymorphismus bei Nichtrauchern zu keiner wesentlichen Variabilität in der CYP1A2-Aktivität [59]. Bei Rauchern besteht somit eine veränderte Konzentrationen von Medikamenten im Blut im Vergleich zu Nichtrauchern. Beide Gruppen können sich dadurch in ihrer Ausprägung

## Diskussion

von Nebenwirkungen und der therapeutischen Wirksamkeit unterscheiden und sollten dahingehend in weiteren Studien getrennt untersucht werden.

In den vorliegenden Analysen konnte die Hypothese einer Assoziation zwischen Veränderungen des Gewichts- sowie der Symptomatik unter Clozapin bzw. Olanzapineinnahme und dem CYP1A2\*1F-Polymorphismus nicht bestätigt werden. Mögliche Gründe hierfür sind, neben den in Kapitel 5.2 aufgelisteten Limitationen, sowohl die relativ kleine Kollektivgröße als auch die Vernachlässigung des Einflussfaktors Rauchen. Das Resultat bestätigte sich jedoch in den Analysen von Kootstra-Ros et al. [87]. Sie untersuchten n=58 schizophrene Patienten hinsichtlich Clozapinserumkonzentrationen und CYP1A2\*1F-Polymorphismus und fanden in multivariaten Analysen keine signifikante Assoziation. Auch hier wurde vermutlich ein zu kleines Kollektiv untersucht. Außerdem bezogen Kootstra-Ros et al. weniger spezifische Variablen mit ein.

Andere Ursachen für das Fehlen einer Assoziation zwischen dem CYP1A2\*1F-Polymorphismus und der Therapieresponse bzw. Gewichtszunahme können weitere hier nicht untersuchte Polymorphismen im CYP1A2-Gen sein, die einen Einfluss auf die Enzymaktivität des Gens besitzen. Ebenfalls können andere Faktoren, wie Nahrungsmittel und Komedikation, einen Einfluss auf die Aktivität des CYP1A2-Gens besitzen, die hier nicht erfasst worden sind.

Der Metabolismus von Clozapin bzw. Olanzapin, als CYP1A2-Substrate, kann auch durch weitere Enzyme erfolgen (CYP2D6) und möglicherweise zusätzlich durch Enzyminduktoren und -inhibitoren beeinflusst werden. Der Einfluss eines einzelnen Cytochroms kann dadurch vermutlich überlagert werden. Polymorphismen in Cytochromen werden meist erst dann als relevant beschrieben, wenn mindestens 30 % der Dosis eines Medikaments durch das entsprechende Enzym metabolisiert werden [88]. Somit stellt das genaue Wissen über den prozentualen Anteil der Enzyme am Metabolismus von Medikamenten einen wichtigen Grundpfeiler bei der Durchführung zukünftiger Studien dar.

Weiterführende Studien mit genauer Erfassung von Plasmaspiegeln und Einflussfaktoren wie Rauchen, Nahrungsmittel und Komedikationen sowie Untersuchungen an einer



größeren Fallzahl sind notwendig um den ggf. vorhandenen Einfluss des CYP1A2\*1F-Polymorphismus auf den Metabolismus von AP genauer zu evaluieren.

### **5.1.2 Der C3435T-Polymorphismus: Einfluss auf Gewicht und therapeutische Wirksamkeit**

Das MDR1-Gen, welches als P-Glykoprotein in der Blut-Hirnschranke lokalisiert ist, fungiert als energieabhängiger Effluxtransporter und führt somit zum Auswärtstransport verschiedener zentral wirksamer Medikamente. Für den C3435T-SNP des MDR1-Gens wurde eine funktionelle Relevanz beschrieben, wonach Träger des T-Allels eine Hemmung der Pgp-Aktivität aufwiesen [61, 76], die vermutlich in einer vermehrten zentralen Wirkung der AP mit Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit resultiert und aufgrund von erhöhten Plasmakonzentrationen möglicherweise verstärkt zur Entwicklung von Nebenwirkungen, wie der Gewichtszunahme, führt.

Mögliche Substrate des P-Glykoproteins sind Risperdal, Amisulprid, Aripiprazol und Olanzapin, sowie Norclozapin, ein Metabolit von Clozapin. Allerdings ist die Datenlage dazu noch ungenau [67-69].

In den vorliegenden deskriptiven Analysen zeigte sich vor allem für Träger des C/C-Genotypen eine Tendenz zur erhöhten Gewichtszunahme (ca. 1,45 kg, siehe Tabelle 15) und geringfügige Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit (ca. 3,25 Punkte, siehe Tabelle 18), die jedoch nicht signifikant war. Für Träger des C-Allels wird eher eine höhere Pgp-Expression vermutet, was zu einem höheren Efflux des wirksamen Metaboliten führen würde [76]. Es wäre daher davon auszugehen, dass C-Allelträger weniger wirksame Metabolite im ZNS-Gewebe aufweisen, und somit auch ein geringerer Einfluss auf die therapeutische Wirksamkeit zu vermuten ist. Auch wenn dies eine rein hypothetische Annahme ist, ist es möglich, dass ein höherer Efflux aus verschiedenen Gründen zu einer besseren Wirkung des Medikamentes führt, z. B. dann, wenn eine längere „Verweildauer“ im ZNS Gewebe zu einem „toxischen“ Spiegel im ZNS-Gewebe führt, der sich negativ auf die Response auswirkt.

In den Befunden von Yasui-Furukori et al. und Bozina et al. [73, 89] wurde eine Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit für Träger der T/T-Genotypen gefunden. Für

## Diskussion

Träger des C/C-Genotypen bzw. C-Allels konnte dieser Zusammenhang jedoch nicht gefunden werden.

Eine Erklärung dieser diskrepanten Befunde ist mit dem „Flip-Flop“-Modell denkbar, das schon in zahlreichen anderen Studien beschrieben wurde. Laut diesem Modell kann der untersuchte Polymorphismus durch interaktive Effekte oder Kopplungsgleichgewichte mit einem Polymorphismus einer anderen Lokalisation assoziiert sein [90, 91] und somit zu einem veränderten Resultat führen.

Weitere Gründe für diese Inkonsistenz können sowohl die noch uneindeutige Datenlage bezüglich des C/C-Genotypen im C3435T-Polymorphismus als auch manche Einschränkungen dieser Studie sein, wie beispielsweise die kleine Kollektivzahl oder die Einnahme von Komedikationen (siehe Kapitel 5.2).

Insgesamt konnte die Hypothese einer Assoziation zwischen Gewichtszunahme sowie Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit unter Einnahme von Substraten und dem C3435T-Polymorphismus nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Kovarianz- und Varianzanalysen zeigten keine signifikante Assoziation zwischen dem C3435T-Polymorphismus des P-Glykoproteins und der Gewichtszunahme bzw. therapeutischen Wirksamkeit. Dieser Befund ist konsistent mit den in Tabelle 19 aufgezeigten Studien, die meist keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem C3435T-Polymorphismus und der jeweiligen Konzentration des Antipsychotikums im Blut, der therapeutischen Wirksamkeit oder der Gewichtszunahme aufwiesen. Lin et al. [92] beispielsweise untersuchten 41 schizophrene Patienten und fanden zwar eine Assoziation zwischen der Olanzapinkonzentration im Plasma und der Reduktion von Positiv-Symptomen (BPRS), aber keine signifikante Assoziation mit der Gewichtszunahme. Dabei ist die kleine Kollektivgröße als einschränkend zu interpretieren. Diese findet sich auch bei Yasui-Furukori et al. [89]. In einer weiteren Studie von Yasui-Furukori et al. [93] erhielten die Patienten, wie auch in der vorliegenden Studie, Komedikationen, die zu einer Induktion oder Inhibition der betrachteten AP führen können.

In Anbetracht der Vergleichsbefunde ist eine Assoziation zwischen dem C3435T-Polymorphismus und der Gewichtszunahme bzw. Symptomverbesserung als unwahrscheinlich anzusehen. Eine Aussage diesbezüglich bleibt jedoch unklar, da z. B. Lin et

al. [92] signifikante Befunde zwischen den Medikamentenkonzentrationen und dem therapeutischen Ansprechen fanden.

Arbeitsgruppen	Ethnizität	Untersuchung von	Ergebnis
Lin et al. [94] n=41	Patienten europäischer Herkunft	C3435T und Alter, Geschlecht, Gewichtszunahme Olanzapin und BPRS	n. signifikant  signifikant
Yasui-Furukori et al. [93] n=85	Japaner	C3435T und Plasmaspiegel von Risperidon und 9-Hydroxyrisperidon	n. signifikant
Yasui-Furukori et al. [89] n=33	Japaner	C3435T und therapeutisches Ansprechen (BPRS) unter Bromperidol	n. signifikant T/T-Genotyp Tendenz zur Verbesserung
Bozina et al. [73] n=87	Kroaten	C3435T und therapeutisches Ansprechen (PANSS) unter Olanzapin	n. signifikant T/T-Genotyp Tendenz zur Verbesserung

**Tabelle 19: Untersuchungen im C3435T-Polymorphismus**

Das MDR1-Gen weist außerdem noch zahlreiche unbekannte Polymorphismen auf, die in dieser Untersuchung nicht berücksichtigt wurden. Diese können auch zu einer veränderten Wirkung von AP im menschlichen Körper führen und sollten deshalb zukünftig weiter untersucht werden. Xing et al. berichteten von einem in Exon 12 liegenden C1236T-Polymorphismus, der bei Trägern des T/T-Genotypen mit einem signifikant höheren Therapieansprechen, gemessen an der BPRS-Skala, assoziiert war [95]. In Zukunft sollte bei der Behandlung von schizophrenen Patienten mit AP, die P-Glykoproteinsubstrate sind, davon ausgegangen werden, dass eine Veränderung der Expression oder Aktivität von P-Glykoprotein für das Ansprechen der Therapie oder das Auftreten von Nebenwirkungen bedeutsam sein können.

### 5.1.3 Gewichtszunahme und Geschlecht

Untersuchungen bezüglich der Gewichtszunahme unter antipsychotischer Therapie zeigen, dass das weibliche Geschlecht im Vergleich zum männlichen Geschlecht eine stärkere Prädisposition zur Ausbildung einer Gewichtszunahme unter den atypischen als auch älteren typischen AP hat [92, 96]. In Plasmaspiegeluntersuchungen von atypischen AP wiesen Frauen im Gegensatz zu Männern höhere Plasmaspiegel auf [97].

## Diskussion

Neben anatomischen und physiologischen Unterschieden zwischen beiden Geschlechtern, wie Größen- und Gewichtsunterschiede, sowie geringere Magendurchblutung und Magensäureproduktion beim weiblichen Geschlecht [98], sind auch genetische Faktoren möglicherweise einflussgebend auf die Gewichtszunahme. Untersuchungen zeigen, dass Frauen im Vergleich zu Männern eine geringere CYP1A2-Aktivität besitzen [99, 100]. Erhöhte Plasmaspiegel von AP können vermutlich daraus resultieren und Nebenwirkungen, wie beispielsweise eine Gewichtszunahme, vermehrt auftreten. Angesichts dieser Ergebnisse liegt die Vermutung nahe, dass sich für das weibliche Geschlecht unter antipsychotischer Therapie eine verstärkte Gewichtszunahme sowie eine signifikante Assoziation mit CYP1A2\*1F ergeben.

Im gesamten Kollektiv zeigte sich in einem Zeitraum von sechs Wochen im Mittel eine Gewichtszunahme von 4,49 kg (SD  $\pm$  3,99). Dabei fiel in deskriptiven Analysen eine relativ homogene Verteilung der Gewichtszunahme zwischen beiden Geschlechtern auf. Beim männlichen Geschlecht ist insgesamt eine Gewichtszunahme von 4,74 kg (SD  $\pm$  4,35) und beim weiblichen Geschlecht von 4,10 kg (SD  $\pm$  3,35) zu verzeichnen. Hinsichtlich der Gewichtszunahme des weiblichen Geschlechts zeigten sich für den CYP1A2\*1F-Polymorphismus und für den C3435T-Polymorphismus keine signifikanten Assoziationen. Auch zwischen beiden Geschlechtern konnte keine signifikante Korrelation hinsichtlich der Gewichtszunahme gefunden werden. Ein möglicher Grund ist das kleine, nicht ausreichend große repräsentative Kollektiv.

Ein niedriger Body-Mass-Index bei Behandlungsbeginn und jugendliches Alter können unterstützend zu einer verstärkten Gewichtszunahme führen [101, 102]. Einige Patienten waren bereits zu Beginn der Studie übergewichtig, was auf eine vorige Therapie mit AP basieren kann. Somit kann ein Plateau-Effekt der Gewichtszunahme erreicht worden sein, was die Betrachtung der Gene nur eingeschränkt möglich macht [30].

Grundsätzlich besitzen externe Faktoren, die in diesen Untersuchungen als Ausschlusskriterien miteinbezogen wurden, wie Nikotin-, Alkoholabusus, weitere Medikamente und internistische Erkrankungen, einen starken Einfluss auf Gewichtsveränderungen.

In zukünftigen Studien sollten die genannten Einflussfaktoren stärker berücksichtigt und in größeren Kollektiven untersucht werden. Sinnvoll ist sicher auch eine getrennte An-

schauung bei der Verteilung der Psychopharmaka und der Gewichtsregulierung zwischen beiden Geschlechtern.

#### **5.1.4 Gewichtszunahme und Ethnizität**

Bisherige Studien zeigen einen Einfluss der Ethnizität auf Medikamentenkonzentrationen im Plasma und -wirkungen im Körper. Subramaniam et al. [103] untersuchten n=40 schizophrene Patienten, die zu gleichen Teilen asiatischer und europäischer Herkunft waren. Hier zeigten sich keine ethnischen Unterschiede im Clozapinplasmaspiegel. Buffington et al. [104] nehmen an, dass aufgrund bis jetzt ungeklärter metabolischer Prozesse die Neigung zur Ausbildung einer Adipositas bei Afroamerikanern stärker ausgebildet ist als bei Patienten europäischer Herkunft. Es ist zu vermuten, dass zwischen Afroamerikanern und Patienten europäischer Herkunft bezüglich der Gewichtszunahme ein Unterschied besteht, wobei sich im Kollektiv der Afroamerikaner eine verstärkte Zunahme des Gewichts abzeichnen sollte.

In den vorliegenden deskriptiven Analysen bestätigte sich diese Annahme. Die Afroamerikaner nahmen in sechs Wochen mehr an Gewicht zu als Patienten europäischer Herkunft. Die ausgeprägteste Gewichtszunahme im gesamten Kollektiv wies allerdings ein Patient europäischer Herkunft auf (+16,00 kg). Im Chi-Quadrat-Test ergaben sich signifikante Unterschiede in der Allelverteilung und ein knapp nicht signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung zwischen Afroamerikanern und Patienten europäischer Herkunft für den CYP1A2\*1F-SNP. Dabei sind im europäischen Kollektiv v. a. Träger des A-Allels bzw. des A/A-Genotypen (siehe Tabelle 11) vermehrt nachweisbar. Auch Todesco et al. fanden eine erhöhte Frequenz des A-Allels bei Patienten europäischer Herkunft (68 %) [105]. Daraus könnte man in Anbetracht der Ergebnisse bisheriger Publikationen vermuten, dass eher Patienten europäischer Herkunft eine erhöhte Aktivität von CYP1A2 besitzen.

In univariaten Analysen von Zwischensubjekteffekten zeigte sich für die Ethnien ein signifikantes Ergebnis bezüglich der Gewichtsveränderung in sechs Wochen. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests bestätigte sich die signifikant stärkere Gewichtszunahme der Patienten afroamerikanischer Herkunft im Vergleich zu Patienten europäischer Herkunft für das gesamte Kollektiv. Dieses Resultat zeigte sich auch in den Analysen von Truong et al. [106]. Sie verglichen Gewichtsveränderungen zwischen verschiedenen soziode-

mographischen Gruppen von US-Amerikanern im Zeitraum von 1986 und 2002. Die Resultate zeigen auf, dass ethnische Unterschiede insgesamt betrachtet einen verschieden starken Einfluss auf die Wirkung von AP besitzen und somit bestimmte Nebenwirkungen in unterschiedlichem Ausmaße auftreten können. Die Gefahr von metabolischen Nebenwirkungen in der Therapie an Schizophrenie erkrankter Afroamerikaner ist somit erhöht und sollte in der Praxis Berücksichtigung finden.

Als Beispiel für eine ethnisch bedingte Variation in der Therapie von Erkrankungen gilt die im Juni 2005 erstmals vom Expertenausschuss der amerikanischen Arzneimittelbehörde FDA (Food and Drug Administration) zugelassene Herzinsuffizienztherapie der afroamerikanischen Population. Der Grundpfeiler für eine ethnien-spezifische pharmakogenomische Therapie wurde gesetzt. Die Kenntnis über solche in den Ethnien verschieden stark ausgeprägten Variabilitäten der Gene kann möglicherweise die Basis einer optimal angepassten individuellen und nebenwirkungsarmen Therapie schizophrener Erkrankter bilden.

## 5.2 Limitationen der Studie

Stärken	Schwächen
Einfluss von Kovariaten	Kleines Kollektiv (n=109)
Betrachtung im realen Umfeld	Einnahme von Komedikation
Trennung nach Ethnien	Einnahme verschiedener AP mit unterschiedlichen Dosen
Ausschluss von Patienten mit vorbestehender Grunderkrankung	Keine Betrachtung von Gen-Interaktionen und Betrachtung von nur einem SNP pro Gen
Betrachtung der Gewichtsveränderung/therapeutischen Wirksamkeit über einen langen Zeitraum (sechs Wochen)	Keine Trennung zwischen Rauchern und Nichtrauchern

**Tabelle 20: Stärken und Schwächen der Analysen**

Wie in Tabelle 20 sichtbar, unterliegen die vorliegenden Untersuchungen einer Reihe von Vor- und Nachteilen. Es wurden an Schizophrenie erkrankte Patienten, die in deutschen und US-amerikanischen Kliniken zur Therapie eingewiesen wurden, eingeschlossen und nach bestimmten Ein- und Ausschlusskriterien, wie in Kapitel 3.2.2 dargestellt, selektiert. Durch das Poolen eines deutschen und US-amerikanischen Patientenkollektivs konnte eine größere Fallzahl erzielt werden, die sich jedoch aufgrund der

## Diskussion

Selektion nach Ethnien und spezieller Substrate teilweise minimierte bzw. zu unterschiedlich großen Gruppen führte. Dies sollte in einem Teil der Analysen mittels ANOVA/ANCOVA berücksichtigt werden, wie beispielsweise Analysen der Response mittels PANSS bei den Afroamerikanern.

Gleichwohl überwiegend identische Untersuchungsinstrumente gewählt wurden, sind durch Rekrutierung des Patientenkollektivs von verschiedenen Untersuchern individuellen Abweichungen nicht auszuschliessen. Hier sollten zukünftig Interrater-Reliabilitäts-Untersuchungen durchgeführt werden, um Konkordanzen der individuellen Einschätzungsergebnisse festzustellen.

Da sich die Untersuchungen im normalen Klinikalltag vollzogen, resultiert eine „reale“ Patientenpopulation, die hinsichtlich ihrer demographischen Daten bzw. Medikamenteneinnahme und Herkunft heterogen ist. Limitierend dabei sind die Heterogenität des Patientenkollektivs, sowie mögliche Wechselwirkungen durch Komedikationen, die wie beispielsweise in Kapitel 1.2.2 und 1.3.2 dargestellt, als Inhibitoren oder Induktoren wirken können und somit das Ergebnis beeinflussen. Die Behandlung mit nur einem Antipsychotikum vermeidet hingegen Medikamenteninteraktionen. Trotzdem spiegelt diese Form der Rekrutierung die „realen“ klinischen Bedingungen wider und ist von besonderer Bedeutung, da Ergebnisse aus Studien an bestimmten, streng definierten Patientenpopulationen oder gesunden Teilnehmern oft nicht auf die „Außenwelt“ übertragbar sind.

Die antipsychotische Einstellung schizophrener Patienten dauert meist mehrere Wochen. Im Rahmen dieser Analysen ist daher der Untersuchungszeitraum von sechs Wochen zunächst als hinreichend anzusehen. Dennoch ist die Beobachtung über einen noch längeren Zeitraum zur gezielten Erfassung der Nebenwirkungen im Verlauf empfehlenswert, zumal sich die Gewichtszunahme und die therapeutische Wirksamkeit eines Medikamentes über einen längeren Zeitraum entwickeln. Für Clozapin beispielsweise sind relevante Gewichtszunahmen erst in den ersten sechs bis acht Wochen beschrieben [107].

Vorteilhaft stellte sich die Trennung der Untersuchung nach Substraten der Enzyme dar. Trotzdem ist die Datenlage der einzelnen Substrate zu den jeweiligen Enzymen teilweise noch fraglich, so dass diese vor statistischen Analysen belegt sein sollte.

Die Standards für pharmakogenetische Studien fordern, so viele Kovariablen wie möglich zu erkennen und mit einzubeziehen [108]. In dieser Untersuchung wurden die Kovariaten Geschlecht, Alter, PANSS- und GAF-Punkte zu Studienbeginn und Ethnizität betrachtet, da diese einen möglichen Einfluss auf die abhängigen Variablen besitzen und damit zur Korrektur beitragen können. Dabei zeigte der Kofaktor Ethnizität einen signifikanten Einfluss. Aus der signifikanten Assoziation zwischen den Ethnien und der Gewichtszunahme resultiert eine ethnienangepasste Therapie und der Einbezug als Kovariate in gewichtsbezogene Analysen (vgl. hierzu Kapitel 5.1.4). Die Identifikation und der systematische Einbezug weiterer Kovariablen bleibt damit ein wichtiges Forschungsfeld hinsichtlich der antipsychotischen Therapie schizophrener Patienten.

Die sich signifikant darstellenden Ergebnisse zwischen Punkten zu Studienbeginn der PANSS und GAF-Skala und deren Punkteveränderungen in sechs Wochen zeigen, dass Patienten mit ernsthafteren Symptomen zu Studienbeginn meist eine stärkere Verbesserung der Symptomatik und solche mit weniger starker Symptomatik zu Beginn meist eine geringere Symptomverbesserung besitzen. Die PANSS wurde zur Analyse der Response des deutschen Kollektivs und die GAF-Skala zur Analyse der Response des US-amerikanischen Kollektivs durchgeführt. Da der Anteil an Afroamerikanern im US-amerikanischen Kollektiv am höchsten war, resultierte bei Trennung der Untersuchungen nach Ethnizitäten nur eine kleine Gruppenzahl für die PANSS bezüglich der Afroamerikaner. Daher sind die Ergebnisse der ethniengetrennten Analysen bezüglich der Response mittels PANSS bei den Afroamerikanern mit Vorsicht zu interpretieren.

### **5.3 Ausblick auf zukünftige Studien**

Es ist davon auszugehen, dass viele Einflussfaktoren Wirksamkeit und Aufkommen von Nebenwirkungen beeinflussen. Diese können sowohl genetischer als auch nicht genetischer Natur sein. In Hinblick auf die Genetik ist davon auszugehen, dass viele verschiedene Gene und verschiedene Polymorphismen gemeinsam das Ansprechen einer Therapie und die Entwicklung von Nebenwirkungen beeinflussen, da Psychopharmaka komplexe Rezeptorbindungsprofile besitzen.

Arranz et al. konnten mittels eines pharmakogenetischen Screenings von Rezeptorpolymorphismen die Wirksamkeit einer Therapie mit Clozapin mit einem positiven Vorhersagewert von 76,9 % prognostizieren [109]. Desweiteren konnte beobachtet werden,



dass die Wirkung von Psychopharmaka nicht gleichzeitig mit einer Rezeptorblockade einhergeht, sondern erst nach einer gewissen Latenz einsetzt [110], was eine Beteiligung von sekundären Signaltransduktionsmechanismen und Veränderungen der Genexpression vermuten lässt. Somit besteht ein Bedarf an Studien, die sich auch auf die jeweiligen daran beteiligten Polymorphismen von nachgeschalteten intrazellulären Proteinen konzentrieren bzw. diese in die Untersuchungen miteinbeziehen.

In dieser Studie wurden zwei Enzyme (CYP1A2 und MDR1) mit jeweils einem Polymorphismus untersucht. Insgesamt konnte zwar kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden, jedoch Tendenzen zwischen den einzelnen Polymorphismen und der Veränderung des Gewichts und therapeutischer Wirksamkeit beschrieben werden, die eine Assoziation vermuten lassen. Größere Studien sind empfehlenswert, die wichtige Kofaktoren einbeziehen und durch homogene Untergruppierung nach klinischen Symptomen, ethnischer Herkunft und der Art des Antipsychotikums zu keinem erheblichen Verlust an statistischer Power führen. Als Kovariaten kommen die sich in dieser Studie signifikant dargestellten Kovariaten als auch beispielsweise soziodemographische Faktoren (Alter und Geschlecht), Komorbidität (Rauchen, Essstörungen), Begleitmedikationen, Essgewohnheiten und eine positive Familienanamnese für Diabetes und Übergewicht in Frage [30]. Solche pharmakogenetischen Studien werden jedoch nicht einfach durchzuführen sein, und benötigen wahrscheinlich ein multizentrisches Design. Dadurch ist es möglich größere Fallzahlen zu rekrutieren, um eine verbesserte statistische Sicherheit zu erzielen.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Einfluss der verschiedenen Ethnien auf die Entwicklung von Nebenwirkungen unter AP-Einnahme herausgestellt. Dies impliziert eine individuell angepasste Therapie von Afroamerikanern und Patienten europäischer Herkunft und eröffnet den Bedarf an zukünftigen ethnienangepassten Studien um jedes Individuum mit der bestmöglichen Wirksamkeit und den geringsten Nebenwirkungen unter AP-Einnahme therapieren zu können. Die interindividuellen Unterschiede erschweren dem Kliniker oftmals die optimale Therapie für jeden Patienten und sind oft Grund für eine allzu lange Krankenhausaufenthaltsdauer. Diese erhöht die Kosten des Gesundheitssystems. Nicht umsonst ist die Schizophrenie eine der teuersten psychiatrischen Erkrankungen in Deutschland, wobei 30 % der Behandlungskosten schon im ersten Jahr entstehen [111, 112]. Die auftretenden Nebenwirkungen vermindern die

Compliance des Patienten und können das Vertrauensverhältnis zwischen Arzt und Patient beeinträchtigen. Eine Chronifizierung der Erkrankung ist eine häufige Folge.

Es besteht noch eine Vielzahl von Genen und Genvarianten, die mit Wirkung und Nebenwirkungen von AP assoziiert sind. In Zukunft sollten auch Gen-Gen und Gen-Umwelt Interaktionen bei der Durchführung von Studien betrachtet werden. Diese haben möglicherweise eine starke Relevanz in der Entwicklung von Nebenwirkungen. Ein interessantes Feld stellt neben der Genetik die Epigenetik dar. Diese untersucht, unabhängig von Veränderungen der DNA-Sequenz, die Vererbung genetischer Informationen, die auf Änderungen der Genregulationen und Genexpressionen zurückzuführen sind [113]. Als Mechanismen wurden dabei die DNA-Methylierung und die Modifikation von Histonen, die mitotisch oder meiotisch vererbte Genregulation ermöglichen, beschrieben [114, 115]. Epigenetische Merkmale werden dabei zwar wie Gene vererbt, aber sind Gegenstand von Veränderungen durch Umwelteinflüsse, wie die Nahrung [116]. Zwillinge beispielsweise besitzen zwar die gleiche Veranlagung zur Entwicklung einer Schizophrenie, aber deren Ausprägung hängt von epigenetischen Markern ab [117]. Der Einfluss von Umweltfaktoren auf epigenetische Regulationsmechanismen und damit beispielsweise auf die Genese bestimmter Erkrankungen oder Nebenwirkungen ist noch nicht ausreichend geklärt und bedarf daher noch weiterer Analysen.

Die signifikanten und nicht signifikanten Ergebnisse haben langfristig zum Ziel, die Entwicklung von prädiktiven Tests zu fördern, um genetisch determinierte Wirkungs- und Nebenwirkungsprofile von AP individuell bestimmen zu können. Insgesamt betrachtet ist der potentiell klinische Nutzen einer genetisch determinierten Individualisierung der Arzneimitteltherapie sehr groß. Auf Gen-Chips beruhende Methoden und Genotypisierungsmethoden, die mittels Massenspektrometrie detektieren [118, 119], sind besonders gut zur genomweiten Analyse von zahlreichen Polymorphismen in einer großen Patientenpopulation geeignet. Ein von der Firma GAG BioScience GmbH entwickelter Hochdurchsatzroboter ermöglicht 60.000 Genotypisierungen pro Tag [120]. Desweiteren ist es möglich auch mit Hilfe eines sogenannten „Therapeutischen Drug Monitorings“ eine Dosisindividualisierung zu erreichen. Dabei kann durch analytische Bestimmungen eines Plasma- oder Serumspiegels in einem Patienten ein gewünschter, therapeutisch günstiger Effekt erzielt werden [121]. In Aussicht stehen Gen-Chips wie sie die Firma Roche Diagnostics schon auf den Markt gebracht hat. Mit diesem

## Diskussion

„AmpliChip CYP450“ können 34 wichtige Polymorphismen in den Genen der Cytochrome 2D6 und 2C19 simultan getestet und Testergebnisse innerhalb eines Tages verfügbar gemacht werden [122]. Die Grundlage für eine optimierte angepasste individualisierte

Therapie mit Eingrenzung der unerwünschten Nebenwirkungen und Symptomlinderung wäre geschaffen.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

---

Die Behandlung der Schizophrenie mit atypischen Antipsychotika ist häufig mit dem Risiko behaftet eine klinisch relevante Gewichtszunahme zu erzeugen, die in ihrem Ausmaß zwischen den Patienten variieren kann. Es wird allgemein postuliert, dass die interindividuelle Varianz stark an genetische Faktoren gebunden ist, deren Erforschung mit Hilfe von molekulargenetischen Untersuchungen für eine optimierte individualisierte Therapie genutzt werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei in der Pharmakokinetik relevante Proteine hinsichtlich Gewichtszunahme und therapeutischer Wirksamkeit unter antipsychotischer Therapie untersucht:

1) Das CYP1A2-Gen gehört zur Familie der Cytochrome, die allgemein in der hepatischen Verstoffwechslung von Medikamenten eine wesentliche Rolle spielen. Genotypen des funktionellen Einzelnukleotidpolymorphismus CYP1A2\*1F (ID:rs762551) zeigten unter Tabakrauch einen Einfluss auf die CYP1A2-Aktivität. Daher ist zu vermuten, dass bei diesen Patienten der Stoffwechsel von CYP1A2-Substraten beeinflusst ist und es in Abhängigkeit von der Enzymaktivität vermutlich zu einer vermehrten oder verminderten Konzentration von Substraten im Blut kommt. Daraus könnte eine unterschiedlich starke Ausprägung von Nebenwirkungen bzw. einer therapeutischen Wirksamkeit resultieren.

2) Das MDR1-Gen, welches als P-Glykoprotein in der Blut-Hirnschranke lokalisiert ist, fungiert als energieabhängiger Effluxtransporter und führt somit zum Auswärtstransport zentral wirksamer Medikamente. Für den C3435T-Polymorphismus (ID:rs1045642) wurde eine Hemmung der P-Glykoprotein-Aktivität beschrieben, die vermutlich zu einem geringeren Efflux von Substraten des P-Glykoproteins führt. Die Folge ist vermutlich eine erhöhte Konzentration der Substrate bzw. ihrer aktiven Metabolite im ZNS-Gewebe, die einerseits zu einer Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit und andererseits zu einem vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen führen könnte.

Die Analysen wurden an einem US-amerikanischen und deutschen Kollektiv mit n=109 an Schizophrenie (nach DSM-IV) erkrankten Teilnehmern durchgeführt, die entweder afroamerikanischer (n=19) oder europäischer Herkunft (n=90) waren. Das Kollektiv ist

## Zusammenfassung

überwiegend mit Clozapin sowie anderen Antipsychotika über sechs Wochen pharmakologisch behandelt worden. Im wöchentlichen Abstand wurden die therapeutische Wirksamkeit mittels PANSS und GAF-Skala und das Gewicht in kg gemessen. Aus der Differenz zwischen Studienbeginn und -ende der Studie konnten Veränderungen der Symptomatik bzw. des Gewichts erfasst werden. Die Genotypisierung erfolgte mittels Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus und Taq-Man-Sonden. Anschließend wurden mittels Chi-Quadrat-Test, linearen Regressionsanalysen, Mann-Whitney-U-Test, Student's T-Test und ANCOVA statistische Analysen für die speziellen Substrate der einzelnen Polymorphismen unter Betrachtung der Ethnien durchgeführt.

Für den CYP1A2\*1F-Polymorphismus zeigte sich bei Patienten, die Clozapin und Olanzapin einnahmen eine Tendenz für Träger des C/C-Genotypen zu einer im Vergleich zu den anderen Genotypträgern verstärkten Gewichtszunahme, wenngleich die Analysen nicht signifikant waren. Im C3435T-Polymorphismus fand sich bei Patienten, die Risperdal, Aripiprazol, Amisulprid und Olanzapin einnahmen, eine Tendenz zur Gewichtszunahme und geringfügige Verbesserung der therapeutischen Wirksamkeit für Träger des C/C-Genotypen, die jedoch keine Signifikanz zeigte. Der Einschluss der sich zur Gewichtszunahme oder therapeutischen Wirksamkeit signifikant darstellenden Kovariaten (Ethnizität, PANSS-, GAF-Punkte zu Studienbeginn) sowie die getrennte Untersuchung nach Ethnien führten zu keinem veränderten Ergebnis.

Die vorliegenden Analysen zeigen nicht signifikante Tendenzen zwischen den Genvarianten des CYP1A2- und MDR1-Gens und der Antipsychotika-induzierten Gewichtszunahme bzw. therapeutischen Wirksamkeit. Möglicherweise lässt sich eine signifikante Assoziation an einem größeren Kollektiv und unter Berücksichtigung weiterer Kofaktoren erzielen (z. B. Komedikation, Rauchen). Die teilweise widersprüchlichen Ergebnisse zu anderen Studien und die noch heterogene Datenlage zu den einzelnen Polymorphismen dienen als Stimulus diese Hypothese in Zukunft in anderen Kollektiven zu testen. Die ethnisch bedingten Unterschiede bezüglich der Gewichtszunahme stellten sich signifikant dar und sollten in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

## 7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

ABKÜRZUNG	FACHBEGRIFF
ABI Prism®	Applied Biosystems, Software
ADRA2a	Alpha-2a adrenergic receptor
ANCOVA	Analysis of Covariance
AMWF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
AP	Antipsychotika
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale
Bp	Basenpaare
C	Cytosin
CA	Canada
CRP	C-reaktives Protein
CYP	Cytochrom P450
Dest.	Destilliertes
DNA	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DRD2/4	Dopamin 2-/3-/4-Rezeptor
DSM-III/IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders third/fourth edition (American Psychiatric Association)
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
G	Guanin/Guanosin
GAF	Global Assessment Functioning
Hba1c	Hämoglobin A1c-Test
H <sub>2</sub> O	Wasser
HDL	High Density Lipoprotein
HIV	Human Immunodeficiency Virus
5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
ICD-10	International Classification of Diseases, 10th edition (WHO)
ID	Identifikation Einzelnukleotidpolymorphismus

## Abkürzungsverzeichnis

Inc.	Incorporated
kDa	Kilo Dalton, Maß für Molekulargewicht
LDL	Low Density Lipoprotein
MA	Massachusetts
MDR	Multidrug Resistenz Protein
ml	Milliliter
mM	Millimolar
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MW	Mittelwert
n	Patientenzahl
n.	Nicht
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NSAR	Nichtsteroidales Antirheumatikum
p	Signifikanz, p-Wert
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCR	Polymerasekettenreaktion
Pgp	P-Glykoprotein
RF	Risikofaktoren
RFLP	Restriktionslängenpolymorphismus
Rpm	Rounds per minute, Umdrehungen pro Minute
SCID	Structured Clinical Interview for DSM-IV
SD	Standardabweichung
SDS	Sodiumdodecylsulfat
SNAP-25	Synaptosome-associated protein of 25 kDa
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
T	Thymidin
TBE-Puffer	Tris-Borat-Na <sub>2</sub> EDTA-Puffer
TKM	Puffer mit Tris, KCl, MgCl <sub>2</sub> , EDTA
TNF	Tumornekrosefaktor
V	Volt
ZNS	Zentrales Nervensystem
µg/ µl	Mikrogramm, 10 <sup>-6</sup> g/ Mikroliter, 10 <sup>-6</sup> l

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

---

1. <http://www.uni-duesseldorf.de/AWMF/II/038-009.htm>, abgerufen am 27.03.2009.
2. Möller H-J, Laux G, and Deister A. *Duale Reihe: Psychiatrie und Psychotherapie*. Stuttgart: Georg-Thieme Verlag **2001**;2:134-160.
3. Hafner H, Maurer K, and Loffler W. *The ABC Schizophrenia Study: a preliminary overview of the results*. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol **1998**;33(8):380-6.
4. Kraepelin E. *Psychiatrie*. Leipzig: Abel (Meixner) **1893**.
5. Bleuler E. *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*. Leipzig, Wien: Deuticke Verlag **1911**.
6. Berger. *Psychiatrie und Psychotherapie*. München-Wien-Baltimore: Urban und Schwarzenberger **1999**.
7. Kay SR and Opler LA. *The positive-negative dimension in schizophrenia: its validity and significance*. Psychiatr Dev **1987**;5(2):79-103.
8. Roder B, Kienzle, Hodel. *Vulnerabilitätsmodell Zubin und Spring*. München: **1997**;1:25.
9. Gottesman II, McGuffin P, and Farmer AE. *Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time)*. Schizophr Bull **1987**;13(1):23-47.
10. Tsuang MT, Stone WS, and Faraone SV. *Genes, environment and schizophrenia*. Br J Psychiatry Suppl **2001**;40:18-24.
11. Moore TH, Zammit S, and Lingford-Hughes A, et al. *Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review*. Lancet **2007**;370(9584):319-28.
12. Lenzenweger MF. *Schizophrenia: refining the phenotype, resolving endophenotypes*. Behav Res Ther **1999**;37(3):281-95.
13. Weinberger DR. *Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia*. Arch Gen Psychiatry **1987**;44(7):660-9.
14. Kaiser R, Konneker M, and Henneken M, et al. *Dopamine D4 receptor 48-bp repeat polymorphism: no association with response to antipsychotic treatment, but association with catatonic schizophrenia*. Mol Psychiatry **2000**;5(4):418-24.
15. Lewis S. *Structural brain imaging in biological psychiatry*. Br Med Bull **1996**;52(3):465-73.



## Literaturverzeichnis

16. Wright IC, Rabe-Hesketh S, and Woodruff PW, et al. *Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia*. Am J Psychiatry **2000**;157(1):16-25.
17. Whitworth AB, Honeder M, and Kremser C, et al. *Hippocampal volume reduction in male schizophrenic patients*. Schizophr Res **1998**;31(2-3):73-81.
18. Wiersma D, Nienhuis FJ, Giel R, de Jong A, and Slooff CJ. *Assessment of the need for care 15 years after onset of a Dutch cohort of patients with schizophrenia, and an international comparison*. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol **1996**;31(3-4):114-21.
19. Bebbington P and Kuipers L. *The clinical utility of expressed emotion in schizophrenia*. Acta Psychiatr Scand Suppl **1994**;382:46-53.
20. Brown S, Inskip H, and Barraclough B. *Causes of the excess mortality of schizophrenia*. Br J Psychiatry **2000**;177:212-7.
21. Casey DE. *Neuroleptic drug-induced extrapyramidal syndromes and tardive dyskinesia*. Schizophr Res **1991**;4(2):109-20.
22. Tandon R and Jibson MD. *Extrapyramidal side effects of antipsychotic treatment: scope of problem and impact on outcome*. Ann Clin Psychiatry **2002**;14(2):123-9.
23. Allison DB, Mentore JL, and Heo M, et al. *Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis*. Am J Psychiatry **1999**;156(11):1686-96.
24. Casey DE and Zorn SH. *The pharmacology of weight gain with antipsychotics*. J Clin Psychiatry **2001**;62(7):4-10.
25. Claus A, Bollen J, De Cuyper H, et al. *Risperidone versus haloperidol in the treatment of chronic schizophrenic inpatients: a multicentre double-blind comparative study*. Acta Psychiatr Scand **1992**;85(4):295-305.
26. Goff DC, Posever T, and Herz L, et al. *An exploratory haloperidol-controlled dose-finding study of ziprasidone in hospitalized patients with schizophrenia or schizoaffective disorder*. J Clin Psychopharmacol **1998**;18(4):296-304.
27. Anderson JW, Pi-Sunyer FX, and Danforth E, et al. *Clinical trial design for obesity agents: a workshop report*. Obes Res **1998**;6(4):311-5.
28. Angermeyer MC and Matschinger H. *[Neuroleptics and quality of life. A patient survey]*. Psychiatr Prax **2000**;27(2):64-8.
29. Morel Y, Golay A, and Perneger T, et al. *Metformin treatment leads to an increase in basal, but not insulin-stimulated, glucose disposal in obese patients with impaired glucose tolerance*. Diabet Med **1999**;16(8):650-5.
30. Muller DJ, Peter C, and Puls I, et al. *[Genetics of weight gain associated with antipsychotic medications]*. Nervenarzt **2009**;80(5):556-63.

## Literaturverzeichnis

31. Muller DJ and Kennedy JL. *Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia*. Pharmacogenomics **2006**;7(6):863-87.
32. Vogel F. *Moderne Probleme der Humangenetik*. Heidelberg: Springer Berlin **1959**;12:52-125.
33. Marx-Stölting. *Pharmakogenetik und Pharmakogentests: Biologische, wissenschaftstheoretische und ethische Aspekte des Umgangs mit genetischer Variation*. Berlin-Hamburg-Münster: LIT Verlag **2006**;1:299.
34. Aktories F, Förstermann. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. München, Jena: Elsevier, Urban&Fischer Verlag **2008**.
35. Ellingrod VL, Miller D, Schultz SK, Wehring H, and Arndt S. *CYP2D6 polymorphisms and atypical antipsychotic weight gain*. Psychiatr Genet **2002**;12(1):55-8.
36. Lane HY, Liu YC, and Huang CL, et al. *Risperidone-related weight gain: genetic and nongenetic predictors*. J Clin Psychopharmacol **2006**;26(2):128-34.
37. Basile VS, Ozdemir V, Masellis M, et al. *A functional polymorphism of the cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) gene: association with tardive dyskinesia in schizophrenia*. Mol Psychiatry **2000**;5(4):410-7.
38. Muller DJ, Klempan TA, and De Luca V. *The SNAP-25 gene may be associated with clinical response and weight gain in antipsychotic treatment of schizophrenia*. Neurosci Lett **2005**;379(2):81-9.
39. Waldman ID, Nigg JT, and Gizer IR. *The adrenergic receptor alpha-2A gene (ADRA2A) and neuropsychological executive functions as putative endophenotypes for childhood ADHD*. Cogn Affect Behav Neurosci **2006**;6(1):18-30.
40. Zhang ZJ, Yao ZJ, and Mou XD, et al. *[Association of -2548G/A functional polymorphism in the promoter region of leptin gene with antipsychotic agent-induced weight gain]*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi **2003**;83(24):2119-23.
41. Miller DD, Ellingrod VL, Holman TL, Buckley PF, and Arndt S. *Clozapine-induced weight gain associated with the 5HT2C receptor -759C/T polymorphism*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet **2005**;133B(1):97-100.
42. Theisen FM, Hinney A, and Brömel T, et al. *Lack of association between the -759C/T polymorphism of the 5-HT2C receptor gene and clozapine-induced weight gain among German schizophrenic individuals*. Psychiatr Genet **2004**;14(3):139-42.
43. van Baak MA. *The peripheral sympathetic nervous system in human obesity*. Obes Rev **2001**;2(1):3-14.

## Literaturverzeichnis

44. Park YM, Chung YC, and 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**;141B(4):394-7.
45. Gonzalez FJ and Nebert DW. *Evolution of the P450 gene superfamily: animal-plant 'warfare', molecular drive and human genetic differences in drug oxidation.* Trends Genet **1990**;6(6):182-6.
46. Bertz RJ and Granneman GR. *Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions.* Clin Pharmacokinet **1997**;32(3):210-58.
47. Rendic S and Di Carlo FJ. *Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors.* Drug Metab Rev **1997**;29(1-2):413-580.
48. Anzenbacher P and Anzenbacherova E. *Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics.* Cell Mol Life Sci **2001**;58(5-6):737-47.
49. Hiratsuka M and Mizugaki M. *Genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes and drug targets.* Mol Genet Metab **2001**;73(4):298-305.
50. Dahl ML. *Cytochrome p450 phenotyping/genotyping in patients receiving anti-psychotics: useful aid to prescribing?* Clin Pharmacokinet **2002**;41(7):453-70.
51. Chetty M and Murray M. *CYP-mediated clozapine interactions: how predictable are they?* Curr Drug Metab **2007**;8(4):307-13.
52. Tyndale RF, Sunahara R, and Inaba T, et al. *Neuronal cytochrome P450IID1 (debrisoquine/sparteine-type): potent inhibition of activity by (-)-cocaine and nucleotide sequence identity to human hepatic P450 gene CYP2D6.* Mol Pharmacol **1991**;40(1):63-8.
53. Guidice JM, Marez D, and Sabbagh N, et al. *Evidence for CYP2D6 expression in human lung.* Biochem Biophys Res Commun **1997**;241(1):79-85.
54. Nebert DW. *Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical geneticist?* Clin Genet **1999**;56(4):247-58.
55. Bertilsson L, Dahl ML, and Tybring G. *Pharmacogenetics of antidepressants: clinical aspects.* Acta Psychiatr Scand Suppl **1997**;391:14-21.
56. Landi MT, Sinha R, Lang NP, and Kadlubar FF. *Human cytochrome P4501A2.* IARC Sci Publ **1999**;(148):173-95.
57. Rothenhäusler HB and Täschner KL. *Kompendium praktische Psychiatrie.* Wien-New York: Springer Verlag **2007**.
58. Kalow W and Tang BK. *Caffeine as a metabolic probe: exploration of the enzyme-inducing effect of cigarette smoking.* Clin Pharmacol Ther **1991**;49(1):44-8.

## Literaturverzeichnis

59. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, and Roots I. *Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine*. Br J Clin Pharmacol **1999**;47(4):445-9.
60. Juliano RL and Ling V. *A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants*. Biochim Biophys Acta **1976**;455(1):152-62.
61. Marzolini C, Paus E, Buclin T, and Kim RB. *Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance*. Clin Pharmacol Ther **2004**;75(1):13-33.
62. Fromm MF. *Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers*. Trends Pharmacol Sci **2004**;25(8):423-9.
63. Thiebaut F, Tsuruo T, and Hamada H, et al. *Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues*. Proc Natl Acad Sci U S A **1987**;84(21):7735-8.
64. Gottesman MM and Pastan I. *Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter*. Annu Rev Biochem **1993**;62:385-427.
65. Klimecki WT, Futscher BW, Grogan TM, and Dalton WS. *P-glycoprotein expression and function in circulating blood cells from normal volunteers*. Blood **1994**;83(9):2451-8.
66. Sakaeda T, Nakamura T, and Okumura K. *MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics*. Biol Pharm Bull **2002**;25(11):1391-400.
67. El Ela AA, Hartter S, and Schmitt U. *Identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors among psychoactive compounds--implications for pharmacokinetics of selected substrates*. J Pharm Pharmacol **2004**;56(8):967-75.
68. Wang JS, Zhu HJ, Markowitz JS, Donovan JL, and De Vane CL. *Evaluation of antipsychotic drugs as inhibitors of multidrug resistance transporter P-glycoprotein*. Psychopharmacology (Berl) **2006**;187(4):415-23.
69. Boulton DW, DeVane CL, Liston HL, and Markowitz JS. *In vitro P-glycoprotein affinity for atypical and conventional antipsychotics*. Life Sci **2002**;71(2):163-9.
70. Doran A, Obach RS, and Smith BJ, et al. *The impact of P-glycoprotein on the disposition of drugs targeted for indications of the central nervous system: evaluation using the MDR1A/1B knockout mouse model*. Drug Metab Dispos **2005**;33(1):165-74.
71. El Ela AA, Hartter S, Schmitt U, et al. *Identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors among psychoactive compounds--implications for pharmacokinetics of selected substrates*. J Pharm Pharmacol **2004**;56(8):967-75.
72. Schmitt U, Abou El-Ela A, and Guo LJ, et al. *Cyclosporine A (CsA) affects the pharmacodynamics and pharmacokinetics of the atypical antipsychotic amisul-*

## Literaturverzeichnis

- pride probably via inhibition of P-glycoprotein (P-gp)*. J Neural Transm **2006**;113(7):787-801.
73. Bozina N, Kuzman MR, Medved V, et al. *Associations between MDR1 gene polymorphisms and schizophrenia and therapeutic response to olanzapine in female schizophrenic patients*. J Psychiatr Res **2008**;42(2):89-97.
  74. Deuschl G and Ackermann H. *Gerontoneurologie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag **2006**.
  75. Mickley LA, Lee JS, and Weng Z, et al. *Genetic polymorphism in MDR-1: a tool for examining allelic expression in normal cells, unselected and drug-selected cell lines, and human tumors*. Blood **1998**;91(5):1749-56.
  76. Hoffmeyer S, Burk O, and von Richter O, et al. *Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo*. Proc Natl Acad Sci U S A **2000**;97(7):3473-8.
  77. Kay SR, Fiszbein A, and Opler LA. *The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia*. Schizophr Bull **1987**;13(2):261-76.
  78. Phelan M, Wykes T, and Goldman H. *Global function scales*. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol **1994**;29(5):205-11.
  79. Lahiri K and Nurnberger JI. *A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies*. Nucleic Acids Research **1991**;19:5444.
  80. Kalow W, Ozdemir V, Tang BK, Tothfalusi L, and Endrenyi L. *The science of pharmacological variability: an essay*. Clin Pharmacol Ther **1999**;66(5):445-7.
  81. Kalow W. *Pharmacogenetic research: a revolutionary science*. J Psychiatry Neurosci **1999**;24(2):139-40.
  82. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, and Guengerich FP. *Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians*. J Pharmacol Exp Ther **1994**;270(1):414-23.
  83. Eap CB, Bender S, and Jaquenoud Sirot E, et al. *Nonresponse to clozapine and ultrarapid CYP1A2 activity: clinical data and analysis of CYP1A2 gene*. J Clin Psychopharmacol **2004**;24(2):214-9.
  84. Wilffert B, Zaal R, and Brouwers JR. *Pharmacogenetics as a tool in the therapy of schizophrenia*. Pharm World Sci **2005**;27(1):20-30.
  85. Hausteil. *Tabakabhängigkeit*. Berlin, Heidelberg: Springer **2008**;2:261.

## Literaturverzeichnis

86. Bondolfi G, Morel F, Crettol S, et al. *Increased clozapine plasma concentrations and side effects induced by smoking cessation in 2 CYP1A2 genotyped patients.* Ther Drug Monit **2005**;27(4):539-43.
87. Kootstra-Ros JE, Smallegoor W, and van der Weide J. *The cytochrome P450 CYP1A2 genetic polymorphisms \*1F and \*1D do not affect clozapine clearance in a group of schizophrenic patients.* Ann Clin Biochem **2005**;42(3):216-9.
88. Schwab M, Marx C, and Zanger U, et al. *Pharmakogenetik der Zytochrom-P-450-Enzyme.* Deutsches Ärzteblatt **2002**;(8):497-504.
89. Yasui-Furukori N, et al. *Association between multidrug resistance 1 (MDR1) gene polymorphisms and therapeutic response to bromperidol in schizophrenic patients: a preliminary study.* Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **2006**;30(2):286-9.
90. Zaykin DV and Shibata K. *Genetic flip-flop without an accompanying change in linkage disequilibrium.* Am J Hum Genet **2008**;82(3):794-6.
91. Lin PI, Vance JM, Pericak-Vance MA, and Martin ER. *No gene is an island: the flip-flop phenomenon.* Am J Hum Genet **2007**;80(3):531-8.
92. Lin YC, Ellingrod VL, Bishop JR, and Miller del D. *The relationship between P-glycoprotein (PGP) polymorphisms and response to olanzapine treatment in schizophrenia.* Ther Drug Monit **2006**;28(5):668-72.
93. Yasui-Furukori N. *Effects of various factors on steady-state plasma concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone:lack of impact of MDR-1 genotypes.* Br J Clin Pharmacol **2004**;57(5):569-75.
94. Bishop JR, Ellingrod VL, Moline J, and Miller D. *Pilot study of the G-protein beta3 subunit gene (C825T) polymorphism and clinical response to olanzapine or olanzapine-related weight gain in persons with schizophrenia.* Med Sci Monit **2006**;12(2):47-50.
95. Xing Q, Gao R, and Li H, et al. *Polymorphisms of the ABCB1 gene are associated with the therapeutic response to risperidone in Chinese schizophrenia patients.* Pharmacogenomics **2006**;7(7):987-93.
96. Russell JM and Mackell JA. *Bodyweight gain associated with atypical antipsychotics: epidemiology and therapeutic implications.* CNS Drugs **2001**;15(7):537-51.
97. Aichhorn W, Weiss U, and Marksteiner J, et al. *Influence of age and gender on risperidone plasma concentrations.* J Psychopharmacol **2005**;19(4):395-401.
98. Pollock BG. *Gender differences in psychotropic drug metabolism.* Psychopharmacol Bull **1997**;33(2):235-41.

## Literaturverzeichnis

99. Parkinson A, Mudra DR, Johnson C, Dwyer A, and Carroll KM. *The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inducibility in cultured human hepatocytes.* Toxicol Appl Pharmacol **2004**;199(3):193-209.
100. Meibohm B, Beierle I, and Derendorf H. *How important are gender differences in pharmacokinetics?* Clin Pharmacokinet **2002**;41(5):329-42.
101. Frankenburg FR, Zanarini MC, Kando J, and Centorrino F. *Clozapine and body mass change.* Biol Psychiatry **1998**;43(7):520-4.
102. Umbricht DS, Wirshing WC, and Wirshing DA, et al. *Clinical predictors of response to clozapine treatment in ambulatory patients with schizophrenia.* J Clin Psychiatry **2002**;63(5):420-4.
103. Subramaniam M and Chong SA. *Metabolic differences between Asian and Caucasian patients on clozapine treatment.* Hum Psychopharmacol **2007**;22(4):217-22.
104. Buffington CK and Marema RT. *Ethnic differences in obesity and surgical weight loss between African-American and Caucasian females.* Obes Surg **2006**;16(2):159-65.
105. Todesco L, Torok M, Krahenbuhl S, and Wenk M. *Determination of -3858G-->A and -164C-->A genetic polymorphisms of CYP1A2 in blood and saliva by rapid allelic discrimination: large difference in the prevalence of the -3858G-->A mutation between Caucasians and Asians.* Eur J Clin Pharmacol **2003**;59(4):343-6.
106. Truong KD and Sturm R. *Weight gain trends across sociodemographic groups in the United States.* Am J Public Health **2005**;95(9):1602-6.
107. Meltzer HY, Perry E, and Jayathilake K. *Clozapine-induced weight gain predicts improvement in psychopathology.* Schizophr Res **2003**;59(1):19-27.
108. Rietschel M, Kennedy JL, Macciardi F, and Meltzer HY. *Application of pharmacogenetics to psychotic disorders: the first consensus conference. The Consensus Group for Outcome Measures in Psychoses for Pharmacological Studies.* Schizophr Res **1999**;37(2):191-6.
109. Arranz MJ, Munro J, and Birkett J, et al. *Pharmacogenetic prediction of clozapine response.* Lancet **2000**;355(9215):1615-6.
110. Altar CA. *Neurotrophins and depression.* Trends Pharmacol Sci **1999**;20(2):59-61.
111. Rossler W and Theodoridou A. *[Innovative care models for treating psychosis].* Nervenarzt **2006**;2:111-8.
112. DGPPN. *S3 Praxisleitlinien in Psychiatrie und Psychotherapie: Behandlungsleitlinie Schizophrenie.* Darmstadt: Steinkopff-Verlag **2006**.

## Literaturverzeichnis

113. Bird A. *Adrian Bird*. *Curr Biol* **2007**;17(11):393-4.
114. Sutherland JE and Costa M. *Epigenetics and the environment*. *Ann N Y Acad Sci* **2003**;983:151-60.
115. Rodenhiser D and Mann M. *Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications*. *Cmaj* **2006**;174(3):341-8.
116. Dahlhoff C, Fürst RW, Ruhlig K, Sedlmeier EM, and Bader BL. *Epigenetik und Ernährung*. *Ernährung 2* **2008**:116-124.
117. Petronis A. *Epigenetics and twins: three variations on the theme*. *Trends Genet* **2006**;22(7):347-50.
118. Fei Z and Smith LM. *Analysis of single nucleotide polymorphisms by primer extension and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry*. *Rapid Commun Mass Spectrom* **2000**;14(11):950-9.
119. Gabig M and Wegrzyn G. *An introduction to DNA chips: principles, technology, applications and analysis*. *Acta Biochim Pol* **2001**;48(3):615-22.
120. [www.gag-bioscience.de/robotik.html](http://www.gag-bioscience.de/robotik.html), abgerufen am 28.02.2008.
121. Baumann P, Hiemke C, Ulrich S, et al. *The AGNP-TDM expert group consensus guidelines: therapeutic drug monitoring in psychiatry*. *Pharmacopsychiatry* **2004**;37(6):243-65.
122. [www.roche.de/diagnostics/labor/amplichip\\_cyp450.htm](http://www.roche.de/diagnostics/labor/amplichip_cyp450.htm), abgerufen am 28.02.2008.



## DANKSAGUNG

---

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Professor Dr. med. Daniel Müller, der mir die Möglichkeit gab meine Arbeit zu verwirklichen, mir stets bei Fragen zur Seite stand und mich wissenschaftlich und freundschaftlich auf meinem Weg motivierte.

Frau Professor Dr. med. Imke Puls für die Vergabe dieses Themas und die freundliche Unterstützung.

Den Mitarbeitern der Abteilung für Neurogenetik im Centre for Addiction and Mental Health, Klinik für Psychiatrie, Universität von Toronto, die mich in die experimentelle Welt der Wissenschaften einarbeiteten und jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen. Dabei danke ich v. a. Sagjid Shaikh, Natalie Bulgin, Clement Zai und Prof. Dr. James L. Kennedy (Director of the Neuroscience Research Department and Head of the Psychiatric Neurogenetics Section)

Dem pflegerischen und ärztlichen Team der psychiatrischen Einheit des St. Hedwig Klinikums Berlin, die mich bei der Rekrutierung der Patienten unterstützten.

Dr. phil. Martin Holzhausen, Diplom-Psychologe, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie, der mir bei Fragen zu meinen statistischen Auswertungen immer zur Seite stand.

Den Patienten, die trotz ihres durch die Krankheit gezeichneten Lebens, Zeit für die Wissenschaft fanden und mir teilweise tiefe Einblicke in ihr Leben ermöglichten.

Meinen Eltern Henry und Gertraude Mager, meinem Bruder Marcel Mager und Tim Franke einen ganz herzlichen Dank für die liebevolle Unterstützung.

## EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

---

„Ich, Marilyn Mager, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Genetische Assoziationsstudien zwischen Polymorphismen des MDR1- und CYP1A2-Gens und therapeutischer Wirksamkeit sowie Gewichtszunahme in der antipsychotischen Therapie bei Schizophrenie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 11.08.2009

---

Marilyn Mager

## LEBENS LAUF

---

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

## PUBLIKATIONSLISTE

---

Die Ergebnisse aus dieser Dissertation sind in folgender Originalarbeit eingegangen:

Daniel J. Müller, Marilyn Mager, Arun K. Tiwari, Deepika Singh, Eva J. Brandl, Andreas Heinz, Derik Hermann. A pilot study exploring CYP1A2, CYP3A4, CYP2C19 and MDR1 gene variants in high dose treatment with clozapine. (eingereicht, Neuropsychobiology)

Die Ergebnisse aus dieser Dissertation sind in folgenden Abstracts eingegangen:

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

Daniel J. Müller, Renan de Souza, Clement Zai, Susanne Büttner, Clara Frydrychowicz, Marilyn Mager, Caroline Peter, Laertes Sickert, Jürgen Gallinat, Imke Puls, Pal Czobor, Jan Volavka, Jeffrey A. Liebermann, Herbert Y. Meltzer, Marco Romano-Silva, James L. Kennedy: *Association studies with antipsychotic drug treatment induced weight changes in sample from the US and Germany*, XV World Congress on Psychiatric Genetics, New York, 2007, Abstract book p.165

Daniel J. Müller, Clement Zai, Rudi Hwang, Renan de Souza, Arun K. Tiwari, Caroline Peter, Marilyn Mager, Clara Frydrychowicz, Jürgen Gallinat, Imke Puls, Dieter Kunz, Andreas Heinz, Pal Czobor, Jan Volavka, Jeffrey A. Lieberman, Herbert Y Meltzer. James L. Kennedy: *Genetics of antipsychotic induced weight gain; The dopamine D2 and AKT1 genes*, American College of Neuropsychopharmacology (ACNP), Boca Raton, USA, 2007