

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Experimentelle Genetik

Pharmakogenetische Untersuchungen psychiatrischer Patienten:
Bestimmung ausgewählter genetischer Varianten in
pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Strukturen und deren
Bedeutung für die Psychopharmakotherapie

Julia Stäker

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum
Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Erwin Grill

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. Martin Hrabé de Angelis
2. apl. Prof. Dr. Werner Steimer

Die Dissertation wurde am 15.01.2014 bei der Technischen Universität
München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum
Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 15.05.2014
angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	4
1 Einleitung	6
1.1 Pharmakogenetik in der Psychopharmakotherapie	6
1.2 Systematik, Ätiopathogenese und Therapie psychischer und Verhaltensstörungen	10
1.2.1 Krankheitsentstehung, Diagnostik und Behandlung der Schizophrenie, schizotyper und wahnhafter Störungen.....	10
1.2.2 Krankheitsentstehung, Diagnostik und Behandlung affektiver Störungen.....	12
1.3 Kandidatengene und relevante Polymorphismen	15
1.3.1 Mikrosomaler Arzneistoffmetabolismus	15
1.3.2 Arzneistofftransport und –verteilung.....	19
1.3.3 Arzneistoffzielstrukturen.....	20
1.3.4 Neuroregeneration und –transmission.....	24
1.3.5 Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel	25
1.4 Ziel der Arbeit	26
2 Material und Methoden	27
2.1 Beschreibung der Studie	27
2.1.1 Studiendesign, Ein- und Ausschlusskriterien	27
2.1.2 Datenerhebung.....	27
2.2 Analyse genetischer Polymorphismen	29
2.2.1 Material	29
2.2.2 DNA-Extraktion.....	31
2.2.3 Genotypisierung mittels konventioneller Polymerasekettenreaktion am Thermocycler	31
2.2.4 Sondenbasierte Genotypisierung mittels Polymerasekettenreaktion am LightCycler	34
2.2.5 Konstruktion der verwendeten Primer und Sonden.....	36
2.2.6 Optimierung der PCR-Bedingungen	38
2.2.7 Allgemeine Durchführung einer Genotypisierungsreaktion.....	39
2.2.8 Nachweis genetischer Polymorphismen im pharmakokinetischen Bereich.....	40
2.2.9 Nachweis genetischer Polymorphismen im pharmakodynamischen Bereich.....	50
2.3 Analyse der Serumkonzentrationen	76
2.3.1 Material	76
2.3.2 Durchführung der Bestimmung der Serumkonzentrationen.....	76
2.4 Statistik	80
3 Ergebnisse	81
3.1 Genotypisierungsmethoden	81

3.2 Bestimmung der Serumkonzentrationen	83
3.3 Statistische Auswertung der klinischen Daten und Genotypisierungsergebnisse.	86
3.3.1 Charakterisierung der betrachteten Studienpopulationen	86
3.3.2 Genotypisierungsergebnisse.....	99
3.3.3 Polymorphismen im mikrosomalen Arzneistoffmetabolismus – Assoziationen zu Serumkonzentrationen und klinischem Erfolg.....	100
3.3.4 Polymorphismen auf Ebene des Arzneistofftransports und –verteilung – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen	138
3.3.5 Polymorphismen in serotonergen Strukturen – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen.....	143
3.3.6 Polymorphismen in dopaminergen Strukturen – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen.....	160
3.3.7 Polymorphismen auf der Ebene der HPA-Achse, Neuroregeneration und -transmission – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen	166
3.3.8 Polymorphismen auf Ebene des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels – Assoziationen zu Veränderungen des Körpergewichts unter Antipsychotikatherapie.....	181
4 Diskussion.....	185
4.1 Mikrosomaler Arzneistoffmetabolismus	185
4.1.1 Cytochrom-P450-Enzyme.....	185
4.1.2 Cytochrom-P450-Oxidoreduktase (POR)	198
4.2 Arzneistofftransport und -verteilung	200
4.2.1 ABCB1	200
4.3 Serotonerge Strukturen.....	202
4.3.1 5-HTT-Polymorphismen.....	202
4.3.2 5-HTR2A	204
4.3.3 5-HTR3A	205
4.3.4 MAOB	206
4.3.5 TPH2.....	208
4.4 Dopaminerge Strukturen.....	210
4.4.1 DAT1.....	210
4.4.2 DRD2	211
4.5 HPA-Achse, Neuroregeneration und –transmission	212
4.5.1 CRHR1 und CRHR2.....	212
4.5.2 FGF2.....	213
4.5.3 PCLO	214
4.6 Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel	215
4.6.1 PPAR γ	215
5 Limitationen der Studie.....	217
6 Zusammenfassung und Ausblick.....	218

Literaturverzeichnis	222
Veröffentlichungen und Kongressbeiträge	246
Tabellenverzeichnis	247
Abbildungsverzeichnis	251
A Anhang	253
A.1 Selbst- und Fremdbeurteilungsskalen	253
A.1.1 Paranoid-Depressivitäts-Skala	253
A.1.2 Clinical-Global-Impressions-Skala.....	255
A.1.3 Dosage Record and Treatment Emergent Symptom-Skala.....	256
A.2 Medikation	257
A.2.1 Medikation der Gesamtpopulation n_{gesamt}	257
A.2.2 Medikation der Population n_2	259
A.3 Allelhäufigkeiten	261
A.3.1 Allelhäufigkeiten der Gesamtpopulation n_{gesamt}	261
A.3.2 Allelhäufigkeiten der Population n_2	264
A.4 Primer und Sonden	269

Abkürzungen

5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HTR	Serotonin-Rezeptor
5-HTT	Serotonin-Transporter
5-HTTLPR	Serotonin-Transporter-Linked Polymorphic Region
ABCB1	ATP-binding cassette B1-Gen (MDR1)
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADR	Adrenozeptor
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BLAST	Basic Local Alignment Tool
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovines Serumalbumin
CGI	Clinical Global Impressions
CLDN23	Claudin 23-Gen
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CRH	Corticotropin-releasing Hormone
CRHR	Corticotropin-releasing Hormon-Rezeptor
CSF2RA	Koloniestimulierender Faktor 2-Rezeptor alpha-Gen
CYP1A1	Cytochrom P450 1A1
CYP1B1	Cytochrom P450 1B1
CYP2A6	Cytochrom P450 2A6
CYP2B6	Cytochrom P450 2B6
CYP2C8	Cytochrom P450 2C8
CYP2C9	Cytochrom P450 2C9
CYP2E1	Cytochrom P450 2E1
CYP2S1	Cytochrom P450 2S1
CYP2W1	Cytochrom P450 2W1
CYP450	Cytochrom P450
DAOA	D-Aminosäure-Aktivator-Gen
DAT	Dopamin-Transporter
DISC1	Disrupted-in-Schizophrenia-Gen 1
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOTES	Dosage Record and Treatment Emergent Symptom Scale
DRD	Dopamin-Rezeptor
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DTNBP1	Dystrobrevin-bindendes Protein 1-Gen
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEG	Elektroenzephalogramm
EM	Extensive Metabolizer
eQTL	expression quantitative trait loci
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Fibroblast-Growth-Faktor
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer
H ₁ -Rezeptor	Histamin 1-Rezeptor
HAMD	Hamilton rating scale for depression
HIST1H2BJ	Histon Cluster 1-H2bj-Gen
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
IL3RA	Interleukin 3-Rezeptor alpha-Gen
IM	Intermediate Metabolizer
IS	Interner Standard
mACh-R	muskaringerger Acetylcholin-Rezeptor
MAO	Monoaminoxidase
MDD	Major Depressive Disorder
MDR1	Multi-Drug-Resistance-Gen 1 (ABCB1)
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
miRNA	micro Ribonukleinsäure

mRNA	messenger RNA
MYO18B	Myosin-XVIII B-Gen
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NaSSA	Noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ncRNA	nichtkodierende Ribonukleinsäure
NOTCH4	Notch-4-Gen
NRG1	Neuregulin 1-Gen
NRI	Selektive Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer
NUDT6	Nucleoside Diphosphate linked moiety X-Type motif 6-Gen
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PCLO	Piccolo-Gen
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD-S	Paranoid-Depressivitäts-Skala
P-GP	P-Glykoprotein
PLXNA2	Plexin A2-Gen
PM	Poor Metabolizer
POR	NADPH-Cytochrom-P450-Oxidoreduktase
PRODH	Prolin-Dehydrogenase
PRSS16	Serin-Protease-16-Gen
RBP1	Retinol-bindendes Protein 1-Gen
RELN	Reelin-Gen
RNA	Ribonukleinsäure
siRNA	small interfering RNA
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SNRI	Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer
TBE	Tris-borat-EDTA
TCF4	Transkriptionsfaktor-4-Gen
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
TeZA	Tetrazyklisches Antidepressivum
T _m	melting temperature
TPH2	Tryptophanhydroxylase 2-Gen
TZA	Trizyklisches Antidepressivum
UM	Ultrarapid Metabolizer
UTR	untranslatierte Region
UV	ultraviolett
VNTR	Variable Number Tandem Repeats
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Pharmakogenetik in der Psychopharmakotherapie

Die Pharmakogenetik befasst sich mit der Untersuchung klinisch relevanter vererbbarer Unterschiede, die den Erfolg einer Arzneimitteltherapie beeinflussen können. Diese Unterschiede resultieren aus Veränderungen von Genen, die für Rezeptoren, Arzneistofftransporter sowie Phase-I- und Phase-II-Enzyme codieren. Aus diesem Grund können sowohl pharmakodynamische als auch pharmakokinetische Prozesse variieren und die Effektivität einer medikamentösen Behandlung beeinflussen (Abbildung 1).

Pharmakokinetisch verursachte interindividuelle Schwankungen des Erfolgs einer Arzneimitteltherapie werden v.a. durch Aktivitätsunterschiede von CYP450-Enzymen hervorgerufen, die in den Abbau von Arzneistoffen involviert sind. Ein für diese Problematik sehr bedeutender Vertreter dieser P450-Monooxygenasen ist CYP2D6, das eine hochpolymorphe Genstruktur aufweist.¹ Inzwischen sind über 100 verschiedene Allele des CYP2D6-Gens bekannt, von denen etwa 40% zu einer veränderten Enzymaktivität führen.² Diese Varianten beeinflussen neben Polymorphismen im CYP1A2- und CYP2C19-Gen den Metabolismus vieler psychotroper Substanzen und führen zu einer Steigerung ihrer Toxizität oder zum Verlust ihrer Wirksamkeit.

Neben dem Wirkstoffabbau kann auch der Arzneistofftransport durch genetische Veränderungen beeinträchtigt sein. Schon der Austausch zweier Nukleotide in der ABCB1-Gensequenz kann sich auf die Plasmaspiegel häufig verabreichter Xenobiotika, wie z.B. Digoxin und Fexofenadin auswirken.^{3,4} Da auch zahlreiche Psychopharmaka Substrate des durch ABCB1 codierten P-Glykoproteins sind, ist ein Einfluss auf deren Blutspiegel bzw. deren Verfügbarkeit am therapeutischen Ziel ebenfalls denkbar. Response- und Nebenwirkungsunterschiede bei Patienten mit vergleichbaren Wirkstoffkonzentration im Blut sind vermutlich auf genetische Veränderungen von Arzneistoff-Zielstrukturen zurückzuführen.⁵

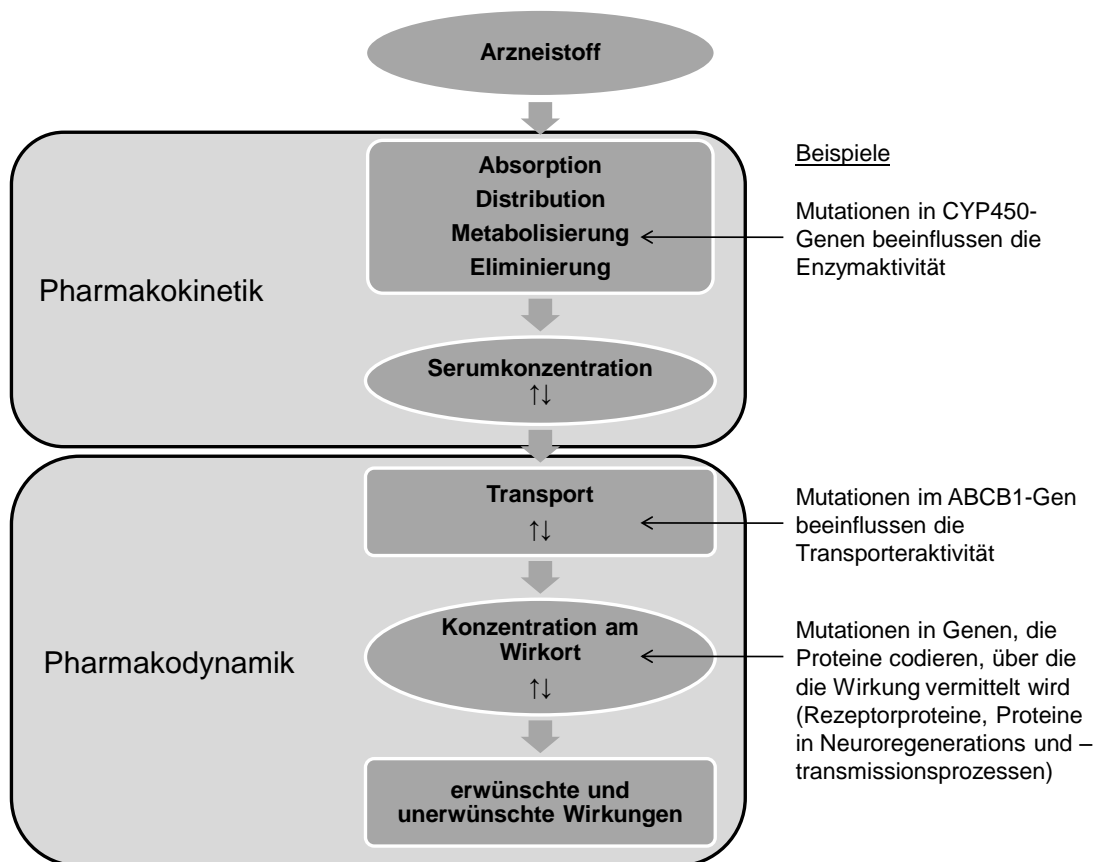


Abbildung 1 Pharmakogenetische Mechanismen variabler Arzneistoffwirkungen

Problem

Nur etwa 30% der Patienten, die mit einem Antidepressivum behandelt werden, sprechen ausreichend auf die Therapie an und mindestens 10% respondieren auch nicht auf mehrere Therapieversuche.^{6,7} Eine antipsychotische Therapie von Schizophrenie-Patienten führt bei lediglich 50% der Behandelten zu einer Verbesserung der Symptomatik.⁸ Neben niedrigen Responderaten stellen unerwünschte Arzneimittelwirkungen ein weiteres Problem dar. Durch Psychopharmaka verursachte Nebenwirkungen führen zu Kosten, die mit den Aufwendungen für eine Psychopharmakotherapie vergleichbar sind. Pro Jahr sind unerwünschte Arzneimittelwirkungen für mehr als 100.000 Todesfälle in den USA verantwortlich und verlängern die stationäre Aufenthaltsdauer von mehr als 25% der Patienten mit Arzneimittelnebenwirkungen in Großbritannien. 7% aller stationär aufgenommenen Patienten befinden sich auf Grund schwerer Nebenwirkungen in Behandlung.^{9,10}

Ursachen

Die an unzureichenden bzw. unerwünschten Arzneimittelwirkungen beteiligten genetischen Variationen können vielgestaltig sein. Anpassungsprozesse durch Umweltfaktoren wie UV- und radioaktive Strahlung oder Chemikalien, aber auch spontane Mutationen bei der DNA-Replikation, die zu Veränderungen der DNA-Sequenz führen und weitervererbt werden, bezeichnet man als Polymorphismen, wenn sie mit einer Häufigkeit von mindestens 1% auftreten. Dabei unterscheidet man zwischen Einzelbasenaustauschen (sogenannte "Single Nucleotide Polymorphisms" (SNPs)), Insertionen und Deletionen sowie VNTRs (sogenannte "Variable Number Tandem Repeats"). SNPs sind durch den Austausch von nur einem DNA-Nukleotid gegen einen anderen in einer DNA-Sequenz gekennzeichnet. Sie können zu einer Veränderung der Aminosäure-Sequenz entstehender Proteine führen (nicht-synonyme SNPs) oder diese unverändert lassen (synonyme SNPs), jedoch trotzdem einen Einfluss auf die entstehende Proteinmenge bzw. -aktivität haben, wenn sie in regulatorischen oder Promotorregionen liegen. Ein Block mehrerer SNPs, die sich in der gleichen chromosomalen Region befinden und während der homologen Rekombination gemeinsam vererbt werden, wird als Haplotyp bezeichnet. Bei Insertionen wird mindestens ein Nukleotid zusätzlich in die DNA-Folge eingebaut und beim Vorliegen einer Deletion fehlt mindestens eine DNA-Base. Dem CYP2D6*5-Polymorphismus liegt z.B. eine Deletion des kompletten Gens zu Grunde. VNTRs sind durch die 5-50-fache tandemartige Wiederholung von mindestens zwei DNA-Nukleotiden charakterisiert.¹¹

Einen wichtigen Anteil an der Erforschung genetisch bedingter Arzneistoffunverträglichkeiten und den damit verbundenen Unterschieden im Therapieerfolg haben auch epigenetische Veränderungen.¹² Hierbei handelt es sich um erbliche Veränderungen des Phänotyps einer Zelle oder eines Organismus, die nicht durch deren Genotyp verursacht werden. Sie äußert sich durch die Modifikation von Histonen bzw. DNA in Form von Alkylierungen, Ubiquitinierung und Phosphorylierung bzw. Methylierung und führt dadurch zu einer Veränderung der Genexpression, welche durch bestimmte Umweltfaktoren wie z.B. Arzneimittel erworben und weitervererbt werden kann.^{13,14} Daneben sind sogenannte micro RNA (miRNA)-Moleküle mit einer Länge von 19-22 bp an der Steuerung der Genexpression beteiligt und können dementsprechend den Erfolg einer medikamentösen Therapie ebenfalls beeinflussen.¹⁵⁻¹⁷

Stand der Wissenschaft

Pharmakogenetische Untersuchungen bieten die Chance, die Arzneimitteltherapie mittels Personalisierung sicherer und effektiver zu gestalten. Da aber derzeit das Wissen über die Pathophysiologie psychiatrischer Erkrankungen und über den genauen Wirkmechanismus psychotroper Wirkstoffe begrenzt ist und sowohl für die Diagnostik dieser Leiden als auch für die Wirksamkeit verabreichter Medikamente abgesehen von Selbst- und Fremdbeurteilungsskalen zur Einschätzung des Krankheitszustandes keine messbaren Kenngrößen existieren, ist die Vorhersage des Therapieerfolgs einer bestimmten Medikation anhand praktikabler Behandlungsleitlinien trotz der Kenntnis einiger vielversprechender, pharmakokinetisch und -dynamisch relevanter Kandidatengene noch nicht möglich. Die Interpretation der Ergebnisse genetischer Untersuchungen wird außerdem dadurch erschwert, dass neben der Berücksichtigung mehrerer genetischer Marker der Einschluss anderer Prädiktoren (Alter, Geschlecht, Lebensgewohnheiten, Körpergewicht, Komorbidität, Organfunktion, Arzneistoffwechselwirkungen, Compliance, Ethnizität) für eine verlässliche Vorhersage des Therapieerfolgs einer antidepressiven bzw. antipsychotischen Behandlung unabdingbar ist. Das Zusammenwirken aller genannten Faktoren ist schwer in eine allgemein gültige Handlungsanweisung zur Wahl des geeigneten Wirkstoffes oder zur Dosisoptimierung zu fassen.

Durch Messung der Serumkonzentrationen verabreichter Psychopharmaka lassen sich pharmakokinetische Variabilität und Compliance kontrollieren und die Dosis entsprechend anpassen (Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)).¹⁸ TDM dient jedoch nicht zur Erklärung unterschiedlicher Ausprägungen des Therapieansprechens bei Patienten mit vergleichbaren Serum- bzw. Plasmakonzentrationen eines bestimmten Wirkstoffes. Diese sind zumeist auf Unterschiede innerhalb pharmakodynamischer Zielstrukturen zurückzuführen, welche in der Psychopharmakotherapie auf Grund der Komplexität der zu behandelnden Erkrankungen oft nicht auf ein einzelnes variables Gen zu begrenzen sind.¹⁹

Das Ziel – eine personalisierte Medizin – befindet sich somit noch in den Anfängen.

Während der Einfluss pharmakokinetisch relevanter Polymorphismen für einige Wirkstoffe und in einigen Ethnizitäten bereits gut charakterisiert ist, sind die Ergebnisse von Assoziationsstudien zu Polymorphismen im pharmakodynamischen Bereich oft widersprüchlich und können in anderen Populationen nicht repliziert werden.^{5,20-22} Gründe für die schlechte Reproduzierbarkeit gefundener Assoziationen zu Response- und Nebenwirkungsunterschieden sind oft unterschiedliche Studienprotokolle. Am häufigsten werden dabei monotherapeutische Ansätze verwendet, während in der psychiatrischen Praxis überwiegend mit Kombinationstherapien gearbeitet wird. Die Verabreichung mehrerer Medikamente (Polypharmazie) kann zur Änderung eines Geno-Phänotyps führen (Phenocopying) und damit Auswirkungen auf die Serumkonzentrationen eines Wirkstoffs haben. Zusätzlich sind pharmakodynamische Interaktionen verschiedener Wirkstoffe zu berücksichtigen. Die Verwendung unterschiedlicher Responsedefinitionen hat ebenfalls Einfluss auf die Reproduzierbarkeit gefundener Assoziationen und kann unterschiedliche Effektgrößen bedingen. Nachgeordnete Signalwege am Wirkort eines Medikaments bieten auf Grund ihrer polygenen Struktur außerdem eine große Bandbreite genetischer Heterogenität (Abbildung 1). Dies erschwert die Interpretation von Phänotypen und die Vergleichbarkeit von Assoziationsstudien in unterschiedlichen Populationen.

Weitere Aspekte, die die Nutzung pharmakogenetischer Informationen in der Routine verzögern, sind zum einen fehlende Nachweise der Kosteneffektivität genetischer Untersuchungen sowie die Gewährleistung einer rechtzeitigen Testung, sobald ein Arzneistoff verabreicht werden muss.²³ Letztlich muss der behandelnde Arzt über das zur Interpretation der Testergebnisse nötige Wissen bzw. entsprechende Handlungshilfen verfügen.²² Zwar wird in den Fachinformationen einiger Präparate bereits eine genetische Voruntersuchung empfohlen bzw. auf den Einfluss genetischer Variationen auf den Therapieerfolg und Sicherheit der Behandlung hingewiesen, doch sind ebenso Richtlinien nötig, um die Resultate genetischer Tests in den klinischen Alltag integrieren zu können. Risiko-Patienten könnten dann bereits vor Therapiebeginn identifiziert werden. Durch Auswahl eines geeigneten Präparates und der passenden Dosis könnten die Gabe ineffektiver Wirkstoffe und Überdosierungen vermieden und somit die Therapiedauer und –kosten gesenkt werden.

Lösungsansatz

Trotz ihrer Heterogenität stellen klinische Studienpopulationen die Grundlage zur Identifizierung routinerelevanter Marker dar. Polymorphismen, die in Gegenwart vieler anderer Einflussfaktoren signifikante Assoziationen zum Therapieerfolg zeigen, können als klinisch relevant gelten und sollten in weiterführenden Analysen mit größeren Patientenkollektiven zur Evaluation neuer Marker berücksichtigt werden. In Hinblick auf die Komplexität der Erkrankungen und Wirkungsmechanismen der verschiedenen Wirkstoffe ist hierbei ein schrittweises Vorgehen angezeigt. Zunächst ist eine Identifizierung eines Markers in ausreichend großen Stichproben und die Replikation gefundener Zusammenhänge unter gleichen Bedingungen nötig. Anschließend könnte der Polymorphismus in nachfolgende Untersuchungen eingebunden und das pharmakogenetische Profil einer medikamentösen Therapie komplettiert werden.

Erst die Berücksichtigung aller für eine Psychopharmakotherapie bedeutsamen Polymorphismen wird beim überwiegenden Teil psychiatrischer Patienten zu einer Verbesserung der Therapiesicherheit und Verkürzung der Behandlungsdauer führen und damit die Aussicht auf ein positives Kosten-Nutzen-Verhältnis für genetische Screenings verbessern.

Auf Grund des meist geringen Stichprobenumfangs klinischer Patientenkollektive in der Psychiatrie bietet sich derzeit zur Durchführung von Assoziationsanalysen der Kandidatengenansatz an. Hierbei werden Polymorphismen in Genen untersucht, die an Metabolisierungs- und Signaltransduktionswegen beteiligt sind, die eine Rolle bei der Therapie psychischer und Verhaltensstörungen spielen. Verglichen mit genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) sind kandidatengenbasierte Assoziationsanalysen deutlich schneller und kostengünstiger durchführbar.

Mittels Real-Time-PCR- und Next-Generation-Sequencing-Methoden können Patienten schnell und zuverlässig genotypisiert werden. Auch Insertions-, Deletions- und VNTR-Polymorphismen lassen sich damit im Gegensatz zu den in genomweiten Untersuchungen verwendeten SNP-basierten Anwendungen problemlos detektieren.

Nachfolgend wird ein Überblick über die Pathogenese, Diagnose und Therapie psychischer Erkrankungen als Basis für die Auswahl der untersuchten Kandidatengene gegeben (1.2). Diese sind unter Punkt 1.3 näher charakterisiert.

Die bei der Rekrutierung des analysierten Patientenkollektivs geltenden Ein- und Ausschlusskriterien sowie die verwendeten Beurteilungsskalen und Response- sowie Nebenwirkungsdefinitionen sind unter 2.1 beschrieben.

Zur Genotypisierung der Population verwendete Real-Time-PCR-Methoden sind unter 2.2 aufgeführt. Serumkonzentrationen wurden mittels einer HPLC-gekoppelten massenspektrometrischen Methode gemessen (2.3).

1.2 Systematik, Ätiopathogenese und Therapie psychischer und Verhaltensstörungen

1.2.1 Krankheitsentstehung, Diagnostik und Behandlung der Schizophrenie, schizotyper und wahnhafter Störungen

Etwa 1% der Gesamtbevölkerung ist mindestens einmal im Leben von einer Schizophrenie betroffen,²⁴ jedoch scheint die Erkrankungsrate zuzunehmen.²⁵ Für die Entstehung dieses Leidens wird der Einfluss verschiedener biologischer und sozialer Risikofaktoren diskutiert. Sowohl eine familiäre Vorbelastung Verwandter ersten Grades als auch ein fortgeschrittenes Alter der Eltern erhöhen das Erkrankungsrisiko nachweislich.^{26,27} Auch Komplikationen während der Schwangerschaft und Geburt sind mit einer erhöhten Anfälligkeit des Säuglings für spätere schizophrene Erkrankungen verbunden.^{28,29} Männliche Patienten erkranken außerdem häufiger und in früheren Lebensjahren (20-24) als weibliche Patienten (29-32).²⁵ Neben den erwähnten endogenen Faktoren können auch exogene Einflüsse wie z.B. der Missbrauch psychoaktiver Substanzen (Amphetamin, Metamphetamin, Tetrahydrocannabinol) zur Ausbildung von Psychosen führen.^{30,31} Weiterhin begünstigen soziale Isolation und stark belastende Erlebnisse während der Kindheit, aber auch im Erwachsenenalter die Entstehung des Krankheitsbildes.^{32,33}

Den größten Anteil an der Ausprägung einer Schizophrenie scheinen jedoch genetische und epigenetische Veränderungen zu haben.³⁴⁻³⁶ Zum einen werden Chromosomenaberrationen, wie die Deletion eines Teils von Chromosom 22q11, welche u.a. zu einem Verlust der Gene COMT (Catechol-O-Methyltransferase) und PRODH (Prolin-Dehydrogenase) führen bzw. eine Translokation auf Chromosom 1q42, durch die das DISC1-Gen unterbrochen wird, mit dem Auftreten psychotischer Symptome in Verbindung gebracht.^{37,38} In Kopplungsstudien wurde zudem ein Zusammenhang zwischen dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken und SNPs in den folgenden Genen festgestellt: Dystrobrevin-bindendes Protein 1-Gen (DTNBP1), Neuregulin 1-Gen (NRG1) und D-Aminosäure-Aktivator-Gen (DAOA).³⁹⁻⁴¹ Elf Assoziationsstudien, die Punktmutationen im gesamten menschlichen Genom berücksichtigten, erbrachten außerdem eine Reihe von Markern in den folgenden Genen: Plexin A2-Gen (PLXNA2), Reelin-Gen (RELN), "Coiled-coil"-Domäne-enthaltendes Protein 60-Gen (CCDC60), Claudin 23-Gen (CLDN23), Retinol-bindendes Protein 1-Gen (RBP1), Koloniestimulierender Faktor 2-Rezeptor α -Gen (CSF2RA), Interleukin 3-Rezeptor α -Gen (IL3RA), Myosin-XVIIIIB-Gen (MYO18B), Haupthistokompatibilitätskomplex-Region (HIST1H2BJ, PRSS16, NOTCH4) und im Transkriptionsfaktor 4-Gen (TCF4).⁴²⁻⁴⁹ Interessanterweise waren jedoch auch Polymorphismen in Bereichen zwischen codierenden Genen von einer Assoziation mit der Erkrankung betroffen.⁴⁸ Weitere verschiedene Genkopiezahlvarianten auf den Chromosomen 1q21.1, 1q34.3, 2p16.3, 3q13.12, 5q21.3, 7q35, 12p11.23, 14q23.3, 15q11.2, 15q13.3, 16p12.1, 16p13.1, 17p12, 22q11.21, 22q12.3 sowie Xq23, die vorrangig Gene betreffen, die eine Rolle bei der synaptischen Entwicklung und Funktion spielen, haben möglicherweise ebenfalls Einfluss auf die Entstehung schwerer Verhaltensstörungen einschließlich Schizophrenie.⁵⁰⁻⁵⁷

Es handelt sich hierbei also um ein multifaktorielles Geschehen, das sich letztlich in Form einer Dysregulation des striatalen Dopamin-Haushaltes (Dopaminhypothese) äußert, welche in Bereichen mit überaktiven Zellen für die Entwicklung der sogenannten Positiv- und in Regionen mit unzureichender Dopamin-Transmission für die Ausbildung der Negativ-Symptome verantwortlich ist.^{58,59} Dabei ist jedoch die Verknüpfung zwischen Epidemiologie und Ätiologie sowie Pathogenese des Leidens trotz zahlreicher Studien nach wie vor unklar.

Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises sind durch folgende Symptome gekennzeichnet:²⁴

- Halluzinationen und Wahnvorstellungen (Positiv-Symptome)
- Veränderungen des Antriebs und des Willens in Form von Motivationsverlust, Sprachverarmung und sozialer Rückzug (Negativ-Symptome)
- Veränderungen der Neurokognition (Störungen des Erinnerungs- und Handlungsvermögens sowie der Aufmerksamkeit – Kognitiv-Symptome)
- affektive Dysregulation, die zu depressiven und manischen (bipolaren) Symptomen führt

Die Diagnosestellung geschieht gemäß der im DSM (Diagnoseklassifikationssystem der Amerikanischen Psychiatrischen Vereinigung) oder ICD (Diagnoseklassifikationssystem der Weltgesundheitsorganisation) angegebenen Kriterien.

Durch die Einteilung des ICD-10-Abschnittes F2 in F20 – F29 wird anhand charakteristischer Merkmale zwischen dem Krankheitsbild der Schizophrenie, der schizotypen Störung, anhaltender wahnhafter und akuter vorübergehender psychotischer Störungen sowie der schizoaffektiven Störung unterschieden, welche sowohl durch schizophrene als auch affektive Symptome gekennzeichnet ist.⁶⁰ Zwar gibt es einige somatische Veränderungen (krankhaft vergrößerte Hirnventrikel, Reduktion der grauen Substanz, veränderte Dopamin-Konzentration), allerdings sind diese weder empfindlich noch spezifisch genug, um den Krankheitszustand zuverlässig objektiv beurteilen zu können.^{61,62}

Neben psycho- und soziotherapeutischen Maßnahmen ist die Gabe von Antipsychotika ein bedeutender Eckpunkt der Schizophreniebehandlung. Ihre volle Wirkung entfalten die meisten Antipsychotika erst nach etwa 7 bis 14 Tagen.⁶³ Sie werden in typische Antipsychotika bzw. Neuroleptika der ersten Generation (z.B. Haloperidol, Chlorpromazin, Promethazin, Melperon) und atypische Antipsychotika bzw. Neuroleptika der zweiten Generation (z.B. Aripiprazol, Clozapin, Olanzapin, Quetiapin, Risperidon) eingeteilt.

Sowohl typische als auch atypische Neuroleptika wirken antagonistisch an Dopamin-Rezeptoren und reduzieren somit die Positiv-Symptome der Erkrankung. Allerdings verursachen v.a. Typika durch ihre zentrale und periphere unselektive Dopamin-Rezeptor-Blockade schwere extrapyramidale motorische Nebenwirkungen, wie akute dystonische Reaktionen, Akathisie, Parkinsonismus und Spätdyskinesien.⁶⁴ Atypika wirken zwar selektiver am zentralen Dopamin D2-Rezeptor, sind jedoch häufig mit einer Zunahme des Körpergewichts und metabolischen Effekten, wie Insulinresistenz und Dyslipidämie verbunden.⁶⁵ Trotzdem sind Antipsychotika der zweiten Generation laut mehreren Untersuchungen verglichen mit Typika die wirksameren Mittel zur Behandlung psychotischer Störungen.⁶⁶⁻⁶⁸ Zusätzlich zum selektiveren DRD₂-Antagonismus greifen Atypika antagonistisch an 5-HT_{2A}-Rezeptoren an, was vermutlich zu einer Verbesserung der Negativ-Symptome führt, da diese neben der dopaminergen Dysregulation durch eine Störung der Serotonin-Transmission hervorgerufen werden.⁶⁹ Einige Wirkstoffe blockieren außerdem zusätzlich 5-HT_{2C}- und 5-HT_{1A}-Rezeptoren (z.B. Risperidon) sowie DRD₁-, DRD₄-, ADR-, mACh- und H₁-Rezeptoren (Clozapin) bzw. ausschließlich DRD₃- und DRD₄-Rezeptoren (Amisulprid).⁶⁹⁻⁷¹ Abhängig davon variieren die verschiedenen atypischen Neuroleptika hinsichtlich ihres Nebenwirkungsprofils. Eine Erhöhung des Körpergewichts ist beispielweise unter Clozapin- oder Olanzapin-Therapie wesentlich stärker ausgeprägt als bei der Verabreichung von Amisulprid oder Ziprasidon.^{72,73}

Bei Patienten, die nur unzureichend auf ein bestimmtes Antipsychotikum ansprechen, aber auch um Nebenwirkungen eines Wirkstoffes abzumildern, erfolgt häufig ein Wechsel zu Substanzen mit einem anderen Rezeptorbindungsprofil bzw. werden mehrere Neuroleptika mit voneinander abweichenden Wirkmechanismen kombiniert: antipsychotische Polypharmazie (z.B. Verringerung der Gewichtszunahme unter Clozapin-Therapie mittels Aripiprazol).⁷⁴

Augmentativ werden außerdem Benzodiazepine, Lithium, Valproinsäure und Carbamazepin eingesetzt, für deren Zusatznutzen jedoch keine Evidenz gefunden werden konnte.⁷⁵⁻⁷⁸ Lediglich für Lamotrigin konnte ein geringer Nutzen nachgewiesen werden.⁷⁹

1.2.2 Krankheitsentstehung, Diagnostik und Behandlung affektiver Störungen

Etwa 15-20% aller Menschen leiden mindestens einmal während ihres Lebens unter einer Depression.⁸⁰ Nach Angaben der WHO werden Erkrankungen des depressiven Formenkreises bis zum Jahr 2030 die häufigste Ursache für krankheitsbedingte Erwerbsunfähigkeit sein. Wie bei Schizophrenie handelt es sich auch hier um ein sehr komplexes Krankheitsgeschehen, welches durch genetische und epigenetische Faktoren sowie Umwelt- und Entwicklungsfaktoren verursacht und beeinflusst wird. In Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnte gezeigt werden, dass sich das Risiko eine Depression oder andere affektive Störung zu entwickeln signifikant erhöht, wenn Verwandte ersten Grades depressiv erkrankt sind.⁸¹ Anders als bei Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises sind bisher jedoch nur wenige Kandidatengene bzw. genetische Aberrationen bekannt, deren Assoziation mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko als wahrscheinlich gilt. Bei der Durchführung genomweiter Assoziationsstudien wurde man auf einen Einzelbasenaustausch im PCLO-Gen aufmerksam, der scheinbar v.a. bei Patienten mit Majordepression zu finden ist.^{82,83} Weiterhin wird die Beteiligung von Veränderungen im TPH2-Gen (Tryptophanhydroxylase 2) an der Krankheitsentstehung diskutiert.⁸⁴ Daneben haben offenbar auch epigenetische Mechanismen, die sowohl erworben als auch vererbt werden können einen Einfluss auf die Suszeptibilität für depressive Erkrankungen.⁸⁵ Diese können z.B. ausgelöst durch chronischen sozialen Stress eine Verringerung der mRNA-Expression des Neurotrophins "Brain Derived Neurotrophic Factor" (BDNF) im Hippocampus bewirken, während eine chronische Therapie mit Imipramin zu einer Erhöhung der BDNF-Transkription führt (Tiermodell).⁸⁶ Veränderungen der BDNF-Expression im Serum und Post-Mortem-Hirngewebe von depressiven Patienten wurde außerdem bereits mehrfach beschrieben.^{87,88} Neben der Serotonin- und Noradrenalinmangelhypothese wird auch die Kortikosteroid-Rezeptor-Hypothese hinsichtlich der Pathogenese depressiver Erkrankungen diskutiert.⁸⁹ Auf Grund einer Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse weisen depressive Patienten im Vergleich zu gesunden Menschen erhöhte Cortisol- und ACTH-Konzentrationen in Plasma und Cerebrospinalflüssigkeit auf, wobei die Ausschüttung von Cortisol durch die Gabe von Dexamethason nur vermindert supprimierbar und die ACTH-Reaktion nach CRH-Gabe abgeschwächt ist (DEX/CRH-Test).⁹⁰ Als Ursache dieser gestörten Regulation der Stressachse wird eine reduzierte Glukokortikoid-Rezeptor-Funktion sowie eine CRH-Hypersekretion diskutiert.^{91,92} In einem Tierversuch zu maternalem Aufzuchtverhalten wurde bei vernachlässigten Tieren eine verringerte Stressantwort infolge eines gestörten negativen Feedback-Mechanismus festgestellt, der mit einer Reduktion der Glukokortikoid-Rezeptor-Expression einherging, die durch Methylierung der Promotorregion des entsprechenden Gens hervorgerufen wurde.^{93,94} Ein ähnliches Bild zeigt sich bei suizidalen depressiven Patienten, die während ihrer Kindheit Opfer von Misshandlungen wurden und infolge einer erhöhten Promotormethylierung des Glukokortikoid-Rezeptor-Gens geringere mRNA-Mengen im Hippocampus besaßen als Patienten ohne entsprechende Vorgeschichte.⁹⁵ Trotz intensiver Erforschung sind die der Erkrankung zu Grunde liegenden neurobiologischen Prozesse und deren Verknüpfung mit den genannten Risikofaktoren noch nicht geklärt. Als gesichert gilt bisher einzig die Monoamin-Mangelhypothese, welche die Ausprägung der Krankheit durch eine unzureichende Neurotransmission mittels Noradrenalin und Serotonin erklärt und durch die erfolgreiche Anwendung von Wirkstoffen bestätigt wird, die die Menge der Botenstoffe im synaptischen Spalt erhöhen.⁹⁶

Affektive Störungen sind durch die folgenden Krankheitsmerkmale gekennzeichnet:⁹⁷

- affektive Symptome (gedrückte Stimmung, Verminderung der Fähigkeit, Freude zu empfinden, Interessenverlust, Ängstlichkeit)
- psychomotorische Störungen (Verminderung von Antrieb und Aktivität, Verlangsamung)
- Störungen der Wahrnehmung und des Erinnerungsvermögens (Schuldgefühle, Verringerung des Selbstwertgefühls, Konzentrationsschwierigkeiten)
- psychovegetative Störungen und somatische Beschwerden (Schlafstörungen, Müdigkeit, Appetits- und Gewichtsverlust, sexuelle Dysfunktion, Obstipation, Hypertonie, Tachykardie)
- biologische Zeichen (Hypercortisolämie, Schilddrüsenfunktionsstörungen, untypisches EEG, hippocampale Atrophie)
- gehobene Stimmung mit vermehrtem Antrieb und Aktivität in manischen Phasen bei bipolaren affektiven Störungen

Die Diagnosestellung geschieht gemäß der im DSM (Diagnoseklassifikationssystem der Amerikanischen Psychiatrischen Vereinigung) oder ICD (Diagnoseklassifikationssystem der Weltgesundheitsorganisation) angegebenen Kriterien.

Durch die Einteilung des ICD-10-Abschnittes F3 in F30 – F39 wird anhand charakteristischer Symptome zwischen manischen und depressiven Episoden, rezidivierenden depressiven Störungen und anderen affektiven Störungen sowie bipolaren affektiven Störungen unterschieden, welche durch das Auftreten sowohl von manischen als auch depressiven Episoden gekennzeichnet sind.⁶⁰

Die Behandlung depressiver Erkrankungen geschieht zumeist mittels einer Kombination aus Psychotherapie und der Gabe antidepressiv wirkender Arzneistoffe. Die Dauer bis zum vollen Wirkungseintritt von Antidepressiva liegt zwischen einer und sechs Wochen. Als Ursache für diese Verzögerung werden adaptive Prozesse diskutiert, bei denen sich abhängig vom verabreichten Wirkstoff die Anzahl und Sensitivität präsynaptischer Serotonin bzw. Noradrenalin-Autozeptoren verringert, während die Empfindlichkeit postsynaptischer Rezeptoren zunehmen kann.⁹⁸ Daneben scheint auch eine veränderte BDNF-Transkription eine Rolle bei der Langzeitwirkung bestimmter Antidepressiva zu spielen.⁸⁶

Die zur antidepressiven Therapie zugelassenen Substanzen lassen sich auf Grund ihrer unterschiedlichen chemischen Strukturen bzw. Wirkmechanismen in die folgenden Klassen einteilen.^{99,100}

- Monoaminoxidase-A- und Monoaminoxidase-B-Inhibitoren (MAO-Hemmer) hindern das Enzym Monoaminoxidase A bzw. B am Abbau von Noradrenalin, Adrenalin und Serotonin (z.B. Tranylcypromin, Moclobemid).
- Tri- und tetrazyklische Antidepressiva (TZA, TeZA) hemmen durch die unspezifische Blockade präsynaptischer Transporterproteine die Wiederaufnahme von Serotonin, Noradrenalin und Dopamin, wobei ihre aktivierende Wirkung der stimmungsaufhellenden vorangeht, weshalb zu Behandlungsbeginn mit einer erhöhten Suizidalität der Patienten zu rechnen ist (z.B. Amitriptylin, Nortriptylin, Clomipramin, Imipramin, Desipramin, Doxepin, Trimipramin).
- Neurotransmitter-Wiederaufnahmehemmer:
 - Selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) hemmen spezifisch die Rückaufnahme von Serotonin in präsynaptische Neuronen und erhöhen damit dessen Verfügbarkeit im synaptischen Spalt (z.B. (Es-)Citalopram, Fluoxetin, Fluvoxamin, Paroxetin, Sertralin).
 - Selektive Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer (NRI) hemmen spezifisch die Rückaufnahme von Noradrenalin in präsynaptische Neuronen und erhöhen damit dessen Verfügbarkeit im synaptischen Spalt (z.B. Reboxetin).
 - Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer (SNRI) (z.B. Duloxetin, Venlafaxin)
- Noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva (NaSSA) blockieren präsynaptische Noradrenalin-Autozeptoren (α_2 -Rezeptoren) sowie postsynaptische Serotonin-Rezeptoren (5-HT₂ und 5-HT₃) und erhöhen damit die für die Neurotransmission verfügbare Menge der Botenstoffe (z.B. Mirtazapin, Mianserin).

Vor allem bei den unspezifisch wirkenden TZA kann es zu anticholinergen, antihistaminergen, antiadrenergen, antiserotonergen, dopaminergen und kardiotoxischen Nebenwirkungen kommen, die sich in Form von Mundtrockenheit, Obstipation, Miktionsstörungen, Sedierung, Schwindel, reflektorischer Tachykardie, Gewichtszunahme und extrapyramidalen motorischen Symptomen äußern können und durch einen zusätzlichen Angriff an muskarinergen Acetylcholin 1-, Histamin 1-, Adreno 2-, Serotonin 2A- und Dopamin-Rezeptoren sowie an Natrium- und Calcium-Kanälen verursacht werden. Allerdings können auch spezifisch agierende Antidepressiva wie SSRI zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen wie gastrointestinalen Störungen, Gewichtszunahme, Schlafstörungen und sexueller Dysfunktion führen, wenn der serotonerge Effekt zu stark ausfällt. Ebenso kann eine zu ausgeprägte noradrenerge Wirkung Tremor, Tachykardie, Ängstlichkeit und Kopfschmerzen verursachen.¹⁰¹

Neben den beschriebenen Zielstrukturen der zurzeit zugelassenen Antidepressiva gibt es einige vielversprechende neue Targets, die möglicherweise mit einem verbesserten Wirkungs-Nebenwirkungs-Verhältnis verbunden sind.

Multimodal serotonerge Substanzen (z.B. Vilazodon) vereinen demnach das Wirkprinzip der SSRI bzw. SNRI und einen agonistischen Effekt an Serotonin 1A-Rezeptoren, was zu einer Reduktion serotonerger Nebenwirkungen führt.¹⁰²

Der Vorteil sogenannter "Triple Uptake Inhibitors" (TUI) soll die kombinierte Blockade von Serotonin-, Noradrenalin und Dopamin-Transporter-Proteinen sein, da hierdurch die Wirkung bei affektiven und psychovegetativen Symptomen verbessert und SSRI-abhängige Nebenwirkungen reduziert werden sollen.¹⁰³

Es gibt außerdem Hinweise, dass die Blockade von Neurokinin 1-Rezeptoren (NKR 1), von N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDAR) und nikotinerger Acetylcholin-Rezeptoren sowie von Corticotropin-Releasing-Hormon1-Rezeptoren ebenso wie die Gabe von Substanzen, die die Neuro- und Glisynthese fördern zu einer Besserung depressiver Symptome führen.¹⁰⁴

1.3 Kandidatengene und relevante Polymorphismen

1.3.1 Mikrosomaler Arzneistoffmetabolismus

1.3.1.1 Cytochrom-P450-System

Das Cytochrom-P450-System (CYP) ist der Überbegriff für eine Vielzahl strukturell ähnlicher Monoxygenasen, die hauptsächlich in der Leber, aber auch im intestinalen Epithel lokalisiert sind. Sie sind mit dem oxidativen Abbau lipophiler körpereigener und –fremder Substanzen befasst, um diese durch Hydrophilisierung einer renalen Exkretion zugänglich zu machen. Allerdings können bestimmte Stoffe – sogenannte Prodrugs (z.B. Cyclophosphamid) – durch P450-Enzyme erst aktiviert und damit wirksam werden. Mehr als 50 Isoenzyme sind beim Menschen für etwa 70-80% der Phase-I-Metabolisierungsreaktionen häufig verabreichter Arzneistoffe zuständig.^{105,106} Die für den Abbau therapeutisch verwendeter Wirkstoffe wichtigsten P450-Monoxygenasen sind CYP2D6, CYP3A4, CYP2C19 und CYP2C9.¹⁰⁷ Die genetisch stark polymorphen Enzyme CYP2D6 und CYP2C19 sind am Abbau von 25-30% aller verordneten Medikamente beteiligt.^{106,108} Seltener involviert sind dagegen CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9 und CYP2E1.^{106,109}

Veränderungen der Genstruktur können die Metabolisierungsaktivität der CYP450-Enzyme beeinflussen und zu massiven Änderungen der Arzneistoffkonzentrationen im Körper führen. Dies kann sich wiederum auf das Ansprechen und auf die Nebenwirkungen einer Behandlung auswirken. Noch bevor die Ursachen für die großen interindividuellen Konzentrationsunterschiede mancher Wirkstoffe bekannt waren, wurden Patienten anhand von Markersubstanzen, wie z.B. Debrisoquin für CYP2D6 phänotypisiert. Durch das Verhältnis von Muttersubstanz zu Metabolit im Urin (Metabolic Ratio) wurden verschiedene Phänotyp-Klassen definiert, welche nachfolgend den verschiedenen genetischen Gegebenheiten zugeordnet wurden, jedoch nicht immer übereinstimmen:¹¹⁰⁻¹¹²

- Extensive Metabolizer (EM), die zwei funktionale Allele des betrachteten Enzyms besitzen und bei denen keine Beeinträchtigung des Abbaus körpereigener oder –fremder Stoffe vorliegt
- Poor Metabolizer (PM), die auf Grund verschiedener genetischer Aberrationen wie Gen-Deletionen, unvollständiger Transkription, Fehler beim Spleißen der prä-mRNA oder der Entstehung eines inaktiven Transkripts keine funktionsfähigen Allele des betreffenden Enzyms besitzen
- Intermediate Metabolizer (IM), die lediglich ein funktionsfähiges bzw. ein beeinträchtigtes Allel und ein defektes Allel oder aber zwei beeinträchtigte Allele besitzen, was zu einem eingeschränkten Metabolismus führt
- Ultrarapid Metabolizer (UM), die im Vergleich zu EMs eine stark erhöhte Metabolisierungskapazität besitzen, welche durch Gen-Multiplikation oder erhöhte Transkriptionsaktivität hervorgerufen wird

Mit Hilfe dieser Einteilung kann der Einfluss einer beeinträchtigten Genfunktion auf den Therapieerfolg trotz zahlreicher möglicher Allelkombinationen betrachtet werden. Allerdings wird die Substratspezifität des betreffenden Enzyms und dessen Anteil am Abbau des betrachteten Stoffes hierbei nicht berücksichtigt, die phänotypische Ausprägung eines Genotyps ist also zusätzlich abhängig von der zu metabolisierenden Substanz.¹¹³

Eine weitere Möglichkeit, den klinischen Effekt von Polymorphismen zu untersuchen, bietet das Gendosiskonzept,¹¹⁴ welches mit dem "Activity Score"-System vergleichbar ist.¹¹⁵ Hierbei wird jedem Polymorphismus abhängig von seiner Auswirkung auf die Allelfunktionalität ähnlich wie bei der oben beschriebenen Klassifizierung eine Gendosis zugewiesen. Voll funktionsfähige Allele erhalten dabei die Gendosis 1, Allele mit beeinträchtigter Funktion eine Gendosis von 0,5, bei Defektallelen ist die Gendosis gleich 0 und bei Gen-Multiplikationen entspricht sie der Anzahl der vorliegenden Genkopien. Die Summe der Gendosen beider Allele beschreibt den Metabolisierungsstatus. Dieses System lässt jedoch ebenfalls sowohl die Substratspezifität des betreffenden Enzyms als auch Kopplungseffekte unberücksichtigt, da auch hier die Funktionsfähigkeit der vorliegenden Allele separat bewertet wird. Beim sogenannten ASCOC-Prinzip (Allele Specific Change Of Concentration) wird hingegen substratabhängig der Einfluss eines veränderten Allels auf die Höhe der Wirkstoffkonzentration im Blut kalkuliert,¹¹⁴ wobei allerdings wiederum eventuelle kombinatorische Effekte zwischen den Allelen unbeachtet bleiben.

Neben sequenziellen Veränderungen der CYP450-Gene führen auch epigenetische Modifizierungen in Form von DNA-Methylierungen sowie die Anlagerung von micro RNA (miRNA) an alterierte mRNA-Bindungsstellen zu Unterschieden in der CYP450-Proteinexpression. Die Methylierung von DNA-Promotorregionen kann z.B. die Anbindung von Transkriptionsfaktoren stören.¹¹⁶ Weiterhin können methylierte DNA-Bereiche Veränderungen der Chromatin-Konformation verursachen, was die Transkription eines Gens ebenfalls beeinträchtigen kann.¹¹⁷ Bisher wurde ein Einfluss auf die Transkriptionsaktivität vorrangig für Gene nachgewiesen, welche für den Abbau endogener Substanzen zuständig sind (CYP1B1, CYP1A1, CYP2W1). Allerdings befinden sich auch in den Sequenzen des CYP1A2-, CYP2C19- und CYP2D6-Gens potenzielle Methylierungsstellen.¹¹⁸ Bei miRNA handelt es sich um nicht-codierende RNA-Stränge, die durch Anlagerung an eine bestimmte Ziel-mRNA deren Translation verringern bzw. unterdrücken.¹⁵⁻¹⁷ Bis jetzt ist eine Regulation der Genexpression von P450-Monooxygenasen durch miRNA nur für CYP1B1 bekannt.¹¹⁹ Die Wahrscheinlichkeit für die Anlagerung von miRNA an eine Ziel-RNA steigt jedoch mit der Länge ihrer 3'-UTR-Region. Demzufolge besteht die Möglichkeit, dass auch die Expression von CYP1A2, CYP2B6, CYP2S1 und CYP3A4 mittels miRNA gesteuert wird.¹¹⁸ Derzeit ist die Stärke dieser Effekte auf die Metabolisierungskapazität des jeweiligen CYP450-Enzyms schwer einschätzbar und unterliegt abhängig von den vorherrschenden Umweltfaktoren (Medikation, Essgewohnheiten, Rauchverhalten, Lebensumstände, Krankheiten) großen inter-, aber auch intraindividuellen Schwankungen.^{120,121}

1.3.1.1.1 CYP2D6

CYP2D6 ist am Abbau von etwa 25% aller verwendeten Arzneistoffe, einschließlich verschiedener Antidepressiva (Amitriptylin, Clomipramin, Desipramin, Duloxetin, Fluoxetin, Fluvoxamin, Imipramin, Moclobemid, Nortriptylin, Paroxetin) und Antipsychotika (Aripiprazol, Chlorpromazin, Haloperidol, Perphenazin, Risperidon, Thioridazin, Zuclopenthixol) beteiligt.^{106,108} Ebenso wie CYP1A2 und CYP2C19 kann es durch bestimmte Substanzen induziert (Dexamethason, Rifampicin) bzw. inhibiert (Duloxetin, Fluoxetin, Paroxetin, Sertralin) werden.¹⁰⁸ Das CYP2D6-Gen befindet sich auf Chromosom 22q13.1 in einem Cluster mit den Pseudogenen CYP2D7 und CYP2D8, wobei es zu Überlagerungen von CYP2D6 und CYP2D7 und abhängig von deren Position in der DNA-Sequenz zu entsprechenden Funktionsbeeinträchtigungen des entstehenden Hybridisierungsgens kommen kann.¹²² Seine stark polymorphe Struktur, basierend auf inzwischen 105 verschiedenen Allel-Varianten führt somit zu großen Unterschieden in der CYP2D6-Enzymkinetik.^{2,123} CYP2D6*1 steht für eine unveränderte Basenabfolge und damit für das Wildtyp-Allel. Neben Variationen, die eine Expression des Proteins verhindern bzw. zu einem völligen Funktionsverlust des Enzyms führen, verursachen andere nur eine geringe oder gar keine Aktivitätsänderung. Sind mehr als zwei voll funktionsfähige CYP2D6-Allele vorhanden, kommt es zudem zu einer Steigerung der Metabolisierungskapazität. In Tabelle 1 sind die wichtigsten CYP2D6-Genpolymorphismen einschließlich ihrer Auswirkung auf die Enzymaktivität und der entsprechenden Gendosis aufgeführt. Das CYP2D6*2-Allel scheint innerhalb der kaukasischen Bevölkerung die gleiche Funktionsfähigkeit zu besitzen wie das Wildtyp-Allel.¹¹⁴ Allerdings wurde in anderen ethnischen Populationen bereits eine reduzierte Enzymaktivität für diese Variante beobachtet.¹¹⁵ Die kaukasische Bevölkerung setzt sich aus bis zu 10% UMs, 45-50% EMs, bis zu 30% IMs und 5-10% PMs zusammen, wobei nur etwa 20% aller UM-Phänotypen auf das Vorliegen einer CYP2D6-Gen-Multiplikation zurückzuführen sind.¹²⁴⁻¹²⁶

Tabelle 1 Wichtige CYP2D6-Gen-Polymorphismen

Allelbezeichnung	Variation im CYP2D6-Gen	Enzymaktivität	Gendosis	Referenz
*3	2549 delA	keine	0	127
*4	1846 G>A	keine	0	127
*5	Deletion des gesamten Gens	keine	0	128
*6	1707 delT	keine	0	129
*7	2935 A>C	keine	0	130
*8	1758 G>T	keine	0	131
*9	2615_2617 delAAG	erniedrigt	0,5	132
*10	100 C>T	erniedrigt	0,5	133
*41	2988 G>A	erniedrigt	0,5	134
*1XN	N aktive Allele	erhöht	N	125

Die Auswirkungen von Cytochrom P450-Genvariationen auf Ansprechen und Nebenwirkungen unter Psychopharmakotherapie waren bereits Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Eine klinisch praktikable Personalisierung solcher Behandlungen abhängig vom CYP450-Genotyp hat sich jedoch unter anderem auf Grund fehlender Nachweise für eine Kosten-Nutzen-Effizienz bisher nicht auf breiter Basis durchgesetzt, wird aber an einer Reihe von spezialisierten Zentren durchgeführt.

1.3.1.1.2 CYP2C19

CYP2C19 (früher S-Mephenytoin-Hydroxylase)¹³⁵ metabolisiert zahlreiche Arzneistoffe, wie z.B. S-Mephenytoin, Omeprazol, Pantoprazol, Diazepam, Clopidogrel, Nelfinavir, Proguanil, Voriconazol und verschiedene Barbiturate sowie Bortezomib, Cyclophosphamid und Thalidomid.¹³⁶⁻¹⁴³ Hinsichtlich antidepressiver Wirkstoffe ist es v.a. am Abbau von Amitriptylin, Citalopram, Clomipramin, Doxepin, Imipramin und Trimipramin beteiligt^{20,144,145} und gehört wie CYP2D6 zur Cytochrom P450-Familie in der Leber.

Das CYP2C19-Gen befindet sich auf Chromosom 10q24.1-q24.3 und derzeit existieren 28 Allel-Varianten, von denen 23 allerdings nur sehr selten vorkommen. CYP2C19*2, *3, *4 und *17 sind die wichtigsten Polymorphismen während CYP2C19*1 auch hier das Wildtyp-Allel darstellt.² CYP2C19*2 und *3 sind für den größten Teil (87%) der 2-5% Poor Metabolizer (PM) in der kaukasischen Bevölkerung verantwortlich, CYP2C19*4 nimmt mit 3% der PM einen untergeordneten Stellenwert ein.¹⁴⁶ Bei Vorliegen des *2- bzw. *3-Allels kommt es zu einem G>A-Austausch an Position 681 bzw. 636 des CYP2C19-Gens, der zu einem Fehler beim Spleißen der prä-mRNA bzw. zu einem vorzeitigen Stopcodon und damit jeweils zu einem verkürzten inaktiven Protein führt.^{147,148} Das *4-Allel ist durch einen A>G-Austausch im Startcodon des Gens charakterisiert und verhindert so die Entstehung des CYP2C19-Enzyms.¹⁴⁶

In vielen Studien konnte bisher gezeigt werden, dass CYP2C19-Poor Metabolizer (mit zwei inaktiven Allelen) deutlich niedrigere Citalopram-Serumspiegel aufweisen als andere Genotypen.¹⁴⁹⁻¹⁵²

CYP2C19*17 (-806C>T) verursacht durch die Rekrutierung von Transkriptionsfaktoren zur Mutationsstelle eine verstärkte Gentranskription und dadurch eine Steigerung der Enzymaktivität.¹⁵³ Homozygot vorliegend führt dieser Polymorphismus damit zu einem Ultrarapid Metabolizer-Phänotyp bei etwa 4% der kaukasischen Bevölkerung und abhängig von der zu metabolisierenden Substanz zu niedrigeren Serumspiegeln (Gendosis > 2).¹⁵³⁻¹⁵⁹

Neben dem Einfluss genetischen Variationen kann die Metabolisierungskapazität von CYP2C19 auch durch Enzyminhibitoren (z.B. Protonenpumpeninhibitoren, orale Kontrazeptiva, Fluoxetin, Fluvoxamin) oder -induktoren (z.B. Carbamazepin) sowie das Alter und verschiedene Erkrankungen verändert werden.^{108,160-163}

1.3.1.1.3 CYP1A2

CYP1A2 ist eines der wichtigsten Enzyme der Cytochrom P450-Familie der menschlichen Leber. Es ist neben dem Abbau körpereigener Substanzen in unterschiedlichem Ausmaß in den Metabolismus vieler Psychopharmaka (z.B. Amitriptylin, Clomipramin, Clozapin, Duloxetin, Fluvoxamin, Haloperidol, Imipramin, Maprotilin, Mianserin, Mirtazapin, Nortriptylin, Olanzapin, Promazin und Trazodon) involviert.^{164,165}

CYP1A2 ist durch polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe bzw. Rauchen sowie bestimmte Arzneimittel (z.B. Carbamazepin, orale Kontrazeptiva) sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene stark induzierbar.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸ Einige Substanzen können allerdings auch zu einer Erniedrigung der Enzymaktivität führen (z.B. viele Fluorchinolon-Antibiotika, Clorgylin, Dihydralazin, Furafyllin, Isoniazid, Rofecoxib und Thiabendazol).¹⁶⁴ Die Aktivität des CYP1A2-Enzyms kann weiterhin durch Nahrungsmittel sowohl erhöht (Brassicaceae) als auch erniedrigt (Apiaceae) werden.¹⁶⁹ Die Induzierbarkeit von CYP1A2 durch Rauchen wurde bereits 1988 erkannt¹⁷⁰ und eine Dosisanpassung von Clozapin und Olanzapin an die Rauchgewohnheiten von Schizophrenie-Patienten empfohlen.¹⁷¹⁻¹⁷³

Die großen interindividuellen Schwankungen hinsichtlich der CYP1A2-Expression und -Aktivität lassen sich einerseits durch die bereits genannten Ursachen erklären, andererseits zeigen sich auch abhängig von Geschlecht und ethnischer Herkunft Unterschiede.^{174,175} Zur Bestimmung der *in vivo* Aktivität des Enzyms wurden v.a. Phenacetin, Koffein und Theophyllin als Markersubstanzen eingesetzt, da diese fast vollständig über CYP1A2 abgebaut werden.^{176,177} Wie bei anderen CYP450-Enzymen ist auch die CYP1A2-Abbaukapazität abhängig von der zu metabolisierenden Substanz.¹⁷⁸

Einen zusätzlichen Einfluss auf das CYP1A2-Metabolisierungsvermögen (35-75%) birgt die variable CYP1A2-Genstruktur.¹⁷⁹ Das CYP1A2-Gen befindet sich auf Chromosom 15q24.1 und besteht bei einer Länge von 7,8 kb aus sieben Exons und sechs Introns.¹⁷⁴ Derzeit sind 21 verschiedene CYP1A2-Allele bekannt, welchen 54 SNPs zu Grunde liegen, wobei CYP1A2*1A das Wildtyp-Allel beschreibt.² Am häufigsten ist das *1F-Allel (-163C>A im Intron 1). Unabhängig von der untersuchten Population kommt es mit 60 - 70 % vergleichbar oft vor¹⁸⁰⁻¹⁸² und ist mit einer erhöhten CYP1A2-Aktivität verbunden, wenn es homozygot vorliegt.¹⁸¹

Über einen negativen Einfluss dieses SNPs auf den Therapieerfolg unter Clozapin-Gabe infolge von erniedrigten Serumspiegeln wurde bereits mehrfach berichtet.^{183,184} Weiterhin ist ein CYP1A2*1F/*1F-Genotyp offenbar mit einer Absenkung der Serumkonzentration von Melatonin, aber auch einer geringeren Organtoxizität unter Leflunomid-Therapie assoziiert.^{185,186}

1.3.1.1.4 Cytochrom-P450-Oxidoreduktase

Die NADPH-Cytochrom-P450-Oxidoreduktase (CPR oder POR) ermöglicht den Elektronentransfer von NADPH auf Cytochrom-P450-Enzyme wie die Hämoxxygenase, Squalen-Monooxygenase, 7-Dehydrocholesterol-Reduktase und insbesondere mikrosomale CYP450-Monooxygenasen.^{187,188} Sie dient außerdem zur Bioaktivierung verschiedener Zytostatika.¹⁸⁸ Im Gegensatz zur Vielfalt der CYP450-Enzyme existiert beim Menschen für die POR nur ein Gen, welches sich auf Chromosom 7q11.2 befindet. Allerdings ist dieses ähnlich polymorph wie das CYP2D6-Gen. Viele Mutationen führen dabei zu Störungen der Steroidgenese und der Genitalbildung sowie dem Antley-Bixler-Syndrom.¹⁸⁹⁻¹⁹¹ In der Leber wird verglichen mit den CYP450-Enzymen die siebenfache Menge an POR produziert. Dies gibt Grund zu der Annahme, dass dieses Enzym den limitierenden Faktor hinsichtlich der Metabolisierungskapazität der CYP450-Monooxygenasen darstellen könnte.^{192,193} Allerdings wurde der Effekt verbreiteter POR-Polymorphismen auf die interindividuelle POR-Variabilität und den Abbau von Xenobiotika bisher nur wenig untersucht. Einige Studien zeigen jedoch einen Einfluss verschiedener Mutationen auf die Steroidsynthese und den Arzneistoffmetabolismus.¹⁹⁴⁻¹⁹⁸

Für die abhängig von der betrachteten Population mit 20-40% häufig vorkommende *28-Variante, die einen C>T-Austausch an Position 31696 des Gens und damit einen Aminosäureaustausch von Alanin zu Valin an Position 503 des Proteins (A503V) verursacht, wurde *in vitro* eine in Bezug auf die enzymatische Aktivität von Cytochrom c, Cytochrom P450c17 und die Oxidation von NADPH verringerte katalytische Aktivität nachgewiesen. Effekte auf CYP1A2 und CYP2C19 waren *in vitro* nicht nachweisbar.^{196,199} Allerdings zeigten Feidt et al.²⁰⁰ eine erhöhte CYP3A4-Genexpression und Enzymaktivität in humanen Hepatozyten, deren POR-Expression durch Nukleofektion mit siRNA reduziert wurde (partielles POR-silencing) und auch Hart et al. konnten eine Korrelation zwischen der Aktivität von POR und CYP-Enzymen in humanen Lebermikrosomen nachweisen.²⁰¹ Weiterhin scheinen sich Veränderungen der POR-Aktivität auf manche CYP450-Isoenzyme stärker auszuwirken als auf andere, wobei dies von der Höhe der individuellen CYP450-Enzym-Expression abzuhängen scheint.^{201,202} So sind höher exprimierende CYP450-Monooxygenasen wie CYP3A4 und CYP2C9 offenbar stärker betroffen als z.B. CYP2C19.²⁰²

1.3.2 Arzneistofftransport und -verteilung

1.3.2.1 ABCB1

ABCB1 codiert für das P-Glykoprotein (P-GP), ein ATP-abhängiges Transporter-Protein, welches hydrophobe Substrate aktiv in den Extrazellularraum ausschleust. Es findet sich in verschiedenen Geweben des menschlichen Körpers (z.B. Leber, Niere, Darm und Blut-Hirn-Schranke) und stellt eine Transportbarriere für viele Xenobiotika dar.²⁰³

Um an ihren Wirkort zu gelangen, müssen sowohl Antidepressiva als auch Antipsychotika die Blut-Hirn-Schranke (BHS) überwinden. P-GP transportiert jedoch einige Wirkstoffe (z.B. Amitriptylin, (Es)-Citalopram, Paroxetin, Venlafaxin, Amisulprid, Aripiprazol, Quetiapin, Paliperidon, Olanzapin und Risperidon) nach Überschreiten dieser aktiv wieder hinaus, bevor diese ihr eigentliches Angriffsziel erreichen können.²⁰⁴⁻²⁰⁹ Dies kann dazu führen, dass die periphere Wirkung des Medikaments überwiegt und unerwünschte Arzneimittelwirkungen den bereits reduzierten therapeutischen Effekt zunichtemachen. Einige Substanzen können außerdem die Aktivität des Transport-Proteins reduzieren bzw. erhöhen. So wurden für Azithromycin, Erythromycin, Cyclosporin, Itraconazol, Ketoconazol, Quinidin, Ritonavir, Verapamil, Elacridar und Valspodar inhibitorische und für Rifampicin und Johanniskrautextrakt induktive Effekte beschrieben.²¹⁰

Auch Variationen des für P-GP codierenden ABCB1- bzw. MDR1-Gens, welche die Funktionalität oder die Expression des Transporters modulieren, können den Therapieerfolg zentral wirksamer Substanzen beeinflussen.²¹¹⁻²¹⁶

Uhr et al. berichten für rs2032583-C- und rs2235015-T-Allel-Träger über signifikant höhere Remissionsraten nach 6-wöchiger Behandlung mit Amitriptylin, Citalopram, Paroxetin bzw. Venlafaxin (n = 443).²⁰⁵

Eine andere Arbeitsgruppe fand keine Assoziation zwischen rs2032583-Genotyp und Therapieansprechen.²¹⁷ Choong et al. diskutieren zusätzlich eine enantioselektive Aktivität des Transporterproteins, welche neben Veränderungen von MDR1 bei der Beurteilung der BHS-Gängigkeit des jeweiligen Substrats berücksichtigt werden muss.²¹⁸

1.3.3 Arzneistoffzielstrukturen

1.3.3.1 DRD2

Der Dopamin D2-Rezeptor ist einer von fünf verschiedenen G-Protein-gekoppelten Dopamin-Rezeptor-Subtypen. Er kommt hauptsächlich im Striatum, Substantia nigra pars compacta und Globus pallidus vor.²¹⁹

Durch ihre antagonistische Wirkung an postsynaptischen Dopamin D2-Rezeptoren, deren Dichte beim Vorliegen einer Schizophrenie erhöht ist,²²⁰ führen sowohl atypische als auch typische Neuroleptika zu einer Reduktion der Positivsymptome schizophrener Störungen.²²¹ Veränderungen des zugrundeliegenden Gens auf Chromosom 11 (q22-q23) könnten demzufolge eine Beeinträchtigung des Behandlungserfolgs verursachen. Einige Polymorphismen wurden bereits hinsichtlich ihres Einflusses auf das Therapieansprechen und die Anfälligkeit für psychiatrische Erkrankungen untersucht, allerdings mit widersprüchlichen Resultaten.²²²⁻²³³

Eine Meta-Analyse, welche für drei Polymorphismen im DRD2-Gen (-141Cins/del, Ser311/Cys311 und TaqI A1) durchgeführt wurde, konnte die Assoziation zwischen TaqI A1/A1-Genotyp und einem erhöhten Risiko an affektiven Störungen zu erkranken, bestätigen.²³⁴

Die T-Allele der beiden hier untersuchten Polymorphismen im Gen des Dopamin D2-Rezeptors (DRD2) führen zu einer Veränderung des Expressionsverhältnis zwischen postsynaptischen (DRD2L, long) und präsynaptischen Autorezeptoren (DRD2S, short) zugunsten der langen Rezeptorvariante.²³⁵

Das Expressionsverhältnis der beiden Isoformen, die durch unterschiedliches Spleißen der prä-mRNA des transkribierten DRD2-Gene entstehen, beeinflusst die Glutamattransmission im Striatum.²³⁶ Eine gestörte Glutamattransmission wird mit einem Aufmerksamkeitsdefizit bei Schizophreniepatienten in Verbindung gebracht.²³⁷ Die G-Allele der beiden SNPs sind außerdem mit weniger Negativsymptomen (PANSS) bei Schizophreniepatienten assoziiert.²³⁸ Dementsprechend wäre eine nachteilige Wirkung der T-Allele der SNPs hinsichtlich des Therapieverlaufs einer Antipsychotika-Behandlung zu erwarten.²³⁹

1.3.3.2 DAT1

Das Dopamin-Transporter-Protein befindet sich in der präsynaptischen Plasmamembran Dopamin-freisetzender Nervenendigungen und reguliert die extrazelluläre Konzentration des Botenstoffs. So zeigen sich in DAT-Knock-out-Mäusen 5-fach höhere extrazelluläre basale Dopamin-Level und eine 300-fache Erhöhung nach Stimulation der dopaminergen Neuronen im Gehirn.^{240,241} Allerdings sind dabei sowohl das an der Dopamin-Biosynthese beteiligte Enzym Tyrosin-Hydroxylase und die vesikuläre Dopamin-Speicherfähigkeit als auch die Dichte der prä- und postsynaptischen Dopamin-Rezeptoren reduziert.^{240,242,243}

Störungen des Dopamin-Signalwegs spielen auch bei der Pathogenese psychiatrischer Erkrankungen eine wichtige Rolle.²⁴⁴ So wurden in der Cerebrospinalflüssigkeit von depressiven Patienten niedrigere Konzentrationen an Dopamin-Metaboliten festgestellt,²⁴⁵ was zu einer DAT1-Downregulation und damit auch zu einem reduzierten DAT1-Bindungspotential führt.²⁴⁶ Der Dopamin-Transporter DAT1 ist deshalb ein vielversprechendes Kandidaten-Gen, welches den Therapieerfolg bei Antidepressiva-Gabe beeinflussen könnte. Da sich der DAT1-VNTR-Polymorphismus in einer nicht-codierenden Region des Gens befindet, ist es unwahrscheinlich, dass die verschiedenen Allelvarianten Funktionsunterschiede des Transporterproteins verursachen.²⁴⁷ Allerdings wurden *in vitro* und *in vivo* Effekte auf die DAT1-Expression berichtet, wobei einige Arbeitsgruppen für Träger des 10-Repeat-Allels höhere Expressionsraten als für das 9-Repeat-Allel beobachteten, andere hingegen aber nicht.^{244,248-251} Die Ursache für diese Unterschiede könnte ein unvollständiges Kopplungsungleichgewicht des VNTR-Polymorphismus mit transkriptionell relevanten genetischen Variationen sein.²⁵⁰

1.3.3.3 5-HT_{2A}

5-HT_{2A}-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte präsynaptische Rezeptoren, die sowohl im Gehirn als auch peripher, auf Thrombozyten und der glatten Muskulatur des Darmes zu finden sind.²⁵² Im ZNS befinden sie sich insbesondere auf cholinergen, glutamatergen und dopaminergen Nervenendigungen.²⁵³⁻²⁵⁵ Eine veränderte Funktion des 5-HT_{2A}-Rezeptors wurde bereits mit der Entstehung schizophrener Erkrankungen in Verbindung gebracht, allerdings wird diese Hypothese kontrovers diskutiert. Im frontalen Cortex von Schizophrenie-Patienten wurde im Vergleich zu

gesunden Kontrollen eine verringerte Rezeptorbindung von [3H]-Spiperon und eine Abnahme der mRNA-Expression des 5-HT_{2A}-Rezeptors beobachtet.^{256,257} In anderen Studien hingegen wurde kein Zusammenhang von Veränderungen des 5-HT_{2A}-Rezeptors mit schizophrenen Störungen gefunden.^{258,259} Trotzdem ist 5-HTR_{2A} neben dem Dopamin-D2-Rezeptor das Angriffsziel vieler atypischer Antipsychotika, die als Antagonisten oder inverse Agonisten v.a. zu einer Reduktion Negativsymptomen dieser Erkrankungen führen.^{70,260} Eine Blockade des 5-HT_{2A}-Rezeptors durch Atypika scheint außerdem zu einer Verbesserung kognitiver Funktionen und zu einer geringeren Ausprägung eines extrapyramidalen Syndroms (EPS) zu führen.^{261,262} Auch einige Antidepressiva (Mirtazapin, Mianserin, Nefazodon und Trazodon) wirken antagonistisch am 5-HT_{2A}-Rezeptor,²⁶³⁻²⁶⁵ die meisten (viele TCAs, MAO-Hemmer, SSRI) verringern die 5-HT_{2A}-Rezeptordichte aber scheinbar mittels anderer Mechanismen und reduzieren so den negativen Feedbackmechanismus des Autorezeptors.^{266,267} Demnach könnten Veränderungen des 5-HTR_{2A}-Gens für den Therapieerfolg unter Antipsychotika- und Antidepressiva-Therapie von entscheidender Bedeutung sein. Für einen Polymorphismus in Intron 2 des Rezeptor-Gens (rs7997012) wurde z.B. ein Einfluss auf die Serotonintransporterfunktion und damit die serotonerge Transmission festgestellt.²⁶⁸ Eine Studie mit 1953 depressiven Patienten, die mit dem SSRI Citalopram behandelt wurden, ermittelte eine signifikante Assoziation zwischen Behandlungserfolg²⁶⁹ und weitere Studien bestätigen dieses Ergebnis.^{270,271}

1.3.3.4 5-HTR3A

Der 5-HT₃-Rezeptor ist der einzige Ionenkanal in der 5-HT-Rezeptorfamilie und wird beim Menschen überwiegend in der Amygdala und im Hippocampus exprimiert.^{272,273} Die Membrandepolarisation und neuronale Erregungsleitung geschieht ligandengesteuert.²⁷⁴ Die verschiedenen Rezeptorsubtypen finden sich sowohl präsynaptisch und somatodentritisch als auch postsynaptisch, wobei erstere mit der Neurotransmitter-Freisetzung befasst und letztere für die ionotrope Weiterleitung selbiger zuständig sind.²⁷⁵⁻²⁷⁷ Jeder Rezeptor besteht aus fünf Untereinheiten, 5-HT_{3A}-Rezeptoren kommen dabei entweder als Homopentamere oder in Kombination mit 3B-Untereinheiten als Heteropentamere vor.²⁷⁸ Außerdem gibt es eine verkürzte und eine lange Spleißvariante, was sich in einem höheren bzw. niedrigeren Kationen-Fluss im Vergleich zu homomeren 5-HT_{3A}-Rezeptoren äußert.^{279,280} Neben der bereits genannten 3B-Rezeptor-Untereinheit wurden kürzlich die 3C-, 3D- und 3E-Untereinheiten charakterisiert, deren *in vivo*-Funktionen allerdings noch nicht aufgeklärt sind.²⁸¹⁻²⁸³

Da Zytostatika-induzierte Übelkeit und Erbrechen während einer Chemotherapie über 5-HT₃-Rezeptoren vermittelt wird, stellen diese den Angriffspunkt für 5-HT₃-Rezeptor-Antagonisten wie Ondansetron, Palonosetron oder Granisetron dar,²⁸⁴ die allerdings neben ihrer antiemetischen Wirkung in zahlreichen Tier-Verhaltensstudien²⁷⁴ und klinischen Studien auch eine antidepressive Komponente aufweisen.²⁸⁵⁻²⁸⁸

Der durch die 5-HT₃-Rezeptor-Blockade verursachte antidepressive Effekt wird vermutlich über eine verringerte Cholezystokinin-Freisetzung²⁸⁹ und Potenzierung der Wirkung von SSNRI und SSRI sowie Mirtazapin auf Grund indirekter agonistischer Effekte an anderen 5-HT-Rezeptoren vermittelt.²⁹⁰⁻²⁹⁶

Allerdings wird dabei auch die Menge anderer Neurotransmitter (z.B. Noradrenalin, Dopamin, γ -Aminobuttersäure, Acetylcholin) im synaptischen Spalt beeinflusst. So scheint zusätzlich eine Erhöhung der Noradrenalin-Level im Zuge einer 5-HT₃-Rezeptor-Blockade an der antidepressiven Auswirkung beteiligt zu sein.²⁹⁷ Die Erkenntnisse zum Einfluss auf die Dopamin-Freisetzung sind unterschiedlich,^{298,299} aber die Dopamin-Transmission scheint reduziert zu werden,³⁰⁰ was zu einer depressiven Lage, allerdings gleichzeitig auch zu einem antipsychotischen Effekt führen kann. Der in einigen klinischen Studien berichtete Therapieerfolg bei Patienten mit psychotischen Erkrankungen, in denen reine 5-HT₃-Rezeptor-Antagonisten allein oder in Kombination mit Antipsychotika verabreicht wurden, bekräftigt diese Hypothese.³⁰¹⁻³⁰³

Ein synonymes SNP im Exon 1 des 5-Hydroxytryptamin-Rezeptor 3A-Gens ist durch einen A→G-Austausch charakterisiert und scheint bei dem Risiko an Schizophrenie zu erkranken eine Rolle zu spielen.^{304,305} Auf Grund der vielfältigen Effekte dieses Rezeptors auf die Freisetzung von Monoaminen ist der Einfluss von Veränderungen im codierenden Gen auch auf den Erfolg einer Psychopharmaka-Behandlung denkbar.

Gu et al. fanden in einer Population mit 107 Schizophrenie-Patienten eine signifikante Assoziation zwischen dem rs1176713-Polymorphismus und dem Therapieansprechen unter Risperidon-Monotherapie.³⁰⁶

1.3.3.5 5-HTT

Das Serotonin-Transporter-Protein ist v.a. im Hirnstamm und subcortikalen Regionen zu finden.³⁰⁷ Er ist für die Wiederaufnahme des Neurotransmitters aus dem synaptischen Spalt verantwortlich und moduliert dessen extrazelluläre Konzentration. Er bildet deshalb den primären Angriffsort von selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern, die häufig zur Therapie depressiver Erkrankungen eingesetzt werden und zu einer Verringerung der Transporterdichte führen.³⁰⁸

In vielen Studien wurde bisher der Einfluss von Polymorphismen im 5-HTT-Gen auf die Proteinexpression, das Risiko psychisch zu erkranken und das Ansprechen unter Antidepressiva-Therapie beschrieben.

Die Allele mit 9-facher, aber auch mit 12-facher Kopie des 5-HTT-VNTR-Polymorphismus, der als 9-, 10- oder 12-fache Wiederholung vorliegen kann, wurden mit einem erhöhten Risiko an einer bipolaren Störung zu erkranken in Verbindung gebracht.^{309,310} Während einige Arbeitsgruppen die Assoziation zwischen der 5-HTT VNTR-12-fach-Variante und der Erkrankungshäufigkeit bestätigen,³¹¹⁻³¹³ wurde in einigen Fall-Kontroll-Studien und Metaanalysen kein Zusammenhang gefunden.³¹⁴⁻³¹⁷ Ebenso inkonsistent sind die Ergebnisse bei der Ätiopathogenese von Angsterkrankungen, die einerseits mit kurzen Allelvarianten (9- bzw. 10-fach) assoziiert scheinen³¹⁸ und andererseits häufiger bei Vorliegen der 12-fachen Kopie auftreten.³¹⁹ Es finden sich außerdem Hinweise auf Assoziationen des HTT-VNTR-9-Allels mit der Entwicklung einer unipolaren Depression³²⁰ und des HTT-VNTR-12-Allels mit Schizophrenie.³²¹ Auch werden regulatorische Auswirkungen des Polymorphismus auf die Transkription *in vitro*³²² und *in vivo*³²³ sowie die Expressionsaktivität beschrieben.³²⁴ Weiterhin wurde der Effekt der verschiedenen 5-HTT-VNTR-Varianten auf Nebenwirkungen und Therapieerfolg v.a. unter SSRI-Gabe von mehreren Arbeitsgruppen untersucht, wobei sich hier das Vorliegen des HTT-VNTR-12-Allels als vorteilhaft herausstellte.^{325,326}

Die 44-Basenpaar-Sequenz im Promotorbereich des 5-HTT-Gens – als long oder I-Allel bezeichnet – scheint mit einer verstärkten Transkription und höherer biologischer Aktivität des Serotonintransporters verbunden zu sein.³²⁷ Dementsprechend könnte diese Allel-Variante durch erhöhte 5-HTT-Level in Gehirn und anderen Geweben zu einem besseren und schnellerem Ansprechen und weniger Nebenwirkungen unter Therapie mit Antidepressiva, die am 5-HT-Transporter angreifen, führen.

Über die Ausprägung des Einflusses dieser Genvariation auf den Therapieerfolg unter SSRI-Therapie ist man sich trotz zahlreicher Untersuchungen uneins. Möglicherweise ist der hinsichtlich des Ansprechens zu bevorzugende Genotyp von der Ethnizität der untersuchten Population abhängig.^{325,326,328-331}

Der rs25531-SNP innerhalb des 5-HTTLPR-Polymorphismus scheint ebenfalls einen Einfluss auf die Transkriptionsaktivität zu haben.^{332,333} Der kombinierte Einfluss des 5-HTTLPR- und des rs25531-Polymorphismus zeigte eine Assoziation zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen unter Citalopram-Monotherapie³³⁴ sowie zum Therapieansprechen unter SSRI-Gabe.^{335,336}

1.3.3.6 MAOB

Monoaminoxidasen sind mitochondriale Enzyme, die mit dem Abbau exo- und endogener Monoamine, einschließlich Neurotransmitter befasst sind. Abhängig von ihrem Vorkommen im menschlichen Körper und ihrer Substratspezifität wird zwischen MAO-A und MAO-B unterschieden. In den meisten Geweben sind beide Formen zu finden, allerdings kommt nur MAO-B in Lympho- und Thrombozyten vor.³³⁷

Oreland et al. beschrieben einen Zusammenhang zwischen Persönlichkeitsstörungen und der MAO-B-Aktivität in Thrombozyten.³³⁸ Veränderte MAO-B-Level wurden weiterhin mit Neurodegeneration, Schizophrenie, Depression und Alkoholismus in Verbindung gebracht. Außerdem zeigte sich für rs1799836 im Intron 13 des Gens bei männlichen Trägern des A-Allels eine signifikant niedrigere Enzymaktivität im Vergleich zum G-Allel.³³⁹ Insgesamt sind aber die Ergebnisse betreffend der Auswirkungen der Mutation auf die Gentranskription inkonsistent. So wurde *in vitro* ebenfalls eine höhere transkriptionelle Aktivität des G-Allels,³⁴⁰ aber *in vivo* höhere mRNA-Level bei Vorliegen des A-Allels bei männlichen Probanden festgestellt.³⁴¹ Tadic et al.³⁴² zeigten, dass Patientinnen mit A/A-Genotyp schneller und stärker auf eine Therapie mit Antidepressiva ansprechen als die anderen

Genotypen. Für männliche Patienten wurden hingegen keine Assoziationen zwischen rs1799836 und Therapieerfolg gefunden.

Das MAOB-Gen befindet sich auf dem X-Chromosom und umfasst 60kbp und 15 Exons.³⁴³

Geschlechterunterschiede hinsichtlich des MAOB A644G Intron 13 SNP-Effekts wurden bereits von Kelada et al.³⁴⁴ beschrieben. Weiterhin scheinen die Mechanismen der MAOB-Genregulation im Gehirn und Thrombozyten, die als Serotonin-Speicher dienen unterschiedlich abzulaufen.³⁴⁵ Neben Änderungen der DNA-Sequenz des MAOB-Gens führen außerdem epigenetische Einflüsse, z.B. verursacht durch Rauchen zu einer veränderten Proteinexpression.³⁴⁶

1.3.3.7 TPH2

Die periphere und zerebrale Serotonin-Biosynthese wird durch zwei verschiedene Enzyme – Tryptophanhydroxylase 1 und 2 – initiiert. Tryptophanhydroxylase 2 wird dabei vorwiegend im Gehirn exprimiert³⁴⁷ und hat somit großen Einfluss auf die Höhe der zerebralen Serotoninlevel. Demzufolge könnten Veränderungen der Proteinstruktur die Qualität und Menge des Neurotransmitters und damit den Krankheitsprozess psychiatrischer Störungen beeinflussen. Ein Zusammenhang zwischen Variationen im TPH2-Gen und dem Auftreten von Depressionen ist trotz zahlreicher Studien strittig,³⁴⁸⁻³⁵⁴ allerdings zeigen Untersuchungen zu dem hier betrachteten rs7305115-SNP Assoziationen zwischen G-Allel und suizidalem Verhalten während einer depressiven Erkrankung sowie einer verringerten Transkription des TPH2-Gens und damit einer niedrigeren Proteinmenge im Pons.³⁵⁵ Tzvetkov et al.³⁵⁶ fanden außerdem ein schlechteres Therapieansprechen bei Patienten, die dieses Allel trugen und überwiegend mit SSRI behandelt wurden. Dieser Zusammenhang bestätigte sich auch im Tiermodell.³⁵⁷ Tsai et al. beobachteten ein signifikant häufigeres Auftreten des rs17110747-G/G-Genotyps bei 508 Patienten mit Majordepression im Vergleich zu 463 Kontrollen.³⁵⁸

1.3.3.8 CRHR1 und CRHR2

Die Stimulation der Corticotropin-Releasing-Hormon-Rezeptoren 1 (CRHR 1) im Hypophysenvorderlappen fördert die Adrenocorticotropin-Hormon (ACTH)-Sekretion und damit die Freisetzung von Glukokortikoiden aus der Nebennierenrinde.³⁵⁹ Die agonistische Wirkung von Urocortinen am CRH-Rezeptor 2 führt im Tiermodell zu einer Verringerung ängstlichen Verhaltens und CRHR 1-vermittelter Stressantworten.³⁶⁰ Bei beiden Rezeptor-Subtypen handelt es sich um G-Proteingekoppelte Rezeptoren, welche den größten Teil der physiologischen Wirkung von CRH und Urocortinen im Körper vermitteln.³⁶¹

Neben der Serotonin- und Noradrenalinmangelhypothese³⁶² spielt auch die Kortikosteroid-Rezeptor-Hypothese eine Rolle in der Pathogenese depressiver Erkrankungen.⁸⁹ Auf Grund einer Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse weisen depressive Patienten im Vergleich zu gesunden Menschen erhöhte Cortisol- und ACTH-Konzentrationen in Plasma und Cerebrospinalflüssigkeit auf, wobei die Ausschüttung von Cortisol durch die Gabe von Dexamethason nur vermindert supprimierbar und die ACTH-Reaktion nach CRH-Gabe abgeschwächt ist (DEX/CRH-Test).⁹⁰ Als Ursache dieser gestörten Regulation der Stressachse werden eine reduzierte Glukokortikoid-Rezeptor-Funktion sowie eine CRH-Hypersekretion diskutiert.^{91,92} Die Auswirkungen dieser verstärkten CRH-Produktion werden wiederum über hyperfunktionelle CRH-1-Rezeptoren vermittelt, kombiniert mit hypofunktionellen CRH-2-Rezeptoren, welche anxiolytische Wirkungen nach Stresssituationen fördern.³⁶³ Bei einer erfolgreichen Therapie mit Antidepressiva kommt es vermutlich durch die Induktion einer erhöhten Glukokortikoid-Rezeptor-Empfindlichkeit zu einer Normalisierung der verminderten negativen Rückkopplung.³⁶⁴⁻³⁶⁶ Allerdings führte die Behandlung depressiver Patienten mit CRHR-1-Antagonisten ebenfalls zu einer deutlichen Reduktion depressiver und ängstlicher Symptome.³⁶³

Licino et al.³⁶⁷ und Liu et al.³⁶⁸ zeigten Assoziationen zwischen Therapieerfolg unter Antidepressiva-Gabe und verschiedenen Polymorphismen im CRHR-1-Gen. Papiol et al. fanden eine Assoziation des rs110402-T-Allels des CRHR-1-Gens mit dem Risiko, bereits frühzeitig an depressiven Störungen zu erkranken und unter saisonalen depressiven Episoden zu leiden sowie des rs2270007-G-Allels des CRHR-2-Gens mit einem schlechteren Ansprechen bzw. Non-Response unter Citalopram-Gabe.³⁶⁹

1.3.4 Neuroregeneration und –transmission

1.3.4.1 FGF-2

Der Fibroblast-Growth-Faktor 2 (FGF-2) ist einer von 22 verschiedenen humanen FGF, der von Glia- und Nervenzellen v.a. in Zwischen- und Großhirn exprimiert wird.^{370,371} Er bindet an alle vier FGF-Rezeptor-Subtypen,³⁷² fördert sowohl *in vitro* als auch *in vivo* die Glio- und Neurogenese^{373,374} und wird bei Patienten mit Majordepression in geringerem Ausmaß exprimiert als bei gesunden Kontrollen.³⁷⁵

Neben ihrem Einfluss auf die Verfügbarkeit von Monoaminen im synaptischen Spalt, verstärken Antidepressiva die Expression von Transkriptionsfaktoren, die in die Neubildung und Differenzierung von Neuronen eingebunden sind. So zeigten Mallei et al.³⁷⁶ im Tiermodell, dass Fluoxetin in hippocampalen Neuronen und Desipramin und Mianserin in kortikalen und hippocampalen Neuronen zu einer Steigerung der FGF2-Synthese führen. Auch Evans et al.³⁷⁷ beschreiben bei einer Untersuchung von humanen post-mortem Proben eine Abschwächung der bei MDD-Patienten auftretenden FGF2-Expressionserniedrigung im frontalen Kortex unter SSRI-Therapie.

Unabhängig von der Art des verabreichten Wirkstoffs wird damit die neuronale Plastizität u.a. von noradrenergen und serotonergen Zellen erhöht. Veränderungen im FGF2-Gen, welche die Entstehung dieses neurotrophen Faktors beeinträchtigen, könnten demzufolge das Ansprechen auf antidepressiv oder antipsychotisch wirkende Stoffe beeinflussen.

Dementsprechend fanden Kato et al. einen Zusammenhang zwischen dem rs1449683-T-Allel und dem Ansprechen auf die Therapie mit SSRI bei Patienten mit Major Depression sowie dem rs1048201-T-Allel und dem Therapieabbruch infolge von Nebenwirkungen.³⁷⁸ Außerdem beeinflussen sowohl rs1449683 als auch rs1048201 die FGF2-Level. Dabei ist mit dem rs1449683-C/C-Genotyp eine stärkere Transkription und Protein-Expression verbunden.³⁷⁹ Das rs1048201-T-Allel (Wildtyp-Allel) führt zu einer veränderten miRNA-Bindungsstelle der entstehenden mRNA, was infolge einer verstärkten miRNA-Anbindung die Degradation der mRNA-Stränge fördert bzw. mit einer reduzierten Translation verbunden ist und damit die exprimierte Proteinmenge limitiert.³⁸⁰

1.3.4.2 PCLO

Das Piccolo-Protein ist ein präsynaptisches Zytoskelett-Eiweiß, das durch seinen Einfluss auf die Anordnung und Funktion aktiver präsynaptischer Bereiche im gesamten Gehirn, in denen die Aktionspotential-gesteuerte Neurotransmitter-Freisetzung aus synaptischen Vesikeln geschieht, eingebunden ist.³⁸¹ Veränderungen innerhalb der Struktur des PCLO-Gens können Abweichungen des Proteinaufbaus zur Folge haben und damit Störungen der monoaminergen Neurotransmission verursachen.^{382,383} Dementsprechend fanden Hek et al.⁸² eine Assoziation zwischen dem rs2522833-SNP im PCLO-Gen und dem Auftreten depressiver Erkrankungen. Allerdings kamen Sullivan et al.⁸³ in einer Meta-Analyse zu einem gegenteiligen Ergebnis, wenn alle Proben der betrachteten Assoziationsstudien gemeinsam ausgewertet wurden. Auf Grund der Heterogenität des entstandenen Patientenkollektivs wurde eine Replikation mit einer der Originalstudie ähnlichen Population durchgeführt und auch hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen rs2522833 und dem Risiko an einer Majordepression zu erkranken festgestellt.

In einer Studie mit 205 Patienten, die unter unipolarer Depression litten, wurde das Therapieansprechen mittels der HAMD-Skala und dem DEX/CRH-Test bestimmt. Dabei zeigte sich für rs2522833-A/A-Genotypen eine weniger stark ausgeprägte Dysregulation der HPA-Achse im Vergleich zu den anderen Genotypen während sich der genetische Habitus nicht auf die Ergebnisse der HAMD-Werte auswirkte.³⁸⁴

1.3.5 Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel

1.3.5.1 PPAR γ

Der Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor $\gamma 2$ ist ein nukleärer Transkriptionsfaktor, der im Fettgewebe und im Dickdarm verbreitet ist. Zusammen mit dem Retinoid-X-Rezeptor reguliert dieser die Adipozytendifferenzierung und Glucose-Homöostase.³⁸⁵ Die häufig vorkommende Pro12Ala-Variante des PPAR $\gamma 2$ -Gens ist anscheinend mit einer Disposition zu Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert, wobei Träger der 12Ala-Variante von einem protektiven Effekt infolge einer reduzierten Stimulation von Zielgenen, niedriger Fettgewebsakkumulation und verbesserter Insulinempfindlichkeit profitieren.^{386,387}

Variationen innerhalb der *PPAR γ* -Sequenz werden auch in Zusammenhang mit Veränderungen des Körpergewichts unter Gabe mit atypischen Antipsychotika diskutiert.^{388,389} In vitro beeinflusst Clozapin ebenfalls die Differenzierung von Adipozyten und führt zu intrazellulärer Triglyceridakkumulation.³⁹⁰ Olanzapin scheint über die Überexpression von Sterol-regulatorisches-Element-bindendes Protein und Aktivierung von PPAR γ die Adipogenese in 3T3-L1-Zelllinien zu fördern.³⁹¹

Die Therapie mit atypischen Neuroleptika wie Olanzapin und Clozapin ist bei einigen Patienten mit einer unerwünschten Gewichtszunahme verbunden. Dies kann die Compliance der Patienten und damit auch den Therapieerfolg beeinträchtigen. Das Ausmaß der Gewichtszunahme variiert interindividuell und eine Assoziation mit mehreren genetischen Faktoren wird diskutiert.

In diesem Zusammenhang ist *PPAR γ* ein weiteres vielversprechendes Kandidaten-Gen, dessen Relevanz für die klinische Praxis in der vorliegenden Arbeit untersucht werden soll.

1.4 Ziel der Arbeit

Wie unter 1.1 bereits dargelegt, stellt der unzureichende Therapieerfolg einer Psychopharmaka-Behandlung in der Psychiatrie ein großes Problem dar. Auf Grund der verzögert einsetzenden Wirkung von Antidepressiva und Neuroleptika werden therapieresistente Patienten erst spät identifiziert, was neben einer Verlängerung des Leidens mit einer zusätzlichen Beeinträchtigung durch das Therapieversagen verbunden ist. Weiterhin leiden viele Patienten unter unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen durch die verabreichten Antidepressiva bzw. Antipsychotika, was einen Wechsel zu einer anderen Medikation erfordert und sich ebenfalls negativ auf die Behandlungsdauer auswirkt.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Relevanz der in der Einleitung genannten genetischen Marker (Kandidatengenvarianten) für die Wirksamkeit und Sicherheit von Antidepressiva und Neuroleptika unter Bedingungen des klinischen Alltags. Assoziationen, die sich unter diesen Voraussetzungen als statistisch signifikant erweisen, können als klinisch relevante Einflussfaktoren zur Entscheidungsfindung bei der Therapieoptimierung beitragen.

Die für diese Betrachtungen ausgewählten Gene und Polymorphismen sind bedeutsam für den Abbau von Psychopharmaka bzw. für deren Zielstrukturen und Transport oder in Neuroregeneration und –transmission eingebunden. Sie wurden auf der Basis vorliegender Assoziationsstudien zu Therapieansprechen und dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen unter Antidepressiva- bzw. Neuroleptika-Therapie ausgewählt.

Zur Untersuchung relevanter Zusammenhänge sollen psychiatrische Patienten rekrutiert, Genotypisierungsmethoden entwickelt und validiert sowie Serumkonzentrationen häufig verabreichter Psychopharmaka mittels HPLC-gekoppelten massenspektrometrischen Methoden gemessen werden. Assoziationen zwischen den ausgewählten Polymorphismen und Ansprechen, Nebenwirkungen sowie Serumkonzentrationen der Patienten sollen mittels SPSS analysiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Beschreibung der Studie

2.1.1 Studiendesign, Ein- und Ausschlusskriterien

Die vorliegende Arbeit basiert auf einer monozentrischen, prospektiven, in Bezug auf den pharmakogenetischen Status doppelblinden Diagnostikstudie, die in Kooperation zwischen der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie und dem Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der TU München im Zeitraum Mai 2002 bis Dezember 2009 durchgeführt wurde. Das Studienprotokoll wurde im Vorfeld durch die Ethikkommission der Fakultät für Medizin der TU München genehmigt und entspricht der Deklaration von Helsinki. Verantwortlicher Projektleiter war Herr Prof. Dr. med. W. Steimer, Oberarzt des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie. Die Studie wurde weiterhin überwacht von Herrn Dr. med. W. Kissling und Herrn Prof. Dr. med. S. Leucht, beide Oberärzte der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie.

In die Studie eingeschlossen wurden volljährige, männliche und weibliche neu in die Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums rechts der Isar stationär aufgenommenen Patienten, die folgende Voraussetzungen erfüllten:

- Einwilligungsfähigkeit des Patienten
- Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung des Patienten, die jederzeit widerrufen werden konnte
- Vorliegen von Grunderkrankungen, die eine Therapie mit Antidepressiva oder Antipsychotika notwendig machen (ICD-10: F2 – F6-Diagnosen)

Ausschlusskriterien stellten Abhängigkeitserkrankungen, organisch bedingte Psychosen oder Depressionen, Demenzen sowie Schwangerschaft und Stillzeit dar. Weiterhin wurden keine Patienten in die Studie aufgenommen, die auf gerichtliche oder behördliche Anordnung in die Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums rechts der Isar eingewiesen wurden.

2.1.2 Datenerhebung

Bei der Aufnahme der Patienten in die Studie wurden die folgenden Informationen erhoben:

- demographische Daten
- medizinische Anamnese
- psychiatrische Vorgeschichte und Vorgeschichte der aktuellen Erkrankung
- Diagnose nach ICD-10
- Medikation
- Rauchgewohnheiten und Alkoholkonsum

Der Krankheitszustand jedes Patienten wurde mit Hilfe der Paranoid-Depressivitäts-Skala (PD-S) und der Clinical Global Impressions-Skala (CGI-Skala) zum Zeitpunkt der Aufnahme und nach vier Wochen erfasst. Die Behandlung erfolgte entsprechend der gestellten Diagnose gemäß dem aktuellen Stand medizinischer Kenntnis. Während der ersten vier Behandlungswochen wurden die verabreichten Pharmaka inklusive Komedikation dokumentiert. Nebenwirkungen wurden mittels einer leicht veränderten Version der Dosage Record and Treatment Emergent Symptom-Skala (DOTES-Skala) registriert. Zusätzlich wurde im Falle eines Therapieerfolges der Zeitpunkt des Ansprechens durch den behandelnden Arzt dokumentiert sowie die Dauer des stationären Aufenthalts jedes Patienten erfasst.

Den Patienten wurden im Rahmen der routinemäßig durchgeführten Blutentnahme zum Aufnahmezeitpunkt zusätzlich 2,7ml EDTA-Blut zur Bestimmung des pharmakogenetischen Status und vier Wochen nach Aufnahme 10ml Vollblut zur Bestimmung der Arzneimittelkonzentration abgenommen.

2.1.2.1 Die PD-S (Paranoid-Depressivitäts-Skala)

Bei der PD-S³⁹² handelt es sich um eine Selbstbeurteilungsskala mit einer P-Skala zur Erfassung paranoider Symptome und einer D-Skala zur Feststellung ängstlich-depressiver Krankheitsanzeichen. Jede der beiden Skalen umfasst 16 zu bewertende Einzelaussagen (Items) und zusätzlich acht Kontroll-Items zur Messung der Krankheitsverleugnung sowie drei Items zur Feststellung der Testmotivation der Probanden (siehe Anhang A.1.1).

Auf Grund hoher Placebo-Responseraten von 41% in placebokontrollierten Studien³⁹³ wurde nur eine Verringerung der P- bzw. D-Werte um mindestens 50% als Behandlungserfolg gewertet.

2.1.2.2 Die CGI-Skala (Clinical Global Impressions Scale)

Bei der CGI-Skala³⁹⁴ handelt es sich um eine Fremdbeurteilungsskala, deren Anwendung durch den behandelnden Arzt zur Einschätzung des aktuellen Schweregrad der Krankheit (CGI 1 bzw. CGI-S), der Zustandsänderung eines Patienten (CGI 2 bzw. CGI-I) sowie des therapeutischen Wirksamkeitsindex (CGI 3, Verhältnis aus gewünschten und unerwünschten Arzneimittelwirkungen) dient (siehe Anhang A.1.2).

Alle Patienten mit CGI 2-Werten von zwei oder drei nach vier Wochen Behandlungsdauer wurden als Responder eingestuft, alle Patienten mit CGI 2-Werten zwischen vier und acht wurden demzufolge als Non-Responder gewertet.

2.1.2.3 DOTES-Skala (Dosage Record and Treatment Emergent Symptom Scale)

Der behandelnde Psychiater dokumentierte mit Hilfe einer modifizierten Form der DOTES-Skala³⁹⁴ Nebenwirkungen, die während der 4-wöchigen Therapie auftraten und wie stark die Beeinträchtigung betreffender Patienten durch die aufgetretenen Begleitsymptome war (siehe Anhang A.1.3).

Patienten, die gar nicht oder sehr wenig unter Nebenwirkungen litten, wurden als nebenwirkungs-negativ gewertet, Patienten, die mäßig oder deutlich beeinträchtigt wurden als nebenwirkungs-positiv eingestuft.

2.2 Analyse genetischer Polymorphismen

2.2.1 Material

Tabelle 2 **Verwendete Reagenzien**

Reagenz	Anbieter
Agarose PeqGold Universal	PeqLab – Biotechnologie GmbH, Erlangen
Aqua DeltaSelect Spüllösung (steril)	Delta Select GmbH, Dreieich
Bovine Serum Albumine (für PCR) 20 mg/ml	Roche, Mannheim
Bovine Serum Albumine (für enzymat. Verdau) 10mg/ml	New England BioLabs GmbH, Frankfurt am Main
DNA-Leiter 1kbplus (100 bp - 12 kbp)	
DNA-Leiter 50 bp (50 bp – 800 bp)	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
DNA-Leiter Quantitas (50 bp - 2 kbp) und (25 bp - 500 bp)	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
Dimethylsulfoxid (DMSO)	PeqLab – Biotechnologie GmbH, Erlangen
dNTP-Mix	PeqLab – Biotechnologie GmbH, Erlangen
Ethidiumbromid, 1 %-ig (wäßrige Lösung)	Merck KGaA, Darmstadt
Gel-Ladepuffer 6x Konzentrat, Typ1	Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Steinheim
Hybridisierungssonden	TIB MOLBIOL Syntheselabor GmbH, Berlin
LightCycler-DNA Master HybProbe	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
LightCycler-FastStart DNA Master HybProbe	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
MasterAmp 2x PCR PreMixes D, J, K	EPICENTRE Biotechnologies (Vertrieb: Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf)
MgCl ₂ (25mM)	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Mineralöl	Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Steinheim
NEB-Puffer 1, 2, 3 und 4 für Restriktionsendonukleasen	New England BioLabs GmbH, Frankfurt am Main
Primer	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Restriktionsendonukleasen	New England BioLabs GmbH, Frankfurt am Main
Taq DNA Polymerase	Qbiogene (Vertrieb: MP Biomedicals, Heidelberg)
TBE-Puffer 10x UltraPure™	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Wizard Genomic DNA Purification Kit	Promega GmbH, Mannheim

Tabelle 3 Verwendete Geräte

Gerät	Anbieter
Zentrifuge 5415 C	Eppendorf , Hamburg
Circomix-Vortexer	Braun, Melsungen
GeneAmp PCR System 9700 PE	Applied Biosystems, Weiterstadt
LightCycler Kapillaren	Roche, Mannheim
LightCycler	Roche, Mannheim
LightCycler-Karussellzentrifuge	Roche, Mannheim
Mupid-2 Mini Gel Migration Trough	Cosmo Bio Co, LTD, Offenbach
Photoprint OO-IP-010.SD	LTF Labortechnik, Wasserburg
Pipettenspitzen 10 µl, 30 µl, 100 µl, 200 µl und 1000 µl	PeqLab, Erlangen und Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
Sempercure Edition, puderfreie Latexhandschuhe	Semperit Technische Produkte GmbH, Wien, Austria
Sempercure NITRIL, puderfreie Untersuchungshandschuhe	Semperit Technische Produkte GmbH, Wien, Austria
Thermal Printer DPU-414	Seiko Instruments GmbH, Neu-Isenburg
Thermomixer 5433	Eppendorf, Hamburg
Thermostat 5310	Eppendorf, Hamburg
ThermoTube PCR Tubes 0,2 ml	PeqLab, Erlangen
Eppendorf-Cups (1,5 ml, 200 µl)	Eppendorf, Hamburg
Eppendorf-Cup Ständer	Eppendorf, Hamburg
Video Copy Processor P91	Mitsubishi Digital Electronics, Ratingen
Waage 1702 MP 8	Sartorius AG, Göttingen
Wasserbad	Memmert GmbH, Schwabach

Tabelle 4 Verwendete Software

Software	Anbieter
Primer 3 Software	Whitehead Institute for Biomedical Research
NEBcutter	New England Biolabs Inc.
BLAST	National Center for Biotechnology Information
LightCycler® Probe Design Software	Idaho Technology Inc.
LightCycler® Software 3.5 und 4.05	(Vertrieb: Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) Roche Diagnostics GmbH, Mannheim

2.2.2 DNA-Extraktion

Die zum Nachweis der genetischen Variationen der Patienten verwendete DNA wurde mit Hilfe eines Extraktionskits (Wizard Genomic DNA Purification Kit, Promega) aus den in EDTA-Blut-Proben enthaltenen Leukozyten gewonnen. Dazu wurden jedem Patienten bei Aufnahme in die Studienpopulation 2,7 ml Blut in einer Sarstedt-Monovette® EDTA abgenommen und dieses entsprechend den Herstellerangaben zweifach extrahiert. Es wurden jeweils 300 µl EDTA-Blut verwendet, aus welchem abhängig von der Leukozytenzahl jedes Patienten ein DNA-Extrakt mit einer Konzentration von 50-150ng/µl erhalten wurde. Die so gewonnene DNA wurde direkt für Genotypisierungsreaktionen weiterverwendet. Die Lagerung eines Aliquots der DNA-Extrakte und des EDTA-Bluts erfolgte bei -70°C. Ein zweites Aliquot der DNA-Proben, welches zur Genotypisierung genutzt wurde, lagerte zwischenzeitlich bei 4-8°C, um eine Schädigung des Materials durch häufiges Auftauen und Gefrieren zu vermeiden.

2.2.3 Genotypisierung mittels konventioneller Polymerasekettenreaktion am Thermocycler

Die Polymerasekettenreaktion dient zur in vitro-Vervielfältigung bestimmter DNA-Abschnitte und ist damit sowohl die Grundlage für den Nachweis genetischer Veränderungen, als auch³⁹⁵ für andere Anwendungen wie die Klonierung von Genen und den Nachweis verschiedener Krankheitserreger. Benötigt werden neben der zu vervielfältigenden DNA als Vorlage zwei Primer (Oligonukleotide) mit einer Länge zwischen 16 und 30 Basenpaaren, die sich komplementär an das 5'- und 3'-Ende der Zielsequenz anlagern. Weiterhin sind zum Aufbau eines neuen DNA-Stranges die vier verschiedenen Desoxyribonukleosid-Triphosphat-Bausteine und eine thermostabile DNA-Polymerase notwendig. Für optimale Reaktionsbedingungen wird außerdem eine Pufferlösung verwendet, die meist Kalium- und Magnesiumchlorid enthält, wobei hierbei die Kalium- und Magnesiumionen entscheidend für die Stabilität und Aktivität der DNA-Polymerase sind und deren Konzentration für jede Reaktion spezifisch ist.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Reaktionen bestehen aus 30-40 Zyklen, die jeweils einem 3-stufigen Temperaturgradienten unterliegen. Initial wird der Reaktionsansatz bis zu zehn Minuten einer Temperatur von 94-95°C ausgesetzt, um die Doppelstrang-DNA durch das Aufbrechen von Wasserstoffbrückenbindungen in Einzelstränge zu überführen und um gegebenenfalls sogenannte Hot Start-Polymerasen (2.2.6) zu aktivieren. Zu Beginn jedes Zyklus wird der DNA-Doppelstrang bei 94-95°C nochmals wenige Sekunden denaturiert. Anschließend kommt es für 20-30 Sekunden zur spezifischen Anlagerung der Primer an die komplementären DNA-Einzelstränge, zum sogenannten Annealing. Dies geschieht bei einer Temperatur, die zwischen fünf und zehn Kelvin niedriger als die Schmelztemperatur der Primer ist. Bei der Schmelztemperatur liegen 50% der Primer an die DNA-Einzelstränge gebunden vor. Im nächsten Schritt kommt es zur Elongation, bei der die DNA-Polymerase beginnend am 3'-Ende des angelagerten Primers komplementär zum vorliegenden DNA-Strang in 3'-5'-Richtung Nukleotide zu einem neuen DNA-Strang zusammenfügt. Der Vorgang dauert etwa 30 Sekunden bei einer Zielsequenzlänge von 500 Basenpaaren und ist außerdem abhängig von der verwendeten DNA-Polymerase. Diese bestimmt auch die Reaktionstemperatur, welche bei der Verwendung einer Taq-Polymerase bei 72°C liegt. Nach dem letzten Zyklus wird ein abschließender Elongationsschritt über drei bis 15 Minuten durchgeführt, um eine vollständige Amplifikation zu gewährleisten. Die Menge des entstehenden PCR-Produkts ist abhängig von der Anzahl der durchgeführten Zyklen n und beträgt theoretisch 2^n . Tatsächlich werden nur 70-80% dieser theoretischen Produktmenge gebildet, da während der Reaktion unspezifische Nebenprodukte (z.B. Primer-Dimere) entstehen und es durch zeitweise hohe Temperaturen während der Denaturierungsphasen zur Degradation thermolabiler Reagenzien (Nukleotide, DNA-Polymerase) kommt, welche für die DNA-Vervielfältigung dann nicht mehr zur Verfügung stehen.

Abhängig vom zu untersuchenden Polymorphismus gibt es im Anschluss an eine Thermocycler-PCR verschiedene Detektionsmöglichkeiten. Handelt es sich um sogenannte Insertions- und Deletionspolymorphismen mit ausreichend großen Längenunterschieden oder Variable Number Tandem Repeats (VNTR), so lassen sich die amplifizierten DNA-Abschnitte ohne weitere Reaktionsschritte auf Grund ihrer verschiedenen Länge mittels Gelelektrophorese unterscheiden. Liegt in der Zielsequenz ein Austausch einer einzelnen Base (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) vor, so ist der Nachweis durch enzymatischen Verdau mittels geeigneter Restriktionsendonukleasen und anschließender Gelelektrophorese oder Anwendung einer allelspezifischen PCR möglich.

2.2.3.1 Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese ermöglicht die Auftrennung von Protein-, DNA- oder RNA-Gemischen. Für DNA und RNA wird Agarosegel als Trägermedium verwendet. In einem elektrischen Feld wandern die Nukleinsäurestränge abhängig von ihrer Länge unterschiedlich schnell und auf Grund ihrer negativen elektrischen Ladung zur Anode. Durch das im Agarosegel enthaltene Ethidiumbromid können die durch die Auftrennung entstandenen DNA-Banden unter Absorption von UV-Strahlung sichtbar gemacht werden. Das durch Interkalation in die DNA eingelagerte Ethidiumbromid fluoresziert durch die energetische Anregung bei 595 nm. Mittels zusätzlich auf das Agarosegel aufgetragener DNA-Längenmarker, welche DNA-Fragmente bekannter Größe enthalten, ist die durch Vergleich die Identifizierung bzw. Differenzierung der aufgetragenen Proben-DNA möglich. Außerdem werden bei jedem Gellauf jeweils eine Leerkontrolle und eine Positivkontrolle pipettiert, um eine eindeutige Zuordnung der DNA-Banden zu garantieren. Die Konzentrationen der in dieser Arbeit verwendeten Agarosegele und die aufgetragenen Probenmengen sind unter 2.2.8 und 2.2.9 aufgeführt.

2.2.3.2 Enzymatischer Verdau mittels Restriktionsendonukleasen

Restriktionsendonukleasen sind Enzyme, die DNA an bestimmten Positionen schneiden können. Spezifische DNA-Sequenzen von vier bis sechs Basenpaaren, dienen dem Enzym zur Identifizierung der zu schneidenden Stelle. Befindet sich in dieser Basenabfolge ein SNP, so erfolgt der Schnitt nur bei der Sequenz, die das für das Enzym notwendige Erkennungsmuster enthält. Auf diese Weise lassen sich die verschiedenen Genotypen durch eine anschließende Gelelektrophorese nachweisen. Die in dieser Arbeit verwendeten Restriktionsendonukleasen wurden mit Hilfe des Programms NEBcutter bestimmt³⁹⁶ und sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5 Restriktionsendonukleasen

Bezeichnung des Restriktionsenzym	Herkunft (Erstisolierung)	Erkennungssequenz und Schnittstelle	Polymorphismus
Acil	<i>Arthrobacter citreus</i>	5'...C [^] C G C...3' 3'...G G C [^] G...5'	rs242941
Alul	<i>Arthrobacter luteus</i>	5'...A G [^] C T...3' 3'...T C [^] G A...5'	rs2522833
BstEII	<i>Bacillus stearothermophilus</i> ET	5'...G [^] G T N A C C...3' 3'...C C A N T G [^] G...5'	rs2270007
BtsCI	<i>Bacillus thermosphaericus</i>	5'...G G A T G N N [^] ...3' 3'...C C T A C [^] N N...5'	rs1449683
Hgal	<i>Haemophilus gallinarum</i>	5'...G A C G C (N) ₅ [^] ...3' 3'...C T G C G (N) ₁₀ [^] ...5'	rs1801282
MspI	<i>Moraxella species</i>	5'...C [^] C G G...3' 3'...G G C [^] C...5'	rs1057868
NciI	<i>Neisseria cinerea</i>	5'...C C [^] S G G...3' 3'...G G S [^] C C...5'	rs7305115
NheI	<i>Neisseria mucosa heidelbergensis</i>	5'...G [^] C T A G C...3' 3'...C G A T C [^] G...5'	rs1176713
Tsp45I	<i>Thermus species</i> YS45	5'... [^] G T S A C...3' 3'...C A S T G [^] ...5'	rs1799836

2.2.3.3 Allelspezifische PCR

Steht für einen Einzelbasenaustausch kein geeignetes Restriktionsenzym zur Verfügung, so kann der Nachweis mit Hilfe von Primern geschehen, die nur zur Amplifikation eines bestimmten Allels führen. Entweder der Vorwärts- oder der Rückwärtsprimer trägt dabei am 3'-Ende das zum Wildtyp- bzw. Mutationsallel komplementäre Nukleotid.³⁹⁷ Ein PCR-Produkt entsteht nur, wenn der betreffende Primer genau komplementär zur Sequenz der Proben-DNA ist. Es wird abhängig vom verwendeten Primer also entweder die Wildtyp- oder die Mutationsvariante vervielfältigt. Auf Grund der Spezifität der Primer muss die Reaktion in getrennten Ansätzen erfolgen. Die entstehenden Amplikons sind

mittels einer anschließenden Gelelektrophorese nachweisbar, wenn im betreffenden Reaktionsansatz die Sequenz vorhanden ist, die mit dem spezifischen Primer amplifiziert werden kann. Um die Bildung unspezifischer Produkte zu vermeiden, sollte die Annealingtemperatur ausreichend hoch gewählt werden.

2.2.4 Sondenbasierte Genotypisierung mittels Polymerasekettenreaktion am LightCycler

Auf Grund der hohen Heiz- und Kühlraten (bis zu 20 K/s) von LightCycler-Geräten und der damit verbundenen kurzen Zyklusdauer (20 bis 60 s) gelingt die Durchführung einer PCR wesentlich schneller als mit herkömmlichen Thermocyclern. Durch die Zugabe von fluoreszenzmarkierten Sonden zum Reaktionsansatz (wie unter 2.2.3 angegeben) ist es möglich die Amplifikation der Proben-DNA in Echtzeit zu verfolgen. Weiterhin werden so die Genotypisierung und auch Quantifizierung der eingesetzten DNA in direktem Anschluss an die Amplifikation ermöglicht, wodurch weitere Arbeitsschritte zur Detektion eingespart und das Kontaminationsrisiko minimiert werden können. Der LightCycler 2.0 verfügt über fünf verschiedene Detektionskanäle, die zur Messung der von angeregten Sonden emittierten Fluoreszenz verschiedener Wellenlängen (530nm, 610nm, 640nm, 670nm und 705nm) dienen. Zur Genotypisierung können zwei Arten von Sonden zum Einsatz kommen: Hydrolyse- (TaqMan-) Sonden und Hybridisierungssonden. Das Detektionsprinzip beider Sondenarten basiert auf dem sogenannten FRET (Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer).

Mit TaqMan-Sonden erfolgt die sogenannte Endpunktbestimmung (siehe Abbildung 2). Diese Oligonukleotide, die mit einem Quencher und mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sind (A), lagern sich komplementär an die Zielsequenz der Proben-DNA an (B) und werden während der Elongation durch die Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase hydrolysiert (C). Dabei nimmt die Fluoreszenzintensität des Reporterfarbstoffes zu (D), da diese durch den Quencher vorher solange unterdrückt wird, wie die Sonde in Lösung oder an die Proben-DNA gebunden intakt vorliegt. Die Messung der Fluoreszenz erfolgt in jedem PCR-Zyklus am Ende der Elongation und ist proportional zur Anzahl der vorhandenen DNA-Stränge, weshalb TaqMan-Sonden auch zur quantitativen Analyse herangezogen werden.³⁹⁴ Die Anzahl der benötigten TaqMan-Sonden richtet sich nach der Zahl der vorliegenden Allelvarianten.

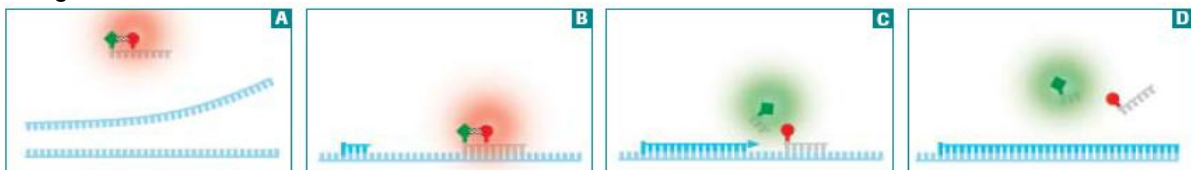


Abbildung 2 Schematische Darstellung des Taqman-Formats (nach ³⁹⁸)

Die Genotypisierung mit Hybridisierungssonden erfolgt über Schmelzkurvenanalytik (siehe Abbildung 3). Beim Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer wird der an einer Ankersonde gebundene Donorfarbstoff Fluorescein durch Absorption von Licht mit einer Wellenlänge von 470nm in einen energetisch angeregten Zustand versetzt (A). Dieser ist damit in der Lage, einen Teil seiner Anregungsenergie auf den benachbarten (3-5 Basenpaare Abstand) Akzeptorfarbstoff - gebunden an einem zweiten Oligonukleotid (Sensorsonde) - zu übertragen. Der Akzeptorfarbstoff emittiert nachfolgend abhängig von seiner Struktur Licht in den oben angegebenen Wellenlängen (B). Dies kann nur geschehen, wenn beide Sonden an die Proben-DNA gebunden sind. Bei steigender Temperatur während der Schmelzkurvenanalyse kommt es wieder zur Ablösung des Sondenpaares von der Proben-DNA (C).

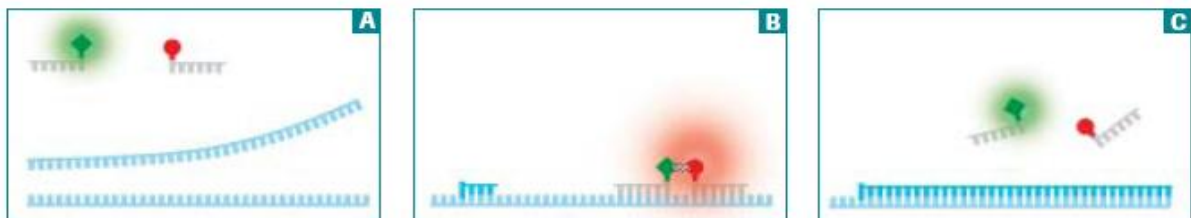


Abbildung 3 Schematische Darstellung des FRET-Prozesses bei Hybridisierungssonden (nach ³⁹⁸)

Eine besondere Form der Hybridisierungssonden sind SimpleProbe-Sonden (siehe Abbildung 4). Sie tragen einen Rezeptorfarbstoff (Fluorescein), der über einen Quencher mit dem Oligonukleotid verbunden ist (A). Auch hier kommt es nur dann zu einem Fluoreszenzsignal, wenn die Sonde an die Zielsequenz gebunden ist (B). Bei in Lösung befindlichen SimpleProbe-Sonden unterdrückt der Quencher die Emission (A, C und D). Auch hier verursacht eine Temperaturerhöhung die Ablösung der Sonde vom Amplikon (D).

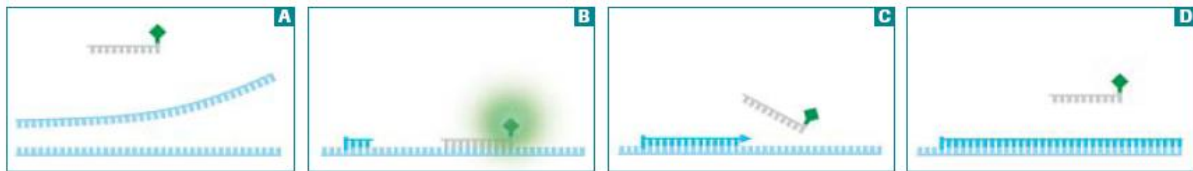


Abbildung 4 Schematische Darstellung des FRET-Prozesses bei SimpleProbe-Sonden (nach ³⁹⁸)

Es genügen zwei Hybridisierungssonden oder eine SimpleProbe-Sonde zur Typisierung eines Polymorphismus unabhängig von der Zahl der Varianten, vorausgesetzt die Unterschiede zwischen den Schmelztemperaturen (T_m) der entstehenden Sonden-DNA-Duplexe sind ausreichend groß (> 5 K). Bei der Schmelztemperatur eines solchen Komplexes sind noch 50% der Sonden an die Ziel-DNA gebunden. Sie bildet den Wendepunkt der Schmelzkurve, die entsteht, wenn die Fluoreszenzintensität gegen die Temperatur aufgetragen wird. Bei der Darstellung der ersten negativen Ableitung der Funktion dienen die Maxima zur Feststellung der Schmelztemperaturen der Sonden-DNA-Duplexe und somit zur Detektion der Genotypen. Grundlage dafür ist die Abhängigkeit der thermischen Stabilität der Sonden-DNA-Duplexe von ihrer Länge, dem G:C-Gehalt und der Sequenzfolge.³⁹⁹ Die Ausprägung der Stabilitätsänderung hängt von der Art der Fehlpaarung, ihrer Position und benachbarten Basenpaaren ab. So sind SNPs, die von G:C-Paaren flankiert werden durch die stärkere Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen stabiler als solche, die von A:T-Paaren umgeben sind. Nachfolgend ist die empirisch ermittelte Basenpaarstabilität für Sonden-DNA-Duplexe in abnehmender Stabilität aufgeführt:

G:C > A:T > G:T ≥ G:A > T:T ≥ G:G > A:A ≥ C:C > C:T > C:A .

Durch die fünf unterschiedlichen Detektionswellenlängen ist die gleichzeitige Bestimmung mehrerer Polymorphismen in einem Ansatz möglich (Multiplexbestimmung).

2.2.5 Konstruktion der verwendeten Primer und Sonden

2.2.5.1 Konstruktion der Primer

Anhand der jeweils zu vervielfältigenden DNA-Sequenz (verfügbar über die NCBI-Datenbank⁴⁰⁰), wurden mit Hilfe eines speziellen Programms⁴⁰¹ passende Primerpaare für jeden Polymorphismus konstruiert bzw. nach Überprüfung ihrer Basenfolge und Spezifität aus Publikationen übernommen.

Bei der Konstruktion von Primern sind einige wichtige Faktoren zu berücksichtigen. So wurden Primerlängen zwischen 16 und 25 Basenpaaren (bp) gewählt, um einerseits eine ausreichende Spezifität und andererseits eine hohe Anlagerungseffektivität zu gewährleisten. Weiterhin wurde ein GC-Gehalt von 40-60% mit einer gleichmäßigen Verteilung über die gesamte Primerlänge angestrebt, um eine gleichförmige Anlagerung der Primer an die Zielsequenz zu erreichen. Der Unterschied zwischen den Schmelztemperaturen (T_m) von Vorwärts- und Rückwärtsprimern, die in dieser Arbeit verwendet wurden liegt bei maximal 4 K. Die Schmelztemperatur eines Primers ist die Temperatur bei der noch 50% der gesamten Primermenge an die Zielsequenz gebunden vorliegt. Die T_m -Differenz zwischen den Primern eines Paares sollte aber 5 K nicht überschreiten, da sonst keine optimale Annealingtemperatur für beide Oligonukleotide festgelegt werden kann. Somit entstünden bei niedriger Annealingtemperatur unspezifische Produkte durch Fehlanlagerung des bei höheren Temperaturen schmelzenden Primers und bei hoher Anlagerungstemperatur kein oder nur wenig Produkt, da die T_m des anderen Primers bereits überschritten ist. Auch in Experimenten, die zur gleichzeitigen Amplifikation verschiedener DNA-Sequenzen dienen, waren die T_m aller Primerpaare etwa gleich, um eine bevorzugte Vervielfältigung eines bestimmten Abschnittes zu verhindern. Auf Grund ihres häufigen Vorkommens im Genom wurden repetitive und Palindrom-Sequenzen vermieden. Die Primer wurden außerdem hinsichtlich der Ausbildung von Haarnadelstrukturen und Primer-Dimeren überprüft, da diese die Effektivität einer PCR durch Aneinanderlagern komplementärer Sequenzabschnitte eines Primers bzw. die Ausbildung von Nebenprodukten durch Amplifikation der Primersequenzen erheblich mindern können (an 3'-Enden komplementäre Primer). Die Spezifität der konstruierten Primer wurde mittels des sogenannten BLAST (Basic Local Alignment Tool) bestätigt.⁴⁰² Dabei wurden die Sequenzen der Primer mit denen des menschlichen Genoms verglichen und nur Primerpaare zur Amplifikation verwendet, die nachweislich spezifisch für die Zielsequenz waren.

Der Anhang A.4 gibt einen Überblick über die Basenfolgen, Schmelztemperaturen der für die Genotypisierung genutzten Primer sowie die Länge der entstehenden PCR-Produkte.

Die Primer wurden in einer Konzentration von 25 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 40 $\mu\text{mol/l}$ verwendet, wobei das gelieferte Lyophilisat in einem entsprechenden Volumen sterilen Wassers gelöst wurde. Nach Aliquotierung wurden die Primerlösungen bei -20°C aufbewahrt.

2.2.5.2 Konstruktion der Sonden

Für die in dieser Arbeit angewandten Genotypisierungsmethoden wurden FRET-basierte Hybridisierungssonden verwendet (Funktionsprinzip siehe 2.2.4). Die Oligonukleotidpaare und SimpleProbe[®]-Sonden wurden mit Hilfe der LightCycler[®] Probe Design Software, anhand der Zielsequenzen, der theoretisch kalkulierten Schmelztemperaturen⁴⁰³ und der nachfolgend aufgeführten Auswahlkriterien entwickelt.³⁹⁹ Da es während der PCR zu einer Bindungskonkurrenz zwischen Primern und Sonden kommt, müssen letztere so konstruiert sein, dass sie eine 5-10 K höhere Schmelztemperatur als die Primer (oder zumindest höher als die des konkurrierenden Primers am gleichen DNA-Strang) besitzen. Idealerweise sollten die Sonden weit entfernt von den Primern am gleichen DNA-Strang lokalisiert sein. Die T_m der Sonden sollte außerdem nicht mehr als 5 K über der Elongationstemperatur liegen, um die Amplifikation durch die DNA-Polymerase nicht zu behindern. Zur Detektion von Sequenzvariationen muss die Ankersonde eine zwischen 5-10 K größere T_m als die Sensorsonde besitzen, welche die polymorphe Stelle überlagert. Dabei sollte die zum Polymorphismus komplementäre Base mindestens 4 Basen vom Sondenende entfernt sein. Die Sonden wurden gemäß der unter 2.2.4 angegebenen Basenpaarstabilität so konstruiert, dass die Temperaturverschiebung durch eine Basenfehlpaarung möglichst groß war (5-9 K).

Der Abstand zwischen Donor- und Akzeptorfarbstoff eines Sondenpaares sollte zwischen 10-50 Å (\approx 1-5 bp) liegen, um eine Fluoreszenzlöschung durch sterische Behinderung zu vermeiden und eine ausreichende Energieübertragung gewährleisten zu können. Wie Primer sollten auch Sonden über eine ausgeglichene Verteilung aller Basen über die gesamte Sequenzlänge verfügen, da Regionen mit hoher Bindungsstärke (z.B. GC-Cluster) zur Anlagerung an anderen Stellen als der Zielsequenz

führen können. Komplementäre Sequenzen innerhalb der Sonden wie z.B. Palindrome können zu Sonden-Dimeren führen und die Menge an freier Sonde erniedrigen. Sind Abschnitte der Sequenzen von Donor- und Akzeptorsonde zueinander komplementär, können diese durch Aneinanderlagern ein falschpositives Fluoreszenzsignal erzeugen. Besonders wichtig ist es außerdem, eine Komplementarität zwischen Primern und Sonden zu verhindern. Um der Produktion von Primer-Sonden-Dimeren vorzubeugen, eignet sich die 3'-Phosphorylierung der Sonden gegen eine Verlängerung durch die DNA-Polymerase, falls diese Position nicht bereits mit Fluorescein oder einem Akzeptorfarbstoff belegt ist.

Die SONDENSPEZIFITÄT wurde wie die der Primer durch einen Sequenzabgleich mittels des BLAST-Programms überprüft.⁴⁰²

Der Anhang A.4 gibt einen Überblick über die Basenfolgen und Schmelztemperaturen der für die Genotypisierung genutzten Sonden.

Nach Rekonstitution der lyophilisierten Sonden mit sterilem Wasser zu einer Konzentration von 3 μM und anschließender Aliquotierung wurden diese bis zur Verwendung lichtgeschützt bei -20°C aufbewahrt.

2.2.6 Optimierung der PCR-Bedingungen

Um eine möglichst hohe Effektivität und Spezifität der Genotypisierungsreaktionen zu erzielen, wurden diese entsprechend optimiert. Neben den oben angegebenen Kriterien für die Primer- und Sondauswahl (2.2.4 und 2.2.5) sind passende Temperatur- und Pufferbedingungen entscheidend für eine erfolgreiche Amplifikation und Detektion.⁴⁰⁴

Die Annealingtemperatur und -zeit wurden so gewählt, dass eine effiziente Vervielfältigung der Zielsequenz möglich war, die Entstehung unspezifischer und damit effektivitätsmindernder Nebenprodukte aber unterbunden wurde.

Für jede Reaktion wurden unterschiedliche Magnesium-Ionen-Konzentrationen und Puffer getestet. Das zweifach positiv geladene Magnesium-Ion beeinflusst die Anlagerung der Primer an die DNA-Stränge und ist ein Cofaktor für die DNA-Polymerase. Zu hohe Magnesium-Ionen-Konzentrationen stabilisieren allerdings die Doppelstrang-DNA und behindern so die Synthese. Weiterhin kommt es durch Fehlpaarungen und der Entstehung von Nebenprodukten zu Spezifitäts- und Effektivitätsverlusten. Die Mg^{2+} -Endkonzentration pro Ansatz sollte zwischen 1 – 4,5mM liegen. In Multiplex-Ansätzen wurden zum Teil höhere Gesamtkonzentrationen verwendet.

Zur Reaktionsverstärkung wurden, wenn nötig Betain (*N,N,N*-Trimethylglycin), Dimethylsulfoxid oder Bovines Serumalbumin (BSA) eingesetzt. Betain und DMSO reduzieren durch die Destabilisierung GC-reicher DNA-Abschnitte deren Schmelztemperatur auf das Niveau AT-reicher Regionen. Dies führt zu einer schnelleren Elongation und einem höheren Gehalt an fehlerfreien PCR-Produkten. BSA dient zur Absättigung der Oberflächen der Reaktionsgefäße und vermeidet die Adsorption der DNA-Polymerase an diese Stellen, welche für die PCR sonst nicht mehr zur Verfügung stünde.

Alternativ zum Zusatz von Reaktionsverstärkern oder in Kombination mit ihnen wurde das Prinzip einer Hot Start-Reaktion angewandt. Diese dient zur Erhöhung von Spezifität, Sensitivität und Effektivität der PCR. Die in dieser Arbeit verwendete FastStart Taq-DNA-Polymerase (enthalten im LightCycler[®] Fast Start DNA Master HybProbe-Mix) muss zu Beginn der Reaktion in einem Inkubationsschritt (bei 95°C über 10 min) zunächst aktiviert werden. Dabei werden die bei dieser Polymerase zusätzlich vorhandenen hitzelabilen Blockierungsgruppen an bestimmten Aminosäureresten des Enzyms abgetrennt, welche bei Raumtemperatur eine Elongation mit unspezifisch gebundenen Primern unterdrücken. Auch die bei herkömmlichen DNA-Polymerasen vorhandene 5'-3'-Exonukleaseaktivität, die auch bei Raumtemperatur zum Abbau von Primern und Zielsequenz führt, wird damit unterdrückt.^{395,404}

Auf Grund der breiten Emissionsspektren der verschiedenen Akzeptorfarbstoffe kommt es bei Multiplex-Anwendungen zu einer spektralen Überschneidung. Um Fehler bei der Zuordnung der Genotypen zu den Schmelzkurvenmaxima zu verhindern, müssen die entstehenden Nebensignale mittels einer sogenannten Color Compensation beseitigt werden. Dazu wurde mit den verwendeten Sonden und der LightCycler-Software jeweils eine Kalibrierung gemäß den Herstellerangaben durchgeführt.⁴⁰⁵

Neben den genannten Aspekten sind zusätzlich passende Sonden-, Primer-, Desoxyribonukleosid-Triphosphat- und DNA-Polymerasen-Konzentrationen für das Gelingen einer PCR ausschlaggebend. Die zur Genotyp-Detektion verwendeten Sonden wurden orientiert an den Herstellerangaben (TIB MOLBIOL, Berlin) in Endkonzentrationen von 0,075 bis 0,12 μ M, die Primer in Endkonzentrationen zwischen 0,25 und 1 μ M eingesetzt. Ein Überschuss an Primern ist notwendig, um die Bindung an die Zielsequenz zu gewährleisten und den komplementären DNA-Strang verdrängen zu können. Ein zu hoher Primer-Gehalt hat allerdings die Bildung von Nebenprodukten und Primer-Dimeren zur Folge. Der Anteil an unspezifischen Nebenprodukten steigt ebenso beim Einsatz zu hoher Nukleotid- und DNA-Polymerase-Konzentrationen (> 400 μ M/Nukleotid und Reaktion bzw. > 2 Einheiten/Reaktion).

Alle Methoden zum Nachweis der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen sind mit Konzentrationsangaben und den Reaktionsbedingungen unter 2.2.8 und 2.2.9 aufgeführt.

2.2.7 Allgemeine Durchführung einer Genotypisierungsreaktion

Nachfolgend ist der Ablauf der Arbeitsschritte dargestellt, welche mittels der oben angegebenen Methoden zum Nachweis von Sequenzvariationen dienen:

Alle in den PCR-Protokollen unter 2.2.8 und 2.2.9 aufgeführten Komponenten (bis auf die zu untersuchende DNA) wurden bei -20°C gelagert. Nach dem Auftauen wurden diese (bis auf DNA-Polymerasen und Restriktionsenzyme) gevortext, zentrifugiert, in den angegebenen Mengen in ein steriles 1,5 ml-Eppendorf-Cup pipettiert und gut vermischt. Um für jede DNA-Probe eine ausreichende Menge zur Verfügung zu haben, wurde bei jeder Reaktion Stocklösung für $n+1$ Proben angesetzt. Die in den Protokollen angegebene Menge Stocklösung wurde anschließend in 200 μl -Eppendorf-Cups (für PCR am Thermocycler) bzw. 20 μl -LightCycler-Kapillaren (für PCR am LightCycler) vorgelegt und 1-2 μl DNA (abhängig vom PCR-Protokoll) hinzugegeben. Um eine Veränderung des Gehalts der Reaktionskomponenten durch Verdunstung von Wasser zu verhindern, wurden die Reaktionslösungen für die Thermocycler-PCR mit einem Tropfen Mineralöl überschichtet. Die LightCycler-Kapillaren wurden nach dem Verschließen nochmals zentrifugiert. Anschließend wurden die Reaktionsgefäße in die entsprechenden Geräte eingesetzt und die DNA-Proben wie unter 2.2.3 und 2.2.4 beschrieben genotypisiert.

Unabhängig von der Amplifikationsmethode wurde immer eine Leerkontrolle mitgeführt, um fehlerhafte Ergebnisse durch Kontamination mit probenfremder DNA auszuschließen. Weiterhin wurde parallel immer eine Positivkontrolle amplifiziert, die den untersuchten Polymorphismus in hetero- oder homozygoter Form enthält. Für allelspezifische PCRs (2.2.3.3) wurden für jede DNA-Probe auf Grund der Verwendung zweier unterschiedlicher Vorwärts- oder Rückwärtsprimer zwei Reaktionsgefäße benötigt.

Zur Detektion mittels Verdau durch Restriktionsendonukleasen (2.2.3.2) wurden alle Komponenten der Stocklösung (s. PCR-Protokolle unter 2.2.8 und 2.2.9) in ein steriles Eppendorf-Cup pipettiert, vermischt und zentrifugiert. Jeweils 10 μl dieser Reaktionslösung wurden in einem neuen Eppendorf-Cup mit 10 μl PCR-Produkt versetzt, mit Mineralöl überschichtet und gemäß der für das verwendete Restriktionsenzym nötigen Reaktionsbedingungen (New England Biolabs, Frankfurt) im Thermoblock inkubiert. Die entstandenen Fragmente wurden wie die Produkte der vorangegangenen PCR mittels Gelelektrophorese nachgewiesen (2.2.3.1). Die dazu nötigen Agarosegele wurden gemäß den Herstellerangaben aus PeqGold Universalagarose und 1x TBE-Puffer (UltraPure™ 10x TBE Puffer 1:10 verdünnt) in Konzentrationen bis 3% (m/V) hergestellt. Der Lösung wurde eine definierte Menge Ethidiumbromid (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) im Verhältnis 1:10000 zugesetzt. Nach der Gelierung wurde das Gel mit 1x TBE Puffer überschichtet und die mit Gel-Ladepuffer (5:1) versetzten DNA-Fragmente (bis zu 10 μl) in die Geltaschen pipettiert. Nach der Auftrennung der PCR- bzw. Verdau-Produkte im Mupid-Gelelektrophoresesystem wurden die Banden auf den Gelen unter Absorption von UV-Strahlung und anschließender Fluoreszenzemission mit Hilfe der Photoprint-Station sichtbar gemacht und fotografisch dokumentiert.

2.2.8 Nachweis genetischer Polymorphismen im pharmakokinetischen Bereich

2.2.8.1 CYP2C19*17 (rs12248560)

Das CYP2C19*17-Allel ist eines der vier Hauptallelvarianten des CYP2C19-Gens und führt bei homozygotem Auftreten zu einer erhöhten metabolischen Aktivität des Enzyms.¹⁵³⁻¹⁵⁸ Die Allelhäufigkeit dieser CYP2C19-Variante beträgt circa 20% in der europäischen Bevölkerung.^{153,158} Das CYP2C19*17-Allel ist durch zwei SNPs (-806C>T, -3402C>T) charakterisiert, welche in einem 100%-igen Kopplungsungleichgewicht (sogenanntes linkage disequilibrium) zueinander stehen. Als Ursache für die gesteigerte Enzymaktivität wird eine durch den Austausch von Cytidin zu Thymin an Position -806 verursachte höhere Anbindung von Nukleoproteinen und damit verbundene erhöhte Gentranskription diskutiert.¹⁵³ Zum Nachweis dieses Basenaustausches wurden eine LightCycler-PCR-Methode und eine allelspezifische PCR (Tabelle 6 und Tabelle 7) entwickelt und wie in Kapitel 2.2 beschrieben durchgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt. Die Primer für die LightCycler-Methode (siehe Tabelle 6) wurden aus der Veröffentlichung von Sim et al.¹⁵³ übernommen.

Tabelle 6 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560)

Temperaturprogramm			
95°C/10 min; 40x(95°C/10 s, 52°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/3 s, 45°C/30 s→65°C/3s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	14,8		
MgCl ₂	0,8	25mM	3,5mM ¹
Primer 2C19-1.1kb	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2C19-0.6kb	0,4	25µM	0,5µM
Sonde 2C19*17-SP	0,5	3µM	0,075µM
LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe	2,0	10x	1x
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 472bp PCR-Produkts bei 530nm:			
Wildtyp-Peak (C): 59,5°C Mutations-Peak (T): 52,5°C			

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

Die SimpleProbe-Sonde ist komplementär zum Wildtyp-Allel und der Basenaustausch führt zu einer Verschiebung der Schmelztemperatur um 7 K zu 52,5°C. Die abhängig vom CYP2C19*17-Genotyp entstehenden Schmelzkurven sind in Abbildung 5 dargestellt.

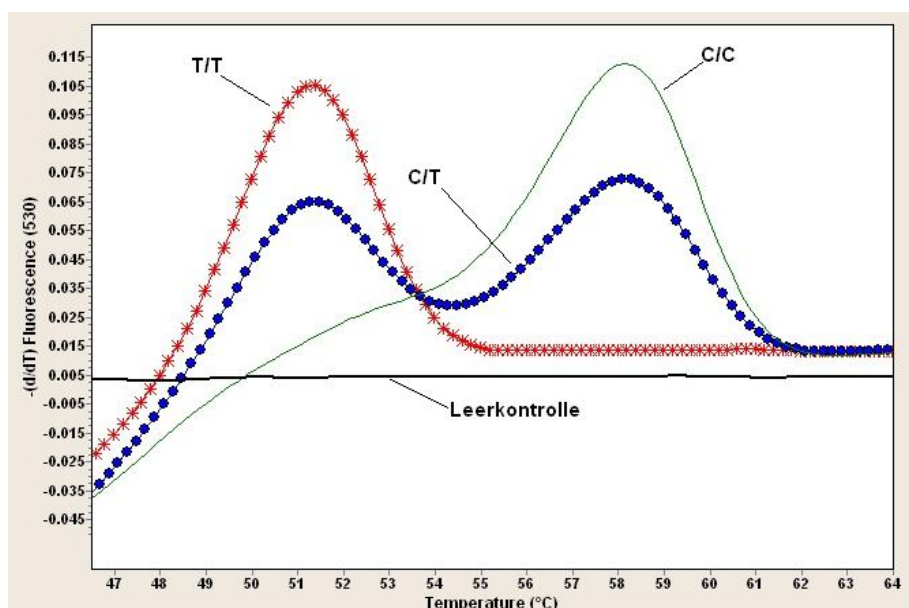


Abbildung 5 Schmelzkurven des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560)

Die allelspezifische Thermocycler-PCR (Tabelle 7) diente zur Überprüfung der Methode am LightCycler. Bei der Vermessung von 150 Proben zeigten sich keine Differenzen zwischen den Genotypisierungsergebnissen beider Anwendungen. Die Konstruktion der Primer erfolgte wie unter Punkt 2.2.5.1 beschrieben. PCR-Produkte (203 bp) entstanden nur, wenn das zum vorhandenen allelspezifischen Vorwärtsprimer passende Allel im entsprechenden Ansatz auch vorlag. Diese wurden in einer anschließenden Gelelektrophorese nachgewiesen (Abbildung 6).

Tabelle 7 Protokoll der allelspezifischen PCR am Thermocycler zum Nachweis des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560)

Temperaturprogramm			
94°C/3 min; 25x(94°C/30 s, 50°C/20 s, 72°C/30 s); 72°C/3 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,9 (WT) bzw. 7,3 (MUT)		
MgCl ₂ (nur MUT-PCR)	0,5	25mM	2,125mM ¹
Primer 2C19F-806wt bzw.	0,4	25µM	0,5µM
Primer 2C19F-806mut	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2C19 R-806	0,3	25µM	0,375µM
Premix D	10,0	2x	1x
Taq-Polymerase	0,4	5 U/µl	2U
Summe	18,0 (WT) bzw. 19,0 (MUT)		
DNA-Einsatz	2,0 (WT) bzw. 1,0 (MUT)		

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

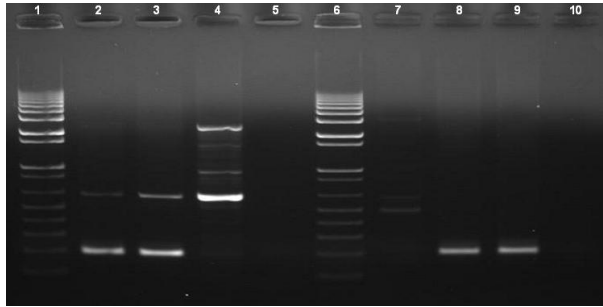


Abbildung 6 Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560);

Banden 1+6: 1kbpplus DNA-Leiter, **Banden 2-5:** Primer 2C19F-806wt, **Banden 7-10:** Primer 2C19F-806mut

Genotypen:

Banden 2+7: C/C-homozygot (Wildtyp), **Banden 3+8:** C/T-heterozygot, **Banden 4+9:** T/T-homozygot, **Banden 5+10:** Leerkontrollen (Agarosegel 1,5 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und -spannung: 30 min bei 100V)

2.2.8.2 POR*28 (rs1057868)

Bei dem hier untersuchten POR-Polymorphismus kommt es mit einer Allelhäufigkeit von etwa 26% (kaukasischen Bevölkerung)¹⁹⁹ in Position 31696 des POR-Gens zu einem Austausch von Cytidin zu Thymin, was zu einem Aminosäureaustausch (Alanin → Valin) an Stelle 503 des Proteins führt. Die Primer für den Nachweis des SNPs am LightCycler (Vorwärtsprimer: 1057868-F, Rückwärtsprimer: 1057868-R; Tabelle 8) wurden aus einer Publikation von Hart et al⁴⁰⁶ übernommen.

Tabelle 8 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des POR*28-Polymorphismus (rs1057868)

Temperaturprogramm			
95°C/10 min; 40x(95°C/10 s, 52°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/3 s, 40°C/30 s → 70°C/3 s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 10 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	5,6		
MgCl ₂	0,3	25mM	4,13mM ¹
Primer 1057868-F	0,2	25µM	0,5µM
Primer 1057868-R	0,3	25µM	0,75µM
Sonde 1057868-anc	0,25	3µM	0,075µM
Sonde 1057868-sen	0,25	3µM	0,075µM
DMSO 5% (V/V)	0,5	5% (V/V)	0,25% (V/V)
LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe	1,5	10x	1,5x
Summe	9,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 566bp-PCR-Produkts bei 705nm:			
Wildtyp-Peak (C): 59°C Mutations-Peak (T): 51,5°C			

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

Die Ankersonde ist in 3'-Position mit Fluorescein als Donorfarbstoff markiert. Die Sensorsonde trägt LightCycler Red 705 in 5'-Position und ist komplementär zum Wildtyp-Allel. Die Lage der Maxima der Schmelzkurve ermöglicht eine eindeutige Zuordnung der Genotypen (Detektionsprinzip siehe 2.2.4 Abbildung 3). Beim Vorliegen von Thymin kommt es zu einer Schmelzpunktverschiebung um 7,5 K auf 51,5°C (Abbildung 7). Die Methoden wurden wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt und die Sequenzen aller verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt.

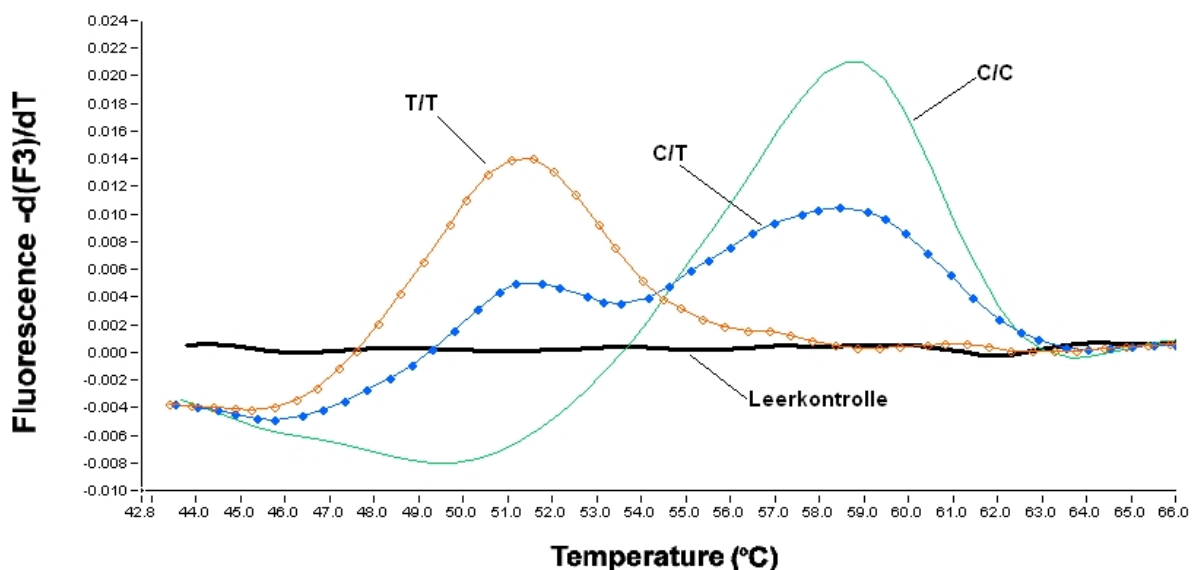


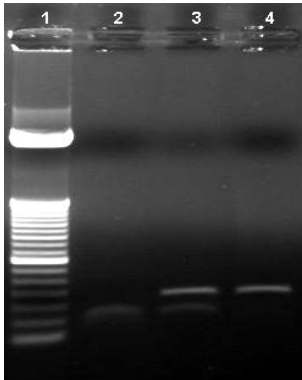
Abbildung 7 Schmelzkurven des POR*28-Polymorphismus (rs1057868)

Um die Anzahl der beim enzymatischen Verdau entstehenden Fragmente zu verringern, wurde ein Rückwärtsprimer konstruiert, der zusammen mit dem auch im LightCycler-Ansatz verwendeten Vorwärtsprimer zu einem PCR-Produkt mit nur 172 bp Länge führt (Protokoll siehe Tabelle 9).

Tabelle 9 Protokoll der Thermocycler-PCR mit anschließendem enzymatischen Verdau zum Nachweis des POR*28-Polymorphismus (rs1057868)

Temperaturprogramm			
94°C/3 min; 35x(94°C/30 s, 58°C/20 s, 72°C/30 s); 72°C/3 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	5,9		
MgCl ₂	0,8	25mM	2,5mM ¹
Primer 1057868-F	0,5	25µM	0,625µM
Primer 1057868-R TC	0,5	25µM	0,625µM
DMSO 5% (V/V)	1,0	5% (V/V)	0,2% (V/V)
Premix D	10,0	2x	1x
Taq-Polymerase	0,3	5 U/µl	1,5 U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		
¹ Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid			
Enzymatischer Verdau des 172bp-PCR-Produktes über 2h bei 37°C			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	7,0		
Puffer NEB4	2,0	10x	1x
Enzym Ncil	1,0	20000U/ml	16 U
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		

Das Restriktionsenzym NciI schneidet das C-Allel (Wildtyp) in zwei Fragmente zu 97 bp und 75 bp, die mittels Gelelektrophorese nachweisbar sind (Abbildung 8). Bei der Überprüfung der durch die LightCycler-Methode gewonnenen Genotypisierungsergebnisse von 150 Proben mittels dieser Methode zeigte sich eine 100%-ige Übereinstimmung.



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: C/C-homozygot (Wildtyp, 97 bp + 75 bp (nur schwach sichtbar)),

Bande 3: C/T-heterozygot (172 bp, 97 bp + 75 bp),

Bande 4: T/T-homozygot (172 bp)

(Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

Abbildung 8 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1057868-Polymorphismus entstehen

2.2.8.3 ABCB1 (rs2235015 und rs2032583)

Die beiden Polymorphismen im ABCB1-Gen (auch MDR1-Gen) führen in Intron 4 zu einem G→T- (rs2235015) bzw. zu einem T→C-Austausch in Intron 13 (rs2032583). Die Primer und Sonden für diese Duplex-Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut. Mit Hilfe der LightCycler-PCR (Tabelle 10) können beide Polymorphismen nach Durchführung einer Color Compensation (siehe Kapitel 2.2.6) gleichzeitig innerhalb von 42 min nachgewiesen werden. Die Sensorsonde über rs2235015 ist komplementär zum Wildtyp-Allel, die Sensorsonde, die rs2032583 überspannt ist hingegen komplementär zum Mutations-Allel.

Tabelle 10 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der ABCB1-Polymorphismen (rs2235015 und rs2032583)

Temperaturprogramm			
95°C/60; 38x(95°C/10 s, 52°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/30 s, 44°C/30 s→75°C/0 s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	2,9		
MgCl ₂	0,5	25mM	2,125mM
Primer 2032583-F	0,6	25µM	0,75µM
Primer 2032583-R	0,6	25µM	0,75µM
Primer 2235015-F	0,4	25µM	0,5µM
Primer 2235015-R	0,7	25µM	0,875µM
Sonde 2032583-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 2032583-sen	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 2235015-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 2235015-sen	0,5	3µM	0,075µM
Premix D	10	2x	1x
Bovines Serumalbumin	0,5	20mg/ml	0,5 µg/µl
Taq Polymerase	0,3	5 U/µl	1,5 U
Summe	18,5		
DNA-Einsatz	1,5		
Fluoreszenzdetektion des 384bp-PCR-Produkts (rs2032583) bei 640nm: Wildtyp-Peak (T): 57,5°C Mutations-Peak (C): 62,5 °C			
Fluoreszenzdetektion des 244bp-PCR-Produkts (rs2235015) bei 705nm: Wildtyp-Peak (G): 63,8°C Mutations-Peak (T): 59,8°C			

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

Die Schmelzpunktmaxima der beiden Wildtyp-Allele liegen bei 63,8°C (rs2235015) bzw. 57,5°C (rs2032583). Die Schmelztemperaturen der Sonden-Mutations-Allel-Duplexe liegen bei 59,8°C (rs2235015) bzw. 62,5°C (rs2032583) (Abbildung 9 und Abbildung 10).

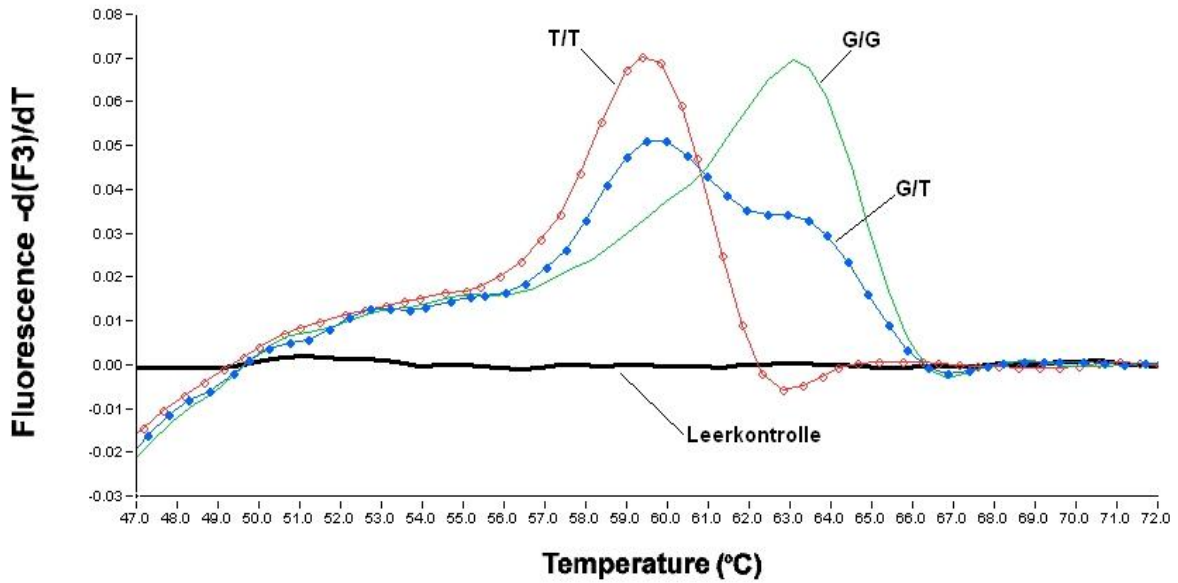


Abbildung 9 Schmelzkurven des ABCB1-Polymorphismus rs2235015

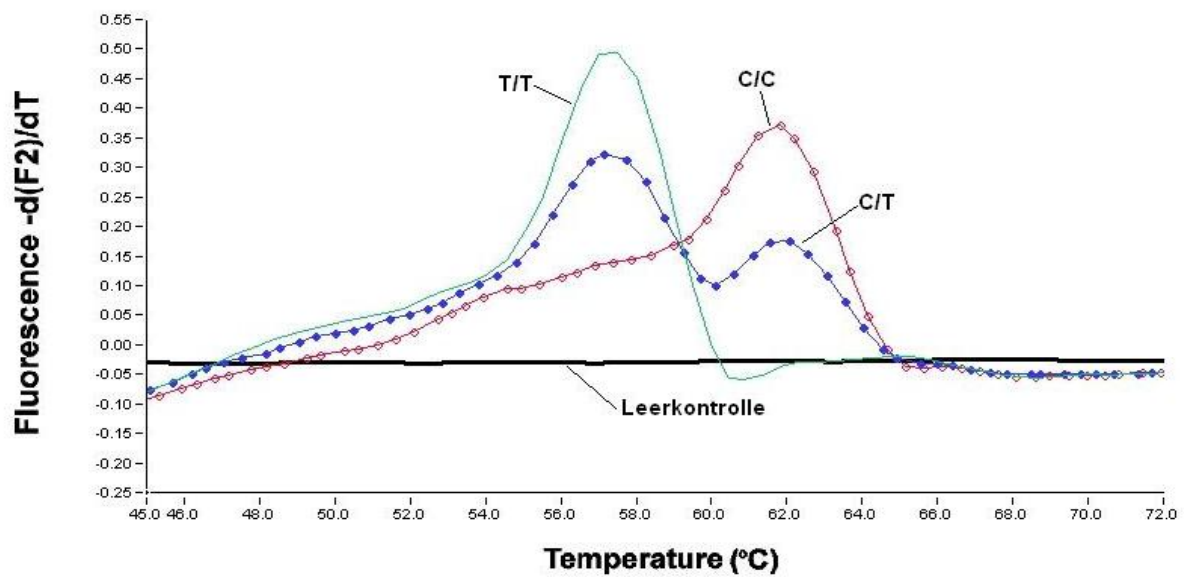


Abbildung 10 Schmelzkurven des ABCB1-Polymorphismus rs2032583

Die allelspezifische Thermocycler-PCR (Tabelle 11) diente zur Überprüfung der Methode am LightCycler. Bei der Vermessung von 150 Proben zeigten sich keine Differenzen zwischen den Genotypisierungsergebnissen beider Anwendungen. Die Konstruktion der Primer erfolgte wie unter Punkt 2.2.5.1 beschrieben. PCR-Produkte (120 bzw. 191 bp) entstanden nur, wenn das zum vorhandenen allelspezifischen Vorwärtsprimer passende Allel im entsprechenden Ansatz auch vorlag. Diese wurden in einer anschließenden Gelelektrophorese nachgewiesen (Abbildung 11).

Tabelle 11 Protokoll der allelspezifischen PCR Thermocycler-PCR zum Nachweis der ABCB1-Polymorphismen (rs2235015 und rs2032583)

Temperaturprogramm 94°C/3 min; 40x(94°C/30 s, 57°C/20 s, 72°C/20 s); 72°C/3 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,3		
MgCl ₂	0,4	25mM	2 mM ¹
Primer 2032583-F C bzw.	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2032583-F T	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2235015-F G bzw.	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2235015-F T	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2032583-R	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2235015-R	0,5	25µM	0,625µM
Premix D	10,0	2x	1x
Taq Polymerase	0,3	5 U/µl	1,5 U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

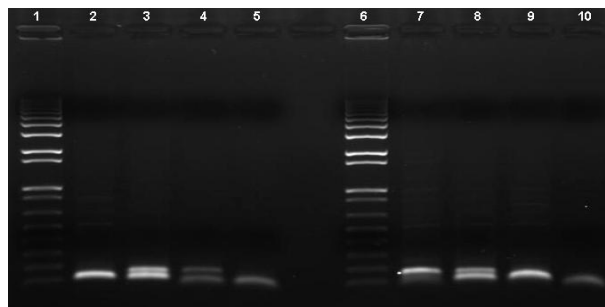


Abbildung 11 Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung der ABCB1-Polymorphismen rs2235015 und rs2032583; Produktlängen: 120 bzw. 191 bp

Banden 1+6: 1kbp plus DNA-Leiter, Banden 2-5: Primer 2032583-F C und Primer 2235015-F G, Banden 7-10: Primer 2032583-F T und Primer 2235015-F T

Genotypen:

Banden 2+7: G/G-homozygot (Wildtyp rs2235015) und T/T-homozygot (Wildtyp rs2032583), Banden 3+8: G/T-heterozygot (rs2235015) und T/C-heterozygot (rs2032583), Bande 4+9: C/C-homozygot (rs2032583) und T/T-homozygot (rs2235015), Banden 5+10: Leerkontrollen, unter 100 bp: Primerdimere (Agarosegel 1,5 %, 7µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und -spannung: 30 min bei 100V)

2.2.8.4 CYP2D6*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *41, *1XN, *2XN, *4XN

Die Bestimmung der verschiedenen CYP2D6-Genotypen erfolgte mittels bereits etablierter Methoden wie unter ^{124,407,408} beschrieben.

2.2.8.5 CYP2C19*2, *3, *4

Die Bestimmung des CYP2C19*2-, *3- und *4-Allels erfolgte mittels bereits etablierter Methoden wie unter ⁴⁰⁹ beschrieben.

2.2.8.6 CYP1A2*1F

Die Bestimmung des CYP1A2*1F-Allels erfolgte mittels einer bereits etablierten Methoden wie unter ⁴⁰⁹ beschrieben.

2.2.9 Nachweis genetischer Polymorphismen im pharmakodynamischen Bereich

2.2.9.1 CRHR1 (rs242941 und rs110402) und CRHR2 (rs2270007)

Das Gen für den Corticotropin-Releasing-Hormon-Rezeptor 1 (CRHR 1) liegt auf Chromosom 17q21.31, das für den Corticotropin-Releasing-Hormon-Rezeptor 2 hingegen auf Chromosom 7p14.3.³⁶⁹ Die Polymorphismen im CRHR1-Gen führen zu einem G→T-Austausch in Intron 5 (rs242941) und zu einem C→T-Austausch in Intron 6 (rs110402). Der SNP im CRHR2-Gen führt zu einem C→G-Austausch in Intron 3. Die Primer und Sonden für diese Triplex-Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut. Mit Hilfe der LightCycler-PCR (Tabelle 12) können die Polymorphismen nach Durchführung einer Color Compensation (siehe Kapitel 2.2.6) gleichzeitig innerhalb von 44 min nachgewiesen werden.

Tabelle 12 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der CRHR1- und CRHR2-Polymorphismen (rs242941, rs110402, rs2270007)

Temperaturprogramm			
95°C/3 min, 40x(95°C/10 s, 59°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/30 s, 40°C/30 s→70°C/0 s (0,15 K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 25 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	14,5		
MgCl ₂	1,5	25 mM	4,0 mM ¹
Primer 242941-F	0,5	40 µM	0,375 µM
Primer 242941-R	0,5	40 µM	0,375 µM
Primer 110402-F	0,5	40 µM	0,375 µM
Primer 110402-R	0,5	40 µM	0,375 µM
Primer 2270007-F	0,5	40 µM	0,375 µM
Primer 2270007-R	0,5	40 µM	0,375 µM
Sonde 242941-anc	0,5	3 µM	0,075 µM
Sonde 242941-sen	0,5	3 µM	0,075 µM
Sonde 110402-anc	0,5	3 µM	0,075 µM
Sonde 110402-sen	0,5	3 µM	0,075 µM
Sonde 2270007-anc	0,5	3 µM	0,075 µM
Sonde 2270007-sen	0,5	3 µM	0,075 µM
LightCycler DNA Master HybProbe	2,0	10x	0,8x
Summe	24,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 162 bp bp-PCR-Produkts (rs242941) bei 610nm:			
Wildtyp-Peak (G): 63,5°C Mutations-Peak (T): 52,8°C			
Fluoreszenzdetektion des 162 bp bp-PCR-Produkts (rs110402) bei 705nm:			
Wildtyp-Peak (C): 60,0°C Mutations-Peak (T): 51,5°C			
Fluoreszenzdetektion des 204 bp-PCR-Produkts (rs2270007) bei 640nm:			
Wildtyp-Peak (C): 62,5°C Mutations-Peak (G): 53,0°C			

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

Die Sensorsonden sind jeweils komplementär zum Wildtyp-Allel. Die Schmelzpunktmaxima der Wildtyp-Allele liegen bei 63,5°C (rs242941), 60,0°C (rs110402) bzw. 62,5°C (rs2270007). Die

Schmelztemperaturen der Sonden-Mutations-Allel-Duplexe liegen bei 52,8°C (rs242941), 51,5°C (rs110402) bzw. 53,0°C (rs2270007) (siehe Abbildung 12, Abbildung 13 und Abbildung 14).

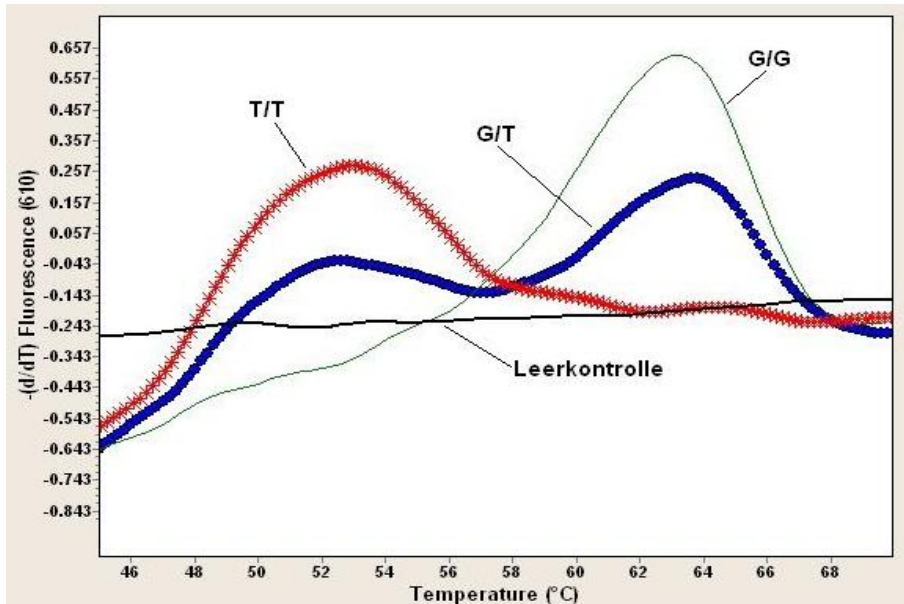


Abbildung 12 Schmelzkurven des CRHR1-Polymorphismus rs242941

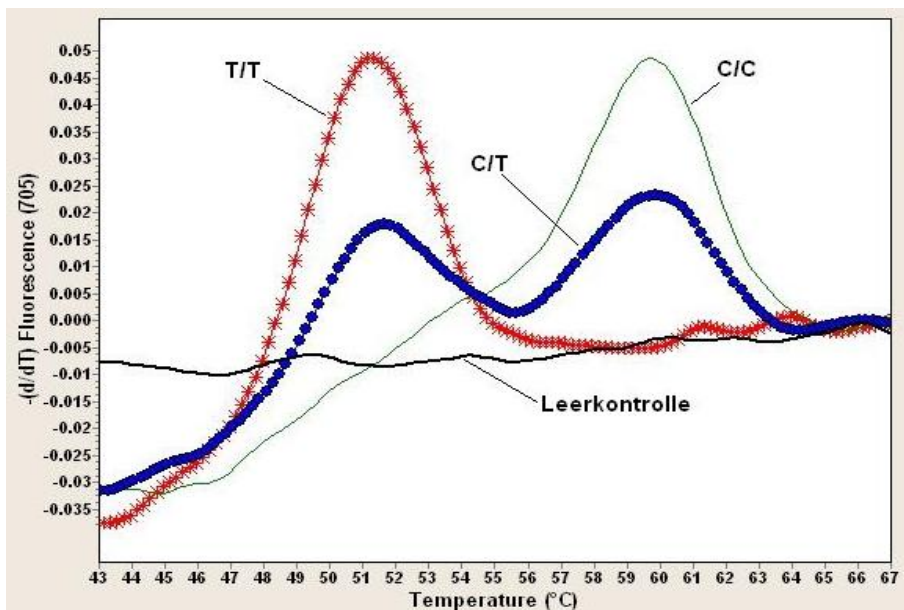


Abbildung 13 Schmelzkurven des CRHR1-Polymorphismus rs110402

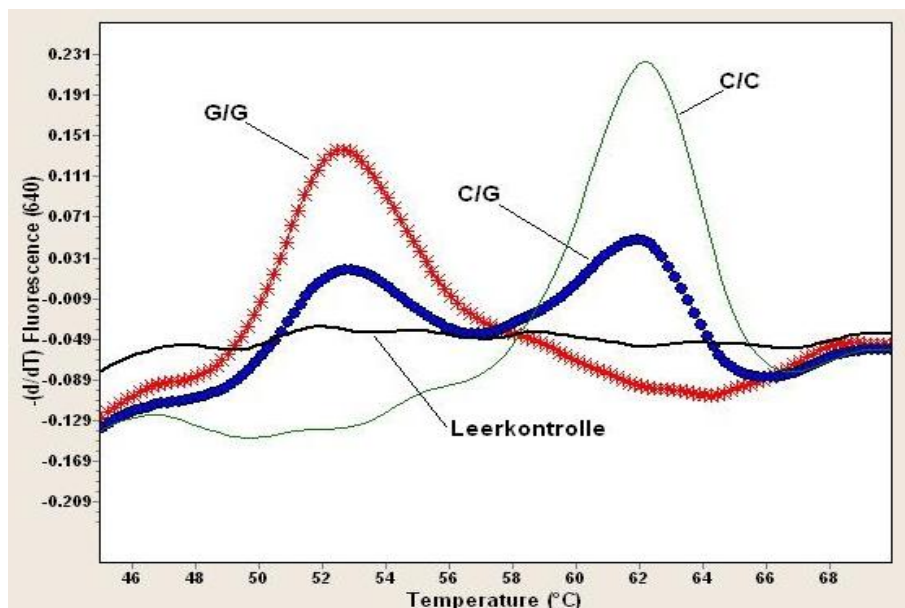
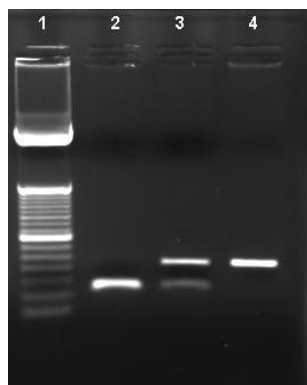


Abbildung 14 Schmelzkurven des CRHR2-Polymorphismus (rs2270007)

Für rs242941 und rs2270007 wurde im Anschluss an die PCR am LightCycler ein enzymatischer Verdau durchgeführt, um die Genotypisierungsergebnisse zu bestätigen (Tabelle 13, Abbildung 15 und Abbildung 16).

Tabelle 13 Enzymatischen Verdau der LightCycler-PCR-Produkte (rs242941 und rs2270007)

Enzymatischer Verdau des 162 bp-PCR-Produkts (rs242941) 2,5 Stunden bei 37°C			
Reagenzien	Menge (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	7,0		
Puffer NEB 3	2,0	10x	1x
Enzym Acil	1,0	10000 U/ml	10
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		
Enzymatischer Verdau des 204 bp-PCR-Produkts (rs2270007) 2 Stunden bei 60°C			
Reagenzien	Menge (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,8		
Puffer NEB 3	2,0	10x	1x
BSA, 100x	0,2	10 mg/mL	2 µg
Enzym BstEII	1,0	10000 U/ml	10
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: C/C-homozygot (Wildtyp, 111 bp + 93 bp (nur schwach sichtbar)),

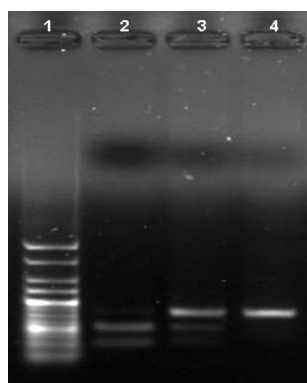
Bande 3: C/G-heterozygot (204 bp, 111 bp + 93 bp),

Bande 4: G/G-homozygot (204 bp)

(Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

(Bei Auftrag der Produkte aus dem Triplex-LightCycler-Ansatz erscheinen bei 162 bp zusätzlich die Banden des rs242941-Amplikons und des rs110402-Amplikons.)

Abbildung 15 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs2270007-Polymorphismus entstehen



Bande 1: 25bp-DNA-Leiter,

Bande 2: G/G-homozygot (Wildtyp, 110 bp + 52 bp),

Bande 3: G/T-heterozygot (162 bp, 110 bp + 52 bp),

Bande 4: T/T-homozygot (162 bp)

(Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

(Bei Auftrag der Produkte aus dem Triplex-LightCycler-Ansatz erscheinen bei 162 bp bzw. 204 bp zusätzlich die Banden des rs110402-Amplikons und des rs2270007-Amplikons.)

Abbildung 16 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs242941-Polymorphismus entstehen

Da für rs110402 kein geeignetes Restriktionsenzym bestimmt werden konnte, wurde hier eine allelspezifische PCR zur Kontrolle herangezogen (Tabelle 14 und Abbildung 17). Bei der Bestimmung von 86 Proben gab es keinerlei Abweichungen zwischen den Methoden. Die Methoden wurden wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt und die Sequenzen aller verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt.

Tabelle 14 Protokoll der allelspezifischen PCR am Thermocycler zum Nachweis des CRHR1-Polymorphismus rs110402

Temperaturprogramm			
94°C/3 min; 40x(94°C/30 s, 63°C/15 s, 72°C/30 s); 72°C/3 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	8,0		
MgCl ₂	0,2	25mM	2,75mM ¹
Primer 110402-F	0,3	25µM	0,5µM
Primer 110402-R G bzw.	0,2	25µM	0,625µM
Primer 110402-R A	0,2	25µM	0,375µM
Premix D	10,0	2x	1x
Taq-Polymerase	0,3	5 U/µl	2U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

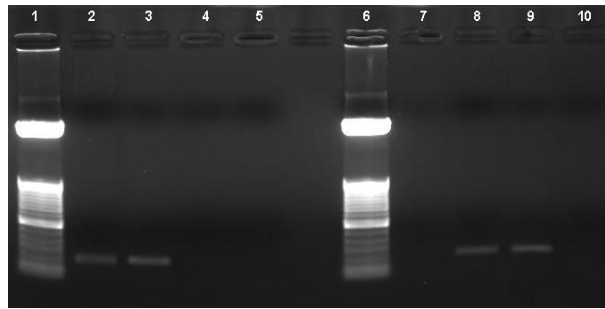


Abbildung 17 Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des CRHR1-Polymorphismus rs110402; Produktlänge: 137 bp

Banden 1+6: 50bp-DNA-Leiter, **Banden 2-5:** Primer 110402-R G, **Banden 7-10:** Primer 110402-R A

Genotypen:

Banden 2+7: C/C-homozygot (Wildtyp), **Banden 3+8:** C/T-heterozygot, **Bande 4+9:** T/T-homozygot, **Banden 5+10:** Leerkontrollen (Agarosegel 1,5 %, 7µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

2.2.9.2 DRD2 (rs2283265 und rs1076560)

Die beiden im Rahmen dieser Arbeit untersuchten SNPs liegen im Intron 3 des Dopamin-Rezeptor D2-Gens. Sie führen beide zu einem G→T-Austausch. Die Primer und Sonden für diese Duplex-Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut. Mit Hilfe der LightCycler-PCR (Tabelle 15) können die Polymorphismen nach Durchführung einer Color Compensation (siehe Kapitel 2.2.6) gleichzeitig innerhalb von etwa 46 min nachgewiesen werden.

Tabelle 15 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der DRD2-Polymorphismen (rs2283265 und rs1076560)

Temperaturprogramm			
95°C/90 s; 40x(95°C/10 s, 52°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/30 s, 38°C/30 s→75°C/0 s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	2,7		
MgCl ₂	1,4	25mM	3,25mM ¹
Primer 2283265-F	0,3	25µM	0,375µM
Primer 2283265-R	0,75	25µM	0,938µM
Primer 1076560-F	0,3	25µM	0,375µM
Primer 1076560-R	0,75	25µM	0,938µM
Sonde 2283265-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 2283265-sen	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 1076560-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 1076560-sen	0,5	3µM	0,075µM
Premix D	10,0	2x	1x
Bovines Serumalbumin	0,5	20mg/ml	0,5 µg/µl
Taq Polymerase	0,3	5 U/µl	1,5 U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 157 bp-PCR-Produkts (rs2283265) bei 640nm:			
Wildtyp-Peak (G): 60,5°C Mutations-Peak (T): 50,0 °C			
Fluoreszenzdetektion des 212 bp-PCR-Produkts (rs1076560) bei 705nm:			
Wildtyp-Peak (G): 58,0°C Mutations-Peak (T): 48,0 °C			

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

Die Sensorsonden sind jeweils komplementär zum Wildtyp-Allel. Die Schmelzpunktmaxima der Wildtyp-Allele liegen bei 60,5 °C (rs2283265) bzw. 58,0 °C (rs1076560). Die Schmelztemperaturen der Sonden-Mutations-Allel-Duplexe liegen bei 50,0 °C (rs2283265) bzw. 48,0 °C (rs1076560) (siehe Abbildung 18 und Abbildung 19).

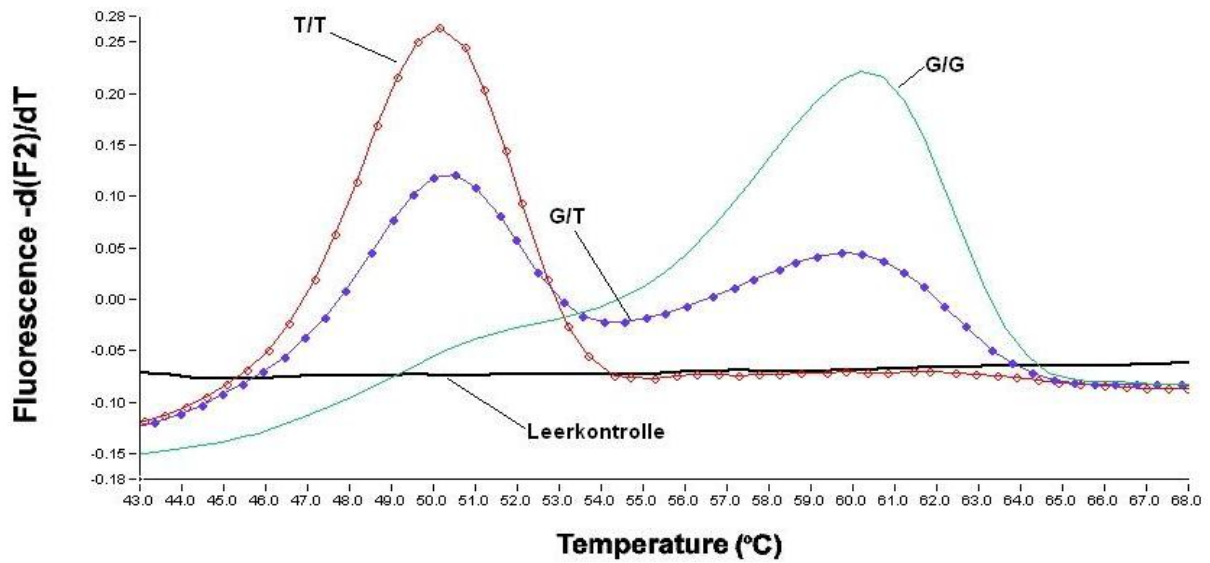


Abbildung 18 Schmelzkurven des DRD2-Polymorphismus rs2283265

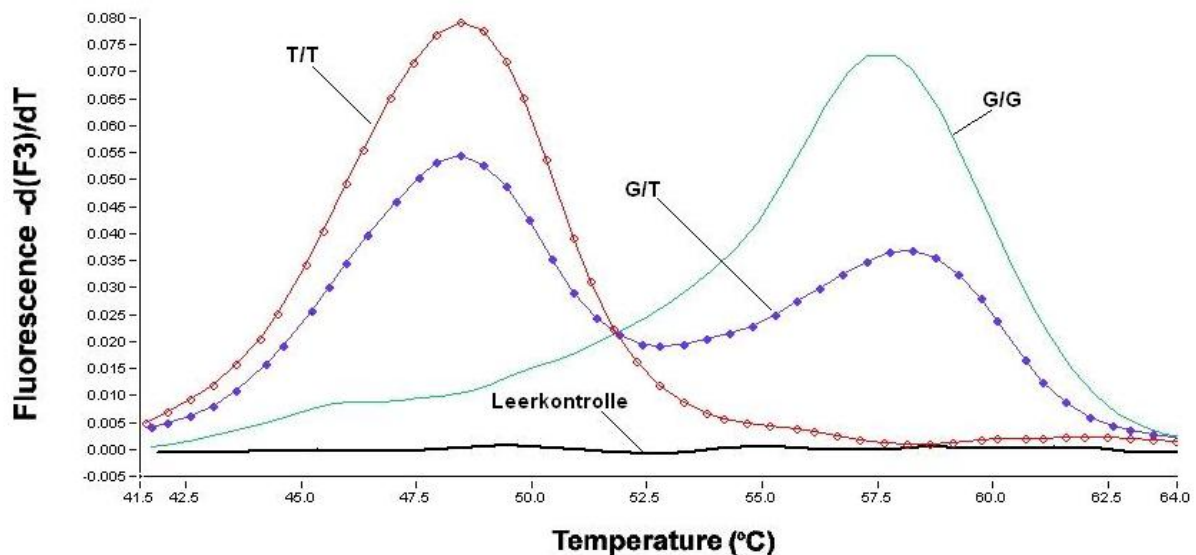


Abbildung 19 Schmelzkurven des DRD2-Polymorphismus rs1076560

Da für die beiden SNPs kein geeignetes Restriktionsenzym bestimmt werden konnte, wurde hier eine allelspezifische PCR zur Kontrolle herangezogen (Tabelle 16 und Abbildung 20). Bei der Bestimmung von 86 Proben gab es keinerlei Abweichungen zwischen den Methoden. Die Methoden wurden wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt und die Sequenzen aller verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt.

Tabelle 16 Protokoll der allelspezifischen PCR Thermocycler-PCR zum Nachweis der DRD2-Polymorphismen (rs2283265 und rs1076560)

Temperaturprogramm 94°C/90 s; 40x(94°C/30 s, 66°C/20 s, 72°C/20 s); 72°C/3 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	4,8		
MgCl ₂	1,4	25mM	3,25mM ¹
Primer 2283265-F G bzw.	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2283265-F T	0,5	25µM	0,625µM
Primer 2283265-R	0,5	25µM	0,625µM
Primer 1076560-F G bzw.	0,5	25µM	0,625µM
Primer 1076560-F T	0,5	25µM	0,625µM
Primer 1076560-R	0,5	25µM	0,625µM
DMSO 5% (V/V)	0,5	5% (V/V)	0,1% (V/V)
Premix D	10,0	2x	1x
Taq Polymerase	0,3	5 U/µl	1,5 U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

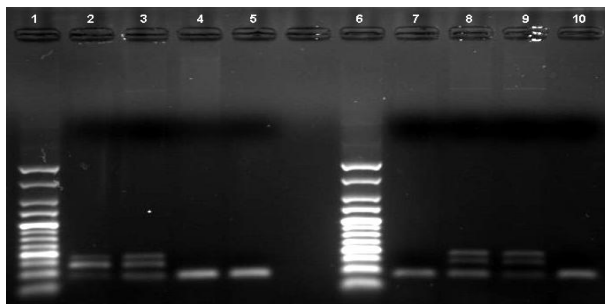


Abbildung 20 Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung der DRD2-Polymorphismen rs2283265 und rs1076560; Produktlängen: 90 bzw. 67 bp

Banden 1+6: 25bp-DNA-Leiter (Quantitas), Banden 2-5: Primer 2283265-F G und Primer 1076560-F G, Banden 7-10: Primer 2283265-F T und Primer 1076560-F T

Genotypen:

Bande 2+7: G/G-homozygot (Wildtypen), Banden 3+8: G/T-heterozygot, Bande 4+9: T/T-homozygot, Banden 5+10: Leerkontrollen, unter 50 bp: Primerdimere (Agarosegel 2,8 %, 10 µl Probe + 1 µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

2.2.9.3 FGF2 (rs1449683 und rs1048201)

Die beiden im Rahmen dieser Arbeit untersuchten SNPs liegen im Exon 1 (rs1449683) und im 3'-untranslatierten Bereich (3'UTR) (rs1048201) des Fibroblast-Growth-Factor 2-Gens (FGF2). Rs1048201 liegt außerdem gleichzeitig im NUDT6-Gen, bei dem es sich um ein Antisense-Gen handelt, welches die Expression von FGF2 reguliert. Sie führen beide zu einem C→T-Austausch. Die Primer und Sonden für diese Duplex-Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut. Mit Hilfe der LightCycler-PCR (Tabelle 17) können die Polymorphismen nach Durchführung einer Color Compensation (siehe Kapitel 2.2.6) gleichzeitig innerhalb von etwa 51 min nachgewiesen werden.

Tabelle 17 Protokoll der LightCycler-PCR mit anschließendem Restriktionsverdau zum Nachweis der FGF2-Polymorphismen

Temperaturprogramm			
95°C/3 min; 40x(95°C/10 s, 59°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/30 s, 40°C/10 s→70°C/0 s (0,05K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	2,9		
MgCl ₂	1,0	25mM	2,75mM ¹
Primer 1449683-F	0,3	25µM	0,375µM
Primer 1449683-R	0,6	25µM	0,75µM
Primer 1048201-F	0,4	25µM	0,5µM
Primer 1048201-R	0,5	25µM	0,625µM
Sonde 1449683-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 1449683-sen	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 1048201-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 1048201-sen	0,5	3µM	0,075µM
Premix J	10,0	2x	1x
DMSO 5% (V/V)	1,0	5% (V/V)	0,2% (V/V)
Taq Polymerase	0,3	5 U/µl	1,5 U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 212 bp-PCR-Produkts (rs1449683) bei 640 nm: Wildtyp-Peak (C): 60,0 °C Mutations-Peak (T): 52,5 °C			
Fluoreszenzdetektion des 240 bp-PCR-Produkts (rs1048201) bei 705nm: Wildtyp-Peak (C): 60,7 °C Mutations-Peak (T): 50,8 °C			
¹ Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix J und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid			
Enzymatischer Verdau des 212 bp-PCR-Produktes (rs1449683) über 1h bei 50 °C			
Reagenzien	Menge (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	7,5		
Puffer NEB4	2,0	10x	1x
Enzym BtsCl	0,5	20000U/ml	10 U
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		

Die Sensorsonden sind jeweils komplementär zum Wildtyp-Allel. Die Schmelzpunktmaxima der Wildtyp-Allele liegen bei 60,0 °C (rs1449683) bzw. 60,7 °C (rs1048201). Die Schmelztemperaturen der Sonden-Mutations-Allel-Duplexe liegen bei 52,5 °C (rs1449683) bzw. 50,8 °C (rs1048201) (siehe Abbildung 21 und Abbildung 22).

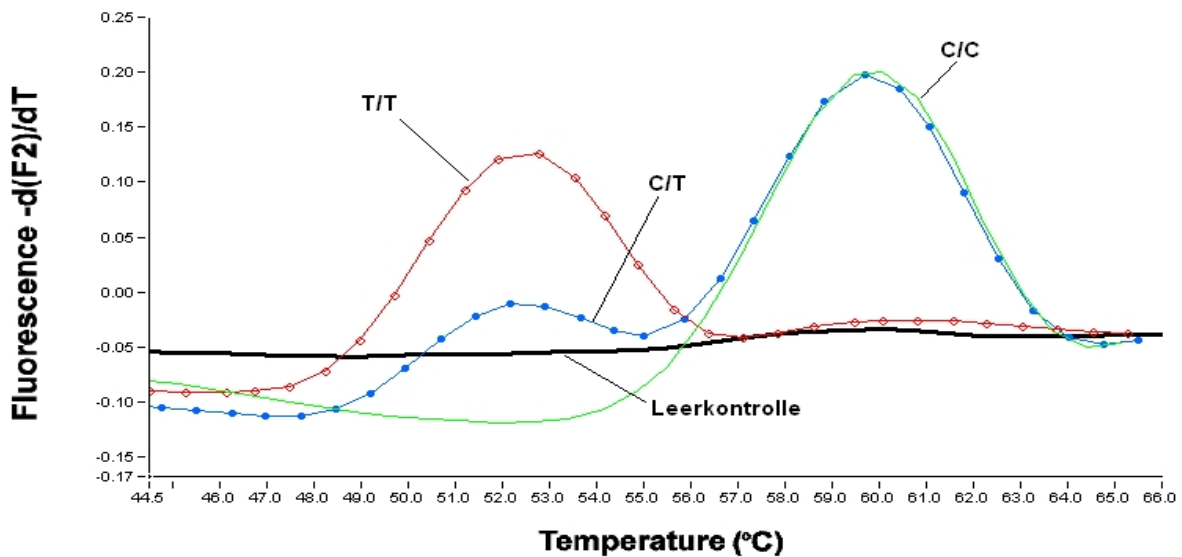


Abbildung 21 Schmelzkurven des FGF2-Polymorphismus rs1449683

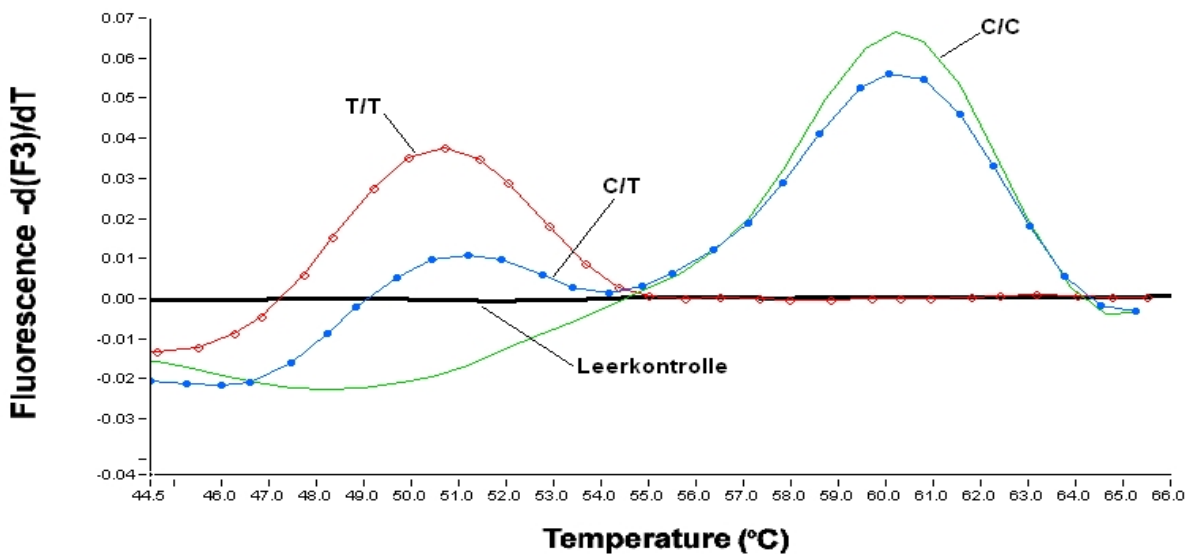
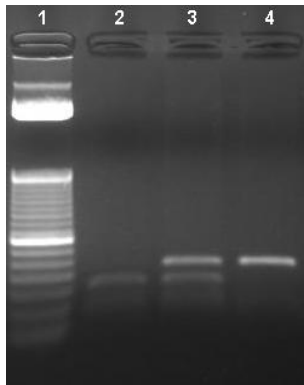


Abbildung 22 Schmelzkurven des FGF2-Polymorphismus rs1048201

Für rs1449683 wurde im Anschluss an die PCR am LightCycler ein enzymatischer Verdau durchgeführt, um die Genotypisierungsergebnisse zu bestätigen (Abbildung 23).



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,
Bande 2: C/C-homozygot (Wildtyp, 139 bp + 73 bp),
Bande 3: C/T-heterozygot (212 bp, 139 bp + 73 bp),
Bande 4: T/T-homozygot (212 bp)
 (Agarosegel 2,5 %, 7µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche,
 Laufzeit und –spannung: 60 min bei 50V)

Abbildung 23 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1449683-Polymorphismus entstehen

Da für rs1048201 kein geeignetes Restriktionsenzym bestimmt werden konnte, wurde hier eine allelspezifische PCR zur Kontrolle herangezogen (Tabelle 18 und Abbildung 24).

Tabelle 18 Protokoll der allelspezifischen PCR Thermocycler-PCR zum Nachweis des FGF2-Polymorphismus rs1048201 (zur Überprüfung der LightCycler-Methode)

Temperaturprogramm			
94°C/3 min; 40x(94°C/30 s, 65°C/15 s, 72°C/30 s); 72°C/4 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	7,4		
MgCl ₂	0,4	25mM	2,0 mM ¹
Primer 1048201-F	0,5	25µM	0,625µM
Primer 1048201-R C bzw.	0,4	25µM	0,5µM
Primer 1048201-R T	0,4	25µM	0,5µM
Premix D	10,0	2x	1x
Taq-Polymerase	0,3	5 U/µl	2U
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

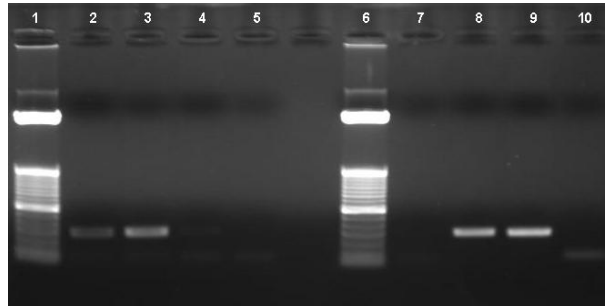


Abbildung 24 Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des FGF2-Polymorphismus rs1048201; Produktlänge: 190 bp

Banden 1+6: 50bp-DNA-Leiter, Banden 2-5: Primer 1048201-R C, Banden 7-10: Primer 1048201-R T

Genotypen:

Banden 2+7: C/C-homozygot (Wildtyp), Banden 3+8: C/T-heterozygot, Banden 4+9: T/T-homozygot, Banden 5+10: Leerkontrollen (Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

Bei der Bestimmung von 86 Proben gab es keinerlei Abweichungen zwischen den Methoden. Die Methoden wurden wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt und die Sequenzen aller verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt.

2.2.9.4 5-HTR3A (rs1176713)

Dieser synonyme SNP ist durch einen A→G-Austausch im Exon 1 des 5-Hydroxytryptamin-Rezeptor 3A-Gens charakterisiert. Zum Nachweis dieses Basenaustausches wurden eine LightCycler-PCR-Methode mit anschließendem Verdau durch ein Restriktionsenzym (Tabelle 19) entwickelt und wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt. Die Primer und die Sonde für diese Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut.

Tabelle 19 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des 5-HTR3A-Polymorphismus (rs1176713) mit anschließendem enzymatischen Verdau

Temperaturprogramm			
95°C/10 min; 40x(95°C/10 s, 58°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/3 s, 30°C/30 s→60°C/3 s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 10 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	7,05		
MgCl ₂	0,2	25mM	3,0mM ¹
Primer 1176713-F	0,25	25µM	0,25µM
Primer 1176713-R	0,25	25µM	0,625µM
Sonde 1176713-SP	0,25	3µM	0,075µM
LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe	1,0	10x	1x
Summe	9,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 407 bp-PCR-Produkts (rs1176713) bei 530nm:			
Wildtyp-Peak (A): 61,8°C Mutations-Peak (G): 55,2 °C			
¹ Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid			
Enzymatischer Verdau des 407bp-Produktes über Nacht bei 37 °C			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,8		
Puffer NEB2	2	10x	1x
BSA, 100x	0,2	10 mg/mL	2 µg
Enzym NheI	1	10000U/ml	10U
Summe	10		
PCR-Produkt	10		

Die SimpleProbe-Sonde ist komplementär zum Wildtyp-Allel und der Basenaustausch führt zu einer Verschiebung der Schmelztemperatur um 6,6 K zu 55,2°C. Die abhängig vom rs1176713-Genotyp entstehenden Schmelzkurven sind in Abbildung 25 und die durch den nachfolgenden enzymatischen Verdau entstehenden Fragmente in Abbildung 26 dargestellt.

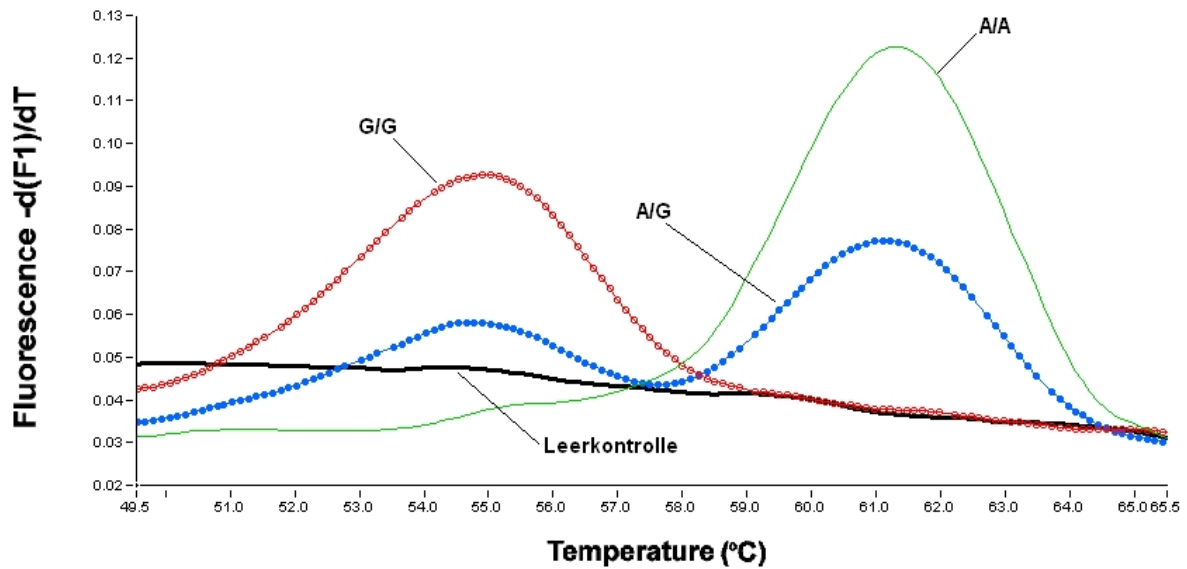
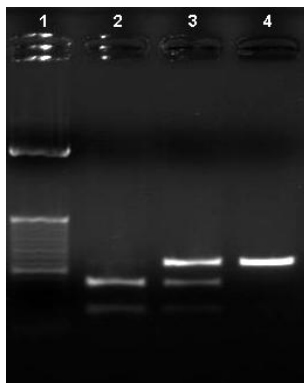


Abbildung 25 Schmelzkurven des 5-HTR3A-Polymorphismus rs1176713



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: A/A-homozygot (Wildtyp, 274 bp + 134 bp),

Bande 3: A/G-heterozygot (407 bp, 274 bp + 134 bp),

Bande 4: G/G-homozygot (407 bp)

(Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

Abbildung 26 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1176713-Polymorphismus entstehen

Bei der Bestimmung von 86 Proben zeigten sich keine Differenzen zwischen den Genotypisierungsergebnissen beider Anwendungen.

2.2.9.5 MAOB (rs1799836)

Der hier untersuchte SNP im MAOB-Gen auf dem X-Chromosom ist durch einen A→G-Austausch im Intron 13 charakterisiert. Zum Nachweis dieses Basenaustausches wurden eine LightCycler-PCR-Methode mit anschließendem Verdau durch ein Restriktionsenzym (Tabelle 20) entwickelt und wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt. Die Primer und Sonden für diese Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut.

Tabelle 20 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des MAOB-Polymorphismus (rs1799836) mit anschließendem enzymatischen Verdau

Temperaturprogramm			
95°C/90 s, 40x(95°C/10 s, 55°C/15 s, 72°C/20 s); 95°C/3 s, 45°C/30 s→75°C/0 s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 10 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,55		
MgCl ₂	0,6	25mM	4mM ¹
Primer 1799836-F	0,15	25µM	0,375µM
Primer 1799836-R	0,2	25µM	0,375µM
Sonde 1799836-anc	0,25	3µM	0,075µM
Sonde 1799836-sen	0,25	3µM	0,075µM
LightCycler DNA Master HybProbe	1,0	10x	1x
Summe	9,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 168 bp-PCR-Produkts (rs1799836) bei 640nm:			
Wildtyp-Peak (A): 54,0°C Mutations-Peak (G): 62,0 °C			
¹ Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid			
Enzymatischer Verdau des 168 bp-PCR-Produkts über 4 Stunden bei 65°C			
Reagenzien	Menge (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,8		
Puffer NEB1	2,0	10x	1x
BSA, 100x	0,2	10 mg/mL	2 µg
Enzym Tsp45I	1,0	4000U/ml	4U
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		

Die Sensor-Sonde ist komplementär zum Mutations-Allel und der Basenaustausch führt zu einer Verschiebung der Schmelztemperatur um 8 K zu 62,0 °C. Die abhängig vom rs1799836-Genotyp entstehenden Schmelzkurven sind in Abbildung 27 und die durch den nachfolgenden enzymatischen Verdau entstehenden Fragmente in Abbildung 28 dargestellt.

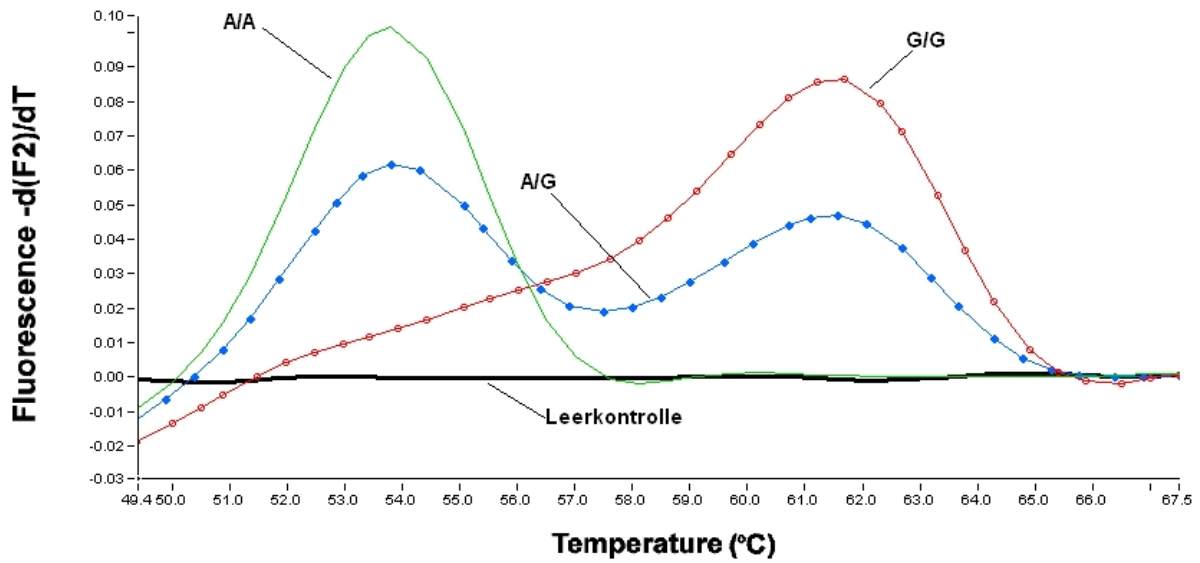
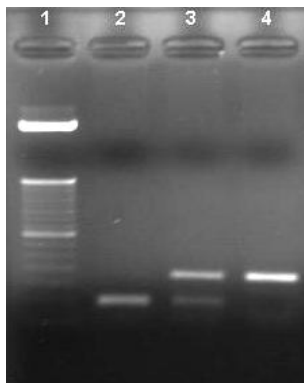


Abbildung 27 Schmelzkurven des MAOB-Polymorphismus rs1799836



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: A/A-homozygot (Wildtyp, 86bp + 82 bp),

Bande 3: A/G-heterozygot (168 bp, 86bp + 82 bp),

Bande 4: G/G-homozygot (168 bp)

(Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

Abbildung 28 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1799836-Polymorphismus entstehen

Bei der Bestimmung von 86 Proben zeigten sich keine Differenzen zwischen den Genotypisierungsergebnissen beider Anwendungen.

2.2.9.6 PCLO (rs2522833)

Dieser A→C-Austausch im PCLO-Gen, welches für das Piccolo-Protein codiert, führt zu einem Aminosäureaustausch von Serin zu Alanin in Position 4814 des Proteins.⁸³ Zum Nachweis dieses Basenaustausches wurden eine LightCycler-PCR-Methode mit anschließendem Verdau durch ein Restriktionsenzym (Tabelle 21) entwickelt und wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt. Die Primer und Sonden für diese Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut.

Tabelle 21 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des PCLO-Polymorphismus (rs2522833) mit anschließendem enzymatischen Verdau

Temperaturprogramm			
95°C/10 min; 35x(95°C/10 s, 55°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/3 s, 35°C/10 s→67°C/3 s (0,15K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 10 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,2		
MgCl ₂	0,7	25mM	4,25mM ¹
Primer 2522833-F	0,4	25µM	1µM
Primer 2522833-R	0,3	25µM	0,75µM
Sonde 2522833-SP	0,4	3µM	0,12µM
LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe	1,0	10x	1x
Summe	9,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 248 bp-PCR-Produkts (rs2522833) bei 530nm: Wildtyp-Peak (A): 47,8°C Mutations-Peak (C): 56,9 °C			
¹ Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid			
Enzymatischer Verdau des 248bp-Produktes über 5 h bei 37 °C			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,0		
Puffer NEB4	2,0	10x	1x
Enzym AluI	2,0	10000U/ml	1U
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		

Die Sensor-Sonde ist komplementär zum Wildtyp-Allel und der Basenaustausch führt zu einer Verschiebung der Schmelztemperatur um 9,1 K zu 56,9 °C. Die abhängig vom rs2522833-Genotyp entstehenden Schmelzkurven sind in Abbildung 29 und die durch den nachfolgenden enzymatischen Verdau entstehenden Fragmente in Abbildung 30 dargestellt.

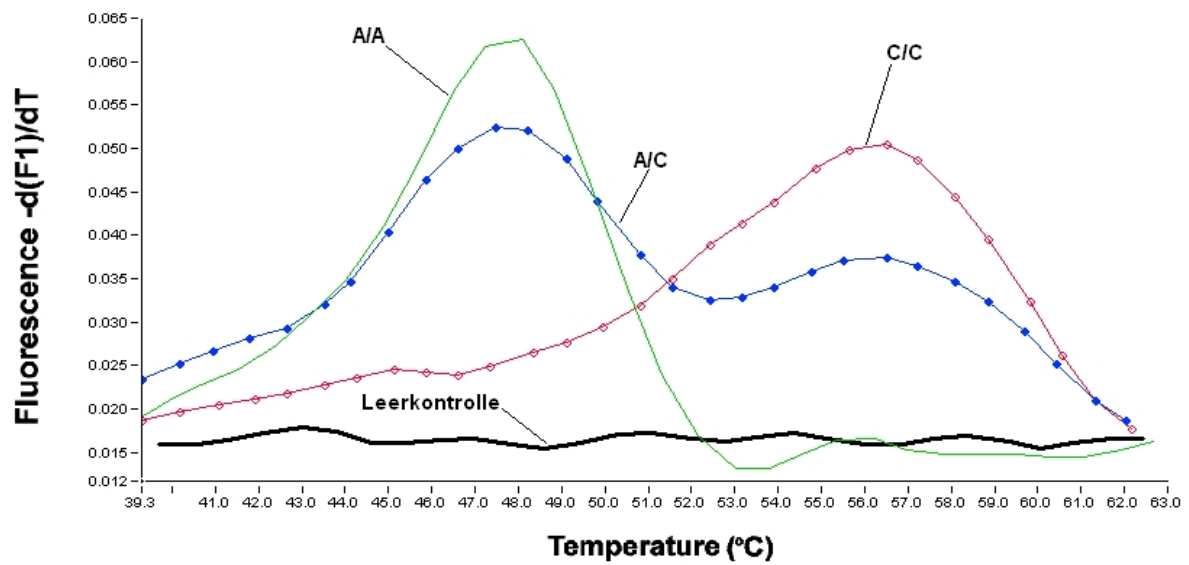
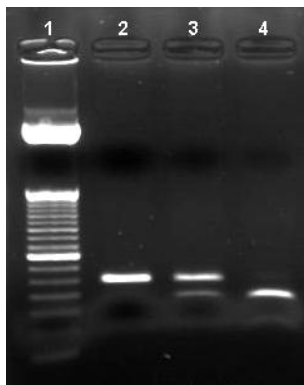


Abbildung 29 Schmelzkurven des PCLO-Polymorphismus rs2522833



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: A/A-homozygot (Wildtyp, 248bp),

Bande 3: A/G-heterozygot (248 bp, 181bp + 67 bp (nicht sichtbar)),

Bande 4: G/G-homozygot (181bp + 67 bp (nicht sichtbar))

(Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

Abbildung 30 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs2522833-Polymorphismus entstehen

Bei der Bestimmung von 86 Proben zeigten sich keine Differenzen zwischen den Genotypisierungsergebnissen beider Anwendungen.

2.2.9.7 TPH2 (rs7305115 und rs17110747)

Die beiden im Rahmen dieser Arbeit untersuchten SNPs liegen im codierenden (rs7305115) und im 3' untranslatierten Bereich (3'UTR) (rs17110747) des Tryptophanhydroxylase 2-Gens (TPH2). Sie führen beide zu einem G→A-Austausch. Bei rs7305115 handelt es sich um einen synonymen Einzelbasenaustausch, für den im Vergleich zum Wildtyp eine geringere *in vitro*-Expression des Proteins postuliert wird.³⁵⁶ Die Primer und Sonden für diese Duplex-Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut. Mit Hilfe der LightCycler-PCR (Tabelle 22) können die Polymorphismen nach Durchführung einer Color Compensation (siehe Kapitel 2.2.6) gleichzeitig innerhalb von etwa 66 min nachgewiesen werden.

Tabelle 22 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der TPH2-Polymorphismen (rs7305115 und rs17110747)

Temperaturprogramm			
95°C/10 min; 40x(95°C/10 s, 55°C/15 s, 72°C/30 s); 95°C/3 s, 40°C/20 s→75°C/1 s (0,1K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	11,15		
MgCl ₂	1,8	25mM	4,75mM ¹
Primer 7305115-F	0,2	25µM	0,25µM
Primer 7305115-R	0,8	25µM	1µM
Primer 17110747-F	0,3	25µM	0,25µM
Primer 17110747-R	0,75	25µM	1µM
Sonde 7305115-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 7305115-sen	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 17110747-anc	0,5	3µM	0,075µM
Sonde 17110747-sen	0,5	3µM	0,075µM
LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe	2,0	10x	1x
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 188 bp-PCR-Produkts (rs7305115) bei 640nm:			
Wildtyp-Peak (G): 60,5 °C Mutations-Peak (A): 49,0 °C			
Fluoreszenzdetektion des 227 bp-PCR-Produkts (rs17110747) bei 705nm:			
Wildtyp-Peak (G): 57,5 °C Mutations-Peak (A): 49,2 °C			

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

Die Sensorsonden sind jeweils komplementär zum Wildtyp-Allel. Die Schmelzpunktmaxima der Wildtyp-Allele liegen bei 60,5 °C (rs7305115) bzw. 57,5 °C (rs17110747). Die Schmelztemperaturen der Sonden-Mutations-Allel-Duplexe liegen bei 49,0 °C (rs7305115) bzw. 49,2 °C (rs17110747) (siehe Abbildung 31 und Abbildung 32).

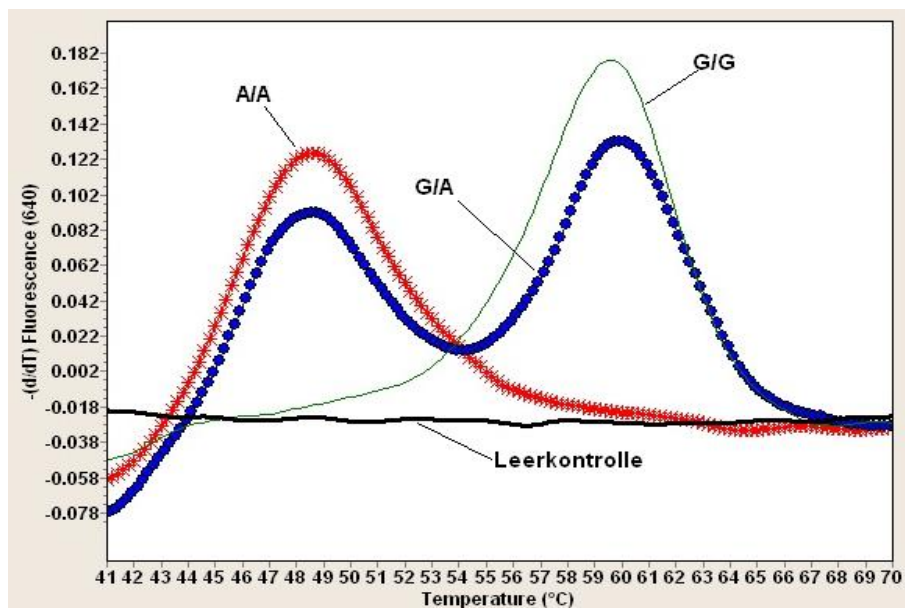


Abbildung 31 Schmelzkurven des TPH2-Polymorphismus rs7305115

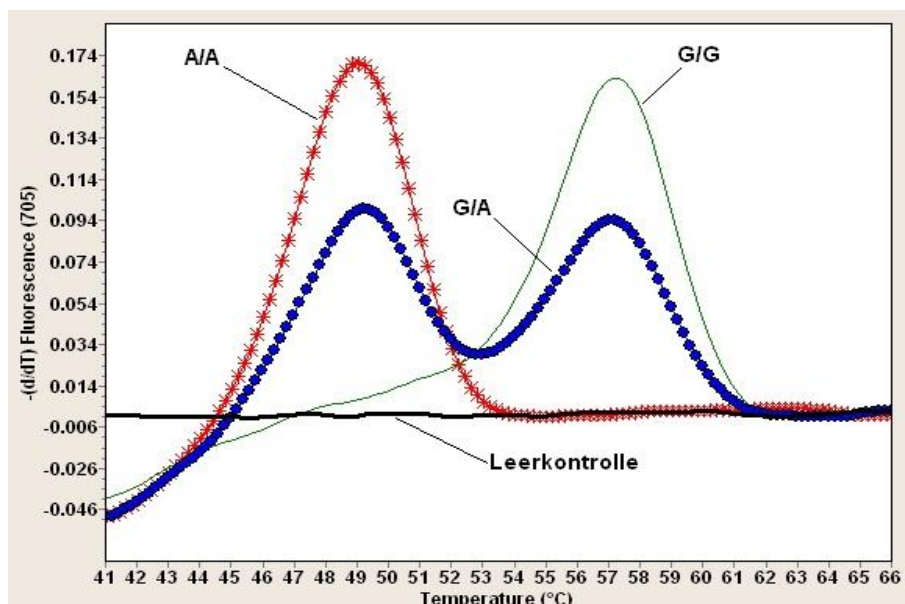
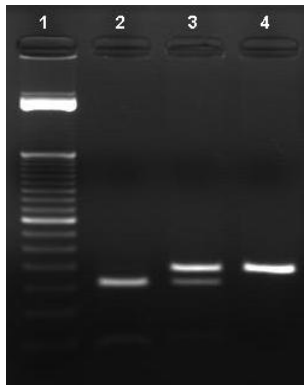


Abbildung 32 Schmelzkurven des TPH2-Polymorphismus rs17110747

Für rs7305115 wurde im Anschluss an die PCR am LightCycler ein enzymatischer Verdau durchgeführt (Tabelle 23, Abbildung 33), um die Genotypisierungsergebnisse zu bestätigen.

Tabelle 23 Enzymatischen Verdau des LightCycler-PCR-Produkts (rs7305115)

Enzymatischer Verdau des 188 bp-Produktes (rs7305115) mit NciI 120 min bei 37 °C			
Reagenzien	Menge (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,0		
Puffer NEB4	2,0	10x	1x
Enzym NciI	1,0	20000U/ml	20U
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: G/G-homozygot (Wildtyp, 152 bp + 36 bp (nicht sichtbar)),

Bande 3: G/A-heterozygot (188 bp, 152 bp + 36 bp (nicht sichtbar)),

Bande 4: A/A-homozygot (188 bp)

(Agarosegel 2,5 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

(Bei Auftrag der Produkte aus dem Duplex-LightCycler-Ansatz erscheint bei 227bp zusätzlich die Bande des rs17110747-Amplikons.)

Abbildung 33 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs7305115-Polymorphismus entstehen

Da für rs17110747 kein geeignetes Restriktionsenzym bestimmt werden konnte, wurde hier eine allelspezifische PCR zur Kontrolle herangezogen (Tabelle 24 und Abbildung 34).

Tabelle 24 Protokoll der allelspezifischen PCR zum Nachweis des TPH2-Polymorphismus (rs17110747)

Temperaturprogramm			
94°C/3 min; 35x(94°C/30 s, 59°C/15 s, 72°C/30 s); 72°C/3 min			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 10 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	2,9		
MgCl ₂	0,3	25mM	2,25mM ¹
Primer 17110747-F G bzw.	0,3	25µM	0,75µM
Primer 17110747-F A	0,3	25µM	0,75µM
Primer 17110747-R	0,3	25µM	0,75µM
Premix D	5,0	2x	1x
Taq Polymerase	0,2	5 U/µl	1U
Summe	9,0		
DNA-Einsatz	1,0		

¹Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus Premix D und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid

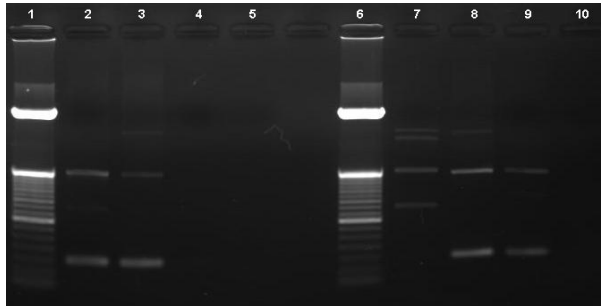


Abbildung 34 Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des TPH2-Polymorphismus rs17110747; Produktlänge: 137 bp

Banden 1+6: 50bp-DNA-Leiter, Banden 2-5: Primer 17110747-F G, Banden 7-10: Primer 17110747-F A

Genotypen:

Banden 2+7: G/G-homozygot (Wildtyp), Banden 3+8: G/A-heterozygot, Banden 4+9: A/A-homozygot, Banden 5+10: Leerkontrollen (Agarosegel 2,0 %, 5µl Probe+1µl Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und –spannung: 30 min bei 100V)

Bei der Bestimmung von 86 Proben gab es keinerlei Abweichungen zwischen den Methoden. Die Methoden wurden wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt und die Sequenzen aller verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt.

2.2.9.8 PPAR γ (rs1801282)

Dieser C>G-Austausch im PPAR γ -Gen führt zu einem Aminosäure-Austausch von Prolin zu Alanin an Position 12 des Proteins. In einer genomweiten Untersuchung war der SNP mit Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert.⁴¹⁰

Zum Nachweis dieses Basenaustausches wurden eine LightCycler-PCR-Methode mit anschließendem Verdau durch ein Restriktionsenzym (Tabelle 20) entwickelt und wie in Kapitel 2.2.7 beschrieben durchgeführt. Die Sequenzen der verwendeten Oligonukleotide sind im Anhang A.4 aufgeführt. Die Primer und Sonden für diese Methode wurden entsprechend der in Kapitel 2.2.5 beschriebenen Vorgehensweisen aufgebaut.

Tabelle 25 Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des PPAR γ -Polymorphismus (rs1801282) mit anschließendem enzymatischen Verdau

Temperaturprogramm			
95°C/180 s, 40x(95°C/10 s, 53°C/20 s, 72°C/20 s); 95°C/3 s, 40°C/30 s→75°C/0 s (0,25K/s)			
Reagenzien	Volumen (µl)	Konzentration	Endkonzentration in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	12,8		
MgCl ₂	1,2	25mM	4mM ¹
Primer 1799836-F	0,5	25µM	0,375µM
Primer 1799836-R	0,3	25µM	0,375µM
Sonde 1799836-anc	0,6	3µM	0,075µM
Sonde 1799836-sen	0,6	3µM	0,075µM
DMSO 5% (V/V)	1,0	5% (V/V)	0,2% (V/V)
LightCycler DNA Master HybProbe	2,0	10x	1x
Summe	19,0		
DNA-Einsatz	1,0		
Fluoreszenzdetektion des 242 bp-PCR-Produkts (rs1801282) bei 640nm:			
Wildtyp-Peak (C): 59,0°C Mutations-Peak (G): 51,5 °C			
¹ Gesamtkonzentration der Magnesium-Ionen aus LightCycler DNA Master HybProbe-Mix und zusätzlich zugegebenem Magnesiumchlorid			
Enzymatischer Verdau des 242 bp-PCR-Produkts über 1 Stunde bei 37°C			
Reagenzien	Menge (µl)	Konzentration	Endkonzentration/Einheiten in 20 µl Reaktionsansatz
H ₂ O	6,0		
Puffer NEB1	2,0	10x	1x
Enzym Hgal	2,0	2000U/ml	4U
Summe	10,0		
PCR-Produkt	10,0		

Die Sensor-Sonde ist komplementär zum Wildtyp-Allel und der Basenaustausch führt zu einer Verschiebung der Schmelztemperatur um 7,5 K zu 51,5 °C. Die abhängig vom rs1801282-Genotyp entstehenden Schmelzkurven sind in Abbildung 35 und die durch den nachfolgenden enzymatischen Verdau entstehenden Fragmente in Abbildung 36 dargestellt.

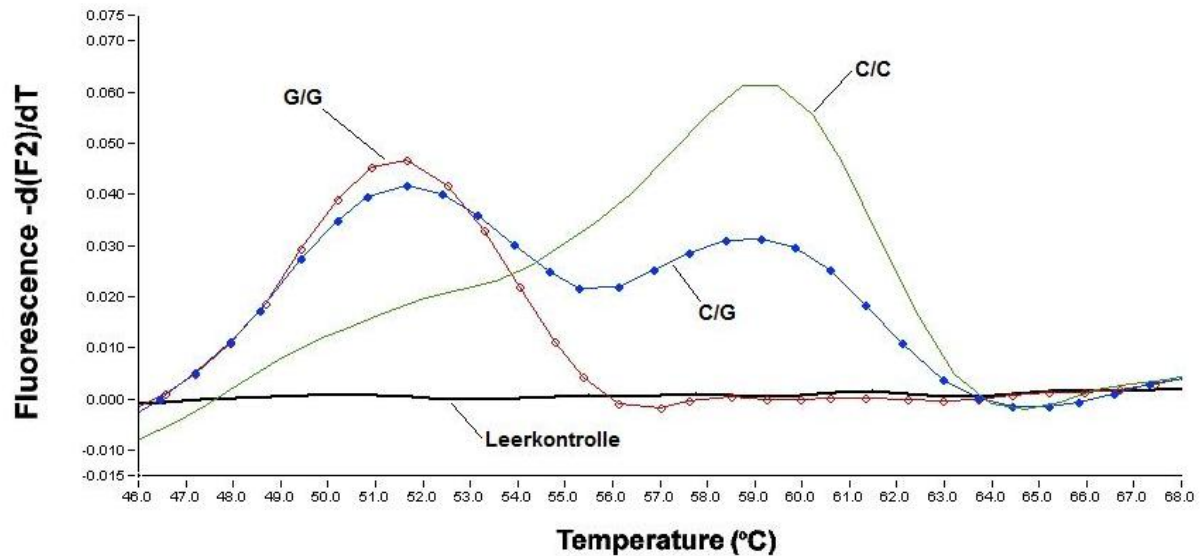
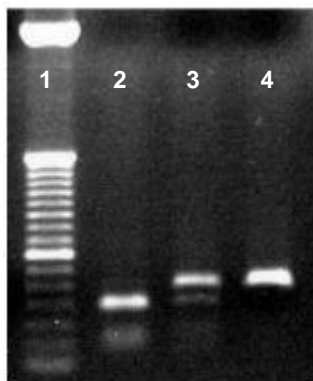


Abbildung 35 Schmelzkurven des PPAR γ -Polymorphismus rs1801282



Bande 1: 50bp-DNA-Leiter,

Bande 2: C/C-homozygot (Wildtyp, 191/186 bp + 51/56 bp (nicht sichtbar)),

Bande 3: C/G-heterozygot (242 bp, 191/186 bp + 51/56 bp (nicht sichtbar)),

Bande 4: G/G-homozygot (242 bp)

(Agarosegel 2,0 %, 5 μ l Probe+1 μ l Auftragspuffer pro Geltasche, Laufzeit und -spannung: 30 min bei 100V)

Abbildung 36 Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1801282-Polymorphismus entstehen

Bei der Bestimmung von 99 Proben zeigten sich keine Differenzen zwischen den Genotypisierungsergebnissen beider Anwendungen.

2.2.9.9 DAT1 VNTR (rs28363170)

Die Bestimmung des rs28363170-Polymorphismus erfolgte mittels einer bereits etablierten Methode wie unter ⁴⁰⁹ beschrieben.

2.2.9.10 5-HTR2a intron2 (rs7997012)

Die Bestimmung des rs7997012-Polymorphismus erfolgte mittels einer bereits etablierten Methode wie unter ⁴⁰⁸ beschrieben.

2.2.9.11 5-HTT (rs25531)

Die Bestimmung des rs25531-Polymorphismus erfolgte mittels einer bereits etablierten Methode wie unter ⁴⁰⁸ beschrieben.

2.2.9.12 5-HTTLPR (rs4795541)

Die Bestimmung des rs4795541-Polymorphismus erfolgte mittels einer bereits etablierten Methode wie unter ⁴⁰⁸ beschrieben.

2.2.9.13 5-HTT VNTR (rs57098334)

Die Bestimmung des rs57098334-Polymorphismus erfolgte mittels einer bereits etablierten Methode wie unter ⁴⁰⁹ beschrieben.

2.3 Analyse der Serumkonzentrationen

2.3.1 Material

Tabelle 26 Verwendete Geräte, Reagenzien und Software

Gerät / Reagenz / Software	Anbieter
API 3000 (LC/MS/MS)	Applied Biosystems, Foster City, CA, USA
Cyclone® HTLC™ Column (1.0*50 mm)	Cohesive, Franklin, MA, USA
Onyx Monolytic C18 (4.6*100 mm)	Phenomenex Ltd. Deutschland, Aschaffenburg
Kalibratoren und Qualitätskontrollen für Citalopram, Haloperidol, Mirtazapin, Olanzapin, Quetiapin und Risperidon	Chromsystems GmbH, München und Biorad Lab. GmbH, München
Milli-Q-Wasser	Millipore GmbH, Eschborn
Acetonitril, Methanol, Essigsäure (99,9%), Ammoniumacetat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Interne Standards (IS)	Cerilliant, Round Rock, TX, USA bzw. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Analyst™ 1.4 und Aria™	Applied Biosystems/MDS SCIEX Instruments und Cohesive Technologies Inc.

2.3.2 Durchführung der Bestimmung der Serumkonzentrationen

Die Serumkonzentrationen von Citalopram, Haloperidol, Mirtazapin, Olanzapin, Quetiapin und Risperidon wurden mittels Tandem-Massenspektrometrie in Anschluss an eine HPLC bestimmt.⁴¹¹ Dazu wurden jeweils 50 µl der zu bestimmenden Serumproben zunächst mit je 150 µl Fällungsreagenz versetzt, welches neben Acetonitril und Methanol im Verhältnis 3:7 (V/V) noch die folgenden internen Standards enthielt: Methylrisperidon (50 ng/ml), Doxepin-D3 (50 ng/ml) und Imipramin-D3 (50 ng/ml). Anschließend wurde die Mischung bei 10000xg zentrifugiert und 20 µl des Überstand jeder Probe per Injektion auf die HPLC-Säule aufgebracht. Bei der Elution der Substanzen wurde ein linearer Lösungsmittelgradient genutzt - beginnend mit 40% Methanol bis 100% Methanol. Zusammensetzung der Eluenten: Wasser + Essigsäure (1ml/l) / Ammoniumacetat (0,8g/l) bzw. Methanol + Essigsäure (1ml/l) / Ammoniumacetat (0,8g/l). In Tabelle 27 sind die für die Analyte und internen Standards verwendeten Massenübergänge dargestellt.

Tabelle 27 Massenübergänge der analysierten Wirkstoffe und der verwendeten internen Standards

Substanz	Massenübergang (m/z)
Citalopram	325,1/109,2
Haloperidol	376,4/165,2
Mirtazapin	266,1/195,2
Olanzapin	313,1/256,0
Quetiapin	384,2/253,1
Risperidon	411,3/191,3
Doxepin-D3	284,2/89,2
Imipramin-D3	283,1/107,1
Methylrisperidon	421,2/201,1

In Abbildung 37 bis Abbildung 42 sind an einem Beispiel für jeden Wirkstoff die am Massenspektrometer gemessenen Intensitäten in Abhängigkeit von der Retentionszeit in der vorgeschalteten HPLC dargestellt.

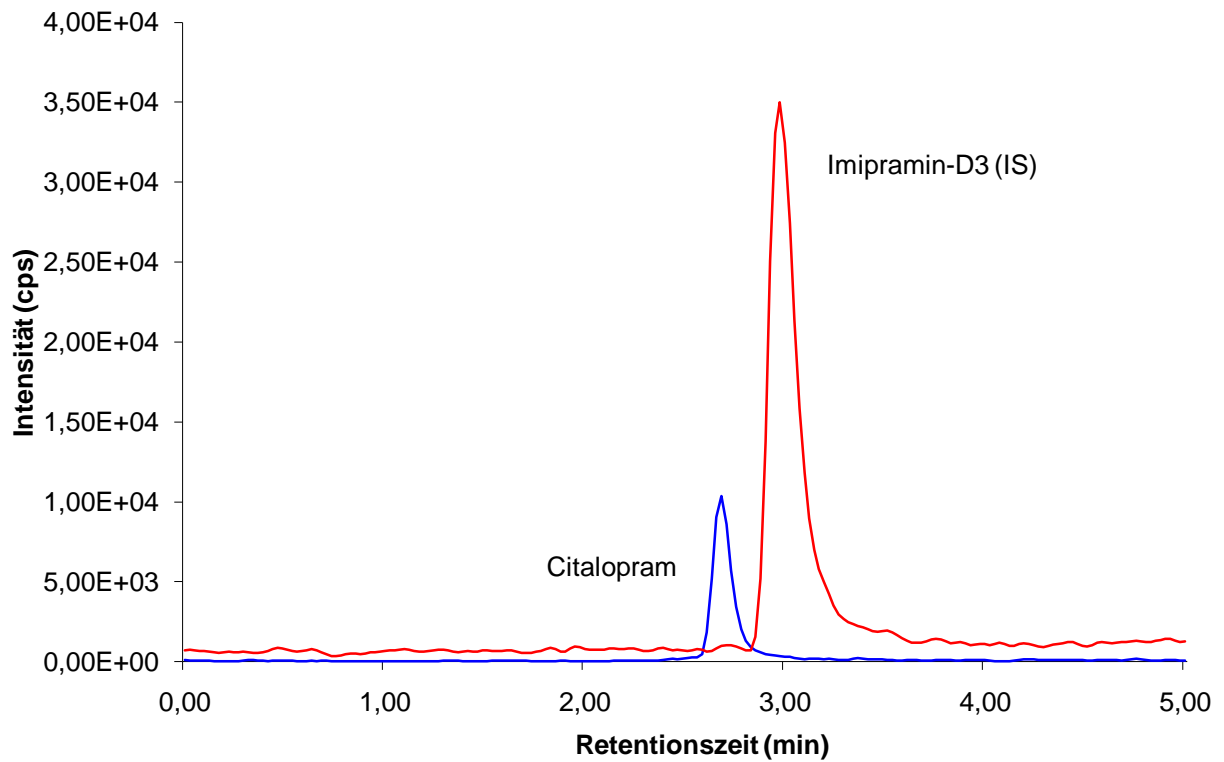


Abbildung 37 LC-MS/MS-Chromatogramm von Citalopram mit Imipramin-D3 als IS

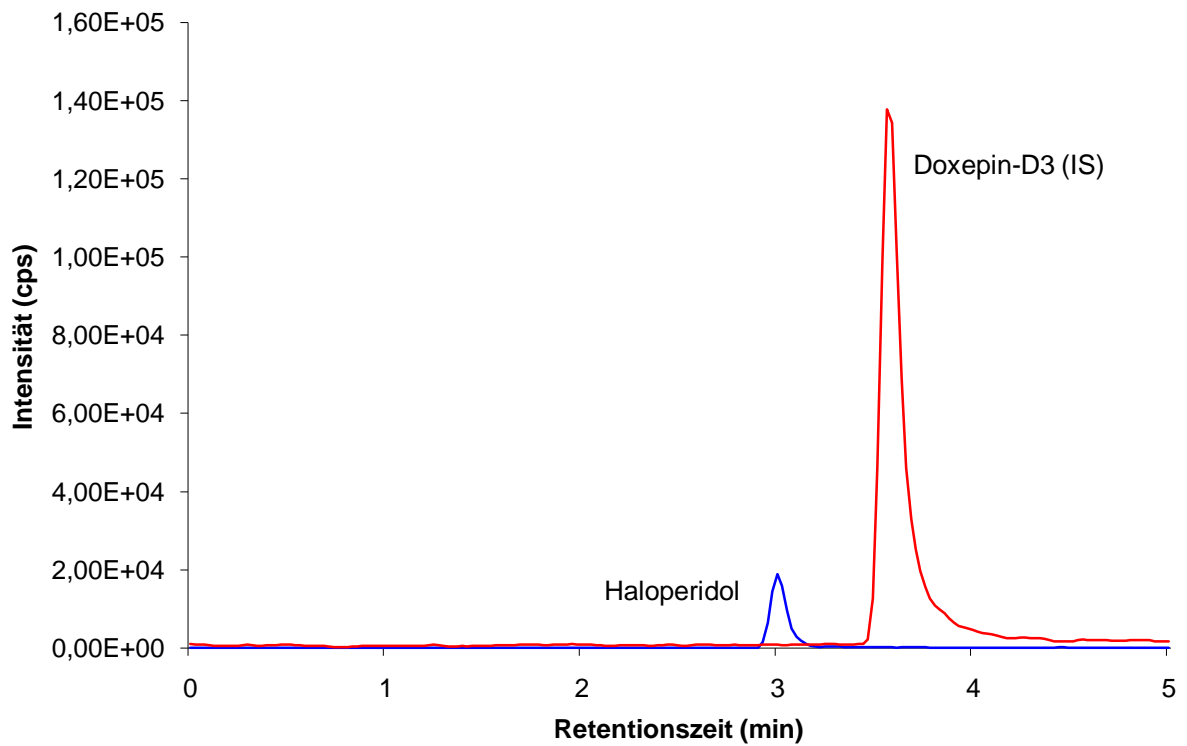


Abbildung 38 LC-MS/MS-Chromatogramm von Haloperidol mit Doxepin-D3 als IS

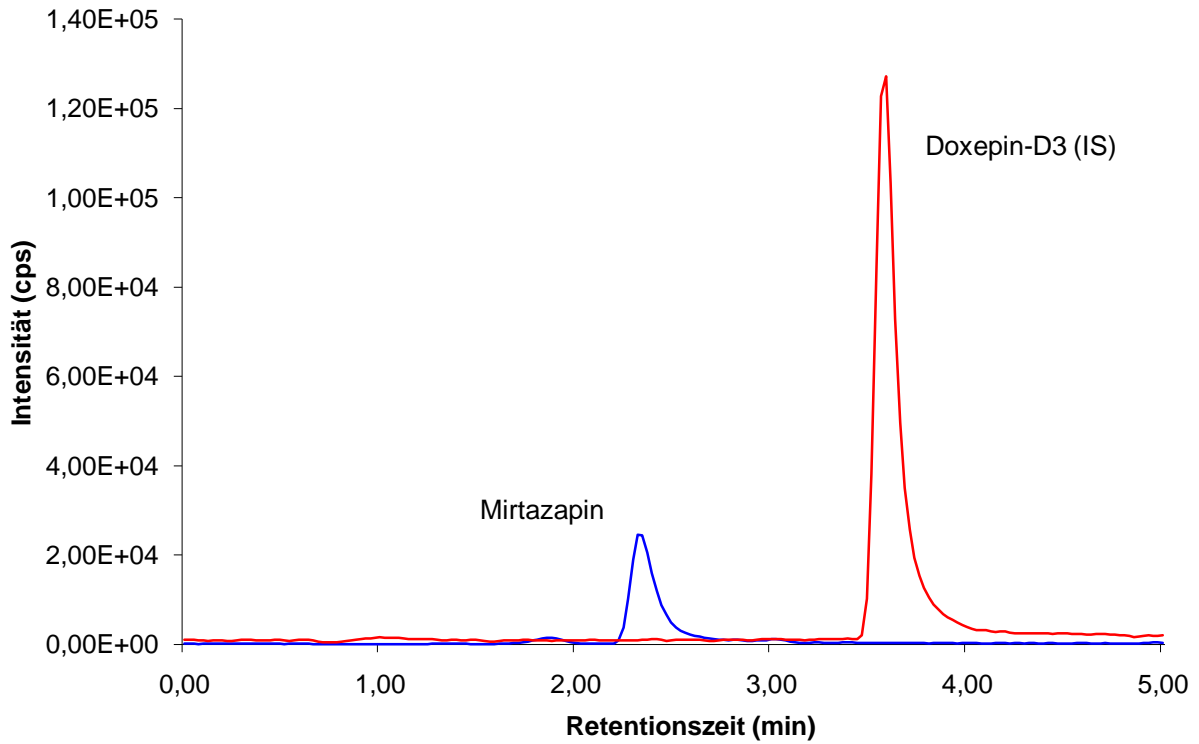


Abbildung 39 LC-MS/MS-Chromatogramm von Mirtazapin mit Doxepin-D3 als IS

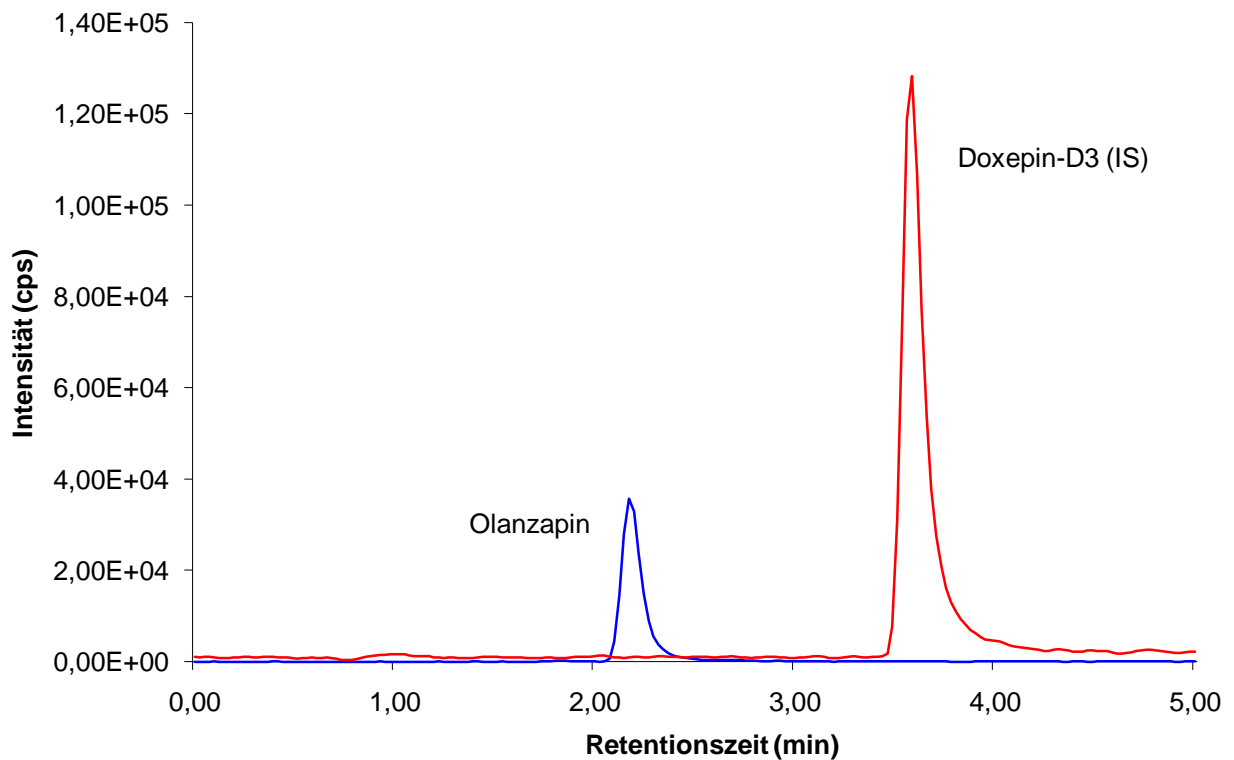


Abbildung 40 LC-MS/MS-Chromatogramm von Olanzapin mit Doxepin-D3 als IS

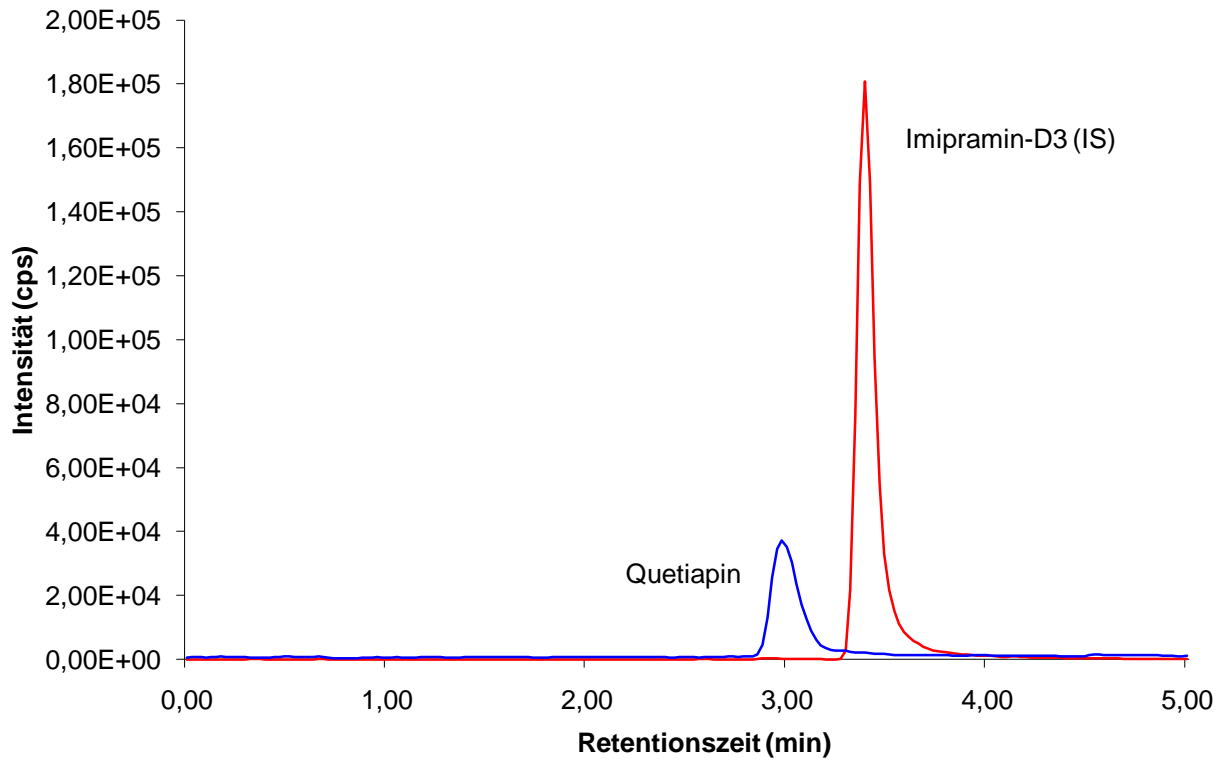


Abbildung 41 LC-MS/MS-Chromatogramm von Quetiapin mit Imipramin-D3 als IS

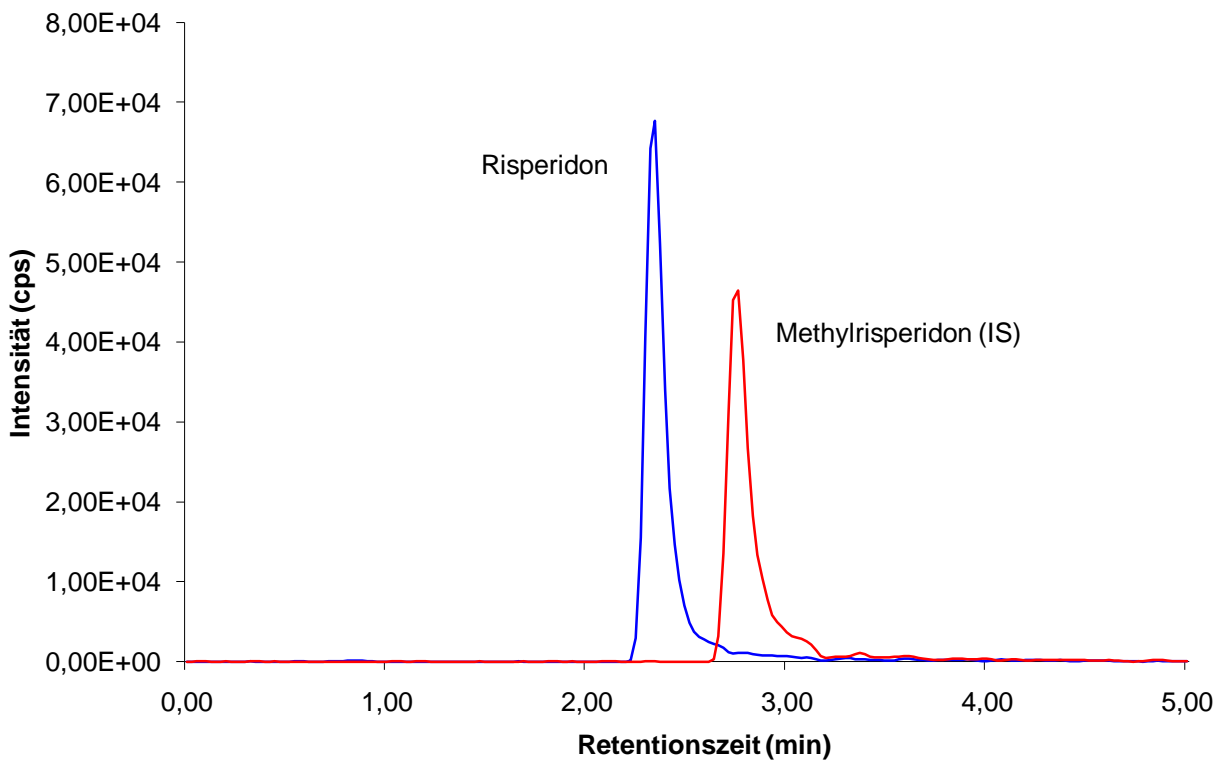


Abbildung 42 LC-MS/MS-Chromatogramm von Risperidon mit Methylrisperidon als IS

2.4 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit den Programmen PASW Statistics 18 (SPSS Inc., Chicago, USA) und EXCEL 2007 (Microsoft Corporation, Seattle, USA). Ergebnisse mit einem Signifikanzniveau $\alpha \leq 0.05$ (zweiseitig) wurde als statistisch signifikant betrachtet.

Korrelationen zwischen quantitativen normalverteilten Variablen und zwei unabhängige Variablen wurden mittels t-Test und mit mehr als zwei unabhängigen Variablen mittels ANOVA (analysis of variance) getestet.

Korrelationen zwischen quantitativen nicht normalverteilten Variablen und zwei unabhängigen Variablen wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests und mit mehr als zwei unabhängigen Variablen unter Anwendung des Kruskal-Wallis-Tests untersucht.

Abhängigkeiten zwischen qualitativen (nominalen oder ordinalen) Variablen und zwei oder mehr unabhängigen Variablen wurden mit Hilfe des Chi²-Tests und des exakten Tests nach Fisher ermittelt. Für Zusammenhänge zwischen ordinal-skalierten wurde der Kendall- τ -Korrelations-Koeffizient und zwischen metrischen Variablen der Spearman-Korrelations-Koeffizient verwendet.

Das Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts für alle analysierten Polymorphismen wurde mittels Chi²-Test geprüft ($p > 0,05$).

3 Ergebnisse

3.1 Genotypisierungsmethoden

Die DNA der in die Studie eingeschlossenen Patienten wurde hinsichtlich der im Einleitungsteil (1.3) dargestellten Polymorphismen mittels der unter 2.2 beschriebenen Methoden analysiert.

Zum Nachweis der folgenden Polymorphismen wurden unter Anwendung entsprechender Kriterien (2.2.5) sondenbasierte Assays entwickelt:

- CYP2C19*17
- POR*28
- ABCB1 (rs2235015 und rs2032583)
- CRHR1 (rs242941 und rs110402)
- CRHR2 (rs2270007)
- DRD2 (rs2283265 und rs1076560)
- FGF2 (rs1449683 und rs1048201)
- 5-HTR3A (rs1176713)
- MAOB (rs1799836)
- PCLO (rs2522833)
- TPH2 (rs7305115 und rs17110747)
- PPAR γ (rs1801282)

Wie bereits im Methodenteil 2.2.8 und 2.2.9 erwähnt, stimmten alle Ergebnisse der LightCycler-Experimente mit den zur Überprüfung etablierten allelspezifischen PCRs am Thermocycler bzw. Restriktionsverdauereaktionen überein.

Bei der Genotypisierung der Proben für rs242941 (CRHR1) bzw. rs2522833 (PCLO) fanden sich allerdings für einen bzw. zwei Patienten Unstimmigkeiten bezüglich der Zuordnung der Peaks zu den betreffenden Allelen (Abbildung 43 und Abbildung 44).

Eine minderwertige DNA-Qualität kann als Ursache ausgeschlossen werden, da die betreffenden Proben nach mehrmaliger Nachextraktion der DNA aus EDTA-Blut keine anderen Ergebnisse erbrachten. Vielmehr könnte ein unbekannter Polymorphismus im Bindungsbereich der Sonden oder ein anderes Nukleotid als erwartet an der Position des ursprünglich betrachteten Basenaustausches zu dieser Verschiebung der Schmelztemperaturen von mehr als 1 K führen.³⁹⁹ Da die Genotypen der hier dargestellten Proben somit nicht eindeutig zugeordnet werden konnten, wurden diese bei der statistischen Analyse (3.3) nicht berücksichtigt.

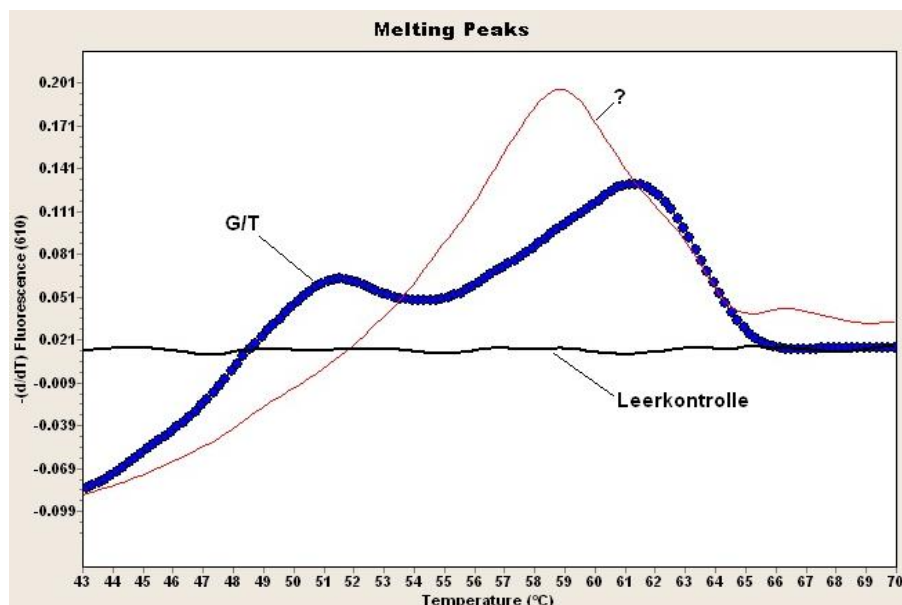


Abbildung 43 CRHR1 (rs242941)

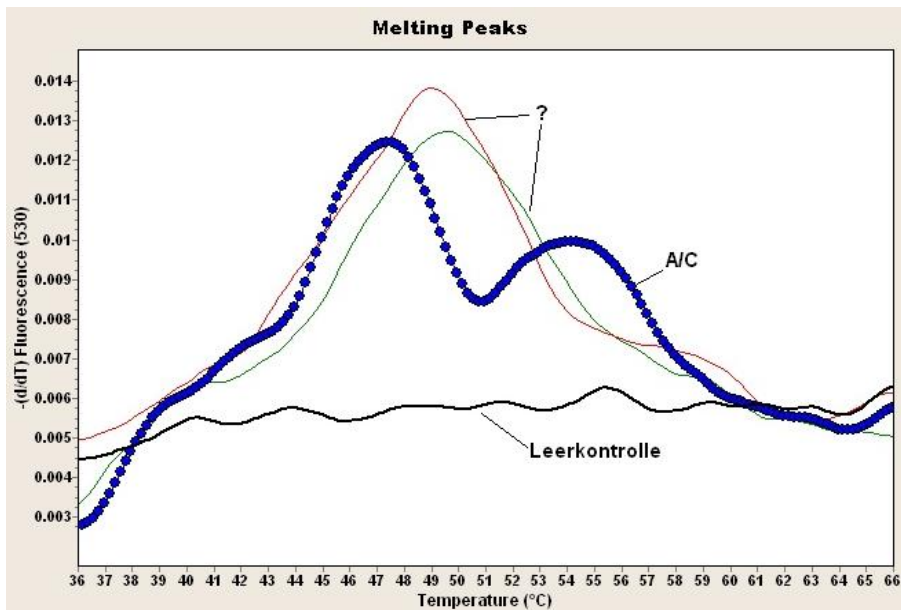


Abbildung 44 PCLO (rs2522833)

Für die Detektion dieser Polymorphismen:

- CYP1A2*1F
- CYP2C19 *2, *3, *4
- CYP2D6 *2, *3, *4, *5, *6, *7, *9, *10, *41, *1XN, *2XN, *4XN
- DAT1 VNTR (rs28363170)
- 5-HTR2A intron2 (rs7997012)
- 5-HTT (rs25531)
- 5-HTTLPR (rs4795541)
- 5-HTT VNTR (rs57098334)

wurden wie unter 2.2.8 und 2.2.9 erwähnt bereits etablierte Methoden verwendet. Mittels dieser Verfahren konnte für alle Proben ein eindeutiger Genotyp festgestellt werden.

3.2 Bestimmung der Serumkonzentrationen

In insgesamt 14 Messläufen wurden für jede Serumprobe Doppelmessungen durchgeführt und die Konzentrationen folgender Wirkstoffe bestimmt, wenn von Patienten mit dieser Medikation entsprechende Blutproben verfügbar waren:

Citalopram, Haloperidol, Mirtazapin, Olanzapin, Quetiapin und Risperidon.

Verwendet wurde hierzu eine validierte HPLC-MS/MS-Methode, deren Inter- und Intra-Run-Präzision und Richtigkeit sowie die Messbereiche für die verschiedenen Substanzen in Tabelle 28 bis Tabelle 33 dargestellt sind. Gemäß der amerikanischen Arzneimittelkommission (FDA) sollte der Variationskoeffizient 15 % nicht übersteigen. Zur Gewährleistung der Richtigkeit sollte die Abweichung des gemessenen Mittelwerts ebenfalls nicht mehr als 15 % vom wahren Wert (hier die Konzentrationen der verwendeten Referenzsubstanzen, 2.3.1) abweichen.⁴¹²

Tabelle 28 Citalopram – Präzision und Richtigkeit

Citalopram-Konzentration (ng/ml)	Intra-Run-Präzision	Inter-Run-Präzision	Richtigkeit
5	9,36%	7,61%	8,35%
10	6,08%	8,18%	-4,63%
25	3,88%	7,45%	0,60%
50	4,76%	5,62%	0,60%
100	3,48%	4,99%	5,69%
500	2,50%	1,31%	0,16%
1000	3,70%	4,01%	-6,60%
Mittelwert	4,82%	5,60%	0,60%
Minimum	2,50%	1,31%	-6,60%
Maximum	9,36%	8,18%	8,35%

Tabelle 29 Haloperidol – Präzision und Richtigkeit

Haloperidol-Konzentration (ng/ml)	Intra-Run-Präzision	Inter-Run-Präzision	Richtigkeit
1	10,64%	9,17%	6,96%
2,5	4,68%	7,57%	-2,78%
5	4,44%	4,83%	-0,03%
10	4,61%	5,87%	-1,18%
25	4,22%	4,24%	-1,15%
50	6,26%	2,69%	1,42%
100	2,35%	3,01%	-2,87%
200	4,45%	3,77%	1,57%
Mittelwert	5,21%	5,14%	0,24%
Minimum	2,35%	2,69%	-2,87%
Maximum	10,64%	9,17%	6,96%

Tabelle 30 Mirtazapin – Präzision und Richtigkeit

Mirtazapin-Konzentration (ng/ml)	Intra-Run-Präzision	Inter-Run-Präzision	Richtigkeit
2,5	5,43%	8,82%	11,64%
5	2,75%	5,33%	10,08%
10	2,51%	6,88%	14,41%
25	3,34%	5,19%	6,07%
50	4,97%	5,19%	5,83%
100	4,98%	3,59%	3,59%
500	2,85%	3,44%	-1,78%
1000	4,20%	6,01%	-9,84%
Mittelwert	3,88%	5,56%	5,00%
Minimum	2,51%	3,44%	-9,84%
Maximum	5,43%	8,82%	14,41%

Tabelle 31 Olanzapin – Präzision und Richtigkeit

Olanzapin-Konzentration (ng/ml)	Intra-Run-Präzision	Inter-Run-Präzision	Richtigkeit
1	6,51%	8,59%	-5,01%
2,5	7,33%	8,75%	1,66%
5	3,64%	8,89%	2,28%
10	5,75%	6,36%	3,44%
25	3,85%	5,19%	2,71%
50	5,68%	4,09%	3,55%
100	5,46%	5,55%	2,76%
500	4,07%	5,00%	4,73%
1000	4,27%	1,52%	-2,08%
Mittelwert	5,17%	5,99%	1,56%
Minimum	3,64%	1,52%	-5,01%
Maximum	7,33%	8,89%	4,73%

Tabelle 32 Quetiapin – Präzision und Richtigkeit

Quetiapin-Konzentration (ng/ml)	Intra-Run-Präzision	Inter-Run-Präzision	Richtigkeit
8,7	3,8%	5,9%	7,7%
21,7	7,2%	7,2%	4,2%
43,5	1,0%	1,4%	3,7%
63,8	5,9%	6,8%	0,4%
154	6,0%	5,3%	-3,6%
223	5,4%	1,7%	3,5%
319	3,5%	6,5%	5,3%
435	7,4%	4,1%	-2,7%
Mittelwert	5,03%	4,86%	2,31%
Minimum	1,00%	1,40%	-3,60%
Maximum	7,40%	7,20%	7,70%

Tabelle 33 Risperidon – Präzision und Richtigkeit

Risperidon-Konzentration (ng/ml)	Intra-Run-Präzision	Inter-Run-Präzision	Richtigkeit
1	7,84%	10,00%	6,15%
2,5	4,40%	5,47%	-0,55%
5	5,15%	5,76%	2,77%
10	3,84%	5,03%	2,70%
25	2,71%	4,32%	1,76%
50	4,34%	3,47%	3,35%
100	2,90%	3,00%	-3,38%
200	2,78%	2,59%	-1,66%
Mittelwert	4,24%	4,95%	1,39%
Minimum	2,71%	2,59%	-3,38%
Maximum	7,84%	10,00%	6,15%

3.3 Statistische Auswertung der klinischen Daten und Genotypisierungsergebnisse

3.3.1 Charakterisierung der betrachteten Studienpopulationen

Abhängig von der untersuchten genetischen Variation wurden unterschiedlich große Patientenpopulationen betrachtet (n_1 , n_2 und n_{gesamt}). Ein Teil der Patienten ($n_1 = 365$) war bereits wie unter 2.1 beschrieben rekrutiert und demografisch sowie für die folgenden Polymorphismen charakterisiert worden.⁴⁰⁸

- CYP1A2*1F
- CYP2C19 *2, *3, *4
- CYP2D6 *2, *3, *4, *5, *6, *7, *9, *10, *41, *1XN, *2XN, *4XN
- DAT1 VNTR rs28363170
- 5-HTR2A intron2 rs7997012
- 5-HTT rs25531
- 5-HTTLPR rs4795541
- 5-HTT VNTR rs57098334.

Für die aufgeführten Polymorphismen erfolgte die statistische Auswertung im Rahmen dieser Arbeit zunächst separat für weitere Patienten, die später in die Studie aufgenommen wurden. Von diesen 220 Patienten, die zwischen Juni 2007 und Dezember 2009 in die Studie aufgenommen wurden, mussten 4 wegen fehlender DNA-Proben von den Auswertungen ausgeschlossen werden, wodurch sich eine Patientenzahl von $n_2 = 216$ ergibt. Nach Vergleich und bei Übereinstimmung der Ergebnisse für die gegenübergestellten Populationen n_1 und n_2 und um ausreichend große, statistisch aussagekräftige Patientenkollektive zu erhalten, wurden diese abhängig von den jeweiligen Auswahlkriterien (Medikation, Diagnose) gemeinsam (n_{gesamt}) ausgewertet.

Sieben Patienten sind in beiden Teilpopulationen enthalten, da sie im Rekrutierungszeitraum mehrfach in stationärer Behandlung waren. Wenn beide Populationen gemeinsam als n_{gesamt} betrachtet wurden, wurden für diese sieben Patienten nur die bei Erstaufnahme generierten Daten berücksichtigt.

Bei zwei männlichen Patienten der Population n_1 ist außerdem von einer Verwechslung der DNA-Proben auszugehen, da sich bei der Bestimmung des auf dem X-Chromosom befindlichen SNPs rs1799836 ein heterozygoter Genotyp ergab. Diese Patienten wurden deshalb von der statistischen Analyse ausgeschlossen, wodurch sich eine Gesamtpatientenzahl von $n_{\text{gesamt}} = 572$ ergibt.

3.3.1.1 Demografische Daten und Krankheitsmerkmale der betrachteten Populationen

3.3.1.1.1 Gesamtpopulation n_{gesamt}

351 (61,4%) Patienten der Gesamtpopulation (n_{gesamt}) waren weiblichen Geschlechts und somit 221 (38,6%) männlich. 247 (43,2%) Patienten waren Raucher und 322 (56,3%) Nichtraucher (Angaben für 569 Patienten vorhanden). Zwei der Patienten waren asiatischer und zwei afrikanischer Herkunft, die restlichen Patienten waren kaukasischer Abstammung. Eine positive Familienanamnese bezüglich psychiatrischer Erkrankungen hatten 256 (46,6%) von 549 Patienten, für die diese Information verfügbar war.

Tabelle 34, Tabelle 35, Tabelle 36 und Abbildung 45 geben einen Überblick über die demografischen Daten, den Krankheitszustand und die Diagnose(n) der Patienten der Population n_{gesamt} zum Aufnahmezeitpunkt.

Tabelle 34 Demografische Daten - Studienpopulation n_{gesamt} zum Aufnahmezeitpunkt

Variable	n ^a	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Alter	572	42,5	15,3	18	89
Gewicht in kg bei Aufnahme	538	74,0	16,6	41,2	157,0
Größe in cm	570	171,2	8,9	152	197
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	536	25,2	5,1	14,2	51,6
Aufenthaltsdauer	572	62,1	40,6	3	243
PDS-P bei Aufnahme	502	7,8	8,1	0	42
PDS-D bei Aufnahme	502	18,5	9,6	0	44

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Tabelle 35 CGI-1-Werte - Studienpopulation n_{gesamt} zum Aufnahmezeitpunkt

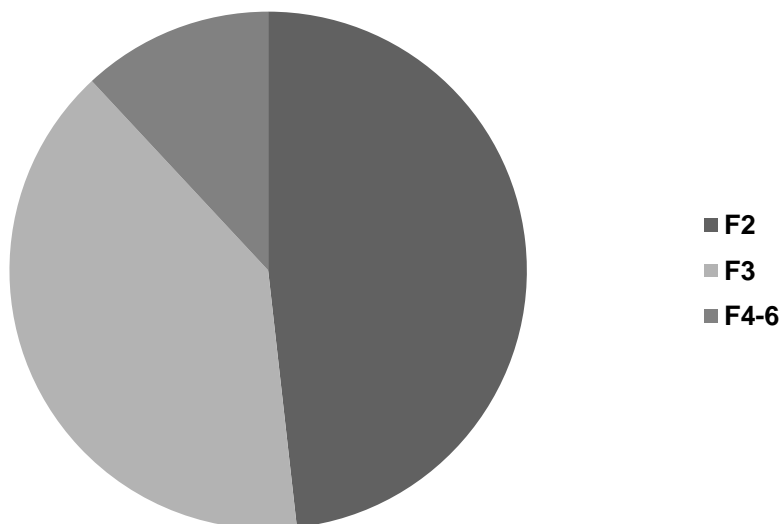
CGI-1 bei Aufnahme	n	%
2	1	0,2
3	4	0,7
4	21	3,7
5	146	25,5
6	267	46,7
7	113	19,8
8	11	1,9
Gesamt	563	98,4

CGI-1: Angaben zur Schwere des Krankheitszustandes waren für 563 Patienten verfügbar.

Tabelle 36 ICD-10-Diagnosen - Studienpopulation n_{gesamt}

ICD-10-Diagnose	n	%
F2-Diagnosen		
F20 (Schizophrenie)	200	35,0
F21 (Schizotype Störung)	3	0,5
F22 (Anhaltende wahnhafte Störung)	5	0,9
F23 (Akute vorübergehende psychotische Störung)	11	1,9
F25 (Schizoaffektive Störung)	80	14,0
Gesamt	299	52,3
F3-Diagnosen		
F30 (Manische Episode)	2	0,3
F31 (Bipolare affektive Störung)	39	6,8
F32 (Depressive Episode)	98	17,1
F33 (Rezidivierende depressive Episode)	107	18,7
F34 (Anhaltende affektive Störung)	1	0,2
Gesamt	247	43,2
Sonstige F-Diagnosen		
F4 (Neurotische, Belastungs- und somatoforme Störungen)	34	5,9
F6 (Persönlichkeits- und Verhaltensstörungen)	38	6,6
F5 (Verhaltensauffälligkeiten mit körperlichen Störungen und Faktoren)	2	0,3
Gesamt	74	12,9

ICD – International Classification of Diseases

**Abbildung 45 Diagnosen nach ICD-10 in der Studienpopulation n_{gesamt}**

3.3.1.1.2 Population n₂

Von den 216 in die Auswertung aufgenommenen Patienten waren 148 (68,5%) weiblich und 68 (31,5%) männlich. Unter den Patienten der Population n₂ waren 114 (52,8%) Nichtraucher und 99 (45,8%) Raucher (Angaben für 213 Patienten vorhanden). 2 Patienten waren asiatischer, die restlichen 214 Patienten waren kaukasischer Abstammung. Eine positive Familienanamnese bezüglich psychiatrischer Erkrankungen hatten 107 (55,4%) von 193 Patienten, für die diese Information verfügbar war.

Tabelle 37, Tabelle 38, und Abbildung 46 geben einen Überblick über die demografischen Daten, den Krankheitszustand und die Diagnose(n) der Patienten der Population n₂ zum Aufnahmezeitpunkt.

Tabelle 37 Demografische Daten - Studienpopulation n₂ zum Aufnahmezeitpunkt

Variable	n ^a	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Alter	216	40,6	13,7	18	75
Gewicht in kg bei Aufnahme	216	76,3	19,2	41,2	157,0
Größe in cm	214	170,8	8,8	152	197
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	214	26,1	6,1	15,5	51,6
Aufenthaltsdauer	216	67,4	43,9	3	234
PDS-P bei Aufnahme	176	8,0	7,8	0	42
PDS-D bei Aufnahme	176	19,5	9,1	0	40

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Tabelle 38 CGI-1-Werte - Studienpopulation n₂ zum Aufnahmezeitpunkt

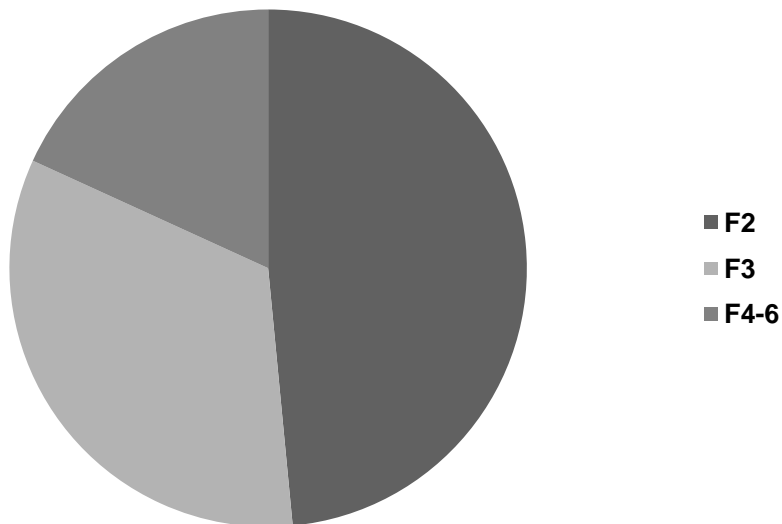
CGI-1 bei Aufnahme	n	%
4	9	4,2
5	59	27,3
6	109	50,5
7	33	15,3
8	2	0,9
Gesamt	212	98,1

CGI-1: Angaben zur Schwere des Krankheitszustandes waren für 212 Patienten verfügbar.

Tabelle 39 ICD-10-Diagnosen - Studienpopulation n₂

ICD-10-Diagnose	n	%
F2-Diagnosen		
F20 (Schizophrenie)	85	39,4
F21 (Schizotype Störung)	2	0,9
F22 (Anhaltende wahnhafte Störung)	2	0,9
F23 (Akute vorübergehende psychotische Störung)	4	1,9
F25 (Schizoaffektive Störung)	35	16,2
Gesamt	128	59,3
F3-Diagnosen		
F31 (Bipolare affektive Störung)	14	6,5
F32 (Depressive Episode)	37	17,1
F33 (Rezidivierende depressive Episode)	37	17,1
Gesamt	88	40,7
Sonstige F-Diagnosen		
F4 (Neurotische, Belastungs- und somatoforme Störungen)	17	7,9
F6 (Persönlichkeits- und Verhaltensstörungen)	29	13,4
F5 (Verhaltensauffälligkeiten mit körperlichen Störungen und Faktoren)	2	0,9
Gesamt	48	22,2

ICD – International Classification of Diseases

**Abbildung 46 Diagnosen nach ICD-10 in der Studienpopulation n₂**

3.3.1.2 Medikation

3.3.1.2.1 Gesamtpopulation n_{gesamt}

Vollständige Medikationsdaten lagen für 539 von 572 Patienten vor. Abbildung 47 gibt einen Überblick über die verordneten Antidepressiva, Abbildung 48 über die neuroleptische Medikation. Im Anhang A.2.1 in Tabelle 117 ist die verabreichte Komedikation aufgeführt.

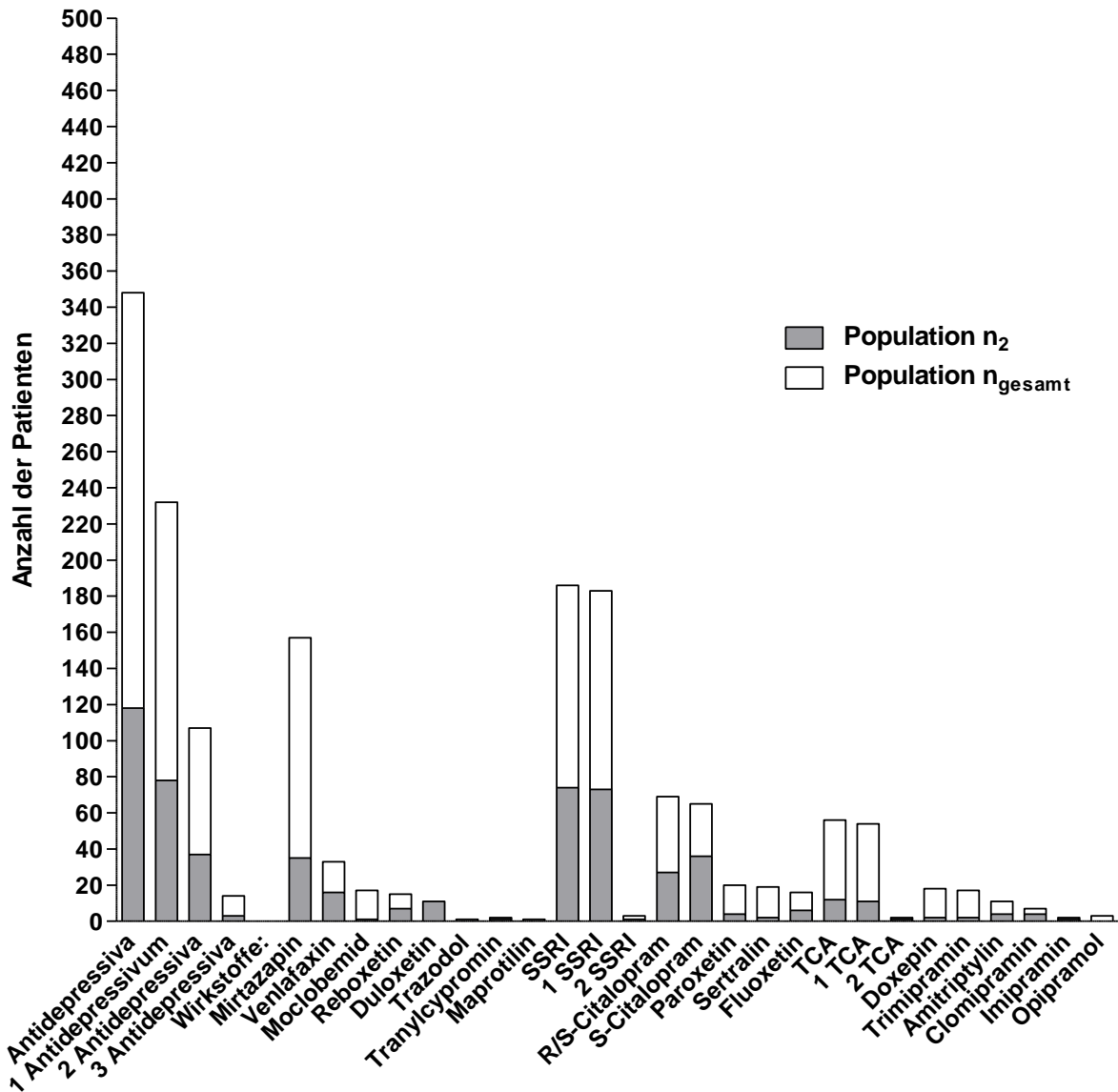


Abbildung 47 Verordnete Antidepressiva in der Gesamtpopulation n_{gesamt}

Säule 1: Anzahl der Patienten, die während des Aufenthalts mit Antidepressiva behandelt wurden
($n = 348$, 64,6%)

Säulen 2-4: Anzahl der Patienten, die jeweils mit 1 ($n = 231$, 42,9%), 2 ($n = 107$, 19,9%) oder 3 ($n = 13$, 2,4%)
Antidepressiva therapiert wurden

Säulen 5-30: verordnete Wirkstoffe (die absoluten Häufigkeiten sind im A.2.1 in Tabelle 116 angegeben)

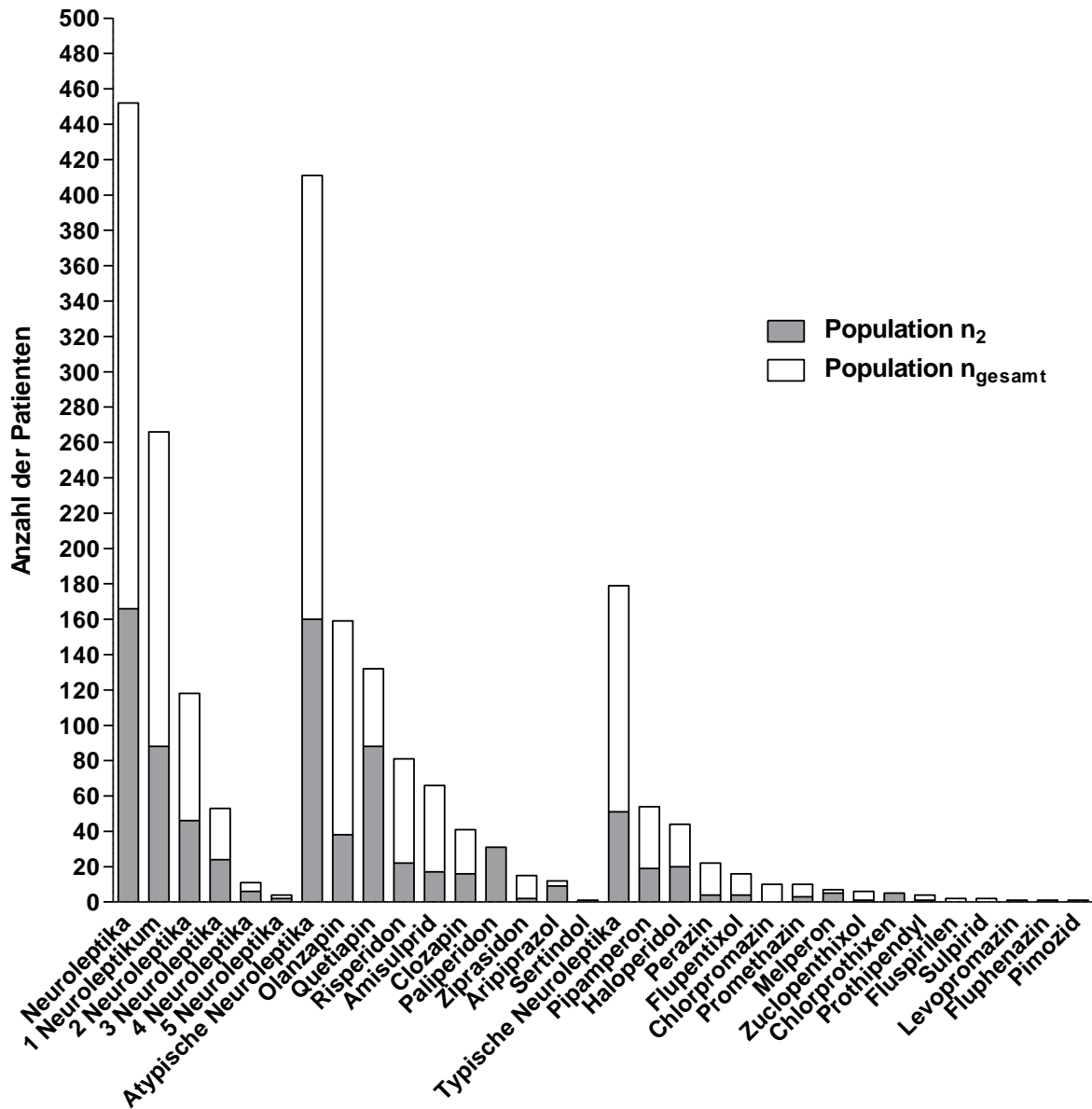


Abbildung 48 Verordnete Neuroleptika in der Gesamtpopulation n_{gesamt}

Säule 1: Anzahl der Patienten, die während des Aufenthalts mit Neuroleptika behandelt wurden
(n = 452, 83,9%)

Säulen 2-6: Anzahl der Patienten, die jeweils mit 1 (n = 266, 49,4%), 2 (n = 118, 21,9%), 3 (n = 53, 9,8%), 4 (n = 11, 2,0%) oder 5 (n = 4, 0,7%) Neuroleptika therapiert wurden

Säulen 7-32: verordnete Wirkstoffe (die absoluten Häufigkeiten sind im Anhang A.2.1 in Tabelle 116 angegeben)

3.3.1.2.2 Population n₂

Für 183 der 216 Patienten waren vollständige Medikationsdaten verfügbar. Abbildung 47 gibt einen Überblick über die verordneten Antidepressiva. 118 Patienten (64,5%) wurden während des Aufenthalts mit Antidepressiva behandelt. 78 Studienteilnehmer (42,6%) erhielten nur einen antidepressiven Wirkstoff. 37 Patienten (20,2%) bekamen zwei Antidepressiva und drei Studienteilnehmer (1,6%) wurden mit drei Antidepressiva therapiert.

Abbildung 48 stellt die neuroleptische Medikation in dieser Teilpopulation dar. 166 Patienten (90,7%) erhielten antipsychotische Medikamente. Davon wurden 88 Studienteilnehmer (48,1%) mit einem Antipsychotikum behandelt. Ein Viertel der Teilnehmer (n = 46, 25,1%) bekam zwei Neuroleptika und

die restlichen Patienten wurden mit drei oder mehr antipsychotischen Wirkstoffen behandelt (3 (n = 24, 13,1%), 4 (n = 6, 3,3%) oder 5 (n = 2, 1,1%).

Im Anhang A.2.2 in Tabelle 118 sind die absoluten Häufigkeiten angegeben und in Tabelle 119 ist die verabreichte Komedikation aufgeführt.

3.3.1.3 Krankheitsmerkmale und unerwünschte Arzneimittelwirkungen 4 Wochen nach Therapiebeginn

Nachfolgend sind sowohl für die Population n_{gesamt} als auch für die Teilpopulation n_2 die Ergebnisse der Beurteilung des Krankheitszustandes der Studienteilnehmer (PDS- und CGI-Werte, 2.1.2.1 und 2.1.2.2), das Ausmaß aufgetretener Nebenwirkungen (DOTES, 2.1.2.3) sowie die Veränderung von Körpergewicht und BMI nach einer Behandlungsdauer von vier Wochen dargestellt.

3.3.1.3.1 Gesamtpopulation n_{gesamt}

Tabelle 40 Krankheitsmerkmale und unerwünschte Arzneimittelwirkungen - Studienpopulation n_{gesamt}

Variable	n ^a	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
PDS-P nach 4 Wochen	378	5,4	6,5	0	35
PDS-P (Aufnahme – 4 Wochen)	375	2,7	6,6	-18	34
PDS-D nach 4 Wochen	378	13,8	10,0	0	45
PDS-D (Aufnahme – 4 Wochen)	375	5,0	8,8	-28	32
Summe NW nach 4 Wochen	493	2,6	3,7	0	34
NW Cluster a nach 4 Wochen	493	0,9	1,7	0	11
NW Cluster b nach 4 Wochen	493	0,4	1,2	0	8
NW Cluster c nach 4 Wochen	493	0,5	1,2	0	9
NW Cluster d nach 4 Wochen	493	0,2	0,8	0	6
NW Cluster e nach 4 Wochen	493	0,4	0,9	0	5
NW Cluster f nach 4 Wochen	165	0,1	0,4	0	3
Gewicht in kg nach 4 Wochen	475	75,0	15,6	44,0	137,5
Gewichtsdifferenz nach 4 Wochen (kg)	475	1,2	3,1	-11,3	12,4
Gewichtsdifferenz nach 4 Wochen (%)	475	1,9	4,5	-12,0	21,4
BMI nach 4 Wochen	474	25,5	4,8	16,3	51,1
BMI-Differenz nach 4 Wochen	474	0,4	1,1	-3,7	4,2

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

30,0 % aller Patienten mit verfügbaren CGI-1-Werten zeigten keine Verbesserung der Symptomatik nach 4 Wochen Therapie (Tabelle 41).

Tabelle 41 CGI-1-Werte - Studienpopulation n_{gesamt}

CGI-1 nach 4 Wochen	n	%	CGI-1 (Aufnahme – 4 Wochen)	n	%
2	11	1,9	-3	1	0,2
3	42	7,2	-2	5	0,9
4	106	18,2	-1	31	5,3
5	181	31,2	0	137	23,6
6	116	20,0	1	188	32,4
7	29	5,0	2	82	14,1
8	6	1,0	3	37	6,4
9	1	0,2	4	8	1,4
			5	1	0,2
			6	1	0,2
Gesamt	492	84,7	Gesamt	491	84,5

Bei 46,6 % aller Patienten, für die CGI-2-Werte vorhanden waren, wurde die Zustandsänderung nach 4-wöchiger Behandlung als sehr viel oder viel besser beurteilt (Tabelle 42).

Tabelle 42 CGI-2-Werte - Studienpopulation n_{gesamt}

CGI-2 nach 4 Wochen	n	%
1	4	0,7
2	68	11,7
3	203	34,9
4	165	28,4
5	56	9,6
6	8	1,4
8	1	0,2
Gesamt	505	86,9

Lediglich 20,5 % aller Studienteilnehmer mit CGI-3/-1-Werten zeigten eine umfassende Besserung mit vollständiger oder fast vollständiger Remission aller Symptome. Bei 9,7 % der Patienten mit CGI-3/2-Werten wurde der Therapieerfolg wesentlich durch unerwünschte Arzneimittelwirkungen beeinträchtigt bzw. überwogen diese die therapeutische Wirksamkeit (Tabelle 43).

Tabelle 43 CGI-3-Werte - Studienpopulation n_{gesamt}

CGI-3/1 nach 4 Wochen (erwünschte Arzneimittelwirkungen)	n	%	CGI-3/2 nach 4 Wochen (unerwünschte Arzneimittelwirkungen)	n	%
1	8	1,4	1	240	41,3
2	119	20,5	2	169	29,1
3	171	29,4	3	48	8,3
4	124	21,3	4	8	1,4
5	45	7,7			
Gesamt	467	80,4	Gesamt	465	80,0

3.3.1.3.2 Population n₂**Tabelle 44** Krankheitsmerkmale und unerwünschte Arzneimittelwirkungen - Studienpopulation n₂

Variable	n ^a	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
PDS-P nach 4 Wochen	145	5,1	6,3	0	35
PDS-P (Aufnahme – 4 Wochen)	145	2,8	6,6	-18	27
PDS-D nach 4 Wochen	145	14,3	9,8	0	44
PDS-D (Aufnahme – 4 Wochen)	145	5,1	8,4	-16	32
Summe NW nach 4 Wochen	165	3,1	4,4	0	34
NW Cluster a nach 4 Wochen	165	1,3	2,0	0	11
NW Cluster b nach 4 Wochen	165	0,4	1,0	0	6
NW Cluster c nach 4 Wochen	165	0,6	1,4	0	8
NW Cluster d nach 4 Wochen	165	0,3	1,0	0	6
NW Cluster e nach 4 Wochen	165	0,4	0,9	0	5
NW Cluster f nach 4 Wochen	165	0,1	0,4	0	3
Gewicht in kg nach 4 Wochen	145	76,7	18,4	45,5	137,5
Gewichtsdifferenz nach 4 Wochen (kg)	145	0,6	3,2	-10,5	12,4
Gewichtsdifferenz nach 4 Wochen (%)	145	1,1	4,5	-9,7	21,4
BMI nach 4 Wochen	144	26,3	5,8	16,5	51,1
BMI-Differenz nach 4 Wochen	144	0,2	1,1	-3,2	3,8

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Bei 29,6 % der Teilpopulation n₂, für die CGI-1-Werte vorlagen, verbesserte sich der Krankheitszustand nicht innerhalb von 4 Wochen (Tabelle 45). Dieser Anteil ist mit dem in der Gesamtpopulation vergleichbar (Tabelle 41).

Tabelle 45 CGI-1-Werte - Studienpopulation n₂

CGI-1 nach 4 Wochen	n	%	CGI-1 (Aufnahme – 4 Wochen)	n	%
2	2	0,9	-2	2	0,9
3	10	4,6	-1	6	2,8
4	31	14,4	0	56	25,9
5	73	33,8	1	68	31,5
6	42	19,4	2	25	11,6
7	7	3,2	3	10	4,6
8	2	0,9			
Gesamt	167	77,3	Gesamt	167	77,3

Der Anteil der Studienteilnehmer dieser Teilpopulation mit CGI-2-Werten, deren Krankheitszustand als sehr viel oder viel besser eingeschätzt wurde, war mit 38,9 % verglichen zur Gesamtpopulation etwas niedriger (Tabelle 42 und Tabelle 46).

Tabelle 46 CGI-2-Werte - Studienpopulation n₂

CGI-2 nach 4 Wochen	n	%
2	16	7,4
3	68	31,5
4	60	27,8
5	19	8,8
6	3	1,4
8	1	0,5
Gesamt	167	77,3

In dieser Teilpopulation zeigten nur 16,2 % aller Patienten mit CGI-3-Werten eine sehr gute therapeutische Wirksamkeit verglichen mit 20,5% der Gesamtpopulation. Wesentliche Therapiebeeinträchtigungen durch unerwünschte Arzneimittelwirkungen betrafen 13,0 % der Studienteilnehmer (Tabelle 47).

Tabelle 47 CGI-3-Werte - Studienpopulation n₂

CGI-3/1 nach 4 Wochen (erwünschte Arzneimittel-wirkungen)			CGI-3/2 nach 4 Wochen (unerwünschte Arzneimittel-wirkungen)		
	n	%		n	%
2	35	16,2	1	77	35,6
3	58	26,9	2	61	28,2
4	58	26,9	3	25	11,6
5	15	6,9	4	3	1,4
Gesamt	166	76,9	Gesamt	166	76,9

3.3.1.4 Ansprechen und Aufenthaltsdauer

3.3.1.4.1 Gesamtpopulation n_{gesamt}

Die Beurteilung des Krankheitszustands zum Aufnahmezeitpunkt durch den behandelnden Arzt (CGI-1) korrelierte in der Gesamtpopulation mit der Einschätzung der Patienten, die unter Erkrankungen des schizophrenen Formenkreis litten (F2-Diagnosen) (PDS-P) ($\tau = 0,2$, $p < 0,001$). Bei Patienten, die unter affektiven Störungen (F3-Diagnosen) (PDS-D) litten, war dieser Zusammenhang nicht zu beobachten ($\tau = 0,05$, $p = 0,413$).

Nach 4-wöchiger Therapie zeigten sich für beide Diagnosegruppen signifikante Zusammenhänge zwischen ärztlicher Einschätzung des Krankheitszustandes (CGI-1) und der Beurteilung der Patienten (PDS) sowie zwischen CGI-1 und der Aufenthaltsdauer der Patienten (F2-Diagnosen, $\tau = 0,2$, $p < 0,001$ und $\tau = 0,3$, $p < 0,001$; F3-Diagnosen, $\tau = 0,3$, $p < 0,001$ und $\tau = 0,3$, $p < 0,001$).

Weiterhin fand sich unabhängig von der Diagnose eine signifikante Korrelation zwischen der gesamten stationären Aufenthaltsdauer und der Zeitspanne bis zum Beginn des Ansprechens ($\tau = 0,4$, $p < 0,001$) sowie der therapeutischen Wirksamkeit (CGI-3/1) ($\tau = 0,3$, $p < 0,001$).

3.3.1.4.2 Population n_2

Die Beurteilung des Krankheitszustand zum Aufnahmezeitpunkt durch den behandelnden Arzt (CGI-1) korrelierte mit der Einschätzung der Patienten mit Erkrankungen des depressiven Formenkreis (F3-Diagnosen) (PDS-D) ($\tau = 0,3$, $p = 0,007$). Bei Patienten, die unter Erkrankungen des schizophrenen Formenkreis (F2-Diagnosen) (PDS-P) litten, war dieser Zusammenhang nicht zu beobachten ($\tau = 0,1$, $p = 0,255$). Nach einer Behandlungsdauer von vier Wochen korrelierte die Einschätzung der Schwere der Erkrankung durch den Patienten (PDS) ebenfalls nur in der F3-Diagnosegruppe statistisch signifikant mit der ärztlichen Beurteilung (CGI-1) (F3-Diagnosen, $\tau = 0,3$, $p = 0,016$; F2-Diagnosen, $\tau = 0,2$, $p = 0,065$).

Weiterhin fand sich für beide Diagnosegruppen eine signifikante Korrelation zwischen der Aufenthaltsdauer der Patienten und den PDS-D-Werten nach 4-wöchiger Therapie (F3-Diagnosen, $\tau = 0,3$, $p = 0,001$; F2-Diagnosen, $\tau = 0,2$, $p = 0,006$). Dieser Zusammenhang wurde für die entsprechenden PDS-P-Werte nicht gefunden.

Auch zwischen der Aufenthaltsdauer und Beginn des Ansprechens konnte möglicherweise auf Grund des geringeren Umfangs dieser Teilpopulation in keiner Diagnosegruppe eine Korrelation festgestellt werden.

3.3.2 Genotypisierungsergebnisse

Die relativen Genotyp- und Allelhäufigkeiten aller in den oben beschriebenen Studienpopulationen bestimmten Polymorphismen sind in unter A.3 angegeben und mit den publizierten Häufigkeiten anderer Populationen vergleichbar (siehe A.3).

Die Genotyp-Häufigkeiten aller bi- und triallelischen Polymorphismen entsprechen dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ($p > 0,05$), dessen Vorliegen mittels χ^2 -Test geprüft wurde.

3.3.3 Polymorphismen im mikrosomalen Arzneistoffmetabolismus – Assoziationen zu Serumkonzentrationen und klinischem Erfolg

3.3.3.1 Cytochrom-P450-System

3.3.3.1.1 CYP2D6 *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *17, *41, *1-4XN

Gemäß der unter 1.3.1.1 beschriebenen Systematik wurden die ermittelten CYP2D6-Genotypen den entsprechenden Gendosen und nachfolgend Metabolisierungstypen (Poor Metabolizer (PM), Intermediate Metabolizer (IM), Extensive Metabolizer (EM), Ultrarapid Metabolizer (UM)) zugeordnet, um für die statistische Auswertung ausreichend große Gruppen zu erhalten. (Die zugrundeliegenden Genotypen und Allelhäufigkeiten sind unter A.3.2 aufgeführt.)

Patienten mit CYP2D6-Substraten wurden wie folgt in den Medikationsgruppen „enge Definition“ und „weite Definition“ zusammengefasst. Der Abbau von Amitriptylin, Aripiprazol, Clomipramin, Doxepin, Duloxetin, Fluoxetin, Haloperidol, Imipramin, Paroxetin, Promethazin, Trimipramin, Zuclopenthixol verläuft überwiegend über diese CYP450-Monooxygenase, weshalb Studienteilnehmer mit dieser Medikation nachfolgend als Subpopulation „enge Definition“ behandelt wurden. In geringerem Ausmaß ist das Enzym außerdem an der Metabolisierung von Mirtazapin, Venlafaxin und Risperidon beteiligt, was zur Vergrößerung der vorher beschriebenen Subpopulation zur „weiten Definition“ führte.^{108,413,414} Der Einfluss des CYP2D6-Genotyps auf die Serumkonzentration der genannten Wirkstoffe konnte nur für Mirtazapin untersucht werden, da die Anzahl der vorliegenden Serumproben der anderen Substanzen für eine statistische Auswertung nicht ausreichend war.

Unter Berücksichtigung der verabreichten mittleren Tagesdosen wurde die Bedeutung des CYP2D6-Genotyps für das Therapieansprechen und das Auftreten von Nebenwirkungen bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Psychopharmaka untersucht.

Zunächst wurde der Einfluss der verschiedenen CYP2D6-Gendosen auf den Therapieerfolg nur für die Teilpopulation $n_2 = 216$ analysiert (siehe 3.3.1).

a) CYP2D6-Genotyp – Verteilung, Response und Nebenwirkungen (Population n_2)

In Abbildung 49 ist die Verteilung der CYP2D6-Gendosen in diesem Patientenkollektiv dargestellt.

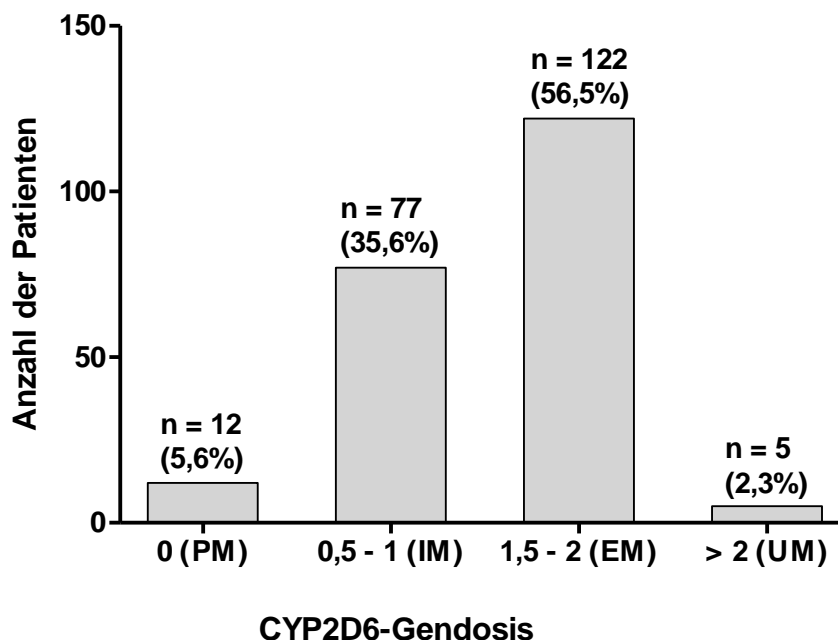


Abbildung 49 Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen in der Population n_2

Tabelle 48 gibt einen Überblick über die demografischen Daten zum Aufnahmezeitpunkt, CGI- und PD-S-Werte sowie CYP2D6-relevante verabreichte Komedikation.

Tabelle 48 Daten der Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n₂)

Variable	enge Definition			weite Definition		
	n ^a	Mittelwert	Standard- abweichung	n ^a	Mittelwert	Standard- abweichung
Alter	54	38,6	13,1	103	39,8	13,6
Gewicht in kg bei Aufnahme	54	76,8	21,5	103	75,3	18,1
Größe in cm	54	167,9	8,2	103	168,9	8,3
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	54	27,3	7,7	103	26,4	6,4
CGI-1 bei Aufnahme	42	6,1	0,8	83	6,0	0,8
CGI-1 nach 4 Wochen	42	5,4	1,0	83	5,2	1,0
CGI-2 nach 4 Wochen	42	4,0	0,9	83	3,7	1,0
CGI-3/1 nach 4 Wochen	42	3,7	0,7	83	3,5	0,8
CGI-3/2 nach 4 Wochen	42	1,8	0,8	83	1,7	0,8
	n ^a	Median	Interquartils- abstand	n ^a	Median	Interquartils- abstand
PD-S P bei Aufnahme	44	5,5	11,8 – 2,2	80	5,0	11,8 – 2,2
PD-S P nach 4 Wochen	44	4,5	9,8 – 1,0	80	3,0	7,0 – 0,0
PD-S D bei Aufnahme	44	21,5	27,8 – 15,8	80	21,0	27,0 – 14,0
PD-S D nach 4 Wochen	44	16,5	28,0 – 10,3	80	15,0	24,8 – 7,3
	Häufigkeit					
	n	%	n	%		
Raucher	28	51,9	51	49,5		
weiblich	42	77,8	77	74,8		
Komedikation- CYP2D6-Inhibitoren						
Duloxetin / Fluoxetin /	11 / 6 /	20,4 / 11,1 /	11 / 6 /	10,7 / 5,8 /		
Paroxetin / Sertralin	4 / 1	7,4 / 1,9	4 / 2	3,9 / 1,9		

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

In Tabelle 49 ist die Verteilung der verschiedenen CYP2D6- Metabolisierungstypen in dieser Medikationsgruppe dargestellt.

Tabelle 49 Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n₂)

Medikation	Häufigkeit	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				Gesamt
		PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)	
CYP2D6-abhängig (enge Definition)	n %	1 1,9	17 31,5	34 63,0	2 3,7	54 100,0
CYP2D6-abhängig (weite Definition)	n %	2 1,9	27 26,2	70 68,0	4 3,9	103 100,0

Im Vergleich zur Metabolisierungstypen-Verteilung in der gesamten Population n₂ (Abbildung 49) ist der Anteil von Patienten mit beeinträchtigter CYP2D6-Aktivität (PM, IM) in dieser Medikationsgruppe reduziert (Tabelle 49). Da es sich hinsichtlich jedes ermittelten Genotyps eines Patienten um eine doppelblinde Studie handelte, waren dem behandelnden Arzt die Ergebnisse der CYP2D6-Genotypisierung nicht bekannt.

Basierend auf den Empfehlungen der WHO für die durchschnittliche Tagesdosis bestimmter Wirkstoffe⁴¹⁵ wurden Relativedosen für alle im Rahmen dieser Studie verwendeten CYP2D6-abhängigen Substanzen berechnet. Die Relativedosen CYP2D6-abhängiger Wirkstoffe der engen Definition unterschieden sich betreffend des CYP2D6-Genotyps nicht ($p > 0,6$). Ebenso gab es bei diesen Patienten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Aufenthaltsdauer (50, 66, 85 und 77 Tage für 1 PM, 17 IM, 34 EM und 2 UM, $p > 0,6$) und dem Ansprechen auf die Therapie (0 von 1 PM (0%), 6 von 15 IM (40%), 8 von 29 EM (28%) und 1 von 2 UM (50%), $p > 0,6$) abhängig vom CYP2D6-Genotyp.

Interessanterweise erhielten Patienten mit Gendosen kleiner gleich 0,5 deutlich seltener CYP2D6-abhängige Medikamente als Patienten mit Gendosen größer gleich 1 (Tabelle 24). Möglicherweise wurden diese auf Grund bekannter Unverträglichkeiten mit anderen Wirkstoffen behandelt. Der Vergleich der verschiedenen Metabolisierungstypen (PM, IM, EM, UM) erbrachte allerdings keine signifikant unterschiedlichen Verschreibungshäufigkeiten.

Tabelle 50 CYP2D6-Gendosis: Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n₂)

Medikation	CYP2D6-GD ≤ 0,5	CYP2D6-GD ≥ 1	p-Wert
CYP2D6-Substrate (enge Definition)	1/19 (5%)	53/164 (32%)	0,009
CYP2D6-Substrate (weite Definition)	4/19 (21%)	99/164 (60%)	0,001
Fisher-Exact-Test			

Die beiden Gendosis-Gruppen unterschieden sich nicht bezüglich der pro CYP2D6-Substrat verabreichten Relativedosen (enge Definition $p > 0,7$, weite Definition $p > 0,8$). Unterschiede hinsichtlich der Summe der aufgetretenen Nebenwirkungen unter der Therapie mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen bzw. Beeinträchtigungen durch diese waren ebenfalls nicht feststellbar (enge Definition, Mann-Whitney-U-Test $p > 0,2$ bzw. Fisher-Exact-Test, GD ≤ 0,5 (6/16 (38%)), GD ≥ 1 (9/26 (35%)), $p > 0,8$; weite Definition $p = 0,09$ bzw. GD ≤ 0,5 (9/23 (39%)), GD ≥ 1 (18/60 (30%)), $p > 0,4$). Auf Grund der geringen Patientenzahl wurde das Ansprechen auf die Therapie nicht abhängig von der gestellten Diagnose betrachtet und somit nur die CGI-, nicht aber PD-S-Werte berücksichtigt. Die Responserate (CGI-2 ≤ 2) unterschied sich aber weder signifikant zwischen Patienten, die mit CYP2D6-Substraten (2/42 (5%)) behandelt wurden und denen, die keine CYP2D6-Medikation erhielten (12/111 (11%)) ($p > 0,2$, enge Definition ($p > 0,4$ weite Definition)), noch abhängig vom

CYP2D6-Genotyp ($n = 42$, $p > 0,4$, enge Definition ($n = 83$, $p > 0,2$ weite Definition)). Allerdings konnte ein nicht signifikanter Zusammenhang zwischen dem CGI-2-Wert und dem CYP2D6-Metabolisierungsstatus festgestellt werden (nur weite Definition, $n = 83$, $p = 0,079$, $\tau = -0,2$). Demzufolge wiesen Studienteilnehmer mit höherer CYP2D6-Aktivität eine stärkere Verbesserung des Krankheitszustandes nach 4-wöchiger Behandlung auf.

Weder für die weite noch für die enge Definition der Gabe CYP2D6-abhängig metabolisierter Substrate zeigten sich Korrelationen zu demografischen Merkmalen der Studienpopulation wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe, BMI oder Raucherstatus bzw. Krankheitsmerkmalen wie Diagnose, CGI-1 bei Aufnahme und Krankheitsanamnese bezüglich der unterschiedlichen Genotypen.

Patienten mit CYP2D6-abhängiger Medikation hatten eine signifikant längere Aufenthaltsdauer (+24 Tage) im Vergleich zu Patienten, die ohne Wirkstoffe behandelt wurden, die über CYP2D6 metabolisiert werden (enge Definition, $n = 54$ bzw. 129, $p = 0,003$). Dieser Zusammenhang konnte jedoch nicht für die weite Definition beobachtet werden (lediglich +4 Tage, $n = 103$ bzw. 80, $p = 0,245$).

Für $n = 161$ Studienteilnehmer lagen Daten bezüglich des Therapieansprechens (gemäß den Angaben des behandelnden Arztes) vor. Von 114 Patienten ohne CYP2D6-Medikation reagierte 63 (55%) auf die Therapie im Vergleich zu 15 von 47 (21%) Patienten mit CYP2D6-Medikation (enge Definition, Fisher-Exact-Test, $p = 0,009$, OR: 0,6 (95%-KI: 0,3-1,0)). Für die erweiterte Definition CYP2D6-abhängiger Präparate war dieser Effekt ebenfalls zu beobachten. Allerdings fiel hier der Unterschied etwas geringer aus: Von 72 Patienten ohne CYP2D6-Medikation reagierte 45 (63%) auf die Therapie im Vergleich zu 33 von 89 (37%) Patienten mit CYP2D6-Medikation ($p = 0,002$, OR: 0,6 (95%-KI: 0,3-1,1)) (Abbildung 50).

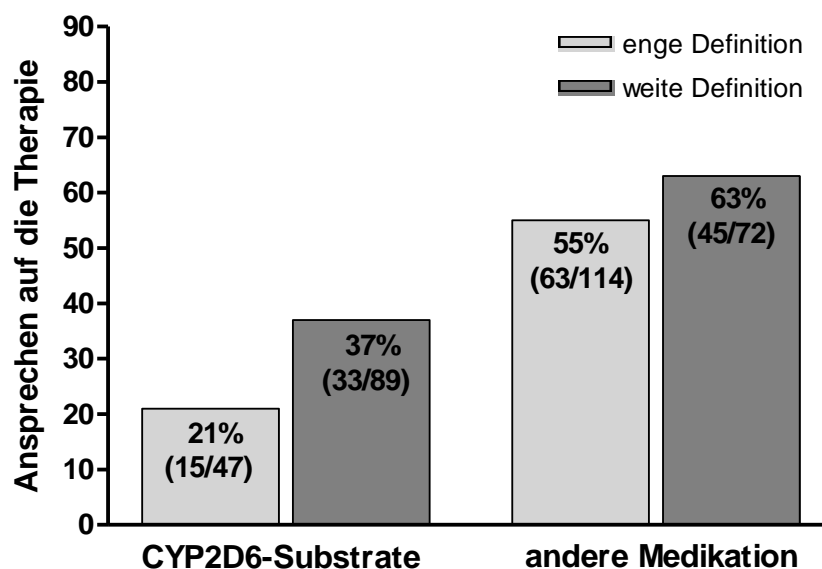


Abbildung 50 Anteile der Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben (mit bzw. ohne CYP2D6-Medikation) (n_2)

Die untersuchte Population zeigte keine Variationen hinsichtlich Alter, Körpergewicht, Körpergröße, BMI, Geschlecht, Rauchen und Familienanamnese in Abhängigkeit von der Medikation (CYP2D6-abhängig oder nicht).

Zusammenfassung der Ergebnisse – Teilpopulation $n_2 = 216$:

- Patienten mit hohen Gendosen tendierten zu einer stärkeren Zustandsverbesserung nach 4-wöchiger Therapie als Patienten mit niedrigen Gendosen (CGI-2, $p = 0,079$). Ein Einfluss des CYP2D6-Genotyps auf Response- und Nebenwirkungsraten wurde nicht beobachtet.
- Patienten mit Gendosen $\leq 0,5$ erhielten signifikant seltener CYP2D6-abhängige Psychopharmaka als Patienten mit höheren Gendosen.
- Patienten, die CYP2D6-Substrate bekamen, respondi­erten seltener und hatten eine längere Aufenthaltsdauer als Patienten, die mit anderen Wirkstoffen behandelt wurden.

Im Vergleich dazu wurde in der Teilpopulation $n_1 = 365$ in früheren Untersuchungen⁴¹⁶ folgendes beobachtet:

- Im Gegensatz zur kleineren Subpopulation n_2 wurden hier genotypabhängig unterschiedliche Nebenwirkungsraten beobachtet. Intermediate Metabolizer mit CYP2D6-abhängiger Medikation litten stärker unter Nebenwirkungen als Extensive Metabolizer (39% vs. 22%, $p = 0,099$), v.a. wenn deren Dosen oberhalb der medianen Tagesdosen aller IMs und EMs lag (9/13, 69%). Die verschiedenen Metabolisierungstypen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich der Responseraten (IMs: 3/42, 7% vs. EMs: 9/49, 18%, $p = 0,134$). Allerdings ist eine Tendenz zu häufigerem Ansprechen von EMs verglichen mit IMs zu sehen. Dieser Zusammenhang stimmt mit einer stärkeren Zustandsverbesserung bei Patienten mit höheren Gendosen in der n_2 -Teilpopulation überein.
- In dieser Subpopulation bekamen Patienten mit Gendosis 0 und 0,5 wie in Teilpopulation n_2 deutlich seltener CYP2D6-Substrate (OR = 2,5, $p = 0,020$).
- Aufenthaltsdauer und Zeit bis zum Ansprechen waren bei Patienten ohne CYP2D6-abhängige Medikation kürzer als bei Patienten mit CYP2D6-Substraten (-6 Tage, $p = 0,075$ und -4 Tage, $p = 0,034$).

Die beiden Subpopulationen sind daher sowohl in Bezug auf das CYP2D6-genotypabhängige Therapieansprechen, als auch hinsichtlich der stationären Aufenthaltsdauer unter Therapie mit CYP2D6-abhängigen Psychopharmaka sowie der gendosisabhängigen Verschreibungshäufigkeiten vergleichbar. Ein Trend zu mehr Nebenwirkungen bei IM im Vergleich zu EM in der größeren Subpopulation n_1 konnte in n_2 jedoch nicht bestätigt werden.

b) CYP2D6-Genotyp – Verteilung, Response und Nebenwirkungen (Population n_{gesamt})

Die Übereinstimmung der Population n_2 mit der Population n_1 bezüglich der Abhängigkeit der Aufenthaltsdauer und des Ansprechens auf die Therapie von der Gabe CYP2D6-abhängiger Medikation bzw. der CYP2D6-Metabolisierungsstatus sowie vergleichbare Verschreibungshäufigkeiten⁴⁰⁸ verweisen auf eine ähnliche Struktur und rechtfertigen die gemeinsame Evaluation des CYP2D6-Einfluss auf die beiden Populationen als $n_{\text{gesamt}} = 572$.

In Abbildung 51 ist die Verteilung der Metabolisierungstypen in der Gesamtpopulation dargestellt.

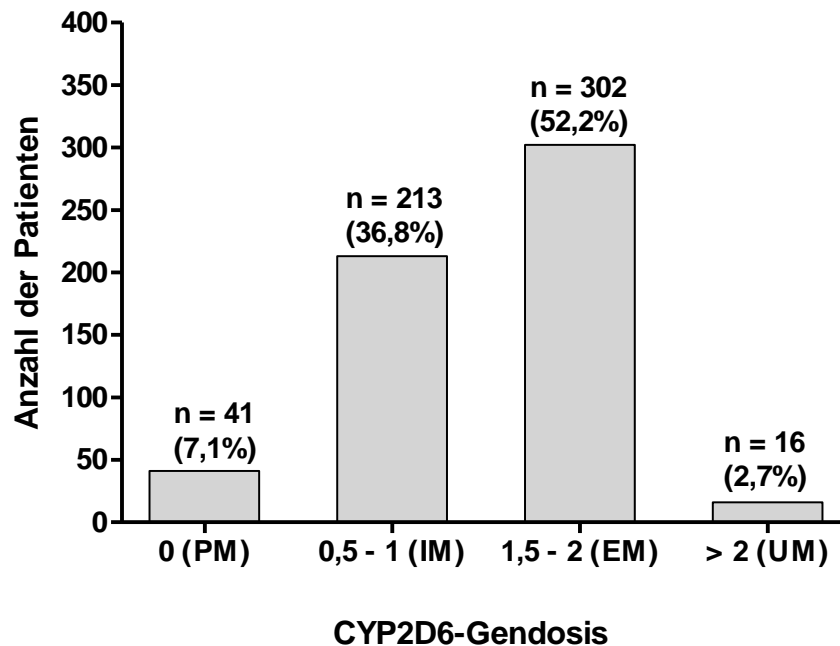


Abbildung 51 Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen in der Population n_{gesamt}

Tabelle 51 gibt einen Überblick über die demografischen Daten zum Aufnahmezeitpunkt, CGI- und PD-S-Werte sowie Anzahl der CYP2D6-Substrate und CYP2D6-relevante verabreichte Komedikation.

Tabelle 51 Daten der Patienten mit CYP2D6-Substraten (n_{gesamt})

Variable	enge Definition			weite Definition		
	n^a	Mittelwert	Standard- abweichung	n^a	Mittelwert	Standard- abweichung
Alter	160	43,0	15,2	354	43,5	15,3
Gewicht in kg bei Aufnahme	146	74,7	17,9	329	73,3	15,7
Größe in cm	160	169,6	9,1	354	170,7	8,6
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	146	26,0	5,7	329	25,2	5,1
CGI-1 bei Aufnahme	136	6,0	0,9	300	5,9	0,9
CGI-1 nach 4 Wochen	136	5,2	1,2	300	4,9	1,2
CGI-2 nach 4 Wochen	136	3,7	1,0	300	3,5	1,0
CGI-3/1 nach 4 Wochen	128	3,4	1,0	278	3,2	1,0
CGI-3/2 nach 4 Wochen	128	1,7	0,8	277	1,6	0,7
	n^a	Median	Interquartils- abstand	n^a	Median	Interquartils- abstand
PD-S P bei Aufnahme	117	5,0	10,0 – 2,0	233	5,0	10,0 – 2,0
PD-S P nach 4 Wochen	117	3,0	7,0 – 1,0	233	3,0	7,0 – 1,0
PD-S D bei Aufnahme	117	20,0	27,5 – 12,0	233	20,0	27,0 – 12,0
PD-S D nach 4 Wochen	117	14,0	25,0 – 7,5	233	13,0	21,5 – 6,0
	Häufigkeit					
	n	%	n	%		
Raucher	82	51,3	156	44,1		
weiblich	105	65,6	223	63,0		
Anzahl CYP2D6-Substrate						
1	138	86,3	262	74,0		
2	21	13,1	86	24,3		
3	1	0,6	6	1,7		
Komedikation-CYP2D6-Inhibitoren						
Duloxetin / Fluoxetin /	11 / 16 /	6,9 / 10,0 /	11 / 16 /	3,1 / 4,5 /		
Paroxetin / Sertralin	20 / 5	12,5 / 3,1	20 / 13	5,6 / 3,7		

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

In Tabelle 52 ist die Verteilung der verschiedenen CYP2D6-Metabolisierungstypen in dieser Medikationsgruppe dargestellt.

Tabelle 52 Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_{gesamt})

Medikation	Häufigkeit	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				Gesamt
		PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)	
CYP2D6-abhängig (enge Definition)	n %	1 1,9	17 31,5	34 63,0	2 3,7	54 100,0
CYP2D6-abhängig (weite Definition)	n %	2 1,9	27 26,2	70 68,0	4 3,9	103 100,0

Wie in der Teilpopulation n_2 ist auch hier der Anteil der PMs an Patienten mit CYP2D6-Substraten geringer als in der Gesamtpopulation ($n = 572$, Abbildung 51). Dieser in der Teilpopulation n_2 auch für IMs gefundene Unterschied verliert sich in dieser größeren Stichprobe ($n = 160$ (enge Definition) bzw. 354 (weite Definition), Tabelle 52).

Bei Betrachtung der Gendosen bekamen aber auch Patienten der Gesamtpopulation mit geringer Metabolisierungsaktivität ($\text{CYP2D6-GD} \leq 0,5$) deutlich seltener CYP2D6-abhängige Medikamente als Patienten mit Gendosen größer gleich 1 (Tabelle 53). Die untersuchten Gruppen waren hinsichtlich der Anzahl der verabreichten CYP2D6-Substrate und der Relativedosen pro Wirkstoff vergleichbar (enge Definition $p > 0,9$ bzw. $p > 0,6$, weite Definition $p > 0,7$ bzw. $p > 0,3$).

Tabelle 53 CYP2D6-Gendosis: Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_{gesamt})

Medikation	CYP2D6-GD $\leq 0,5$	CYP2D6-GD ≥ 1	p-Wert
CYP2D6-Substrate (enge Definition)	9/68 (13%)	151/471 (32%)	0,001
CYP2D6-Substrate (weite Definition)	36/68 (53%)	318/471 (68%)	0,020
Fisher-Exact-Test			

CYP2D6-Genotyp – Response und Nebenwirkungen unterschiedlicher Diagnose-Gruppen

Auf Grund ausreichend großer Fallzahlen wurde die Population n_{gesamt} zunächst getrennt nach der gestellten Diagnose (F2 (Schizophrenie, schizotype und wahnhaftige Störungen) bzw. F3 (Affektive Störungen)) analysiert.

Patienten mit CYP2D6-Medikation und F2-Diagnosen zeigten keine Unterschiede hinsichtlich der Aufenthaltsdauer, der Zeit bis zum Ansprechen, Nebenwirkungen und PD-S-P-Wert zu Beginn der Therapie und nach 4-wöchiger Behandlung abhängig vom CYP2D6-Metabolisierungsstatus (enge ($n = 72$) und weite ($n = 144$) Definition, $p > 0,5$).

Patienten mit CYP2D6-Medikation und F3-Diagnosen zeigten ebenfalls keine Unterschiede betreffend der Aufenthaltsdauer, der Zeit bis zum Ansprechen (enge und weite Definition, $p > 0,5$). Allerdings hatten 3 PM und 2 UM deutlich niedrigere PD-S-D-Werte (Median = 8 bzw. 7,5) nach 4 Wochen Therapie als 15 IM (Median = 20) und 33 EM (Median = 14) (Kruskal-Wallis-Test, $p = 0,048$, $n = 53$, nur enge Definition). PM ($n = 2$) hatten außerdem einen höheren medianen DOTES-Gesamtwert (8,5) und litten demzufolge unter mehr Nebenwirkungen als 24 IM (0,5), 32 EM (0,5) und 3 UM (0) (enge Definition, $p = 0,062$; weite Definition, $p = 0,069$ mit medianen DOTES-Gesamtwerten von 3,0 für 10 PM, 1,0 für 64 IM, 1,0 für 81 EM und 0,0 für 4 UM).

CYP2D6-Genotyp – Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit CYP2D6-abhängigen Antidepressiva

Ungeachtet der gestellten Diagnose sprachen PMs und UMs, die Antidepressiva erhielten, welche überwiegend über CYP2D6 abgebaut werden (Amitriptylin, Clomipramin, Doxepin, Duloxetin, Fluoxetin, Imipramin, Paroxetin, Trimipramin), innerhalb des Behandlungszeitraums besser auf die Therapie an als IMs oder EMs ($p = 0,038$, Tabelle 54). Dabei litten Studienteilnehmer mit wenigstens einem funktionierenden CYP2D6-Allel unter weniger Nebenwirkungen als PMs ($p = 0,034$, Tabelle 54).

Tabelle 54 CYP2D6-Metabolisierungsstatus: PD-S-D- und DOTES-Gesamtwerte unter Gabe von CYP2D6-abhängigen Antidepressiva (n_{gesamt})

Variable	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				p-Wert
	PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)	
n	3	20	44	3	
PDS-D bei Aufnahme	22,0 (15,0 -)	23,0 (15,8 29,5)	23,0 (14,0 28,8)	17,0 (12,0 -)	0,514 ^a
PDS-D nach 4 Wochen	8,0 (3,0 -)	18,0 (13,5 31,0)	15,0 (5,5 23,0)	11,0 (4,0 -)	0,038 ^a
n	2	31	43	4	
DOTES-Gesamtwert	8,5 (4,0 -)	1,0 (0,0 3,0)	1,0 (0,0 2,0)	0,0 (0,0 0,8)	0,090 ^a / 0,034 ^b

Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.

^aKruskal-Wallis-Test, ^bMann-Whitney-Test (PM vs. IM+EM+UM)

Dementsprechend war auch der Anteil an Patienten, die mäßig oder schwer durch Nebenwirkungen beeinträchtigt wurden bei niedrigen Gendosen tendenziell größer ($p = 0,069$, Abbildung 52, PM vs. IM: OR = 3,1 (95%-KI: 0,7-14,7, PM vs. EM: OR = 4,0 (95%-KI: 0,9-18,6, PM vs. UM: OR = 9,0 (95%-KI: 0,4-220,9).

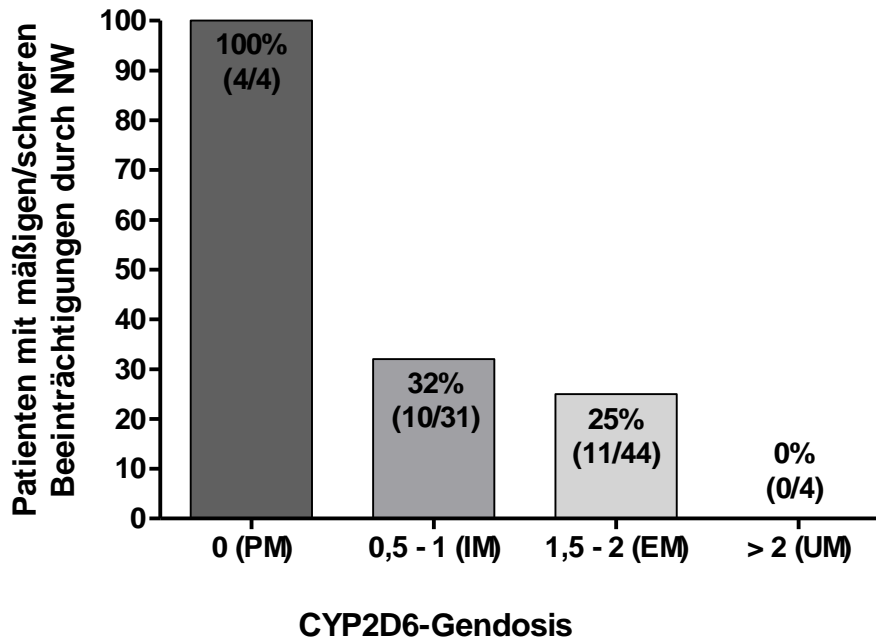


Abbildung 52 CYP2D6-Metabolisierungsstatus: Nebenwirkungsraten unter Gabe von CYP2D6-abhängigen Antidepressiva (n_{gesamt})

Ein Einfluss des CYP2D6-Genotyp auf die Responderaten (gemäß Angabe des behandelnden Arztes, CGI-2 ≤ 2 bzw. PDS-D-Wertverringernung $> 50\%$) war in dieser Medikationsgruppe nicht feststellbar ($p > 0,6$, $p > 0,3$ bzw. $p > 0,1$). Es fand sich ebenfalls keine Assoziation zwischen der Zeit bis zum Ansprechen bzw. der Aufenthaltsdauer der Patienten und den verschiedenen CYP2D6-Metabolisierungstypen ($p > 0,5$).

Zum Vergleich zeigten Patienten ohne CYP2D6-abhängige antidepressive Medikation erwartungsgemäß keinerlei Unterschiede bezüglich des Therapieerfolges gemäß PD-S-D- bzw. CGI-Skala oder Nebenwirkungen in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp ($p > 0,2$ bzw. $p > 0,3$).

CYP2D6-Genotyp – Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit CYP2D6-abhängigen Antipsychotika

Bei 68 Patienten, welche mit Antipsychotika therapiert wurden, die überwiegend mittels CYP2D6 metabolisiert werden (Aripiprazol, Haloperidol, Promethazin, Zuclophenthixol), wurden keine Unterschiede bezüglich des Therapieerfolges in Abhängigkeit vom Metabolisierungsstatus des Enzyms beobachtet (PD-S-P nach 4 Wochen: $p > 0,5$, DOTES-Gesamtwert: $p > 0,8$, Anteil der Beeinträchtigung durch Nebenwirkungen: $p > 0,5$).

CYP2D6-Genotyp – Response und Nebenwirkungen aller Patienten

Unabhängig von der Diagnose bzw. Art der CYP2D6-abhängigen Medikation zeigte sich beim Vergleich der verschiedenen Metabolisierungstypen kein Unterschied für das Therapieansprechen ($\text{CGI-2} \leq 2$) bezüglich der engen Definition ($n = 136$, $p = 0,189$), jedoch tendenziell für die weite Definition ($n = 300$, $p = 0,053$). Patienten mit niedriger CYP2D6-Gendosis respondierten dabei häufiger als Patienten mit höheren CYP2D6-Gendosen (Tabelle 55, OR: 2,4 (95%-KI: 1,1-5,6)). Ein signifikanter Unterschied ließ sich dabei nur nach der in Tabelle 55 dargestellten Einteilung nachweisen, nicht aber bei Vergleich von PM+IM versus EM+UM (entspricht $\text{GD} \leq 1$ versus $\text{GD} > 1$, $p = 0,609$).

Tabelle 55 CYP2D6-Gendosis: Responderaten (gemäß $\text{CGI-2} \leq 2$)

Variable	CYP2D6-GD $\leq 0,5$	CYP2D6-GD ≥ 1	p-Wert
CGI-2 ≤ 2	9/31 (29%)	32/269 (12%)	0,022
Fisher-Exact-Test			

Die untersuchten Gruppen unterschieden sich nicht bezüglich der pro CYP2D6-Substrat verabreichten Relativedosen (enge Definition $p > 0,6$, weite Definition $p > 0,3$). Korrelationen zwischen den CGI-Werten (CGI-1, CGI-2, CGI-3/1 bzw. -3/2) nach 4-wöchiger Behandlung und der CYP2D6-Gendosis wurden nicht festgestellt (enge Definition $p > 0,3$, weite Definition $p > 0,1$).

Hinsichtlich der Nebenwirkungsraten gab es keine Unterschiede zwischen den Genotypen (enge Definition: $p = 0,440$ und erweiterte Definition: $p = 0,634$). Übereinstimmend korrelierten DOTES-Gesamtwert und die Höhe der Nebenwirkungs-Cluster nicht mit dem CYP2D6-Metabolisierungsstatus (enge Definition: $p > 0,2$ und erweiterte Definition: $p > 0,1$).

Patienten ohne CYP2D6-Substrate unterschieden sich erwartungsgemäß nicht in ihren Responderaten ($\text{CGI-2} \leq 2$) abhängig vom CYP2D6-Genotyp ($n = 168$, $p = 0,410$).

Die untersuchten CYP2D6-Gendosen / -Metabolisierungstypen unterschieden sich nicht hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe, BMI oder Raucherstatus bzw. Krankheitsmerkmalen wie Diagnose, CGI-1 bei Aufnahme und Krankheitsanamnese.

CYP2D6-abhängige Psychopharmaka versus andere Psychopharmaka

Die Responserate nach $CGI-2 \leq 2$ unterschied sich nicht signifikant zwischen Patienten, die mit CYP2D6-Substraten (15/136 (11%)) behandelt wurden und denen, die keine CYP2D6-Medikation erhielten (52/326 (16%)) (enge Definition $p = 0,194$, weite Definition $p > 0,4$). Allerdings war der Anteil der Patienten, die gemäß Angabe des behandelnden Psychiaters auf die Therapie angesprochen haben signifikant größer (209/356 (59%) bzw. 105/171 (61%)), wenn diese keine CYP2D6-Medikation erhielten ($n = 503$, sowohl für die enge (Fisher-Exact-Test, $p = 0,002$, OR: 0,8 (95%-KI: 0,5-1,1) als auch für die weite Definition (Fisher-Exact-Test, $p = 0,023$, OR: 0,8 (95%-KI: 0,6-1,1), Abbildung 53).

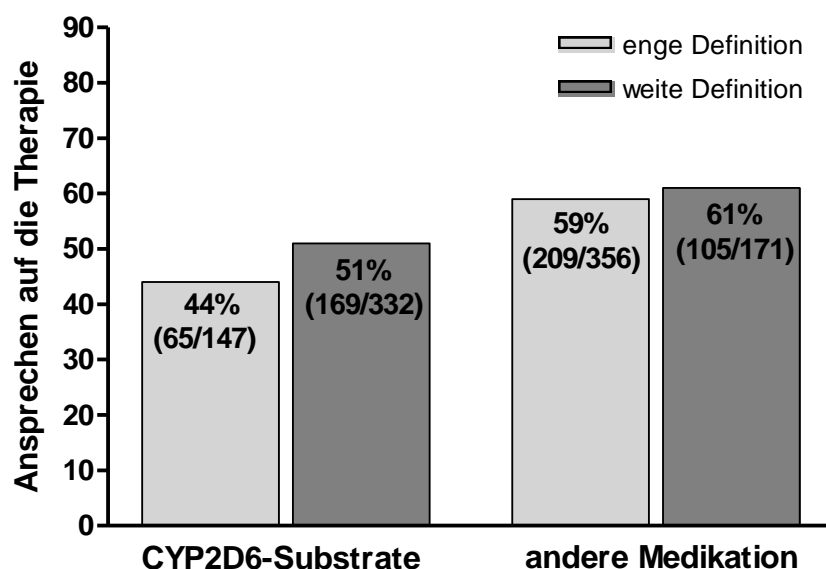


Abbildung 53 Anteil der Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben (mit bzw. ohne CYP2D6-Medikation)

Interessanterweise konnte dieser Zusammenhang für alle CYP2D6-Metabolisierungstypen beobachtet werden, wobei der Responseunterschied bei PMs am größten war (Tabelle 56).

Tabelle 56 Anteil der Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben (abhängig von Medikation und CYP2D6-Genotyp)

Medikation	CYP2D6-Metabolisierungsstatus			
	PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)
CYP2D6-Substrate (enge Definition)	40% (2/5)	48% (26/54)	40% (33/82)	50% (3/6)
andere Medikation	67% (22/33)	57% (74/129)	58% (108/186)	63% (5/8)
	$p = 0,337$	$p = 0,260$	$p = 0,008$	$p = 1,0$
CYP2D6-Substrate (erweiterte Definition)	57% (12/21)	51% (59/116)	50% (91/184)	55% (6/11)
andere Medikation	71% (12/17)	61% (41/67)	60% (50/84)	67% (2/3)
	$p = 0,506$	$p = 0,218$	$p = 0,147$	$p = 1,0$
Fisher-Exact-Test				

Dementsprechend zeigten Studienteilnehmer mit CYP2D6-abhängiger Medikation eine signifikant längere Aufenthaltsdauer (+14 Tage) und ein späteres Ansprechen (+6 Tage) im Vergleich zu

Patienten, die ohne Wirkstoffe behandelt wurden, die über CYP2D6 metabolisiert werden (enge Definition, $n = 160$ bzw. 379 , $p = 0,003$ und $n = 103$ bzw. 297 , $p = 0,027$). Diese Zusammenhänge konnten jedoch nicht für die weite Definition beobachtet werden ($p > 0,6$ bzw. $p > 0,2$). Ein Einfluss der Art der Medikation (CYP2D6-abhängig oder nicht) auf die aufgetretenen Nebenwirkungen war nicht feststellbar ($n = 473$, enge Definition $p > 0,8$, weite Definition $p > 0,2$).

Die untersuchte Population zeigte keine Variationen hinsichtlich Alter, Körpergewicht, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Familienanamnese in Abhängigkeit von der Medikation (CYP2D6-abhängig oder nicht). Es zeigte sich allerdings eine Assoziation zu den Rauchgewohnheiten der Patienten. In der Gruppe, die CYP2D6-Substrate erhielten, befanden sich signifikant mehr Raucher ($82/160$ (51%)) als in der Patientengruppe, die keine CYP2D6-abhängige Medikation erhielt ($147/378$ (39%)) (nur enge Definition, $p = 0,010$). Dabei war der Raucherstatus der Patienten nicht mit dem Therapieansprechen assoziiert ($p = 0,723$).

CYP2D6-Genotyp – Mirtazapin-Serumkonzentrationen

Mirtazapin wird von CYP2D6, CYP3A4 und durch CYP1A2 metabolisiert.⁴¹⁷ Von 157 Patienten der Gesamtpopulation, die mit Mirtazapin behandelt wurden lagen für 68 Patienten Serumkonzentrationen vor, welche nicht normalverteilt waren. Assoziationen zum CYP2D6-Genotypen wurden deshalb mit nonparametrischen Verfahren untersucht. Hierzu wurden die Messwerte vor der Analyse hinsichtlich der verabreichten Dosis des jeweiligen Wirkstoffs und des Körpergewichts der Patienten korrigiert. Die demografischen und Krankheitsmerkmale sowie CYP2D6-relevante Komedikation dieser Subpopulation sind auf Seite 106 aufgeführt. Ergebnisse zum Einfluss der absoluten Mirtazapin-Serumkonzentrationen (ng/ml) auf Therapieerfolg und Nebenwirkungen finden sich im Kapitel 3.3.3.1.3 auf Seite 134.

Ebenfalls im Abschnitt 3.3.3.1.3 ist der Einfluss des Alters, des Rauchverhaltens, der zusätzlichen Gabe von Carbamazepin sowie des CYP1A2*1F-Polymorphismus auf die Serumspiegel von Mirtazapin beschrieben. Für eine bessere Übersicht sind diese Ergebnisse nachfolgend nochmals kurz aufgeführt.

Patienten höheren Alters (> 60 Jahre, n = 17) hatten mediane Konzentrationen von 140,1 ng/ml pro mg/kg, jüngere Patienten (≤ 60 Jahre, n = 51) hingegen 111,1 ng/ml pro mg/kg (p = 0,005) (siehe auch 3.3.1.1.1). Dementsprechend erfolgte die Auswertung des Einfluss der unterschiedlichen CYP2D6-Genotypen sowie Cytochrom-P450-relevanter Komedikation auf die normalisierten Mirtazapin-Serumkonzentrationen (ng/ml pro mg/kg) nach Aufteilung der Subpopulation in Altersgruppen (> 60 Jahre ≤). Bei Patienten, die zusätzlich Carbamazepin, einen CYP1A2- und CYP3A4-Induktoren erhielten,¹⁶⁷ zeigte sich eine deutliche Spiegelabsenkung, die auf Grund der geringen Fallzahlen allerdings nicht mehr statistisch signifikant ausfiel, wenn der Einfluss des Alters der Studienteilnehmer berücksichtigt wurde (Tabelle 57). Patienten mit additiver Carbamazepin-Medikation wurden in die Auswertung des Einfluss der unterschiedlichen CYP2D6-Genotypen sowie Cytochrom-P450-relevanter Komedikation auf die normalisierten Mirtazapin-Serumkonzentrationen (ng/ml pro mg/kg) nicht einbezogen.

Tabelle 57 Mirtazapin-Serumkonzentrationen und Carbamazepin-Komedikation

Variable	Carbamazepin-Komedikation		p-Wert
	ja	nein	
n	3	48	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg) (Median) (Patienten ≤ 60 Jahre)	60,6	161,2	0,102
n	1	16	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg) (Median) (Patienten > 60 Jahre)	48,7	112,3	0,060
Mann-Whitney-Test			

Da die Reduktion der Mirtazapin-Serumkonzentrationen durch Rauchen nur schwach (7%, p = 0,293) ausgeprägt war, wurden die verbleibenden Patienten (ohne Carbamazepin) hinsichtlich des CYP2D6-Effekts gemeinsam ausgewertet.

Die Tendenz geschlechtsabhängiger Konzentrationsunterschiede der Absolutkonzentrationen (ng/ml) (männliche Patienten: 44,8 ng/ml, weibliche Patienten: 63,1 ng/ml, p = 0,201), verlor sich nach der Normalisierung der Konzentrationen für Dosis und Körpergewicht (p = 0,676).

Weder die zusätzliche Gabe CYP3A4-abhängiger Komedikation, noch die zusätzliche Verabreichung von Wirkstoffen, die über CYP1A2 metabolisiert werden, zeigten statistisch signifikante Auswirkungen auf die normalisierten Mirtazapin-Serumkonzentrationen (ng/ml pro mg/kg) (CYP3A4: Patienten ≤ 60 Jahre, p > 0,8, Patienten > 60 Jahre, p > 0,7; CYP1A2: Patienten ≤ 60 Jahre, p > 0,3, Patienten > 60 Jahre, p > 0,4). Drei Patienten der Mirtazapin-Subpopulation Patienten ≤ 60 Jahre erhielten zusätzlich Wirkstoffe, welche die CYP2D6-Enzymaktivität inhibieren können (Duloxetin, Paroxetin, Sertralin je n=1). Deren Mirtazapin-Konzentrationen (ng/ml pro mg/kg) waren allerdings nicht signifikant höher als bei den Patienten (n = 45), die keine CYP2D6-Inhibitoren erhielten (p > 0,3). Ein Patient der Mirtazapin-Subpopulation Patienten > 60 Jahre erhielt zusätzlich Duloxetin. Aber auch hier unterschied sich die Serumkonzentration nicht von denen der anderen 15 Patienten (p > 0,9).

In Tabelle 58 sind die medianen normalisierten Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg) in Abhängigkeit vom CYP2D6-Metabolisierungsstatus dargestellt. In der Altersgruppe ≤ 60 Jahre haben IM gefolgt von UM die höchsten medianen Konzentrationen. Ohne Patienten, die zusätzlich CYP2D6-Inhibitoren erhielten (1 UM, 1EM und 1IM) ändert sich die Verteilung der Serumspiegel wie folgt (ng/ml pro mg/kg): 122,7 (PM) vs. 130,0 (IM) vs. 90,1 (EM) vs. **163,2** (UM).

Möglicherweise ist für den unerwartet hohen Wert der UMs die zusätzliche Gabe CYP2D6- oder CYP3A4-abhängiger Medikation verantwortlich: Alle 3 UM (100%) erhielten zusätzlich Medikamente, die über CYP2D6 metabolisiert werden und 2/3 (67%) wurden zusätzlich mit CYP3A4- und CYP1A2-Substraten behandelt.

Dagegen bekamen nur 3/14 (21%) IM zusätzlich CYP2D6- bzw. CYP3A4-Substrate und 6/14 (43%) Patienten CYP1A2-Substrate.

Demgegenüber erhielten die 3 PM keinerlei zusätzliche Wirkstoffe, die CYP2D6 inhibieren oder Substrate des Enzyms darstellen. Sie wurden ferner mit CYP3A4- (1/3 (33%)) und CYP1A2-abhängigen (2/3 (67%)) Medikamenten behandelt.

EMs bekamen neben Mirtazapin ebenfalls CYP3A4- (10/28 (36%)) und CYP1A2-abhängige (13/28 (46%)) Medikamente. Nur ein kleiner Teil erhielt zusätzlich CYP2D6-Substrate (3/28 (11%)).

In der Altersgruppe > 60 Jahre verhalten sich die Mirtazapin-Konzentrationen abhängig von der CYP2D6-Metabolisierungsstatus erwartungsgemäß (Tabelle 58).

Hier bekam 1 UM keine zusätzlichen CYP2D6- und CYP3A4-Substrate. Dagegen erhielten 2/6 (33%) der IM und 3/9 (33%) EM noch andere CYP2D6-Substrate und 1/6 (17%) IM sowie 2/9 (22%) EM additiv CYP3A4-Substrate. Nur die Gabe von CYP1A2-Komedikation war bei IM (2/6 (33%)) und EM (4/9 (44%)) seltener als bei (nur einem) UM (1/1 (100%)).

Tabelle 58 CYP2D6-Metabolisierungsstatus: Mirtazapin-Serumkonzentrationen unterteilt nach Altersgruppen (> 60 Jahre \leq)

Variable	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				p-Wert
	PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5 - 2)	UM (GD > 2)	
<u>Patienten ≤ 60 Jahre</u>					
n	3	14	28	3	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	122,7 (69,4 -)	129,0 (94,1 - 172,5)	90,8 (62,9 - 123,6)	127,9 (115,2 -)	0,080
<u>Patienten > 60 Jahre</u>					
n	0	6	9	1	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	-	183,3 (110,3 - 252,6)	140,1 (124,1 - 265,3)	88,21 -	0,260

Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.

^aKruskal-Wallis-Test

Die geringe Fallzahl lässt eine statistisch aussagekräftige Analyse der Mirtazapin-Serumkonzentrationen ohne die genannten Einflussfaktoren nicht zu. Starke interindividuelle Schwankungen der Mirtazapin-Clearance sind aber auf Grund der vielen beteiligten CYP450-Monooxygenasen wahrscheinlich nicht zu erwarten. Allerdings ist eine negative Beeinflussung der Therapie durch eine ungünstige Genotyp-Konstellation der an der Metabolisierung beteiligten CYP450-Enzyme gepaart mit Induktion/Inhibition und Alter nicht auszuschließen. Um diesen Zusammenhang näher untersuchen zu können, ist jedoch ein größerer Stichprobenumfang nötig.

CYP2D6-Genotyp – Response und Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie

Alle Patienten, die Mirtazapin erhielten und keine Carbamazepin-Komedikation bekamen, wurden getrennt nach Altersgruppen (> 60 Jahre \leq) nochmals hinsichtlich des Ansprechens und aufgetretener Nebenwirkungen abhängig von der CYP2D6-Metabolisierungsstatus ausgewertet (> 60 Jahre n = 40, ≤ 60 Jahre n = 110).

Ältere Patienten zeigten eine signifikante negative Korrelation zwischen CYP2D6-Metabolisierungsstatus und Nebenwirkungen des Cluster a ($n = 36$, $p = 0,049$, $\tau = -0,3$) und nicht signifikant zu Nebenwirkungen des Cluster b ($n = 36$, $p = 0,066$, $\tau = -0,3$) sowie dem Gesamtwert der aufgetretenen Nebenwirkungen ($n = 36$, $p = 0,053$, $\tau = -0,3$) (Tabelle 59).

Tabelle 59 CYP2D6-Metabolisierungsstatus: DOTES unter Gabe von Mirtazapin (Patienten > 60 Jahre)

Variable	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				p-Wert
	PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)	
n	4	12	19	1	
DOTES-Gesamtwert	5,8 (±4,9)	2,6 (±3,2)	1,3 (±2,0)	2,0 (±0,0)	0,053
Nebenwirkungen Cluster a	1,3 (±1,5)	0,9 (±1,3)	0,4 (±1,2)	0,0 (±0,0)	0,049
Nebenwirkungen Cluster b	1,8 (±2,4)	0,3 (±1,2)	0,2 (±0,7)	0,0 (±0,0)	0,066

Cluster c: $p = 0,106$, Cluster d: $p = 0,452$, Cluster e: $p = 0,544$
 Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
 Kendall-tau-Rangkorrelation

Unterschiede oder Korrelationen hinsichtlich des Therapieansprechens wurden nicht festgestellt ($p > 0,5$).

Jüngere Patienten zeigten keine CYP2D6-Gendosis-abhängigen Unterschiede hinsichtlich des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen, aber eine Korrelation zwischen Metabolisierungsstatus und CGI-3/1 (erwünschte Arzneimittelwirkungen) nach 4 Wochen Therapie ($n = 92$, $p = 0,005$, $\tau = 0,3$, Tabelle 60).

Tabelle 60 CYP2D6-Metabolisierungsstatus: CGI-3/1-Werte unter Gabe von Mirtazapin (Patienten ≤ 60 Jahre)

Variable	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				p-Wert
	PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)	
n	8	26	55	3	
CGI-3/1 nach 4 Wochen (Mittelwert \pm SD)	2,8 (±0,9)	2,5 (±0,8)	3,2 (±0,9)	3,7 (±1,5)	0,005

Kendall-tau-Rangkorrelation

Demzufolge zeigten Patienten mit niedriger CYP2D6-Metabolisierungskapazität eine stärkere Symptomremission nach 4-wöchiger Mirtazapin-Therapie als Patienten mit höherer Enzymaktivität, welche außerdem signifikant länger in stationärer Behandlung waren (Tabelle 61).

Tabelle 61 CYP2D6-Metabolisierungsstatus: stationäre Aufenthaltsdauer unter Mirtazapin-Therapie (Patienten ≤ 60 Jahre)

Variable	CYP2D6-Metabolisierungsstatus				p-Wert
	PM (GD 0)	IM (GD 0,5 - 1)	EM (GD 1,5-2)	UM (GD >2)	
n	9	33	62	4	
Aufenthaltsdauer in Tagen (Patienten ≤ 60 Jahre)	40 (25 - 83)	43 (27 - 56)	55 (34 - 88)	88 (57 - 105)	0,042

Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Kruskal-Wallis-Test

Die in dieser Teilpopulation (n = 150) untersuchten CYP2D6-Genotypen unterschieden sich nicht hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe, BMI oder Raucherstatus bzw. Krankheitsmerkmalen wie Diagnose, CGI-1 bei Aufnahme und Krankheitsanamnese.

CYP2D6-Genotyp – Citalopram- und Escitalopram-Serumkonzentrationen und Response

Neben CYP2C19 sind in geringerem Ausmaß auch CYP3A4 und CYP2D6 (marginal) an der N-Demethylierung von Citalopram beteiligt.⁴¹⁸ CYP2D6 ist außerdem für die Bildung von N-Didemethyl-Citalopram aus N-demethyliertem Citalopram und Citalopram-N-Oxid verantwortlich (Abbildung 54). Es wäre demnach möglich, dass die CYP2D6-Gendosis ebenfalls einen Einfluss auf die Citalopram-Serumkonzentration ausübt. Auf Grund der begrenzten Fallzahlen war eine Einteilung in kombinierte CYP2C19-CYP2D6-Gendosisgruppen (theoretisch n = 20 Gruppen) nicht sinnvoll und eine multifaktorielle statistische Analyse nicht aussagekräftig. Deshalb wurden nur die Konzentrationen der Patienten betrachtet, die eine CYP2D6-Gendosis ≥ 1 (n = 35 für Escitalopram bzw. n = 30 für R/S-Citalopram) besaßen. Der in dargestellte Abbildung 56 Zusammenhang zwischen den normalisierten Serumkonzentrationen der beiden Wirkstoffe und CYP2C19-Gendosen änderte sich dadurch nicht. Allerdings verringerte sich die Ausprägung des beobachteten Zusammenhang, was möglicherweise auf die geringeren Fallzahlen zurückzuführen ist (p = 0,203 für Escitalopram bzw. p = 0,142 für R/S-Citalopram). Ein Einfluss der CYP2D6-Gendosen = 0 und 0,5 auf die Citalopram-Serumspiegel scheint demzufolge vernachlässigbar klein bzw. konnte in diesen kleinen Stichproben nicht beobachtet werden.

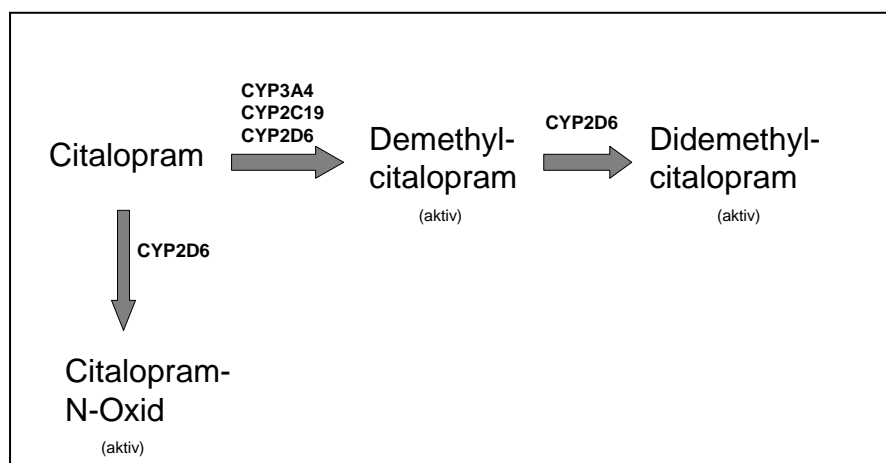


Abbildung 54 Metabolisierungsweg von Citalopram⁴¹⁸

Zwar zeigte sich in unserer Population kein Effekt der CYP2D6-Gendosis auf die Citalopram-Serumkonzentrationen, doch wurde in einer anderen Kohorte von einem Einfluss auf Response unter Citalopram-Patienten (n = 100) trotz fehlendem Einfluss auf die Serumkonzentrationen berichtet.⁴¹⁹

Möglicherweise ist dies v.a. bei Patienten mit CYP2C19 IM-Status relevant.⁴²⁰ In der im Rahmen der vorliegenden Arbeit behandelten Citalopram-Patienten mit CYP2C19 IM-Status wurden jedoch keine Responseunterschiede abhängig von der CYP2D6-Gendosis festgestellt ($CGI-2 \leq 2$, $\leq 0,5$ CYP2D6-GD ≥ 1 , $p > 0,2$).

Zusammenfassung der Ergebnisse – Gesamtpopulation $n_{\text{gesamt}} = 572$:

- Patienten mit F2-Diagnosen zeigten keine Unterschiede in Therapieerfolg und Nebenwirkungen abhängig vom CYP2D6-Genotyp. Das Gleiche gilt für Patienten mit CYP2D6-abhängigen Antipsychotika (unabhängig von der Diagnose).
- Bei Patienten mit F3-Diagnosen respondierten PMs stärker auf die Therapie, hatten aber auch mehr Nebenwirkungen als andere Genotypen. Das Gleiche gilt für Patienten mit CYP2D6-abhängigen Antidepressiva (unabhängig von der Diagnose).
- Unabhängig von Diagnose und Art der CYP2D6-abhängigen Psychopharmaka sprachen Patienten mit Gendosen $\leq 0,5$ signifikant häufiger auf die Behandlung an.
- Patienten mit Gendosen $\leq 0,5$ erhielten signifikant seltener CYP2D6-abhängige Psychopharmaka als Patienten mit höheren Gendosen.
- Patienten, die CYP2D6-Substrate bekamen, respondierten seltener und hatten eine längere Response- und Aufenthaltsdauer als Patienten, die mit anderen Wirkstoffen behandelt wurden. Allerdings fiel der Responseunterschied in der Gesamtpopulation geringer aus als in der Teilpopulation n_2 .
- Ältere Patienten (> 60 Jahre) hatten abhängig vom CYP2D6-Metabolisierungstyp unterschiedliche Mirtazapin-Serumkonzentrationen (ng/ml pro mg/kg).
- Mirtazapin-Patienten (> 60 Jahre) mit PM-Status neigten zu mehr Nebenwirkungen als Patienten mit höherer CYP2D6-Aktivität.
- Mirtazapin-Patienten (≤ 60 Jahre) mit niedriger CYP2D6-Metabolisierungskapazität zeigten eine stärkere und schnellere Zustandsverbesserung als Patienten mit hoher CYP2D6-Aktivität.

3.3.3.1.2 CYP2C19 *2, *3, *4, *17

Die Auswertung der Daten für den Einfluss verschiedener CYP2C19-Varianten erstreckt sich über die gesamte Studienpopulation, da der Einfluss des CYP2C19*17-Polymorphismus in der n_1 -Population noch nicht analysiert wurde. Die in dieser Studienpopulation gefundenen Genotyp- und Allelhäufigkeiten sind unter A.3 aufgeführt.

Viele Polymorphismen des CYP2C19-Gens (*2,*3,*4) führen zu einem Poor Metabolizer-Phänotyp, wenn sie homozygot vorliegen. CYP2C19*17 hingegen führt zu einer erhöhten Enzymaktivität und abhängig von der zu metabolisierenden Substanz zu niedrigeren Serumspiegeln, wenn zwei *17-Allele vorhanden sind (Ultrarapid Metabolizer).¹⁵³⁻¹⁵⁹ Patienten mit zwei aktiven CYP2C19-Allelen (entsprechende Genotypen: *1/*1, *1/*17) gelten als sogenannte Extensive Metabolizer (EM). Patienten, die nur ein funktionsfähiges CYP2C19-Allel besitzen (entsprechende Genotypen: *1/*2, *1/*3, *1/*4), zeigen einen Intermediate Metabolizer-Genotyp (IM). Um für die statistische Auswertung ausreichend große Gruppen zu erhalten, wurden die ermittelten CYP2C19-Genotypen den entsprechenden Gendosen zugeordnet (vgl.1.3.1.1).

In Abbildung 55 ist die Verteilung der CYP2C19-Gendosen in der Population n_{gesamt} dargestellt.

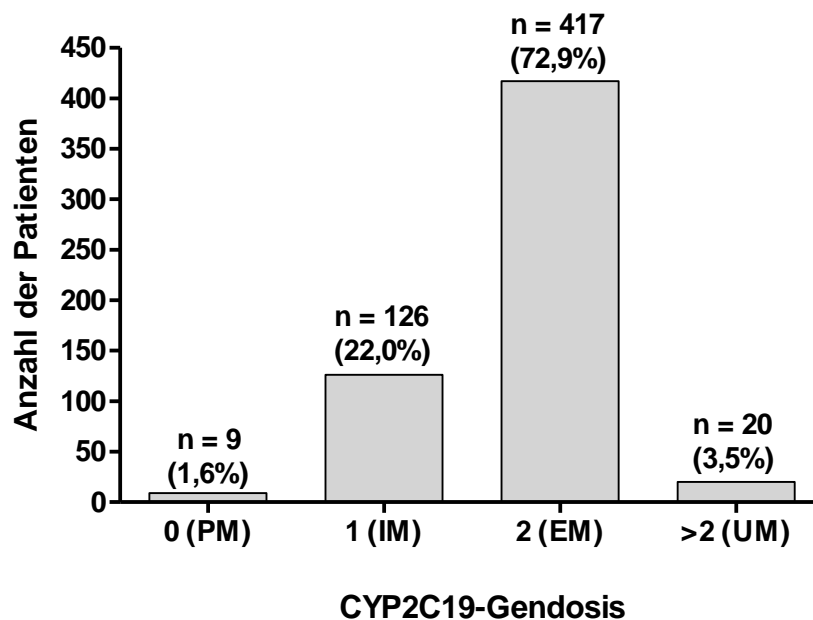


Abbildung 55 Verteilung der CYP2C19-Gendosen in der Population n_{gesamt}

Tabelle 62 gibt Auskunft über die Anzahl der Patienten, die mit CYP2C19-abhängigen Wirkstoffen (Amitriptylin, racemisches bzw. S-Citalopram, Clomipramin, Doxepin, Imipramin oder Trimipramin^{108,144,145}) behandelt wurden und wie hoch ihr Anteil in der jeweiligen Gendosis-Gruppe ist. Dabei wurden nur Patienten mit vollständigen Medikationsdaten berücksichtigt. Am häufigsten wurden racemisches Citalopram (R/S-Citalopram) und Escitalopram (S-Citalopram) verordnet (Tabelle 62).

Tabelle 62 Patienten mit CYP2C19-abhängigen Wirkstoffen eingeteilt nach CYP2C19-Gendosen

CYP2C19-Gendosis	CYP2C19-abhängige Medikation*		Escitalopram	R/S-Citalopram
	Relative Häufigkeit (%)			
0 (PM)	2 / 9	22,2%	1	1
1 (IM)	42 / 118	35,6%	17	15
2 (EM)	120 / 393	30,5%	48	48
>2 (UM)	6 / 19	31,6%	2	2

*Amitriptylin, racemisches bzw. Escitalopram, Clomipramin, Doxepin, Imipramin oder Trimipramin

a) CYP2C19-Gendosis – Citalopram-Serumkonzentrationen

Tabelle 63 gibt einen Überblick über die demografischen Daten zum Aufnahmezeitpunkt, die Gendosenverteilung sowie Art und Anzahl der CYP2C19-relevanten Komedikation bei Patienten, für die Citalopram-Serumwerte vorlagen.

Tabelle 63 Daten der Patienten unter Citalopram-Therapie

Variable	Escitalopram			R/S-Citalopram		
	n ^a	Mittelwert	Standard- abweichung	n ^a	Mittelwert	Standard- abweichung
Alter	38	43,2	15,2	37	46,2	14,6
Gewicht in kg bei Aufnahme	38	71,4	16,0	36	76,4	16,0
Größe in cm	37	169,6	9,6	37	171,1	8,0
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	37	24,8	4,8	36	26,1	5,0
CGI-1 bei Aufnahme	36	6,0	0,7	34	5,8	0,8
CGI-1 nach 4 Wochen	36	5,1	1,2	34	5,2	1,0
CGI-2 nach 4 Wochen	36	3,6	1,1	34	3,7	1,0
CGI-3/1 nach 4 Wochen	34	3,4	0,9	35	3,6	1,1
CGI-3/2 nach 4 Wochen	34	1,7	0,9	35	1,7	0,7
			Häufigkeit			
	n	%	n	%		
Raucher	13	34,2	13	35,1		
weiblich	26	68,4	22	59,5		
CYP2C19-Gendosis						
1 (IM)	9	23,7	9	24,3		
2 (EM)	28	73,7	27	73,0		
>2 (UM)	1	2,6	1	2,7		
Komedikation-						
CYP2C19-Substrate						
Amitriptylin / Trimipramin	2 / 1	5,3 / 2,6	1 / 2	2,8 / 5,6		
CYP2C19-Inhibitoren						
Omeprazol / Pantoprazol	2	5,3	1	2,7		

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Die absoluten und für Dosis und Körpergewicht normalisierten Citalopram-Serumwerte (Tabelle 64) waren nicht normalverteilt, weshalb die Assoziation zu den verschiedenen CYP2C19-Genotypen mittels nonparametrischer Verfahren getestet wurde. Tabelle 64 zeigt außerdem die PD-S-Werte der Teilpopulation zum Aufnahmezeitpunkt und nach vier Wochen.

Tabelle 64 **Mediane Citalopram-Serumkonzentrationen, -Dosen und normalisierte Serumwerte sowie mediane PD-S-Werte zur Aufnahme und nach 4 Wochen**

Variable	Escitalopram			R/S-Citalopram		
	n ^a	Median	Interquartils- abstand	n ^a	Median	Interquartils- abstand
Serumkonzentration (ng/ml)	38	20,8	31,7 – 13,4	37	52,7	74,9 – 30,1
Dosis (mg)	38	20,0	26,3 – 10,0	37	20,0	40,0 – 20,0
normalisierte Serumkonzentration (ng/ml pro mg/kg)	38	88,3	131,0 – 58,0	37	135,5	183,9 – 92,3
PDS-P bei Aufnahme	31	5,0	11,0 – 2,0	36	4,0	12,5 – 1,0
PDS-P nach 4 Wochen	31	3,0	7,0 – 0,0	36	2,5	6,8 – 1,0
PDS-D bei Aufnahme	31	24,0	29,0 – 13,0	36	21,0	27,0 – 13,3
PDS-D nach 4 Wochen	31	14,0	22,0 – 6,0	36	12,5	22,8 – 7,0

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Sowohl Patienten mit Escitalopram, als auch jene, die racemisches Citalopram erhielten, hatten höhere Serumkonzentrationen, wenn sie nur ein aktives CYP2C19-Allel besaßen (IM). Allerdings war der Unterschied zu Patienten mit höheren Gendosen nicht statistisch signifikant (Abbildung 56).

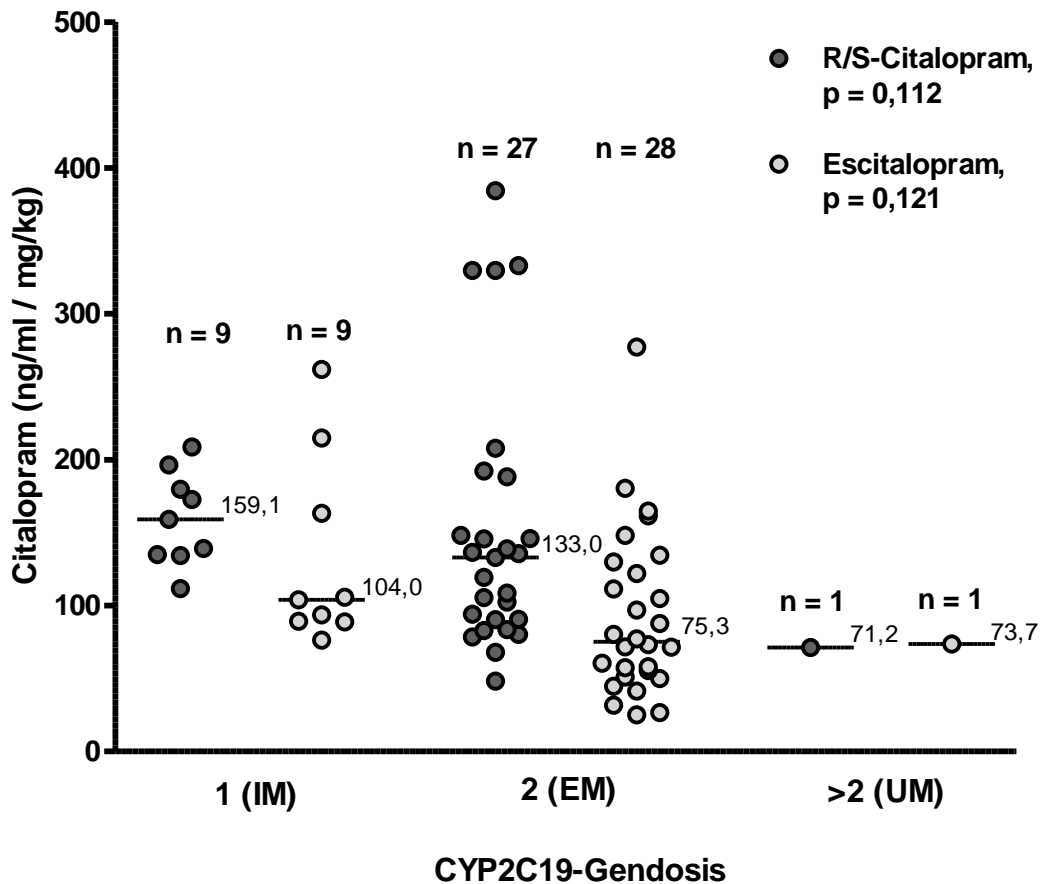


Abbildung 56 Darstellung der für Dosis und Körpergewicht normalisierten Citalopram-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von der CYP2C19-Gendosis

Die Metabolisierungsaktivität des Enzyms wird durch bestimmte Wirkstoffe inhibiert (Omeprazol, Pantoprazol, Fluoxetin) oder induziert (Carbamazepin).¹⁰⁸ In der untersuchten Studienpopulation hatten weder CYP2C19-inhibierende Komedikation noch CYP2C19-induzierende Wirkstoffe signifikanten Einfluss auf die normalisierten Citalopram-Serumkonzentrationen (Escitalopram: $p = 1,0$, $p = 0,320$ und R/S-Citalopram: $p = 0,927$, $p = 0,488$).

R-Citalopram wird im Vergleich zu Escitalopram wesentlich langsamer metabolisiert^{418,421} und wirkt am humanen Serotonintransporter zudem inhibitorisch auf den antagonistischen Effekt von Escitalopram.⁴²² Der enantioselektive Abbau wurde auch in der hier untersuchten Population deutlich. Die normalisierten Serumwerte von R/S-Citalopram sind in den Gendosisgruppen 1 (IM) und 2 (EM) um 53% ($p = 0,122$) bzw. 77% ($p = 0,002$) höher als die normalisierten Escitalopram-Serumspiegel (siehe Abbildung 56).

Innerhalb der EM-Gruppe wurde außerdem eine Tendenz zu höheren normalisierten R/S-Citalopram- und Escitalopram-Serumspiegeln festgestellt je älter die betreffenden Patienten waren ($p = 0,169$ bzw. $p = 0,128$).

b) CYP2C19-Gendosis – Response und NebenwirkungenEscitalopram / R/S-Citalopram

Zunächst wurde der Einfluss der CYP2C19-Gendosis nur auf Ansprechen und Nebenwirkungen der Patienten untersucht, für die Serumwerte vorlagen (Tabelle 63).

Trotz der tendenziell höheren Citalopram-Serumkonzentrationen litten IMs nicht stärker unter Nebenwirkungen als EMs oder UMs (DOTES-Gesamtwert, $p = 0,415$ für Escitalopram bzw. $p = 0,411$ für R/S-Citalopram). Für racemisches Citalopram ließ sich auch auf das Therapieansprechen (CGI-1/PDS-D nach 4 Wochen, CGI-2 und CGI-3/1) kein Einfluss der CYP2C19-Metabolisierungsaktivität feststellen ($p > 0,2$). Übereinstimmend korrelierten auch die absoluten R/S-Citalopram-Konzentrationen nicht mit Responseparametern ($p > 0,2$, CGI-1/PDS-D nach 4 Wochen, CGI-2 und CGI-3/1). Bei Patienten, die racemisches Citalopram erhielten, fand sich eine schwache, nicht signifikante Korrelation zwischen der Höhe der absoluten Citalopram-Serumwerte und kardiovaskulären Nebenwirkungen ($p = 0,098$, $\tau = 0,2$). Eine entsprechende Korrelation dieser Nebenwirkungen mit der CYP2C19-Gendosis dieser Patienten war allerdings nicht zu beobachten ($p = 0,470$). Die mittleren Tagesdosen (\pm Standardabweichung) der verschiedenen Gendosisgruppen waren wie folgt:

9 IM (GD 1) = 28 mg (± 10 mg), 27 EM (GD 2) = 30 mg (± 16 mg), 1 UM = 20 mg (± 0 mg).

Bei Patienten mit Escitalopram-Therapie war hingegen ein Zusammenhang zwischen CYP2C19-Gendosis und CGI-2 (Zustandsverbesserung) sowie CGI-3/1 (erwünschte Arzneimittelwirkungen) zu sehen (Tabelle 65), der sich in vergleichbaren Korrelationen der genannten Parameter mit den absoluten Serumkonzentrationen des Wirkstoffs widerspiegelte (CGI-2: $p = 0,084$ und $\tau = 0,2$; CGI-3/1: $p = 0,006$ und $\tau = 0,4$).

Tabelle 65 CYP2C19-Metabolisierungsstatus: Responseparameter und Nebenwirkungen unter Escitalopram-Therapie

Variable	CYP2C19-Metabolisierungsstatus			τ	p-Wert
	IM (GD 1)	EM (GD 2)	UM (GD >2)		
n	9	28	1		
CGI-2 nach 4 Wochen	4,4 ($\pm 1,6$)	3,2 ($\pm 0,8$)	4,0 ($\pm 0,0$)	-0,3	0,023
CGI-3/1 nach 4 Wochen	4,3 ($\pm 0,7$)	3,0 ($\pm 0,7$)	4,0 ($\pm 0,0$)	-0,4	0,008
n	8	23	1		
Nebenwirkungen Cluster d	0,8 ($\pm 1,2$)	0,2 ($\pm 0,6$)	0,0 ($\pm 0,0$)	-0,3	0,048

DOTES Cluster a: $p = 0,524$, Cluster b: $p = 0,624$, Cluster c: $p = 0,819$, Cluster e: $p = 0,330$
 Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
 Kendall-tau-Rangkorrelation

Es zeigte sich zusätzlich eine Korrelation zwischen kardiovaskulären Nebenwirkungen (Cluster d, Tabelle 65) und der CYP2C19-Gendosis der Patienten. Allerdings korrelierten diese nicht mit der Höhe der absoluten Escitalopram-Serumspiegel ($p = 0,624$). Somit sprachen Escitalopram-Patienten mit niedrigerer CYP2C19-Gendosis schlechter auf die Therapie an und litten stärker unter kardiovaskulären Nebenwirkungen. Die mittleren Tagesdosen (\pm Standardabweichung) der verschiedenen Gendosisgruppen waren wie folgt:

9 IM (GD 1) = 22 mg (± 8 mg), 28 EM (GD 2) = 18 mg (± 10 mg), 1 UM (GD > 2) = 10 mg (± 0 mg).

Assoziationen zwischen Krankheitszustand (CGI-1, PDS-D nach 4 Wochen) und CYP2C19-Gendosis oder Escitalopram-Konzentration wurden nicht beobachtet ($p > 0,3$).

Innerhalb der EM-Gruppe wurde außerdem eine Tendenz zu höheren normalisierten R/S-Citalopram- und Escitalopram-Serumspiegeln festgestellt je älter die betreffenden Patienten waren ($p = 0,169$ bzw. $p = 0,128$).

Für weitere 30 bzw. 29 Patienten, die mit Escitalopram oder R/S-Citalopram therapiert wurden, waren keine Serumkonzentrationen verfügbar. In diesen Subgruppen war kein Effekt der CYP2C19-Gendosis auf Response und Krankheitszustand der Patienten nach 4 Wochen zu erkennen (Escitalopram $p > 0,1$, CGI-1 / PD-S D nach 4 Wochen, CGI-2 und CGI-3/1; R/S-Citalopram $p > 0,1$, CGI-1/PD-S D nach 4 Wochen, CGI-2 und CGI-3/1). Ein Einfluss auf den DOTES-Gesamtwert war ebenfalls nicht zu beobachten (Escitalopram $p > 0,5$, R/S-Citalopram $p > 0,2$).

Nur in der Behandlungsgruppe mit R/S-Citalopram fanden sich ein Trend zu mehr unerwünschten Arzneimittelwirkungen (CGI-3/2) bzw. kardiovaskulären Nebenwirkungen bei niedrigen CYP2C19-Gendosen ($n = 19$, $p = 0,064$, $\tau = -0,4$ / $n = 25$, $p = 0,084$, $\tau = -0,3$). Die mittleren Tagesdosen (\pm Standardabweichung) der verschiedenen Gendosisgruppen waren wie folgt:

1 PM (GD 0) = 20 mg (± 0 mg), 6 IM (GD 1) = 31 mg (± 17 mg), 21 EM (GD 2) = 27 mg (± 9 mg), 1 UM (GD > 2) = 20 mg (0) bei Patienten mit R/S-Citalopram und
1 PM (GD 0) = 30 mg (± 0 mg), 8 IM (GD 1) = 22 mg (± 14 mg), 20 EM (GD 2) = 18 mg (± 8 mg), 1 UM (GD > 2) = 20 mg (± 0 mg) bei Patienten mit Escitalopram.

Insgesamt erhielten 134 Patienten R/S-Citalopram ($n = 66$) bzw. Escitalopram ($n = 68$). Nicht für alle Patienten lagen Serumkonzentrationen, CGI-, PD-S-, und DOTES-Werte vor (Tabelle 64, Tabelle 65). Die Untersuchung des Einflusses der CYP2C19-Gendosis auf Response und Nebenwirkungen dieser Patienten ergab folgendes:

Patienten mit verschiedenen CYP2C19-Gendosen zeigten keine Unterschiede hinsichtlich des Krankheitszustandes nach 4 Wochen Behandlung (CGI-1: Escitalopram $n = 54$, $p = 0,954$, R/S-Citalopram $n = 54$, $p = 0,518$; PDS-D nach 4 Wochen: Escitalopram $n = 43$, $p = 0,723$, R/S-Citalopram $n = 54$, $p = 0,107$) und des Ansprechens (CGI-2: Escitalopram $n = 59$, $p = 0,419$, R/S-Citalopram $n = 56$, $p = 0,741$). Ein Trend zur stärkeren therapeutischen Wirksamkeit der Behandlung bei Patienten mit höheren Gendosen fand sich in der Escitalopram-Gruppe (CGI-3/1: Escitalopram $n = 51$, $p = 0,074$, $\tau = -0,2$, R/S-Citalopram $n = 54$, $p = 0,696$). Ein Trend zu mehr kardiovaskulären Nebenwirkungen bei Gendosis 1 war nur bei Patienten mit Escitalopram-Behandlung detektierbar (Escitalopram $n = 52$, $p = 0,082$, $\tau = -0,2$, R/S-Citalopram $n = 60$, $p = 0,342$).

Die mittleren Dosen (\pm Standardabweichung) der verschiedenen Gendosisgruppen waren wie folgt:

1 PM (GD 0) = 20 mg (± 0 mg), 15 IM (GD 1) = 29 mg (± 12 mg), 48 EM (GD 2) = 31 mg (± 14 mg), 2 UM = 20 mg (± 0 mg) bei Patienten mit R/S-Citalopram;
1 PM (GD 0) = 30 mg (± 0 mg), 17 IM (GD 1) = 22 mg (± 11 mg), 48 EM (GD 2) = 18 mg (± 9 mg), 2 UM = 15 mg (± 7 mg) bei Patienten mit Escitalopram.

Weder für racemisches Citalopram, noch für Escitalopram ergab sich eine Korrelation zwischen Tagesdosis und kardialen Nebenwirkungen ($p = 0,542$ und $p = 0,565$).

CYP2C19-abhängige Psychopharmaka

Die Untersuchung von Patienten, die andere CYP2C19-abhängige Wirkstoffe (Amitriptylin, Clomipramin, Doxepin, Imipramin oder Trimipramin) erhielten ($n = 36$), erbrachte keinen Zusammenhang zwischen CYP2C19-Gendosis und Response oder Nebenwirkungen dieser Patienten (CGI / PD-S-D, $p > 0,1$; DOTES $p > 0,3$).

Bei Betrachtung aller Patienten, die CYP2C19-abhängige Wirkstoffe (Amitriptylin, racemisches bzw. Escitalopram, Clomipramin, Doxepin, Imipramin oder Trimipramin) erhielten ($n = 170$), waren ebenfalls keine signifikanten Auswirkungen der CYP2C19-Metabolisierungskapazität auf das Therapieansprechen (CGI / PD-S-D, $p > 0,2$) und Nebenwirkungen ($p > 0,6$) zu beobachten.

Abgesehen von den beschriebenen altersabhängigen Citalopram-Konzentrationsunterschieden zeigten sich keine Korrelationen zu demografischen Merkmalen der Studienpopulationen wie Geschlecht, Körpergewicht, Größe, BMI oder Raucherstatus bzw. Krankheitsmerkmalen wie Diagnose, CGI-1 bei Aufnahme und Krankheitsanamnese.

3.3.3.1.3 CYP1A2*1F

In der vorliegenden Studie ist der Einfluss von CYP1A2*1F auf die Serumkonzentrationen von Olanzapin und Mirtazapin untersucht worden. Hierzu wurden die Messwerte vor der Analyse hinsichtlich der verabreichten Dosis des jeweiligen Wirkstoffs und des Körpergewichts der Patienten korrigiert.

Die medikationsabhängigen Subgruppen wurden außerdem hinsichtlich Assoziationen zwischen Serumwerten und klinischem Erfolg analysiert.

Weiterhin wurde die Bedeutung des Polymorphismus für das Therapieansprechen und das Auftreten von Nebenwirkungen bei Patienten mit CYP1A2-abhängigen Wirkstoffen untersucht.

a) CYP1A2*1F – Olanzapin-Serumkonzentrationen

Die Metabolisierung von Olanzapin verläuft fast vollständig über CYP1A2. Der Abbau über CYP2D6 spielt nur eine untergeordnete Rolle.⁴²³

Der Einfluss von CYP1A2*1F auf die Behandlung mit Olanzapin wurde bereits in einer kleineren Stichprobe (n=73, Teilpopulation n₁) analysiert.⁴²⁴ Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit homozygotem CYP1A2*1F-Genotyp (A/A) unabhängig von einer zusätzlichen Induktion des Enzyms signifikant niedrigere Serumspiegel besaßen als Patienten mit C/A- oder C/C-Genotyp. Dabei war der Effekt des SNPs vergleichbar mit der durch Rauchen verursachten Konzentrationserniedrigung (-22%).

Nachfolgend sind die Ergebnisse für insgesamt 87 Olanzapin-Patienten der Gesamtpopulation, für die Serumproben verfügbar waren, dargestellt.

Die gemessenen Olanzapin-Serumkonzentrationen waren wie die für Dosis und Körpergewicht normalisierten Werte nicht normalverteilt, weshalb die Assoziation zum CYP1A2*1F-Genotyp mittels nonparametrischer Verfahren getestet wurde.

In Tabelle 66 sind die demografischen Daten zum Aufnahmezeitpunkt, mediane Olanzapin-Serumkonzentration, -Dosis und normalisierte Serumwerte sowie mediane PD-S P-Werte zur Aufnahme und nach 4 Wochen, die Genotypenverteilung und die verabreichte Komedikation erfasst.

Tabelle 66 Daten der Patienten mit Olanzapin-Therapie

Variable	n ^a	Mittelwert	Standardabweichung
Alter	87	42,2	14,7
Gewicht in kg bei Aufnahme	87	72,9	15,4
Größe in cm	86	171,0	9,1
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	86	24,9	5,0
	n ^a	Median	Interquartilsabstand
Olanzapin-Serumkonzentration (ng/ml)	87	20,0	31,9 – 10,7
Olanzapin-Dosis (mg)	87	15,0	20,0 – 8,0
normalisierte Olanzapin-Serumkonzentration (ng/ml pro mg/kg)	87	108,2	142,2 – 73,7
PDS-P bei Aufnahme	80	6,5	14,0 – 3,0
PDS-P nach 4 Wochen	80	4,0	8,0 – 1,0
		Häufigkeit	
		n	%
Raucher		33	37,9
weiblich		48	55,2
CYP1A2			
*1A/*1A (Wildtyp)		7	8,0
*1A/*1F		33	37,9
*1F/*1F		47	54,0
Komedikation			
(CYP1A2-Substrate)			
Mirtazapin / Duloxetin		31 / 1	35,6 / 1,1
Haloperidol / Clozapin		9 / 3	10,3 / 3,4

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Bei Rauchern und bei Patienten, die Carbamazepin – einen CYP1A2-Induktoren¹⁶⁷ – erhielten, zeigte sich erwartungsgemäß eine deutliche Spiegelabsenkung (Tabelle 67).

Tabelle 67 Mediane normalisierte Olanzapin-Serumkonzentrationen mit und ohne Carbamazepin-Komedikation abhängig vom Rauchverhalten

Variable	Carbamazepin-Komedikation		p-Wert
	ja	nein	
n	6	81	
Olanzapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	53,8 (29,0 - 70,2)	112,9 (75,6 - 143,7)	0,001
	Raucher		
	ja	nein	
n ^a	31	50	
Olanzapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	88,4 (66,5 - 140,7)	123,0 (88,0 - 148,0)	0,073

^a Patienten ohne Carbamazepin-Komedikation
Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-Test

Trotz zu erwartender induktiver bzw. inhibitorischer Effekte fand sich unter Berücksichtigung des Raucherstatus kein signifikanter Einfluss der folgenden Zusatzmedikationen auf die normalisierten Olanzapin-Serumspiegel: Omeprazol, Fluoxetin, Paroxetin, Sertralin, Amitriptylin, Doxepin und β -Rezeptor-Antagonisten ($p > 0,2$).

Unter Vernachlässigung der Stärke des durch die zusätzliche Einnahme von Carbamazepin bzw. das Rauchen verursachten induktiven Effektes wurden diese zum Einflussfaktor CYP1A2-Induktor zusammengefasst, um den Einfluss des CYP1A2*1F-Genotyps auf die Olanzapin-Konzentration untersuchen zu können. Dabei zeigten sich abhängig vom CYP1A2*1F-Genotyp signifikante Konzentrationsunterschiede, wenn gleichzeitig ein induktiver Effekt auf CYP1A2 ausgeübt wurde (Tabelle 68).

Tabelle 68 Olanzapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion

Variable	CYP1A2*1F-Genotyp / Enzyminduktion				p-Wert
	C/C, C/A ohne Induktor	C/C, C/A mit Induktor	A/A ohne Induktor	A/A mit Induktor	
n	25	15	25	22	
Olanzapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	131,8 (92,3 - 160,0)	114,3 (74,3 - 170,9)	111,2 (84,5 - 138,7)	72,9 (40,2 - 92,2)	0,005 ^a

^aKruskal-Wallis-Test
Mann-Whitney-Test, $p = 0,033$, $n = 37$ (Vergleich C-Allel vs. A/A-Genotyp mit Induktor)
Mann-Whitney-Test, $p = 0,240$, $n = 50$ (Vergleich C-Allel vs. A/A-Genotyp ohne Induktor)

Abbildung 57 zeigt die für Dosis und Körpergewicht normalisierten Olanzapin-Serumkonzentrationen der Population n_{gesamt} in Abhängigkeit vom CYP1A2-Genotyp und gruppiert nach den o.a. Einflussfaktoren.

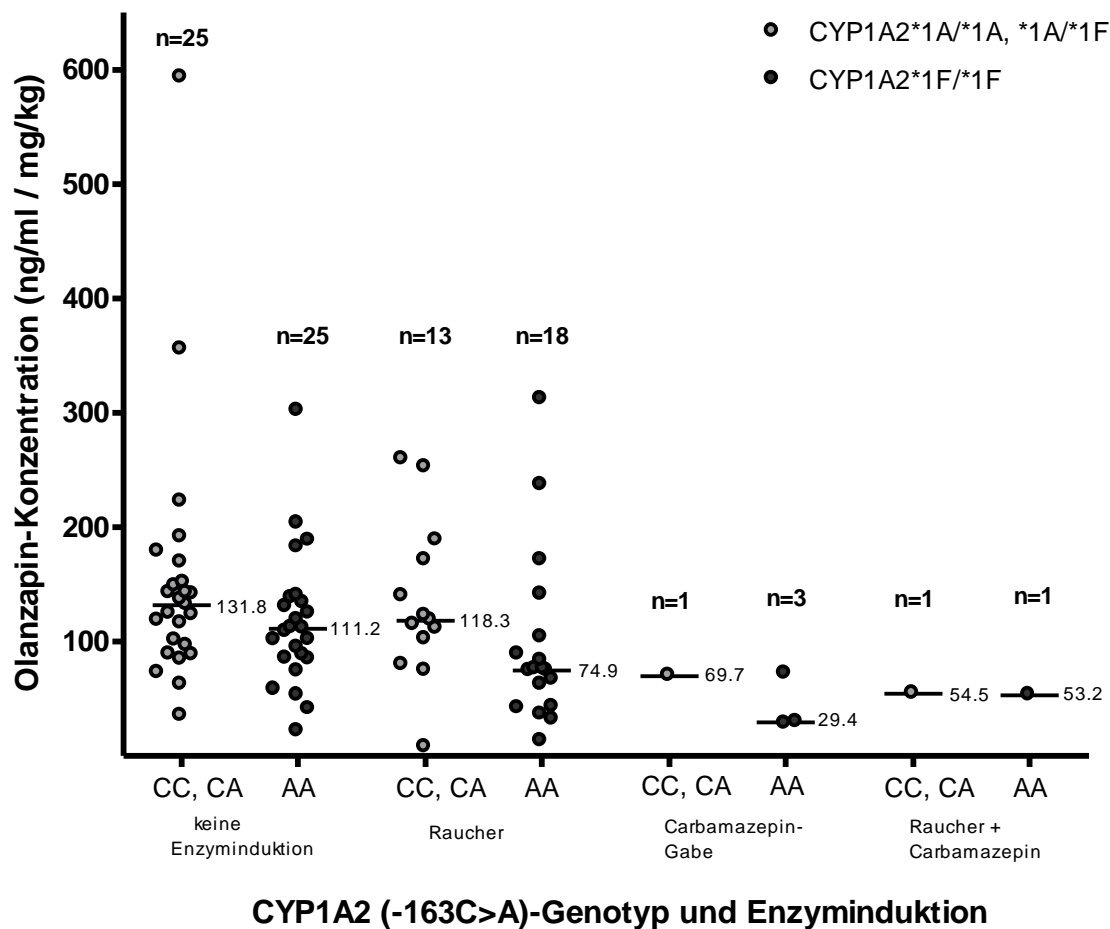


Abbildung 57 Darstellung der normalisierten Olanzapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und gruppiert nach verschiedenen Möglichkeiten der Enzyminduktion

(Nicht abgebildet, aber bei der Auswertung berücksichtigt, ist ein Patient mit A/A-Genotyp ohne Induktor und einer normalisierten Serumkonzentration von 1244 ng/ml pro mg/kg, welcher zusätzlich mit Clozapin und Haloperidol (beides CYP1A2-Substrate) behandelt wurde.)

Abbildung 57 zeigt, dass der Effekt des CYP1A2*1F-Allels auf die Olanzapin-Serumkonzentration bei Vorliegen einer CYP1A2-Induktion durch Rauchen und Carbamazepin nur noch gering ist. Allerdings lagen beide Induktoren lediglich bei zwei Patienten gleichzeitig vor. Der hier dargestellte Zusammenhang sollte daher in einem größeren Patientenkollektiv untersucht werden.

Die untersuchten Genotypen unterschieden sich nicht hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe, BMI bzw. Krankheitsmerkmalen wie Diagnose, CGI-1 und PD-S P bei Aufnahme und Krankheitsanamnese.

Olanzapin-Serumkonzentrationen – Response und Nebenwirkungen

Patienten mit höheren CGI- und PD-S P-Aufnahmewerten erhielten erwartungsgemäß höhere Olanzapin-Dosen ($p = 0,046$, $p = 0,0003$). Dabei korrelierte die Höhe der gemessenen Olanzapin-Spiegel (ng/ml) mit dem Ausmaß des Therapieansprechens (PD-S P-Differenz zwischen Aufnahme und nach 4 Wochen $p = 0,016$, $\tau = 0,2$). Übereinstimmend hatten Patienten mit einer Verbesserung der PD-S P-Werte von mindestens 50% (Responder) tendenziell höhere mediane Serumwerte als Non-Responder ($n = 28$, 26 ng/ml vs. $n = 52$, 18 ng/ml, $p = 0,077$). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Olanzapin-Konzentrationen und der Verbesserung depressiver Symptome (PD-S D) sowie CGI-Werten (CGI-1 und -2) wurde nicht festgestellt ($p = 0,101$, $p = 0,761$, $p = 0,820$). Auch Korrelationen zwischen Olanzapin-Konzentration und Nebenwirkungen sowie höhere Serumwerte bei Patienten mit mäßigen oder deutlichen Nebenwirkungen ($n = 23$) wurden nicht festgestellt ($p = 0,686$, $p = 0,713$).

Anders als erwartet wurde weder für männliche noch für weibliche Patienten eine Gewichtszunahme in Abhängigkeit von der Höhe der gemessenen Olanzapin-Spiegel beobachtet ($p = 0,429$, $p = 0,340$).

b) CYP1A2*1F – Mirtazapin-Serumkonzentrationen

Mirtazapin wird durch die Enzyme CYP1A2, CYP2D6 und CYP3A4 abgebaut.⁴²⁵ Bei höheren Konzentrationen (250µM) überwiegt der Anteil von CYP3A4 und bei niedrigen Serumspiegeln (2µM) geschieht die Metabolisierung vermehrt durch CYP1A2.⁴²⁶ Der therapeutische Bereich von Mirtazapin liegt zwischen 40 – 80 ng/ml (0,15 – 0,30 µM). Der Effekt von CYP1A2*1F auf die Therapie mit Mirtazapin wurde wie für Olanzapin bereits in einer kleineren Stichprobe (n=50, Teilpopulation n₁) untersucht.⁴⁰⁸ Ein signifikanter Einfluss des SNPs auf die Serumspiegel wurde dabei möglicherweise auf Grund des geringen Stichprobenumfangs nicht gefunden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung des Polymorphismus für insgesamt 68 Patienten der Gesamtpopulation nochmals analysiert.

Die gemessenen Mirtazapin-Serumkonzentrationen waren wie die für Dosis und Körpergewicht korrigierten Werte nicht normalverteilt, weshalb die Assoziation zum CYP1A2*1F-Genotyp mittels nonparametrischer Verfahren getestet wurde.

In Tabelle 69 sind die demografischen Daten zum Aufnahmezeitpunkt, mediane Serumkonzentration, Dosis und normalisierte Serumwerte sowie mediane PD-S D-Werte zur Aufnahme und nach 4 Wochen, die Genotypenverteilung und die verabreichte Komedikation erfasst.

Tabelle 69 Daten der Patienten mit Mirtazapin-Therapie

Variable	n ^a	Mittelwert	Standardabweichung
Alter	68	49,5	14,6
Gewicht in kg bei Aufnahme	68	74,2	13,8
Größe in cm	68	171,2	9,1
BMI (kg/m ²) bei Aufnahme	68	25,3	4,1
	n ^a	Median	Interquartilsabstand
Mirtazapin-Serumkonzentration (ng/ml)	68	50,4	82,9 – 33,6
Mirtazapin-Dosis (mg)	68	32,5	45,0 – 30,0
normalisierte Mirtazapin-Serumkonzentration (ng/ml pro mg/kg)	68	114,8	169,0 – 81,1
PDS-D bei Aufnahme	58	23,0	28,3 – 14,0
PDS-D nach 4 Wochen	58	17,0	26,0 – 7,8
	Häufigkeit		
	n	%	
Raucher	24	35,3	
weiblich	36	52,9	
CYP1A2-Genotyp			
*1A/*1A (Wildtyp)	5	7,4	
*1A/*1F	28	41,2	
*1F/*1F	35	51,5	
Komedikation -			
CYP1A2-Substrate			
Duloxetin	2	2,9	
Olanzapin / Haloperidol / Clozapin	29 / 4 / 3	42,6 / 5,9 / 4,4	
CYP1A2-Induktoren			
Carbamazepin	4	5,9	
CYP2D6-Substrate (enge Definition)			
Amitriptylin / Clomipramin / Doxepin /	1 / 1 / 3 /	1,5 / 1,5 / 4,4 /	
Duloxetin / Fluoxetin / Imipramin / Paroxetin /	2 / 1 / 1 /	2,9 / 1,5 / 1,5 /	
Trimipramin	1 / 3	1,5 / 4,4	
Aripiprazol / Haloperidol /	1 / 4 /	1,5 / 5,9 /	
Promethazin / Zuclopenthixol	2 / 1	2,9 / 1,5	
CYP2D6-Inhibitoren			
Duloxetin / Fluoxetin /	2 / 1 /	2,9 / 1,5 /	
Paroxetin / Sertralin	1 / 1	1,5 / 1,5	

^a Es ist die Anzahl der Patienten mit verfügbaren Informationen zur betreffenden Variable angegeben.

Auch für Mirtazapin zeigten sich signifikante Konzentrationsunterschiede hinsichtlich der Carbamazepin-Komedikation. Raucher hatten zwar in dieser Population ebenfalls niedrigere Serumspiegel, allerdings war die Absenkung nicht statistisch signifikant (Tabelle 70).

Tabelle 70 Mediane normalisierte Mirtazapin-Serumkonzentrationen mit und ohne Carbamazepin-Komedikation sowie abhängig vom Rauchverhalten

Variable	Carbamazepin-Komedikation		p-Wert
	ja	nein	
n	4	64	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	54,6 (44,4 - 85,4)	119,9 (85,6 - 172,8)	0,013
	Raucher		
	ja	nein	
n ^a	21	43	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	114,3 (79,7 - 134,1)	122,7 (90,1 - 184,0)	0,293

^aPatienten ohne Carbamazepin-Komedikation
Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-Test

Unter Vernachlässigung der Stärke des durch die zusätzliche Einnahme von Carbamazepin bzw. das Rauchen verursachten induktiven Effektes wurden wiederum beide zum Einflussfaktor CYP1A2-Induktor zusammengefasst, um den Einfluss des CYP1A2*1F-Genotyps auf die Mirtazapin-Konzentration untersuchen zu können. Dabei zeigten sich abhängig vom CYP1A2*1F-Genotyp allerdings keine statistisch signifikanten Konzentrationsunterschiede, wenn die Patienten in vier verschiedene Genotyp-Enzyminduktionsgruppen eingeteilt wurden (Tabelle 71). Lediglich die Kombination des A/A-Genotyps mit einem Induktoren führte zu einer deutlichen Serumspiegelsenkung im Vergleich zu allen anderen Gruppen (p = 0,030).

Tabelle 71 Mirtazapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion

Variable	CYP1A2*1F-Genotyp / Enzyminduktion				p-Wert
	C/C, C/A ohne Induktor	C/C, C/A mit Induktor	A/A ohne Induktor	A/A mit Induktor	
n	21	12	22	13	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	134,7 (90,8 - 183,6)	112,7 (78,9 - 164,7)	122,4 (67,3 - 185,0)	89,3 (59,7 - 124,7)	0,148 ^a
n		55		13	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)		122,1 (88,1 - 183,2)		89,3 (59,7 - 124,7)	0,030 ^b

Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
^aKruskal-Wallis-Test
^bMann-Whitney-Test

Abbildung 58 zeigt die für Dosis und Körpergewicht normalisierten Olanzapin-Serumkonzentrationen der Population n_{gesamt} in Abhängigkeit vom CYP1A2-Genotyp und gruppiert nach den o.a. Einflussfaktoren.

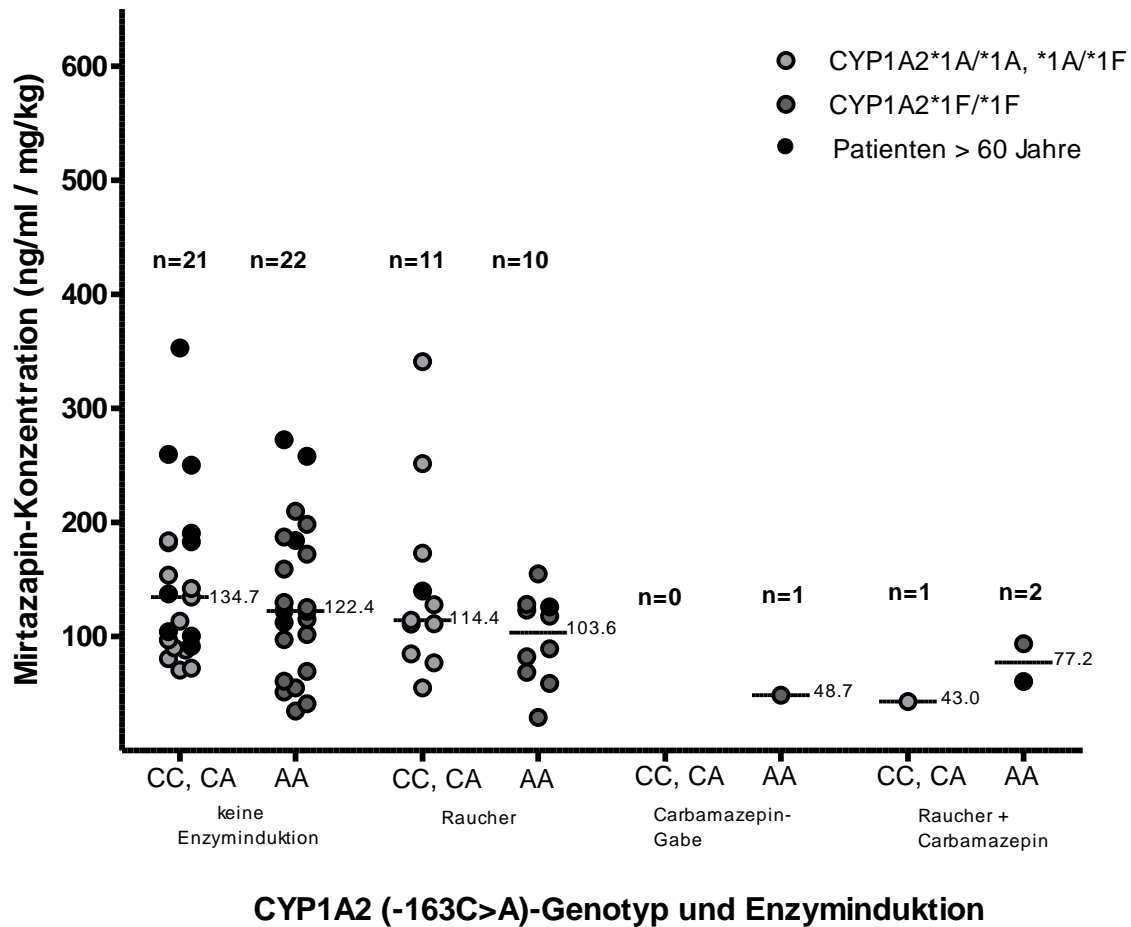


Abbildung 58 Darstellung der für Dosis und Körpergewicht normalisierten Mirtazapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und gruppiert nach verschiedenen Möglichkeiten der Enzyminduktion

Neben dem Effekt des Rauchens und der Carbamazepin-Komedikation hatten die Patienten dieser Population – wie auch von anderen Autoren berichtet⁴²⁷⁻⁴²⁹ – altersabhängig unterschiedliche normalisierte Mirtazapin-Konzentrationen ($p = 0,005$). Patienten höheren Alters (> 60 Jahre, $n = 17$) hatten mediane Konzentrationen von $140,1$ ng/ml pro mg/kg, jüngere Patienten (≤ 60 Jahre, $n = 51$) hingegen $111,1$ ng/ml pro mg/kg.

In Tabelle 72 sind die medianen normalisierten Mirtazapin-Konzentrationen in Abhängigkeit von CYP1A2*1F-Genotyp und induktiven Effekten unter Berücksichtigung des Alters angegeben (Altersgruppen (> 60 Jahre \leq)). Auch nach dieser Einteilung ist lediglich bei Vorliegen eines A/A-Genotyps und gleichzeitiger Enzyminduktion eine Tendenz zu niedrigeren Mirtazapin-Spiegeln zu erkennen.

Jüngere Patienten hatten außerdem deutlich niedrigere normalisierte Serumkonzentrationen als ältere Patienten, wenn ein C/C- bzw. C/A-Genotyp oder ein A/A-Genotyp ohne zusätzliche Enzyminduktion vorlag ($p = 0,006$, +62%). Bei Patienten mit A/A-Genotyp und Enzyminduktion durch Rauchen oder Carbamazepin-Gabe war der Effekt des Alters auf die Mirtazapin-Spiegel nur noch marginal (93,4 vs. 89,3 ng/ml pro mg/kg).

Tabelle 72 Mirtazapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion (unter Berücksichtigung des Alters)

Variable	CYP1A2*1F-Genotyp / Enzyminduktion				p-Wert
	C/C, C/A ohne Induktor	C/C, C/A mit Induktor	A/A ohne Induktor	A/A mit Induktor	
Patienten ≤ 60 Jahre					
n	12	11	17	11	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	105,3 (83,0 - 150,9)	111,1 (76,9 - 173,0)	115,2 (57,9 - 165,7)	89,3 (58,8 - 123,3)	0,533 ^a
n		40		11	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)		112,3 (73,4 - 157,8)		89,3 (58,8 - 123,3)	0,162 ^b
Patienten > 60 Jahre					
n	9	1	5	2	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)	182,4 (102,3 - 255,0)	140,0 -	184,3 (117,2 - 265,3)	93,4 (60,6 -)	0,497 ^a
n		15		2	
Mirtazapin-Serumspiegel (ng/ml pro mg/kg)		182,4 (117,2 - 254,2)		93,4 (60,6 -)	0,136 ^b

Es sind die medianen Werte des betreffenden Parameters und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
^aKruskal-Wallis-Test
^bMann-Whitney-Test

Die untersuchten Genotypen unterschieden sich nicht hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe, BMI bzw. Krankheitsmerkmalen wie Diagnose, CGI-1 und PD-S D bei Aufnahme und Krankheitsanamnese.

Mirtazapin-Serumkonzentrationen – Response und Nebenwirkungen

Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der absoluten Mirtazapin-Konzentrationen (ng/ml) und dem Therapieerfolg war in dieser Population nicht nachweisbar (CGI-2 $p = 0,676$, PD-S D $p = 0,209$). Dementsprechend unterschieden sich die Serumwerte von Respondern und Non-Respondern nicht (CGI-2 $p = 0,746$, PDS-D $p = 0,424$). Auch hinsichtlich unerwünschter Wirkungen und Zunahme des Körpergewichts fanden sich keine Korrelationen mit den gemessenen Serumspiegeln (DOTES $p = 0,885$, Δ KG (männliche Patienten) $p = 0,335$, Δ KG (weibliche Patienten) $p = 0,115$). Höhere Serumwerte bei Patienten mit mäßigen oder deutlichen Nebenwirkungen ($n = 21$) wurden ebenfalls nicht festgestellt ($p = 0,366$).

c) CYP1A2*1F – Response und Nebenwirkungen

Olanzapin

Olanzapin-Patienten dieser Studie hatten umso niedrigere Olanzapin-Serumspiegel, je höher ihre CYP1A2-Aktivität war. Das Ausmaß des therapeutischen Effekts korrelierte außerdem mit der Höhe der Serumwerte. Es ist somit zu vermuten, dass Patienten mit UM-Status auf Grund niedrigerer Olanzapin-Serumkonzentrationen später auf eine Therapie ansprechen, weniger Nebenwirkungen und eine längere stationäre Aufenthaltsdauer haben als Patienten mit normaler Metabolisierungskapazität. In dieser Olanzapin-Population waren indes keine Wirksamkeitsunterschiede abhängig von CYP1A2-Genotyp und Enzyminduktion feststellbar (CGI $p > 0,1$, PDS-P $p > 0,4$, DOTES $p > 0,1$). Auch unter Berücksichtigung der Diagnose war kein Einfluss der CYP1A2-Aktivität auf Ansprechen und Nebenwirkungen zu beobachten (F2-Diagnose $n = 38$, F3-Diagnose $n = 41$, CGI $p > 0,2$, PDS-P $p > 0,3$, DOTES $p > 0,4$). Patienten mit F4- oder F6-Diagnosen wurden auf Grund der geringen Stichprobengröße ($n = 8$) nicht in die Auswertung einbezogen.

Allerdings fand sich in einer Subpopulation bei Patienten mit F2-Diagnose, die mit CYP1A2-Substraten wie Olanzapin, Clozapin und Haloperidol behandelt wurden, eine Tendenz zu niedrigeren CGI-2-Werten (stärkere Zustandsverbesserung) nach 4 Wochen Therapie und mehr neurologischen Nebenwirkungen (Cluster b) bei geringerer CYP1A2-Aktivität (Tabelle 73). Bei beiden Variablen handelt es sich nur um schwache Korrelationen, allerdings erscheint es plausibel, dass eine geringere CYP1A2-Aktivität (CC, CA ohne Induktor) durch höhere Wirkstoffspiegel zu mehr Nebenwirkungen, aber auch stärkerem Ansprechen führt.

Dieser Zusammenhang wird außerdem durch eine Korrelation zwischen CYP1A2-Aktivität und den verabreichten relativen Tagesdosen bestätigt ($n = 120$, $p = 0,021$, $\tau = 0,2$). Denn diese zeigten wiederum eine negative Korrelation zu dem Auftreten neurologischer Nebenwirkungen ($n = 117$, $p = 0,018$, $\tau = -0,2$). Dementsprechend bekamen Patienten mit höherer CYP1A2-Aktivität höhere relative Tagesdosen, litten aber unter weniger neurologischen Nebenwirkungen als Patienten mit niedrigeren Dosen, aber auch geringerer CYP1A2-Aktivität. Ein Zusammenhang zwischen relativen Tagesdosen und Ansprechen wurde nicht beobachtet (CGI-2, $p = 0,558$).

Die relativen Tagesdosen der Wirkstoffe wurden anhand der mittleren verabreichten Tagesdosen bezogen auf die empfohlene Tagesdosis eines Wirkstoffs ermittelt (Olanzapin: 10mg, Clozapin: 300mg, Haloperidol: 8mg).⁴¹⁵ Die mittlere Medikationsdauer betrug 21 Tage und unterschied sich nicht zwischen den untersuchten Genotypen ($p = 0,628$).

Tabelle 73 Zustandsverbesserung und Nebenwirkungen bei Patienten CYP1A2-abhängigen Neuroleptika abhängig vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion

Variable	CYP1A2*1F-Genotyp / Enzyminduktion				τ	p-Wert
	C/C, C/A ohne Induktor	C/C, C/A mit Induktor	A/A ohne Induktor	A/A mit Induktor		
n	28	30	32	35		
CGI-2 nach 4 Wochen	3,2 ($\pm 1,0$)	3,5 ($\pm 1,0$)	3,5 ($\pm 1,0$)	3,7 ($\pm 1,0$)	0,1	0,064
n	26	29	32	34		
Nebenwirkungen Cluster b	1,3 ($\pm 2,1$)	1,2 ($\pm 1,7$)	1,1 ($\pm 2,1$)	0,5 ($\pm 1,1$)	-0,1	0,064

Cluster a: $p=0,300$, Cluster c: $p=0,944$, Cluster d: $p=0,925$, Cluster e: $p=0,658$

Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.

Kendall-tau-Rangkorrelation

Mirtazapin

Da auch für Patienten mit Mirtazapin-Therapie ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten CYP1A2-Aktivität und normalisierten Serumspiegeln zu beobachten war (Tabelle 71), wurde die Bedeutung des CYP1A2*1F-Allels und der Induktionsfaktoren für Response und Nebenwirkungen der Behandlung untersucht.

Getrennt nach Altersgruppen waren weder mit, noch ohne Einbeziehung der Diagnose Wirksamkeitsunterschiede abhängig vom CYP1A2-Genotyp und Enzyminduktion zu beobachten (CGI $p > 0,1$, PD-S D $p > 0,2$, DOTES $p > 0,1$; nur Patienten mit F3-Diagnose ($n = 49$) CGI $p > 0,1$, PD-S D $p > 0,4$, DOTES $p > 0,1$).

Zusätzlich wurde der Einfluss des CYP1A2*1F-Allels auf Ansprechen und Nebenwirkungen bei allen Patienten, die mit CYP1A2-abhängigen Antidepressiva (Mirtazapin, Duloxetin, $n = 166$) behandelt wurden, unter Berücksichtigung von Alter und Induktionsfaktoren analysiert. Auch bei diesen Patienten wurde kein Effekt der CYP1A2-Aktivität auf den therapeutischen Effekt und unerwünschte Wirkungen der verordneten Antidepressiva beobachtet (CGI $p > 0,1$, PDS-D $p > 0,1$, DOTES $p > 0,1$; nur Patienten mit F3-Diagnose ($n = 127$): CGI $p > 0,1$, PDS-D $p > 0,4$, DOTES $p > 0,1$).

Medikationsdauer und relative Tagesdosen dieser Patienten unterschieden sich nicht signifikant abhängig vom CYP1A2-Genotyp und Enzyminduktion ($p = 0,111$, $p = 0,752$).

3.3.3.2 Cytochrom-P450-Oxidoreduktase (POR)

3.3.3.2.1 POR*28 (rs1057868)

Die NADPH-Cytochrom-P450-Oxidoreduktase (CPR oder POR) ermöglicht den Elektronentransfer von NADPH auf Cytochrom P450-Enzyme.

Für die mutierte Variante wurde *in vitro* eine in Bezug auf die enzymatische Aktivität von Cytochrom c, Cytochrom P450c17 und die Oxidation von NADPH verringerte katalytische Aktivität nachgewiesen. Effekte auf CYP1A2 und CYP2C19 waren *in vitro* nicht nachweisbar.^{196,199} Allerdings zeigten Feidt et al.²⁰⁰ eine erhöhte CYP3A4-Genexpression und Enzymaktivität in humanen Hepatozyten, deren POR-Expression durch Nukleofektion mit siRNA reduziert wurde (partielles POR-silencing).

Unabhängig von der Art des Cytochrom P450-Enzyms, das für den Abbau der verabreichten Wirkstoffe verantwortlich ist, zeigte sich in der Population n_{gesamt} , dass signifikant mehr Träger des T/T-Genotyps (44%) unter Arzneimittelnebenwirkungen litten als Patienten mit mindestens einem C-Allel (28%) (OR = 2,1, CI = 1,1-3,9, Fisher-Exact-Test, $p = 0,034$, $n = 489$). Dabei waren die verschiedenen Gendosen bzw. Genotypen der hier untersuchten CYP450-Enzyme nicht unterschiedlich auf die POR*28-Genotypen verteilt. Lediglich der Anteil an CYP2D6-IM war bei Patienten mit POR*28/*28 (T/T)-Genotyp höher als bei Patienten mit C/T- oder C/C-Genotyp (53,5% vs. 35,4%, $p = 0,075$). Diese Patienten mit CYP2D6-IM-Status litten jedoch nicht häufiger unter Nebenwirkungen als CYP2D6-EMs, deren Anteil bei Patienten mit C/T- und C/C-Genotyp größer war (Nebenwirkungsrate IM: 42,7% vs. EM: 46,9%).

Weiterhin wurden keine signifikanten Unterschiede der relativen Tagesdosen der Patienten abhängig vom POR*28-Genotyp festgestellt (Antidepressiva: $p = 0,115$; Antipsychotika: $p = 0,340$). Auch die Zahl der verabreichten Antidepressiva und Antipsychotika war nicht signifikant unterschiedlich bei Patienten mit verschiedenen POR*28-Genotypen, Patienten mit mindestens einem C-Allel erhielten jedoch tendenziell mehr antidepressive Wirkstoffe als jene mit T/T-Genotyp ($p = 0,083$, Antipsychotika: $p = 0,525$).

Neben einer höheren Nebenwirkungsrate war der Trend zu beobachten, dass T/T-Genotypen einen längeren stationären Aufenthalt (71 ± 44 Tage) hatten als C/T- bzw. C/C-Genotypen (61 ± 40 Tage) ($p = 0,097$, $n = 572$). Die Aufenthaltsdauer korrelierte erwartungsgemäß auch mit der Stärke der Nebenwirkungen (DOTES-Gesamtwert, $n = 493$, Pearson-Korrelationskoeffizient = 0,2, $p = 0,0001$).

Die Untersuchung von Patienten ohne Polymorphismen in CYP1A2, CYP2C19 und CYP2D6 zur separaten Untersuchung des Effekts von POR*28 auf Response und Nebenwirkungen war nicht möglich, da die entstehende Subpopulation keine Patienten mit T/T-Genotyp mehr enthielt.

Ein Einfluss des Polymorphismus auf die Serumspiegel von Escitalopram ($n = 38$), Citalopram ($n = 37$), Haloperidol ($n = 10$), Mirtazapin ($n = 68$), Olanzapin ($n = 87$), Quetiapin ($n = 42$) und Risperidon ($n = 14$) wurde unter Berücksichtigung der abhängig vom betrachteten Wirkstoff relevanten Cytochrom P450-Gendosen nicht gefunden. Allerdings waren die Patientenzahlen der entstehenden Gendosisgruppen sehr gering und die Untersuchung des Einfluss von POR*28 nur innerhalb weniger Subgruppen möglich.

Unter Gabe CYP2D6-abhängiger Medikation und unter Berücksichtigung zusätzlicher CYP1A2- und CYP3A4-abhängiger Wirkstoffe sowie der CYP2D6-Gendosen war kein Effekt des POR*28-Polymorphismus auf das Therapieansprechen, stationäre Aufenthaltsdauer und Nebenwirkungen feststellbar. Ebenso verhielt es sich für Patienten, die CYP1A2-abhängige bzw. CYP3A4-abhängige Wirkstoffe erhielten. Allerdings lässt das Studiendesign eine Kombination von Wirkstoffen zu, deren Metabolisierung über verschiedene Cytochrom-P450-Enzyme verläuft. Die Untersuchung des POR*28-Einflusses auf bestimmte CYP450-Enzyme war somit durch die geringe Patientenzahl der entstehenden Subpopulationen limitiert.

3.3.4 Polymorphismen auf Ebene des Arzneistofftransports und –verteilung – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen

3.3.4.1 ABCB1 (rs2235015 und rs2032583)

Das ABCB1-Gen (Adenosintriphosphat binding cassette B1-Gen, auch Multi-Drug-Resistance 1 (MDR1)) codiert für das P-Glykoprotein. Es wird im intestinalen Schleimhautepithel, in biliären Hepatozyten, im Tubulusepithel, im Endothel zerebraler Blutgefäße sowie in Tumorzellen exprimiert.⁴³⁰ Um an ihren Wirkort zu gelangen, müssen sowohl Antidepressiva als auch Antipsychotika die Blut-Hirn-Schranke (BHS) überwinden. P-GP transportiert jedoch einige Wirkstoffe (z.B. Amitriptylin, (Es)-Citalopram, Paroxetin, Venlafaxin, Amisulprid, Aripiprazol, Quetiapin, Paliperidon, Olanzapin und Risperidon) nach Überschreiten dieser aktiv wieder hinaus, bevor sie ihr eigentliches Angriffsziel erreichen können.²⁰⁴⁻²⁰⁹ Dies kann dazu führen, dass die periphere Wirkung des Medikaments überwiegt und unerwünschte Arzneimittelwirkungen den bereits reduzierten therapeutischen Effekt zunichtemachen.

Bisher wurden für verschiedene Polymorphismen innerhalb des ABCB1-Gens Einflüsse auf das Responseverhalten von Patienten mit Antidepressiva- und Antipsychotika-Therapie festgestellt.⁴³¹

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von rs2032583 (T>C) und rs2235015 (G>T) für Ansprechen auf Psychopharmaka und auftretende Nebenwirkungen unter Bedingungen der klinischen Praxis untersucht.

Auf Grund des seltenen Vorkommens von Patienten mit zwei C-Allelen (1,7%) / T-Allelen (2,8%) wurden diese bei der statistischen Auswertung mit heterozygoten Genotypen zusammengefasst und mit Patienten mit zwei Wildtyp-Allelen verglichen.

I. P-GP-abhängige Antidepressiva

a) rs2032583 – Response und Nebenwirkungen

Unter Therapie mit antidepressiv wirkenden P-Glykoprotein-Substraten (Amitriptylin, (Es)-Citalopram, Paroxetin, Venlafaxin), unterschieden sich die Genotypgruppen hinsichtlich ihrer Responseraten nicht (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 \leq 2: **13,5%** für T/T (n = 148) vs. **13,6%** für C/T + C/C (n = 44), p = 1,0

PDS-D (Verbesserung > 50%): **25,4%** für T/T (n = 118) vs. **30,0%** für C/T + C/C (n = 30), p = 0,645.

Auch fanden sich keine Korrelationen zwischen der Höhe der CGI-Werte und dem vorliegenden Genotyp (CGI-1, CGI-2, CGI-3-1/2: p > 0,1).

Die Gruppen unterschieden sich gering in der Höhe der PD-S D-Werte nach 4 Wochen Behandlung (Tabelle 74).

Tabelle 74 rs2032583-Genotyp und Krankheitszustand unter Antidepressiva-Therapie

Variable	rs2032583-Genotyp		p-Wert
	T/T	C/T + C/C	
n	118	30	
PD-S D-Wert			
bei Aufnahme	23,0 (14,8 – 27,3)	19,5 (13,5 – 27,0)	0,293
nach 4 Wochen	17 (8 – 23,3)	13 (4 – 16,8)	0,052

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-U-Test

Die Nebenwirkungsraten unterschieden sich nicht abhängig vom rs2032583-Genotyp (Fisher-Exact-Test): **30,6%** für T/T (n = 147) vs. **34,1%** für C/T + C/C (n = 41), p = 0,705.

Ebenso korrelierte die Höhe des DOTES-Gesamtwert und der einzelnen DOTES-Cluster nicht mit dem vorliegenden Genotyp (p > 0,1).

Allerdings zeigten Patienten mit rs2032583-T-Allelen eine leichte Gewichtszunahme, während C-Allelträger an Gewicht verloren. Die Änderungen des Körpergewichts und des BMI waren signifikant unterschiedlich (Tabelle 75).

Tabelle 75 rs2032583-Genotyp und Körpergewicht unter Antidepressiva-Therapie

Variable	rs2032583- Genotyp		p-Wert
	T/T	C/T + C/C	
n	145	41	
Körpergewicht (kg)			
zur Aufnahme	69,0 (59,8 - 80,6)	73,3 (62,2 - 84,6)	0,072
nach 4 Wochen	70,0 (61,7 - 81,6)	73,0 (64,2 - 82,7)	0,254
Δ Körpergewicht (kg)	0,6 (-0,7 - 2,9)	-0,2 (-1,7 - 1,2)	0,014
BMI (kg/m ²)			
zur Aufnahme	24,0 (21,8 - 27,1)	24,6 (22,3 - 27,8)	0,374
nach 4 Wochen	24,2 (22,4 - 27,4)	24,6 (22,1 - 27,2)	0,860
Δ BMI (kg/m ²)	0,2 (-0,2 - 1,0)	-0,1 (-0,6 - 0,4)	0,012

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-U-Test

Weitere wichtige Einflussfaktoren auf das Körpergewicht sind Raucherstatus und Geschlecht. Der Raucheranteil bei Patienten mit T/T-Genotyp war mit 41,1% signifikant höher als bei Patienten mit C-Allelen (24,4%, $p = 0,046$). Oft ist Rauchen mit geringerer körperlicher Aktivität und folglich einem höheren Körpergewicht verbunden. Demzufolge wäre bereits zu Therapiebeginn ein höheres Ausgangsgewicht bei Patienten mit T/T-Genotyp zu erwarten. Allerdings sind diese Patienten in unserem Studienkollektiv ca. 4 kg leichter als Patienten mit C/T- oder C/C-Genotyp. Die unterschiedlichen Raucherstatus kommen deshalb nicht als Ursache für die Unterschiede der Körpergewichtsveränderung infrage. Der Anteil männlicher und weiblicher Patienten in den verschiedenen Genotypgruppen unterschied sich nicht signifikant ($p = 0,260$).

Patienten, die andere Antidepressiva erhielten, die nicht über P-GP transportiert werden, unterschieden sich erwartungsgemäß nicht in Ansprechen und Nebenwirkungen abhängig vom rs2032583-Genotyp, allerdings war auch bei diesen Patienten ein vergleichbarer Einfluss des Polymorphismus auf die Entwicklung des Körpergewichts unter Antidepressiva-Therapie zu verzeichnen ($n = 115$, $p = 0,022$). Der Raucheranteil war in dieser Subpopulation nicht unterschiedlich zwischen den Genotypgruppen und auch der Anteil weiblicher und männlicher Patienten war gleich verteilt.

b) rs2235015 – Response und Nebenwirkungen

Patienten, die Antidepressiva erhielten, die über P-GP transportiert werden, zeigten keine signifikanten Unterschiede in ihrem Responseverhalten abhängig vom rs2235015-Genotyp (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 ≤ 2 : **12,4%** für G/G ($n = 129$) vs. **15,9%** für G/T + T/T ($n = 63$), $p = 0,508$

PDS-D (Verbesserung > 50%): **29,7%** für G/G ($n = 128$) vs. **35,0%** für G/T + T/T ($n = 60$), $p = 0,502$.

Dementsprechend traten auch keine Korrelationen zwischen CGI-Werten und rs2235015-Genotyp auf (CGI-1, CGI-2, CGI-3-1/2: $p > 0,1$). Auch genotypabhängige Unterschiede der PDS-D-Werte waren nicht zu beobachten ($p = 0,198$).

Ebenso fanden sich keine signifikant unterschiedlichen Nebenwirkungsraten bei den untersuchten Genotypgruppen: **29,7%** für G/G (n = 128) vs. **35,0%** für G/T + T/T (n = 60), p = 0,502. Dies ließ sich durch die Analyse der DOTES-Gesamt- und Einzelwerte in Abhängigkeit vom rs2235015-Genotyp bestätigen (p > 0,3).

Wie bereits oben für rs2032583 beschrieben, zeigte auch rs2235015 eine signifikante Assoziation zum Körpergewicht der Patienten mit Antidepressiva-Therapie. Hierbei war das Gewicht der Patienten bereits zum Aufnahmezeitpunkt unterschiedlich. Auch für diesen Polymorphismus zeigten sich signifikante Gewichts- und BMI-Differenzen nach 4-wöchiger Therapie (Tabelle 76).

Tabelle 76 rs2235015-Genotyp und Körpergewicht unter Antidepressiva-Gabe

Variable	rs2235015- Genotyp		p-Wert
	G/G	G/T + T/T	
n	130	56	
Körpergewicht (kg)			
zur Aufnahme	68,3 (60,4 - 78,7)	73,2 (62,1 - 83,7)	0,020
nach 4 Wochen	69,6 (61,8 - 81,4)	73,4 (64,1 - 84,3)	0,122
ΔKörpergewicht (kg)	0,6 (-0,7 - 2,8)	0,2 (-1,5 - 1,6)	0,039
BMI (kg/m ²)			
zur Aufnahme	24,2 (21,8 - 27,2)	24,5 (22,3 - 27,5)	0,418
nach 4 Wochen	24,3 (22,5 - 27,6)	24,5 (22,3 - 27,5)	0,917
ΔBMI (kg/m ²)	0,2 (-0,2 - 1,0)	0,1 (-0,5 - 0,6)	0,031

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-U-Test

Ein Einfluss des Polymorphismus auf Ansprechen und Nebenwirkungen von Patienten mit P-GP-unabhängigen Antidepressiva war wie zu Erwarten nicht zu beobachten.

II. PG-P-abhängige Antipsychotika

a) rs2032583 – Response und Nebenwirkungen

Die Untersuchung des Einfluss des SNPs auf den Therapieerfolg und Nebenwirkungen bei Patienten, die mit P-GP-abhängigen Antipsychotika (Amisulprid, Aripiprazol, Quetiapin, Risperidon, Paliperidon, Olanzapin, Risperidon) behandelt wurden, ergab folgendes:

Ein Effekt auf das Ansprechen der Patienten wurde für diesen Polymorphismus auch in dieser Medikationsgruppe nicht gefunden. Responseraten:

CGI-2 ≤ 2: **11,9%** für T/T (n = 236) vs. **15,0%** für C/T + C/C (n = 60), p = 0,515

PDS-P (Verbesserung > 50%): **41,5%** für T/T (n = 195) vs. **39,6%** für C/T + C/C (n = 48), p = 0,871.

Dementsprechend gab es keine signifikanten Korrelationen zwischen den CGI-Werten der Patienten und rs2032583-Genotyp (CGI-1, CGI-2, CGI-3-1/2: p > 0,1). Die PD-S P-Werte nach 4 wöchiger Therapie waren ebenfalls nicht unterschiedlich zwischen den Genotypgruppen (p = 0,625).

Auch unter Gabe antipsychotischer Wirkstoffe unterschieden sich die Nebenwirkungsraten nicht abhängig vom rs2032583-Genotyp (Fisher-Exact-Test): **33,8%** für T/T (n = 234) vs. **30,4%** für C/T + C/C (n = 56), p = 0,752.

Dementsprechend war keine Korrelation zwischen Höhe der einzelnen DOTES-Cluster (a, b, d, e) oder DOTES-Gesamtwert und Genotyp zu sehen ($p > 0,5$). Es fand sich jedoch eine Tendenz zu mehr gastrointestinalen Nebenwirkungen (DOTES-Cluster c) bei Vorliegen eines CC-Genotyps ($p = 0,051$, $\tau = 0,1$).

Wie auch bei Patienten mit Antidepressiva-Therapie nahmen Patienten mit antipsychotisch wirkenden P-Glykoprotein-Substraten und Wildtypallelen innerhalb der 4-wöchigen Therapie etwas stärker zu als andere Patienten. Allerdings war der Unterschied (Δ kg, Δ BMI) in dieser Medikationsgruppe nicht statistisch signifikant (Tabelle 77).

Tabelle 77 rs2032583-Genotyp und Körpergewicht unter Antipsychotika-Gabe

Variable	rs2032583-Genotyp		p-Wert
	T/T	C/T + C/C	
n	219	59	
Körpergewicht (kg)			
zur Aufnahme	70,2 (60,5 - 82,2)	75,0 (63,4 - 87,2)	0,137
nach 4 Wochen	72,0 (63,0 - 84,0)	75,7 (66,0 - 87,7)	0,251
Δ Körpergewicht (kg)	1,2 (-0,3 - 3,6)	0,8 (-1,1 - 2,5)	0,081
BMI (kg/m^2)			
zur Aufnahme	23,7 (21,5 - 27,3)	24,6 (21,6 - 28,2)	0,268
nach 4 Wochen	24,7 (22,2 - 28,2)	25,4 (22,2 - 28,3)	0,521
Δ BMI (kg/m^2)	0,5 (-0,1 - 1,2)	0,3 (-0,4 - 0,8)	0,066

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-U-Test

Für Patienten mit nicht P-GP-abhängigen Neuroleptika fand sich kein Zusammenhang zwischen rs2032583-Genotyp und Erfolg bzw. Nebenwirkungen der Therapie. Im Gegensatz zur Antidepressiva-Behandlungsgruppe war der Einfluss des Polymorphismus auf das Körpergewicht der Patienten auf P-GP-abhängigen Antipsychotika beschränkt.

b) rs2235015 – Response und Nebenwirkungen

Patienten, die mit P-GP-abhängigen Antipsychotika therapiert wurden, zeigten folgende Responderaten abhängig vom rs2235015-Genotyp (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 ≤ 2 : **11,3%** für G/G (n = 194) vs. **14,7%** für G/T + T/T (n = 102), p = 0,460

PDS-P (Verbesserung > 50%): **40,8%** für G/G (n = 157) vs. **41,9%** für G/T + T/T (n = 86), p = 0,892.

Dementsprechend traten auch keine Korrelationen zwischen CGI-Werten und rs2235015-Genotyp auf (CGI-1, CGI-2, CGI-3-1/2: p > 0,2). Auch genotypabhängige Unterschiede der PDS-D-Werte waren nicht zu beobachten (p = 0,781).

Ebenso fanden sich keine unterschiedlichen Nebenwirkungsraten bei den untersuchten Genotypgruppen: **32,5%** für G/G (n = 197) vs. **34,4%** für G/T + T/T (n = 93), p = 0,790.

Dies ließ sich durch die Analyse der DOTES-Gesamt- und Einzelwerte a, b, d und e in Abhängigkeit vom rs2235015-Genotyp bestätigen (p > 0,4). Allerdings hatten Patienten mit G-Allel mehr gastrointestinalen Nebenwirkungen (DOTES-Cluster c) als Patienten mit Wildtyp-Allelen (p = 0,041, $\tau = 0,1$).

Ein Einfluss des SNPs auf das Körpergewicht der Patienten mit P-GP-abhängigen Antipsychotika fand sich nicht ($p = 0,241$).

Patienten, die andere Antipsychotika erhielten, die nicht über P-GP transportiert werden, unterschieden sich erwartungsgemäß nicht in Ansprechen und Nebenwirkungen abhängig vom rs2235015-Genotyp,

Die Genotypen unterschieden sich abgesehen vom Körpergewicht weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergröße, BMI, noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

Die beiden Polymorphismen befinden sich in einem starken Kopplungsungleichgewicht, weshalb einige Ergebnisse, z.B. gastrointestinale Nebenwirkungen bei Patienten mit Antipsychotika-Therapie vergleichbar sind.

3.3.5 Polymorphismen in serotonergen Strukturen – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen

3.3.5.1 5-HTT-Polymorphismen

3.3.5.1.1 5-HTT VNTR (rs57098334)

Dieser Polymorphismus war hinsichtlich seiner Auswirkungen auf das Therapieansprechen und Nebenwirkungen unter der Behandlung mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva (Tabelle 78) bereits in einer kleineren Teilpopulation vorläufig untersucht worden.⁴³² Dabei war eine Assoziation zwischen dem 12/12-Genotyp und einer stärkeren Beeinträchtigung der Patienten durch Nebenwirkungen gefunden worden.

Die Effekte des 5-HTT-VNTR-Polymorphismus in der Population n_2 ($n = 103$ mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva) bestätigen die früheren vorläufigen Ergebnisse. Es litten 17/35 (49%) der Patienten mit 12/12-Genotyp, aber nur 8/41 (20%) der 9/12 bzw. 10/12-Genotypen, allerdings auch 4/9 (44%) der 9/10- bzw. 10/10-Genotypen unter mäßigen bis deutlichen Beeinträchtigungen durch Nebenwirkungen ($p = 0,023$, χ^2 -Test). Weiterhin zeigte sich ein Trend zu einer höheren Responserate gemäß PD-S D-Wert-Verringerung $> 50\%$ bei homozygoten Trägern von kurzen Allelvarianten (9 bzw. 10) ($p = 0,107$) und einer entsprechend kürzeren Aufenthaltsdauer (-28 Tage im Vergleich zu heterozygote Genotypen, -29 Tage im Vergleich zu 12/12-Genotypen, $n = 103$, $p = 0,064$, Kruskal-Wallis-Test). Dabei unterschieden sich die verglichenen Gruppen weder hinsichtlich der Anzahl der verabreichten Antidepressiva und Antipsychotika ($p > 0,2$), noch demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten. Bei Patienten, die nicht mit 5-HTT-blockierenden Wirkstoffen ($n = 80$) therapiert wurden, waren diese Einflüsse nicht zu beobachten.

Auch in der Population n_{gesamt} , die ein deutlich größeres Patientenkollektiv umfasst, fanden sich die genannten Effekte. 191 Patienten wurden mit Serotonin-Wiederaufnahmehemmern (selektiv oder nicht selektiv) behandelt (Tabelle 78). 82 Patienten erhielten Mirtazapin, dessen antidepressive Wirkung nicht über die Hemmung des Serotonin-Transporter-Proteins erfolgt. Diese Subpopulation konnte demzufolge als Kontrollgruppe hinsichtlich des Einfluss von 5-HTT VNTR auf die Antidepressiva-Therapie dienen.

Tabelle 78 Art und Anzahl der in der Population n_{gesamt} verordneten 5-HTT-blockierenden Antidepressiva

5-HTT-blockierende Antidepressiva			
SSRI	SSNRI	SNRI	TZA
(Es)-Citalopram (36x / 41x)	Duloxetin (10x)	Reboxetin (14x)	Amitriptylin (6x)
Fluoxetin (11x)	Venlafaxin (32x)		Clomipramin (5x)
Paroxetin (17x)			Doxepin (13x)
Sertralin (8x)			Imipramin (2x)
			Trimipramin (9x)

In der Subpopulation mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva litten 51% aller Patienten mit zwei langen Varianten des 5-HTT VNTR – Polymorphismus (12/12) unter mäßigen bis deutlichen Nebenwirkungen. Im Vergleich dazu waren nur jeweils 19% der anderen beiden Genotypgruppen (9/12 oder 10/12 bzw. 9/10 oder 10/10) von Nebenwirkungen betroffen (Tabelle 79).

Studienteilnehmer mit zwei kurzen Allelen (9 oder 10) sprachen häufiger auf die Therapie an als andere Patienten. Allerdings folgten die Unterschiede keinem eindeutigen Trend: 68% der 9/10- oder 10/10-Genotypen, 45% der heterozygoten (9/12 oder 10/12) Patienten und wiederum 58% der 12/12-Genotypen sprachen auf die Therapie an. Unterschiede zwischen den PD-S D-Werten der verschiedenen Genotypen wurden nicht beobachtet (Tabelle 79).

Tabelle 79 5-HTT VNTR: Nebenwirkungen und Ansprechen unter Therapie mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva

Variable	5-HTT VNTR-Genotyp			Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	9/10 oder 10/10	9/12 oder 10/12	12/12		
n	26	83	61		
Nebenwirkungsrate	19%	19%	51%	4,3 (2,1 - 9,1 und 1,4 - 13,0)	0,0001 ^a
n	31	83	67		
Responserate (CGI-2 ≤ 2)	68%	45%	58%	2,6 (1,1 - 6,2) und 1,5 (0,6 - 3,7)	0,056 ^a
n	21	71	49		
PD-S D-Wert					
bei Aufnahme	23	20	20		0,808 ^b
nach 4 Wochen	9	16	15		0,279 ^b
Aufenthaltsdauer (Tage)	52	65	68		0,349 ^b
	(39 - 78)	(45 - 83)	(42 - 102)		

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
^aChi²-Test, ^bMann-Whitney-U-Test

Beim Vergleich aller Patienten mit 5-HTT VNTR 12/12-Genotyp aber unterschiedlicher Medikation litten jene, die mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva behandelt wurden häufiger unter Nebenwirkungen, sprachen seltener auf die Therapie an und waren länger in stationärer Behandlung als Patienten, die Mirtazapin erhielten (Tabelle 80).

Tabelle 80 5-HTT VNTR 12/12-Genotyp: Nebenwirkungen und Ansprechen unter Therapie mit verschiedenen Antidepressiva

Variable	antidepressive Medikation		Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	5-HTT-blockierend	Mirtazapin		
n	79	28		
Nebenwirkungsrate	43%	18%	3,5 (1,2 - 10,0)	0,022 ^a
n	89	29		
Responserate (CGI-2 ≤ 2)	55%	79%	0,3 (0,1 - 0,9)	0,028 ^a
n	95	29		
Aufenthaltsdauer (Tage)	56	33		0,014 ^b
	(36 - 91)	(20 - 67)		

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
^aFisher Exact-Test, ^bMann-Whitney-U-Test

82 Studienteilnehmer mit Mirtazapin-Therapie unterschieden sich erwartungsgemäß nicht in ihren Response- und Nebenwirkungsraten abhängig vom 5-HTT VNTR-Genotyp ($p > 0,3$ und $p > 0,2$).

Um zu untersuchen, ob sich die gefundenen Effekte sowohl bei Patienten mit selektiven als auch bei Patienten mit nicht selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmern beobachten lassen, wurde die Medikationsgruppe 5-HTT-blockierende Antidepressiva aufgeteilt in SSRI (n = 113) und nicht-selektive SRI (n = 78).

I. Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

Patienten mit SSRI litten häufiger unter mäßigen bis deutlichen Nebenwirkungen, wenn sie zwei 5-HTT VNTR 12-Allele besaßen (53%). Im Gegensatz dazu hatten nur 15% der Patienten mit heterozygotem Genotyp und 29% der Patienten mit zwei kurzen Allelen (9/10- oder 10/10-Genotyp) Nebenwirkungen (χ^2 -Test, OR: 6,1 and 2,7, 95%-Konfidenzintervall: 2,2-17,0 and 0,8-9,5, p = 0,001, n = 100).

Trotz einer tendenziell kürzeren Behandlungsdauer für Patienten mit 9/10- oder 10/10-Genotyp (9/10 oder 10/10: 43 Tage, 9/12 oder 10/12: 69 Tage, 12/12: 74 Tage, p = 0,067, n = 113) war kein Effekt des Polymorphismus auf das Ansprechen in dieser Medikationsgruppe zu sehen (p = 0,384).

II. Nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

Übereinstimmend mit Patienten, die SSRI erhielten, litten auch die Teilnehmer dieser Subgruppe unter signifikant mehr Nebenwirkungen, wenn sie einen 5-HTT VNTR 12/12-Genotyp hatten:

9/10 oder 10/10: 0%, 9/12 oder 10/12: 25%, 12/12: 48%
(χ^2 Test, OR: 2,8, 95%-Konfidenzintervall: 0,9-8,3, p = 0,014, n = 70).

Auch in dieser Medikationsgruppe fand sich kein Einfluss des Polymorphismus auf die Responseraten der Patienten (p = 0,804).

3.3.5.1.2 5-HTT (rs25531) / 5-HTTLPR (rs4795541)

Auch für den 5-HTTLPR-Polymorphismus konnte in früheren Untersuchungen kleinerer Stichproben der hier untersuchten Population bereits ein Effekt auf die Nebenwirkungshäufigkeit unter Therapie mit 5-HTT-blockierender Medikation⁴³² (Tabelle 78) bzw. SSRI-Therapie in Kombination mit dem 5-HTT rs25531-SNP⁴⁰⁸ festgestellt werden. Dabei litten Patienten mit 5-HTTLPR-s/s-Genotyp signifikant stärker unter Nebenwirkungen bzw. hatten Patienten mit 5-HTTLPR-s/s-, -s/l_G- und -l_G/l_G-Genotyp signifikant mehr SSRI-typische unerwünschte Wirkungen als Patienten mit 5-HTTLPR-l_G/l_A- und -l_A/l_A-Genotyp. Letztere blieben außerdem wesentlich kürzer in stationärer Behandlung und hatten nach 4 Wochen signifikant niedrigere CGI-1-Werte.

In der Population n₂ fanden sich unter Therapie mit 5-HTT-blockierender Medikation keine signifikanten Assoziationen zwischen 5-HTTLPR/5-HTT rs25531-Genotyp und Nebenwirkungen sowie Therapieansprechen (DOTES Gesamtwert n = 86, p = 0,950; PD-S D-Wert nach 4 Wochen n = 85, p = 0,977; CGI-1-Wert nach 4 Wochen n = 91, p = 0,616; CGI-2-Wert nach 4 Wochen n = 91, p = 0,562).

Übereinstimmend mit früheren Untersuchungsergebnissen einer Stichprobe n₁ der Gesamtpopulation unterschieden sich Patienten der Population n₂, die nur mit selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern behandelt wurden in ihren Nebenwirkungs- und Responderaten abhängig vom 5-HTTLPR/5-HTT rs25531-Genotyp. Dabei litten Patienten mit 5-HTTLPR-s/s-, -s/l_G- und -l_G/l_G-Genotyp auch in dieser Subpopulation unter mehr Nebenwirkungen und sprachen schlechter auf die Therapie an, allerdings waren diese Unterschiede nicht signifikant (Tabelle 81).

Tabelle 81 5-HTTLPR/5-HTT rs25531: Responderaten der Population n₂

Variable	5-HTTLPR/5-HTT rs25531- Genotyp		Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	L _A L _A /L _A L _G	SS/SL _G /L _G L _G		
n	30	9		
Nebenwirkungsrate	33%	56%	0,4 (0,1 - 1,8)	0,266
n	32	9		
Responderate (CGI-2 ≤ 2)	19%	0%	4,7 (0,2 - 90,9)	0,309

Fisher Exact-Test

Im Gegensatz zu den Ergebnissen in der Subpopulation n₁ wurden in dieser Teilpopulation keine stärkeren gastrointestinalen Nebenwirkungen bei Patienten mit 5-HTTLPR-s/s-, -s/l_G- und -l_G/l_G-Genotyp festgestellt (p = 0,765).

Die gemeinsame Auswertung der Teilpopulationen mit insgesamt 191 Patienten unter SRI-Therapie (selektiv oder nicht selektiv, Tabelle 78) und 82 Mirtazapin-Patienten als Kontrollpopulation ergab folgendes:

Die Nebenwirkungsraten der Patienten, die 5-HTT-blockierende Antidepressiva erhielten, waren entsprechend der vorläufigen Analysen mit weniger Patienten signifikant unterschiedlich:

5-HTT LL: 18% (n = 67), LS: 38% (n = 73), SS: 40% (n = 30), X² test, p = 0,015, n = 170.

Bei zusätzlicher Berücksichtigung des Einflusses von rs25531 auf die *in vitro* Expression des Gens⁴³³ wurden keine Unterschiede zwischen den Nebenwirkungsraten der Patienten mehr beobachtet (p = 0,220).

Es fand sich jedoch ein Trend zu einem schnelleren Ansprechen bei Patienten mit 5-HTT L_AL_G oder L_AL_A Genotyp verglichen zu anderen Genotypen (p = 0,091). Übereinstimmend tendierten diese zu einer kürzeren Aufenthaltsdauer (p = 0,064).

Patienten mit Mirtazapin unterschieden sich erwartungsgemäß weder hinsichtlich Nebenwirkungs- noch Responderaten abhängig vom 5-HTTLPR/5-HTT rs25531-Genotyp (p > 0,2 und p > 0,3).

Die Untersuchung des Einfluss der Polymorphismen nach der Aufteilung der Medikationsgruppe "5-HTT-blockierende Antidepressiva" in SSRI (n = 113) und nicht-selektive SRI (n = 78) führte zu folgenden Ergebnissen:

I. Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

In dieser Medikationsgruppe wurde eine Assoziation zwischen 5-HTT SS, SL_G, L_GL_G-Genotyp und dem Auftreten von Nebenwirkungen beobachtet. Neben tendenziell höheren DOTES-Gesamtwerten (n = 100, p = 0,067, Mann-Whitney-U-Test) dieser Genotypen fand sich eine Korrelation mit dem Ausmaß gastrointestinaler Nebenwirkungen (Abbildung 59, p = 0,0005, $\tau = 0,3$, Effektgröße: 0,8).

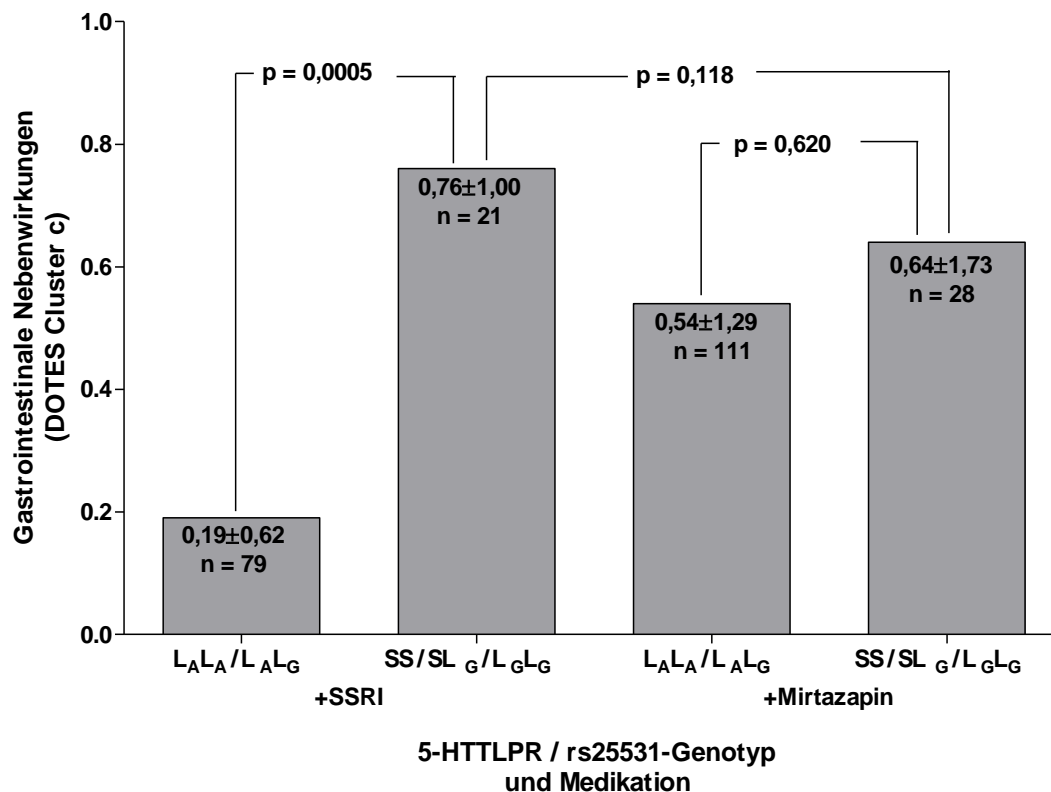


Abbildung 59 5-HTTLPR/5-HTT rs25531: Gastrointestinale Nebenwirkungen unter SSRI- oder Mirtazapin-Therapie

Korrelationen zwischen anderen DOTES-Einzelclustern und 5-HTT S- und/oder L_G-Allelen wurden nicht gefunden (p > 0,1).

Patienten mit 5-HTT S- und/oder L_G-Allelen sprachen seltener und schwächer auf die Therapie an (Tabelle 82 bzw. Abbildung 60, p = 0,014, τ = 0,2, Effektgröße: 0,7) und blieben außerdem länger im Krankenhaus als Patienten mit mindestens einem L_A-Allel (Tabelle 82). In Übereinstimmung dazu hatten Studienteilnehmer mit SS, SL_G, L_GL_G-Genotyp tendenziell höhere PD-S D-Werte als L_A-Allel-Träger (Tabelle 82).

Tabelle 82 5-HTTLPR/5-HTT rs25531: Nebenwirkungen und Ansprechen unter SSRI-Therapie

Variable	5-HTTLPR/5-HTT rs25531- Genotyp		Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	L _A L _A /L _A L _G	SS/SL _G /L _G L _G		
n	79	21		
Nebenwirkungsrate	27%	43%	0,5 (0,2 - 1,3)	0,183 ^a
n	80	20		
Responserate (CGI-2 ≤ 2)	19%	0%	9,7 (0,6 - 169,3)	0,037 ^a
n	68	19		
PD-S D-Wert				
bei Aufnahme	19	23		0,491 ^b
	(13 - 26)	(12 - 30)		
nach 4 Wochen	12	19		0,053 ^b
	(5 - 20)	(9 - 27)		
Aufenthaltsdauer (Tage)	55	141		0,003 ^b
	(41 - 82)	(82 - 230)		

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
^aFisher Exact-Test, ^bMann-Whitney-U-Test

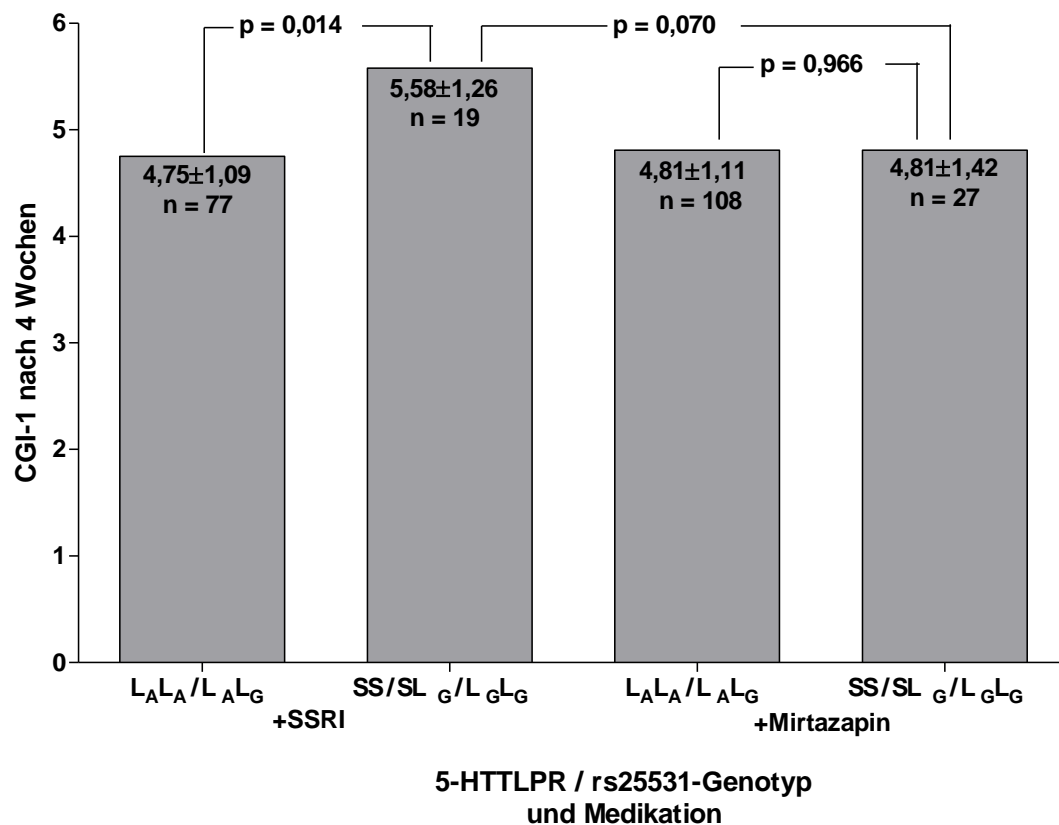


Abbildung 60 5-HTTLPR/5-HTT rs25531: CGI-1-Werte nach 4 Wochen unter SSRI- oder Mirtazapin-Therapie

Beim Vergleich aller Patienten der Studienpopulation, die einen 5-HTT SS, SL_G oder L_GL_G-Genotyp besaßen, litten jene mit SSRI-Behandlung unter mehr gastrointestinalen Nebenwirkungen (Abbildung 59, $\tau = 0,2$, Effektgröße: 0,1), tendierten zu höheren CGI-1-Werten nach 4-wöchiger Behandlung (Abbildung 60, $\tau = 0,2$, Effektgröße: 0,6) und waren signifikant länger stationär als Patienten, die Mirtazapin erhielten (Tabelle 83).

Tabelle 83 5-HTTLPR/5-HTT rs25531-Genotyp: Nebenwirkungen und Ansprechen unter Therapie mit verschiedenen Antidepressiva

Variable	antidepressive Medikation		Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	SSRI	Mirtazapin		
n	21	28		
Nebenwirkungsrate	43%	32%	1,6 (0,5 - 5,1)	0,553 ^a
n	20	28		
Responserate (CGI-2 ≤ 2)	0%	14%	0,1 (0,0 - 2,6)	0,130 ^a
n	19	22		
PD-S D-Wert bei Aufnahme	30	28		0,734 ^b
	(23 - 38)	(24 - 36)		
nach 4 Wochen	19	13		0,218 ^b
	(9 - 27)	(7 - 24)		
Aufenthaltsdauer (Tage)	141	101		0,007 ^b
	(82 - 230)	(47 - 106)		

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.

^aFisher Exact-Test, ^bMann-Whitney-U-Test

Die Kombination eines 5-HTT SS, SL_G oder L_GL_G-Genotyps mit zwei 5-HTT VNTR 12-Allelen erhöhte nicht das Risiko mäßige oder deutliche Nebenwirkungen zu erleiden verglichen mit dem Effekt eines 5-HTT VNTR 12/12-Genotyps allein (55% vs. 53%).

II. Nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

In dieser Medikationsgruppe wurde keinerlei Einfluss von HTTLPR/rs25531 auf den Therapieerfolg festgestellt (Nebenwirkungen: p = 0,752, Ansprechen: p = 0,186).

3.3.5.2 5-HTR2A intron2 (rs7997012)

Einige Studien berichten über mit diesem SNP assoziierte interindividuelle Responseschwankungen bei SSRI-Therapie.^{269,434,435}

Da atypische Antipsychotika u.a. antagonistisch am 5-HT_{2A}-Rezeptor wirken, könnte der Polymorphismus auch für Patienten mit dieser Medikation relevant sein. In einer Teilpopulation der hier untersuchten Patienten konnte für den 5-HTR2A intron 2-Polymorphismus (rs7997012 (G>A)) bereits ein Effekt auf das Therapieansprechen und die Nebenwirkungshäufigkeit unter Olanzapin-Therapie⁴²⁴ sowie das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen unter SSRI-Therapie gezeigt werden.⁴⁰⁸

I. Atypische Antipsychotika

Um einen Einfluss verabreichter Antidepressiva auf die Ergebnisse auszuschließen, wurden nur Patienten mit atypischen Antipsychotika ohne zusätzliche antidepressive Medikation berücksichtigt.

Da die Population n₂ zu wenig Patienten mit Olanzapin-Therapie für eine separate Analyse beinhaltet, wurde der Einfluss dieses SNPs in einer Subpopulation, die atypische Antipsychotika ohne antidepressive Komedikation erhielten, untersucht (n = 61).

Übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorläufigen Untersuchung von 124 Olanzapin-Patienten, war hier ein vergleichbarer Trend hinsichtlich des Therapieansprechens feststellbar (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 ≤ 2: **3 %** für G/G + G/A (n = 34) vs. **23%** für A/A (n = 13), p = 0,059

Im Gegensatz zur Voruntersuchung fand sich allerdings kein Einfluss des SNPs auf Beeinträchtigungen durch aufgetretene Nebenwirkungen.

Dazu ist anzumerken, dass bei der vorläufigen Auswertung von 124 Olanzapin-Patienten auch jene mit Antidepressiva-Komedikation eingeschlossen worden waren.

Bei Betrachtung der Population n_{gesamt} war unter Therapie mit atypischen Antipsychotika ebenfalls eine Korrelation zwischen A/A-Genotyp und besserem Response, aber auch mit stärkeren Cluster c-Nebenwirkungen wie in ersten Untersuchungen von 124 Olanzapin-Patienten feststellbar (Tabelle 84). Dabei erhielten 237 von 416 Patienten zusätzlich Antidepressiva.

Tabelle 84 rs7997012: Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit Atypika

Variable	rs7997012-Genotyp			τ	p-Wert
	G/G	G/A	A/A		
n	123	156	78		
CGI-1					
bei Aufnahme	6,0 (1,0)	6,0 (0,9)	6,0 (0,8)	0,0	0,966
nach 4 Wochen	5,3 (1,0)	5,0 (1,2)	4,9 (1,1)	-0,1	0,007
Differenz	0,7 (1,1)	1,1 (1,2)	1,1 (1,0)	0,1	0,002
n	121	154	78		
CGI-2	3,6 (1,0)	3,5 (1,0)	3,2 (0,9)	-0,1	0,003
n	123	157	71		
Nebenwirkungen Cluster c	0,4 (1,3)	0,5 (1,4)	0,6 (1,2)	0,1	0,020

DOTES cluster a: $p = 0,190$, b: $p = 0,695$, d: $p = 0,122$, e: $p = 0,875$.
Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Patienten, die Olanzapin und keine zusätzliche antidepressive Medikation erhielten (n = 56) sowie homozygot für rs7997012-A mutiert waren, litten häufiger und stärker unter Nebenwirkungen, insbesondere unter Cluster b – neurologischen Nebenwirkungen (n = 48, p = 0,003, $\tau = 0,4$) (Abbildung 61 und Tabelle 85).

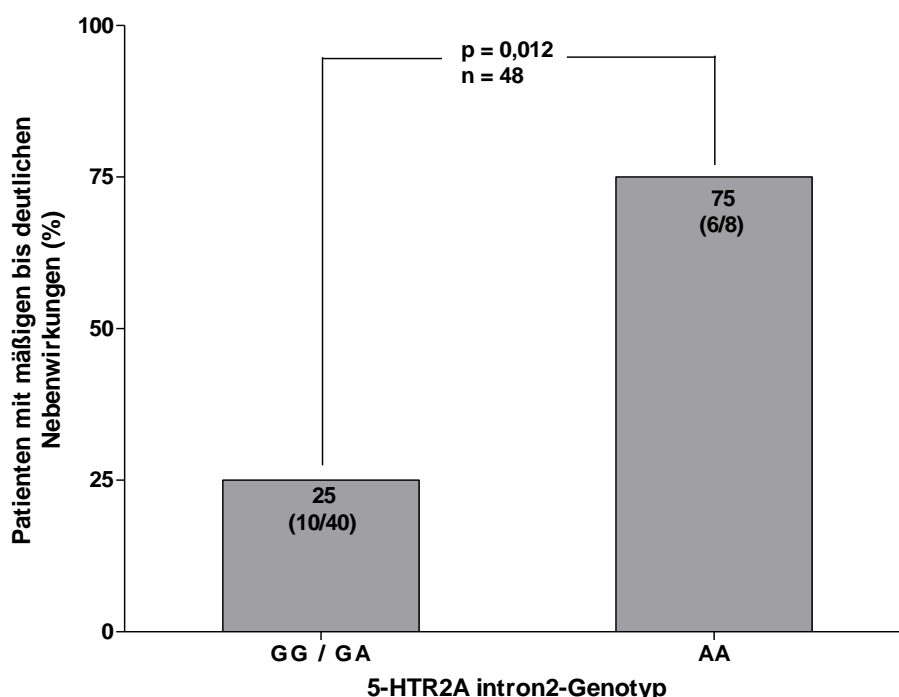


Abbildung 61 rs7997012: Nebenwirkungsraten unter Olanzapin-Therapie (OR (95%-KI): 9,0 (1,6 – 52,0))

Tabelle 85 rs7997012: Neurologische Nebenwirkungen unter Olanzapin-Therapie

Variable	rs7997012-Genotyp			τ	p-Wert
	G/G	G/A	A/A		
n	15	25	8		
Nebenwirkungen Cluster b (Mittelwert \pm SD)	0,1 (0,5)	0,7 (1,5)	2,6 (3,0)	0,4	0,003

DOTES cluster a: p = 0,430, c: p = 0,237, d: p = 0,425, e: p = 0,253
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Die in Tabelle 84 dargestellten gastrointestinalen Nebenwirkungen sind also möglicherweise durch zusätzlich verabreichte Antidepressiva verursacht.

Zwar unterschieden sich die Patienten nicht signifikant in ihren CGI-2-Responseraten (p = 0,682), allerdings hatten Studienteilnehmer mit G-Allel eine PD-S P-Wertverbesserung von 4,5 Punkten (Median, n = 40) während jene mit A/A-Genotyp keine Verbesserung der Krankheitssymptome zeigten (Median = -2,0, n = 7, p = 0,034, Mann-Whitney-Test).

II. Selektive und nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

Um einen Einfluss von Antipsychotika auf die Untersuchung des SNPs im Rahmen einer Therapie mit serotonergen Antidepressiva auszuschließen, wurden Patienten, die zusätzlich Neuroleptika erhielten nicht in die Analyse eingeschlossen. Da in der Population n_2 nicht genügend Studienteilnehmer mit Serotonin-Wiederaufnahmehemmern ohne antipsychotische Komedikation behandelt wurden, erfolgte die Auswertung nur mit Patienten der Gesamtpopulation.

Patienten mit SSRI-Therapie, die einen 5-HTR2A intron 2 A/A Genotyp hatten, litten unter signifikant mehr Nebenwirkungen als G-Allelträger (Tabelle 86). Studienteilnehmer mit nicht-selektiven SRI zeigten einen ähnlichen, aber nicht signifikanten Trend (A/A: 40%, G-Allel: 14.3%, $p = 0,272$, $n = 19$). Wenn beide Subgruppen zusammen analysiert wurden, zeigten sich ebenfalls signifikant höhere Nebenwirkungsraten für Patienten mit A/A-Genotyp. Der Effekt war jedoch bei SSRI-Patienten stärker ausgeprägt (Tabelle 86).

Es wurden keine signifikanten Assoziationen mit einzelnen DOTES-Clustern beobachtet, allerdings litten SSRI-Patienten mit A/A-Genotyp tendenziell häufiger unter Appetitverlust, Gewichtsveränderungen und Kopfschmerz als andere Studienteilnehmer (Cluster e, $p = 0,066$).

Übereinstimmend mit der stärkeren Belastung durch unerwünschte Arzneimittelwirkungen blieben Studienteilnehmer mit zwei A-Allelen länger in stationärer Behandlung als andere Patienten (Tabelle 86).

Der negative Effekt dieses Polymorphismus wurde nur bei Antidepressiva beobachtet, die als Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren agieren, nicht bei anderen Antidepressiva ($n = 25$, $p = 1,0$).

Ein Einfluss des Polymorphismus auf CGI- oder PD-S-Werte wurde nicht festgestellt ($p = 0,609$, $p = 0,271$).

Tabelle 86 rs7997012: Nebenwirkungsraten und Aufenthaltsdauer unter SRI-Therapie

Variable	5-HTR2A intron 2 Genotyp		Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	GG / GA	AA		
Selektive und nicht-selektive SRI				
n	36	14		
Nebenwirkungsrate	11%	43%	6,0 (1,4 - 26,5)	0,020 ^a
n	46	14		
Aufenthaltsdauer (Tage)	44 (29 - 63)	57 (37 - 85)		0,137 ^b
SSRI				
n	22	9		
Nebenwirkungsrate	9%	44%	8,0 (1,1 - 56,8)	0,043 ^a
n	31	9		
Aufenthaltsdauer (Tage)	48 (29 - 71)	59 (42 - 100)		0,124 ^b

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.

^aFisher Exact test, ^bMann Whitney U test

Die verglichenen Gruppen unterschieden sich weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.5.3 5-HTR3A (rs1176713)

Die Gabe von 5-HTR3-Antagonisten scheint mit einer Verminderung schizophrener Negativsymptome assoziiert zu sein.^{303,436} Für einen Polymorphismus innerhalb des 5-HTR3A-Gens (rs1176713) wurde kürzlich ein Zusammenhang mit dem Therapieansprechen unter Risperidon-Monotherapie beobachtet.³⁰⁶ Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob der SNP auch unter Bedingungen der klinischen Praxis mit dem Erfolg einer Neuroleptika-Behandlung assoziiert ist. Da die Zahl der Studienteilnehmer für eine aussagekräftige Analyse des Effekts dieses Polymorphismus auf die Monotherapie mit Risperidon in der hier untersuchten Population zu gering war, wurde eine Subpopulation gewählt, in der ausschließlich Atypika (n = 87) verabreicht wurden.

Die Zustandsverbesserung von G-Allelträgern war nach 4-wöchiger Behandlung stärker ausgeprägt als bei Studienteilnehmern mit A-Allel. Diese Patienten waren außerdem signifikant kürzer in stationärer Behandlung (Tabelle 87).

Tabelle 87 rs1176713: CGI-1 und Aufenthaltsdauer unter Atypika-Gabe

Variable	rs1176713-Genotyp			τ	p-Wert
	A/A	A/G	G/G		
n	60	23	4		
CGI-1 (Mittelwert ± SD)					
bei Aufnahme	6,0 (0,9)	5,9 (1,1)	6,3 (1,5)	-0,1	0,429 ^a
nach 4 Wochen	5,1 (1,1)	4,4 (1,2)	3,5 (1,3)	-0,3	0,006 ^a
Differenz	0,9 (1,0)	1,4 (1,4)	2,8 (2,2)	0,2	0,006 ^a
n	63	30	5		
Aufenthaltsdauer in Tagen (Median (IQR))	53 (32 - 74)	36 (26 - 61)	30 (14 - 37)		0,011 ^b

^aKendall-tau-Rangkorrelationstest

^bKruskal-Wallis-Test

Trotz unterschiedlich ausgeprägter Remission der Patienten fand sich kein Zusammenhang zwischen den Responderaten (CGI-2 ≤ 2, ΔPD-S P > 50%) und dem untersuchten SNP in dieser Medikationsgruppe (p = 0,279, p = 0,892).

Der Polymorphismus war zudem weder mit unterschiedlichen Nebenwirkungsraten assoziiert, noch unterschieden sich Patienten signifikant in ihren DOTES Gesamt- und Einzelwerten abhängig vom Genotyp (p = 0,808, p = 0,739, p > 0,05).

Die Genotypen unterschieden sich weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.5.4 MAOB (rs1799836)

Monoaminoxidase B (MAO-B) ist ein mitochondriales Enzym, welches die oxidative Desaminierung von Monoaminen katalysiert.³³⁷ In den Gefäßen der Blut-Hirn-Schranke dient es als metabolische Barriere zur Eliminierung von körperfremden Aminen und reguliert so deren Zugang zu synaptischen Vesikeln und damit die Reinheit des freigesetzten Serotonins.⁴³⁷

In einer Assoziationsstudie von Tadic et al. wurde ein Zusammenhang zwischen rs1799836 im Intron 13 des MAO-B-Gens und Unterschieden im Ansprechen auf Paroxetin- und Mirtazapin-Gabe bei weiblichen Patienten mit Major Depression gezeigt.³⁴² Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung des SNPs für Ansprechen auf beide Wirkstoffe und auftretende Nebenwirkungen unter Bedingungen der klinischen Praxis untersucht. Neben Serotonin und Noradrenalin ist auch der Neurotransmitter Dopamin ein Substrat der MAO-B. Aus diesem Grund sind auch Auswirkungen des SNPs auf die Therapie mit Arzneistoffen, die den Dopaminstoffwechsel beeinflussen denkbar, weshalb der Erfolg der Behandlung von Patienten mit Antipsychotika abhängig von rs1799836 untersucht wurde. Da sich der Polymorphismus auf dem X-Chromosom befindet, wurden männliche und weibliche Studienteilnehmer getrennt ausgewertet.

I. Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

Da für die Auswertung nicht ausreichend Studienteilnehmer mit Paroxetin behandelt wurden, erfolgte die Analyse des SNPs bei allen Patienten mit SSRI:

Patientinnen ohne zusätzliche antipsychotische Medikation respondierten signifikant stärker nach 4-wöchiger Behandlung (CGI-2) und litten unter weniger Nebenwirkungen (CGI-3/2 und DOTES), je mehr G-Allele sie trugen (Tabelle 88).

Tabelle 88 rs1799836: Response und Nebenwirkungen unter SSRI-Therapie

Variable	rs1799836-Genotyp			τ	p-Wert
	A/A	A/G	G/G		
n	5	11	6		
CGI-2	3,2 (1,3)	3,2 (0,6)	2,5 (0,5)	-0,4	0,037
n	4	10	6		
CGI-3/2	2,0 (0,0)	1,5 (0,5)	1,2 (0,4)	-0,5	0,013
n	5	10	5		
DOTES-Gesamtwert	2,2 (2,3)	1,5 (2,1)	0,0 (0,0)	-0,4	0,048

DOTES cluster a: p = 0,040, b: p = 1,0, c: p = 0,338, d: p = 0,304, e: p = 0,160

Es sind die Mittelwerte (± SD) angegeben.

Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Assoziationen zwischen rs1799836 und der Remission von Krankheitssymptomen wurden nicht beobachtet (CGI-1 und PD-S D nach 4 Wochen).

Bei männlichen Patienten wurde kein Zusammenhang zwischen rs1799836 und Response oder Nebenwirkungen gefunden. Möglicherweise waren die Fallzahlen zur Detektion entsprechender Assoziationen in dieser Medikationsgruppe nicht ausreichend (n = 9).

II. Mirtazapin

In dieser sehr kleinen Subpopulation fand sich ebenfalls eine Korrelation zwischen rs1799836 und Nebenwirkungen:

Auch Studienteilnehmerinnen, die nur mit Mirtazapin behandelt wurden, hatten weniger Nebenwirkungen, wenn sie einen G/A-Genotyp hatten ($p = 0,039$, $\tau = -0,6$, $n = 13$). Allerdings befand sich in dieser Medikationsgruppe keine Patientin mit G/G-Genotyp (Tabelle 89).

Tabelle 89 rs1799836: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie (weibliche Patienten)

Variable	rs1799836-Genotyp		τ	p-Wert
	A/A	A/G		
n	3	10		
DOTES-Gesamtwert (Mittelwert \pm SD)	3,0 (4,4)	0,1 (0,3)	-0,6	0,039

DOTES cluster a: $p = 0,007$, b: $p = 0,584$, c: $p = 0,068$, d: $p = 1,0$, e: $p = 0,068$
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Wurden zusätzlich zu Mirtazapin Antipsychotika verabreicht, verlor sich dieser Effekt.

Assoziationen zwischen rs1799836 und Response oder Symptomrückgang wurden in dieser Medikationsgruppe nicht gefunden (CGI-1 und -2, PD-S D).

Auch in dieser Medikationsgruppe wurden für männliche Patienten keine Assoziation zwischen dem SNP und Ansprechen auf die Therapie oder unerwünschte Arzneimittelwirkungen beobachtet. Dies könnte auch hier der geringen Fallzahl geschuldet sein ($n = 10$).

III. Antipsychotika

Bei weiblichen Patienten, die nur antipsychotische und keine antidepressive Medikation erhielten ($n = 110$), zeigten sich ähnliche Korrelationen wie unter Antidepressiva-Therapie.

Auch hier war das Vorliegen zweier A-Allele mit mehr Nebenwirkungen verbunden (Tabelle 90).

Tabelle 90 rs1799836: Nebenwirkungen nach 4-wöchiger Antipsychotika-Therapie

Variable	rs1799836-Genotyp			τ	p-Wert
	A/A	A/G	G/G		
n	23	50	20		
CGI-3/2	2,0 (0,9)	1,6 (0,8)	1,5 (0,6)	-0,2	0,022
n	25	49	20		
DOTES-Gesamtwert	3,5 (3,7)	3,1 (5,1)	1,8 (3,0)	-0,2	0,011

DOTES cluster a: $p = 0,148$, b: $p = 0,234$, c: $p = 0,563$, d: $p = 0,198$, e: $p = 0,401$
Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Assoziationen zwischen rs1799836 und Therapieerfolg fanden sich in dieser Medikationsgruppe nicht (CGI-1 $p = 0,941$, CGI-2, $p = 0,748$, PD-S P $p = 0,056$).

Bei männlichen Patienten ($n = 82$) wurde kein Zusammenhang zwischen dem untersuchten SNP und Nebenwirkungen oder Response auf eine Antipsychotika-Therapie gefunden.

In allen untersuchten Subpopulationen unterschieden sich die Genotypen weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.5.5 TPH2 (rs7305115 und rs17110747)

I. Serotonerge Antidepressiva

Einige Antidepressiva entfalten ihre Wirkung durch die Blockade des Serotonintransporters (5-HTT), wodurch die Serotonin-Konzentration im synaptischen Spalt erhöht wird. Dies setzt eine unbeeinträchtigte Serotonin-Biosynthese voraus, an der das Enzym Tryptophanhydroxylase 2 (TPH2) entscheidend beteiligt ist.⁴³⁸ Die beiden im Rahmen dieser Arbeit untersuchten SNPs liegen im codierenden (rs7305115) und im 3' untranslatierten Bereich (3'UTR) (rs17110747) des TPH 2-Gens. Sie führen beide zu einem G→A-Austausch. Bei rs7305115 handelt es sich um einen synonymen Einzelbasenaustausch, für den im Vergleich zum Wildtyp eine geringere *in vitro*-Expression des Proteins postuliert wird.³⁵⁶ Beide SNPs werden mit erhöhter MDD-Suszeptibilität und rs7305115 zusätzlich mit verändertem Responseverhalten unter Antidepressiva -Therapie in Verbindung gebracht.^{358,439-441}

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob die Polymorphismen unter Bedingungen der klinischen Praxis mit Veränderungen des therapeutischen Erfolgs einer Behandlung mit 5-HTT blockierenden Antidepressiva (n = 191 Patienten) assoziiert sind (Tabelle 91).

Tabelle 91 Art und Anzahl der in der Population n_{gesamt} verordneten 5-HTT-blockierenden Antidepressiva

5-HTT-blockierende Antidepressiva			
SSRI	SSNRI	SNRI	TZA
(Es)-Citalopram (36x / 41x)	Duloxetin (10x)	Reboxetin (14x)	Amitriptylin (6x)
Fluoxetin (11x)	Venlafaxin (32x)		Clomipramin (5x)
Paroxetin (17x)			Doxepin (13x)
Sertralin (8x)			Imipramin (2x)
			Trimipramin (9x)

I. rs7305115 – Response und Nebenwirkungen

Rs7305115 war weder mit dem Krankheitszustand der Studienteilnehmer nach 4-wöchiger Behandlung assoziiert (CGI-1: n = 164, p = 0,683, PD-S D: n = 141, p = 0,375), noch zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit Responseparametern:

CGI-2 ≤ 2: **14,5%** für G/G (n = 69) vs. **11,1%** für G/A (n = 81) vs. **19,0%** für A/A (n = 21), p = 0,603

PDS-D (Verbesserung > 50%): **22,8%** für G/G (n = 57) vs. **26,5%** für G/A (n = 68) vs. **37,5%** für A/A (n = 16), p = 0,497.

Die Studienteilnehmer unterschieden sich nicht in ihren Nebenwirkungsraten abhängig vom untersuchten SNP: **28,8%** für G/G (n = 73) vs. **32,5%** für G/A (n = 77) vs. **30,0%** für A/A (n = 20), p = 0,885.

Ebenso korrelierte die Höhe des DOTES-Gesamtwert und der einzelnen DOTES-Cluster nicht mit dem vorliegenden Genotyp (n = 169, p > 0,1).

II. rs17110747 – Response und Nebenwirkungen

Auch zwischen rs17110747 und therapeutischem Erfolg nach 4 Wochen waren keine signifikanten Assoziationen zu beobachten (CGI-1: n = 164, p = 0,601, PD-S D: n = 141, p = 0,113):

CGI-2 ≤ 2: **13,2%** für G/G (n = 136) vs. **15,6%** für G/A (n = 32) vs. **0,0%** für A/A (n = 3), p = 0,740

PDS-D (Verbesserung > 50%): **26,1%** für G/G (n = 115) vs. **27,3%** für G/A (n = 22) vs. **25,0%** für A/A (n = 4), p = 0,992.

Für diesen Polymorphismus fanden sich im Gegensatz zu rs7305115 zwar unterschiedliche Nebenwirkungsraten der Studienteilnehmer, die Unterschiede waren aber nicht signifikant:

29,2% für G/G (n = 137) vs. **33,3%** für G/A (n = 30) vs. **66,7%** für A/A (n = 3), p = 0,355.

Außerdem wurde ein Trend zu mehr Nebenwirkungen der DOTES Cluster c (vegetative Nebenwirkungen) und d (kardiovaskuläre Nebenwirkungen) bei Patienten mit A-Allel festgestellt (Cluster c: p = 0,059, $\tau = 0,1$, Cluster d: p = 0,058, $\tau = 0,1$). Assoziationen mit anderen DOTES Clustern und dem DOTES-Gesamtwert waren nicht vorhanden (p > 0,2, n = 169).

II. Antidepressiva und Antipsychotika

Unabhängig von der erhaltenen Medikation hatten Patienten eine signifikant kürzere Aufenthaltsdauer, wenn sie für rs7305115-A homozygot mutiert waren (Tabelle 92).

Diese Assoziation fand sich auch nach Aufteilung der Population in verschiedene Medikationsgruppen.

Patienten mit antidepressiver Medikation, von denen n = 253 zusätzlich Neuroleptika erhielten, hatten eine signifikant kürzere Aufenthaltsdauer, wenn sie einen rs7305115-A/A-Genotyp besaßen (Tabelle 92).

Auch homozygote rs7305115-A-Allelträger mit antipsychotischer Medikation, von denen n = 253 zusätzlich Antidepressiva erhielten, hatten eine signifikant kürzere Aufenthaltsdauer verglichen mit heterozygoten Genotypen und Wildtypen (Tabelle 92).

Die beobachtete Assoziation verlor sich, wenn Patienten untersucht wurden, die nur Antidepressiva oder nur Antipsychotika bekamen, möglicherweise auf Grund der geringen Fallzahlen, denn die Richtung des Effekts blieb bei beiden Gruppen bestehen (p > 0,3, p > 0,4).

Tabelle 92 rs7305115: Aufenthaltsdauer in verschiedenen Medikationsgruppen

Aufenthaltsdauer (Tage)	rs7305115-Genotyp			p-Wert
	G/G	G/A	A/A	
n alle Patienten	229 53 (34 - 84)	267 54 (34 - 87)	76 39 (27 - 68)	0,009
n Antidepressiva-Therapie	138 54 (39 - 83)	166 56 (36 - 91)	44 38 (27 - 68)	0,015
n Antipsychotika-Therapie	183 59 (38 - 89)	209 59 (37 - 94)	60 42 (28 - 73)	0,025

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Kruskal-Wallis -Test

Die Genotypen unterschieden sich weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.6 Polymorphismen in dopaminergen Strukturen – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen

3.3.6.1 DAT1 VNTR (rs28363170)

Die Wiederaufnahme von Dopamin aus dem synaptischen Spalt durch präsynaptische Nervenzellen wird durch membranständige Dopamin-Transporter vermittelt. Das Protein wird durch DAT1 codiert. Ein VNTR-Polymorphismus mit überwiegend 9 oder 10 Wiederholungen im 3' untranslatierten Bereich (3'UTR) von DAT1 scheint die Expression des Gens zu beeinflussen.^{244,248-251} Es gibt außerdem Hinweise, dass die DAT1 VNTR 9-Variante mit einem reduzierten Response auf Antidepressiva verbunden ist.⁴⁴² Da die Höhe zerebraler Dopaminkonzentrationen auch den therapeutischen Erfolg einer Neuroleptikatherapie beeinflusst, wurde DAT1 VNTR im Rahmen der vorliegenden Arbeit in Hinblick auf Response und Nebenwirkungen unter Antidepressiva- und Antipsychotikagabe untersucht.

Auf Grund der geringen Zahl von Patienten mit 7-,8- oder 11-facher Wiederholung des DAT1 Tandem Repeats wurden nur die Fälle mit 9- und 10-facher Wiederholung betrachtet.

I. Antidepressiva

Eine Voruntersuchung eines Teils der untersuchten Gesamtpopulation n_{gesamt} wurde bereits hinsichtlich der Auswirkungen des Polymorphismus auf die Therapie mit Antidepressiva (zusätzliche Antipsychotika-Gabe nicht ausgeschlossen) untersucht:

In der Teilpopulation n_1 ($n = 79$, F32-34-Diagnose) zeigten Patienten mit 9/9-Genotyp eine signifikant stärkere PD-S D-Wertverbesserung als Studienteilnehmer mit anderen Allelen. Übereinstimmend zeigte der CGI-1-Wert nach 4-wöchiger Therapie bei diesen Patienten einen stärkeren Symptomrückgang.⁴⁰⁸ Ein Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus und Nebenwirkungen wurde hier nicht gefunden.

In Teilpopulation n_2 fanden sich bei Patienten mit F32- oder F33-Diagnose und antidepressiver Medikation ($n = 61$, zusätzliche Antipsychotika-Gabe zulässig) keine signifikante Assoziationen zwischen Response und der Anzahl der DAT1 Tandem Repeats (PD-S D: $p = 0,293$, CGI-1: $p = 0,782$ und CGI-2: $p = 0,664$). Allerdings hatten Patienten mit 9/9-Genotyp signifikant mehr gastrointestinale und anticholinerge Nebenwirkungen (Cluster c)) und tendenziell insgesamt mehr unerwünschte Arzneimittelwirkungen (CGI-3/2) als die anderen Genotypen (Tabelle 93).

Tabelle 93 rs28363170: Nebenwirkungen unter Antidepressiva-Gabe (n_2)

Variable	rs28363170-Genotyp			τ	p-Wert
	9 / 9	9 / 10	10 / 10		
n	6	20	22		
CGI-3/2	1,8 (0,4)	1,5 (0,8)	1,4 (0,7)	-0,3	0,056
n	6	17	22		
DOTES-Cluster c	1,3 (1,4)	0,0 (0,0)	0,6 (1,8)	-0,5	0,001

CGI-3/2 – unerwünschte Arzneimittelwirkungen
 DOTES cluster a: $p = 0,156$, b: $p = 0,297$, d: $p = 0,888$, e: $p = 0,229$
 Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
 Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Die Auswertung der Populationen n_1 und n_2 als n_{gesamt} (Antidepressiva-Gabe und F32-F34-Diagnose ($n = 192$)) ergab folgendes:

Zwar unterschieden sich die Patienten genotypabhängig nicht in ihren PD-S D-Werten nach 4 Wochen Behandlung, aber die Verbesserung des Krankheitszustands gemessen als Differenz zwischen 4-Wochen-Wert und Basiswert bei Aufnahme fiel bei Patienten mit 9/9-Genotyp signifikant stärker aus als bei Studienteilnehmern mit anderen Genotypen (Tabelle 94).

Unterschiede beim Response gemäß CGI-2 und Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet (Tabelle 94).

Tabelle 94 rs28363170: Response und Nebenwirkungen unter Antidepressiva-Gabe (n_{gesamt})

Variable	rs28363170-Genotyp		Odds Ratio (95%-KI)	p-Wert
	9/9	9/10 und 10/10		
n	20	143		
Nebenwirkungsrate	25%	27%	0,9 (0,3-2,7)	1,0 ^a
n	19	146		
Responserate (CGI-2 ≤ 2)	21%	17%	1,3 (0,4-4,2)	0,748 ^a
n	13	108		
PD-S D-Wert bei Aufnahme	24	22		0,414 ^b
	(17-28)	(15-28)		
nach 4 Wochen	15	15		0,519 ^b
	(5-19)	(6-24)		
Differenz	10	6		0,035 ^a
	(6-19)	(-1-11)		

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.

^aChi²-Test, ^bMann-Whitney-U-Test

Die diagnoseunabhängige Analyse aller Patienten mit Antidepressiva-Gabe, ohne zusätzliche antipsychotische Therapie ($n = 83$) ergab folgendes:

Es wurden lediglich nicht signifikant niedrigere CGI-1-Werte zur Aufnahme bei Studienteilnehmern mit DAT1 VNTR 9/9-Genotyp verglichen mit anderen Patienten gefunden ($n = 68$, $p = 0,068$). Die Responseraten (CGI-2 ≤ 2) der Patienten mit unterschiedlichem Genotyp waren vergleichbar ($p = 1,0$). Die Symptomremission gemäß PD-S D-Wertverbesserung war nicht unterschiedlich zwischen den Genotypen ($n = 44$, $p = 0,843$).

Ein Zusammenhang mit Nebenwirkungen wurde in der Gesamtpopulation nicht beobachtet (DOTES-Gesamtwert und Einzelcluster: $n = 72$, $p > 0,5$).

II. Antipsychotika

In dieser Medikationsgruppe ($n = 183$, ohne zusätzliche Antidepressiva-Gabe, unabhängig von der Diagnose) fanden sich keine signifikanten Assoziationen zwischen rs28363170 und Therapieerfolg nach 4-wöchiger Behandlung:

Es war kein genotypabhängig unterschiedlicher Rückgang der Krankheitssymptome zu beobachten (CGI-1: $n = 158$, $p = 0,874$ und PD-S P: $n = 121$, $p = 0,433$).

Zwar hatten Patienten mit zwei DAT1 VNTR 9-Allelen ($n = 13$) höhere Responseraten (CGI-2 ≤ 2) als Studienteilnehmer mit anderen Allelen ($n = 150$), allerdings war der Unterschied nicht statistisch signifikant (31% vs. 18%, $p = 0,261$).

Assoziationen zwischen dem untersuchten Polymorphismus und Nebenwirkungen waren ebenfalls nicht vorhanden (DOTES-Gesamtwert und Einzelcluster: $n = 153$, $p > 0,1$).

III. Antidepressiva und Antipsychotika

Patienten, die gleichzeitig antidepressive und antipsychotische Wirkstoffe erhielten (n = 253), zeigten unabhängig von ihrer Diagnose signifikante Korrelationen zwischen DAT1 VNTR-Genotyp und Ansprechen nach CGI sowie Nebenwirkungen des Cluster c. Dabei wurde der Krankheitszustand bei Patienten mit 9/9-Genotyp zum Aufnahmezeitpunkt im Vergleich zu den anderen Patienten durch den behandelnden Psychiater als signifikant schwerer eingeschätzt. Diese erreichten aber trotzdem niedrigere CGI-1-Werte nach 4 Wochen Behandlung (Tabelle 95).

Tabelle 95 rs28363170: Response und Nebenwirkungen unter kombinierter Antidepressiva- und Antipsychotika-Therapie

Variable	rs28363170-Genotyp		τ	p-Wert
	9/9	9/10 und 10/10		
n	23	194		
CGI-1				
zur Aufnahme	6,3 (0,8)	5,9 (0,8)	-0,1	0,038
nach 4 Wochen	4,7 (1,1)	5,1 (1,1)	0,1	0,051
Differenz	1,6 (1,1)	0,8 (1,1)	-0,2	0,002
CGI-2	3,2 (0,9)	3,6 (0,9)	0,1	0,032
n	21	180		
CGI-3/1	2,9 (0,9)	3,3 (0,9)	0,1	0,029
n	22	199		
DOTES Cluster c	1,0 (1,4)	0,5 (1,2)	-0,1	0,023

CGI-3/1 – erwünschte Arzneimittelwirkungen
 DOTES cluster a: p = 0,293, b: p = 0,777, d: p = 0,245, e: p = 0,061
 Es sind die Mittelwerte (± SD) angegeben.
 Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Auch die Responserate gemäß CGI-2 ≤ 2 war für homozygote DAT1 VNTR-9-Allelträger höher als für andere Patienten (5/23 (22%) gegenüber 18/204 (9%), p = 0,065, Fisher-Exact-Test).

Dabei unterschieden sich die verglichenen Gruppen nicht hinsichtlich der Anzahl der verabreichten Antidepressiva und Antipsychotika (p > 0,2).

Genotypabhängige Unterschiede der PD-S D- und P-Wertveränderung wurden nicht beobachtet (n = 184, p = 0,213 und p = 0,931).

Die Genotypen unterschieden sich außerdem weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten zu Beginn der Therapie.

3.3.6.2 DRD2 (rs2283265 und rs1076560)

Durch ihre antagonistische Wirkung am postsynaptischen Dopamin D2-Rezeptor führen sowohl atypische als auch typische Neuroleptika zu einer Reduktion der Positivsymptome schizophrener Störungen.²²¹ Veränderungen des zugrundeliegenden Gens könnten demzufolge eine Beeinträchtigung des Behandlungserfolgs verursachen.

Die T-Allele der beiden hier untersuchten Polymorphismen im Gen des Dopamin D2-Rezeptors (DRD2) führen zu einer Veränderung des Expressionsverhältnis zwischen postsynaptischen (DRD2L, long) und präsynaptischen Autorezeptoren (DRD2S, short) zugunsten der langen Rezeptorvariante.²³⁵ Studien berichten über geringere Responderaten bei Olanzapin-Patienten mit rs1076560GT-Genotyp gegenüber GG-Genotypen sowie Assoziationen zwischen rs2283265G-Allel und stärkeren Negativsymptomen bei Schizophreniepatienten.^{239,443}

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde in einer Subkohorte mit 159 Olanzapin-Patienten überprüft, ob diese Polymorphismen auch unter klinischen Bedingungen mit Änderungen des Therapieerfolgs assoziiert sind.

Die beiden SNPs (G>T) stehen in einem starken Kopplungsungleichgewicht (Chi²-Test, $p < 0,0001$). Auf Grund des seltenen Vorkommens von Patienten mit zwei T-Allelen (3 %) wurden diese bei Auswertungen mittels nonparametrischen Tests und Kreuztabellen mit heterozygoten Genotypen zusammengefasst und mit Patienten mit zwei Wildtyp-Allelen verglichen.

a) rs2283265 – Response und Nebenwirkungen

Die Genotypgruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich ihrer Responderaten (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 ≤ 2 : **13,3%** für G/G (n = 105) vs. **12,8%** für G/T + T/T (n = 39), $p = 1,0$

PD-S P (Verbesserung > 50%): **34,9%** für G/G (n = 86) vs. **40,6%** für G/T + T/T (n = 32), $p = 0,668$.

Auch fanden sich keine Korrelationen zwischen der Höhe der CGI-Werte nach 4-wöchiger Behandlung und dem vorliegenden Genotyp (n = 139, CGI-1, CGI-2, CGI-3-1/2; $p > 0,3$). Allerdings unterschieden sich Patienten genotypabhängig in ihren CGI-1-Aufnahmewerten (Tabelle 96).

Dieser Zusammenhang konnte für die PD-S P-Aufnahmewerte nicht bestätigt werden (n = 105, $p = 0,938$). Auch die PD-S P-Werte nach 4 Wochen Therapie waren nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,652$).

Patienten mit Wildtypallelen zeigten höhere Nebenwirkungsraten verglichen mit Studienteilnehmern, die andere Genotypen besaßen. Allerdings fiel der Unterschied nicht statistisch signifikant aus (Fisher-Exact-Test): **34,0%** für G/G (n = 100) vs. **20,0%** für G/T + T/T (n = 40), p = 0,152.

Dementsprechend fand sich zwar keine signifikante Korrelation zwischen DOTES-Gesamtwert und rs2283265-Genotyp (n = 140, p = 0,086). Allerdings litten G-Allelträger signifikant häufiger unter Nebenwirkungen des Cluster a (veränderte motorische Aktivität und Schlafverhalten) sowie tendenziell stärker unter gastrointestinalen Störungen (Cluster c, Tabelle 96).

Tabelle 96 rs2283265: Krankheitszustand und Nebenwirkungen unter Olanzapintherapie

Variable	rs2283265-Genotyp			τ	p-Wert
	G/G	G/T	T/T		
n	101	36	2		
CGI-1 zur Aufnahme	6,0 (0,8)	6,3 (1,1)	6,5 (0,7)	0,1	0,047
n	100	38	2		
DOTES-Cluster a	1,1 (1,8)	0,6 (1,2)	0,0 (0,0)	-0,2	0,044
DOTES-Cluster c	0,4 (1,0)	0,1 (0,5)	0,0 (0,0)	-0,2	0,053

CGI-1 – Schweregrad der Krankheit

DOTES cluster b: p = 0,283, d: p = 0,829, e: p = 0,369

Es sind die Mittelwerte (± SD) angegeben.

Kendall-tau-Rangkorrelationstest

b) rs1076560 – Response und Nebenwirkungen

Die Patienten zeigten keine signifikanten Unterschiede in ihrem Responseverhalten abhängig vom rs1076560-Genotyp (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 \leq 2: **13,0%** für G/G (n = 100) vs. **13,6%** für G/T + T/T (n = 44), p = 1,0

PD-S P (Verbesserung > 50%): **35,4%** für G/G (n = 82) vs. **38,9%** für G/T + T/T (n = 36), p = 0,836.

Dementsprechend traten auch keine Korrelationen zwischen CGI-Werten und rs1076560-Genotyp auf (CGI-1, CGI-2, CGI-3-1/2: p > 0,1). Auch genotypabhängige Unterschiede der PD S-P-Werte waren weder zu Therapiebeginn, noch nach einer Behandlungsdauer von 4 Wochen zu beobachten (p > 0,2).

Ebenso fanden sich keine signifikant unterschiedlichen Nebenwirkungsraten bei den untersuchten Genotypgruppen (n = 140, p = 0,236). Trotz fehlender statistischer Signifikanz waren jedoch auch für diesen SNP deutliche Unterschiede in der Höhe der Nebenwirkungsraten feststellbar:

33,7% für G/G (n = 95) vs. **22,2%** für G/T + T/T (n = 45).

Dies ließ sich durch die Analyse der DOTES-Gesamt- und Einzelwerte in Abhängigkeit vom rs1076560-Genotyp bestätigen. Dabei fanden sich Trends für mehr Nebenwirkungen des Clusters b (neurologische Beschwerden) und des Clusters c (gastrointestinale Störungen) bei Patienten mit Wildtypallelen (Tabelle 97).

Tabelle 97 rs1076560: Nebenwirkungen unter Olanzapintherapie

Variable	rs2283265-Genotyp			τ	p-Wert
	G/G	G/T	T/T		
n	95	42	3		
DOTES-Cluster b	0,7 (1,5)	0,2 (0,6)	0,0 (0,0)	-0,2	0,060
DOTES-Cluster c	0,4 (1,0)	0,1 (0,5)	0,0 (0,0)	-0,2	0,063

DOTES cluster a: p = 0,242, d: p = 0,474, e: p = 0,553, gesamt: p = 0,253

Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.

Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Die Genotypen unterschieden sich nicht hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten.

3.3.7 Polymorphismen auf der Ebene der HPA-Achse, Neuroregeneration und -transmission – Assoziationen zu Response und Nebenwirkungen

3.3.7.1 CRHR1 (rs242941 und rs110402) und CRHR2 (rs2270007)

Neben der Serotonin- und Noradrenalinmangelhypothese³⁶² ist auch die Kortikosteroid-Rezeptor-Hypothese relevant für die Entstehung depressiver Erkrankungen.⁸⁹ Auf Grund einer Dysregulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (Stressachse) weisen depressive Patienten permanent erhöhte Cortisol- und ACTH-Spiegel in Plasma und Cerebrospinalflüssigkeit auf. Als Ursache dieser gestörten Regulation der Stressachse werden eine reduzierte Glukokortikoid-Rezeptor-Funktion sowie eine CRH-Hypersekretion diskutiert.^{91,92} Die Auswirkungen dieser verstärkten CRH-Produktion werden wiederum über hyperfunktionelle CRH-1-Rezeptoren vermittelt, kombiniert mit hypofunktionellen CRH-2-Rezeptoren, welche anxiolytische Wirkungen nach Stresssituationen fördern.³⁶³ Veränderungen der Rezeptor-Gensequenzen könnten demnach Einfluss auf den Erfolg einer antidepressiven Behandlung haben. Einige Studien zeigen für rs242941 und rs110402 im CRHR1-Gen sowie rs2270007 Assoziationen zu Responseunterschieden bei Patienten mit SSRI-Therapie.³⁶⁷⁻³⁶⁹

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob die genannten Polymorphismen unter der Gabe von Antidepressiva mit verschiedenen Wirkungsmechanismen und unter Bedingungen der klinischen Praxis mit Unterschieden im Ansprechen oder dem Auftreten von Nebenwirkungen assoziiert sind.

Auf Grund des seltenen Vorkommens von Patienten mit zwei mutierten Allelen (A.3) wurden diese bei Auswertungen mittels nonparametrischen Tests und Kreuztabellen mit heterozygoten Genotypen zusammengefasst und mit Patienten mit zwei Wildtyp-Allelen verglichen.

I. Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

113 Patienten wurden ausschließlich mit selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmern (SSRI) behandelt (Tabelle 98).

Tabelle 98 Verordnete SSRI (n_{gesamt})

SSRI	n
Escitalopram	36
R/S-Citalopram	41
Fluoxetin	11
Paroxetin	17
Sertralin	8

a) rs242941 – Response und Nebenwirkungen

Rs242941 war weder mit dem Krankheitszustand der Studienteilnehmer nach 4-wöchiger Behandlung assoziiert (CGI-1: n = 95, p = 0,997, PD-S D: n = 87, p = 0,942), noch zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit Responseparametern:

CGI-2 ≤ 2: **17,0%** für G/G (n = 47) vs. **13,2%** für G/T und T/T (n = 53), p = 0,603

PD-S D (Verbesserung > 50%): **24,4%** für G/G (n = 45) vs. **31,0%** für G/T und T/T (n = 42), p = 0,632.

Die Studienteilnehmer unterschieden sich nicht in ihren Nebenwirkungsraten abhängig vom untersuchten SNP: **32,6%** für G/G (n = 46) vs. **27,8%** für G/T und T/T (n = 54), p = 0,664.

Ebenso korrelierte die Höhe des DOTES-Gesamtwert und der einzelnen DOTES-Cluster nicht mit dem vorliegenden Genotyp (n = 100, p > 0,1).

b) rs110402 – Response und Nebenwirkungen

Auch zwischen rs110402 und therapeutischem Erfolg nach 4 Wochen waren keine signifikanten Assoziationen zu beobachten (CGI-1: n = 95, p = 0,884, PD-S D: n = 87, p = 0,913).

Der Unterschied der Responseraten nach CGI-2 war zwar nicht statistisch signifikant, jedoch sehr ausgeprägt im Gegensatz zum Ansprechen gemäß PD-S D:

CGI-2 \leq 2: **4,3%** für C/C (n = 23) vs. **18,2%** für C/T und T/T (n = 77), p = 0,180

PD-S D (Verbesserung > 50%): **23,8%** für C/C (n = 21) vs. **31,0%** für C/T und T/T (n = 66), p = 0,783.

Für diesen Polymorphismus fanden sich nicht signifikant unterschiedliche Nebenwirkungsraten der Studienteilnehmer:

20,8% für C/C (n = 24) vs. **32,9%** für C/T und T/T (n = 76), p = 0,315.

Assoziationen mit DOTES-Clustern und dem DOTES-Gesamtwert waren nicht vorhanden (p > 0,1 n = 100).

c) rs2270007 – Response und Nebenwirkungen

Die Genotypgruppen unterschieden sich nicht hinsichtlich ihrer Responseraten (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 \leq 2: **15,6%** für C/C (n = 64) vs. **13,9%** für C/G und G/G (n = 36), p = 1,0

PD-S D (Verbesserung > 50%): **30,4%** für G/G (n = 56) vs. **22,6%** für G/T + T/T (n = 31), p = 0,617.

Auch fanden sich keine Korrelationen zwischen der Höhe der CGI-1-Werte nach 4-wöchiger Behandlung und dem vorliegenden Genotyp (n = 95, p = 0,342).

Auch die PD-S D-Werte nach 4 Wochen Therapie waren nicht signifikant unterschiedlich (n = 87, p = 0,483).

Patienten mit Wildtypallelen zeigten jedoch niedrigere Nebenwirkungsraten verglichen mit Studienteilnehmern, die andere Genotypen besaßen. Allerdings fiel der Unterschied nicht statistisch signifikant aus (Fisher-Exact-Test): **23,1%** für C/C (n = 65) vs. **42,9%** für C/G + G/G (n = 35), p = 0,066.

Dementsprechend fand sich zwar keine signifikante Korrelation zwischen DOTES-Gesamtwert und rs2270007-Genotyp (n = 100, p = 0,085). Allerdings litten G-Allelträger signifikant häufiger unter Nebenwirkungen des Cluster e (Tabelle 99).

Tabelle 99 rs2270007: Nebenwirkungen unter SSRI-Therapie

Variable	rs2270007-Genotyp			τ	p-Wert
	C/C	C/G	G/G		
n	65	28	7		
DOTES-Cluster e (Mittelwert (± SD))	0,3 (0,8)	0,6 (1,2)	1,1 (1,5)	0,2	0,034
DOTES cluster a: p = 0,813, b: p = 0,535, c: p = 0,213, d: p = 0,601 Kendall-tau-Rangkorrelationstest					

II. Nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

72 Patienten erhielten ein oder mehrere nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer (Tabelle 100).

Tabelle 100 Art und Anzahl der nicht-selektiven SRI

nicht-selektive SRI	n
SSNRI	
Duloxetin	10
Venlafaxin	32
SNRI	
Reboxetin	14
TZA	
Amitriptylin	6
Clomipramin	5
Doxepin	13
Imipramin	2
Trimipramin	9

a) rs242941 – Response und Nebenwirkungen

Die Patienten unterschieden sich in ihrem Responseverhalten abhängig vom rs242941-Genotyp. Allerdings fiel dieser Unterschied nicht statistisch signifikant aus und die Einschätzung des behandelnden Psychiaters (CGI-2) und die des Patienten (PD-S D) waren nicht kongruent (Fisher-Exact-Test):

CGI-2 \leq 2: **19,2%** für G/G (n = 26) vs. **6,7%** für G/T und T/T (n = 45), p = 0,132

PD-S D (Verbesserung > 50%): **18,2%** für G/G (n = 22) vs. **28,1%** für G/T + T/T (n = 32), p = 0,523.

Dementsprechend traten auch keine Korrelationen zwischen CGI-Werten nach 4-wöchiger Therapie und rs242941-Genotyp auf (CGI-1, CGI-2, n = 69, p > 0,3). Auch genotypabhängige Unterschiede der PD S-D-Werte waren weder zu Therapiebeginn, noch nach einer Behandlungsdauer von 4 Wochen zu beobachten (p > 0,3).

Ebenso fanden sich keine signifikant unterschiedlichen Nebenwirkungsraten bei den untersuchten Genotypgruppen:

33,3% für G/G (n = 27) vs. **30,2%** für G/T und T/T (n = 43), p = 0,797.

Dies ließ sich durch die Analyse der DOTES-Gesamt- und Einzelwerte in Abhängigkeit vom rs242941-Genotyp bestätigen (p > 0,1).

b) rs110402 – Response und Nebenwirkungen

Studienteilnehmer mit Wildtypallelen des rs110402-SNPs hatten (nicht signifikant) höhere Responderaten hinsichtlich der PD-S D-Wertveränderung verglichen mit anderen Patienten:

CGI-2 \leq 2: **8,3%** für C/C (n = 24) vs. **12,8%** für C/T und T/T (n = 47), p = 0,708

PD-S D (Verbesserung > 50%): **33,3%** für C/C (n = 18) vs. **19,4%** für C/T und T/T (n = 36), p = 0,319.

Erwartungsgemäß korrelierte der Genotyp nicht mit den CGI-Werten nach 4 Wochen (CGI-1, CGI-2, n = 69, p > 0,1). Die PD-S D-Wertänderung war hingegen signifikant unterschiedlich (Tabelle 101).

Tabelle 101 rs110402: PD-S D-Wertveränderung unter Therapie mit nicht-selektiven SRI

Variable	rs10402-Genotyp		p-Wert
	C/C	C/T und T/T	
n	18	36	
PD-S D-Wert bei Aufnahme	27 (19-31)	21 (12-32)	0,199
nach 4 Wochen	18 (7-21)	17 (7-30)	0,588
Differenz	7 (3-16)	3 (-3-9)	0,017

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-U-Test

Die Nebenwirkungsraten der Patienten unterschieden sich nicht in Abhängigkeit vom SNP:

30,4% für C/C (n = 23) vs. **31,9%** für C/T und T/T (n = 47), p = 1,0.

Assoziationen mit DOTES-Clustern und dem DOTES-Gesamtwert waren ebenfalls nicht vorhanden (p > 0,1 n = 69).

c) rs2270007 – Response und Nebenwirkungen

Studienteilnehmer mit mutierten Allelen des rs2270007-SNPs hatten (nicht signifikant) höhere Responderaten (PD-S D-Wertveränderung):

CGI-2 ≤ 2: **11,5%** für C/C (n = 52) vs. **10,5%** für C/G und G/G (n = 19), p = 1,0

PD-S D (Verbesserung > 50%): **18,4%** für C/C (n = 38) vs. **37,5%** für C/G + G/G (n = 16), p = 0,170.

Der SNP war nicht mit dem Krankheitszustand der Studienteilnehmer nach 4-wöchiger Behandlung assoziiert (CGI-1: n = 69, p = 0,707, PD-S D: n = 54, p = 0,105), jedoch unterschieden sich die Studienteilnehmer genotypabhängig in ihren CGI-1-Aufnahmewerten. Das Vorliegen mutierter Allele war mit höheren CGI-1-Werten (Schwere des Krankheitszustands) assoziiert (p = 0,007).

Patienten mit Wildtypallelen zeigten etwas niedrigere Nebenwirkungsraten verglichen mit Studienteilnehmern, die andere Genotypen besaßen. Allerdings fiel der Unterschied nicht statistisch signifikant aus (Fisher-Exact-Test): **29,4%** für C/C (n = 51) vs. **36,8%** für C/G + G/G (n = 19), p = 0,573.

Dementsprechend fanden sich keine signifikanten Korrelationen zwischen DOTES-Gesamtwert oder einzelnen DOTES-Clustern und rs2270007-Genotyp (n = 69, p > 0,1).

III. Mirtazapin

82 Patienten wurden mit Mirtazapin behandelt.

a) rs242941 – Response und Nebenwirkungen

Bei den Studienteilnehmern zeigten sich für diesen SNP nicht signifikant unterschiedliche CGI-2-Responderaten während der Unterschied der PD-S D-Responderaten geringer und gegenläufig ausfiel:

CGI-2 ≤ 2: **9,1%** für G/G (n = 33) **19,0%** für G/T und T/T (n = 42), p = 0,328

PD-S D (Verbesserung > 50%): **41,2%** für G/G (n = 17) vs. **35,7%** für G/T und T/T (n = 28), p = 0,759.

Der Krankheitszustand nach 4-wöchiger Behandlung unterschied sich nicht genotypabhängig (CGI-1, CGI-2, n = 69, p > 0,4; PD-S D-Wert, n = 45, p = 0,734).

Assoziationen zwischen Nebenwirkungsraten und rs242941 wurden nicht festgestellt: **17,1%** für G/G (n = 35) vs. **19,5%** für G/T und T/T (n = 41), p = 1,0.

Ebenso korrelierte der Genotyp nicht mit dem DOTES-Gesamtwert oder Werten der Einzelcluster (n = 76, p > 0,1).

b) rs110402 – Response und Nebenwirkungen

Auch für rs110402 zeigten sich in dieser Medikationsgruppe unterschiedliche Responderaten. Aber auch hier fiel der Unterschied nicht statistisch signifikant aus und die Ausprägung war uneinheitlich:

CGI-2 ≤ 2: **25,0%** für C/C (n = 16) vs. **11,9%** für C/T und T/T (n = 59), p = 0,233

PD-S D (Verbesserung > 50%): **25,0%** für C/C (n = 12) vs. **42,4%** für C/T und T/T (n = 33), p = 0,488.

Der SNP war nicht mit einer ungleichen Symptomremission verbunden (CGI-1, CGI-2, n = 69, p > 0,2; PD-S D-Wert n = 45, p = 0,237).

Auch die Beeinträchtigung durch Nebenwirkungen war nicht signifikant mit rs110402 assoziiert: **25,0%** für C/C (n = 16) vs. **16,7%** für C/T und T/T (n = 60), p = 0,476.

Bei Betrachtung der DOTES Einzelcluster fanden sich allerdings signifikante Korrelationen für Cluster a (veränderte motorische Aktivität und Schlafverhalten) und neurologische Nebenwirkungen (Cluster b) (Tabelle 102).

Tabelle 102 rs110402: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie

Variable	rs110402-Genotyp			τ	p-Wert
	C/C	C/T	T/T		
n	16	43	17		
DOTES-Cluster a	1,0 (1,4)	0,7 (1,2)	0,1 (0,3)	-0,2	0,028
DOTES-Cluster b	0,4 (0,8)	0,3 (0,9)	0,0 (0,0)	-0,2	0,035

DOTES cluster c: p = 0,383, d: p = 0,976, e: p = 0,296
 Es sind die Mittelwerte (± SD) angegeben.
 Kendall-tau-Rangkorrelationstest

c) rs2270007 – Response und Nebenwirkungen

Wie für rs242941 zeigten sich unter Mirtazapin-Gabe für Patienten mit mutierten rs2270007-Allelen höhere CGI-2-Responderaten. Der Zusammenhang wurde jedoch auch hier nicht durch die PD-S D-Responseunterschiede bestätigt:

CGI-2 ≤ 2: **9,1%** für C/C (n = 55) vs. **30,0%** für C/G und G/G (n = 20), p = 0,058

PD-S D (Verbesserung > 50%): **39,4%** für C/C (n = 33) vs. **33,3%** für C/G und G/G (n = 12), p = 1,0.

Erwartungsgemäß fand sich eine negative Korrelation zwischen Zustandsverbesserung nach 4 Wochen Behandlung und Genotyp (CGI-2, n = 69, p = 0,051, tau = -0,2). Assoziationen zwischen SNP und Krankheitszustand wurden jedoch nicht beobachtet (CGI-1, n = 69, p > 0,2; PD-S D-Wert n = 45, p = 0,653).

Ein Zusammenhang zwischen Nebenwirkungsraten oder DOTES-Werten und rs2270007-Genotyp war bei Patienten mit Mirtazapin-Therapie nicht feststellbar: **20,8%** für C/C (n = 53) vs. **13,0%** für C/G + G/G (n = 23), p = 0,532; n = 76, p > 0,1.

Die Genotypen unterschieden sich weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.7.2 FGF2 (rs1449683 und rs1048201)

Der Fibroblast Growth Factor (Fibroblasten-Wachstumsfaktor) 2 ist während der Embryogenese an der Stammzellproliferation und der Entwicklung des Neocortex beteiligt. Im erwachsenen Gehirn fördert er das Wachstum und Überleben von Neuronen, ist in Reparaturprozesse eingebunden und wird als endogenes Antidepressivum diskutiert.^{375,444,445} Störungen der normalen Expression des Wachstumsfaktors könnten somit die Entwicklung bzw. Funktion des Zentralnervensystems beeinträchtigen. Sowohl rs1449683 als auch rs1048201 beeinflussen die FGF2-mRNA-Level. Dabei führt der rs1449683-C/C-Genotyp zu einer erhöhten Transkription und das rs1048201-C-Allel zu einer verstärkten Translation, was jeweils mit einer gesteigerten Protein-Expression verbunden ist.^{379,380}

Kato et al. fanden eine signifikante Assoziation zwischen dem rs1449683-T-Allel und dem Ansprechen auf die Therapie mit SSRI bei 144 japanischen Patienten mit einer Major Depression sowie dem rs1048201-T-Allel und dem Therapieabbruch infolge von Nebenwirkungen.³⁷⁸

In der vorliegenden Arbeit wurde der Effekt von rs1449683 und rs1048201 auf die Therapie mit verschiedenen Antidepressiva unter Bedingungen der klinischen Praxis untersucht.

Auf Grund des seltenen Vorkommens von Patienten mit zwei mutierten Allelen (A.3) wurden diese bei Auswertungen mittels nonparametrischen Tests und Kreuztabellen mit heterozygoten Genotypen zusammengefasst und mit Patienten mit zwei Wildtyp-Allelen verglichen.

I. Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

113 Patienten erhielten selektive Serotonininhibitoren (SSRI) (Tabelle 103).

Tabelle 103 Verordnete SSRI (n_{gesamt})

SSRI	n
Escitalopram	36
R/S-Citalopram	41
Fluoxetin	11
Paroxetin	17
Sertralin	8

a) rs1449683 – Response und Nebenwirkungen

In dieser Medikationsgruppe zeigte sich für den untersuchten SNP keine signifikante Assoziation zum Symptomrückgang oder Response nach 4 Wochen Behandlung (CGI-1: n = 95, p = 0,590, PD-S D: n = 87, p = 0,804). Im Gegensatz zur Einschätzung des behandelnden Psychiaters (CGI-2) respondierten Patienten mit T-Allel häufiger auf die Therapie als jene mit C/C-Genotyp. Allerdings war die Assoziation nicht statistisch signifikant:

CGI-2 ≤ 2: **15,9%** für C/C (n = 82) vs. **11,1%** für C/T und T/T (n = 18), p = 1,0

PD-S D (Verbesserung > 50%): **24,7%** für C/C (n = 73) vs. **42,9%** für C/T und T/T (n = 14), p = 0,196.

Der Polymorphismus war in dieser Medikationsgruppe weder mit unterschiedlichen DOTES-Werten, noch mit verschiedenen Nebenwirkungsraten assoziiert (DOTES-Gesamtwert n = 100, p = 0,421; Einzelscores p > 0,1):

Nebenwirkungsraten: **30,1%** für C/C (n = 83) vs. **29,4%** für C/T und T/T (n = 17), p = 1,0.

b) rs1048201 – Response und Nebenwirkungen

Patienten mit zwei rs1048201T-Allelen zeigten nach Einschätzung des behandelnden Arztes eine stärkere Zustandsverbesserung als andere Patienten (Tabelle 104).

Tabelle 104 rs1048201: Symptomremission gemäß CGI-1 und -2 unter SSRI-Therapie

Variable	rs1048201-Genotyp			τ	p-Wert
	C/C	C/T	T/T		
n	73	20	2		
CGI-1-Wert					
bei Aufnahme	5,8 (0,8)	5,9 (0,7)	6,0 (1,4)	0,1	0,588
nach 4 Wochen	5,0 (1,2)	4,7 (1,0)	4,5 (0,7)	-0,1	0,149
Differenz	0,8 (1,1)	1,2 (1,1)	1,5 (0,7)	0,2	0,047
CGI-2-Wert	3,6 (0,9)	3,2 (1,0)	2,5 (0,7)	-0,2	0,039

Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Dieser Zusammenhang konnte durch die PD-S D-Wertveränderung (Zustandsbeurteilung durch den Patienten) bestätigt werden (Tabelle 105).

Tabelle 105 rs1048201: Symptomremission gemäß PD-S D unter SSRI-Therapie

Variable	rs1048201-Genotyp			p-Wert
	C/C	C/T	T/T	
n	65	20	2	
PD-S D-Wert				
bei Aufnahme	19 (13-26)	20 (14-26)	32 (24-)	0,250
nach 4 Wochen	14 (8-20)	12 (3-25)	8 (5-)	0,470
Differenz	4 (0-9)	9 (-3-14)	25 (19-)	0,041

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Kruskal-Wallis-Test

Bei der gemeinsamen Auswertung von hetero- und homozygot mutierten Patienten war der für die PD-S D-Wertänderung gefundene Zusammenhang nicht mehr statistisch signifikant ($p = 0,107$).

Zwar war der genotypabhängige Unterschied zwischen den Responseraten nicht signifikant, trotzdem respondierten Patienten mit hetero- oder homozygot mutiertem Genotyp deutlich häufiger auf die Therapie als Patienten mit zwei Wildtyp-Allelen:

CGI-2 \leq 2: **12,2%** für C/C (n = 74) vs. **23,1%** für C/T und T/T (n = 26), $p = 0,207$,

PD-S D (Verbesserung > 50%): **21,5%** für C/C (n = 65) vs. **45,5%** für C/T und T/T (n = 22), $p = 0,051$.

Ein Effekt auf unerwünschte Arzneimittelwirkungen war für rs1048201 in dieser Medikationsgruppe nicht zu beobachten (DOTES-Gesamtwert n = 100, $p = 0,607$; Einzelscores $p > 0,3$):

Nebenwirkungsraten: **29,2%** für C/C (n = 72) vs. **32,1%** für C/T und T/T (n = 28), $p = 0,810$.

II. Nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

78 Studienteilnehmer wurden mit nicht-selektiven SRI behandelt (Tabelle 106).

Tabelle 106 Verordnete nicht-selektiven SRI (n_{gesamt})

nicht-selektive SRI	n
SSNRI	
Duloxetin	10
Venlafaxin	32
SNRI	
Reboxetin	14
TZA	
Amitriptylin	6
Clomipramin	5
Doxepin	13
Imipramin	2
Trimipramin	9

a) rs1449683 – Response und Nebenwirkungen

Auch in dieser Medikationsgruppe zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Krankheitszustand nach 4 Wochen Therapie und rs1449683 (CGI-1: $n = 69$, $p = 0,206$, PD-S D: $n = 54$, $p = 0,278$).

Allerdings unterschieden sich die CGI-2-Responseraten der Patienten signifikant:

CGI-2 ≤ 2 : **6,9%** für C/C ($n = 58$) vs. **30,8%** für C/T und T/T ($n = 13$), $p = 0,033$, während für das Ansprechen nach PD-S D kein Unterschied zu finden war:

PD-S D (Verbesserung > 50%): **25,6%** für C/C ($n = 43$) vs. **18,2%** für C/T und T/T ($n = 11$), $p = 1,0$.

Zwar wurden für diesen SNP keine unterschiedlichen Nebenwirkungsraten:

31,6% für C/C ($n = 57$) vs. **33,3%** für C/T und T/T ($n = 12$), $p = 1,0$

und DOTES-Gesamtwerte ($n = 69$, $p = 0,540$) gefunden, jedoch unterschieden sich die Studienteilnehmer hinsichtlich des Auftretens von kardiovaskulären Nebenwirkungen (Tabelle 107).

Tabelle 107 rs1449683: Nebenwirkungen unter Therapie mit nicht-selektiven SRI

Variable	rs1449683-Genotyp			τ	p-Wert
	C/C	C/T	T/T		
n	57	12	0		
DOTES-Cluster d (Mittelwert (\pm SD))	0,2 (0,9)	0,8 (1,5)	-	0,3	0,019

DOTES cluster a: $p = 0,403$, b: $p = 0,880$, c: $p = 0,239$, e: $p = 0,737$
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

b) rs1048201 – Response und Nebenwirkungen

Der Rückgang depressiver Symptome war im Hinblick auf diesen SNP nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Patienten (CGI-1: $n = 69$, $p = 0,259$, PD-S D: $n = 54$, $p = 0,767$).

CGI-2 ≤ 2 : **6,7%** für C/C ($n = 45$) vs. **19,2%** für C/T und T/T ($n = 26$), $p = 0,132$

PD-S D (Verbesserung > 50%): **20,0%** für C/C ($n = 30$) vs. **29,2%** für C/T und T/T ($n = 24$), $p = 0,528$.

Der rs1048201-Genotyp korrelierte weder mit dem DOTES-Gesamtwert der Patienten noch mit den Werten der einzelnen Cluster ($n = 69$, $p = 0,944$, $p > 0,1$).

Nebenwirkungsrate: **23,3%** für C/C ($n = 43$) vs. **46,2%** für C/T und T/T ($n = 26$), $p = 0,064$.

III. Mirtazapin – Response und Nebenwirkungen

82 Studienteilnehmer wurden mit Mirtazapin therapiert.

a) rs1449683 – Response und Nebenwirkungen

Laut CGI-1-Wert nach 4-wöchiger Behandlung hatten Studienteilnehmer mit C/C-Genotyp einen besseren Krankheitszustand als andere Patienten ($n = 69$, $p = 0,027$). Allerdings hatten Patienten dieser Subpopulation mit zwei Wildtypallelen bereits zu Behandlungsbeginn niedrigere CGI-1-Werte ($p = 0,028$). Für die Beurteilung nach PD-S D ergaben sich diese Unterschiede nicht (PD-S D: $n = 45$, $p = 0,715$).

Möglicherweise auf Grund der geringen Patientenzahl ($n = 8$ bzw. 3) reagierte keiner der Patienten mit mutierten Allelen im Vergleich zur größeren Gruppe der Studienteilnehmer mit zwei Wildtypallelen:

CGI-2 ≤ 2 : **16,4%** für C/C ($n = 67$) vs. **0,0%** für C/T und T/T ($n = 8$), $p = 0,595$.

PD-S D (Verbesserung $> 50\%$): **40,5%** für C/C ($n = 42$) vs. **0,0%** für C/T und T/T ($n = 3$), $p = 0,279$.

Zwischen DOTES-Gesamt und dem untersuchten SNP konnte kein Zusammenhang gefunden werden ($n = 76$, $p = 0,636$). Allerdings traten bei Patienten mit C/T-Genotyp signifikant mehr neurologische Nebenwirkungen auf (Tabelle 108). In dieser kleinen Stichprobe waren keine Patienten mit T/T-Genotyp enthalten.

Tabelle 108 rs1449683: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie

Variable	rs1449683-Genotyp			τ	p-Wert
	C/C	C/T	T/T		
n	70	6	0		
DOTES-Cluster b (Mittelwert (\pm SD))	0,2 (0,6)	1,3 (1,5)	-	0,4	0,00007

DOTES cluster a: $p = 0,425$, c: $p = 0,231$, d: $p = 0,607$, e: $p = 0,298$
Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Auch die Gesamt-Nebenwirkungsraten waren bei Studienteilnehmern mit T-Allel höher:

17,1% für C/C ($n = 70$) vs. **33,3%** für C/T und T/T ($n = 6$), $p = 0,304$. Allerdings fiel der Unterschied nicht statistisch signifikant aus.

b) rs1048201 – Response und Nebenwirkungen

Auch für diesen SNP wurden unter Mirtazapin-Therapie keine signifikant unterschiedlichen Responderaten festgestellt:

CGI-2 ≤ 2 : **13,0%** für C/C ($n = 54$) vs. **19,0%** für C/T und T/T ($n = 21$), $p = 0,489$,

PD-S D (Verbesserung $> 50\%$): **34,3%** für C/C ($n = 35$) vs. **50,0%** für C/T und T/T ($n = 10$), $p = 0,467$.

Dementsprechend traten auch keine signifikanten Korrelationen zwischen CGI-1-Werten nach 4-wöchiger Therapie und rs1048201-Genotyp auf. Lediglich ein Trend zu einem besseren Krankheitszustand bei Patienten mit C/T-Genotyp gegenüber Wildtypen war zu sehen ($n = 69$, $p = 0,080$). Auch genotypabhängige Unterschiede der PD S-D-Werte waren weder zu Therapiebeginn, noch nach einer Behandlungsdauer von 4 Wochen zu beobachten ($n = 45$, $p = 0,274$).

Die Studienteilnehmer unterschieden sich nicht genotypabhängig in ihren DOTES-Werten (DOTES-Gesamtwert $n = 76$, $p = 0,316$, Einzelcluster $p > 0,1$). Allerdings litten Patienten mit T-Allelen signifikant häufiger unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen als Patienten mit C/C-Genotyp: Nebenwirkungsraten: **11,3%** für C/C ($n = 53$) vs. **34,8%** für C/T und T/T ($n = 23$), $p = 0,024$.

Die Genotypen unterschieden sich weder hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten noch bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.7.3 PCLO (rs2522833)

In einer genomweiten Assoziationsstudie wurde dieser Polymorphismus im PCLO-Gen bei Patienten mit depressiven Erkrankungen signifikant häufiger beobachtet als bei gesunden Kontrollen.^{82,83} Außerdem scheint der A/A-Genotyp bei der Therapie mit Antidepressiva vorteilhafter zu sein, da dieser nach einer Behandlungsdauer von vier Wochen mit einer schwächer ausgeprägten Dysregulation der HPA-Achse verbunden ist als andere Genotypen (DEX/CRH-Test).³⁸⁴ Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von rs2522833 (A>C) für Ansprechen auf verschiedene Antidepressiva und auftretende Nebenwirkungen unter Bedingungen der klinischen Praxis untersucht.

I. Selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

113 Patienten erhielten selektiven Serotonininhibitoren (SSRI) (Tabelle 109).

Tabelle 109 Verordnete SSRI (n_{gesamt})

SSRI	n
Escitalopram	36
R/S-Citalopram	41
Fluoxetin	11
Paroxetin	17
Sertralin	8

Patienten mit dieser Therapie unterschieden sich nicht genotypabhängig hinsichtlich ihrer Responderaten:

CGI-2 \leq 2: **18,8%** für A/A (n = 32) vs. **13,0%** für A/C (n = 54) vs. **14,3%** für C/C (n = 14), p = 0,766

PDS-D (Verbesserung > 50%): **26,7%** für A/A (n = 30) vs. **26,7%** für A/C (n = 45) vs. **33,3%** für C/C (n = 12), p = 0,891.

Auch fanden sich keine Korrelationen zwischen der Höhe der CGI-Werte und dem vorliegenden Genotyp (CGI-1, CGI-2: n = 95, p > 0,7).

Dementsprechend wurde kein Zusammenhang zwischen PD-S D-Werten nach 4 Wochen Behandlung und rs2522833 gefunden (n = 87, p = 0,881).

Assoziationen zwischen dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen und diesem SNP wurden nicht beobachtet (DOTES-Gesamtwert n = 100, p = 0,559; Einzelscores p > 0,1):

Nebenwirkungsraten:

35,7% für A/A (n = 28) vs. **25,5%** für A/C (n = 55) vs. **35,3%** für C/C (n = 17), p = 0,766.

II. Nicht-selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer

Tabelle 110 Verordnete nicht-selektiven SRI (n_{gesamt})

nicht-selektive SRI	n
SSNRI	
Duloxetin	10
Venlafaxin	32
SNRI	
Reboxetin	14
TZA	
Amitriptylin	6
Clomipramin	5
Doxepin	13
Imipramin	2
Trimipramin	9

Bei 78 Studienteilnehmer mit nicht-selektiven SRI (Tabelle 110) war rs2522833 nach Einschätzung des behandelnden Arztes weder mit dem Krankheitszustand der Studienteilnehmer nach 4-wöchiger Behandlung assoziiert (CGI-1: n = 69, p = 0,552), noch zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit Responseparametern:

CGI-2 ≤ 2: **4,3%** für A/A (n = 23) vs. **17,9%** für A/C (n = 28) vs. **10,0%** für C/C (n = 20), p = 0,309

PDS-D (Verbesserung > 50%): **11,8%** für A/A (n = 17) vs. **26,1%** für A/C (n = 23) vs. **35,7%** für C/C (n = 14), p = 0,287.

Allerdings hatten Patienten mit Wildtyp-Allelen sowohl zu Therapiebeginn, als auch nach 4 Wochen höhere PD-S D-Werte (Schwere des Krankheitszustands) als Patienten mit C-Allelen (Tabelle 111).

Tabelle 111 rs2522833: PD-S D-Wertveränderung unter Therapie mit nicht-selektiven SRI

Variable	rs2522833-Genotyp			p-Wert
	A/A	A/C	C/C	
n	17	23	14	
PD-S D-Wert bei Aufnahme	28 (22-36)	20 (14-27)	20 (14-25)	0,042
nach 4 Wochen	21 (17-36)	14 (5-22)	16 (5-22)	0,018
Differenz	-1 (-4-8)	4 (-1-12)	7 (0-11)	0,217

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Kruskal-Wallis-Test

Die Nebenwirkungsraten der Patienten unterschieden sich nicht in Abhängigkeit vom SNP:

34,8% für A/A (n = 23) vs. **35,7%** für A/C (n = 28) vs. **22,2%** für C/C (n = 18), p = 0,591.

Assoziationen mit dem DOTES-Gesamtwert waren ebenfalls nicht vorhanden ($p = 0,321$, $n = 69$). Allerdings zeigte sich das A-Allel des SNPs mit häufigerem Vorkommen von Nebenwirkungen des Clusters a (veränderte motorische Aktivität und Schlafverhalten) und des Clusters e (Appetitverlust, Gewichtsveränderungen und Kopfschmerz) assoziiert (Tabelle 112).

Tabelle 112 rs2522833: Nebenwirkungen unter Therapie mit nicht-selektiven SRI

Variable	rs2522833-Genotyp			τ	p-Wert
	A/A	A/C	C/C		
n	23	18	23		
DOTES-Cluster a	1,6 (3,0)	0,9 (1,2)	0,1 (0,5)	-0,2	0,040
DOTES-Cluster e	0,7 (1,4)	0,1 (0,4)	0,2 (0,7)	-0,3	0,018

DOTES cluster b: $p = 0,176$, c: $p = 0,543$, d: $p = 0,776$
 Es sind die Mittelwerte (\pm SD) angegeben.
 Kendall-tau-Rangkorrelationstest

III. Mirtazapin

Auch bei 82 Mirtazapin-Patienten wurde kein Zusammenhang zwischen Responserate und rs2522833 gefunden:

CGI-2 ≤ 2 : **18,2%** für A/A ($n = 22$) vs. **11,4%** für A/C ($n = 44$) vs. **22,2%** für C/C ($n = 9$), $p = 0,603$

PDS-D (Verbesserung $> 50\%$): **50,0%** für A/A ($n = 14$) vs. **32,0%** für A/C ($n = 25$) vs. **33,3%** für C/C ($n = 6$), $p = 0,523$.

Ebenso unterschieden sich die Studienteilnehmer nicht genotypabhängig in ihrem Krankheitszustand nach 4-wöchiger Behandlung (CGI-1: $n = 69$, $p = 0,803$, PD-S D: $n = 45$, $p = 0,823$). Allerdings litten Patienten mit C-Allel unter einem schwererem Krankheitszustand zu Behandlungsbeginn als Studienteilnehmer mit mutierten Allelen ($p = 0,044$).

Die Studienteilnehmer unterschieden sich abhängig von rs2522833 weder im DOTES-Gesamtwert ($n = 75$, $p = 0,865$), noch in ihren Nebenwirkungsraten: **18,2%** für A/A ($n = 22$) vs. **19,0%** für A/C ($n = 42$) vs. **18,2%** für C/C ($n = 11$), $p = 0,995$. Allerdings hatten Patienten mit C-Allelen häufiger gastrointestinale Nebenwirkungen (Cluster c) im Vergleich zu Wildtyp-Allelträgern (Tabelle 113).

Tabelle 113 rs2522833: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie

Variable	rs2522833-Genotyp			τ	p-Wert
	A/A	A/C	C/C		
n	22	42	11		
DOTES-Cluster c (Mittelwert (\pm SD))	0,2 (0,9)	0,4 (0,8)	0,7 (1,0)	0,2	0,023

DOTES cluster a: $p = 0,390$, b: $p = 0,210$, d: $p = 0,256$, e: $p = 0,447$
 Kendall-tau-Rangkorrelationstest

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten Patienten hatten abhängig von der gestellten Diagnose (F2 bzw. F3) tendenziell unterschiedliche Genotypverteilungen ($n = 275$ bzw. $n = 226$, $p = 0,074$). Bei Studienteilnehmern mit F3-Diagnose fanden sich etwa 6% weniger A/A-Genotypen (29,2%) im Vergleich zu Patienten mit F2-Diagnose (35,3%), bei gleicher Anzahl heterozygot mutierter und entsprechend mehr C/C-Genotypen, für welchen ein höheres Erkrankungsrisiko postuliert wird.^{82,83,384}

Die Genotypen unterschieden sich nicht hinsichtlich demografischer Merkmale wie Alter, Körpergewicht zum Aufnahmezeitpunkt, Körpergröße, BMI, Geschlecht und Rauchgewohnheiten sowie bezüglich der Krankheitsmerkmale zu Beginn der Therapie.

3.3.8 Polymorphismen auf Ebene des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels – Assoziationen zu Veränderungen des Körpergewichts unter Antipsychotikatherapie

3.3.8.1 PPAR γ (rs1801282)

PPAR γ codiert den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor γ 2, einen nukleären Transkriptionsfaktor, der im Fettgewebe und im Dickdarm verbreitet ist. Zusammen mit dem Retinoid-X-Rezeptor reguliert dieser die Adipozytendifferenzierung und Glucose-Homöostase.³⁸⁵ Die häufig vorkommende Pro12Ala-Variante des PPAR γ 2-Gens ist anscheinend mit einer Disposition zu Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert, wobei Träger der 12Ala-Variante von einem protektiven Effekt infolge einer reduzierten Stimulation von Zielgenen, niedriger Fettgewebsakkumulation und verbesserter Insulinempfindlichkeit profitieren.^{386,387}

Variationen innerhalb der PPAR γ -Sequenz werden auch in Zusammenhang mit Veränderungen des Körpergewichts unter Gabe mit atypischen Antipsychotika diskutiert.^{388,389} In vitro beeinflusst Clozapin ebenfalls die Differenzierung von Adipozyten und führt zu intrazellulärer Triglyceridakkumulation.³⁹⁰ Olanzapin scheint über die Überexpression von Sterol-regulatorisches-Element-bindendes Protein und Aktivierung von PPAR γ die Adipogenese in 3T3-L1-Zelllinien zu fördern.³⁹¹

Im Folgenden sind die Ergebnisse zu Einfluss des rs1801282-SNPs auf die Entwicklung des Körpergewichts von Olanzapin- und Clozapin-Patienten unter klinischen Bedingungen dargestellt.

I. Olanzapin

In dieser Medikationsgruppe hatten männliche Patienten erwartungsgemäß sowohl zu Behandlungsbeginn als auch nach 4-wöchiger Therapie ein signifikant höheres Körpergewicht als weibliche Patienten. Allerdings unterschieden sich weder BMI-Werte noch Ausmaß der Gewichtszunahme zwischen den Geschlechtern (Tabelle 114).

Tabelle 114 Körpergewicht und BMI bei Olanzapin- und Clozapin-Patienten abhängig vom Geschlecht

	Olanzapin-Patienten		Clozapin-Patienten	
	männlich	weiblich	männlich	weiblich
Geschlecht				
n	63	75	10	22
Körpergewicht (kg) zur Aufnahme	75,1 (69,0 - 88,4)	61,7 (57,0 - 71,1)	89,1 (72,7 - 93,4)	74,6 (62,3 - 88,6)
	p = 0,04E-6		p = 0,053	
nach 4 Wochen	80,1 (70,4 - 90,8)	63,8 (58,8 - 73,6)	89,8 (71,1 - 95,8)	73,4 (66,1 - 85,7)
	p = 0,08E-7		p = 0,092	
Δ Körpergewicht (kg)	2,1 (0,0 - 4,7)	1,1 (0,0 - 3,1)	1,7 (-2,3 - 3,2)	0,8 (-1,9 - 3,0)
	p = 0,144		p = 0,919	
BMI (kg/m ²) zur Aufnahme	23,7 (22,7 - 26,5)	22,6 (20,7 - 25,8)	26,7 (24,6 - 28,6)	26,9 (22,7 - 31,4)
	p = 0,099		p = 0,776	
nach 4 Wochen	25,0 (22,8 - 27,3)	23,6 (21,3 - 26,4)	27,0 (24,8 - 29,6)	27,0 (23,6 - 30,9)
	p = 0,054		p = 0,839	
Δ BMI (kg/m ²)	0,6 (0,0 - 1,6)	0,4 (0,0 - 1,1)	0,5 (-0,7 - 1,1)	0,3 (-0,7 - 1,1)
	p = 0,220		p = 0,951	

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben.
Mann-Whitney-Test

Die Patienten erhielten eine mittlere Tagesdosis von 13,2±7,5 mg über einen Zeitraum von 22±9 Tagen (n = 134). Dosierung und Behandlungsdauer hatten keinen signifikanten Einfluss auf Veränderungen des Körpergewichts und der BMI-Werte ($p \geq 0,058$, $p \geq 0,153$). Auch für Alter, Raucherstatus und Diagnose war kein signifikanter Effekt auf die Gewichtszunahme festzustellen ($p \geq 0,058$, $p \geq 0,457$ and $p \geq 0,197$).

Veränderungen des Körpergewichts und des BMI der Patienten unterschieden sich nicht hinsichtlich des PPAR γ Pro12Ala-Genotyps (Tabelle 115).

Tabelle 115 Körpergewicht und BMI bei Olanzapin- und Clozapin-Patienten abhängig vom PPAR γ Pro12Ala-Genotyp

PPAR γ Pro12Ala-Genotyp	Olanzapin-Patienten			Clozapin-Patienten ¹	
	Pro/Pro	Pro/Ala	Ala/Ala	Pro/Pro	Pro/Ala
n	99	34	5	24	8
Körpergewicht (kg) zur Aufnahme	71,5 (61,0 - 82,0)	65,3 (60,0 - 73,9) p^a = 0,211	63,0 (56,0 - 92,5)	76,7 (63,1 - 89,7)	82,6 (67,1 - 91,5) p^b = 0,459
nach 4 Wochen	73,0 (63,0 - 84,0)	67,0 (62,0 - 77,4) p^a = 0,376	63,6 (58,0 - 97,3)	74,1 (66,9 - 88,3)	81,0 (68,7 - 91,9) p^b = 0,648
Δ Körpergewicht (kg)	1,2 (0,0 - 4,0)	2,0 (-0,3 - 4,2) p^a = 0,684	2,2 (0,0 - 6,0)	2,2 (-2,0 - 3,8)	0,4 (-2,3 - 0,9) p^b = 0,127
BMI (kg/m ²) zur Aufnahme	23,7 (21,5 - 26,3)	22,5 (20,2 - 26,4) p^a = 0,457	21,6 (20,1 - 31,6)	26,0 (22,8 - 29,4)	28,4 (25,7 - 31,6) p^b = 0,240
nach 4 Wochen	24,4 (22,2 - 26,9)	23,5 (21,3 - 27,1) p^a = 0,626	22,5 (20,1 - 32,5)	26,4 (23,4 - 29,8)	28,5 (26,4 - 31,4) p^b = 0,296
Δ BMI (kg/m ²)	0,4 (0,0 - 1,2)	0,7 (-0,1 - 1,4) p^a = 0,758	0,3 (0,0 - 1,4)	0,7 (-0,7 - 1,4)	0,1 (-0,7 - 0,3) p^b = 0,122

Es sind die medianen Werte und 0,25- bzw. 0,75-Quantil angegeben
¹In dieser Medikationsgruppe wurden keine Patienten mit Ala/Ala-Genotyp detektiert.
^aKruskall-Wallis-Test, ^bMann-Whitney-Test

Die Gabe bestimmter Antidepressiva wie Mirtazapin und Trizyklischer Antidepressiva (Amitriptylin, Clomipramin, Doxepin, Trimipramin) sowie Phasenprophylaktika (Lithium, Valproinsäure, Gabapentin) kann ebenfalls zu Erhöhungen des Körpergewichts führen. Um diesen Einfluss auszuschließen, wurden nur Patienten mit Olanzapin ohne die genannten Wirkstoffe untersucht. Übereinstimmend mit der kompletten Population variierte auch das Körpergewicht und der BMI dieser Subkohorte nicht in Bezug auf rs1801282 ($n = 62$, $p = 0,706$ für Δ Körpergewicht und $p = 0,283$ für Δ BMI).

Wie von Basson et al.⁴⁴⁶ berichtet, nahmen Patienten mit niedrigerem BMI zu Behandlungsbeginn (< 27) signifikant stärker an Gewicht zu als solche mit Werten ≥ 27 ($p = 0,001$). Die Analyse von Subkohorten getrennt nach BMI ($<$ and ≥ 27) erbrachte keinen Effekt des SNPs auf Körpergewicht- und BMI-Änderungen ($p \geq 0,371$).

II. Clozapin

Auch männliche Patienten mit Clozapin-Therapie hatten im Vergleich zu weiblichen Patienten ein höheres Körpergewicht zu Therapiebeginn und nach 4 Wochen. Allerdings fiel der Unterschied hier auf Grund der geringen Patientenzahl nicht signifikant aus (Tabelle 114).

Die Patienten erhielten eine mittlere Tagesdosis von $326,1 \pm 176,6$ mg über einen Zeitraum von 24 ± 8 Tagen ($n = 29$).

Auch hier zeigten weder Dosierung noch Behandlungsdauer einen signifikanten Einfluss auf Veränderungen des Körpergewichts und der BMI-Werte ($p \geq 0,416$, $p \geq 0,300$). Ebenso fand sich für Alter, Raucherstatus und Diagnose der Patienten kein Effekt auf die Gewichtszunahme ($p \geq 0,270$, $p \geq 0,174$ and $p = 0,319$).

Veränderungen des Körpergewichts und des BMI der Patienten unterschieden sich auch in dieser Medikationsgruppe nicht hinsichtlich des PPAR γ Pro12Ala-Genotyps (Tabelle 115).

Dies änderte sich auch nicht unter Berücksichtigung des eventuellen Einflusses von Antidepressiva (Amitriptylin, Clomipramin, Doxepin, Trimipramin) und Phasenprophylaktika (Lithium, Valproinsäure, Gabapentin) auf Veränderungen des Körpergewichts ($n = 20$, $p = 0,202$ für Δ Körpergewicht und $p = 0,186$ für Δ BMI).

Patienten mit Clozapin-Therapie tendierten wie Olanzapin-Patienten zu einer stärkeren Gewichtszunahme, wenn sie einen Anfangs-BMI < 27 aufwiesen. Die Analyse von Subkohorten getrennt nach BMI ($<$ and ≥ 27) erbrachte jedoch auch unter Clozapin-Therapie keinen Effekt des SNPs auf Körpergewicht- und BMI-Änderungen ($p \geq 0,371$).

4 Diskussion

4.1 Mikrosomaler Arzneistoffmetabolismus

4.1.1 Cytochrom-P450-Enzyme

4.1.1.1 CYP2D6

Bereits in den 1970er Jahren wurde die große interindividuelle Variabilität des CYP2D6-Enzyms entdeckt.^{111,112} Es ist an der Metabolisierung von etwa 25% aller auf dem Markt befindlichen Medikamente beteiligt und sein Anteil an den CYP450-Enzymen der Leber beträgt 1-5%. Inzwischen sind mehr als 100 Allelvarianten bekannt. Relevante Änderungen der katalytischen Aktivität, der enzymatischen Stabilität oder der Substratspezifität werden hauptsächlich durch funktionelle Polymorphismen in codierenden Regionen verursacht.¹ Kürzlich wurde außerdem das Vorkommen von Hybridgenen beschrieben, die durch ungleiche chromosomale Rekombination entstehen und zum Teil aus dem Pseudogen CYP2D7 (5'-Ende) und aus CYP2D6 (3'-Ende) zusammengesetzt sind. Bei Konversion nach Exon1 downstream können diese kein funktionsfähiges Enzym generieren.⁴⁴⁷

Die Vielfalt der entstehenden Genotypen erfordert eine Klassifizierung wie in der Einleitung (1.3.1.1) beschrieben, um den Einfluss genetisch verursachter Aktivitätsveränderungen auf Serumkonzentrationen, Ansprechen und Nebenwirkungen in statistisch ausreichend großen Gruppen untersuchen zu können.

Dementsprechend wurden die verschiedenen CYP2D6-Genotypen in der vorliegenden Arbeit basierend auf den folgenden Allelen: *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *17, *41 und *1-4XN in vier verschiedene Metabolisierungs-Klassen eingeteilt.

Das hier betrachtete Patientenkollektiv (n = 572) besteht zu 7% aus CYP2D6-PMs, 37% IMs, 52% EMs sowie 3% UMs und weicht damit hinsichtlich der IM- und EM-Genotypen von bereits publizierten Daten ab.¹²⁴ Diese Abweichung ist jedoch auf unterschiedliche Definitionen des IM-Status zurückzuführen. Einige Autoren verwenden die Bezeichnung IM nur für Träger eines funktionsreduzierten und eines komplett funktionsunfähigen Allels¹²⁴ bzw. eines oder zweier in ihrer Funktion beeinträchtigte Allele – andere hingegen nutzen die hier zu Grunde liegende Zuordnung.⁴⁴⁹

Der Effekt bestimmter Polymorphismen im CYP2D6-Gen auf die Pharmakokinetik vieler Psychopharmaka wurde inzwischen in zahlreichen Untersuchungen belegt.^{429,450-453} Infolge interindividueller Schwankungen von Arzneimittel-Serumkonzentrationen sind auch Konzentrationsänderungen des Wirkstoffs am therapeutischen Target und damit ein pharmakodynamischer Einfluss zu erwarten. Wie in einigen Studien beschrieben, ist bei Poor Metabolizern mit Normdosierung auf Grund erhöhter Serumkonzentrationen mit mehr Nebenwirkungen zu rechnen.⁴⁵⁴⁻⁴⁵⁹ Bei Ultrarapid Metabolizern können eine unangepasste Dosierung und deshalb zu niedrige Serumkonzentrationen zu einem verzögerten Wirkungseintritt oder Therapieversagen führen.⁴⁶⁰⁻⁴⁶² Handelt es sich bei dem verabreichten Medikament um ein Prodrug, ist der Effekt genau umgekehrt (z.B. Tamoxifen,⁴⁶³ Codein⁴⁶⁴). Ändert sich der Metabolisierungs-Phänotyp durch die Verabreichung bestimmter Substanzen, spricht man von Phänoconversion. Dies ist bei psychiatrischen Patienten häufig durch die Gabe von Fluoxetin oder Paroxetin, welche sehr potente CYP2D6-Inhibitoren sind, zu beobachten.⁴⁶⁵ Auch die zusätzliche Anwendung nicht psychoaktiver Arzneimittel (v.a. Beta-Adrenozeptor-Antagonisten, Antihistaminika) ist hierbei zu berücksichtigen.¹⁰⁸

Die Herausforderung besteht in der Abschätzung des pharmakogenetischen Anteils am Therapieerfolg und der Ableitung genereller Handlungshilfen zur Berücksichtigung individueller Metabolisierungseigenschaften in der klinischen Praxis. Bisher wurden zwar für einige Psychopharmaka Dosierungsempfehlungen für verschiedene CYP2D6-Metabolisierungstypen veröffentlicht,^{20,466} allerdings blieben dabei andere pharmakokinetisch und –dynamisch wichtige Polymorphismen sowie Einflüsse durch Komedikation, wie sie bei der Behandlung psychiatrischer Patienten sehr häufig vorkommt, unberücksichtigt.⁴⁶⁷

In der vorliegenden Studie wurde deshalb der Einfluss der verschiedenen CYP2D6-Metabolisierungstypen auf Therapieansprechen, Nebenwirkungen unter Antidepressiva- und Antipsychotika-Therapie sowie Mirtazapin-Serumkonzentrationen unter den Rahmenbedingungen der klinischen Praxis untersucht.

Einfluss auf Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit CYP2D6-abhängigen Arzneistoffen

Antidepressiva (Amitriptylin, Clomipramin, Doxepin, Duloxetin, Fluoxetin, Imipramin, Paroxetin, Trimipramin)

Übereinstimmend mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen litten auch in unserer Patientenpopulation Poor Metabolizer, die mit Antidepressiva behandelt wurden stärker unter Nebenwirkungen als Patienten mit höherer Enzymaktivität (Odds Ratios: 3,1 (PM vs. IM) / 4,0 (PM vs. EM) / 9,0 (PMs vs. UMs)). In einer Studie von Shams et al. hatten PM mit Venlafaxin-Medikation signifikant häufiger Nebenwirkungen als andere Patienten (n=100).⁴⁵⁷ Rau et al. fanden unter den Patienten mit Nebenwirkungen, die mit CYP2D6-abhängigen Antidepressiva behandelt wurden, 29% PM (n=28).⁴⁵⁶ Der PM-Anteil vergleichbarer (kaukasischer) Populationen liegt bei 5-10%.¹²⁴ In einer Untersuchung mit Paroxetin-Patienten litten PM häufiger unter sexueller Dysfunktion als EM (n=55).⁴⁵⁸ Poor Metabolizer besitzen damit offenbar auch unter Bedingungen der klinischen Praxis ein erhöhtes Risiko, unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu erleiden. Auf Grund der Vielzahl der hier eingesetzten Antidepressiva kann nicht spezifiziert werden, welcher Wirkstoff in welchem Ausmaß mit erhöhten Nebenwirkungsraten bei PM assoziiert ist. Um dies untersuchen zu können, sind größere Patientenstichproben notwendig.

Hinsichtlich des CYP2D6-Einflusses auf das Ansprechen unter Antidepressiva-Therapie stellt sich die derzeitige Studienlage wie folgt dar: Lobello et al. berichten über einen höheren Therapieerfolg bei EM mit Venlafaxin-Therapie im Vergleich zu Patienten mit PM-Status (n = 464), bei denen das Ausmaß erwünschter Wirkungen eventuell durch das Auftreten von Nebenwirkungen beeinträchtigt wurde.⁴⁶⁸ Möglicherweise ist das der Grund, weshalb PM häufiger Medikation und Dosierung wechseln als EM (n=110).⁴⁶⁹

Wie bereits 1993 von Bertilsson⁴⁷⁰ beschrieben, weisen auch die Ergebnisse von Kawanishi et al. auf einen Zusammenhang zwischen mangelndem Therapieerfolg unter Antidepressiva-Gabe und dem Vorliegen von CYP2D6-Duplikationen hin (n=108).⁴⁶⁰ Auch in einigen Fallberichten kam es zum Teil bei Versuchen mit verschiedenen Wirkstoffen (Paroxetin, Clomipramin, Venlafaxin) zu Therapieversagen bei CYP2D6-UM.^{461,462} Der Anteil von UM an Patienten, die nicht auf eine Behandlung mit Antidepressiva ansprechen, war in einer Untersuchung von Rau et al.⁴⁵⁶ mit 19% fast 5-fach höher als das Vorkommen des Genotyps in der kaukasischen Bevölkerung (3-5%).¹²⁴ Es wäre demnach zu erwarten, dass in unserer Studienpopulation EM die höchsten und PM sowie UM die niedrigsten Responderaten zeigen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Lobello et al. sprachen in unserem Patientenkollektiv aber PM besser auf die Antidepressiva-Therapie an als andere Genotypen. IM, EM und UM unterschieden sich hingegen nicht relevant bezüglich ihrer Zustandsverbesserung über 4 Wochen (PD-Skala). CYP2D6-abhängige Unterschiede der Responderaten sowie der Zeit bis zum Ansprechen und der Gesamtaufenthaltsdauer der Patienten wurden ebenfalls nicht beobachtet.

PM unserer Studienpopulation mit CYP2D6-abhängigen Antidepressiva profitierten offenbar einerseits von den höheren Arzneistoffkonzentrationen am Wirkort, andererseits litten sie aber wesentlich stärker unter unerwünschten Begleiterscheinungen (siehe oben). Eine prätherapeutische Genotypisierung könnte eine Dosisanpassung bzw. die Wahl des geeigneten Wirkstoffs in diesem Fall wahrscheinlich unterstützen und die Behandlungsdauer verkürzen. Ein UM-Status war in dieser Patientenpopulation nicht mit einem schlechteren Therapieerfolg verbunden, allerdings war diese Genotypklasse die einzige, in der keiner der Patienten Beeinträchtigungen durch Nebenwirkungen zeigte.

Nur 9,6 % der untersuchten Patienten hatten einen PM- oder UM-Status. Zur besseren Beurteilung des CYP2D6-Genosiseffekts auf Nebenwirkungen und Ansprechen unter klinischen Bedingungen ist deshalb ein größeres Patientenkollektiv nötig. Mit monozentrischen Studien ist dies nur schwer zu erreichen. Eine Alternative hierzu würde die Verwendung von Material und Daten verschiedener Kliniken darstellen, wie dies mit Hilfe medizinischer Biobanken vorstellbar wäre.⁴⁷¹

Antipsychotika (Aripiprazol, Haloperidol, Promethazin, Zuclopenthixol)

Wie für die Therapie mit CYP2D6-abhängigen Antidepressiva beschrieben, finden sich auch für Antipsychotika, die überwiegend über dieses Enzym metabolisiert werden Berichte über stärkere Nebenwirkungen bei Patienten mit PM-Status. Diese äußern sich in verstärkter Sedierung der Patienten unter Perphenazin-, Thioridazin- und Haloperidol-Therapie¹ und dem Auftreten sekundärer Dystonien (Pseudoparkinsonismus).⁴⁷²⁻⁴⁷⁴ Auch hier scheinen erhöhte Wirkstoffkonzentrationen an Zielstrukturen für stärkere Nebenwirkungen verantwortlich zu sein.⁴⁷⁵ Dementsprechend ist das Vorliegen eines UM-Genotyps, d.h. erniedrigte Neuroleptikakonzentrationen am Wirkort, offenbar mit Therapieresistenz bei Schizophrenie assoziiert.^{460,476} In dem hier untersuchten Patientenkollektiv (n =

68, Aripiprazol, Haloperidol, Promethazin, Zuclopenthixol) ließ sich jedoch möglicherweise auf Grund der geringen Patientenzahl kein Zusammenhang zwischen CYP2D6-Genotyp und Therapieerfolg finden. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass einige als UM eingeordnete Patienten ein (funktionsloses) Hybridgen besitzen (siehe oben). Dies ist bei 12% aller Patienten, bei denen zuvor eine Duplikation nachgewiesen wurde der Fall.⁴⁴⁷ Diese Patienten hätten demzufolge statt eines UM-Status einen IM-Genotyp.

Auch das Auftreten von Nebenwirkungen unter Neuroleptika-Therapie wurde in unserer Patientenpopulation nicht durch den CYP2D6-Genotyp beeinflusst.

Eine andere Untersuchung mit naturalistischem Studiendesign (n = 116) erbrachte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im Behandlungserfolg abhängig vom CYP2D6-Genotyp.⁴⁷⁷ Allerdings erhielten dort PM nur etwa die Hälfte der Dosis, die IM, EM oder UM bekamen, obwohl der behandelnde Arzt nicht über das Genotypisierungsergebnis der Patienten informiert war.

Die mittleren Relativedosen der verschiedenen CYP2D6-Genotypen waren in unserem Patientenkollektiv vergleichbar. Eventuell wurden CYP2D6-Genotyp-verursachte Effekte durch den inhibitorischen Einfluss von Komedikation (z.B. Melperon) überdeckt.⁴⁷⁸ Es ist außerdem zu berücksichtigen, dass für den Abbau von zwei der verordneten Neuroleptika (Aripiprazol, Haloperidol) neben CYP2D6 noch ein weiteres Enzym (CYP3A4) zur Verfügung steht. Festzuhalten ist, dass in dieser relativ kleinen Teilpopulation unter den gegebenen Bedingungen keine Unterschiede im Therapieerfolg der verschiedenen CYP2D6-Genotypen feststellbar waren.

Ausgehend vom beobachteten Verordnungsmuster für Antipsychotika in unserer Studie (Tabelle im Anhang) scheint CYP2D6 insgesamt eine untergeordnete Rolle zu spielen, da die am häufigsten verordneten Neuroleptika Olanzapin (Abbau durch CYP1A2), Quetiapin (Abbau durch CYP3A4) und Risperidon (Abbau durch CYP3A4, CYP3A5 und CYP2D6) waren.^{423,479,480} Letzteres wird nur zum Teil über CYP2D6 metabolisiert, dabei entsteht jedoch ein aktiver Metabolit (9-OH-Risperidon bzw. Paliperidon), der selbst auch therapeutische Anwendung findet. Eine Untersuchung an 50 Patienten zeigte allerdings 3,3- bzw. 1,6-fach erhöhte Gesamtkonzentrationen von Risperidon und aktiven Metaboliten bei PM bzw. IM im Vergleich zu EM, was zusätzlich mit stärkeren extrapyramidalen Nebenwirkungen verbunden war.⁴⁸¹ Für eine generelle Empfehlung der CYP2D6-Genotypisierung vor Risperidon-Therapie sind die derzeit vorliegenden Daten jedoch nicht ausreichend, sondern weitere Studien zur Kosten-/Nutzenabschätzung nötig.⁴⁸²

Antidepressiva und Antipsychotika

Unabhängig von der gestellten Diagnose bzw. Art der CYP2D6-abhängigen psychoaktiven Medikation zeigte sich in unserer Population beim Vergleich der verschiedenen CYP2D6-Metabolisierungstypen (n = 160 (enge Definition), n = 354 (weite Definition)) in Übereinstimmung mit anderen Studien kein Unterschied für das Therapieansprechen.^{483,484} Ein signifikanter Responseunterschied fand sich nur bei Aufteilung der Population in Patienten mit CYP2D6-Gendosis $\leq 0,5$ und ≥ 1 (29% vs. 12%, p = 0,022). Hinsichtlich der Nebenwirkungsraten gab es keine CYP2D6-abhängigen Unterschiede.

In dieser Stichprobe profitierten Patienten mit niedrigen Gendosen möglicherweise stärker von höheren Arzneistoffkonzentrationen am Wirkort als sie durch Nebenwirkungen beeinträchtigt wurden. Im Gegensatz dazu beobachteten Chou et al. bei PM häufiger Nebenwirkungen als bei IM, EM und UM (n=100).⁴⁸⁵ Die Autoren stellten außerdem längere Aufenthaltszeiten für PM und höhere Behandlungskosten für UM und PM fest. In einer anderen Untersuchung zeigte sich wiederum ein Trend zu niedrigerer therapeutischer Effizienz mit steigender Zahl der aktiven CYP2D6-Gene (n = 241).⁴⁷³ Eventuell kommen hier Unterschiede der in den untersuchten Populationen verabreichten Dosen zum Tragen. So ist bei PM mit Dosierungen an der unteren Grenze des therapeutischen Bereichs mit einer stärkeren Zustandsverbesserung zu rechnen, da weniger oder keine Nebenwirkungen zu erwarten sind, die den Therapieerfolg beeinträchtigen. Bei Patienten mit UM-Status ist hingegen damit zu rechnen, dass der therapeutische Effekt in diesem Dosisbereich niedriger ausfällt oder gänzlich ausbleibt.

CYP2D6-abhängige Psychopharmaka versus andere Psychopharmaka

Der Vergleich des Therapieerfolgs bei Patienten mit und ohne CYP2D6-abhängige Psychopharmaka ergab folgendes:

Der Anteil der Patienten, die gemäß der Angabe des behandelnden Arztes auf die Therapie ansprachen war signifikant größer, wenn diese keine CYP2D6-Medikation erhielten (44% gegenüber 59%, $n = 503$, $p = 0,002$). Davon waren alle CYP2D6-Genotypen betroffen, allerdings war der Responseunterschied zwischen PM mit CYP2D6-Medikation und PM ohne CYP2D6-Medikation am größten (40% vs. 67%).

Die Gabe CYP2D6-abhängiger Arzneistoffe wirkte sich anscheinend auch auf die Dauer bis zum Ansprechen und damit auf die Länge des stationären Aufenthalts der Patienten aus. Diese Teilnehmer respondierten sechs Tage später und waren 13 Tage länger stationär als solche ohne CYP2D6-Medikamente ($n = 105$ gegenüber 301, $p = 0,028$ bzw. $n = 162$ gegenüber 384, $p = 0,004$) – eine Beobachtung, die gleichermaßen in anderen Populationen gemacht wurde.⁴⁸⁵ Möglicherweise ist dieser verzögerte Wirkungseintritt auf eine Absättigung bzw. eine Inhibition des CYP2D6-vermittelten Arzneistoffmetabolismus durch andere psychoaktive Wirkstoffe sowie kardiovaskuläre Komedikation, welche häufig zusätzlich verabreicht wurden, zurückzuführen.⁴⁸⁶

Ein Einfluss der Art der Medikation (CYP2D6-abhängig oder nicht) auf aufgetretene Nebenwirkungen war nicht feststellbar.

Interessanterweise wurden nur 13% (9/68) aller Patienten mit einer Gendosis $\leq 0,5$ mit Wirkstoffen behandelt, die überwiegend über CYP2D6 abgebaut werden. Im Vergleich dazu erhielten 32% (151/471) der Studienteilnehmer mit Gendosen ≥ 1 CYP2D6-abhängige Psychopharmaka ($p = 0,001$). Möglicherweise erhielten Patienten mit niedrigeren Gendosen auf Grund bekannter Unverträglichkeiten bestimmter (CYP2D6-abhängiger) Wirkstoffe in vorhergehenden Therapieversuchen direkt andere Medikamente, die nicht über diese Familie der P450-Monooxygenasen abgebaut werden. In einer anderen Studie wurde dieser Effekt ebenfalls beobachtet.⁴⁷³ Dies könnte außerdem erklären, weshalb die Nebenwirkungsrate bei PM unserer Kohorte mit CYP2D6-abhängigen Antipsychotika wider Erwarten nicht höher war als bei den anderen Genotypen.

Andererseits wäre es auch denkbar, dass Patienten mit höherer Metabolisierungskapazität und Therapieversagen in einem zweiten Versuch ältere CYP2D6-abhängige Medikamente erhielten und der Anteil an CYP2D6-Medikation bei ihnen dadurch höher ist als bei Patienten mit niedrigen CYP2D6-Gendosen. Berücksichtigt man hierbei die oben genannten Responseunterschiede, wäre auch dieser Therapieversuch wahrscheinlich mit geringeren Erfolgsaussichten verbunden als die Behandlung mit einem nicht-CYP2D6-abhängigem Wirkstoff.

Einfluss auf Mirtazapin-Serumkonzentrationen und Erfolg der Mirtazapin-Behandlung

Neben CYP3A4 und CYP1A2 ist auch CYP2D6 am Abbau von Mirtazapin beteiligt. Das tetrazyklische Antidepressivum, welches den α_2 -Adrenozeptor (ADR2) und die Serotonin-Rezeptoren 2 und 3 (5-HTR₂ und 3) im ZNS antagonisiert, wird racemisch angewendet.¹⁰⁰ Die Pharmakokinetik des Wirkstoffes verläuft jedoch enantioselektiv, was zu höheren Plasmakonzentrationen und Eliminationshalbwertszeiten des R-Enantiomers führt.⁴⁸⁷

Dahl et al. fanden nach Gabe von 7,5 – 15 mg racemischem Mirtazapin bei PMs eine um 79% höhere AUC im Vergleich zu EMs, wohingegen sich für R-Mirtazapin kein Unterschied zeigte.⁴⁸⁸ Brockmüller et al. bestätigten dieses Ergebnis auch für höhere Dosen (45 mg).⁴⁸⁹

Ergebnisse zur Untersuchung des Einflusses der Serumspiegelhöhe, des Alters, des CYP1A2*1F-Polymorphismus und CYP1A2-Induktoren auf Ansprechen und Nebenwirkungen finden sich unter (3.3.3.1.3) und werden im Abschnitt (4.1.1.3) diskutiert.

Zum Einfluss von CYP2D6 auf die Steady-State-Konzentrationen und die klinischen Effekte des Wirkstoffes gibt es nur wenige Studien. In einer Untersuchung von 49 depressiven Patienten, die mit Mirtazapin behandelt wurden, hatten CYP2D6-IMs eine um 26% reduzierte Clearance im Vergleich zu EMs.⁴⁹⁰ Lind et al. beobachteten bei Patienten mit niedriger CYP2D6-Gendosis signifikant höhere Serumwerte als bei Patienten mit höherer CYP2D6-Aktivität.⁴²⁹ Poor Metabolizer hatten in dieser Untersuchung ($n = 95$) mehr als 2-fach höhere S-Mirtazapin-Spiegel als Patienten mit normaler CYP2D6-Metabolisierungskapazität.

Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen hatten Patienten unserer Studienpopulation in beiden untersuchten Altersklassen ($> \leq 60$ Jahre) und mit PM- oder IM-Status (nicht signifikant) erhöhte normalisierte (ng/ml / mg/kg) Mirtazapin-Serumkonzentrationen im Vergleich zu EM. Bei jüngeren Patienten (≤ 60 Jahre, $n = 48$) betrug die Spiegelerhöhung +35% für PM und +42% für IM. Ältere Patienten (> 60 Jahre, $n = 16$) hatten +31% höhere Serumkonzentrationen, wenn sie einen IM-

Genotyp besaßen. Ein Patient dieser Altersgruppe mit UM-Genotyp erreichte nur 63% der EM-Serumwerte von Patienten dieses Alters, hatte aber eine ähnliche Wertlage wie jüngere EMs (88 versus 90 ng/ml / mg/kg). Drei UMs der Patienten ≤ 60 Jahre hatten hingegen mediane Mirtazapin-Konzentrationen, die mit dem Niveau der IMs vergleichbar waren. Allerdings erhielten alle drei UM zusätzlich Medikamente, die über CYP2D6 metabolisiert werden im Gegensatz zu dem älteren Patienten mit Genduplikation, der keine CYP2D6-abhängige Zusatzmedikation erhielt.

Die Ergebnisse zeigen, dass bei der Beurteilung der Metabolisierungskapazität für Mirtazapin sowohl das Alter eines Patienten, als auch seine CYP2D6-Gendosis entscheidend sind. Dies spiegelte sich auch im Responseverhalten und dem Auftreten von Nebenwirkungen in der untersuchten Population wider. Ältere Studienteilnehmer (> 60 Jahre) litten mehr als 4-mal häufiger unter Nebenwirkungen, wenn Sie einen PM-Genotyp besaßen gegenüber Patienten mit normaler CYP2D6-Metabolisierungsaktivität ($p = 0,053$), was sich eventuell auf eine Kombination mit einer generell erniedrigten Enzymaktivität älterer Patienten zurückführen lässt. Denn im Gegensatz dazu zeigten jüngere Patienten (≤ 60 Jahre) keine CYP2D6-Gendosis-abhängigen Unterschiede hinsichtlich des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen. Bei ihnen wurde jedoch ein größerer Therapieerfolg (CGI-3/1) und eine signifikant kürzere stationäre Aufenthaltsdauer beobachtet, wenn bei den Studienteilnehmern ein PM- oder IM-Status vorlag ($p = 0,005$ bzw. $p = 0,042$). Während die CYP2D6-abhängigen Unterschiede der Zustandsverbesserung nur gering waren, variierten die medianen stationären Behandlungszeiten v.a. zwischen EM und UM deutlich (55 Tage versus 88 Tage).

Diese Ergebnisse bestätigen Erkenntnisse anderer Studien, die über pharmakodynamische Unterschiede der CYP2D6-Metabolisierungstypen unter Monotherapie berichten (siehe Einleitungsteil). In unserer Studienpopulation kommt jedoch das breite Altersspektrum in der klinischen Praxis hinzu, welches in monotherapeutischen Studien zumeist nicht zu finden ist. Damit konnte gezeigt werden, dass der Nutzen einer Genotypisierung zur Beurteilung des Erfolgs einer Mirtazapin-Therapie auch vom Alter eines Patienten abhängig ist.

Einfluss auf Citalopram- und Escitalopram-Serumkonzentrationen

Neben CYP2C19 ist in geringem Ausmaß auch CYP2D6 am Abbau von Escitalopram und R/S-Citalopram beteiligt.⁴¹⁸ Für CYP2D6 war in der untersuchten Population kein Zusammenhang zwischen Gendosis und Höhe der Es- bzw. R/S-Citalopram-Spiegel feststellbar. Tsai et al. fanden ebenfalls keinen CYP2D6-Gendosis-abhängigen Effekt auf Escitalopram-Serumwerte von 100 Patienten mit Major Depression, allerdings respondierten CYP2D6-IM dieser Studie besser als andere Patienten.⁴¹⁹ Dieser Zusammenhang konnte in unserem Patientenkollektiv nicht bestätigt werden. Allerdings bestand dieses aus weniger Patienten mit unterschiedlichen Diagnosen.

Schlussfolgerung

Ein Einfluss verschiedener CYP2D6-Metabolisierungstypen (PM, IM, EM, UM) auf den Therapieerfolg war in der untersuchten Studienpopulation nur bei Patienten mit Antidepressiva, insbesondere Mirtazapin zu finden. Betroffen waren vor allem ältere Patienten, bei denen sich neben pharmakokinetischen Effekten auch pharmakodynamische Unterschiede zeigten.

Erst die Verwendung von Gendosen zeigte signifikante Responseunterschiede abhängig vom CYP2D6-Genotyp bei allen Patienten mit CYP2D6-abhängigen Psychopharmaka dieser Population. Damit würden nicht nur Patienten mit Gendosis 0 (PM), sondern auch ein Teil der Patienten mit IM-Status (Gendosis 0,5) von einer prätherapeutischen Genotypisierung profitieren. Dies ist dahingehend plausibel, dass die meisten Untersuchungen zur Dosisfindung eines Medikaments auf Populationen basieren, die überwiegend aus Patienten mit Gendosis 1, 1,5 und 2 bestehen.

Limitierend für den Erfolg einer Behandlung mit CYP2D6-abhängigen Psychopharmaka ist auch die Anfälligkeit des Enzyms für Interaktionen mit anderen Wirkstoffen auf Grund seiner generell niedrigen Metabolisierungskapazität bereits im Bereich niedriger Dosen.⁴⁹¹⁻⁴⁹³ Deshalb erscheint eine CYP2D6-Genotypisierung vor Therapiebeginn bei Patienten mit Lebererkrankungen und älteren Patienten möglicherweise angezeigt.

Um das Risiko fehlerhafter Genotypisierungen zu minimieren, könnten Next Generation Sequencing-Methoden Anwendung finden. Diese ermöglichen die zeitgleiche Genotypisierung vieler Patienten und die kostengünstige Identifizierung von Hybridgenen verglichen mit sondenbasierten PCR-Methoden und könnten deshalb für eine zuverlässigere Genotypbestimmung genutzt werden.

Untersuchungen zur Beurteilung der Kosteneffizienz eines pharmakogenetischen Screenings vor Therapiebeginn stehen derzeit jedoch aus. Eine eindeutige Aussage dazu lässt sich nur mittels randomisierter kontrollierter Studien treffen, die den Erfolg einer Psychopharmakotherapie mit und ohne vorherige Genotypisierung vergleichen.²¹

4.1.1.2 CYP2C19

Die Variabilität der metabolischen Eigenschaften von CYP2C19 wird, wie bei anderen Enzymen der CYP-Familie, hauptsächlich durch nicht-synonyme SNPs sowie inhibitorische / induktive Effekte von Arzneistoffen bestimmt.

Dabei führen die häufigsten funktionellen Polymorphismen zum Vorliegen eines Poor Metabolizer-Status, wenn beide Allele betroffen sind. CYP2C19*2 und *3 sind für den größten Teil (87%) der 2-5% Poor Metabolizer in der kaukasischen Bevölkerung verantwortlich, CYP2C19*4 nimmt mit 3% der PM einen untergeordneten Stellenwert ein.¹⁴⁶ CYP2C19*17 (-806C>T) verursacht durch die Rekrutierung von Transkriptionsfaktoren zur Mutationsstelle eine verstärkte Gentranskription und dadurch eine Steigerung der Enzymaktivität.¹⁵³ Homozygot vorliegend führt dieser Polymorphismus damit zu einem Ultrarapid Metabolizer-Phänotyp bei etwa 4% der kaukasischen Bevölkerung und abhängig von der zu metabolisierenden Substanz zu niedrigeren Serumspiegeln (Gendosis > 2).¹⁵³⁻¹⁵⁹

Neben dem Einfluss genetischen Variationen kann die Metabolisierungskapazität von CYP2C19 auch durch Enzyminhibitoren (z.B. Protonenpumpeninhibitoren, orale Kontrazeptiva, Fluoxetin, Fluvoxamin) oder -induktoren (z.B. Carbamazepin) sowie das Alter und verschiedene Erkrankungen verändert werden.^{108,160-163}

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der genannten Polymorphismen im CYP2C19-Gen unter Berücksichtigung der beschriebenen Einflussfaktoren auf R/S-Citalopram- und Escitalopram-Serumkonzentrationen sowie den klinischen Erfolg und Nebenwirkungen bei Patienten mit CYP2C19-abhängigen Wirkstoffen unter Bedingungen der klinischen Praxis untersucht.

Um für die statistische Auswertung ausreichend große Gruppen zu erhalten, wurden die verschiedenen CYP2C19-Genotypen wie unter 1.3.1.1 beschrieben in vier verschiedene Metabolisierungs-Klassen eingeteilt. 73% der Patienten besaßen einen EM-Status, 2% waren PMs, 22% IMs und 4% zeigten einen UM-Genotyp, was nach derzeitigem Kenntnisstand den Gendosen 2, 0, 1 und >2 entspricht.

Einfluss auf Escitalopram- und R/S-Citalopram-Serumkonzentrationen sowie Erfolg der Citalopram-Behandlung

In vielen Studien konnte bisher gezeigt werden, dass CYP2C19-Poor Metabolizer (mit zwei inaktiven Allelen) deutlich höhere Citalopram-Serumkonzentrationen aufweisen als andere Genotypen.¹⁴⁹⁻¹⁵²

Ultrarapid Metabolizer mit zwei CYP2C19*17-Allelen zeigen hingegen abhängig von der zu metabolisierenden Substanz niedrigere Serumspiegel im Vergleich zu Patienten mit unveränderter Enzymaktivität.¹⁵³⁻¹⁵⁹

Dementsprechend hatten Intermediate Metabolizer unserer Studienpopulation sowohl für Escitalopram, als auch für racemisches Citalopram höhere Serumkonzentrationen (n = 38 bzw. 37) als EMs und UMs (Abbildung 51). Patienten mit IM-Status hatten 20% bzw. 123% höhere R/S-Citalopram-Serumkonzentrationen im Vergleich zu Patienten mit EM- bzw. UM-Status. Intermediate Metabolizer mit Escitalopram-Therapie hatten 39% bzw. 2% höhere Serumwerte als Patienten mit normaler Metabolisierungsaktivität bzw. Ultrarapid Metabolizer. Auch bei Escitalopram wäre ein deutlicher Unterschied zwischen EMs und UMs zu erwarten gewesen (ca. 2-fach niedriger).⁴⁹⁴ Allerdings enthielt die im Rahmen der vorliegenden Arbeit betrachtete Subpopulation lediglich 1 Patienten mit Gendosis > 2. Um auch für jene Gendosen mit geringer Häufigkeit (GD 0 und GD > 2) eine zuverlässige Aussage zum Einfluss auf die Serumkonzentrationen treffen zu können, sind höhere Patientenzahlen nötig.

Bei Berücksichtigung von Komedikation, die die Metabolisierungsaktivität des CYP2C19-Enzyms inhibieren (Omeprazol, Pantoprazol) oder induzieren (Carbamazepin)¹⁰⁸ kann, fanden sich keine signifikanten Veränderungen der CYP2C19-Gendosis-Abhängigkeit der normalisierten Citalopram-Spiegel.

Neben CYP2C19 sind in geringerem Ausmaß auch CYP3A4 und CYP2D6 (marginal) an der N-Demethylierung von Citalopram beteiligt.⁴¹⁸ Die derzeitig bekannten genetischen Varianten im CYP3A4-Gen, für welche ein Effekt auf die Metabolisierungskapazität des Enzyms beschrieben ist, sind zu 0,06 % in der kaukasischen Bevölkerung verbreitet.^{495,496} Da die Variationsbreite von CYP3A4 äußerst gering ist, erscheint der Einfluss genetisch verursachter Enzymmodifikationen auf Änderungen der Citalopram-Serumkonzentration vernachlässigbar klein. Relevante Änderungen der Serumwerte sind demnach vielmehr durch CYP3A4-Induktion bzw. -Inhibition (z.B. durch Grapefruitsaft) zu erwarten. Auch Polymorphismen im CYP2D6-Gen waren in der untersuchten Stichprobe nicht mit Konzentrationsänderungen assoziiert (4.1.1.1).

Trotz der kleinen Stichprobenzahl war auch in der klinischen Praxis ein ausgeprägter, wenn auch statistisch nicht signifikanter Effekt der CYP2C19-Gendosen auf die Serumspiegel von R/S-Citalopram

und Escitalopram zu beobachten. Infolge der erhöhten Serumkonzentrationen des Wirkstoffs bei Patienten mit IM-Status wären für diese mehr Nebenwirkungen, aber auch höhere Responderaten zu erwarten. Allerdings wird R-Citalopram im Vergleich zu S-Citalopram (Escitalopram) wesentlich langsamer metabolisiert.^{418,421} Der enantioselektive Abbau konnte auch in der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Population festgestellt werden. So waren die normalisierten Serumwerte von R/S-Citalopram bei IMs und EMs um 53% ($p = 0,122$) bzw. 77% ($p = 0,002$) höher als die normalisierten Escitalopram-Serumspiegel (Abbildung 51). Da R-Citalopram die Wirkung von Escitalopram am Serotonintransporter hemmt,⁴²² könnte sich ein verlangsamter Abbau auch pharmakodynamisch auswirken. Es wäre demnach anzunehmen, dass Patienten mit beeinträchtigter Metabolisierungsaktivität seltener auf die Therapie ansprechen, wenn sie mit dem Racemat behandelt werden. Escitalopram-Patienten mit vergleichbarem Metabolisierungsstatus müssten hingegen einen größeren therapeutischen Effekt haben. Diesen Zusammenhang ergab auch die Auswertung der STAR*D-Studie mit 1074 MDD-Patienten. Mit Hilfe standardisierter Outcome-Variablen und der Bildung von Activity Scores (entsprechend der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Metabolisierungsstatus) fanden Mrazek et al. für CYP2C19-PM eine schlechtere Citalopram-Verträglichkeit, jedoch auch die stärkste Symptomremission im Vergleich zu Patienten mit höherer Metabolisierungskapazität. Die Zahl der vorliegenden *17-Allele war mit einer Tendenz zu niedrigeren Remissionsraten verbunden.⁴⁹⁷⁻⁴⁹⁹ Demnach profitierten v.a. CYP2C19-PM von einer Identifizierung durch ein pharmakogenetisches Screening.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Mrazek et al. fand sich in unserer Studienpopulation keine signifikanten Auswirkungen des PM-Status auf Response und Nebenwirkungen der Citalopram-Therapie, allerdings enthielt jede untersuchte Subpopulation (R/S-Citalopram und Escitalopram) nur je einen Patienten mit PM-Status.

In unserer Studienpopulation wirkten sich Veränderungen des CYP2C19-Gens vorrangig in Form höherer kardiovaskulärer Nebenwirkungen aus. Über den Zusammenhang zwischen verminderter Metabolisierung und kardialen Nebenwirkungen wurde erst kürzlich berichtet. Patienten mit verminderter Leberfunktion neigen bereits unter Normdosen von Escitalopram und R/S-Citalopram häufiger zu Tachykardien und Tachyarrhythmien durch Verlängerung des QT-Intervalls.⁵⁰⁰ Möglicherweise waren diese Nebenwirkungen ursächlich für die geringere therapeutische Wirksamkeit bei Escitalopram-Patienten unserer Population mit IM-Status. Bei Patienten mit racemischem Citalopram war nur eine schwache Tendenz zu mehr kardiovaskulären Beschwerden zu sehen, wenn lediglich ein funktionierendes CYP2C19-Allel vorhanden war. Eventuell werden diese Nebenwirkungen durch einen inhibitorischen Effekt des R-Enantiomers abgeschwächt. Dass sich die Gendosisunterschiede anscheinend nur indirekt auf das Responseverhalten der untersuchten Patienten niederschlagen, ist möglicherweise mit der Entstehung therapeutisch wirksamer Metabolite zu begründen. Es besteht außerdem die Möglichkeit, dass Patienten mit Gendosis 0 auf Grund bekannter Unverträglichkeiten andere Antidepressiva erhielten. Denn ähnlich wie für CYP2D6-Polymorphismen und die Verabreichung CYP2D6-abhängiger Medikation war auch bei Citalopram-Patienten der Anteil an PM mit 22% (2/9) deutlich geringer verglichen mit 31 – 36% der anderen Metabolisierungstypen (IM, EM und UM).

Einfluss auf Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit CYP2C19-abhängigen Antidepressiva

Bei Betrachtung aller Patienten, die andere CYP2C19-abhängigen Wirkstoffen (Amitriptylin, racemisches bzw. S-Citalopram, Clomipramin, Doxepin, Imipramin oder Trimipramin,) erhielten ($n = 170$), waren ebenfalls keine Auswirkungen der CYP2C19-Metabolisierungskapazität auf das Therapieansprechen ($p > 0,2$) und Nebenwirkungen ($p > 0,6$) zu beobachten. Allerdings enthielt diese Population zum großen Teil Patienten mit Citalopram-Therapie ($n = 134$) und nur 36 Patienten mit anderen Wirkstoffen, deren separate Analyse ebenfalls keinen Effekt von CYP2C19 auf Response und Nebenwirkungen erbrachte. Für Amitriptylin wurde bereits ein signifikanter Einfluss verschiedener CYP2C19-Gendosen auf normalisierte Serumkonzentrationen und das Auftreten von Nebenwirkungen beschrieben.^{114,501} Auf Grund des geringen Stichprobenumfangs der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Subpopulation ist eine Aussage über die Bedeutung genetischer Varianten dieses CYP450-Enzyms für die Amitriptylin-Therapie jedoch nicht möglich.

Schlussfolgerung

Insgesamt konnten in dem hier untersuchten Studienkollektiv Ergebnisse aus Einzeldosisstudien mit nur einem Wirkstoff dahingehend bestätigt werden, dass Patienten mit einem CYP2C19-Defektallel auch unter Praxisbedingungen erhöhte Escitalopram-/ und R/S-Citalopram-Serumspiegel aufweisen. Berücksichtigt man dabei den ebenfalls gefundenen Effekt des Alters und die Gefahr kardiovaskulärer

Nebenwirkungen, lässt sich ableiten, dass mindestens 24% der Patienten (Anteil der IM) von einer prätherapeutischen Genotypisierung profitieren würden.

Zur Beurteilung der therapeutischen Relevanz für Patienten mit zwei Defektallelen (1,5% der Patienten) bzw. Gendosen > 2 (3% der Patienten) sind weitaus höhere Patientenzahlen nötig, wie sie im Rahmen des vorliegenden Studiendesigns nur schwer erreichbar sind. Hierfür wäre eine multizentrische Rekrutierung vonnöten, um innerhalb einer angemessenen Zeitspanne einen ausreichend großen Stichprobenumfang zu erhalten.

4.1.1.3 CYP1A2

Änderungen der CYP1A2-Aktivität können bekanntermaßen durch Induktion (medikamentös, Rauchen, bestimmte Nahrungsmittel) und Inhibition (medikamentös, bestimmte Nahrungsmittel) verursacht werden (1.3.1.1.3). Eine wichtige Rolle spielt außerdem der hier betrachtete SNP -163C>A im Intron 1 des CYP1A2-Gens (*1F). Dieser ist mit einer erhöhten Induzierbarkeit vermutlich infolge verstärkter Transkription und damit einer gesteigerten Enzymaktivität verbunden.⁵⁰² Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des CYP1A2*1F-Polymorphismus auf Olanzapin- und Mirtazapin-Serumkonzentrationen sowie den klinischen Erfolg und Nebenwirkungen bei Patienten mit CYP1A2-abhängigen Wirkstoffen untersucht.

Einfluss auf Olanzapin-Serumkonzentrationen und Erfolg der Olanzapin-Behandlung

Eine Voruntersuchung mit 73 Olanzapin-Patienten dieser Studienpopulation ergab eine Erniedrigung der Serumkonzentration um 22% bei Patienten mit A/A-Genotyp verglichen mit C-Allelträgern unabhängig vom Vorliegen einer Enzyminduktion (Carbamazepin, Rauchen).⁴²⁴ Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte das Patientenkollektiv auf n = 87 erweitert werden. Hier hatten Patienten ohne Enzyminduktion und AA-Genotyp ebenfalls niedrigere Serumkonzentrationen als jene mit mindestens einem C-Allel, die Reduktion war jedoch geringer ausgeprägt und statistisch nicht signifikant (-16%, p = 0,240). Signifikant unterschiedliche Olanzapin-Serumspiegel abhängig vom Genotyp hatten nur Patienten mit zusätzlicher Enzyminduktion (C-Allel versus A/A-Genotyp: -36%, p = 0,033). Die Serumspiegel von Patienten mit C-Allel und Enzyminduktion waren mit jenen vergleichbar, die einen A/A-Genotyp besaßen und nicht zusätzlich rauchten oder Carbamazepin einnahmen. Die stärkste Konzentrationserniedrigung war demzufolge bei Patienten mit A/A-Genotyp und zusätzlicher Enzyminduktion zu beobachten. Diese Ergebnisse bestätigen die Erkenntnisse in anderen Studienpopulationen,^{181,502} ein isolierter CYP1A2*1F-Einfluss wie in einer früheren Untersuchung von Patienten dieser Population war jedoch nicht nachweisbar.⁴²⁴ Möglicherweise wurde der dort gefundene signifikante genotypabhängige Unterschied der Serumkonzentrationen durch eine nahrungsmittelverursachte Enzyminduktion (Grillfleisch, Brassicaceae (Brokkoli, Rosenkohl)) der Patienten mit A/A-Genotyp verursacht. Dies würde die niedrigeren mittleren Olanzapin-Konzentrationen dieser Patienten (101ng/ml pro mg/kg) im Vergleich zur gleichen Genotyp-Induktions-Konstellation der Gesamtpopulation (Median: 111ng/ml pro mg/kg) erklären. Es besteht auch die Möglichkeit, dass im größeren Patientenkollektiv (n = 87) mehr Patienten mit C-Allel entsprechende Nahrungsmittel zu sich nahmen. Allerdings sprechen ähnlich hohe Serumkonzentrationen dieser Patientengruppe in Teilpopulation n₁ (130 ng/ml pro mg/kg) und Gesamtpopulation (132 ng/ml pro mg/kg) dagegen. Allerdings handelte es sich bei beiden Kollektiven um Patienten, die Standardkrankenhauskost erhielten. Eine höhere Patientenzahl ist erwartungsgemäß auch mit einer besseren Kontrolle von Einflussfaktoren, z.B. Nahrung verbunden. Da Lebensmittel in dieser Studie jedoch nicht dokumentiert wurden, kann der Einfluss an dieser Stelle nicht geklärt werden.

Kontrazeptiva sind für ihren inhibitorischen Effekt auf CYP1A2 bekannt.¹⁸² Sie werden als Ursache für höhere körperrgewichtsadaptierte Olanzapin-Spiegel bei Frauen diskutiert. In unserer Studienpopulation ist dies jedoch auszuschließen, da keine der Patientinnen Kontrazeptiva eingenommen hat und sich die Serumkonzentrationen (ng/ml pro mg/kg) nicht von denen männlicher Patienten unterschieden.

Eventuell sind für die Diskrepanzen auch zusätzliche Polymorphismen im 5'-UTR des Gens (*1C, *1D) verantwortlich. Allerdings ist für diese – wie für CYP1A2*1F – bisher nur bei Rauchern über Unterschiede der Enzymaktivität berichtet worden.^{180,502,503}

Neben der N-Demethylierung von Olanzapin durch CYP1A2 erfolgt eine N-Glucuronidierung des Wirkstoffs durch das Enzym Uridindiphosphat-Glucuronosyltransferase 1A4.⁵⁰⁴ Für einen Polymorphismus innerhalb des UGT1A4-Gens (142T>G) wurde kürzlich ein Effekt auf die Olanzapin-Serumspiegel (-25 %) von 109 Schizophreniepatienten beschrieben.⁵⁰⁵ Interessanterweise fanden die Autoren keinen signifikanten Einfluss des CYP1A2*1F-Allels oder anderer CYP1A2-Polymorphismen. Untersuchungen hinsichtlich eines Kopplungsungleichgewichts zwischen den Varianten wurden leider nicht durchgeführt. Beide Gene (CYP1A2 und UGT1A4) sind anscheinend Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor-vermittelt durch polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe induzierbar.^{506,507} In der von Gothbi et al.⁵⁰⁵ beschriebenen Population führte Rauchen ebenfalls zu einer Erniedrigung der Olanzapin-Serumwerte (-21 %). Allerdings stellten die Autoren keinen Einfluss des Rauchverhaltens

auf die verschiedenen CYP1A2- und UGT1A4-Genotypen fest. Da männliche Patienten dieser Population signifikant niedrigere Serumkonzentrationen hatten als weibliche Patienten (-35 %), ist dies möglicherweise mit einem gegenläufigen Effekt (durch Kontrazeptiva-Einnahme) zu erklären.

In der hier untersuchten Stichprobe wurde übereinstimmend mit einigen anderen Studien ein signifikanter Zusammenhang zwischen CYP1A2*1F-Polymorphismus mit zusätzlicher Enzyminduktion und Olanzapin-Serumkonzentrationen festgestellt. Dabei ist der Effekt etwas stärker ausgeprägt (-36%) als in einer vorläufigen Analyse (-22 %). Gleichzeitig muss jedoch erwähnt werden, dass ein kürzlich beschriebener Polymorphismus im UGT1A4-Gen, welcher in unserer Untersuchung nicht berücksichtigt wurde, bei der Beurteilung interindividueller Unterschiede des Olanzapin-Metabolismus ebenfalls von Bedeutung sein könnte.

In einer Studie mit 380 Patienten, die 10 - 40 mg/d Olanzapin erhielten, wurde kein Zusammenhang zwischen Therapieerfolg und Höhe der Serum-Spiegel gefunden.⁵⁰⁸ In kleineren Populationen mit schizophrenen Patienten (n = 54 und 79) waren höhere Serumkonzentrationen hingegen mit einem stärkeren Symptomrückgang verbunden.^{509,510}

Auch in unserem Patientenkollektiv war eine Korrelation zwischen Serumkonzentrationen und Therapieansprechen festzustellen. Allerdings zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang nur für PDS-P-Werte, welche zur Beurteilung der psychotischen Symptomatik der Patienten verwendet wurden. Übereinstimmend hatten Patienten mit einer Verbesserung der PDS-P-Werte von mindestens 50 % (Responder) tendenziell höhere mediane Serumwerte als Non-Responder. CGI-1-Werte zeigten keine Korrelation mit den Olanzapin-Serumwerten. Diese Skala dient dem behandelnden Arzt allgemein zur Einschätzung des Krankheitszustands eines Patienten und unterscheidet bei der Beurteilung des Therapieerfolgs nicht zwischen positiven und negativen Symptomen. Möglicherweise ist die Verwendung unterschiedlicher Beurteilungsskalen auch die Ursache der Diskrepanzen zwischen den genannten Studien.

Weder Patienten mit F2-Diagnose, noch jene mit F3-Diagnose und höheren Olanzapin-Spiegeln litten unter mehr Nebenwirkungen (DOTES gesamt und Einzelcluster). Allerdings waren die betrachteten Patientengruppen mit n = 31 und n = 38 relativ klein, was neben dem Einfluss verabreichter Komedikation die Detektion einer Korrelation zwischen Serumwerten und Nebenwirkungen erschweren könnte.

Anders als beschrieben⁵¹¹ wurde außerdem weder für männliche noch für weibliche Patienten eine Assoziation zwischen einer deutlichen Gewichtszunahme ($\geq 7\%$ im Vergleich zum Aufnahmegewicht) innerhalb der 4-wöchigen Therapie und der Olanzapin-Serumkonzentration festgestellt. Im Vergleich zu unserem Studiendesign erhielten die Patienten der genannten Untersuchung allerdings eine Olanzapin-Monotherapie. Die Antipsychotika-induzierte Gewichtszunahme unter diesen Studienbedingungen ist meist ausgeprägter als in naturalistischen Designs, in denen Einflussfaktoren wie Komedikation und unterschiedliche Kalorienzufuhr zu Wechselwirkungen mit dem verabreichten Arzneimittel führen bzw. ebenfalls Gewichtsveränderungen verursachen können.⁵¹² Weiterhin zeigte eine andere Studie mit einer weitaus größeren Patientenpopulation (n=380) ebenfalls keine Korrelation zwischen Olanzapin-Serumkonzentration und Gewichtszunahme nach 8-wöchiger Therapie.⁵⁰⁸

Einfluss auf Mirtazapin-Serumkonzentrationen und Erfolg der Mirtazapin-Behandlung

Der Effekt von CYP1A2*1F auf die Therapie mit Mirtazapin wurde wie für Olanzapin bereits in einer kleineren Stichprobe (n = 50, Teilpopulation n₁) untersucht.⁴⁰⁸ Ein signifikanter Einfluss des SNPs auf die Serumspiegel wurde dabei möglicherweise auf Grund des geringen Stichprobenumfangs nicht gefunden.

Obwohl Mirtazapin nur zu 5 – 15 % über CYP1A2 metabolisiert wird,¹⁶⁴ macht sich der Einfluss einer Carbamazepin-Komedikation mit einer Reduktion der medianen Mirtazapin-Serumkonzentration der Gesamtpopulation (n = 68) um etwa 55 % signifikant bemerkbar, während die Spiegelabsenkung durch Rauchen weniger stark ausgeprägt und nicht statistisch signifikant ist (-7 %). Das A-Allel des -163C>A-Polymorphismus im CYP1A2-Gen zeigt in dieser Population nur einen geringen Einfluss auf die Höhe der medianen Mirtazapin-Serumspiegel und führte (nicht-signifikant) zu Erniedrigungen von etwa 9 % (ohne zusätzliche Enzyminduktion) bzw. 21 % (mit Enzyminduktion), wobei auch hier die stärkere Induzierbarkeit des *1F-Allels erneut sichtbar wird. Kombiniert mit einem induktiven Effekt auf CYP1A2 führt es verglichen mit allen anderen Genotypen-Induktions-Varianten in dieser Population auch unter Mirtazapin-Gabe zu signifikant verringerten Serumkonzentrationen (-27%, p=0,030).

Eine enantioselektive naturalistische Studie mit 95 ambulanten Mirtazapin-Patienten ergab signifikant niedrigere S-Mirtazapin-Konzentrationen bei Rauchern, die Konzentrationen des R-Enantiomers waren hingegen nicht signifikant reduziert.⁴²⁹ Dies bestätigt die Ergebnisse einer *in vitro* Untersuchung, bei der eine enantioselektive Metabolisierung von Mirtazapin durch CYP1A2 gefunden wurde.⁴¹⁷ Da in unserer Studie die Serumkonzentrationen des Racemats bestimmt wurden, könnte dies eine Ursache für den geringen Effekt des Rauchens auf die Wirkstoffspiegel sein.

Veröffentlichte Untersuchungen zum Einfluss des *1F-Allels auf Mirtazapin-Serumkonzentrationen und klinische Effekte sind bisher nicht bekannt. Allerdings bestätigt der in diesem Patientenkollektiv nachgewiesene Zusammenhang zwischen durch Carbamazepin/Rauchen induzierte *1F/*1F-Genotyp und niedrigeren Serumkonzentrationen bisherige Studien mit anderen Wirkstoffen, die über CYP1A2 metabolisiert werden.^{181,502}

Für die Pharmakokinetik von Mirtazapin ist offenbar auch das Patientenalter von Bedeutung. Ältere Patienten (> 65 Jahre) besitzen laut mehreren Studien signifikant höhere Serumkonzentrationen als jüngere Patienten.⁴²⁷⁻⁴²⁹ In unserem Patientenkollektiv war dieser Effekt ebenfalls zu sehen. Patienten, die älter als 65 Jahre alt waren (n = 8), hatte 41% höhere Mirtazapin-Spiegel als jüngere Patienten (p = 0,110). Signifikant war der Unterschied allerdings nur zwischen Patienten, die > oder ≤ 60 Jahre alt waren (+26%, p=0,005). Bei Patienten mit *1F/*1F-Genotyp und Enzyminduktion durch Rauchen oder Carbamazepin-Gabe war der Effekt des Alters auf die Mirtazapin-Spiegel nur noch marginal. Die Serumkonzentrationen älterer Patienten waren dann vergleichbar mit denen jüngerer Patienten mit hoher CYP1A2-Aktivität (*1F/*1F-Genotyp und Enzyminduktion).

Eine Bestimmung des CYP1A2*1F-Genotyps scheint somit für Patienten mit Carbamazepin-Komedikation, Raucher und ältere Patienten relevant, wenn sie mit Mirtazapin behandelt werden sollen. Bedeutsam könnte weiterhin die Untersuchung des CYP1A2*1F-Einflusses auf die Enantiomere von Mirtazapin sein, da der Effekt auf S-Mirtazapin möglicherweise stärker ausgeprägt ist als auf das R-Enantiomer.⁴²⁹ Die beiden Spiegelbildisomere unterscheiden sich auch in ihren pharmakodynamischen Eigenschaften. R-Mirtazapin ist ein stärkerer 5-HT₃-Rezeptorantagonist, S-Mirtazapin blockiert hingegen vorrangig α₂-Autorezeptoren.¹⁰⁰ Abhängig vom entstehenden Enantiomeren-Verhältnis wären demnach Unterschiede in Wirksamkeit und Verträglichkeit der Substanz denkbar.

In der untersuchten Population war kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Mirtazapin-Serumkonzentrationen und Unterschieden im Therapieansprechen und Nebenwirkungen nachweisbar. Patienten mit einer PDS-D-Wert-Erniedrigung von > 50 % hatte vergleichbar hohe Spiegel wie Patienten, die nicht respondierten. Grasmäder et al. fanden in einer naturalistischen Untersuchung mit 45 Mirtazapin-Patienten erhöhte Blutspiegel bei Patienten, die auf die Therapie ansprachen (HAMD-Score-Reduktion 55 %) verglichen mit Non-Respondern.⁴⁹⁰ Die von den Autoren berichtete Korrelation zwischen Response und Mirtazapin-Serumkonzentration war allerdings nur schwach (Odds Ratio=1,056) und der Beobachtungszeitraum mit 38 Tagen etwas länger als in unserer Studienpopulation. Möglicherweise konnte deshalb dieser Zusammenhang in unserer Mirtazapin-Population nicht beobachtet werden. Einen Effekt der Serumspiegelhöhe auf Nebenwirkungen stellten die Autoren am Ende des Beobachtungszeitraums nicht fest. Auch in unserem Patientenkollektiv korrelierten die Mirtazapin-Spiegel nicht mit dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen. Ursache dafür könnte zum einen Interaktionen durch die Gabe von Komedikation sein, zum anderen ist die häufigste Mirtazapin-Nebenwirkung Müdigkeit zumeist in der ersten Behandlungswoche am stärksten ausgeprägt und wird somit zu späteren Zeitpunkten nicht mehr erfasst.⁴⁹⁰ Ein weiterer Aspekt ist, dass die Analyse der Serumkonzentrationen in unserer Studie nicht enantioselektiv erfolgte. Somit könnte auch das unterschiedliche pharmakodynamische Profil der Enantiomere dafür verantwortlich sein, dass keine Abhängigkeit zwischen Nebenwirkungen und Serumwerten gefunden wurde.

Wider Erwarten korrelierten höhere Serumkonzentrationen nicht mit einer stärkeren Gewichtszunahme der Patienten in unserer Studienpopulation. Allerdings tritt eine Mirtazapin-bedingte deutliche Erhöhung des Körpergewichts bei Tagesdosen unter 45 mg nur selten auf.⁵¹³ 75 % der Patienten unserer Mirtazapin-Population erhielten Tagesdosen ≤ 45 mg. Bei der Beurteilung des Effekts ist außerdem die Behandlungsdauer von Bedeutung. Die Gewichtszunahme unter Langzeittherapie (> 4 Monate) ist für Mirtazapin stärker ausgeprägt als nach nur 4 - 12 Wochen.⁵¹⁴ Deshalb ist unter diesen Studienbedingungen ein Zeitraum von vier Wochen möglicherweise zu kurz, um diese Mirtazapin-Nebenwirkung festzustellen.

Einfluss auf Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit CYP1A2-abhängigen Wirkstoffen

Es ist zu vermuten, dass Patienten mit CYP1A2 UM-Status später auf eine Therapie ansprechen, weniger Nebenwirkungen und eine längere stationäre Aufenthaltsdauer haben als Patienten mit normaler Metabolisierungskapazität. Über einen negativen Einfluss dieses Polymorphismus auf das Ansprechen durch erniedrigte Serumspiegel unter Clozapin-Therapie wurde bereits berichtet.^{183,184}

Weiterhin ist ein CYP1A2*1F/*1F-Genotyp offenbar mit geringerer Organtoxizität unter Leflunomid-Therapie bei rheumatoider Arthritis assoziiert.^{185,186}

In einer Voruntersuchung mit 73 Olanzapin-Patienten dieser Studienpopulation wurde kein Effekt des CYP1A2*1F-Allels auf Response und Nebenwirkungen beobachtet.⁴⁰⁸ Die Analyse des gesamten Patientenkollektivs (n=87) erbrachte ebenfalls keine Unterschiede im Behandlungserfolg hinsichtlich des CYP1A2-Metabolisierungsstatus, obwohl ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Serumspiegel und der Verbesserung psychotischer Symptome gefunden wurde. Zusätzlich verabreichte Arzneimittel, die zwar keinen Einfluss auf die Olanzapin-Serumkonzentrationen zeigten, könnten für pharmakodynamische Effekte verantwortlich sein, die den Nachweis CYP1A2-induzierter Responseunterschiede erschweren. Auch die gemeinsame Untersuchung von Patienten mit unterschiedlicher Diagnose könnte ein Grund dafür sein.

Dafür spricht, dass in einer Subpopulation mit mehr Patienten und F2-Diagnose, die mit CYP1A2-Substraten wie Olanzapin, Clozapin und Haloperidol behandelt wurden eine Tendenz zu höheren CGI-2-Werten nach 4 Wochen Therapie (n = 125, p = 0,064, $\tau = 0,1$) und weniger neurologischen Nebenwirkungen (Cluster b; n = 121, p = 0,064, $\tau = -0,1$) bei höherer CYP1A2-Aktivität gefunden wurde. Bei beiden Parametern handelt es sich nur um schwache Korrelationen, allerdings erscheint es plausibel, dass eine geringere CYP1A2-Aktivität (CC, CA ohne Induktor) durch höhere Wirkstoffspiegel zu mehr Nebenwirkungen, aber auch stärkerem Ansprechen führt.

Studien zum Einfluss von CYP1A2 auf den Erfolg einer Therapie mit Mirtazapin-Therapie bzw. anderen CYP1A2-abhängigen Antidepressiva (Duloxetin⁵¹⁵) sind derzeit nicht veröffentlicht.

In unserer Mirtazapin-Population (n = 68) wurde keine Korrelation zwischen Response und Serumwerten sowie übereinstimmend kein Effekt des CYP1A2-*1F-Allels und von Induktionsfaktoren auf den Behandlungserfolg festgestellt. Auch in einem größeren Patientenkollektiv (166 Patienten mit Mirtazapin- bzw. Duloxetin-Therapie) wurde kein Zusammenhang zwischen CYP1A2-Aktivität und Ansprechen oder Nebenwirkungen beobachtet. An der Metabolisierung von Mirtazapin sind neben CYP1A2 auch CYP2D6 und CYP3A4 beteiligt.⁴¹⁷ Diese können bei verminderter CYP1A2-Aktivität zum einen alternative Abbauewege darstellen. Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass durch Polymorphismen und inhibitorische / induktive Effekte (entsprechende Komedikation) veränderte CYP2D6- und CYP3A4-Aktivitäten ebenfalls Einfluss auf den Therapieverlauf haben. Da Mirtazapin außerdem zu etwa 25 – 35 % durch CYP3A4 zum aktiven Metaboliten N-Desmethyilmirtazapin abgebaut wird,^{425,426} fällt die durch das CYP1A2*1F-Allel eventuell beeinträchtigte Wirkstoffverfügbarkeit an den therapeutischen Targets wahrscheinlich nur wenig ins Gewicht. Außerdem wird Mirtazapin durch CYP2D6 und vermutlich auch CYP1A2 enantioselektiv abgebaut.⁴²⁹

Es ist anzunehmen, dass die Ausprägung der unterschiedlichen pharmakodynamischen Eigenschaften der Enantiomere abhängig von der Aktivität aller genannten Enzyme variieren kann. Bei hoher Enzymaktivität könnte es deshalb zu einer starken Verminderung der 2-Autorezeptor-Blockade durch niedrige S-Mirtazapin-Konzentrationen am Wirkort kommen. Eine reduzierte Enzym-Aktivität wäre hingegen mit einer verstärkten 5-HT₃-Rezeptor-Hemmung durch erhöhte R-Mirtazapin-Konzentrationen verbunden.

Insgesamt sind Auswirkungen des CYP1A2-*1F-Allels auf den therapeutischen Effekt von Mirtazapin wahrscheinlich nur in Einzelfällen mit ungünstiger Konstellation verschiedener Einflussfaktoren zu erwarten (z.B. CYP1A2-UM-Status/Enzyminduktion + CYP2D6-UM-Status + CYP3A4-Enzyminduktion).

Der Einfluss der CYP2D6-Gendosis auf Mirtazapin-Patienten dieser Studienpopulation wird an anderer Stelle diskutiert (4.1.1.1).

Schlussfolgerung

In dieser Studienpopulation führte das Vorliegen eines CYP1A2*1F/*1F-Genotyps verbunden mit einer CYP1A2-Induktion zu einer signifikanten Reduktion der Blutspiegel von Olanzapin (-36 %) und Mirtazapin (-27 %). Der Einfluss auf den Therapieerfolg in der klinischen Praxis erscheint hingegen auf Grund häufig verabreichter Komedikation und anderer am Abbau beteiligter Cytochrom-P450-Enzyme (Mirtazapin) nur gering. Von Vorteil wäre für Patienten, die mit diesen Wirkstoffen therapiert werden

sollen demnach nur eine umfassende Genotypisierung, die nicht nur CYP1A2*1F, sondern auch Polymorphismen im CYP2D6-Gen abdeckt.

4.1.2 Cytochrom-P450-Oxidoreduktase (POR)

Die NADPH-Cytochrom-P450-Oxidoreduktase ermöglicht den Elektronentransfer von NADPH auf Cytochrom P450-Enzyme. Für das hier untersuchte *28-Allel wurde in anderen Arbeitsgruppen *in vitro* eine in Bezug auf die enzymatische Aktivität von Cytochrom c, Cytochrom P450c17 und die Oxidation von NADPH verringerte katalytische Aktivität nachgewiesen. Effekte auf CYP1A2 und CYP2C19 waren *in vitro* nicht nachweisbar.^{196,199} Allerdings zeigten Feidt et al.²⁰⁰ eine erhöhte CYP3A4-Genexpression und Enzymaktivität in humanen Hepatozyten, deren POR-Expression durch Nukleofektion mit siRNA reduziert wurde (partiell POR-silencing) und auch Hart et al. konnten eine Korrelation zwischen der Aktivität von POR und CYP-Enzymen in humanen Lebermikrosomen nachweisen.²⁰¹ *In vivo* wurden in Untersuchungen bei Patienten unter Monotherapie mit Wirkstoffen, die über CYP3A-Enzyme und CYP1A2 metabolisiert werden ebenfalls erhöhte CYP450-Enzymaktivitäten beobachtet, wenn das POR*28-Allel homozygot vorlag.⁵¹⁶⁻⁵¹⁹ Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der verbreiteten *28-Variante auf Ansprechen und Nebenwirkungen sowie die Serumkonzentrationen verschiedener CYP450-abhängiger Psychopharmaka untersucht. Die Patienten dieser Studienpopulation erhielten im Vergleich zu den oben genannten Untersuchungen allerdings zumeist mehrere psychoaktive Wirkstoffe sowie Medikamente gegen somatische Erkrankungen (v.a. kardiovaskuläre Erkrankungen).

Unabhängig von der Art des Cytochrom P450-Enzyms, das für den Abbau der verabreichten Wirkstoffe verantwortlich ist, zeigte sich, dass signifikant mehr Träger des T/T-Genotyps (44 %) unter Arzneimittelnebenwirkungen litten als Patienten mit mindestens einem C-Allel, welches das Wildtyp-Allel darstellt (28 %) ($p = 0,034$, $n = 489$). Weiterhin war der Trend zu beobachten, dass T/T-Genotypen einen längeren stationären Aufenthalt (71 Tage) hatten als C/T- bzw. C/C-Genotypen (61 Tage) ($p = 0,097$, $n = 572$).

Ein Einfluss des Polymorphismus auf die Serumspiegel von Escitalopram, Citalopram, Haloperidol, Mirtazapin, Quetiapin, Olanzapin und Risperidon wurde unter Berücksichtigung der abhängig vom betrachteten Wirkstoff relevanten Cytochrom P450-Gendosen nicht gefunden. Allerdings waren die Patientenzahlen der entstehenden Gendosisgruppen sehr gering und die Untersuchung des Einfluss von POR*28 nur innerhalb weniger Subgruppen möglich. Zur Analyse dieses Polymorphismus auf den Abbau der genannten Wirkstoffe sind größere Fallzahlen nötig, um mittels multifaktorieller Analyse eine zuverlässige Aussage treffen zu können.

Unter Gabe überwiegend CYP2D6-abhängiger Medikation und unter Berücksichtigung zusätzlicher CYP1A2- und CYP3A4-abhängiger Wirkstoffe sowie der CYP2D6-Gendosen war kein Effekt des POR*28-Polymorphismus auf das Therapieansprechen, stationäre Aufenthaltsdauer und Nebenwirkungen feststellbar. Ebenso verhielt es sich für Patienten, die überwiegend CYP1A2-abhängige bzw. CYP3A4-abhängige Wirkstoffe erhielten. Allerdings wurden im Rahmen dieser Studie zum einen Wirkstoffe verabreicht, deren Metabolisierung über mindestens zwei verschiedene CYP450-Monooxygenasen erfolgt, zum anderen lässt das Studiendesign eine Kombination von Wirkstoffen zu, deren Metabolisierung über verschiedene Cytochrom-P450-Enzyme verläuft und welche demzufolge interagieren können. Die Untersuchung des POR*28-Einflusses auf bestimmte CYP450-Enzyme ist somit durch die geringe Patientenzahl der entstehenden Subpopulationen nur eingeschränkt möglich.

Die kürzlich entdeckten Allele POR*36 und *37 verursachen zusätzlich zum A503V-Austausch im POR-Protein einen Ersatz von Prolin durch Leucin an Position 228 (zusätzlich reduzierte Proteinaktivität) bzw. von Valin zu Isoleucin an Stelle 631 des Enzyms (zusätzlich geringfügig reduzierte Proteinaktivität)¹⁹⁰ und kommen beide nur selten (0,7% bzw. 1,4%) vor.²⁰² Da diese nicht Bestandteil der in im Rahmen dieser Studie durchgeführten Genotypisierungsreaktionen waren, ist in Einzelfällen ein Einfluss auf den Therapieerfolg bzw. die Pharmakokinetik der verwendeten Wirkstoffe nicht auszuschließen. Weiterhin scheinen sich Veränderungen der POR-Aktivität auf manche CYP450-Isoenzyme stärker auszuwirken als auf andere, wobei dies offenbar von der Höhe der individuellen CYP450-Enzym-Expression abhängt.^{201,202} So sind höher exprimierende CYP450-Monooxygenasen wie CYP3A4 und CYP2C9 stärker betroffen als z.B. CYP2C19.²⁰² Dementsprechend beobachteten Oneda et al. eine erhöhte CYP3A-Aktivität bei 182 Midazolam-Patienten mit homozygotem (T/T) Genotyp und konnten dieses Ergebnis mit 69 Clozapin-Patienten replizieren.⁵¹⁶ Bestätigt wurde dieser Effekt in einer chinesischen Population (Midazolam, $n=73$)⁵¹⁷ und bei einer Studie mit 298 Tacrolimus-Patienten.⁵¹⁸ Allerdings zeigte sich hierbei der serumspiegelreduzierende Einfluss des *28-Allels nur bei Patienten mit CYP3A5*1-Allel (Wildtypen). Andere Autoren berichten weiterhin von einer erhöhten CYP1A2-Aktivität bei Vorliegen des T-Allels, wenn das Enzym (CYP1A2) nicht durch Rauchen induziert wird.⁵¹⁹ Allerdings fanden sowohl Hart et al. als auch Gomes et al. keinen Einfluss des *28-Allels auf die Aktivität von CYP450-Enzymen.^{201,202}

Die Aussagekraft dieses SNPs allein als pharmakogenetischer Marker für die Metabolisierungskapazität des CYP450-Systems scheint demnach von untergeordneter Bedeutung. Gemäß den Resultaten der genannten Studien wären für T-Allelträger weniger unerwünschte Wirkungen zu erwarten als für Patienten mit mindestens einem C-Allel, da dieses in einigen Populationen anscheinend mit einer geringeren Enzymaktivität verknüpft ist.

Dies widerspricht den Beobachtungen, die bei der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Population gemacht wurden. Die hier gefundene höhere Nebenwirkungsrate bei Patienten mit T/T-Genotyp ist weder mit einer größeren Zahl verabreichter Psychopharmaka noch mit höheren Tagesdosen zu erklären. Es wurde auch kein Einfluss des Polymorphismus auf die Serumkonzentrationen der verabreichten Wirkstoffe gefunden. Allerdings ist hierbei zu bedenken, dass dies dem geringen Stichprobenumfang einiger Subgruppen geschuldet sein kann.

Es wäre außerdem denkbar, dass durch die vermehrte Bildung bestimmter Metabolite auch mehr Nebenwirkungen hervorgerufen werden. Dies erklärt jedoch nicht, weshalb anscheinend Patienten mit ganz unterschiedlichen Wirkstoffen betroffen sind. Zur Klärung der Ursache der erhöhten Nebenwirkungsrate bei Patienten, die homozygot für das POR*28-Allel sind, sind deshalb weitere Untersuchungen in größeren und hinsichtlich der Medikation einheitlicheren Patientenkollektiven nötig. Die mikrosomale Arzneistoffoxidation stellt ein komplexes Geschehen dar, welches durch das individuelle CYP450-Enzym, das zu metabolisierende Substrat und verschiedene genetische und "nicht-genetische" Faktoren beeinflussbar ist. Zu berücksichtigen sind dabei Geschlecht, Alkoholkonsum/Rauchverhalten, Alter sowie Gesundheitszustand. Das humane POR-Gen ist zwar stark polymorph, jedoch scheint sich dies unter Bedingungen der klinischen Praxis nicht in dem Maße auf die Variabilität der Enzymfunktion niederzuschlagen, wie es bei CYP450-Monooxygenasen der Fall ist.

4.2 Arzneistofftransport und -verteilung

4.2.1 ABCB1

Um an ihren Wirkort zu gelangen, müssen sowohl Antidepressiva als auch Antipsychotika die Blut-Hirn-Schranke (BHS) überwinden. Diese ist jedoch mit Transporter-Proteinen versehen. Am bekanntesten ist P-Glykoprotein,^{430,520} welches einige Wirkstoffe (z.B. Amitriptylin, (Es)-Citalopram, Paroxetin, Venlafaxin, Amisulprid, Aripiprazol, Quetiapin, Paliperidon, Olanzapin und Risperidon) nach Überschreiten dieser aktiv wieder ausschleust, bevor diese ihr eigentliches Angriffsziel erreichen können.²⁰⁴⁻²⁰⁹ Dies kann dazu führen, dass die periphere Wirkung des Medikaments überwiegt und unerwünschte Arzneimittelwirkungen den bereits reduzierten therapeutischen Effekt zunichtemachen. Variationen des für P-GP codierenden ABCB1- bzw. MDR1-Gens, welche die Funktionalität oder die Expression des Transporters modulieren, könnten demzufolge den Therapieerfolg zentral wirksamer Substanzen beeinflussen. Bisher wurden für verschiedene Polymorphismen innerhalb des ABCB1-Gens Einflüsse auf das Responseverhalten von Patienten mit Antidepressiva- und Antipsychotika-Therapie festgestellt.⁴³¹

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von rs2032583 (T>C) und rs2235015 (G>T) auf Ansprechen und auftretende Nebenwirkungen bei Patienten mit Psychopharmaka-Therapie untersucht.

Uhr et al. berichten für rs2032583-C- und rs2235015-T-Allel-Träger über signifikant höhere Remissionsraten nach 6-wöchiger Behandlung mit Amitriptylin, Citalopram, Paroxetin bzw. Venlafaxin (n = 443).²⁰⁵

Eine andere Arbeitsgruppe fand keine Assoziation zwischen rs2032583-Genotyp und Therapieansprechen,²¹⁷ allerdings wurden die betreffenden Patienten mit Fluoxetin und Desipramin behandelt, weshalb ein Einfluss durch Polymorphismen im P-GP-Gen auf den Behandlungserfolg fraglich ist. Fluoxetin ist zwar als P-GP-Inhibitor, nicht aber als P-GP-Substrat bekannt^{204,521} und auch Desipramin scheint zwar die P-GP-Aktivität zu reduzieren, wird aber nicht über P-GP zurück in die Blutbahn geschleust.⁵²²

Häufig diskutierte Varianten hinsichtlich des Response auf eine Antidepressiva-Behandlung sind auch ABCB1 C3435T, G2677TA und C1236T, für die allerdings in einer Subpopulation der im Rahmen der vorliegenden Arbeit behandelten Stichprobe keine Relevanz für die therapeutische Wirksamkeit von P-GP-abhängigen Psychopharmaka nachgewiesen werden konnte.⁴⁰⁸ Für Patienten unter Amitriptylin-Therapie fand sich ebenfalls kein Effekt von ABCB1 G2677TA auf Ansprechen und Nebenwirkungen der Patienten.⁵²³

Eine Studie mit 424 SSRI-Patienten bestätigt diese Ergebnisse.⁵²⁴ Hier wurden für ABCB1 C3435T, G2677TA und C1236T keine Effekte auf SSRI-abhängige Nebenwirkungen gefunden. Allerdings war rs2032583 in dieser Population stärker mit serotonergen Wirkungen wie Schlaflosigkeit, gastrointestinalen Beschwerden und sexueller Dysfunktion assoziiert.

Ein signifikanter Einfluss der Polymorphismen rs2032583 und rs2235015 auf das Responseverhalten der Patienten, die im Zuge der vorliegenden Arbeit rekrutiert wurden, war nicht feststellbar. Es fand sich lediglich ein Trend zu einem besseren Ansprechen von Patienten mit rs2032583-C-Allelen unter Antidepressiva-Therapie (Amitriptylin, (Es)-Citalopram, Paroxetin, Venlafaxin). Dies ist möglicherweise auf eine bessere zentrale Verfügbarkeit der Wirkstoffe zurückzuführen. Um jedoch wirkstoffabhängige Effektgrößen generieren zu können, ist die Vergrößerung der zu untersuchenden klinischen Population notwendig.

Patienten mit Antipsychotika-Therapie (Amisulprid, Aripiprazol, Quetiapin, Paliperidon, Olanzapin, Risperidon) tendierten zu mehr gastrointestinalen Nebenwirkungen, je weniger Wildtyp-Allele sie besaßen (rs2032583 (T>C) und rs2235015 (G>T)). Bei beiden Medikationsgruppen fand sich außerdem ein schwacher Einfluss auf das Körpergewicht der Patienten durch rs2032583, der allerdings nur unter Antidepressiva-Gabe statistisch signifikant ausfiel. Dabei zeigten Patienten mit Wildtypallelen eine etwas stärkere Gewichtszunahme als Studienteilnehmer mit mutierten Allelen. Möglicherweise ist dies unter Antipsychotika-Therapie auf höhere Raten gastrointestinaler Nebenwirkungen bei Patienten mit mutierten Allelen zurückzuführen. Stärkere gastrointestinale Nebenwirkungen wurden für rs2032583 auch unter SSRI-Therapie beschrieben.⁵²⁴ Im Gegensatz dazu zeigten Kuzman et al.⁵²⁵ für die 3435T- und die 2677T-Variante des MDR1-Gens, die beide auf Grund der höheren Bioverfügbarkeit von P-GP-Substraten im ZNS mit besserem Therapieansprechen und mehr Nebenwirkungen assoziiert sind,⁵²⁶ eine stärkere Gewichtszunahme bei Schizophrenie-Patientinnen, allerdings unter Risperidon-Therapie. Der größte Teil der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten antipsychotisch behandelten Stichprobe bestand aus Patienten mit Olanzapin-

und Quetiapin-Therapie. Eventuell fällt deshalb die antipsychotikavermittelte Gewichtszunahme durch stärkere gastrointestinale Störungen bei Patienten mit rs2032583-C-Allelen in dieser Subpopulation geringer aus als bei Wildtypen.

Polymorphismen innerhalb des ABCB1-Gens hatten in der hier untersuchten Stichprobe, als auch in früheren vorläufigen Untersuchungen keinen signifikanten Einfluss auf das Therapieansprechen von Patienten mit Antidepressiva und Antipsychotika. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen einiger anderer Studien. Ursachen für diese Unterschiede könnten zum einen die Untersuchung von Patienten mit verschiedenen Wirkstoffen sein, zum anderen ist zur Untersuchung des Effekts eines Polymorphismus eine ausreichend große Zahl an Patienten mit homozygot mutiertem Genotyp von Vorteil. In der hier durchgeführten Analyse konnte auf Grund der Seltenheit der SNPs nur homozygot mutierte und heterozygote Patienten gemeinsam ausgewertet werden.

Da es sich bei diesem Transporter-Protein nur um einen kleinen Teil des Weges eines Wirkstoffs zum Wirkort handelt, müssen außerdem weitere Einflussfaktoren berücksichtigt werden. In dieser Population wurde ein Einfluss von Cytochrom-P450-Polymorphismen auf die Serumkonzentrationen verschiedener Wirkstoffe und den Therapieerfolg beobachtet. Eine separate Auswertung von ABCB1-Polymorphismen ist daher möglicherweise nicht ausreichend, um den Einfluss auf den Therapieerfolg zu beurteilen. Dies müsste wirkstoffabhängig in weiterführenden Analysen größerer Patientenkollektive berücksichtigt werden.

4.3 Serotonerge Strukturen

4.3.1 5-HTT-Polymorphismen

Der Serotonin-Transporter (5-Hydroxytryptamintransporter, 5-HTT) ist der Angriffspunkt selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, SSRI) und spielt ebenso eine Rolle im Wirkungsmechanismus selektiver Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer (Selective Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors, SSNRIs) und trizyklischer Antidepressiva. Demzufolge ist ein Einfluss genetischer Variationen innerhalb des 5-HTT-Gens auf die Therapie mit den oben genannten Wirkstoffen möglich.

Der 5-HTT VNTR-Polymorphismus wurde bereits in einer Reihe von Studien hinsichtlich seiner Bedeutung für die Pathogenese psychiatrischer Erkrankungen und Auswirkungen auf die Genexpression untersucht.

Zusätzlich gibt es einige, zum Teil widersprüchliche Studien bezüglich des Einfluss von 5-HTT VNTR auf den Erfolg von Behandlungen mit Antidepressiva:

In zwei Studien wird über ein besseres Ansprechen asiatischer Patienten mit 12/12-Genotyp auf die Gabe von SSRI berichtet.^{325,326} Mrazek et al. hingegen fanden niedrigere Remissionsraten für kaukasische Citalopram-Patienten mit zwei 5-HTT VNTR 12-Allelen.³³⁰

Andere Forschungsgruppen fanden wiederum keine Assoziationen zwischen diesen genetischen Varianten und Response oder Nebenwirkungen bei Patienten, die mit Sertralin oder Venlafaxin behandelt wurden.^{527,528} Diese widersprüchlichen Ergebnisse könnten daraus resultieren, dass die unterschiedlichen Ethnizitäten, die untersucht wurden, möglicherweise zusätzliche Veränderungen innerhalb der 5-HTT VNTR-Sequenz hatten.³²⁴

In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen einer Subpopulation (n = 44),^{432,529} der im Rahmen der vorliegenden Arbeit behandelten Stichprobe zeigten Patienten mit 9/10- oder 10/10-Genotyp einen Therapievorteil, da sie signifikant weniger Nebenwirkungen unter Gabe von 5-HTT-blockierenden Antidepressiva hatten. Patienten mit 12/12-Genotyp litten bis zu 4-mal häufiger unter Nebenwirkungen als Patienten mit anderen Genotypen und blieben signifikant länger in stationärer Behandlung. Für eine klinische Relevanz spricht außerdem das Auftreten des gefundenen Effekts auf die Nebenwirkungsrate in zwei kleineren unabhängigen Teilpopulationen der hier untersuchten Stichprobe.

Auch wenn in der hier untersuchten Population keine signifikanten Auswirkungen von 5-HTT VNTR auf das Therapieansprechen zu beobachten waren, war ein 9/10- oder 10/10-Genotyp dennoch mit der höchsten Responderate verbunden. Möglicherweise ist dies eine Folge der geringeren Nebenwirkungsrate dieser Genotypen.

Das Vorliegen einer 44-Basenpaar-Region in der Promotorregion des 5-HTT-Gens, auch als L-Allel des 5-HTTLPR bezeichnet, ist laut Heils et al. mit erhöhter Transkription und höherer biologischer Aktivität des Transporterproteins verbunden.³²⁷

Ein SNP (rs25531 A/G) innerhalb des 5-HTTLPR scheint einen zusätzlichen Einfluss auf die Transkriptionsaktivität zu haben.^{332,333,433}

Für Antidepressiva, die am 5-HTT angreifen und die Serotonin-Konzentrationen im Gehirn und anderen Geweben erhöhen, könnte die hoch exprimierende Variante zu einem besseren und schnelleren Ansprechen sowie weniger Nebenwirkungen führen.⁵³⁰

Eine kürzlich durchgeführte Metaanalyse zu Assoziationen zwischen 5-HTTLPR und Erfolg von Antidepressiva-Behandlungen berücksichtigte 19 Studien mit kaukasischen Patienten unter SSRI-Therapie (n = 2785). Die Autoren bestätigten den Effekt von 5-HTTLPR auf Symptomremission und Ansprechen mit einem Therapievorteil für Patienten mit L-Allel im Vergleich zum S/S-Genotyp.⁵³¹

Für rs25531 existieren nur wenige Studien hinsichtlich eines Effekts des SNPs auf die Therapie mit Antidepressiva. Die L_A-Variante scheint bei Patienten mit Depression und generalisierten Angststörungen mit einem stärkeren Ansprechen auf Fluoxetin⁵³² und verschiedenen anderen Antidepressiva assoziiert zu sein.^{336,533} Keine Unterschiede in den Responderaten wurden hingegen bei 135 ambulanten Patienten mit Escitalopram-Therapie gefunden.⁵³⁴ Allerdings wurde in dieser Population ein erhöhtes Risiko für SSRI-abhängige Nebenwirkungen bei Patienten mit S-Allel beobachtet. Assoziationen zwischen 5-HTTLPR S-Allel und mehr Nebenwirkungen wurden bisher in fünf weiteren Studien mit unterschiedlich großen Stichproben beschrieben (n = 27 – 1655).^{334,535-538}

Jedoch wurde nur in zwei dieser Studien der kombinierte Einfluss von 5-HTTLPR und rs25531 analysiert.^{334,534}

Drei kleinere Studien mit 35 bis 72 Patienten fanden keinen Zusammenhang zwischen 5-HTTLPR-Genotyp und unerwünschten Wirkungen unter SSRI-Therapie.⁵³⁹⁻⁵⁴¹

In einer Voruntersuchung einer kleineren Subpopulation (n = 44) der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Stichprobe mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva hatten Patienten mit 5-HTT L/L-Genotyp signifikant weniger Nebenwirkungen als Patienten mit anderen Genotypen.⁴³² Die Analyse der gesamten Stichprobe (n = 170) erbrachte ebenfalls einen vergleichbaren und signifikanten Effekt des Polymorphismus auf die Nebenwirkungsraten. Bei der früheren Untersuchung blieb rs25531 unberücksichtigt, wurde aber bei der aktuellen Betrachtung der Gesamtpopulation mit eingeschlossen. Unter Berücksichtigung von rs25531 fanden sich signifikante Korrelationen mit Nebenwirkungen, Ansprechen und Symptomrückgang. Allerdings wurde dies nur bei Patienten mit SSRI beobachtet und ist bezüglich des Effekts auf Nebenwirkungen im Einklang mit den Ergebnissen von Hu et al. bei 1655 ambulanten Patienten mit Major Depression (STAR*D Level1).³³⁴ Die Autoren berichten von mehr Citalopram-induzierten Nebenwirkungen bei Patienten mit S- oder L_G-Allel. Wie auch Maron et al. fand die Gruppe um Hu keine Assoziationen zwischen Ansprechen und genetischen Varianten. Während beide Teams ambulante Patienten untersuchten, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit Assoziationen zwischen 5-HTTLPR/rs25531 und Therapieerfolg bei stationären Patienten analysiert. Da in diesem Kollektiv die Korrelation zwischen den Varianten und gastrointestinalen Nebenwirkungen stärker ausgeprägt war als die Korrelation mit der CGI-1-Wertänderung könnte eine regelmäßige Medikation im Krankenhaus diese unterschiedlichen Befunde erklären. Im Gegensatz zu den genannten Studien zur Citalopram-Therapie wurde der Effekt der Polymorphismen in dieser Population außerdem auf die Behandlung mit verschiedenen SSRI untersucht. So berichten Kraft et al. über ein besseres Ansprechen bei 96 Fluoxetin-Patienten mit L_A-Variante.⁵³²

Diese Ergebnisse sprechen für die Berücksichtigung von rs25531 in Assoziationsanalysen hinsichtlich 5-HTT-Genveränderungen und Therapieerfolg. Sie stimmen mit der Mehrheit der früher veröffentlichten Resultate überein und bestätigen die Rolle der L_A-Variante. Sie zeigen außerdem, dass Effekte unter klinischen Bedingungen v.a. für die SSRI-Therapie nachweisbar und somit für die Praxis relevant sind.

Patienten mit einem niedrig exprimierenden 5-HTT-Genotyp, die mit Mirtazapin behandelt wurden, litten nicht unter einer höheren Nebenwirkungsrate oder einer längeren Aufenthaltsdauer. Patienten, die homozygot für das 5-HTT S- oder LG-Allel sind, könnten demnach von einem Wechsel zu Antidepressiva profitieren, die nicht über die Hemmung des Serotonintransporters wirken.

4.3.2 5-HTR2A

Verschiedene 5-HTR2A-Polymorphismen wurden bereits hinsichtlich des Erfolgs einer Antidepressiva-Therapie untersucht. Dabei fanden sich widersprüchliche Ergebnisse und nur wenige Resultate konnten bestätigt werden.⁵⁴²

Ein vielversprechender SNP im Intron 2 des 5-HTR2A-Gens zeigte sich in einer Studie mit 1953 Citalopram-Patienten mit dem Behandlungserfolg assoziiert. Teilnehmer mit zwei A-Allelen hatten im Vergleich zu G/G-Genotypen ein um 18% reduziertes Risiko, nicht auf die Therapie anzusprechen.²⁶⁹ Weitere Studien bestätigen dieses Ergebnis.^{270,271} Weiterhin konnte ein Einfluss des SNPs auf die Serotonintransporterfunktion und damit die serotonerge Transmission festgestellt werden.²⁶⁸

In unserer SSRI-Subpopulation (n = 40) wurde kein Effekt von rs7997012 auf das Therapieansprechen festgestellt, auch wenn Patienten, die zusätzlich Mirtazapin erhielten auf Grund eines möglichen Einfluss des Wirkstoffs auf das Targetgen von der Auswertung ausgeschlossen wurden.⁵⁴³ Beim Vergleich dieses Resultats mit den Untersuchungen von McMahon et al. müssen der geringe Stichprobenumfang und die verschiedenen Diagnosen innerhalb unserer Subpopulation berücksichtigt werden.²⁶⁹ Das Gleiche gilt für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gefundenen Assoziationen zwischen SNP und unerwünschte Arzneimittelwirkungen. Studienteilnehmer mit SSRI und A/A-Genotyp hatten ein 8-fach höheres Risiko mäßige bis ausgeprägte Nebenwirkungen zu erleiden als andere Patienten. In einer genomweiten Untersuchung bei 1762 depressiven Patienten der STAR*D-Studie wurde jedoch kein Zusammenhang zwischen rs7997012 und Citalopram-induzierte Nebenwirkungen gefunden.⁵⁴⁴

Ein Fazit für den prognostischen Wert dieses SNPs bei einer Therapie mit serotonergen Antidepressiva lässt sich im Rahmen der vorliegenden Arbeit aus den genannten Gründen nicht ableiten.

Da atypische Antipsychotika u.a. antagonistisch am 5-HT_{2A}-Rezeptor wirken, könnte der Polymorphismus auch für Patienten mit dieser Medikation relevant sein. In einer Voruntersuchung eines Teils der hier analysierten Population konnte bereits ein Zusammenhang des SNPs mit dem Auftreten von Nebenwirkungen bei Patienten mit Olanzapinbehandlung gezeigt werden.⁴²⁴ Wie unter SSRI-Therapie waren auch hier Patienten mit A/A-Genotyp häufiger von unerwünschten Arzneimittelwirkungen betroffen als andere Genotypen.

Auch in der Gesamtpopulation, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, war ein A/A-Genotyp bei Olanzapin-Patienten (ohne zusätzliche Antidepressiva, n = 56) mit dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen assoziiert. Studienteilnehmer mit zwei A-Allelen wurden 9-mal häufiger durch Nebenwirkungen beeinträchtigt als andere Genotypen. Dabei handelte es sich insbesondere um neurologische Nebenwirkungen wie Rigor, Tremor, dystonische Symptome und Akathisie. Für einen Effekt des SNPs in dieser Medikationsgruppe spricht auch die stärkere Remission der Patienten mit G-Allel verglichen mit homozygoten A-Allelträgern in unserer Population. Dies lässt sich möglicherweise mit der antagonistischen Wirkung atypischer Antipsychotika am 5-HT-Rezeptor 2A erklären, über die deren Effekte auf die Negativsymptomatik schizophrener Erkrankungen vermittelt werden. Dieser Wirkmechanismus wird auch zur Behandlung schwerer depressiver Episoden und bipolarer Störungen genutzt.^{424,545,546}

Über den Einfluss des SNPs auf die 5-HTR2A-Rezeptoraktivität ist bisher nichts bekannt. Allerdings wurde über einen Effekt auf das Bindungspotential des Serotonintransporterproteins und damit auf die zentrale serotonerge Neurotransmission berichtet.⁵⁴⁷ Dies könnte zumindest im Ansatz die unterschiedlichen Nebenwirkungsraten in beiden Medikationsgruppen (SSRI / atypische Antipsychotika) trotz ungleicher therapeutischer Angriffsorte erklären.

Die Klärung der funktionellen Konsequenzen des SNPs sowie homogenere und größere Patientenkollektive sind nötig, um die Bedeutung des Polymorphismus für die Psychopharmakotherapie besser beurteilen zu können.

4.3.3 5-HTR3A

Der 5-HT₃-Rezeptor stellt ein wichtiges Target bei der Behandlung der Schizophrenie dar. Klinische Studien zeigen eine Verminderung schizophrener Negativsymptome unter Gabe von 5-HTR₃-Antagonisten.^{303,436} In einer Population mit 107 Schizophrenie-Patienten und 8-wöchiger Risperidon-Monotherapie wurde eine signifikante Assoziation zwischen der mutierten Variante des rs1176713-Polymorphismus (G-Allel) und dem Therapieansprechen gefunden.³⁰⁶

Ähnliche Ergebnisse waren bei der Auswertung der Responsedaten der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studie zu beobachten. In einer Subpopulation mit Patienten, die nur mit Atypika behandelt wurden und keine antidepressive Komedikation erhielten, fand sich ein Zusammenhang zwischen homozygotem Genotyp (G/G) und verminderter Schwere der Erkrankung nach 4-wöchiger Therapie sowie einer signifikant kürzeren Aufenthaltsdauer dieser Patienten.

Auch für andere Polymorphismen innerhalb des 5-HT_{3A}-Rezeptorgens wurde bereits über Assoziationen mit dem Therapieerfolg bei Patienten mit atypischen Antipsychotika berichtet. Eine Untersuchung von Rajkumar et al. zeigte einen Behandlungsvorteil für Patienten mit therapieresistenter Schizophrenie unter Clozapin-Gabe (n = 101), wenn sie rs1062613-T- oder rs2276302-G-Allele trugen.⁵⁴⁸ Für beide SNPs wurden auch von Souza et al. Assoziationen zum Responseunterschiede bei 140 Clozapin-Patienten beschrieben.⁵⁴⁹ Die mutierte Variante des rs1062613-SNPs führt zu einer verstärkten Expression des Rezeptors,⁵⁵⁰ was mit einer stärkeren Clozapinwirkung verbunden sein könnte.⁵⁵¹

Mangels Studien bezüglich der Auswirkungen des im Rahmen der vorliegenden Studie untersuchten Polymorphismus auf die 5-HT_{3A}-Rezeptor-Expression lässt sich über den Grund für das unterschiedliche Responseverhalten nur spekulieren. Da es sich hierbei aber um einen synonymen SNP handelt und ein starkes Kopplungsungleichgewicht zu rs2276302 in Intron 3 besteht,⁵⁵² sind die Ursachen wohl auf der Ebene der Gentranskription zu suchen.

Möglicherweise spielt hierbei die Entstehung unterschiedlicher Spleißvarianten des 5-HT_{3a}-Rezeptors eine Rolle. Diese beeinflussen das Ausmaß der ligandengesteuerten Membrandepolarisation und könnten sich damit auch auf die Neurotransmission auswirken.^{279,280}

Bevor der hier untersuchte Polymorphismus als Marker für ein prätherapeutisches Screening empfohlen werden kann, müssen die funktionellen Auswirkungen des SNPs untersucht und die gefundenen Zusammenhänge zwischen SNP und Symptomremission in einem größeren Patientenkollektiv repliziert sein. Nicht zuletzt müssen auch die Resultate anderer pharmakodynamischer und pharmakokinetischer Assoziationsstudien für die Beurteilung des Erfolgs einer Therapie mit atypischen Antipsychotika Berücksichtigung finden.

4.3.4 MAOB

Neben Polymorphismen innerhalb von Neurotransmitter-, Transporter- und Rezeptor-Gensequenzen können auch Veränderungen in Genen, die für Enzyme codieren bedeutsam für den Erfolg einer psychotropen Therapie sein. Monoaminoxidase B ist ein Enzym in den Gefäßen der Blut-Hirn-Schranke, das u.a. für die Reinheit des freigesetzten Botenstoffes verantwortlich ist.⁴³⁷ Veränderungen der Proteinstruktur des Enzyms könnten deshalb die Qualität und Menge des Überträgerstoffes und damit den Krankheitsprozess beeinflussen. Ein beeinträchtigter Abbau von Monoaminen ist anscheinend mit der Schwere psychischer Erkrankungen assoziiert.^{180,553} Laut Carrera et al. ist ein Basenaustausch A644G im Intron 13 des MAO-B-Gens (rs1799836) mit einem erhöhten Risiko verbunden, an Schizophrenie zu erkranken.⁵⁵⁴ Eine andere Studie berichtet bei Probanden mit A-Allel nach einem Suizidversuch über höhere Aggressionslevel als bei G-Allelträgern und Kontrollen.⁵⁵⁵ Der SNP scheint auch für die Ausprägung eines Morbus Parkinson eine Rolle zu spielen.^{556,557} Es gibt außerdem Hinweise, dass rs1799836 mit verändertem Response auf Antidepressiva-Therapie und der unterschiedlichen Ausbildung von Antipsychotika-induzierten Nebenwirkungen verbunden ist.^{342,558}

A644G (rs1799836) befindet sich auf dem X-Chromosom, weshalb die Untersuchungen zu Zusammenhängen zwischen SNP und erwünschten sowie unerwünschten Psychopharmakawirkungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit geschlechtsabhängig durchgeführt wurden.

Patientinnen mit SSRI (ohne zusätzliche Antipsychotika-Gabe) und G/G-Genotyp litten weniger unter Nebenwirkungen und zeigten außerdem eine stärkere Verbesserung des Krankheitszustandes nach 4 Wochen Therapie (n = 22) als Patienten mit G/A- oder A/A-Genotyp. Auch unter Mirtazapin-Therapie (ohne zusätzliche Antipsychotika-Gabe) hatten weibliche Studienteilnehmer mit A/A-Genotypen mehr unerwünschte Arzneimittelwirkungen als Patientinnen mit G/A-Genotyp.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass weibliche Patienten unter SSRI- bzw. Mirtazapin-Therapie von dem Vorliegen zweier G-Allele profitieren. Im Gegensatz zu diesen Resultaten zeigten Tadic et al.,³⁴² dass Patientinnen mit A/A-Genotyp schneller und stärker auf eine Therapie mit Paroxetin (n = 35) bzw. Mirtazapin (n = 41) ansprechen als Patientinnen mit anderen Genotypen. Allerdings wurde in dieser Studie lediglich die Assoziation des SNPs mit Responseparametern, aber nicht mit Nebenwirkungen untersucht. Ob die stärkeren erwünschten Arzneimittelwirkungen bei homozygoten A-Allel-Trägern in dieser Studie auch mit stärkeren unerwünschten Wirkungen einhergingen, kann deshalb nicht beurteilt werden. Die Patienten unserer Studie erhielten mittlere Mirtazapin-Dosen von 36 mg und das 1,5-fache der empfohlenen Tagesdosis an SSRI.⁵⁵⁹ Die Teilnehmer der Studie von Tadic et al. hingegen bekamen im Mittel 30 mg Mirtazapin und 22 mg Paroxetin, d.h. das 1,1-fache der empfohlenen Tagesdosis des Wirkstoffs.³⁴²

Möglicherweise litten A-Allel-Träger unserer Population auf Grund höherer Tagesdosen unter mehr Nebenwirkungen während Patienten mit G/G-Genotyp davon unbeeinflusst blieben. Das bessere Ansprechen von Patientinnen mit G/G-Genotyp in unserer Studienpopulation ist deshalb eventuell mit der geringeren Nebenwirkungsrate dieser Teilnehmerinnen zu erklären.

Die Auswirkungen der Mutation auf die Gentranskription werden kontrovers diskutiert. Zwar wurde *in vitro* eine höhere transkriptionelle Aktivität des G-Allels³⁴⁰ beschrieben, aber *in vivo* wurden höhere mRNA-Level bei Vorliegen des A-Allels festgestellt.³⁴¹ Eine Untersuchung der Thrombozyten von Parkinson-Patienten bestätigt die *in vivo* Erkenntnisse.⁵⁵⁷ Das A-Allel des SNPs war in dieser Studie infolge einer durch den Basenaustausch eingeführten SR-Proteinbindungsstelle nicht nur mit höheren mRNA-Konzentrationen, sondern auch mit einer gesteigerten Proteinexpression verbunden. Dieser Zusammenhang lässt einen stärkeren Neurotransmitterabbau bei Patienten mit A-Allel vermuten, was zu einer verringerten Nebenwirkungsrate bei diesen Patienten führen müsste, wenn die unerwünschten Wirkungen mit erhöhten Konzentrationen des Botenstoffes assoziiert sind. Allerdings wurden bei Balciuniene et al.³⁴¹ nur männliche Probanden untersucht. Vermutlich wurden auch bei Jaubauskiene et al.⁵⁵⁷ nur männliche Parkinson-Patienten analysiert, da Assoziationen zum heterozygoten Genotyp nicht dargestellt sind. Geschlechterunterschiede hinsichtlich des MAOB A644G Intron 13 SNP-Effekts wurden bereits von Kelada et al.³⁴⁴ beschrieben. Geschlechtsabhängige Unterschiede hinsichtlich eines modifizierenden Effekts des SNPs auf die Assoziation zwischen Rauchen und dem Risiko an M. Parkinson zu erkranken, werden hier auf den transkriptionellen Einfluss von Estrogen zurückgeführt. Es kann demnach nicht ausgeschlossen werden, dass bei weiblichen Patienten das Vorliegen eines G-Allels zu einer höheren Aktivität des Proteins führt.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse muss außerdem berücksichtigt werden, dass die Mechanismen der MAOB-Genregulation im Gehirn und in Thrombozyten, die als Serotonin-Speicher dienen anscheinend unterschiedlich ablaufen.³⁴⁵ Zudem führen epigenetische Einflüsse, z.B. verursacht

durch Rauchen zu einer veränderten Proteinexpression.³⁴⁶ Auf Grund der Vielzahl an Einflüssen auf die Bildung und Aktivität von MAO-B sowie der geringen Patientenzahl der betrachteten Subpopulationen sind für eine Beurteilung des Effekts des untersuchten Polymorphismus auf die Wirksamkeit einer antidepressiven Therapie weitere Untersuchungen notwendig. Neben der Klärung, ob sich rs1799836 geschlechtsabhängig unterschiedlich auf die *in vivo* Transkription auswirkt, muss außerdem eine Untersuchung des Einfluss auf die Antidepressiva-Therapie in größeren und homogeneren Patientenkollektiven erfolgen.

Für männliche Patienten (n = 26) fand die Arbeitsgruppe um Tadic keine Assoziationen zwischen rs1799836 und Therapieerfolg. In unserer Studienpopulation wurden ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem SNP und Ansprechen sowie Nebenwirkungen gefunden. Möglicherweise sind die geringen Fallzahlen männlicher Studienteilnehmer mit SSRI- und Mirtazapin-Therapie zur Detektion entsprechender Assoziationen nicht ausreichend.

Unsere Untersuchungen zu MAOB A644G bei Patienten unter Antipsychotika-Therapie ergaben ähnliche Assoziationen wie bei Patienten mit Antidepressiva-Therapie (SSRI oder Mirtazapin). Weibliche Patienten (n = 110) zeigten auch hier eine stärkere Beeinträchtigung durch Nebenwirkungen, wenn sie ein A-Allel besaßen. Bei männlichen Studienteilnehmern (n = 82) wurde kein Zusammenhang zwischen Ansprechen oder Nebenwirkungen gefunden. Ursächlich könnte hierfür hier die geringere Stichprobengröße bei männlichen Patienten sein. Auch die bereits diskutierten SNP-abhängigen Transkriptionsunterschiede bei Männern und Frauen könnten eine Rolle spielen. Eine Haplotypanalyse zu Antipsychotika-induziertem Restless Legs Syndrom (RLS), die den SNP einschloss, zeigte ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse für männliche und weibliche Patienten.⁵⁵⁸ In diesem Fall war jedoch der MAOA VNTR-Polymorphismus assoziiert. Männliche Patienten mit RLS besaßen signifikant häufiger das 644A-Allel kombiniert mit einem MAOA VNTR 3-Allel. Bei Patientinnen mit RLS lag hingegen häufiger die Kombination MAOA VNTR 4/4 + A/A vor. Kombinationen des 644A-Allels bzw. -Genotyps mit dem MAOA VNTR 4-Allel bzw. 3-Allel waren wiederum mit weniger Symptomen verbunden als das 644G-Allel. Ursächlich für die gefundenen Unterschiede in unserer Population könnte also auch ein haplotypabhängiger Zusammenhang des SNPs mit dem Auftreten von Nebenwirkungen unter Antipsychotika-Therapie sein. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte keine Bestimmung des MAOA VNTR Polymorphismus. Um die Bedeutung von MAOB A644G für die Neuroleptikabehandlung klären zu können, sollte neben der Geschlechtsabhängigkeit der Assoziationen auch die MAOA VNTR-Genotypisierung in weitere Untersuchungen eingeschlossen werden.

4.3.5 TPH2

Das Enzym Tryptophanhydroxylase 2 ist für den ersten Schritt der Serotonin-Biosynthese aus der Aminosäure Tryptophan verantwortlich und wird vorwiegend im Gehirn exprimiert.³⁴⁷ Veränderungen der Proteinstruktur könnten die Qualität und Menge des Neurotransmitters und damit den Krankheitsprozess psychiatrischer Störungen beeinflussen. Dies zeigen Untersuchungen an suizidalen und medikamentös unbehandelten Patienten mit Depression, welche höhere mRNA- und Proteinlevel des Enzyms in den Raphe-Kernen im Vergleich zu Kontrollen hatten.^{560,561} Für einen SNP im Exon 7 des TPH2-Gens (rs7305115) wurden Assoziationen zwischen G-Allel und suizidalem Verhalten während einer depressiven Erkrankung sowie einer verringerten Transkription des TPH2-Gens und damit einer niedrigeren Proteinmenge im Pons gefunden.³⁵⁵ Eine Meta-Analyse, die 27 Studien zur Assoziation zwischen Major Depression (MD) und verschiedenen TPH2-Genvarianten berücksichtigte, waren zwei SNPs (rs17110747, rs4570625) signifikant mit dem Auftreten einer MD assoziiert.⁴⁴¹

Da die Wirkung von Antidepressiva, die die Serotonin-Wiederaufnahme über präsynaptische 5-HT-Transporter hemmen eine funktionierende Biosynthese des Neurotransmitters voraussetzt, ist ein Einfluss genetischer Polymorphismen im TPH2-Gen auf den Therapieerfolg denkbar. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde deshalb der Zusammenhang zwischen rs17110747 sowie rs7305115 und dem Therapieerfolg sowie Nebenwirkungen bei Patienten mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva untersucht.

In diesem Patientenkollektiv konnte allerdings weder für den Polymorphismus im codierenden Bereich des TPH2-Gens (rs7305115), noch für den im 3' untranslatierten Bereich befindlichen SNP (rs17110747) eine Assoziation zum Response gefunden werden.

Im Gegensatz dazu berichten Tzvetkov et al. über ein schlechteres Therapieansprechen bei kaukasischen Patienten, die zwei rs10879346T-Allele trugen und mit verschiedenen Antidepressiva behandelt wurden im Vergleich zu Patienten mit anderen Genotypen.³⁵⁶ Rs10879346 liegt im vollständigen Kopplungsungleichgewicht mit rs7305115 und das Vorliegen eines rs10879346T-Allels entspricht dem eines rs7305115 G-Allels. Da es sich bei dieser Untersuchung mit 262 Patienten um eine größere Population mit vergleichbarer Medikation handelt, könnte die geringere Stichprobengröße in unserer Studie ein Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse sein. Außerdem unterschieden sich die Untersuchungen hinsichtlich der angewendeten Responsemarker. Während Tzvetkov et al. zur Ermittlung des Response auf die Behandlung die Hamilton Depression Rating Scale (HAMD)⁵⁶² verwendeten, wurden in unserer Studie CGI- und PD-S D-Werte zur Beurteilung von Remission und Response genutzt.

Auch in einer chinesischen Population mit 308 Patienten wurde eine Assoziation zwischen rs7305115 und Response auf Antidepressiva-Therapie (SSRI, SNRI, NaSSA, TCA) gefunden.⁴⁴⁰ Allerdings konnte in einer größeren kontrollierten Studie mit 368 chinesischen MD-Patientinnen, die überwiegend mit serotonergen Antidepressiva behandelt wurden (93%) kein Zusammenhang zwischen diesem SNP und Ansprechen nachgewiesen werden.⁵⁶³

Untersuchungen zu rs17110747 und Therapieerfolg bei 508 MD-Patienten (davon 187 mit SSRI) und 463 Kontrollen erbrachten auch für diesen Polymorphismus keine signifikanten Ergebnisse.³⁵⁸ Serretti et al. fanden ebenfalls keine signifikanten Assoziationen zwischen rs17110747 und Response bei 145 MD-Patienten mit SSRI, SSNRI oder Mirtazapin koreanischer Herkunft.⁴⁴¹

Diese Datenlage spricht nicht für eine klinische Relevanz der beiden Polymorphismen beim Erfolg einer Behandlung mit serotonergen Antidepressiva in asiatischen Populationen. Für eine Beurteilung ihrer Rolle bei kaukasischen Patienten sind weitere Untersuchungen in größeren Stichproben und mit vergleichbaren Outcome-Markern nötig.

Studien zum Einfluss von Polymorphismen innerhalb des TPH2-Gens auf unerwünschte Arzneimittelwirkungen unter Antidepressivatherapie liegen derzeit nicht vor. Für rs17110747 wurde in unserer Studienpopulation eine nicht signifikante Erhöhung der Nebenwirkungsrate bei Patienten mit zwei mutierten Allelen (A/A) festgestellt. Bei diesen Patienten fand sich ein Trend zu mehr SSRI-typischen gastrointestinalen und kardiovaskulären Beschwerden, wie diese auch für Citalopram und Escitalopram beschrieben werden.⁵⁰⁰ Allerdings besaßen nur 3 der hier untersuchten Patienten einen rs17110747-A/A-Genotyp. Dies entspricht mit etwa 2% der untersuchten Stichprobe dem Vorkommen des Genotyps in europäischen Vergleichspopulationen (HapMap-CEU n = 60). Um die Bedeutung des Polymorphismus für Unterschiede im Auftreten von Nebenwirkungen unter Antidepressiva-Therapie klären zu können, müssen die gefundenen Zusammenhänge deshalb in einem größeren Patientenkollektiv untersucht werden.

Unabhängig von der verabreichten Medikation fand sich in unserer Population ein Zusammenhang zwischen rs7305115 und Aufenthaltsdauer. Patienten dieser Studienpopulation waren signifikant kürzer in stationärer Behandlung (17 Tage), wenn sie einen rs7305115-A/A-Genotyp besaßen. Diese Assoziation war nicht nur in der Gesamtpopulation, sondern in allen Medikationsgruppen (Antidepressiva (n = 348), Antipsychotika (n = 452) sowie Antidepressiva und Antipsychotika (n = 262)) vorhanden. Da die Verbesserung von Negativsymptomen schizophrener Erkrankungen über serotonerge Strukturen vermittelt wird, wenn die Therapie mit atypischen Antipsychotika – wie in dieser Population überwiegend geschehen – erfolgt, scheint ein Effekt dieses SNPs auf den Therapieerfolg auch unter Neuroleptika-Gabe plausibel. Wenn Patienten untersucht wurden, die nur Antidepressiva oder nur Antipsychotika bekamen, verlor sich die beobachtete Assoziation möglicherweise auf Grund der geringen Fallzahlen, denn die Richtung des Effekts blieb bei beiden Gruppen bestehen. Zur Überprüfung dieser Ergebnisse ist eine Replikation in einer vergleichbaren klinischen Population nötig. Es ist außerdem zu klären, weshalb Patienten mit rs7305115-A/A-Genotyp diesen Therapievorteil zeigen und wie sich dieser für andere Patienten ebenfalls nutzen lässt.

4.4 Dopaminerge Strukturen

4.4.1 DAT1

Neben anderen Neurotransmitter-Signalwegen spielen auch Störungen der Dopamin-Neurotransmission bei der Pathogenese psychischer Erkrankungen eine wichtige Rolle.⁵⁶⁴ So wurden in der Cerebrospinalflüssigkeit von depressiven Patienten niedrigere Konzentrationen an Dopamin-Metaboliten festgestellt,²⁴⁵ was zu einer DAT1-Downregulation und damit auch zu einem reduzierten DAT1-Bindungspotential führt.²⁴⁶ Für einen VNTR-Polymorphismus im 3' untranslatierten Bereich des DAT1-Gens (rs28363170) wurden *in vitro* und *in vivo* Effekte auf die DAT1-Expression berichtet, wobei einige Arbeitsgruppen für Träger des 10-Repeat-Allels höhere Expressionsraten als für das 9-Repeat-Allel beobachten, andere hingegen nicht.^{244,248-251} Ursache dieser Unterschiede könnte ein unvollständiges Kopplungsungleichgewicht des VNTR-Polymorphismus mit transkriptionell relevanten genetischen Variationen sein.^{250,565} Gemeinsam mit anderen Varianten innerhalb des DAT1-Gens scheint der Polymorphismus bei der Entstehung von ADHS eine Rolle zu spielen.⁵⁶⁶ Neben der Assoziation des Polymorphismus mit dem Krankheitsgeschehen psychischer Störungen sind auch Zusammenhänge mit dem Therapieerfolg unter Antidepressiva-Gabe vorstellbar.

In einer von Kirchheiner et al. durchgeführten Studie respondierten Patienten mit einer schweren depressiven Episode nach 3-wöchiger Therapie bei homozygotem Vorliegen des DAT1-VNTR-9-Allels signifikant seltener im Vergleich zu Teilnehmern, die wenigstens ein DAT1-VNTR-10-Allel hatten. Der Effekt war dabei unabhängig von dem verabreichten Antidepressivum (SSRI, TCA, Mirtazapin, Venlafaxin).⁴⁴²

Bei Patienten unserer Studienpopulation, die eine F32-, F33- oder F34-Diagnose (depressive Störung, Episode oder affektive Störung) aufwiesen und mit Antidepressiva behandelt wurden, war kein Einfluss des DAT1-VNTR-Polymorphismus auf die Responserate feststellbar. Es wurde lediglich ein Trend zur stärkeren Remission bei Studienteilnehmern mit 9/9-Genotyp beobachtet.

Diese im Vergleich zur genannten Untersuchung von Kirchheiner et al.⁴⁴² widersprüchlichen Ergebnisse könnten mit zusätzlichen Polymorphismen innerhalb der DAT1-VNTR-Sequenz zusammenhängen, die zu vielfältigen Haplotypen mit veränderter Expressionsaktivität führen.^{565,567}

Eine Vergleichbarkeit von Populationen, die nur für rs28363170 genotypisiert wurden, wäre demnach nicht gegeben. Allerdings handelte es sich bei der von Kirchheiner et al. untersuchten Population ebenfalls um europäische Patienten, was vermuten ließe, dass beide Populationen mit vergleichbaren DAT1-Varianten ausgestattet sind. Auch der Beobachtungszeitraum war mit 3 Wochen vergleichbar mit dem in unserer Studie (4 Wochen). Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit wurde jedoch das Therapieansprechen mittels Hamilton Depression Rating Scale (HAMD) erfasst und auch der Umfang der untersuchten Stichprobe war größer als in unserer Studie (n = 190 vs. n = 83). Allerdings erklärt auch dieser Unterschied nicht den bei uns gefundenen Trend zur stärkeren Symptomremission bei DAT1 9-Allelträgern. Interessanterweise findet sich dieser Zusammenhang auch bei Patienten unserer Studienpopulation mit DAT1-VNTR-9/9-Genotyp, die kombiniert mit Antidepressiva und Antipsychotika behandelt wurden (n = 253). Diese zeigten neben einer signifikant stärkeren Symptomremission, tendenziell höhere Response-, aber auch Nebenwirkungsraten als andere Studienteilnehmer mit der gleichen Medikation.

Dabei wurden hauptsächlich Olanzapin und Quetiapin in dieser Kohorte verordnet. Auf Grund ihrer hohen antagonistischen Aktivität an 5-HT₂-Rezeptoren werden sie zur Behandlung schwerer depressiver Episoden bipolarer Störungen und depressiver Symptome schizophrener Patienten eingesetzt.^{545,568}

Die DAT1-Transporter-Aktivität wird außerdem während der Behandlung mit dem SSRI Citalopram moduliert. So wurden während einer SSRI-Therapie im Striatum reduzierte extrazelluläre Dopamin-Konzentrationen gemessen.^{247,569} Untersuchungen bezüglich des Einflusses von Antipsychotika auf die DAT1-Transporter-Aktivität fehlen derzeit, allerdings zeigte eine Untersuchung an 119 Schizophrenie-Patienten, die mit typischen Antipsychotika behandelt wurden, das 9-Repeat-Allel mit einem höheren Risiko für extrapyramidale Nebenwirkungen assoziiert.⁵⁷⁰

Möglicherweise sind die kombinierten antidepressiven Wirkungsweisen der verordneten Medikation mit einem ausgeprägteren Ansprechen von DAT1-VNTR-9-Allelträgern in dieser Population assoziiert.

Zur Klärung der Rolle des DAT1-9/9-Genotyps unter psychoaktiver Medikation sind weitere Untersuchungen nötig, die zum einen zusätzliche DAT1-Varianten berücksichtigen und zum anderen die Auswirkungen einer Antipsychotika-Therapie auf die Dopamin-Transporteraktivität beleuchten.

4.4.2 DRD2

Durch ihre antagonistische Wirkung an postsynaptischen Dopamin D2-Rezeptoren, deren Dichte beim Vorliegen einer Schizophrenie erhöht ist,²²⁰ führen sowohl atypische als auch typische Neuroleptika zu einer Reduktion der Positivsymptome schizophrener Störungen.²²¹ Veränderungen des zugrundeliegenden Gens könnten demzufolge eine Beeinträchtigung des Behandlungserfolgs verursachen.⁵⁷¹

Die T-Allele der beiden hier untersuchten Polymorphismen (rs2283265, rs1076560) im Gen des Dopamin D2-Rezeptors (DRD2) führen zu einer Veränderung des Expressionsverhältnis zwischen postsynaptischen (DRD2L, long) und präsynaptischen Autorezeptoren (DRD2S, short) zugunsten der langen Rezeptorvariante.²³⁵ Das Expressionsverhältnis der beiden Isoformen, die durch unterschiedliches Spleißen der prä-mRNA des transkribierten DRD2-Gens entstehen, beeinflusst die Glutamattransmission im Striatum.²³⁶ Eine gestörte Glutamattransmission wird mit einem Aufmerksamkeitsdefizit bei Schizophreniepatienten in Verbindung gebracht.²³⁷ Die SNPs sind außerdem mit Unterschieden in der Ausprägung von Negativsymptomen (PANSS) bei Schizophreniepatienten assoziiert.^{238,443} Für rs2283265 wird zudem über niedrigere Responseraten bei Olanzapin-Patienten mit GT-Genotyp gegenüber Patienten mit Wildtypallelen (G/G) berichtet.²³⁹

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von rs2283265 (G>T) und rs1076560 (G>T) auf Ansprechen und auftretende Nebenwirkungen bei Patienten mit Olanzapin-Therapie unter klinischen Bedingungen untersucht. Im Gegensatz zu Blasi et al. waren in unserer Population keine genotypabhängigen Responseunterschiede für rs2283265 zu finden. Während Patienten unserer Studienpopulation nur über einen Zeitraum von vier Wochen beobachtet wurden, waren es bei der genannten Studie acht Wochen. Allerdings war die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Stichprobe mit $n = 155$ mehr als doppelt so groß wie das Patientenkollektiv bei Blasi et al. ($n = 66$), welches keine Patienten mit zwei homozygot mutierten Allelen inkludierte. Unklar ist, ob diese Patienten ausschließlich mit Olanzapin therapiert wurden, oder wie in unserer Population zusätzlich andere psychoaktive Wirkstoffe erhielten, die den Effekt der SNPs überdecken könnten.

Festzuhalten ist, dass die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Stichprobe, die erste Population ist, die hinsichtlich des Effekts aller Genotypen der oben genannten SNPs untersucht wurde und kein Einfluss auf Responseparameter feststellbar war.

Allerdings hatten Teilnehmer unserer Studie mehr Nebenwirkungen, wenn sie Wildtypallele der betrachteten SNPs besaßen. Dies könnte für eine stärkere Wirksamkeit des verabreichten Antipsychotikums bei diesen Patienten sprechen. Möglicherweise lässt sich dies durch die geringere Dichte an postsynaptischen D2-Rezeptoren erklären, die für das G-Allel der SNPs postuliert wird.²³⁵

Dies würde auch den schlechteren Krankheitszustand von Patienten unserer Kohorte mit rs2283265T-Allel zu Therapiebeginn erklären. Dem widerspricht jedoch, dass es keine Responseunterschiede zwischen den verschiedenen Genotypen gab.

Derzeit liegen keine weiteren Studien vor, in denen der Einfluss dieser zwei Polymorphismen auf den Therapieerfolg einer Behandlung mit Psychopharmaka untersucht wird. Trotz zahlreicher SNPs innerhalb des DRD2-Gens konnte zudem bisher lediglich für den bekannten -141 Ins/Del-Polymorphismus in einer Meta-Analyse ein Einfluss auf den Erfolg einer Antipsychotika-Therapie gezeigt werden.²²⁴ Eine genomweite Untersuchung von 738 Schizophreniepatienten fand allerdings weder für die hier behandelten SNPs, noch für die gut untersuchten Taq 1A und -141 Ins/Del-Polymorphismen eine Assoziation zum Response unter Antipsychotika-Therapie. Einzig ein Zusammenhang zwischen rs11214606 (DRD2) und dem Effekt von Olanzapin auf das Kurzzeitgedächtnis wurde gefunden.⁵⁷² Trotz der plausiblen Grundüberlegung, die einen Einfluss von Polymorphismen innerhalb des DRD2-Gens auf die Behandlung mit Neuroleptika vermuten lässt, scheinen die bisher untersuchten Varianten des DRD2-Gens als Einflussfaktoren für interindividuelle Responseunterschiede bei Antipsychotika-Therapie eine untergeordnete Rolle zu spielen.

4.5 HPA-Achse, Neuroregeneration und –transmission

4.5.1 CRHR1 und CRHR2

Neben der Serotonin- und Noradrenalinmangelhypothese³⁶² spielt auch die Kortikosteroid-Rezeptor-Hypothese eine Rolle in der Pathogenese depressiver Erkrankungen.⁸⁹ Auf Grund einer Dysregulation der HPA-Achse weisen depressive Patienten im Vergleich zu gesunden Menschen erhöhte Cortisol- und ACTH-Konzentrationen in Plasma und Cerebrospinalflüssigkeit auf, wobei die Ausschüttung von Cortisol durch die Gabe von Dexamethason nur vermindert supprimierbar und die ACTH-Reaktion nach CRH-Gabe abgeschwächt ist (DEX/CRH-Test).⁹⁰ Als Ursache dieser gestörten Regulation der Stressachse werden eine reduzierte Glukokortikoid-Rezeptor-Funktion sowie eine CRH-Hypersekretion diskutiert.^{91,92} Die Auswirkungen dieser verstärkten CRH-Produktion werden wiederum über hyperfunktionelle CRH-1-Rezeptoren vermittelt, kombiniert mit hypofunktionellen CRH-2-Rezeptoren, welche anxiolytische Wirkungen nach Stresssituationen fördern.³⁶³ Bei einer erfolgreichen Therapie mit Antidepressiva kommt es vermutlich durch die Induktion einer erhöhten Glukokortikoid-Rezeptor-Empfindlichkeit zu einer Normalisierung der verminderten negativen Rückkopplung.³⁶⁴⁻³⁶⁶ Die Behandlung depressiver Patienten mit CRHR-1-Antagonisten führt ebenfalls zu einer deutlichen Reduktion depressiver und ängstlicher Symptome.³⁶³ In einigen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen Polymorphismen in den CRH-1- und -2-Rezeptor-Genen und Therapieerfolg beschrieben. Für rs242941 und rs110402 im CRHR1-Gen sowie rs2270007 im CRHR2-Gen wurden Assoziationen zu Responseunterschieden bei Patienten mit SSRI-Therapie gefunden.³⁶⁷⁻³⁶⁹

Licino et al. zeigten für 54 depressive Patienten, die mit Fluoxetin oder Desipramin therapiert wurden einen stärkeren Rückgang depressiver und ängstlicher Symptome, wenn diese homozygot für den folgenden Haplotypen des CRHR-1-Gens waren: rs1876828-G-rs242939-A-rs242941-G.³⁶⁷ Auch in einer Population mit chinesischen Patienten, die unter einer Major Depression litten, war das Vorliegen eines homozygoten rs242941-G-Genotyps gegenüber den anderen Genotypen unter Fluoxetin-Therapie von Vorteil.³⁶⁸ Papiol et al. fanden eine Assoziation des rs110402-T-Allels des CRHR-1-Gens mit dem Risiko, bereits frühzeitig an depressiven Störungen zu erkranken und unter saisonalen depressiven Episoden zu leiden sowie des rs2270007-G-Allels des CRHR-2-Gens mit einem schlechteren Ansprechen bzw. Non-Response unter Citalopram-Gabe.³⁶⁹

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob die genannten Polymorphismen in einer Subpopulation mit SSRI-Therapie (n = 113), unter der Gabe nichtselektiver SRI (n = 78) oder Mirtazapin-Therapie (n = 82) mit interindividuellen Unterschieden im Behandlungserfolg nach 4 Wochen assoziiert sind. Statistisch signifikante Unterschiede im Responseverhalten abhängig vom rs242941-, rs110402- oder rs2270007-Genotyp waren in keiner der genannten Medikationsgruppen feststellbar. Trotz der fehlenden statistischen Signifikanz waren in den einzelnen Subpopulationen zum Teil ausgeprägte Responseunterschiede zu sehen. Patienten, die mit nicht-selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmern behandelt wurden, respondierten 3,3-mal öfter, wenn sie zwei rs242941G-Allele trugen und unterstützen die Ergebnisse oben genannter Untersuchungen. Studienteilnehmer der SSRI-Subgruppe mit rs110402-T-Allel respondierten 4,9-mal häufiger als Patienten mit Wildtypallelen. Mirtazapin-Patienten hatten einen 4,3-fach besseren CGI-2-Response, wenn sie rs2270007G-Allele besaßen.

Eine stärkere Symptomremission wurde für rs110402-C/C-Genotypen unter Gabe von nicht-selektiven SRI gefunden. Außerdem war dieser Genotyp mit mehr neurologischen und motorischen Nebenwirkungen bei Mirtazapin-Patienten verbunden. Das rs2270007G-Allel war mit mehr unerwünschten Wirkungen wie Appetitverlust, Gewichtsveränderungen und Kopfschmerz unter SSRI-Therapie assoziiert.

Lediglich für den rs242941-Polymorphismus finden sich in der Literatur Studien, die diese Ergebnisse bestätigen. Da sowohl die Auswirkungen dieses Polymorphismus auf das entstehende CRH-1-Rezeptorprotein sowie die Mechanismen, die das Krankheitsbild depressiver Erkrankungen begründen noch nicht genau geklärt sind, lässt sich über die Ursachen dieses unterschiedlichen Responseverhaltens und der Nebenwirkungsunterschiede nur spekulieren. Möglicherweise verbessern Antidepressiva die Symptomatik nur, wenn eine Überexpression des CRH-1-Rezeptors ursächlich an der Krankheitsentstehung beteiligt ist und diese über den betrachteten SNP bzw. über eine im Kopplungsungleichgewicht liegende Genvariation vermittelt ist.^{369,573} Eine Assoziation des rs110402-T/T-Genotyps mit F3-Diagnosen war in dieser Population allerdings nicht nachweisbar (p > 0,8).

4.5.2 FGF2

Neben einer erhöhten Noradrenalin- und Serotoninverfügbarkeit im synaptischen Spalt, verstärken Antidepressiva die Expression von Transkriptionsfaktoren, die in die Neubildung und Differenzierung von Neuronen eingebunden sind.^{376,574} Der Fibroblast-Growth-Factor 2 fördert sowohl *in vitro* als auch *in vivo* die Glio- und Neurogenese^{373,374} und wird bei Patienten mit Major Depression (MD) in geringerem Ausmaß exprimiert als bei gesunden Kontrollen.³⁷⁵ Evans et al. beschreiben bei einer Untersuchung von humanen post-mortem Proben eine Abschwächung der bei MDD-Patienten auftretenden FGF2-Expressionserniedrigung im frontalen Kortex unter SSRI-Therapie.³⁷⁷ Andere Gruppen berichten über antidepressive und anxiolytische Wirkungen von FGF 2 in dieser Hirnregion.^{444,445}

Unabhängig von der Art des verabreichten Wirkstoffs wird damit die neuronale Plastizität u.a. von noradrenergen und serotonergen Zellen erhöht. Veränderungen im FGF2-Gen, welche die Entstehung dieses neurotrophen Faktors beeinträchtigen, könnten demzufolge das Ansprechen auf antidepressiv wirkende Stoffe beeinflussen.

Kato et al. fanden eine signifikante Assoziation zwischen dem rs1449683-T-Allel und dem Ansprechen auf die Therapie mit SSRI bei 144 japanischen Patienten mit einer Major Depression sowie dem rs1048201-T-Allel und dem Therapieabbruch infolge von Nebenwirkungen.³⁷⁸

In unserer Studienpopulation wurde untersucht, ob die beiden genannten Polymorphismen Assoziationen zum Ansprechen auf die Therapie mit verschiedenen Antidepressiva (SSRI, nicht-selektive SRI, Mirtazapin) zeigen oder mit dem Auftreten von Nebenwirkungen unter antidepressiver Behandlung assoziiert sind.

Für das rs1048201-T-Allel zeigte sich bei SSRI-Patienten ein signifikant stärkerer Symptomrückgang, der in den anderen Medikationsgruppen jedoch nicht gefunden wurde. Zwar fand sich kein Zusammenhang des Polymorphismus mit Nebenwirkungen unter SSRI-Therapie wie von Kato et al. beschrieben. Allerdings war ein hetero- oder homozygot mutierter Genotyp tendenziell mit höheren Nebenwirkungsraten bei Patienten mit nicht-selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmern verbunden. Statistisch signifikant war dieser Zusammenhang bei Mirtazapin-Patienten unserer Studienpopulation.

Rs1449683 zeigte sich ebenfalls in diesen zwei Medikationsgruppen mit Nebenwirkungen assoziiert. Während Studienteilnehmer mit nicht-selektiven SRI stärker unter kardiovaskulären Symptomen litten, hatten Mirtazapin-Patienten häufiger neurologische Begleitscheinungen, wenn sie ein T-Allel trugen. Signifikante genotypabhängige Unterschiede der Responseraten wurden für diesen SNP bei Patienten mit nicht-selektiven SRI gefunden. Die Studienteilnehmer sprachen nach Ansicht des behandelnden Arztes (CGI-2) 6-mal häufiger auf die Therapie an, wenn sie ein rs1449683-T-Allel besaßen. Der gefundene Zusammenhang unterstützt die von Kato et al. berichteten Effekte des SNPs auf die Behandlung mit SSRI. SSRI-Patienten unserer Studienpopulation mit diesem Allel respondierten zwar ebenfalls häufiger als Studienteilnehmer mit Wildtypallel. Jedoch war diese Assoziation nicht statistisch signifikant und basierte auf der Einschätzung der Patienten, während sich die mittels CGI-2 ermittelten Responseraten nicht unterschieden.

Das Krankheitsbild der Depression scheint mit einer reduzierten FGF2-Expression verknüpft zu sein.⁴⁴⁴ Auch die hier behandelten Polymorphismen im FGF2-Gen beeinflussen die Entstehung des Proteins. Dabei ist mit der rs1449683-C/C-Genotyp mit einer stärkeren Gentranskription und Protein-Expression verbunden.³⁷⁹ Das Vorliegen des rs1048201-T-Allels führt zu einer verstärkten miRNA-Anbindung der entstehenden mRNA, was wiederum die Degradation der mRNA-Stränge fördert bzw. mit einer reduzierten Translation verbunden ist und damit die exprimierte Proteinmenge limitiert.³⁸⁰

Studien zur Bedeutung der Polymorphismen bei der Entstehung depressiver Erkrankungen fehlen derzeit. Hierzu ist anzumerken, dass Mirtazapin-Patienten unserer Studienpopulation mit rs1449683-T-Allel einen signifikant schwereren Krankheitszustand zu Behandlungsbeginn hatten, während sich deren Zustand nach 4-wöchiger Therapie nicht mehr genotypabhängig unterschied. Möglicherweise ist der antidepressive Effekt beim Vorliegen mutierter Allele der behandelten SNPs stärker ausgeprägt als bei Wildtypen mit ungestörter FGF2-Expression. Dafür sprechen die beschriebenen stärkeren Begleitscheinungen bei Patienten mit mutierten Allelen der SNPs in zwei Medikationsgruppen – ebenso wie die gefundenen Assoziationen zwischen dem Vorliegen dieser Allele und einer stärkeren Symptomremission sowie höheren Responseraten bei der Gabe 5-HTT-blockierender Antidepressiva. Zur Klärung der Rolle der beiden Polymorphismen in der Antidepressiva-Behandlung muss sowohl deren Bedeutung für die Pathogenese depressiver Störungen untersucht als auch die Regulation des Krankheitsprozesses mit antidepressiven Wirkstoffen in Hinblick auf FGF2 geklärt werden. Die gefundenen Zusammenhänge müssen außerdem in größeren Studienkollektiven, mit anderen Antidepressiva und unter Berücksichtigung zusätzlicher Polymorphismen untersucht werden.

4.5.3 PCLO

PCLO codiert für das Piccolo-Protein – ein präsynaptisches Zytoskelett-Eiweiß, das durch seinen Einfluss auf die Anordnung und Funktion aktiver präsynaptischer Bereiche in die Neurotransmitter-Freisetzung eingebunden ist. Es ist denkbar, dass Veränderungen innerhalb der Genstruktur Abweichungen des Proteinaufbaus zur Folge haben und damit Störungen der monoaminergen Neurotransmission verursachen.^{382,383} Bei einer genomweiten Assoziationsstudie fanden Hek et al. einen Zusammenhang zwischen einem nicht-synonymen SNP A>C-Austausch im PCLO-Gen (rs2522833) und dem Auftreten depressiver Erkrankungen (n = 1491).⁸² Allerdings kamen Sullivan et al.⁸³ in einer Meta-Analyse zu einem gegenteiligen Ergebnis, wenn alle Proben der betrachteten Assoziationsstudien gemeinsam ausgewertet wurden. Auf Grund der Heterogenität des entstandenen Patientenkollektivs wurde eine Replikation mit einer der Originalstudie ähnlichen Population durchgeführt und auch hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen rs2522833 und dem Risiko an einer Major Depression zu erkranken festgestellt.

In einer Studie mit 205 Patienten, die unter unipolarer Depression litten, wurde das Therapieansprechen mittels der HAMD-Skala und dem DEX/CRH-Test bestimmt. Dabei zeigte sich für rs2522833-A/A-Genotypen eine weniger stark ausgeprägte Dysregulation der HPA-Achse im Vergleich zu den anderen Genotypen während sich der genetische Habitus nicht auf die Ergebnisse der HAMD-Werte auswirkte.³⁸⁴

Auch in der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Population unterschieden sich die Response-Marker (CGI-2, PD-S D) abhängig vom rs2522833-Genotyp nicht.

Patienten, die mit SSNRI, SNRI oder TZA behandelt wurden, unterschieden sich allerdings bereits zum Aufnahmezustand in ihren PD-S D-Werten. Dabei litten jene mit rs2522833-A/A-Genotyp unter einem schwereren Krankheitsgeschehen und erreichten nach 4 Wochen Therapie das Ausgangsniveau der Patienten, die einen C/A- oder C/C-Genotyp hatten. Diese Patienten hatten außerdem signifikant häufiger Nebenwirkungen als Patienten mit mutierten Allelen.

Im Gegensatz dazu hatten Studienteilnehmer unter Mirtazapin-Therapie häufiger gastrointestinale Nebenwirkungen, wenn sie mutierte Allele besaßen.

Die Ergebnisse von Kuehner et al. deuten auf ein reduzierten therapeutischen Erfolg bei Patienten, die das Risikoallel tragen hin.⁵⁷⁵ Es wären also in unserer Studienpopulation höhere PD-S D- und CGI-2-Werte bei C-Allelträgern zu erwarten gewesen. Allerdings wurden auch bei der Arbeitsgruppe um Kuehner mit Hilfe der verwendeten Beurteilungsskala keine genotypabhängigen Unterschiede gefunden. Da mit den Patienten unserer Studie kein DEX/CRH-Test durchgeführt wurde, kann der Effekt des Polymorphismus hierauf nicht beurteilt werden.

Die bereits zu Beginn der Behandlung genotypabhängig unterschiedlichen PD-S D-Basiswerte könnten zufällig sein, da der Zusammenhang nur in dieser Medikationsgruppe gefunden wurde. Außerdem ist rs2522833 zwar bisher mit dem Krankheitsrisiko, nicht aber mit der Schwere depressiver Erkrankung assoziiert. Die Patienten unterschieden sich auch nicht in der Zahl ihrer Vorbehandlungen oder ihrer Familienanamnese.

Bis auf eine schwache Korrelation mit gastrointestinalen Nebenwirkungen bei Patienten unter Mirtazapin-Therapie zeigte sich der untersuchte Polymorphismus in unserer Studienpopulation nicht relevant mit dem Therapieerfolg assoziiert. Allerdings fand sich eine leichte Erhöhung des C/C-Genotyp-Anteils bei Studienteilnehmern mit F3-Diagnose verglichen mit Patienten, denen eine F2-Diagnose gestellt wurde ($p = 0,074$), was die Assoziation zum Auftreten depressiver Erkrankungen unterstützen würde. Da es sich bei der hier gewählten Kontrollpopulation jedoch nicht um gesunde Studienteilnehmer handelt, ist dieses Ergebnis nicht mit denen der oben aufgeführten Studien vergleichbar.

Da Piccolo nur eines von mehreren Zytoskelett-Proteinen ist, ist es denkbar, dass es nur einen geringen Anteil an der Regulation der präsynaptischen Neurotransmission hat und Variationen von PCLO dementsprechend nicht separat einschätzbar sind. Für ein umfassendes Bild wäre die gemeinsame Betrachtung aller an der Regulation der vesikulären Endo- und Exozytose von Überträgerstoffen beteiligten Proteine bzw. Veränderungen in deren genetischen Strukturen in größeren Patientenkollektiven nötig.

4.6 Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel

4.6.1 PPAR γ

Die Therapie mit atypischen Neuroleptika wie Olanzapin und Clozapin ist bei einigen Patienten mit einer unerwünschten Gewichtszunahme verbunden. Dies kann die Compliance der Patienten und damit auch den Therapieerfolg beeinträchtigen. Das Ausmaß der Gewichtszunahme variiert interindividuell und eine Assoziation mit mehreren genetischen Faktoren wird diskutiert.

In diesem Zusammenhang ist *PPAR γ* ein weiteres vielversprechendes Kandidaten-Gen. Es codiert den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor γ 2, welcher in die Differenzierung von Adipozyten und die Glucosehomöostase involviert ist.³⁸⁵ Variationen innerhalb der *PPAR γ* -Sequenz werden auch in Zusammenhang mit Veränderungen des Körpergewichts unter Gabe mit atypischen Antipsychotika diskutiert.^{388,389} In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der verbreiteten Pro12Ala-Variante des PPAR γ 2-Gens auf die Entwicklung des Körpergewichts von Patienten mit Olanzapin- oder Clozapin-Therapie untersucht.

Die Ergebnisse von Herken et al.³⁸⁸ zeigen eine signifikant höhere Gewichtszunahme und BMI-Erhöhung bei 12 Olanzapin-Patienten, die heterozygot für den Pro12Ala-SNP waren im Vergleich zu 83 Patienten mit Wildtyp. Im Gegensatz dazu wurde in unserer Population mit 138 Olanzapin-Patienten, die auch 5 homozygote Patienten enthielt, keine Assoziation zwischen dem Polymorphismus und der Erhöhung des Körpergewichts und des BMIs festgestellt. Auch die Berücksichtigung von Komedikation mit potentiell Einfluss auf das Körpergewicht und unterschiedliche BMI-Werte zu Therapiebeginn änderten dieses Ergebnis nicht.

Übereinstimmend mit Reynolds et al.⁵⁷⁶ und einigen anderen Studien^{577,578} konnte für einen Teil der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Olanzapin-Patienten über einen Einfluss des SNPs 5-*HTR2C* -759 C/T auf das Körpergewicht berichtet werden.⁴²⁴ Dabei nahmen Patienten mit T-Allel signifikant weniger zu als Patienten mit zwei C-Allelen.

Auch genetische Veränderungen innerhalb des Leptin- und Leptin-Rezeptor-Gens scheinen bei einigen Patienten mit Olanzapin-Behandlung zu einer ausgeprägten Gewichtszunahme zu führen.⁵⁷⁹

Möglicherweise überdecken diese den Effekt von Pro12Ala.⁵⁸⁰ Gouda et al. berichten im Gegensatz zu Herken et al. von einer Assoziation des 12Ala-Allels mit geringerer Körpergewichtserhöhung als bei Vorliegen des Pro12-Allels auf Grund einer niedrigeren Aktivität des PPAR γ 2-Proteins.³⁸⁶ Eine Metaanalyse von Masud et al. unterstützt hingegen eine schwache Assoziation der 12Ala-Variante mit höheren BMI-Werten bei übergewichtigen Menschen (BMI \geq 27).⁵⁸¹ Kürzlich bestätigte eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS) den Einfluss des SNPs auf die Pathogenese von Diabetes mellitus Typ 2, welche bereits in früheren Assoziationsstudien gefunden wurde.^{386,387,410} In einer GWAS hinsichtlich metabolischer Nebenwirkungen unter Antipsychotika-Therapie wurde *PPAR γ* Pro12Ala jedoch nicht als Einflussfaktor für Gewichtszunahme identifiziert.⁵⁸²

Im Gegensatz zur Relevanz in einer prospektiven Studie mit nur einem Wirkstoff, aber übereinstimmend mit den Ergebnissen einer GWAS in einer CATIE (Clinical Antipsychotic Trial of Intervention Effectiveness) – Subpopulation konnte somit unter Bedingungen der klinischen Praxis kein Effekt des SNPs auf Olanzapin-induzierte Gewichtszunahme detektiert werden.

In vitro beeinflusst Clozapin die Differenzierung von Adipozyten und führt zu intrazellulärer Triglyceridakkumulation, weshalb ein Effekt der *PPAR γ* Pro12Ala-Variante auf Gewichtsveränderungen unter Clozapin-Gabe denkbar ist.³⁹⁰ Kang et al.³⁸⁹ fanden bei 146 Clozapin-Patienten keine Assoziation zwischen Gewichtszunahme und dem *PPAR γ* 161C/T SNP.

Ein Einfluss der *PPAR γ* Pro12Ala-Variante auf die Erhöhung des Körpergewichts und BMI bei Patienten mit Clozapin-Therapie im Rahmen der vorliegenden Arbeit ließ sich ebenfalls nicht feststellen, auch wenn Komedikation mit gewichtsbeeinflussenden Nebenwirkungen und unterschiedliche Baseline-BMIs berücksichtigt wurden. Allerdings enthielt diese Subpopulation nur 32 Patienten und keine homozygoten 12Ala Genotypen. Möglicherweise ist PPAR γ 2 nicht in den Mechanismus Clozapin-induzierten Übergewichts involviert.³⁹⁰ Auch bei diesem Wirkstoff ist außerdem der mögliche Einfluss anderer Kandidatengene zu bedenken, welche in der hier behandelten Population jedoch nicht untersucht wurden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der PPAR γ Pro12Ala-Polymorphismus wahrscheinlich eine untergeordnete Rolle bei antipsychotikainduzierten Gewichtsveränderungen spielt. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die untersuchten Subgruppen relativ klein und die Häufigkeiten der mutierten Allelvarianten gering waren, was die Identifizierung signifikanter Assoziationen verhindern könnte.

Bei der Studie handelte es sich nicht um ein placebokontrolliertes Design und es ist bekannt, dass antipsychotikainduzierte Gewichtszunahme in naturalistischen Studien generell geringer ausfällt als in randomisierten kontrollierten Untersuchungen.⁵¹²

Die Studienteilnehmer wurden nicht länger als vier Wochen beobachtet. Eine durch Clozapin verursachte Erhöhung des Körpergewichts kann jedoch über 46 Monate ab Therapiebeginn anhalten.⁵⁸³ Eine frühzeitige Gewichtszunahme beginnend mit der zweiten Therapiewoche korreliert allerdings eng mit einer Langzeitzunahme.^{584,585}

Um interindividuelle Schwankungen bei antipsychotikainduzierter Gewichtszunahme einschätzen zu können, ist eine Variation innerhalb von *PPAR γ* nicht ausreichend, da wahrscheinlich mehrere Gene sowie andere Einflussfaktoren involviert sind.

5 Limitationen der Studie

Die hier untersuchte naturalistische Stichprobe bildet eine klinische Patientenpopulation ab und Assoziationen, die trotz der Vielzahl an Einflussfaktoren signifikant nachweisbar sind, können einen Hinweis auf ihre klinische Relevanz geben. Zusammenhänge, die in Einzelsubstanzstudien detektiert werden, spiegeln dagegen nur in Einzelfällen die klinische Praxis wider. Für einen Großteil der Patienten wären die tatsächlichen Effektgrößen kleiner oder der gefundene Effekt möglicherweise nicht therapiebeeinflussend. Allerdings bietet dieses Modell die Möglichkeit, Assoziationen nachzuweisen, die in einer naturalistischen Kohorte womöglich unentdeckt blieben, aber bei einigen Patienten therapieentscheidend sein können. Auch kann eine naturalistische Stichprobe nicht alle möglichen Konstellationen an Einflussfaktoren abdecken und praxisrelevante Zusammenhänge können so verborgen bleiben. Die Aussagekraft der hier beschriebenen Assoziationen zwischen genetischen Veränderungen und klinischen Parametern ist außerdem folgenden Limitationen unterworfen, die dem Studiendesign, der berücksichtigten Faktoren sowie der Auswertemethodik geschuldet sind.

- Die Beobachtungsdauer der Patienten von vier Wochen war relativ kurz, wenn man den verzögerten Wirkungseintritt vieler Psychopharmaka bedenkt. Somit wurden möglicherweise bestimmte Einflüsse der betrachteten Polymorphismen, z.B. eine verstärkte Erhöhung des Körpergewichts in diesem kurzen Zeitraum nicht erfasst.
- Es gab keine Kontrollgruppe mit Placebo-Gabe, um beobachtete Effekte auf die medikamentöse Therapie überprüfen zu können, weshalb zum Vergleich jeweils andere Medikationsgruppen gegenübergestellt wurden.
- Durch die zulässige Kombination mehrerer Psychopharmaka und die mögliche Komedikation mit Wirkstoffen anderer Indikationsgebiete, wie kardiovaskulären oder Stoffwechselerkrankungen können Effekte überdeckt, aber auch verstärkt worden sein.
- Die Beurteilung des Krankheitszustandes durch den behandelnden Arzt und Patienten erfolgte anhand von Skalen und nicht mittels objektiv messbarer Parameter, was ebenfalls eine Fehlerquelle hinsichtlich der Ergebnisse des Therapieerfolgs darstellt. Allerdings existiert bisher keine Alternative zu psychiatrischen Beurteilungsskalen, die derzeit als Goldstandard zur Feststellung des Schweregrads psychischer Erkrankungen gelten.
- Um so viele externe Störgrößen wie möglich auszuschließen, wurden die untersuchten Gruppen hinsichtlich des Einflusses demografischer Merkmale geprüft bzw. in bestimmte Medikations- und/oder Diagnosegruppen eingeteilt, was wiederum zu niedrigeren Fallzahlen führte und damit eventuell das Erkennen relevanter Zusammenhänge verhinderte.
- Die Anzahl der betrachteten Polymorphismen war begrenzt und nicht berücksichtigt wurden außerdem Einflüsse durch epigenetische Veränderungen der untersuchten Genregionen sowie die Steuerung deren Proteinexpression durch miRNA bzw. Effekte durch andere unbekannte sequenzielle Veränderungen.¹¹⁸
- Um ausreichend große Gruppen zur Betrachtung der Auswirkungen von Polymorphismen innerhalb des CYP2C19- und des CYP2D6-Gens zu erhalten, wurden diese zu Gendosis-Gruppen zusammengefasst. Eventuelle Unterschiede zwischen den Allelen in den einzelnen Gendosis-Gruppen werden dabei jedoch vernachlässigt. Trotzdem ist die Verwendung des Gendosis-Systems bereits ein großer Fortschritt, v.a. bei der Bewertung des Effekts genetischer Varianten des hochpolymorphen CYP2D6-Gens.
- Weiterhin wurde der Anteil genetischer Variationen von Phase-II-Enzymen an interindividuellen Arzneistoffmetabolisierungsschwankungen nicht untersucht, für die erste Untersuchungen einen Einfluss auf die Serumkonzentrationen bestimmter Arzneistoffe zeigen.^{586,587}
- Auf Grund der explorativen statistischen Auswertung wurde keine Korrektur für multiples Testen durchgeführt. Ergebnisse deren p-Werte nur wenig unterhalb des Signifikanzniveaus α liegen, sollten mit Rücksicht darauf bewertet werden.⁵⁸⁸

6 Zusammenfassung und Ausblick

Bei depressiven und schizophrenen Erkrankungen handelt es sich um sehr komplexe Krankheitsgeschehen, welche durch genetische und epigenetische Faktoren sowie Umwelt- und Entwicklungsfaktoren verursacht und beeinflusst werden. Die Vielfalt der Krankheitsursachen erschwert neben der Diagnostik auch die Wahl geeigneter Therapiemethoden.

Nur etwa 30% der Patienten, die mit einem Antidepressivum behandelt werden, sprechen ausreichend auf die Therapie an und mindestens 10% respondieren auch nicht auf mehrere Therapieversuche.^{6,7}

Eine antipsychotische Therapie von Schizophrenie-Patienten führt bei lediglich 50% der Behandelten zu einer Verbesserung der Symptomatik.⁸ Neben niedrigen Responseraten stellen unerwünschte Arzneimittelwirkungen ein weiteres Problem dar, das den Krankenhausaufenthalt der Patienten deutlich verlängert oder erst verursacht und sogar zu Todesfällen führen kann.^{9,10}

Interindividuelle Unterschiede hinsichtlich des Responseverhaltens und des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen sind u.a. auf genetische Veränderungen innerhalb pharmakodynamischer und pharmakokinetischer Zielstrukturen zurückzuführen, welche in der Psychopharmakotherapie auf Grund der Komplexität der zu behandelnden Erkrankungen nur selten auf ein einzelnes variables Gen zu begrenzen sind.¹⁹

Ziel dieser Studie war deshalb die Entwicklung von Methoden zur schnellen und zuverlässigen Genotypisierung potentiell relevanter genetischer Marker zur Optimierung der Psychopharmaka-Therapie sowie die Beurteilung ihres Einflusses auf den Therapieerfolg in einer naturalistischen Patientenpopulation.

Hierzu wurden Genotypisierungsmethoden für 17 Polymorphismen in verschiedenen Kandidatengenen entwickelt und in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums rechts der Isar der TU München insgesamt 585 Patienten rekrutiert und genotypisiert. Zusätzlich wurde deren Genotyp bezüglich 21 weiterer Polymorphismen bestimmt, für die bereits etablierte Genotypisierungsverfahren vorhanden waren sowie die "Steady-State"-Konzentrationen der sechs häufigsten Psychopharmaka gemessen.

Darauf basierend wurde untersucht, ob Korrelationen dieser genetischen Marker mit der Wirksamkeit und Sicherheit der Psychopharmakotherapie in dieser Stichprobe nachweisbar waren.

Es wurden Polymorphismen in den folgenden für den Abbau von Psychopharmaka relevanten Genen untersucht: CYP2D6, CYP2C19, CYP1A2 und POR.

Die für Patienten mit CYP2D6-PM-Status häufig beschriebene schlechtere Verträglichkeit CYP2D6-abhängiger Psychopharmaka,^{1,456-458,472-474,485} konnte auch unter Praxisbedingungen für den Einsatz von Antidepressiva nachgewiesen werden. Zusätzlich scheint die individuelle CYP2D6-Kapazität Alterseinflüssen zu unterliegen, wie höhere Nebenwirkungsraten älterer Mirtazapin-Patienten (> 60 Jahre) in unserem Patientenkollektiv zeigen.

Unterschiede im Ansprechen auf die Therapie wie sie von einigen Autoren für Patienten mit CYP2D6-UM-Status berichtet werden,^{460-462,476} waren bei den hier untersuchten Studienteilnehmern weder unter Antidepressiva- noch unter Antipsychotikabehandlung nachweisbar. Signifikante Responseunterschiede fanden sich erst unter Verwendung des Gendosis-Systems¹¹⁴ zwischen Patienten mit Gendosen $\leq 0,5$ und ≥ 1 . Unabhängig davon, ob ein Antidepressivum oder ein Antipsychotikum verabreicht wurde, zeigten Patienten mit Gendosen $\leq 0,5$ höhere Responseraten als jene mit nur wenig beeinträchtigter CYP2D6-Aktivität (Gendosis ≥ 1). Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit beeinträchtigter CYP2D6-Funktion auch in der klinischen Praxis vermutlich durch höhere Wirkstoffkonzentrationen im Blut und am Wirkort stärkere erwünschte und unerwünschte Wirkungen haben als Patienten mit normaler Enzymfunktion. Die klinische Relevanz von Polymorphismen, die zu einer erhöhten CYP2D6-Aktivität führen, muss in größeren Stichproben überprüft werden, da in diesem Patientenkollektiv lediglich 12 (3%) der Patienten mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten einen UM-Status besaßen. Zudem muss in weiteren Studien untersucht werden, ob prätherapeutische CYP2D6-Genotypisierungen eine positive Kosten-Nutzen-Effizienz aufweisen.

Bei Patienten mit niedrigen CYP2C19-Gendosen (geringerer Metabolisierungskapazität) waren erwartungsgemäß höhere Escitalopram- und Citalopram-Spiegel zu beobachten. Unterschiede im Ansprechen auf die Therapie wurden möglicherweise durch die Entstehung aktiver Metabolite nicht festgestellt. Patienten mit IM-Status unter Escitalopram-Therapie hatten allerdings mehr kardiovaskuläre Nebenwirkungen als Patienten mit normaler Metabolisierungskapazität. Dieser Zusammenhang wurde bisher nicht beschrieben, bestätigt jedoch Berichte über Tachykardien und Tachyarrhythmien durch Verlängerung des QT-Intervalls bei Patienten mit beeinträchtigter Leberfunktion⁵⁰⁰ und sollte in einer größeren Stichprobe überprüft werden.

Lediglich 8 (5%) der Studienteilnehmer mit CYP2C19-abhängigen Psychopharmaka hatten einen CYP2C19-PM- oder UM-Status. Im Rahmen der vorliegenden Studie kann die Bedeutung dieser

Metabolisierungstypen unter Praxisbedingungen deshalb nicht beurteilt werden und eine Untersuchung in einem größeren Patientenkollektiv ist erforderlich.

Bei CYP1A2, welches u.a. am Abbau von Olanzapin und Mirtazapin beteiligt ist, konnte der in Voruntersuchungen gefundene kombinierte Einfluss genetischer Veränderungen und nicht-genetischer Faktoren (Enzym-Induktion durch Rauchen und / oder Carbamazepin-Gabe) bestätigt werden. Dies äußerte sich bei Patienten mit induziertem CYP1A2-*1F/*1F-Genotyp in einer signifikanten Reduktion der gemessenen Olanzapin- und Mirtazapin-Serumkonzentrationen. Der isolierte Effekt des *1F-Allels war geringer ausgeprägt und nicht statistisch signifikant.

CYP1A2*1F war bei Mirtazapin-Gabe möglicherweise infolge alternativer Abbauwege und aktiver Metabolite nicht mit Unterschieden im Therapieerfolg oder dem Auftreten unerwünschter Wirkungen assoziiert. Unter Therapie mit CYP1A2-abhängigen Antipsychotika zeigten sich lediglich Tendenzen zu weniger Nebenwirkungen, aber auch geringerer Zustandsverbesserung bei Patienten mit erhöhter Enzymaktivität. In weiteren Untersuchungen, die Polymorphismen in für die Metabolisierung relevanten Phase-II-Enzymen berücksichtigen,⁵⁰⁵ sollte dieser Zusammenhang in größeren Stichproben geprüft werden.

Für den hier untersuchten Polymorphismus im Gen der NADPH-Cytochrom-P450-Oxidoreduktase wurde kein Effekt auf die Serumlevel der verschiedenen CYP450-abhängigen Wirkstoffe festgestellt, allerdings war dieser bei homozygotem Vorliegen unabhängig von der verabreichten Medikation mit mehr Nebenwirkungen bei Patienten dieser Studie verbunden. Zur Klärung dieser erhöhten Nebenwirkungsraten sind Untersuchungen nötig, die weitere kürzlich gefundene Polymorphismen im POR-Gen berücksichtigen.^{190,406} Zusätzlich müssen die Auswirkungen dieser SNPs auf die Aktivität von CYP450-Enzymen *in vivo* untersucht werden, da diese anscheinend abhängig von der CYP-Subfamilie unterschiedlich stark ausgeprägt sind.^{188,201,202} Die Beantwortung der Frage, ob sich Polymorphismen im POR-Gen auf den Erfolg einer Psychopharmakotherapie auswirken, erfordert größere Patientenkollektive als in dieser Studie vorhanden. Durch die Gabe mehrerer Psychopharmaka und Komedikation, die durch unterschiedliche CYP450-Monooxygenasen verstoffwechselt werden und auch nachgeordnete Abbauwege werden die Serumkonzentrationen der verabreichten Wirkstoffe und damit die Menge am Wirkort beeinflusst. Deshalb sind in kleinen Stichproben durch diese Vielzahl an Einflussfaktoren vermutlich keine Effekte dieser Varianten nachweisbar.

Bei der Untersuchung von Polymorphismen in pharmakodynamisch relevanten Genen waren in dieser Patientenpopulation überwiegend unterschiedliche Nebenwirkungsraten zu beobachten. Einige der untersuchten Polymorphismen waren allerdings auch mit Responseunterschieden assoziiert.

Bei der Therapie mit Antidepressiva wurde für die folgenden Varianten ein Zusammenhang mit dem vermehrten Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen gefunden:

Wie auch in der STAR*D-Studie berichtet,³³⁴ hatten Patienten mit 5-HTT-L_C- oder S-Allel und SSRI-Therapie stärkere SSRI-typische Nebenwirkungen, Patienten mit zwei langen Varianten des 5-HTT VNTR-Polymorphismus litten 4-mal häufiger unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen, wenn sie serotonerge Antidepressiva erhielten. Neben diesen im Serotonintransportergen gelegenen Varianten war auch ein SNP im 5-HT_{2A}-Gen mit höheren Nebenwirkungsraten unter Therapie mit serotonergen Antidepressiva assoziiert, für den bisher nur Assoziationen zum Ansprechen unter SSRI-Therapie beschrieben wurden.²⁶⁹ Nachdem die Effekte in einer naturalistischen Patientenpopulation nachweisbar waren, können diese Varianten als klinisch relevant gelten. Allerdings können erst kontrollierte Studien beantworten, ob für eine prätherapeutische Identifizierung dieser Polymorphismen ein positives Kosten-Nutzen-Verhältnis zu erwarten ist.

Eine Variante im MAOB-Gen (X-Chromosom), das für den Monoaminabbau bedeutsam ist, zeigte ebenfalls neue Assoziationen zu unterschiedlich stark ausgeprägten Nebenwirkungen bei Patienten mit Antidepressiva. Der Zusammenhang zwischen Mutationsallel und weniger Nebenwirkungen war bei weiblichen Patienten mit SSRI, Mirtazapin und wie auch von Kang et al. berichtet unter Antipsychotika-Therapie zu beobachten.⁵⁵⁸ Bei männlichen Patienten mit Antipsychotika trat diese Assoziation nicht auf, für eine Analyse unter Antidepressiva-Therapie war die Stichprobengröße im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht ausreichend. Geschlechterunterschiede wurden allerdings auch in einer Studie zu M. Parkinson und zum Einfluss des Polymorphismus auf das Erkrankungsrisiko beschrieben.³⁴⁴ Um die Bedeutung des SNPs in der klinischen Praxis klären zu können, sollte der mögliche geschlechtsabhängige Effekt des SNPs auf die Proteinaktivität in weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden.

Auch Polymorphismen in Genen, die in die Regulation der HPA-Achse, Neurodegeneration und –transmission eingebunden sind, waren bei Patienten der vorliegenden Arbeit mit Nebenwirkungsunterschieden assoziiert. Neu sind gefundene Zusammenhänge zwischen Wildtypallelen eines SNPs im CRHR-1-Gen sowie mutierten Allelen des CRHR-2-Gens und erhöhten

Nebenwirkungsraten bei Patienten mit serotonergen Antidepressiva. Die Rolle der CRH-Rezeptorproteine bei einer antidepressiven Therapie und der Auswirkungen dieser Polymorphismen auf die Rezeptorfunktion ist bisher ungeklärt. Die Aufklärung dieser Zusammenhänge könnte vermutlich zum Verständnis der beobachteten Unterschiede hinsichtlich der auftretenden Nebenwirkungen beitragen.

Zwei Polymorphismen im FGF2-Gen, einem Wachstumsfaktor, der für die Glio- und Neurogenese wichtig ist und bei Patienten mit Depressionen anscheinend vermindert vorliegt,³⁷⁵ korrelierten ebenfalls mit erhöhten Nebenwirkungsraten. Bei beiden SNPs war das mutierte Allel mit mehr Nebenwirkungen unter Antidepressiva-Therapie verbunden und bestätigt damit eine Studie, bei der einer der SNPs mit einem Therapieabbruch in Folge von Nebenwirkungen assoziiert war.³⁷⁸ Auch hier fehlen weitergehende Untersuchungen zur Funktion beider Varianten bei der Pathogenese depressiver Störungen und in der Antidepressiva-Behandlung.

Neben dem o.g. SNP im MAOB-Gen waren Varianten der folgenden Gene mit Unterschieden im Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen unter Antipsychotika-Therapie assoziiert:

Eine Variante im 5-HTR2A-Gen, für die bereits Nebenwirkungsunterschiede bei SSRI-Patienten beobachtet wurden, war auch mit 9-fach höheren Nebenwirkungsraten bei Olanzapin-Patienten assoziiert und bestätigt damit Ergebnisse aus Voruntersuchungen.⁴²⁴

Für zwei Polymorphismen im DRD2-Gen, für die bisher nur Unterschiede im Krankheitszustand schizophrener Patienten und unterschiedliche Responseraten unter Olanzapin-Therapie beschrieben wurden,^{238,239,443} zeigten sich bei Patienten mit Wildtypallelen häufiger unerwünschte Arzneimittelwirkungen. Genotypabhängige Responseunterschiede konnten für diese SNPs in diesem Patientenkollektiv nicht nachgewiesen werden.

Insgesamt waren in dieser Kohorte deutlich weniger Polymorphismen mit signifikanten Unterschieden im Therapieansprechen als mit Nebenwirkungsunterschieden assoziiert.

Der SNP im Intron 13 des MAOB-Gens war neben weniger Nebenwirkungen auch mit einem stärkeren Response bei SSRI-Patientinnen verbunden und sollte in weiterführenden pharmakogenetischen Studien zur Therapie mit SSRI unbedingt berücksichtigt werden.

Der Therapieerfolg unter Gabe nicht-selektiver serotonerger Antidepressiva war mit einem Basenaustausch im FGF2-Gen assoziiert, der ebenfalls wie oben beschrieben mit erhöhten Nebenwirkungsraten verbunden war. Auch dieser Polymorphismus könnte nach Prüfung in größeren Patientenkollektiven für die klinische Praxis relevant sein.

Weniger medikationsspezifisch waren die für den DAT1 VNTR-Polymorphismus gefundenen Zusammenhänge, die sich bei Trägern der kurzen Genvariante in höheren Nebenwirkungs- und Responseraten unter Antidepressiva-Therapie äußerten. Auch Patienten mit kombinierter Antidepressiva-Neuroleptika-Therapie und dieser Variante hatten häufiger unerwünschte Arzneimittelwirkungen. Zur Klärung der Rolle des DAT1-9/9-Genotyps unter psychoaktiver Medikation sind weitere Untersuchungen nötig, die zum einen zusätzliche DAT1-Varianten berücksichtigen und zum anderen die Auswirkungen einer Antipsychotika-Therapie auf die Dopamin-Transporteraktivität analysieren.

Die in dieser heterogenen Studienpopulation erzielten Erkenntnisse hinsichtlich des Einflusses genetischer Veränderungen auf den Erfolg einer Psychopharmaka-Therapie bestätigen überwiegend die Ergebnisse aus kontrollierten klinischen Studien mit Einzelsubstanzen in Hinblick auf das Cytochrom-P450-System. Dies spricht für eine Relevanz der untersuchten Varianten auch im klinischen Alltag, der häufig durch die Gabe einer Vielzahl von Wirkstoffen gekennzeichnet ist. Die Identifizierung der betreffenden Polymorphismen kann in Kombination mit TDM zur Optimierung der Behandlung beitragen.⁵⁸⁹

Die Effekte im pharmakodynamischen Bereich stimmen nur zum Teil mit den in anderen Studienpopulationen gefundenen Resultaten überein. Zudem fanden sich auch neue Assoziationen, die in anderen Patientenkollektiven überprüft werden müssen. In Anbetracht der begrenzten Anzahl analysierter Polymorphismen und der Komplexität psychischer Erkrankungen ist davon auszugehen, dass die Bestimmung der genannten Varianten nur für einen Teil der Patienten, die nicht auf eine Psychopharmaka-Behandlung ansprechen und/oder unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen leiden, eine ausreichende Therapie-Optimierung darstellt.

Zur weiteren Vervollständigung der Datenlage sind wie oben dargelegt zusätzliche Studien nötig, die zum einen zur Aufklärung ursächlicher Zusammenhänge gefundener Response- und Nebenwirkungsunterschiede beitragen. Zum anderen fehlt die Analyse des Kosten-Nutzen-Verhältnis der prätherapeutischen Bestimmung pharmakogenetischer Marker.

Generell sollte dafür die Durchführung pharmakogenetischer Studien in klinischen Populationen – wie auch für die Erforschung von Biomarkern gefordert – nach bestimmten Richtlinien erfolgen, um eine bessere Vergleichbarkeit der erzielten Erkenntnisse zu erreichen.⁵⁹⁰

Sinnvoll wären dabei Vorgaben zur Art, Beschaffenheit und Lagerung des verwendeten Probenmaterials, welches in entsprechend standardisierten Biobanken international zugänglich sein sollte. Ebenso wichtig ist die Bildung von Patientengruppen, die im Hinblick auf Geschlecht, Alter, Körpergewicht, Ethnizität und Lebensumstände möglichst einheitlich sein sollten, um den Einfluss externer Störgrößen zu minimieren. Die Anwendung standardisierter Auswertemethoden mit vergleichbaren Outcome-Markern würde außerdem die Gegenüberstellung verschiedener Studien erleichtern.

Größere Patientenkollektive könnten mittels einer zentralen Datenerfassung realisiert werden. Art, Dauer und Dosis verabreichter Wirkstoffe, aber auch gescheiterte Therapieversuche und unerwünschte Arzneimittelwirkungen könnten in einer elektronischen Patientenakte erfasst werden. Mit Hilfe dieser Aufzeichnungen würden longitudinale Untersuchungen auch bei ambulanten Patienten erleichtert. Die Studie wäre nicht mehr ortsgebunden und könnte durch Abfrage der Daten zentral durchgeführt werden.

In standardisierten Probenbanken gelagertes Material könnte für eine weiterführende Analytik zur Aufklärung der Therapieresistenz und dem Auftreten von Nebenwirkungen mancher Patienten verwendet werden. Denn neben den in der vorliegenden Arbeit behandelten pharmakogenetischen Einflüssen scheinen pharmakoepigenetische Faktoren wie DNA-Methylierungen, Histonmodifikationen, ncRNAs erheblichen Einfluss auf den Erfolg einer Arzneimitteltherapie zu haben. Bisher ist dies für verschiedene Zytostatika-Therapien beschrieben. In Zelllinien konnten Einflüsse verschiedener miRNAs auf CYP450-Enzyme und ABCB1 gezeigt werden.⁵⁹¹ Allerdings fehlen bisher *in vivo*-Studien dazu. Problematisch ist hierbei die Analytik epigenetischer Marker, deren Ausprägung im Gegensatz zu genetischen Markern gewebeabhängig ist. Denkbar wäre eine Kombination aus eQTL, microRNA-Analytik und der Bestimmung von cir-DNA (circulating DNA), die das DNA-Methylierungsmuster im Gewebe widerspiegelt, um Kausalzusammenhänge festzustellen und weitere mögliche Einflussfaktoren zu identifizieren.^{592,593}

Die Kombination dieser Ansätze könnte dazu beitragen, die Nutzung genetischer Bestimmungen zukünftig zur Identifizierung von Risiko-Patienten bereits vor Therapiebeginn in den klinischen Alltag zu integrieren und durch die individuelle Auswahl geeigneter Präparate und passender Dosen die Wirksamkeit und Sicherheit der Behandlungen zu erhöhen.

Literaturverzeichnis

1. Teh, L.K. & Bertilsson, L. Pharmacogenomics of CYP2D6: Molecular Genetics, Interethnic Differences and Clinical Importance. *Drug Metab Pharmacokinet* **27**, 55-67 (2012).
2. Ingelman-Sundberg, M., Daly, A.K. & Nebert, D.W. Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. Available from: <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/>. Vol. 2010.
3. Brinkmann, U., Roots, I. & Eichelbaum, M. Pharmacogenetics of the human drug-transporter gene MDR1: impact of polymorphisms on pharmacotherapy. *Drug Discov Today* **6**, 835-839 (2001).
4. Blakey, J.D. & Hall, I.P. Current Progress in Pharmacogenetics. *Br J Clin Pharmacol*.
5. Steimer, W. Pharmacogenetics and psychoactive drug therapy: ready for the patient? *Ther Drug Monit* **32**, 381-6 (2010).
6. Trivedi, M.H. *et al.* Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* **163**, 28-40 (2006).
7. Fava, M. & Davidson, K.G. Definition and epidemiology of treatment-resistant depression. *Psychiatr Clin North Am* **19**, 179-200 (1996).
8. Miyamoto, S., Duncan, G.E., Marx, C.E. & Lieberman, J.A. Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Mol Psychiatry* **10**, 79-104 (2005).
9. Lazarou, J., Pomeranz, B.H. & Corey, P.N. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *Jama* **279**, 1200-5 (1998).
10. Davies, E.C., Green, C.F., Mottram, D.R., Rowe, P.H. & Pirmohamed, M. Emergency re-admissions to hospital due to adverse drug reactions within 1 year of the index admission. *Br J Clin Pharmacol* **70**, 749-55.
11. Buselmaier W., T.G. *Humangenetik*, (Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2007).
12. Ivanov, M., Kacevska, M. & Ingelman-Sundberg, M. Epigenomics and interindividual differences in drug response. *Clinical pharmacology and therapeutics* **92**, 727-36 (2012).
13. Rodenhiser, D. & Mann, M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *Cmaj* **174**, 341-8 (2006).
14. Archer, T., Oscar-Berman, M., Blum, K. & Gold, M. Epigenetic Modulation of Mood Disorders. *J Genet Syndr Gene Ther* **4**(2013).
15. Massirer, K.B. & Pasquinelli, A.E. The evolving role of microRNAs in animal gene expression. *Bioessays* **28**, 449-52 (2006).
16. Farh, K.K. *et al.* The widespread impact of mammalian MicroRNAs on mRNA repression and evolution. *Science* **310**, 1817-21 (2005).
17. Lim, L.P. *et al.* Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* **433**, 769-73 (2005).
18. Hiemke C., B.P. Pharmakokinetik, Pharmakogenetik und therapeutisches Drug Monitoring. in *Handbuch der Psychopharmakotherapie*, Vol. 1 (Springer Verlag, Berlin, 2008).
19. Levy, G. Pharmacologic target-mediated drug disposition. *Clin Pharmacol Ther* **56**, 248-52 (1994).
20. Kirchheiner, J. *et al.* Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* **9**, 442-73 (2004).
21. Tzvetkov, M. & von Ahsen, N. Pharmacogenetic screening for drug therapy: from single gene markers to decision making in the next generation sequencing era. *Pathology* **44**, 166-80 (2012).
22. Giacomini, K.M. *et al.* Pharmacogenomics and patient care: one size does not fit all. *Sci Transl Med* **4**, 153ps18 (2012).
23. Korf, B.R. & Rehm, H.L. New approaches to molecular diagnosis. *JAMA* **309**, 1511-21 (2013).
24. van Os, J. & Kapur, S. Schizophrenia. *Lancet* **374**, 635-45 (2009).
25. McGrath, J.J. Variations in the incidence of schizophrenia: data versus dogma. *Schizophr Bull* **32**, 195-7 (2006).
26. Cardno, A.G. *et al.* Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry* **56**, 162-8 (1999).
27. Torrey, E.F. *et al.* Paternal age as a risk factor for schizophrenia: how important is it? *Schizophr Res* **114**, 1-5 (2009).
28. Geddes, J.R. *et al.* Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis. *Schizophr Bull* **25**, 413-23 (1999).
29. Parnas, J. *et al.* Perinatal complications and clinical outcome within the schizophrenia spectrum. *Br J Psychiatry* **140**, 416-20 (1982).

30. Curran, C., Byrappa, N. & McBride, A. Stimulant psychosis: systematic review. *Br J Psychiatry* **185**, 196-204 (2004).
31. Henquet, C. *et al.* Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *Bmj* **330**, 11 (2005).
32. Allardyce, J. *et al.* Social fragmentation, deprivation and urbanicity: relation to first-admission rates for psychoses. *Br J Psychiatry* **187**, 401-6 (2005).
33. Schreier, A. *et al.* Prospective study of peer victimization in childhood and psychotic symptoms in a nonclinical population at age 12 years. *Arch Gen Psychiatry* **66**, 527-36 (2009).
34. Ptak, C. & Petronis, A. Epigenetic approaches to psychiatric disorders. *Dialogues Clin Neurosci* **12**, 25-35.
35. Tiwari, A.K., Zai, C.C., Muller, D.J. & Kennedy, J.L. Genetics in schizophrenia: where are we and what next? *Dialogues Clin Neurosci* **12**, 289-303.
36. Mill, J. *et al.* Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *Am J Hum Genet* **82**, 696-711 (2008).
37. Karayiorgou, M. *et al.* Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**, 7612-6 (1995).
38. Blackwood, D.H. *et al.* Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *Am J Hum Genet* **69**, 428-33 (2001).
39. Straub, R.E. *et al.* Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71**, 337-48 (2002).
40. Stefansson, H. *et al.* Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71**, 877-92 (2002).
41. Chumakov, I. *et al.* Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 13675-80 (2002).
42. Purcell, S.M. *et al.* Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* **460**, 748-52 (2009).
43. Mah, S. *et al.* Identification of the semaphorin receptor PLXNA2 as a candidate for susceptibility to schizophrenia. *Mol Psychiatry* **11**, 471-8 (2006).
44. Shifman, S. *et al.* Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet* **4**, e28 (2008).
45. Kirov, G. *et al.* A genome-wide association study in 574 schizophrenia trios using DNA pooling. *Mol Psychiatry* **14**, 796-803 (2009).
46. Shi, J. *et al.* Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* **460**, 753-7 (2009).
47. Sun, S. *et al.* Association between interleukin-3 receptor alpha polymorphism and schizophrenia in the Chinese population. *Neurosci Lett* **440**, 35-7 (2008).
48. O'Donovan, M.C. *et al.* Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet* **40**, 1053-5 (2008).
49. Stefansson, H. *et al.* Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature* **460**, 744-7 (2009).
50. Moon, H.J. *et al.* Identification of DNA copy-number aberrations by array-comparative genomic hybridization in patients with schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* **344**, 531-9 (2006).
51. Wilson, G.M. *et al.* DNA copy-number analysis in bipolar disorder and schizophrenia reveals aberrations in genes involved in glutamate signaling. *Hum Mol Genet* **15**, 743-9 (2006).
52. Kirov, G. *et al.* Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Hum Mol Genet* **17**, 458-65 (2008).
53. Xu, B. *et al.* Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia. *Nat Genet* **40**, 880-5 (2008).
54. Walsh, T. *et al.* Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science* **320**, 539-43 (2008).
55. Stefansson, H. *et al.* Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* **455**, 232-6 (2008).
56. ISC. Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature* **455**, 237-41 (2008).
57. Kirov, G. *et al.* Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. *Hum Mol Genet* **18**, 1497-503 (2009).
58. Murray, R.M., Lappin, J. & Di Forti, M. Schizophrenia: from developmental deviance to dopamine dysregulation. *Eur Neuropsychopharmacol* **18 Suppl 3**, S129-34 (2008).

59. Davison, G.C. & Neale, J.M. Schizophrenie. in *Klinische Psychologie*, Vol. 4 448-485 (Beltz Psychologie Verlags Union, Weinheim, 1996).
60. DIMDI. <http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlgm2010/index.htm>. (2010).
61. Glahn, D.C. *et al.* Meta-analysis of gray matter anomalies in schizophrenia: application of anatomic likelihood estimation and network analysis. *Biol Psychiatry* **64**, 774-81 (2008).
62. Vita, A., De Peri, L., Silenzi, C. & Dieci, M. Brain morphology in first-episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies. *Schizophr Res* **82**, 75-88 (2006).
63. Freedman, R. Schizophrenia. *N Engl J Med* **349**, 1738-49 (2003).
64. Kane, J.M. & Correll, C.U. Pharmacologic treatment of schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci* **12**, 345-57.
65. ADA. Consensus development conference on antipsychotic drugs and obesity and diabetes. *J Clin Psychiatry* **65**, 267-72 (2004).
66. Leucht, S., Kissling, W. & Davis, J.M. Second-generation antipsychotics for schizophrenia: can we resolve the conflict? *Psychol Med* **39**, 1591-602 (2009).
67. Geddes, J., Freemantle, N., Harrison, P. & Bebbington, P. Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis. *Bmj* **321**, 1371-6 (2000).
68. Davis, J.M., Chen, N. & Glick, I.D. A meta-analysis of the efficacy of second-generation antipsychotics. *Arch Gen Psychiatry* **60**, 553-64 (2003).
69. Kapur, S., Zipursky, R.B. & Remington, G. Clinical and theoretical implications of 5-HT₂ and D₂ receptor occupancy of clozapine, risperidone, and olanzapine in schizophrenia. *Am J Psychiatry* **156**, 286-93 (1999).
70. Meltzer, H.Y. The role of serotonin in antipsychotic drug action. *Neuropsychopharmacology* **21**, 106S-115S (1999).
71. Seeman, P. Dopamine receptor sequences. Therapeutic levels of neuroleptics occupy D₂ receptors, clozapine occupies D₄. *Neuropsychopharmacology* **7**, 261-84 (1992).
72. Bridler, R. & Umbricht, D. Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia. *Swiss Med Wkly* **133**, 63-76 (2003).
73. Muller, D.J. & Kennedy, J.L. Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. *Pharmacogenomics* **7**, 863-87 (2006).
74. Fleischhacker, W.W. *et al.* Effects of adjunctive treatment with aripiprazole on body weight and clinical efficacy in schizophrenia patients treated with clozapine: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Neuropsychopharmacol* **13**, 1115-25.
75. Volz, A., Khorsand, V., Gillies, D. & Leucht, S. Benzodiazepines for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*, CD006391 (2007).
76. Leucht, S., Kissling, W. & McGrath, J. Lithium for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003834 (2007).
77. Schwarz, C., Volz, A., Li, C. & Leucht, S. Valproate for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*, CD004028 (2008).
78. Leucht, S., Kissling, W., McGrath, J. & White, P. Carbamazepine for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*, CD001258 (2007).
79. Premkumar, T.S. & Pick, J. Lamotrigine for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev*, CD005962 (2006).
80. Haenisch, B. & Bonisch, H. Depression and antidepressants: Insights from knockout of dopamine, serotonin or noradrenaline re-uptake transporters. *Pharmacol Ther* **129**, 352-68.
81. Sullivan, P.F., Neale, M.C. & Kendler, K.S. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* **157**, 1552-62 (2000).
82. Hek, K. *et al.* The PCLO gene and depressive disorders: replication in a population-based study. *Hum Mol Genet* **19**, 731-4.
83. Sullivan, P.F. *et al.* Genome-wide association for major depressive disorder: a possible role for the presynaptic protein piccolo. *Mol Psychiatry* **14**, 359-75 (2009).
84. Waider, J., Araragi, N., Gutknecht, L. & Lesch, K.P. Tryptophan hydroxylase-2 (TPH2) in disorders of cognitive control and emotion regulation: A perspective. *Psychoneuroendocrinology*.
85. Krishnan, V. & Nestler, E.J. The molecular neurobiology of depression. *Nature* **455**, 894-902 (2008).
86. Tsankova, N.M. *et al.* Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* **9**, 519-25 (2006).

87. Dwivedi, Y. *et al.* Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* **60**, 804-15 (2003).
88. Karege, F. *et al.* Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* **109**, 143-8 (2002).
89. Holsboer, F. The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* **23**, 477-501 (2000).
90. Schule, C. *et al.* The combined dexamethasone/CRH Test (DEX/CRH test) and prediction of acute treatment response in major depression. *PLoS One* **4**, e4324 (2009).
91. Pariante, C.M. & Miller, A.H. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry* **49**, 391-404 (2001).
92. Arborelius, L., Owens, M.J., Plotsky, P.M. & Nemeroff, C.B. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *J Endocrinol* **160**, 1-12 (1999).
93. Kaffman, A. & Meaney, M.J. Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights. *J Child Psychol Psychiatry* **48**, 224-44 (2007).
94. Szyf, M., Weaver, I.C., Champagne, F.A., Diorio, J. & Meaney, M.J. Maternal programming of steroid receptor expression and phenotype through DNA methylation in the rat. *Front Neuroendocrinol* **26**, 139-62 (2005).
95. McGowan, P.O. *et al.* Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci* **12**, 342-8 (2009).
96. Coppen, A. The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry* **113**, 1237-64 (1967).
97. Baghai, T.C., Eser, D. & Moller, H.J. Effects of different antidepressant treatments on the core of depression. *Dialogues Clin Neurosci* **10**, 309-20 (2008).
98. Benkert O. , H.H. *Psychiatrische Pharmakotherapie*, (Berlin, 1996).
99. Mann, J.J. The medical management of depression. *N Engl J Med* **353**, 1819-34 (2005).
100. de Boer, T. The effects of mirtazapine on central noradrenergic and serotonergic neurotransmission. *Int Clin Psychopharmacol* **10 Suppl 4**, 19-23 (1995).
101. Richelson, E. Interactions of antidepressants with neurotransmitter transporters and receptors and their clinical relevance. *J Clin Psychiatry* **64 Suppl 13**, 5-12 (2003).
102. Khan, A. Vilazodone, a novel dual-acting serotonergic antidepressant for managing major depression. *Expert Opin Investig Drugs* **18**, 1753-64 (2009).
103. Marks, D.M., Pae, C.U. & Patkar, A.A. Triple reuptake inhibitors: the next generation of antidepressants. *Curr Neuropharmacol* **6**, 338-43 (2008).
104. Chang, T. & Fava, M. The future of psychopharmacology of depression. *J Clin Psychiatry* **71**, 971-5.
105. Nelson, D.R. The cytochrome p450 homepage. *Hum Genomics* **4**, 59-65 (2009).
106. Ingelman-Sundberg, M. & Rodriguez-Antona, C. Pharmacogenetics of drug-metabolizing enzymes: implications for a safer and more effective drug therapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **360**, 1563-70 (2005).
107. Daly, A.K. Pharmacogenetics of the cytochromes P450. *Curr Top Med Chem* **4**, 1733-44 (2004).
108. Flockhart, D. Drug Interactions: Cytochrome P450 Drug Interaction Table. Indiana University School of Medicine Vol. 2010 (2007).
109. Bishop, J.R. & Ellingrod, V.L. Neuropsychiatric pharmacogenetics: moving toward a comprehensive understanding of predicting risks and response. *Pharmacogenomics* **5**, 463-77 (2004).
110. Daly, A.K., Armstrong, M., Monkman, S.C., Idle, M.E. & Idle, J.R. Genetic and metabolic criteria for the assignment of debrisoquine 4-hydroxylation (cytochrome P4502D6) phenotypes. *Pharmacogenetics* **1**, 33-41 (1991).
111. Mahgoub, A., Idle, J.R., Dring, L.G., Lancaster, R. & Smith, R.L. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet* **2**, 584-6 (1977).
112. Eichelbaum, M., Spannbrucker, N. & Dengler, H.J. Proceedings: N-oxidation of sparteine in man and its interindividual differences. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **287 Suppl**, R94 (1975).
113. Wennerholm, A. *et al.* The African-specific CYP2D617 allele encodes an enzyme with changed substrate specificity. *Clin Pharmacol Ther* **71**, 77-88 (2002).
114. Steimer, W. *et al.* Allele-specific change of concentration and functional gene dose for the prediction of steady-state serum concentrations of amitriptyline and nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 extensive and intermediate metabolizers. *Clin Chem* **50**, 1623-33 (2004).

115. Gaedigk, A. *et al.* The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. *Clin Pharmacol Ther* **83**, 234-42 (2008).
116. Rountree, M.R., Bachman, K.E., Herman, J.G. & Baylin, S.B. DNA methylation, chromatin inheritance, and cancer. *Oncogene* **20**, 3156-65 (2001).
117. Keshet, I., Lieman-Hurwitz, J. & Cedar, H. DNA methylation affects the formation of active chromatin. *Cell* **44**, 535-43 (1986).
118. Ingelman-Sundberg, M., Sim, S.C., Gomez, A. & Rodriguez-Antona, C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacol Ther* **116**, 496-526 (2007).
119. Tsuchiya, Y., Nakajima, M., Takagi, S., Taniya, T. & Yokoi, T. MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1. *Cancer Res* **66**, 9090-8 (2006).
120. Cooney, C.A., Dave, A.A. & Wolff, G.L. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring. *J Nutr* **132**, 2393S-2400S (2002).
121. Fraga, M.F. *et al.* Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 10604-9 (2005).
122. Gaedigk, A. *et al.* CYP2D7-2D6 hybrid tandems: identification of novel CYP2D6 duplication arrangements and implications for phenotype prediction. *Pharmacogenomics* **11**, 43-53.
123. Gaedigk, A. Identification of novel CYP2D7-2D6 hybrids: non-functional and functional variants. *Frontiers in Pharmacology* **1**(2010).
124. Sachse, C., Brockmoller, J., Bauer, S. & Roots, I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* **60**, 284-95 (1997).
125. Dahl, M.L., Johansson, I., Bertilsson, L., Ingelman-Sundberg, M. & Sjoqvist, F. Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* **274**, 516-20 (1995).
126. Griese, E.U. *et al.* Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* **8**, 15-26 (1998).
127. Kagimoto, M., Heim, M., Kagimoto, K., Zeugin, T. & Meyer, U.A. Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 gene (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. Study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem* **265**, 17209-14 (1990).
128. Gaedigk, A., Blum, M., Gaedigk, R., Eichelbaum, M. & Meyer, U.A. Deletion of the entire cytochrome P450 CYP2D6 gene as a cause of impaired drug metabolism in poor metabolizers of the debrisoquine/sparteine polymorphism. *Am J Hum Genet* **48**, 943-50 (1991).
129. Saxena, R. *et al.* Identification of a new variant CYP2D6 allele with a single base deletion in exon 3 and its association with the poor metabolizer phenotype. *Hum Mol Genet* **3**, 923-6 (1994).
130. Evert, B., Griese, E.U. & Eichelbaum, M. A missense mutation in exon 6 of the CYP2D6 gene leading to a histidine 324 to proline exchange is associated with the poor metabolizer phenotype of sparteine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **350**, 434-9 (1994).
131. Broly, F. *et al.* A nonsense mutation in the cytochrome P450 CYP2D6 gene identified in a Caucasian with an enzyme deficiency. *Hum Genet* **96**, 601-3 (1995).
132. Tyndale, R. *et al.* Identification of a new variant CYP2D6 allele lacking the codon encoding Lys-281: possible association with the poor metabolizer phenotype. *Pharmacogenetics* **1**, 26-32 (1991).
133. Yokota, H. *et al.* Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. *Pharmacogenetics* **3**, 256-63 (1993).
134. Raimundo, S. *et al.* A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* **76**, 128-38 (2004).
135. Kupfer A., D.B., Presig R. . A new drug hydroxylation polymorphism in man: The incidence of mephenytoin hydroxylation deficient phenotypes in a European population study. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology* **321**, R33 (1982).
136. Klotz, U. Clinical impact of CYP2C19 polymorphism on the action of proton pump inhibitors: a review of a special problem. *Int J Clin Pharmacol Ther* **44**, 297-302 (2006).
137. Coller, J.K., Somogyi, A.A. & Bochner, F. Association between CYP2C19 genotype and proguanil oxidative polymorphism. *Br J Clin Pharmacol* **43**, 659-60 (1997).
138. Fukasawa, T., Suzuki, A. & Otani, K. Effects of genetic polymorphism of cytochrome P450 enzymes on the pharmacokinetics of benzodiazepines. *J Clin Pharm Ther* **32**, 333-41 (2007).
139. Hirt, D. *et al.* Effect of CYP2C19 polymorphism on nelfinavir to M8 biotransformation in HIV patients. *Br J Clin Pharmacol* **65**, 548-57 (2008).

140. Murayama, N., Imai, N., Nakane, T., Shimizu, M. & Yamazaki, H. Roles of CYP3A4 and CYP2C19 in methyl hydroxylated and N-oxidized metabolite formation from voriconazole, a new anti-fungal agent, in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* **73**, 2020-6 (2007).
141. Timm, R. *et al.* Association of cyclophosphamide pharmacokinetics to polymorphic cytochrome P450 2C19. *Pharmacogenomics J* **5**, 365-73 (2005).
142. Uttamsingh, V., Lu, C., Miwa, G. & Gan, L.S. Relative contributions of the five major human cytochromes P450, 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, and 3A4, to the hepatic metabolism of the proteasome inhibitor bortezomib. *Drug Metab Dispos* **33**, 1723-8 (2005).
143. Li, Y. *et al.* Polymorphisms of CYP2C19 gene are associated with the efficacy of thalidomide based regimens in multiple myeloma. *Haematologica* **92**, 1246-9 (2007).
144. Hartter, S., Tybring, G., Friedberg, T., Weigmann, H. & Hiemke, C. The N-demethylation of the doxepin isomers is mainly catalyzed by the polymorphic CYP2C19. *Pharm Res* **19**, 1034-7 (2002).
145. Kirchheiner, J. *et al.* Effects of polymorphisms in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 on trimipramine pharmacokinetics. *J Clin Psychopharmacol* **23**, 459-66 (2003).
146. Ferguson, R.J. *et al.* A new genetic defect in human CYP2C19: mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther* **284**, 356-61 (1998).
147. de Morais, S.M. *et al.* The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* **269**, 15419-22 (1994).
148. De Morais, S.M. *et al.* Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol* **46**, 594-8 (1994).
149. Yu, B.N. *et al.* Pharmacokinetics of citalopram in relation to genetic polymorphism of CYP2C19. *Drug Metab Dispos* **31**, 1255-9 (2003).
150. Tsai, M.H. *et al.* Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes influence metabolism of the antidepressant escitalopram and treatment response. *Pharmacogenomics* **11**, 537-46.
151. Sindrup, S.H. *et al.* Pharmacokinetics of citalopram in relation to the sparteine and the mephenytoin oxidation polymorphisms. *Ther Drug Monit* **15**, 11-7 (1993).
152. Herrlin, K. *et al.* Metabolism of citalopram enantiomers in CYP2C19/CYP2D6 phenotyped panels of healthy Swedes. *Br J Clin Pharmacol* **56**, 415-21 (2003).
153. Sim, S.C. *et al.* A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin Pharmacol Ther* **79**, 103-13 (2006).
154. Rudberg, I., Mohebi, B., Hermann, M., Refsum, H. & Molden, E. Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther* **83**, 322-7 (2008).
155. Ohlsson Rosenborg, S. *et al.* Kinetics of omeprazole and escitalopram in relation to the CYP2C19*17 allele in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* **64**, 1175-9 (2008).
156. Baldwin, R.M. *et al.* Increased omeprazole metabolism in carriers of the CYP2C19*17 allele; a pharmacokinetic study in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* **65**, 767-74 (2008).
157. de Vos, A., van der Weide, J. & Loovers, H.M. Association between CYP2C19*17 and metabolism of amitriptyline, citalopram and clomipramine in Dutch hospitalized patients. *Pharmacogenomics J* (2010).
158. Sibbing, D. *et al.* Cytochrome 2C19*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* **121**, 512-8.
159. Rudberg, I., Hermann, M., Refsum, H. & Molden, E. Serum concentrations of sertraline and N-desmethyl sertraline in relation to CYP2C19 genotype in psychiatric patients. *Eur J Clin Pharmacol* **64**, 1181-8 (2008).
160. Ishizawa, Y., Yasui-Furukori, N., Takahata, T., Sasaki, M. & Tateishi, T. The effect of aging on the relationship between the cytochrome P450 2C19 genotype and omeprazole pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* **44**, 1179-89 (2005).
161. Rodrigues, A.D. & Lu, P. Is 17alpha-ethinyl estradiol an inhibitor of cytochrome P450 2C19? *Drug Metab Dispos* **32**, 364-5 (2004).
162. Williams, M.L. *et al.* A discordance of the cytochrome P450 2C19 genotype and phenotype in patients with advanced cancer. *Br J Clin Pharmacol* **49**, 485-8 (2000).
163. Frye, R.F., Schneider, V.M., Frye, C.S. & Feldman, A.M. Plasma levels of TNF-alpha and IL-6 are inversely related to cytochrome P450-dependent drug metabolism in patients with congestive heart failure. *J Card Fail* **8**, 315-9 (2002).

164. Zhou, S.F., Yang, L.P., Zhou, Z.W., Liu, Y.H. & Chan, E. Insights into the substrate specificity, inhibitors, regulation, and polymorphisms and the clinical impact of human cytochrome P450 1A2. *Aaps J* **11**, 481-94 (2009).
165. Rendic, S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev* **34**, 83-448 (2002).
166. Ma, Q. & Lu, A.Y. CYP1A induction and human risk assessment: an evolving tale of in vitro and in vivo studies. *Drug Metab Dispos* **35**, 1009-16 (2007).
167. Oscarson, M. *et al.* Transcriptional profiling of genes induced in the livers of patients treated with carbamazepine. *Clin Pharmacol Ther* **80**, 440-456 (2006).
168. Magnusson, M.O., Dahl, M.L., Cederberg, J., Karlsson, M.O. & Sandstrom, R. Pharmacodynamics of carbamazepine-mediated induction of CYP3A4, CYP1A2, and Pgp as assessed by probe substrates midazolam, caffeine, and digoxin. *Clin Pharmacol Ther* **84**, 52-62 (2008).
169. Peterson, S. *et al.* CYP1A2, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms and diet effects on CYP1A2 activity in a crossover feeding trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **18**, 3118-25 (2009).
170. Sesardic, D., Boobis, A.R., Edwards, R.J. & Davies, D.S. A form of cytochrome P450 in man, orthologous to form d in the rat, catalyses the O-deethylation of phenacetin and is inducible by cigarette smoking. *Br J Clin Pharmacol* **26**, 363-72 (1988).
171. van der Weide, J., Steijns, L.S. & van Weelden, M.J. The effect of smoking and cytochrome P450 CYP1A2 genetic polymorphism on clozapine clearance and dose requirement. *Pharmacogenetics* **13**, 169-72 (2003).
172. Lowe, E.J. & Ackman, M.L. Impact of tobacco smoking cessation on stable clozapine or olanzapine treatment. *Ann Pharmacother* **44**, 727-32.
173. Haslemo, T., Eikeseth, P.H., Tanum, L., Molden, E. & Refsum, H. The effect of variable cigarette consumption on the interaction with clozapine and olanzapine. *Eur J Clin Pharmacol* **62**, 1049-53 (2006).
174. Ikeya, K. *et al.* Human CYP1A2: sequence, gene structure, comparison with the mouse and rat orthologous gene, and differences in liver 1A2 mRNA expression. *Mol Endocrinol* **3**, 1399-408 (1989).
175. Relling, M.V., Lin, J.S., Ayers, G.D. & Evans, W.E. Racial and gender differences in N-acetyltransferase, xanthine oxidase, and CYP1A2 activities. *Clin Pharmacol Ther* **52**, 643-58 (1992).
176. Fuhr, U., Klittich, K. & Staib, A.H. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man. *Br J Clin Pharmacol* **35**, 431-6 (1993).
177. Faber, M.S., Jetter, A. & Fuhr, U. Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: why, how, and when? *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **97**, 125-34 (2005).
178. Dorado, P., Berecz, R., Penas-Lledo, E.M., de la Rubia, A. & Llerena, A. No effect of the CYP1A2*1F genotype on thioridazine, mesoridazine, sulforidazine plasma concentrations in psychiatric patients. *Eur J Clin Pharmacol* **63**, 527-8 (2007).
179. Rasmussen, B.B., Brix, T.H., Kyvik, K.O. & Broesen, K. The interindividual differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. *Pharmacogenetics* **12**, 473-8 (2002).
180. Chida, M. *et al.* Detection of three genetic polymorphisms in the 5'-flanking region and intron 1 of human CYP1A2 in the Japanese population. *Jpn J Cancer Res* **90**, 899-902 (1999).
181. Sachse, C., Brockmoller, J., Bauer, S. & 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* **47**, 445-9 (1999).
182. Ghotbi, R. *et al.* Comparisons of CYP1A2 genetic polymorphisms, enzyme activity and the genotype-phenotype relationship in Swedes and Koreans. *Eur J Clin Pharmacol* **63**, 537-46 (2007).
183. Eap, C.B. *et al.* Nonresponse to clozapine and ultrarapid CYP1A2 activity: clinical data and analysis of CYP1A2 gene. *J Clin Psychopharmacol* **24**, 214-9 (2004).
184. Ozdemir, V. *et al.* Treatment-resistance to clozapine in association with ultrarapid CYP1A2 activity and the C-->A polymorphism in intron 1 of the CYP1A2 gene: effect of grapefruit juice and low-dose fluvoxamine. *J Clin Psychopharmacol* **21**, 603-7 (2001).
185. Hartter, S. *et al.* Effect of caffeine intake 12 or 24 hours prior to melatonin intake and CYP1A2*1F polymorphism on CYP1A2 phenotyping by melatonin. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **99**, 300-4 (2006).
186. Bohanec Grabar, P. *et al.* Genetic polymorphism of CYP1A2 and the toxicity of leflunomide treatment in rheumatoid arthritis patients. *Eur J Clin Pharmacol* **64**, 871-6 (2008).

187. Yasukochi, Y. & Masters, B.S. Some properties of a detergent-solubilized NADPH-cytochrome c(cytochrome P-450) reductase purified by biospecific affinity chromatography. *J Biol Chem* **251**, 5337-44 (1976).
188. Hart, S.N. & Zhong, X.B. P450 oxidoreductase: genetic polymorphisms and implications for drug metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **4**, 439-52 (2008).
189. Fluck, C.E. *et al.* Mutant P450 oxidoreductase causes disordered steroidogenesis with and without Antley-Bixler syndrome. *Nat Genet* **36**, 228-30 (2004).
190. Huang, N. *et al.* Diversity and function of mutations in p450 oxidoreductase in patients with Antley-Bixler syndrome and disordered steroidogenesis. *Am J Hum Genet* **76**, 729-49 (2005).
191. Fluck, C.E., Pandey, A.V., Huang, N., Agrawal, V. & Miller, W.L. P450 oxidoreductase deficiency - a new form of congenital adrenal hyperplasia. *Endocr Dev* **13**, 67-81 (2008).
192. Schmucker, D.L. *et al.* Effects of age and gender on in vitro properties of human liver microsomal monooxygenases. *Clin Pharmacol Ther* **48**, 365-74 (1990).
193. Guengerich, F.P. Cytochrome P450: what have we learned and what are the future issues? *Drug Metab Rev* **36**, 159-97 (2004).
194. Agrawal, V., Huang, N. & Miller, W.L. Pharmacogenetics of P450 oxidoreductase: effect of sequence variants on activities of CYP1A2 and CYP2C19. *Pharmacogenet Genomics* **18**, 569-76 (2008).
195. Kranendonk, M. *et al.* Impairment of human CYP1A2-mediated xenobiotic metabolism by Antley-Bixler syndrome variants of cytochrome P450 oxidoreductase. *Arch Biochem Biophys* **475**, 93-9 (2008).
196. Miller, W.L., Huang, N., Agrawal, V. & Giacomini, K.M. Genetic variation in human P450 oxidoreductase. *Mol Cell Endocrinol* **300**, 180-4 (2009).
197. Dhir, V. *et al.* Differential inhibition of CYP17A1 and CYP21A2 activities by the P450 oxidoreductase mutant A287P. *Mol Endocrinol* **21**, 1958-68 (2007).
198. Pandey, A.V., Kempna, P., Hofer, G., Mullis, P.E. & Fluck, C.E. Modulation of human CYP19A1 activity by mutant NADPH P450 oxidoreductase. *Mol Endocrinol* **21**, 2579-95 (2007).
199. Huang, N., Agrawal, V., Giacomini, K.M. & Miller, W.L. Genetics of P450 oxidoreductase: sequence variation in 842 individuals of four ethnicities and activities of 15 missense mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 1733-8 (2008).
200. Feidt, D.M., Klein, K., Nussler, A. & Zanger, U.M. RNA-interference approach to study functions of NADPH : cytochrome P450 oxidoreductase in human hepatocytes. *Chem Biodivers* **6**, 2084-91 (2009).
201. Hart, S.N. *et al.* Genetic polymorphisms in cytochrome P450 oxidoreductase influence microsomal P450-catalyzed drug metabolism. *Pharmacogenet Genomics* **18**, 11-24 (2008).
202. Gomes, A.M. *et al.* Pharmacogenomics of human liver cytochrome P450 oxidoreductase: multifactorial analysis and impact on microsomal drug oxidation. *Pharmacogenomics* **10**, 579-99 (2009).
203. Mutschler, E. *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie; mit einführenden Kapiteln in die Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie*, (Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 2001).
204. Uhr, M., Steckler, T., Yassouridis, A. & Holsboer, F. Penetration of amitriptyline, but not of fluoxetine, into brain is enhanced in mice with blood-brain barrier deficiency due to mdr1a P-glycoprotein gene disruption. *Neuropsychopharmacology* **22**, 380-7 (2000).
205. Uhr, M. *et al.* Polymorphisms in the drug transporter gene ABCB1 predict antidepressant treatment response in depression. *Neuron* **57**, 203-9 (2008).
206. Uhr, M., Grauer, M.T. & Holsboer, F. Differential enhancement of antidepressant penetration into the brain in mice with abcb1ab (mdr1ab) P-glycoprotein gene disruption. *Biol Psychiatry* **54**, 840-6 (2003).
207. Schmitt, U. *et al.* Cyclosporine A (CsA) affects the pharmacodynamics and pharmacokinetics of the atypical antipsychotic amisulpride probably via inhibition of P-glycoprotein (P-gp). *J Neural Transm* **113**, 787-801 (2006).
208. Wang, J.S. *et al.* Aripiprazole brain concentration is altered in P-glycoprotein deficient mice. *Schizophr Res* **110**, 90-4 (2009).
209. Boulton, D.W., DeVane, C.L., Liston, H.L. & Markowitz, J.S. In vitro P-glycoprotein affinity for atypical and conventional antipsychotics. *Life Sci* **71**, 163-9 (2002).
210. Zhang, L., Strong, J.M., Qiu, W., Lesko, L.J. & Huang, S.M. Scientific perspectives on drug transporters and their role in drug interactions. *Mol Pharm* **3**, 62-9 (2006).
211. Kimchi-Sarfaty, C. *et al.* A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science* **315**, 525-8 (2007).

212. Xing, Q. *et al.* Polymorphisms of the ABCB1 gene are associated with the therapeutic response to risperidone in Chinese schizophrenia patients. *Pharmacogenomics* **7**, 987-93 (2006).
213. Lin, Y.C., Ellingrod, V.L., Bishop, J.R. & Miller, D.D. The relationship between P-glycoprotein (PGP) polymorphisms and response to olanzapine treatment in schizophrenia. *Ther Drug Monit* **28**, 668-72 (2006).
214. Bozina, N. *et al.* Associations between MDR1 gene polymorphisms and schizophrenia and therapeutic response to olanzapine in female schizophrenic patients. *J Psychiatr Res* **42**, 89-97 (2008).
215. Roberts, R.L., Joyce, P.R., Mulder, R.T., Begg, E.J. & Kennedy, M.A. A common P-glycoprotein polymorphism is associated with nortriptyline-induced postural hypotension in patients treated for major depression. *Pharmacogenomics J* **2**, 191-6 (2002).
216. Kato, M. *et al.* ABCB1 (MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **32**, 398-404 (2008).
217. Dong, C., Wong, M.L. & Licinio, J. Sequence variations of ABCB1, SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* **14**, 1105-18 (2009).
218. Choong, E., Dobrin, M., Carrupt, P.A. & Eap, C.B. The permeability P-glycoprotein: a focus on enantioselectivity and brain distribution. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **6**, 953-65.
219. Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M. & Caron, M.G. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* **78**, 189-225 (1998).
220. Laruelle, M. Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q J Nucl Med* **42**, 211-21 (1998).
221. Ebert, D. *Psychiatrie systematisch*, (UNI-MED Verlag, Bremen, 2003).
222. Suzuki, A. *et al.* The -141C Ins/Del polymorphism in the dopamine D2 receptor gene promoter region is associated with anxiolytic and antidepressive effects during treatment with dopamine antagonists in schizophrenic patients. *Pharmacogenetics* **11**, 545-50 (2001).
223. Huuhka, K. *et al.* Dopamine 2 receptor C957T and catechol-o-methyltransferase Val158Met polymorphisms are associated with treatment response in electroconvulsive therapy. *Neurosci Lett* **448**, 79-83 (2008).
224. Zhang, J.P., Lencz, T. & Malhotra, A.K. D2 receptor genetic variation and clinical response to antipsychotic drug treatment: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* **167**, 763-72 (2010).
225. Koks, S. *et al.* Analysis of SNP profiles in patients with major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* **9**, 167-74 (2006).
226. Leszczynska-Rodziewicz, A. *et al.* Lack of association between polymorphisms of dopamine receptors, type D2, and bipolar affective illness in a Polish population. *Med Sci Monit* **11**, CR289-295 (2005).
227. Cusin, C. *et al.* Association study of MAO-A, COMT, 5-HT2A, DRD2, and DRD4 polymorphisms with illness time course in mood disorders. *Am J Med Genet* **114**, 380-90 (2002).
228. Massat, I. *et al.* Positive association of dopamine D2 receptor polymorphism with bipolar affective disorder in a European Multicenter Association Study of affective disorders. *Am J Med Genet* **114**, 177-85 (2002).
229. Heiden, A. *et al.* Association studies of candidate genes in bipolar disorders. *Neuropsychobiology* **42 Suppl 1**, 18-21 (2000).
230. Li, T. *et al.* Association analysis between dopamine receptor genes and bipolar affective disorder. *Psychiatry Res* **86**, 193-201 (1999).
231. Savoye, C. *et al.* No association between dopamine D1, D2, and D3 receptor genes and manic-depressive illness. *Biol Psychiatry* **44**, 644-7 (1998).
232. Arinami, T., Gao, M., Hamaguchi, H. & Toru, M. A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet* **6**, 577-82 (1997).
233. Stober, G. *et al.* Insertion/deletion variant (-141C Ins/Del) in the 5' regulatory region of the dopamine D2 receptor gene: lack of association with schizophrenia and bipolar affective disorder. Short communication. *J Neural Transm* **105**, 101-9 (1998).
234. Zou, Y.F. *et al.* Association of DRD2 gene polymorphisms with mood disorders: A meta-analysis. *J Affect Disord*.
235. Zhang, Y. *et al.* Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 20552-7 (2007).

236. Centonze, D. *et al.* Differential contribution of dopamine D2S and D2L receptors in the modulation of glutamate and GABA transmission in the striatum. *Neuroscience* **129**, 157-66 (2004).
237. Schmidt, R.F. & Lang, F. *Physiologie des Menschen*, (Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2007).
238. Bertolino, A. *et al.* Functional variants of the dopamine receptor D2 gene modulate prefronto-striatal phenotypes in schizophrenia. *Brain* **132**, 417-25 (2009).
239. Blasi, G. *et al.* DRD2/AKT1 interaction on D2 c-AMP independent signaling, attentional processing, and response to olanzapine treatment in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 1158-63 (2011).
240. Gainetdinov, R.R., Jones, S.R., Fumagalli, F., Wightman, R.M. & Caron, M.G. Re-evaluation of the role of the dopamine transporter in dopamine system homeostasis. *Brain Res Brain Res Rev* **26**, 148-53 (1998).
241. Jones, S.R. *et al.* Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 4029-34 (1998).
242. Giros, B., Jaber, M., Jones, S.R., Wightman, R.M. & Caron, M.G. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* **379**, 606-12 (1996).
243. Jones, S.R. *et al.* Loss of autoreceptor functions in mice lacking the dopamine transporter. *Nat Neurosci* **2**, 649-55 (1999).
244. Martinez, D. *et al.* The variable number of tandem repeats polymorphism of the dopamine transporter gene is not associated with significant change in dopamine transporter phenotype in humans. *Neuropsychopharmacology* **24**, 553-60 (2001).
245. Roy, A. *et al.* Cerebrospinal fluid monoamine and monoamine metabolite concentrations in melancholia. *Psychiatry Res* **15**, 281-92 (1985).
246. Meyer, J.H. *et al.* Lower dopamine transporter binding potential in striatum during depression. *Neuroreport* **12**, 4121-5 (2001).
247. Kirchheiner, J., Grundemann, D. & Schomig, E. Contribution of allelic variations in transporters to the phenotype of drug response. *J Psychopharmacol* **20**, 27-32 (2006).
248. van Dyck, C.H. *et al.* Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. *J Nucl Med* **46**, 745-51 (2005).
249. Lafuente, A. *et al.* Dopamine transporter (DAT) genotype (VNTR) and phenotype in extrapyramidal symptoms induced by antipsychotics. *Schizophr Res* **90**, 115-22 (2007).
250. Mill, J., Asherson, P., Craig, I. & D'Souza, U.M. Transient expression analysis of allelic variants of a VNTR in the dopamine transporter gene (DAT1). *BMC Genet* **6**, 3 (2005).
251. VanNess, S.H., Owens, M.J. & Kilts, C.D. The variable number of tandem repeats element in DAT1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genet* **6**, 55 (2005).
252. Leysen, J.E. 5-HT₂ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* **3**, 11-26 (2004).
253. Quirion, R., Richard, J. & Dam, T.V. Evidence for the existence of serotonin type-2 receptors on cholinergic terminals in rat cortex. *Brain Res* **333**, 345-9 (1985).
254. Aghajanian, G.K. & Marek, G.J. Serotonin model of schizophrenia: emerging role of glutamate mechanisms. *Brain Res Brain Res Rev* **31**, 302-12 (2000).
255. Pazos, A., Probst, A. & Palacios, J.M. Serotonin receptors in the human brain--IV. Autoradiographic mapping of serotonin-2 receptors. *Neuroscience* **21**, 123-39 (1987).
256. Arora, R.C. & Meltzer, H.Y. Serotonin (5-HT₂) receptor binding in the frontal cortex of schizophrenic patients. *J Neural Transm Gen Sect* **85**, 19-29 (1991).
257. Hernandez, I. & Sokolov, B.P. Abnormalities in 5-HT_{2A} receptor mRNA expression in frontal cortex of chronic elderly schizophrenics with varying histories of neuroleptic treatment. *J Neurosci Res* **59**, 218-25 (2000).
258. Laruelle, M. *et al.* Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia. A postmortem study. *Arch Gen Psychiatry* **50**, 810-8 (1993).
259. Verhoeff, N.P. *et al.* A voxel-by-voxel analysis of [18F]setoperone PET data shows no substantial serotonin 5-HT(2A) receptor changes in schizophrenia. *Psychiatry Res* **99**, 123-35 (2000).
260. Meltzer, H.Y., Matsubara, S. & Lee, J.C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pKi values. *J Pharmacol Exp Ther* **251**, 238-46 (1989).
261. Meltzer, H.Y. & McGurk, S.R. The effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on cognitive function in schizophrenia. *Schizophr Bull* **25**, 233-55 (1999).

262. Altar, C.A., Wasley, A.M., Neale, R.F. & Stone, G.A. Typical and atypical antipsychotic occupancy of D2 and S2 receptors: an autoradiographic analysis in rat brain. *Brain Res Bull* **16**, 517-25 (1986).
263. Frazer, A. Pharmacology of antidepressants. *J Clin Psychopharmacol* **17 Suppl 1**, 2S-18S (1997).
264. Taylor, D.P. *et al.* Pharmacology and neurochemistry of nefazodone, a novel antidepressant drug. *J Clin Psychiatry* **56 Suppl 6**, 3-11 (1995).
265. Newton, R.A. & Elliott, J.M. Mianserin-induced down-regulation of human 5-hydroxytryptamine_{2A} and 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors stably expressed in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *J Neurochem* **69**, 1031-8 (1997).
266. Gray, J.A. & Roth, B.L. Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT_{2A} receptors by agonists and antagonists. *Brain Res Bull* **56**, 441-51 (2001).
267. Yamauchi, M., Miyara, T., Matsushima, T. & Imanishi, T. Desensitization of 5-HT_{2A} receptor function by chronic administration of selective serotonin reuptake inhibitors. *Brain Res* **1067**, 164-9 (2006).
268. Laje, G. *et al.* Genetic variation in HTR2A influences serotonin transporter binding potential as measured using PET and [¹¹C]DASB. *Int J Neuropsychopharmacol* **13**, 715-24.
269. McMahon, F.J. *et al.* Variation in the gene encoding the serotonin 2A receptor is associated with outcome of antidepressant treatment. *Am J Hum Genet* **78**, 804-14 (2006).
270. Kishi, T. *et al.* HTR2A is associated with SSRI response in Major Depressive Disorder in a Japanese cohort. *Neuromolecular Med* **12**, 237-42.
271. Horstmann, S. *et al.* Polymorphisms in GRIK4, HTR2A, and FKBP5 show interactive effects in predicting remission to antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology* **35**, 727-40.
272. Bufton, K.E., Steward, L.J., Barber, P.C. & Barnes, N.M. Distribution and characterization of the [³H]granisetron-labelled 5-HT₃ receptor in the human forebrain. *Neuropharmacology* **32**, 1325-31 (1993).
273. Parker, R.M., Barnes, J.M., Ge, J., Barber, P.C. & Barnes, N.M. Autoradiographic distribution of [³H]-(S)-zacopride-labelled 5-HT₃ receptors in human brain. *J Neurol Sci* **144**, 119-27 (1996).
274. Rajkumar, R. & Mahesh, R. The auspicious role of the 5-HT₃ receptor in depression: a probable neuronal target? *J Psychopharmacol* **24**, 455-69.
275. Barnes, N.M. & Sharp, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* **38**, 1083-152 (1999).
276. Peters, J.A. & Lambert, J.J. Electrophysiology of 5-HT₃ receptors in neuronal cell lines. *Trends Pharmacol Sci* **10**, 172-5 (1989).
277. Peters, J.A., Malone, H.M. & Lambert, J.J. Recent advances in the electrophysiological characterization of 5-HT₃ receptors. *Trends Pharmacol Sci* **13**, 391-7 (1992).
278. Davies, P.A. *et al.* The 5-HT_{3B} subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature* **397**, 359-63 (1999).
279. Bruss, M., Gothert, M., Hayer, M. & Bonisch, H. Molecular cloning of alternatively spliced human 5-HT₃ receptor cDNAs. *Ann N Y Acad Sci* **861**, 234-5 (1998).
280. Bruss, M. *et al.* Modified 5-HT_{3A} receptor function by co-expression of alternatively spliced human 5-HT_{3A} receptor isoforms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **362**, 392-401 (2000).
281. Barnes, N.M., Hales, T.G., Lummis, S.C. & Peters, J.A. The 5-HT₃ receptor--the relationship between structure and function. *Neuropharmacology* **56**, 273-84 (2009).
282. Jensen, A.A., Davies, P.A., Brauner-Osborne, H. & Krzywkowski, K. 3B but which 3B and that's just one of the questions: the heterogeneity of human 5-HT₃ receptors. *Trends Pharmacol Sci* **29**, 437-44 (2008).
283. Niesler, B. *et al.* Characterization of the novel human serotonin receptor subunits 5-HT_{3C}, 5-HT_{3D}, and 5-HT_{3E}. *Mol Pharmacol* **72**, 8-17 (2007).
284. Mahesh, R., Perumal, R.V. & Pandi, P.V. Cancer chemotherapy-induced nausea and vomiting: role of mediators, development of drugs and treatment methods. *Pharmazie* **60**, 83-96 (2005).
285. Faris, P.L. *et al.* Evidence for a vagal pathophysiology for bulimia nervosa and the accompanying depressive symptoms. *J Affect Disord* **92**, 79-90 (2006).
286. Haus, U., Varga, B., Stratz, T., Spath, M. & Muller, W. Oral treatment of fibromyalgia with tropisetron given over 28 days: influence on functional and vegetative symptoms, psychometric parameters and pain. *Scand J Rheumatol Suppl* **113**, 55-8 (2000).
287. Hewlett, W.A., Schmid, S.P. & Salomon, R.M. Pilot trial of ondansetron in the treatment of 8 patients with obsessive-compulsive disorder. *J Clin Psychiatry* **64**, 1025-30 (2003).

288. Johnson, B.A., Ait-Daoud, N., Ma, J.Z. & Wang, Y. Ondansetron reduces mood disturbance among biologically predisposed, alcohol-dependent individuals. *Alcohol Clin Exp Res* **27**, 1773-9 (2003).
289. Becker, C. *et al.* Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystikinin. *Mol Psychiatry* **13**, 1079-92 (2008).
290. Berendsen, H.H. & Broekkamp, C.L. Indirect in vivo 5-HT_{1A}-agonistic effects of the new antidepressant mirtazapine. *Psychopharmacology (Berl)* **133**, 275-82 (1997).
291. Mahesh, R., Rajkumar, R., Minasri, B. & Venkatesha Perumal, R. Potential antidepressants: pharmacology of 2-(4-methyl piperazin-1-yl)-1,8-naphthyridine-3-carbonitrile in rodent behavioural models. *Pharmazie* **62**, 919-24 (2007).
292. Bourin, M., Hascoet, M., Colombel, M.C., Redrobe, J.P. & Baker, G.B. Differential effects of clonidine, lithium and quinine in the forced swimming test in mice for antidepressants: possible roles of serotonergic systems. *Eur Neuropsychopharmacol* **6**, 231-6 (1996).
293. Redrobe, J.P. & Bourin, M. Partial role of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the activity of antidepressants in the mouse forced swimming test. *Eur J Pharmacol* **325**, 129-35 (1997).
294. Bravo, G. & Maswood, S. Acute treatment with 5-HT₃ receptor antagonist, tropisetron, reduces immobility in intact female rats exposed to the forced swim test. *Pharmacol Biochem Behav* **85**, 362-8 (2006).
295. Ramamoorthy, R., Radhakrishnan, M. & Borah, M. Antidepressant-like effects of serotonin type-3 antagonist, ondansetron: an investigation in behaviour-based rodent models. *Behav Pharmacol* **19**, 29-40 (2008).
296. Anttila, S.A. & Leinonen, E.V. A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine. *CNS Drug Rev* **7**, 249-64 (2001).
297. Delgado, P.L. & Moreno, F.A. Role of norepinephrine in depression. *J Clin Psychiatry* **61 Suppl 1**, 5-12 (2000).
298. De Deurwaerdere, P., Moison, D., Navailles, S., Porrás, G. & Spampinato, U. Regionally and functionally distinct serotonin₃ receptors control in vivo dopamine outflow in the rat nucleus accumbens. *J Neurochem* **94**, 140-9 (2005).
299. Kankaanpää, A., Meririnne, E. & Seppälä, T. 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 attenuates cocaine- and mazindol-, but not methylphenidate-induced neurochemical and behavioral effects in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* **159**, 341-50 (2002).
300. Dremencov, E., Weizmann, Y., Kinor, N., Gispan-Herman, I. & Yádid, G. Modulation of dopamine transmission by 5HT_{2C} and 5HT₃ receptors: a role in the antidepressant response. *Curr Drug Targets* **7**, 165-75 (2006).
301. White, A., Corn, T.H., Feetham, C. & Faulconbridge, C. Ondansetron in treatment of schizophrenia. *Lancet* **337**, 1173 (1991).
302. Sirota, P., Mosheva, T., Shabtay, H., Giladi, N. & Korczyn, A.D. Use of the selective serotonin 3 receptor antagonist ondansetron in the treatment of neuroleptic-induced tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* **157**, 287-9 (2000).
303. Zhang, Z.J. *et al.* Beneficial effects of ondansetron as an adjunct to haloperidol for chronic, treatment-resistant schizophrenia: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Schizophr Res* **88**, 102-10 (2006).
304. Maziade, M. *et al.* Linkage results on 11Q21-22 in Eastern Quebec pedigrees densely affected by schizophrenia. *Am J Med Genet* **60**, 522-8 (1995).
305. Levinson, D.F. *et al.* Genome scan of schizophrenia. *Am J Psychiatry* **155**, 741-50 (1998).
306. Gu, B. *et al.* Association between a polymorphism of the HTR3A gene and therapeutic response to risperidone treatment in drug-naive Chinese schizophrenia patients. *Pharmacogenet Genomics* **18**, 721-7 (2008).
307. Takano, H. *et al.* Serotonergic neurotransmission in the living human brain: A positron emission tomography study using [(11)C]DASB and [(11)C]WAY100635 in young healthy men. *Synapse*.
308. Horschitz, S., Hummerich, R. & Schloss, P. Down-regulation of the rat serotonin transporter upon exposure to a selective serotonin reuptake inhibitor. *Neuroreport* **12**, 2181-4 (2001).
309. Battersby, S. *et al.* Structure of a variable number tandem repeat of the serotonin transporter gene and association with affective disorder. *Psychiatr Genet* **6**, 177-81 (1996).
310. Collier, D.A. *et al.* The serotonin transporter is a potential susceptibility factor for bipolar affective disorder. *Neuroreport* **7**, 1675-9 (1996).
311. Kunugi, H. *et al.* Serotonin transporter gene polymorphisms: ethnic difference and possible association with bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry* **2**, 457-62 (1997).
312. Rees, M. *et al.* Association studies of bipolar disorder at the human serotonin transporter gene (hSERT; 5HTT). *Mol Psychiatry* **2**, 398-402 (1997).

313. Kirov, G. *et al.* Bipolar disorder and the serotonin transporter gene: a family-based association study. *Psychol Med* **29**, 1249-54 (1999).
314. Bellivier, F. *et al.* Serotonin transporter gene and manic depressive illness: an association study. *Biol Psychiatry* **41**, 750-2 (1997).
315. Gutierrez, B. *et al.* Serotonin transporter gene and risk for bipolar affective disorder: an association study in Spanish population. *Biol Psychiatry* **43**, 843-7 (1998).
316. Hoehe, M.R. *et al.* Serotonin transporter (5-HTT) gene polymorphisms are not associated with susceptibility to mood disorders. *Am J Med Genet* **81**, 1-3 (1998).
317. Furlong, R.A. *et al.* Analysis and meta-analysis of two serotonin transporter gene polymorphisms in bipolar and unipolar affective disorders. *Am J Med Genet* **81**, 58-63 (1998).
318. Evans, J. *et al.* Association of short alleles of a VNTR of the serotonin transporter gene with anxiety symptoms in patients presenting after deliberate self harm. *Neuropharmacology* **36**, 439-43 (1997).
319. Ohara, K. *et al.* A variable-number-tandem-repeat of the serotonin transporter gene and anxiety disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **23**, 55-65 (1999).
320. Ogilvie, A.D. *et al.* Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet* **347**, 731-3 (1996).
321. Fan, J.B. & Sklar, P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene STin2 VNTR polymorphism and schizophrenia. *Mol Psychiatry* **10**, 928-38, 891 (2005).
322. Fiskerstrand, C.E., Lovejoy, E.A. & Quinn, J.P. An intronic polymorphic domain often associated with susceptibility to affective disorders has allele dependent differential enhancer activity in embryonic stem cells. *FEBS Lett* **458**, 171-4 (1999).
323. MacKenzie, A. & Quinn, J. A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region, correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 15251-5 (1999).
324. Lovejoy, E.A., Scott, A.C., Fiskerstrand, C.E., Bubb, V.J. & Quinn, J.P. The serotonin transporter intronic VNTR enhancer correlated with a predisposition to affective disorders has distinct regulatory elements within the domain based on the primary DNA sequence of the repeat unit. *Eur J Neurosci* **17**, 417-20 (2003).
325. Kim, D.K. *et al.* Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *Neuroreport* **11**, 215-9 (2000).
326. Min, W. *et al.* Monoamine transporter gene polymorphisms affect susceptibility to depression and predict antidepressant response. *Psychopharmacology (Berl)* **205**, 409-17 (2009).
327. Heils, A. *et al.* Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* **66**, 2621-4 (1996).
328. Pollock, B.G. *et al.* Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* **23**, 587-90 (2000).
329. Smeraldi, E. *et al.* Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* **3**, 508-11 (1998).
330. Mrazek, D.A. *et al.* SLC6A4 variation and citalopram response. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **150B**, 341-51 (2009).
331. Taylor, M.J., Sen, S. & Bhagwagar, Z. Antidepressant response and the serotonin transporter gene-linked polymorphic region. *Biol Psychiatry* **68**, 536-43.
332. Parsey, R.V. *et al.* Effect of a triallelic functional polymorphism of the serotonin-transporter-linked promoter region on expression of serotonin transporter in the human brain. *Am J Psychiatry* **163**, 48-51 (2006).
333. Hu, X.Z. *et al.* Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet* **78**, 815-26 (2006).
334. Hu, X.Z. *et al.* Association between a functional serotonin transporter promoter polymorphism and citalopram treatment in adult outpatients with major depression. *Arch Gen Psychiatry* **64**, 783-92 (2007).
335. Smeraldi, E., Serretti, A., Artioli, P., Lorenzi, C. & Catalano, M. Serotonin transporter gene-linked polymorphic region: possible pharmacogenetic implications of rare variants. *Psychiatr Genet* **16**, 153-8 (2006).
336. Stein, M.B., Seedat, S. & Gelernter, J. Serotonin transporter gene promoter polymorphism predicts SSRI response in generalized social anxiety disorder. *Psychopharmacology (Berl)* **187**, 68-72 (2006).
337. Shih, J.C. & Thompson, R.F. Monoamine oxidase in neuropsychiatry and behavior. *Am J Hum Genet* **65**, 593-8 (1999).

338. Orelund, L. & Hallman, J. The correlation between platelet MAO activity and personality: short review of findings and a discussion on possible mechanisms. *Prog Brain Res* **106**, 77-84 (1995).
339. Garpenstrand, H., Ekblom, J., Forslund, K., Rylander, G. & Orelund, L. Platelet monoamine oxidase activity is related to MAOB intron 13 genotype. *J Neural Transm* **107**, 523-30 (2000).
340. Costa-Mallen, P., Kelada, S.N., Costa, L.G. & Checkoway, H. Characterization of the in vitro transcriptional activity of polymorphic alleles of the human monoamine oxidase-B gene. *Neurosci Lett* **383**, 171-5 (2005).
341. Balciuniene, J., Emilsson, L., Orelund, L., Pettersson, U. & Jazin, E. Investigation of the functional effect of monoamine oxidase polymorphisms in human brain. *Hum Genet* **110**, 1-7 (2002).
342. Tadic, A. *et al.* A monoamine oxidase B gene variant and short-term antidepressant treatment response. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **31**, 1370-7 (2007).
343. Grimsby, J., Chen, K., Wang, L.J., Lan, N.C. & Shih, J.C. Human monoamine oxidase A and B genes exhibit identical exon-intron organization. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**, 3637-41 (1991).
344. Kelada, S.N. *et al.* Gender difference in the interaction of smoking and monoamine oxidase B intron 13 genotype in Parkinson's disease. *Neurotoxicology* **23**, 515-9 (2002).
345. Young, W.F., Jr., Laws, E.R., Jr., Sharbrough, F.W. & Weinshilboum, R.M. Human monoamine oxidase. Lack of brain and platelet correlation. *Arch Gen Psychiatry* **43**, 604-9 (1986).
346. Launay, J.M. *et al.* Smoking induces long-lasting effects through a monoamine-oxidase epigenetic regulation. *PLoS One* **4**, e7959 (2009).
347. Invernizzi, R.W. Role of TPH-2 in brain function: news from behavioral and pharmacologic studies. *J Neurosci Res* **85**, 3030-5 (2007).
348. Zill, P. *et al.* SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (TPH2) gene provide evidence for association with major depression. *Mol Psychiatry* **9**, 1030-6 (2004).
349. Zhang, X. *et al.* Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron* **45**, 11-6 (2005).
350. Zhou, Z. *et al.* Haplotype-based linkage of tryptophan hydroxylase 2 to suicide attempt, major depression, and cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid in 4 populations. *Arch Gen Psychiatry* **62**, 1109-18 (2005).
351. Van Den Bogaert, A. *et al.* Association of brain-specific tryptophan hydroxylase, TPH2, with unipolar and bipolar disorder in a Northern Swedish, isolated population. *Arch Gen Psychiatry* **63**, 1103-10 (2006).
352. Haghghi, F. *et al.* Genetic architecture of the human tryptophan hydroxylase 2 Gene: existence of neural isoforms and relevance for major depression. *Mol Psychiatry* **13**, 813-20 (2008).
353. Garriock, H.A. *et al.* Lack of association of TPH2 exon XI polymorphisms with major depression and treatment resistance. *Mol Psychiatry* **10**, 976-7 (2005).
354. Mann, J.J. *et al.* No association between a TPH2 promoter polymorphism and mood disorders or monoamine turnover. *J Affect Disord* **106**, 117-21 (2008).
355. Lim, J.E., Pinsonneault, J., Sadee, W. & Saffen, D. Tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) haplotypes predict levels of TPH2 mRNA expression in human pons. *Mol Psychiatry* **12**, 491-501 (2007).
356. Tzvetkov, M.V., Brockmoller, J., Roots, I. & Kirchheiner, J. Common genetic variations in human brain-specific tryptophan hydroxylase-2 and response to antidepressant treatment. *Pharmacogenet Genomics* **18**, 495-506 (2008).
357. Cervo, L. *et al.* Genotype-dependent activity of tryptophan hydroxylase-2 determines the response to citalopram in a mouse model of depression. *J Neurosci* **25**, 8165-72 (2005).
358. Tsai, S.J. *et al.* Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **33**, 637-41 (2009).
359. Lightman, S.L. The neuroendocrinology of stress: a never ending story. *J Neuroendocrinol* **20**, 880-4 (2008).
360. Bale, T.L. & Vale, W.W. CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **44**, 525-57 (2004).
361. Hauger, R.L. *et al.* International Union of Pharmacology. XXXVI. Current status of the nomenclature for receptors for corticotropin-releasing factor and their ligands. *Pharmacol Rev* **55**, 21-6 (2003).
362. Coryell, W. Psychotic depression. *J Clin Psychiatry* **57 Suppl 3**, 27-31; discussion 49 (1996).

363. Reul, J.M. & Holsboer, F. Corticotropin-releasing factor receptors 1 and 2 in anxiety and depression. *Curr Opin Pharmacol* **2**, 23-33 (2002).
364. Holsboer, F. & Barden, N. Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr Rev* **17**, 187-205 (1996).
365. Aihara, M. *et al.* HPA axis dysfunction in unmedicated major depressive disorder and its normalization by pharmacotherapy correlates with alteration of neural activity in prefrontal cortex and limbic/paralimbic regions. *Psychiatry Res* **155**, 245-56 (2007).
366. Okuyama-Tamura, M., Mikuni, M. & Kojima, I. Modulation of the human glucocorticoid receptor function by antidepressive compounds. *Neurosci Lett* **342**, 206-10 (2003).
367. Licinio, J. *et al.* Association of a corticotropin-releasing hormone receptor 1 haplotype and antidepressant treatment response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* **9**, 1075-82 (2004).
368. Liu, Z. *et al.* Association study of corticotropin-releasing hormone receptor1 gene polymorphisms and antidepressant response in major depressive disorders. *Neurosci Lett* **414**, 155-8 (2007).
369. Papiol, S. *et al.* Genetic variability at HPA axis in major depression and clinical response to antidepressant treatment. *J Affect Disord* **104**, 83-90 (2007).
370. Unsicker, K. *et al.* Astroglial and fibroblast growth factors have neurotrophic functions for cultured peripheral and central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **84**, 5459-63 (1987).
371. Belluardo, N. *et al.* Comparative localization of fibroblast growth factor receptor-1, -2, and -3 mRNAs in the rat brain: in situ hybridization analysis. *J Comp Neurol* **379**, 226-46 (1997).
372. Zechel, S., Werner, S., Unsicker, K. & von Bohlen und Halbach, O. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist* **16**, 357-73.
373. Vescovi, A.L., Reynolds, B.A., Fraser, D.D. & Weiss, S. bFGF regulates the proliferative fate of unipotent (neuronal) and bipotent (neuronal/astroglial) EGF-generated CNS progenitor cells. *Neuron* **11**, 951-66 (1993).
374. Shihabuddin, L.S., Ray, J. & Gage, F.H. FGF-2 is sufficient to isolate progenitors found in the adult mammalian spinal cord. *Exp Neurol* **148**, 577-86 (1997).
375. Gaughran, F., Payne, J., Sedgwick, P.M., Cotter, D. & Berry, M. Hippocampal FGF-2 and FGFR1 mRNA expression in major depression, schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res Bull* **70**, 221-7 (2006).
376. Mallei, A., Shi, B. & Mocchetti, I. Antidepressant treatments induce the expression of basic fibroblast growth factor in cortical and hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* **61**, 1017-24 (2002).
377. Evans, S.J. *et al.* Dysregulation of the fibroblast growth factor system in major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 15506-11 (2004).
378. Kato, M. *et al.* Effect of basic fibroblast growth factor (FGF2) gene polymorphisms on SSRIs treatment response and side effects. *Eur Neuropsychopharmacol* **19**, 718-25 (2009).
379. Schulz, S. *et al.* The human FGF2 level is influenced by genetic predisposition. *Int J Cardiol* **101**, 265-71 (2005).
380. Lei, S.F., Papatian, C.J. & Deng, H.W. Polymorphisms in predicted miRNA binding sites and osteoporosis. *J Bone Miner Res*.
381. Hida, Y. & Ohtsuka, T. CAST and ELKS proteins: structural and functional determinants of the presynaptic active zone. *J Biochem* **148**, 131-7.
382. Fenster, S.D. & Garner, C.C. Gene structure and genetic localization of the PCLO gene encoding the presynaptic active zone protein Piccolo. *Int J Dev Neurosci* **20**, 161-71 (2002).
383. Leal-Ortiz, S. *et al.* Piccolo modulation of Synapsin1a dynamics regulates synaptic vesicle exocytosis. *J Cell Biol* **181**, 831-46 (2008).
384. Schuhmacher, A. *et al.* PCLO rs2522833 modulates HPA system response to antidepressant treatment in major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 1-9.
385. Dubuquoy, L. *et al.* Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoid X receptor heterodimer in hepatogastroenterological diseases. *Lancet* **360**, 1410-8 (2002).
386. Gouda, H.N. *et al.* The association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* **171**, 645-55 (2010).
387. Deeb, S.S. *et al.* A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* **20**, 284-7 (1998).
388. Herken, H. *et al.* The association of olanzapine-induced weight gain with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism in patients with schizophrenia. *DNA Cell Biol* **28**, 515-9 (2009).

389. Kang, S.H. *et al.* Genetic Polymorphisms in the HTR2C and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Are Not Associated with Metabolic Syndrome in Patients. *Psychiatry Investigation In Press*(2011).
390. Yang, Z. *et al.* Evidence for an effect of clozapine on the regulation of fat-cell derived factors. *Clin Chim Acta* **408**, 98-104 (2009).
391. Yang, L.H., Chen, T.M., Yu, S.T. & Chen, Y.H. Olanzapine induces SREBP-1-related adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Pharmacol Res* **56**, 202-8 (2007).
392. Zerssen, D. *Paranoid-Depressivitäts-Skala Selbstbeurteilungs-Skala (PD-S/D-S)*, (In: Collegium Internationale Psychiatriae Scalarum (Hrsg.), Internationale Skalen für Psychiatrie (4. Auflage), Göttingen: Beltz Test GmbH).
393. Witte, B., Harrer, G., Kaptan, T., Podzuweit, H. & Schmidt, U. [Treatment of depressive symptoms with a high concentration hypericum preparation. A multicenter placebo-controlled double-blind study]. *Fortschr Med* **113**, 404-8 (1995).
394. Nguyen, D.L., Staeker, J., Laika, B. & Steimer, W. TaqMan real-time PCR quantification strategy of CYP2D6 gene copy number for the LightCycler 2.0. *Clin Chim Acta* **403**, 207-11 (2009).
395. Elizabeth van Pelt-Verkuil, Alex van Belkum & Hays, J.P. *Principles and Technical Aspects of PCR Amplification*, (Springer Science and Media B.V., 2008).
396. Vincze, T., Posfai, J. & Roberts, R.J. NEBcutter: A program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Res* **31**, 3688-91 (2003).
397. Newton, C.R. *et al.* Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res* **17**, 2503-16 (1989).
398. Roche Applied Science. *Roche LightCycler Manual - The LightCycler System*, (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, 2007).
399. Bernard, P.S., Ajioka, R.S., Kushner, J.P. & Wittwer, C.T. Homogeneous multiplex genotyping of hemochromatosis mutations with fluorescent hybridization probes. *Am J Pathol* **153**, 1055-61 (1998).
400. Sherry, S.T. *et al.* dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* **29**, 308-11 (2001).
401. Andreas Untergasser, H.N., Xiangyu Rao, Ton Bisseling, René Geurts, and Jack A.M. Leunissen. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research* **35**, W71-W74 (2007).
402. Ye, J., McGinnis, S. & Madden, T.L. BLAST: improvements for better sequence analysis. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> (homepage of National Center for Biotechnology Information) *Nucleic Acids Res* **34**, W6-9 (2006).
403. Integrated DNA Technologies, I., U.S.A. <http://eu.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer/>.
404. Altshuler, M.L. *PCR Troubleshooting: The Essential Guide*, (Caister Academic Press, Moscow, 2006).
405. Roche Applied Science. *Technical Note No. LC 19/2004, Color Compensation*, (Roche Diagnostics GmbH, 2004).
406. Hart, S.N., Li, Y., Nakamoto, K., Wesselman, C. & Zhong, X.B. Novel SNPs in cytochrome P450 oxidoreductase. *Drug Metab Pharmacokinet* **22**, 322-6 (2007).
407. Bachofer, J. TU München (2006).
408. Laika, B. TU München (2009).
409. Popp, J. TU München (2006).
410. Saxena, R. *et al.* Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* **316**, 1331-6 (2007).
411. Kirchherr, H. & Kuhn-Velten, W.N. Quantitative determination of forty-eight antidepressants and antipsychotics in human serum by HPLC tandem mass spectrometry: a multi-level, single-sample approach. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **843**, 100-13 (2006).
412. U.S. Department of Health and Human Services, F.D.A., Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM), 2001. Guidance for Industry-Bioanalytical Method Validation. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/>
413. Sheehan, J.J., Sliwa, J.K., Amatriek, J.C., Grinspan, A. & Canuso, C.M. Atypical antipsychotic metabolism and excretion. *Curr Drug Metab* **11**, 516-25.
414. Haritos, V.S., Ghabrial, H., Ahokas, J.T. & Ching, M.S. Role of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) in the stereospecific metabolism of E- and Z-doxepin. *Pharmacogenetics* **10**, 591-603 (2000).

415. DIMDI. <http://www.dimdi.de/dynamic/de/klassi/downloadcenter/atcddd/version2012/atc-ddd-amtlich-2012.pdf>. (2012).
416. Laika, B., Leucht, S., Heres, S. & Steimer, W. Intermediate metabolizer: increased side effects in psychoactive drug therapy. The key to cost-effectiveness of pretreatment CYP2D6 screening? *The pharmacogenomics journal* **9**, 395-403 (2009).
417. Dodd, S., Boulton, D.W., Burrows, G.D., De Vane, C.L. & Norman, T.R. In vitro metabolism of mirtazapine enantiomers by human cytochrome P450 enzymes. *Hum Psychopharmacol* **16**, 541-544 (2001).
418. Olesen, O.V. & Linnet, K. Studies on the stereoselective metabolism of citalopram by human liver microsomes and cDNA-expressed cytochrome P450 enzymes. *Pharmacology* **59**, 298-309 (1999).
419. Tsai, M.H. *et al.* Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes influence metabolism of the antidepressant escitalopram and treatment response. *Pharmacogenomics* **11**, 537-46 (2010).
420. Fudio, S. *et al.* Evaluation of the influence of sex and CYP2C19 and CYP2D6 polymorphisms in the disposition of citalopram. *Eur J Pharmacol* **626**, 200-4 (2010).
421. Tanum, L., Strand, L.P. & Refsum, H. Serum concentrations of citalopram--dose-dependent variation in R- and S-enantiomer ratios. *Pharmacopsychiatry* **43**, 190-3.
422. Zhong, H. *et al.* An allosteric binding site at the human serotonin transporter mediates the inhibition of escitalopram by R-citalopram: kinetic binding studies with the ALI/VFL-SI/TT mutant. *Neurosci Lett* **462**, 207-12 (2009).
423. Callaghan, J.T., Bergstrom, R.F., Ptak, L.R. & Beasley, C.M. Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clin Pharmacokinet* **37**, 177-93 (1999).
424. Laika, B., Leucht, S., Heres, S., Schneider, H. & Steimer, W. Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. *Pharmacogenomics J* **10**, 20-9 (2009).
425. Preskorn, S.H. Selection of an antidepressant: mirtazapine. *J Clin Psychiatry* **58 Suppl 6**, 3-8 (1997).
426. Stormer, E., von Moltke, L.L., Shader, R.I. & Greenblatt, D.J. Metabolism of the antidepressant mirtazapine in vitro: contribution of cytochromes P-450 1A2, 2D6, and 3A4. *Drug Metab Dispos* **28**, 1168-75 (2000).
427. Reis, M., Aamo, T., Spigset, O. & Ahlner, J. Serum concentrations of antidepressant drugs in a naturalistic setting: compilation based on a large therapeutic drug monitoring database. *Ther Drug Monit* **31**, 42-56 (2009).
428. Timmer, C.J., Sitsen, J.M. & Delbressine, L.P. Clinical pharmacokinetics of mirtazapine. *Clin Pharmacokinet* **38**, 461-74 (2000).
429. Lind, A.B. *et al.* Steady-state concentrations of mirtazapine, N-desmethylmirtazapine, 8-hydroxymirtazapine and their enantiomers in relation to cytochrome P450 2D6 genotype, age and smoking behaviour. *Clin Pharmacokinet* **48**, 63-70 (2009).
430. Thiebaut, F. *et al.* Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* **84**, 7735-8 (1987).
431. Rosenhagen, M.C. & Uhr, M. The clinical impact of ABCB1 polymorphisms on the treatment of psychiatric diseases. *Curr Pharm Des* **17**, 2843-51 (2011).
432. Popp, J., Leucht, S., Heres, S. & Steimer, W. Serotonin transporter polymorphisms and side effects in antidepressant therapy--a pilot study. *Pharmacogenomics* **7**, 159-66 (2006).
433. Praschak-Rieder, N. *et al.* Novel 5-HTTLPR allele associates with higher serotonin transporter binding in putamen: a [(11)C] DASB positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* **62**, 327-31 (2007).
434. Kishi, T. *et al.* HTR2A is associated with SSRI response in major depressive disorder in a Japanese cohort. *Neuromolecular Med* **12**, 237-42 (2010).
435. Viikki, M. *et al.* Interaction between two HTR2A polymorphisms and gender is associated with treatment response in MDD. *Neurosci Lett* **501**, 20-4 (2011).
436. Hermann, B. *et al.* Functional antagonistic properties of clozapine at the 5-HT3 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* **225**, 957-60 (1996).
437. Youdim, M.B., Edmondson, D. & Tipton, K.F. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nat Rev Neurosci* **7**, 295-309 (2006).
438. Marziniak, M., Kienzler, C., Kuhlenbaumer, G., Sommer, C. & Mossner, R. Functional gene variants of the serotonin-synthesizing enzyme tryptophan hydroxylase 2 in migraine. *J Neural Transm* **116**, 815-9 (2009).
439. Schuhmacher, A. *et al.* Investigation of tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) in schizophrenia and in the response to antipsychotics. *J Psychiatr Res* **46**, 1073-80 (2012).

440. Xu, Z. *et al.* Influence and interaction of genetic polymorphisms in the serotonin system and life stress on antidepressant drug response. *J Psychopharmacol* **26**, 349-59 (2012).
441. Gao, J. *et al.* TPH2 gene polymorphisms and major depression--a meta-analysis. *PLoS One* **7**, e36721 (2012).
442. Kirchheiner, J. *et al.* A 40-basepair VNTR polymorphism in the dopamine transporter (DAT1) gene and the rapid response to antidepressant treatment. *Pharmacogenomics J* **7**, 48-55 (2007).
443. Chien, Y.L. *et al.* DRD2 haplotype associated with negative symptoms and sustained attention deficits in Han Chinese with schizophrenia in Taiwan. *J Hum Genet* (2013).
444. Turner, C.A., Watson, S.J. & Akil, H. Fibroblast growth factor-2: an endogenous antidepressant and anxiolytic molecule? *Biol Psychiatry* **72**, 254-5 (2012).
445. Elsayed, M. *et al.* Antidepressant effects of fibroblast growth factor-2 in behavioral and cellular models of depression. *Biol Psychiatry* **72**, 258-65 (2012).
446. Basson, B.R. *et al.* Factors influencing acute weight change in patients with schizophrenia treated with olanzapine, haloperidol, or risperidone. *J Clin Psychiatry* **62**, 231-8 (2001).
447. Gaedigk, A. *et al.* CYP2D7-2D6 hybrid tandems: identification of novel CYP2D6 duplication arrangements and implications for phenotype prediction. *Pharmacogenomics* **11**, 43-53 (2010).
448. Zanger, U.M., Raimundo, S. & Eichelbaum, M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **369**, 23-37 (2004).
449. Neafsey, P., Ginsberg, G., Hattis, D. & Sonawane, B. Genetic polymorphism in cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Population distribution of CYP2D6 activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* **12**, 334-61 (2009).
450. Kootstra-Ros, J.E., Van Weelden, M.J., Hinrichs, J.W., De Smet, P.A. & van der Weide, J. Therapeutic drug monitoring of antidepressants and cytochrome p450 genotyping in general practice. *J Clin Pharmacol* **46**, 1320-7 (2006).
451. Hendset, M., Hermann, M., Lunde, H., Refsum, H. & Molden, E. Impact of the CYP2D6 genotype on steady-state serum concentrations of aripiprazole and dehydroaripiprazole. *Eur J Clin Pharmacol* **63**, 1147-51 (2007).
452. Hermann, M., Hendset, M., Fosaas, K., Hjerpset, M. & Refsum, H. Serum concentrations of venlafaxine and its metabolites O-desmethylvenlafaxine and N-desmethylvenlafaxine in heterozygous carriers of the CYP2D6*3, *4 or *5 allele. *Eur J Clin Pharmacol* **64**, 483-7 (2008).
453. Hendset, M., Molden, E., Refsum, H. & Hermann, M. Impact of CYP2D6 genotype on steady-state serum concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in patients using long-acting injectable risperidone. *J Clin Psychopharmacol* **29**, 537-41 (2009).
454. Bijl, M.J. *et al.* Influence of the CYP2D6*4 polymorphism on dose, switching and discontinuation of antidepressants. *Br J Clin Pharmacol* **65**, 558-64 (2008).
455. Lessard, E. *et al.* Influence of CYP2D6 activity on the disposition and cardiovascular toxicity of the antidepressant agent venlafaxine in humans. *Pharmacogenetics* **9**, 435-43 (1999).
456. Rau, T. *et al.* CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants-a pilot study. *Clin Pharmacol Ther* **75**, 386-93 (2004).
457. Shams, M.E. *et al.* CYP2D6 polymorphism and clinical effect of the antidepressant venlafaxine. *J Clin Pharm Ther* **31**, 493-502 (2006).
458. Zourkova, A., Ceskova, E., Hadasova, E. & Ravnucukova, B. Links among paroxetine-induced sexual dysfunctions, gender, and CYP2D6 activity. *J Sex Marital Ther* **33**, 343-55 (2007).
459. Wijnen, P.A. *et al.* Depressive effect of an antidepressant: therapeutic failure of venlafaxine in a case lacking CYP2D6 activity. *Ann Clin Biochem* **46**, 527-30 (2009).
460. Kawanishi, C., Lundgren, S., Agren, H. & Bertilsson, L. Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. *Eur J Clin Pharmacol* **59**, 803-7 (2004).
461. Baumann, P., Broly, F., Kosel, M. & Eap, C.B. Ultrarapid metabolism of clomipramine in a therapy-resistant depressive patient, as confirmed by CYP2D6 genotyping. *Pharmacopsychiatry* **31**, 72 (1998).
462. Breil, F. *et al.* Non-response to consecutive antidepressant therapy caused by CYP2D6 ultrarapid metabolizer phenotype. *Int J Neuropsychopharmacol* **11**, 727-8 (2008).
463. Wu, A.H. *et al.* Estimation of tamoxifen metabolite concentrations in the blood of breast cancer patients through CYP2D6 genotype activity score. *Breast Cancer Res Treat* (2012).

464. Frost, J., Helland, A., Nordrum, I.S. & Slordal, L. Investigation of morphine and morphine glucuronide levels and cytochrome P450 isoenzyme 2D6 genotype in codeine-related deaths. *Forensic Sci Int* (2012).
465. Spina, E., Trifiro, G. & Caraci, F. Clinically significant drug interactions with newer antidepressants. *CNS Drugs* **26**, 39-67 (2012).
466. Swen, J.J. *et al.* Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther* **89**, 662-73 (2011).
467. Haeberle, A., Greil, W., Russmann, S. & Grohmann, R. Mono- and combination drug therapies in hospitalized patients with bipolar depression. Data from the European drug surveillance program AMSP. *BMC Psychiatry* **12**, 153 (2012).
468. Lobello, K.W. *et al.* Cytochrome P450 2D6 phenotype predicts antidepressant efficacy of venlafaxine: a secondary analysis of 4 studies in major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* **71**, 1482-7 (2010).
469. Mulder, H. *et al.* The association between cytochrome P450 2D6 genotype and prescription patterns of antipsychotic and antidepressant drugs in hospitalized psychiatric patients: a retrospective follow-up study. *J Clin Psychopharmacol* **25**, 188-91 (2005).
470. Bertilsson, L. *et al.* Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet* **341**, 63 (1993).
471. TMF. Deutsches Biobanken-Register. (2013).
472. Dahl, M.L. Cytochrome p450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics: useful aid to prescribing? *Clin Pharmacokinet* **41**, 453-70 (2002).
473. Tamminga, W.J. *et al.* Polymorphic drug metabolism (CYP2D6) and utilisation of psychotropic drugs in hospitalised psychiatric patients: a retrospective study. *Eur J Clin Pharmacol* **59**, 57-64 (2003).
474. Scordo, M.G. *et al.* CYP2D6 genotype and antipsychotic-induced extrapyramidal side effects in schizophrenic patients. *Eur J Clin Pharmacol* **56**, 679-83 (2000).
475. Beszlej, J.A., Grzesiak, M. & Milejski, P. [Acute dyskinetic syndrome during chlorpromazine treatment of a female patient with CYP2D6 poor metabolism phenotype]. *Psychiatr Pol* **41**, 495-501 (2007).
476. Kawanishi, C., Furuno, T., Kishida, I., Matsumura, T. & Kosaka, K. A patient with treatment-resistant schizophrenia and cytochrome P4502D6 gene duplication. *Clin Genet* **61**, 152-4 (2002).
477. Alenius, M. *et al.* Gene polymorphism influencing treatment response in psychotic patients in a naturalistic setting. *J Psychiatr Res* **42**, 884-93 (2008).
478. Gahr, M., Gastl, R., Kolle, M.A., Schonfeldt-Lecuona, C. & Freudenmann, R.W. Successful treatment of schizophrenia with melperone augmentation in a patient with phenotypic CYP2D6 ultrarapid metabolism: a case report. *J Med Case Reports* **6**, 49 (2012).
479. DeVane, C.L. & Nemeroff, C.B. Clinical pharmacokinetics of quetiapine: an atypical antipsychotic. *Clin Pharmacokinet* **40**, 509-22 (2001).
480. Du, J. *et al.* Relationship between response to risperidone, plasma concentrations of risperidone and CYP3A4 polymorphisms in schizophrenia patients. *J Psychopharmacol* **24**, 1115-20 (2010).
481. Locatelli, I. *et al.* A population pharmacokinetic evaluation of the influence of CYP2D6 genotype on risperidone metabolism in patients with acute episode of schizophrenia. *Eur J Pharm Sci* **41**, 289-98 (2010).
482. Rodriguez-Antona, C. *et al.* CYP2D6 genotyping for psychiatric patients treated with risperidone: considerations for cost-effectiveness studies. *Pharmacogenomics* **10**, 685-99 (2009).
483. De Vries, E.M., Pot, H.J., Conemans, J.M.H. & Uges, D.R.A. The clinical relevance of routine genotyping of CYP2D6/2C19 null alleles of psychiatric patients. **53**, 550P-551P (2002).
484. Hamelin, B.A. *et al.* CYP2D6 mutations and therapeutic outcome in schizophrenic patients. *Pharmacotherapy* **19**, 1057-63 (1999).
485. Chou, W.H. *et al.* Extension of a pilot study: impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness. *J Clin Psychopharmacol* **20**, 246-51 (2000).
486. Ereshefsky, L. & Dugan, D. Review of the pharmacokinetics, pharmacogenetics, and drug interaction potential of antidepressants: focus on venlafaxine. *Depress Anxiety* **12 Suppl 1**, 30-44 (2000).
487. Delbressine, L.P. *et al.* Pharmacokinetics and biotransformation of mirtazapine in human volunteers. *Clin Drug Investig* **15**, 45-55 (1998).

488. Dahl ML *et al.* In vitro and in vivo studies on the disposition of mirtazapine in humans. *Clin Drug Investig* **13**, 37-46 (1997).
489. Brockmoller, J., Meineke, I. & Kirchheiner, J. Pharmacokinetics of mirtazapine: enantioselective effects of the CYP2D6 ultra rapid metabolizer genotype and correlation with adverse effects. *Clin Pharmacol Ther* **81**, 699-707 (2007).
490. Grasmader, K. *et al.* Population pharmacokinetic analysis of mirtazapine. *Eur J Clin Pharmacol* **60**, 473-80 (2004).
491. Davis, M.P. & Homsy, J. The importance of cytochrome P450 monooxygenase CYP2D6 in palliative medicine. *Support Care Cancer* **9**, 442-51 (2001).
492. Launiainen, T., Rasanen, I., Vuori, E. & Ojanpera, I. Fatal venlafaxine poisonings are associated with a high prevalence of drug interactions. *Int J Legal Med*.
493. Suzuki, Y. *et al.* CYP2D6 genotype and smoking influence fluvoxamine steady-state concentration in Japanese psychiatric patients: lessons for genotype-phenotype association study design in translational pharmacogenetics. *J Psychopharmacol* **25**, 908-14 (2011).
494. Huezio-Diaz, P. *et al.* CYP2C19 genotype predicts steady state escitalopram concentration in GENDEP. *J Psychopharmacol* **26**, 398-407 (2012).
495. Westlind-Johnsson, A. *et al.* Identification and characterization of CYP3A4*20, a novel rare CYP3A4 allele without functional activity. *Clin Pharmacol Ther* **79**, 339-49 (2006).
496. Lamba, J.K. *et al.* Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. *Pharmacogenetics* **12**, 121-32 (2002).
497. Peters, E.J. *et al.* Pharmacokinetic genes do not influence response or tolerance to citalopram in the STAR*D sample. *PLoS One* **3**, e1872 (2008).
498. Garriock, H.A. *et al.* A genomewide association study of citalopram response in major depressive disorder. *Biol Psychiatry* **67**, 133-8 (2010).
499. Mrazek, D.A. *et al.* CYP2C19 variation and citalopram response. *Pharmacogenet Genomics* **21**, 1-9.
500. FDA. Highlights of Prescribing Information. (2011).
501. Steimer, W. *et al.* Amitriptyline or not, that is the question: pharmacogenetic testing of CYP2D6 and CYP2C19 identifies patients with low or high risk for side effects in amitriptyline therapy. *Clin Chem* **51**, 376-85 (2005).
502. Dobrinias, M. *et al.* Impact of smoking, smoking cessation, and genetic polymorphisms on CYP1A2 activity and inducibility. *Clin Pharmacol Ther* **90**, 117-25 (2011).
503. Pavanello, S., Pulliero, A., Lupi, S., Gregorio, P. & Clonfero, E. Influence of the genetic polymorphism in the 5'-noncoding region of the CYP1A2 gene on CYP1A2 phenotype and urinary mutagenicity in smokers. *Mutat Res* **587**, 59-66 (2005).
504. Spina, E. & de Leon, J. Metabolic drug interactions with newer antipsychotics: a comparative review. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **100**, 4-22 (2007).
505. Ghotbi, R. *et al.* Carriers of the UGT1A4 142T>G gene variant are predisposed to reduced olanzapine exposure--an impact similar to male gender or smoking in schizophrenic patients. *Eur J Clin Pharmacol* **66**, 465-74 (2010).
506. Erichsen, T.J. *et al.* Genetic variability of aryl hydrocarbon receptor (AhR)-mediated regulation of the human UDP glucuronosyltransferase (UGT) 1A4 gene. *Toxicol Appl Pharmacol* **230**, 252-60 (2008).
507. Ayed-Boussema, I. *et al.* Ochratoxin A induces CYP3A4, 2B6, 3A5, 2C9, 1A1, and CYP1A2 gene expression in primary cultured human hepatocytes: a possible activation of nuclear receptors. *Drug Chem Toxicol* **35**, 71-80 (2012).
508. Citrome, L. *et al.* Olanzapine plasma concentrations after treatment with 10, 20, and 40 mg/d in patients with schizophrenia: an analysis of correlations with efficacy, weight gain, and prolactin concentration. *J Clin Psychopharmacol* **29**, 278-83 (2009).
509. Mauri, M.C. *et al.* Clinical outcome and olanzapine plasma levels in acute schizophrenia. *Eur Psychiatry* **20**, 55-60 (2005).
510. Perry, P.J., Sanger, T. & Beasley, C. Olanzapine plasma concentrations and clinical response in acutely ill schizophrenic patients. *J Clin Psychopharmacol* **17**, 472-7 (1997).
511. Kraus, T. *et al.* Body weight and leptin plasma levels during treatment with antipsychotic drugs. *Am J Psychiatry* **156**, 312-4 (1999).
512. Haddad, P. Weight change with atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia. *J Psychopharmacol* **19**, 16-27 (2005).
513. Fawcett, J. & Barkin, R.L. Review of the results from clinical studies on the efficacy, safety and tolerability of mirtazapine for the treatment of patients with major depression. *J Affect Disord* **51**, 267-85 (1998).

514. Serretti, A. & Mandelli, L. Antidepressants and body weight: a comprehensive review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry* **71**, 1259-72 (2010).
515. Knadler, M.P., Lobo, E., Chappell, J. & Bergstrom, R. Duloxetine: clinical pharmacokinetics and drug interactions. *Clin Pharmacokinet* **50**, 281-94 (2011).
516. Oneda, B. *et al.* The P450 oxidoreductase genotype is associated with CYP3A activity in vivo as measured by the midazolam phenotyping test. *Pharmacogenet Genomics* **19**, 877-83 (2009).
517. Yang, G. *et al.* Effects of the CYP oxidoreductase Ala503Val polymorphism on CYP3A activity in vivo: a randomized, open-label, crossover study in healthy Chinese men. *Clin Ther* **33**, 2060-70 (2011).
518. de Jonge, H., Metalidis, C., Naesens, M., Lambrechts, D. & Kuypers, D.R. The P450 oxidoreductase *28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients. *Pharmacogenomics* **12**, 1281-91 (2011).
519. Dobrinas, M., Cornuz, J., Pedrido, L. & Eap, C.B. Influence of cytochrome P450 oxidoreductase genetic polymorphisms on CYP1A2 activity and inducibility by smoking. *Pharmacogenet Genomics* **22**, 143-51 (2012).
520. Cordon-Cardo, C. *et al.* Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 695-8 (1989).
521. Weiss, J. *et al.* Inhibition of P-glycoprotein by newer antidepressants. *J Pharmacol Exp Ther* **305**, 197-204 (2003).
522. Pariante, C.M. *et al.* Antidepressants enhance glucocorticoid receptor function in vitro by modulating the membrane steroid transporters. *Br J Pharmacol* **134**, 1335-43 (2001).
523. Laika, B., Leucht, S. & Steimer, W. ABCB1 (P-glycoprotein/MDR1) gene G2677T/a sequence variation (polymorphism): lack of association with side effects and therapeutic response in depressed inpatients treated with amitriptyline. *Clin Chem* **52**, 893-5 (2006).
524. de Klerk, O.L. *et al.* ABCB1 gene variants influence tolerance to selective serotonin reuptake inhibitors in a large sample of Dutch cases with major depressive disorder. *Pharmacogenomics J* (2012).
525. Kuzman, M.R. *et al.* The influence of 5-HT(2C) and MDR1 genetic polymorphisms on antipsychotic-induced weight gain in female schizophrenic patients. *Psychiatry Res* **160**, 308-15 (2008).
526. Ebinger, M. & Uhr, M. ABC drug transporter at the blood-brain barrier: effects on drug metabolism and drug response. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* **256**, 294-8 (2006).
527. Dogan, O. *et al.* Serotonin transporter gene polymorphisms and sertraline response in major depression patients. *Genet Test* **12**, 225-31 (2008).
528. Lee, S.H. *et al.* Serotonin transporter gene polymorphism associated with short-term treatment response to venlafaxine. *Neuropsychobiology* **62**, 198-206 (2010).
529. Popp, J., Leucht, S., Heres, S. & Steimer, W. Corrigendum to Serotonin transporter polymorphisms and side effects in antidepressant therapy--a pilot study. *Pharmacogenomics* **11**, 1504 (2010).
530. Kenna, G.A. *et al.* Association of the 5-HTT gene-linked promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with psychiatric disorders: review of psychopathology and pharmacotherapy. *Pharmacogenomics Pers Med* **5**, 19-35 (2012).
531. Porcelli, S., Fabbri, C. & Serretti, A. Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with antidepressant efficacy. *Eur Neuropsychopharmacol* **22**, 239-58 (2012).
532. Kraft, J.B., Slager, S.L., McGrath, P.J. & Hamilton, S.P. Sequence analysis of the serotonin transporter and associations with antidepressant response. *Biol Psychiatry* **58**, 374-81 (2005).
533. Baffa, A. *et al.* Norepinephrine and serotonin transporter genes: impact on treatment response in depression. *Neuropsychobiology* **62**, 121-31 (2010).
534. Maron, E. *et al.* Serotonin transporter promoter region polymorphisms do not influence treatment response to escitalopram in patients with major depression. *Eur Neuropsychopharmacol* **19**, 451-6 (2009).
535. Smits, K. *et al.* Serotonin transporter polymorphisms and the occurrence of adverse events during treatment with selective serotonin reuptake inhibitors. *Int Clin Psychopharmacol* **22**, 137-43 (2007).
536. Murphy, G.M., Jr., Hollander, S.B., Rodrigues, H.E., Kremer, C. & Schatzberg, A.F. Effects of the serotonin transporter gene promoter polymorphism on mirtazapine and paroxetine efficacy and adverse events in geriatric major depression. *Arch Gen Psychiatry* **61**, 1163-9 (2004).
537. Perlis, R.H. *et al.* Serotonin transporter polymorphisms and adverse effects with fluoxetine treatment. *Biol Psychiatry* **54**, 879-83 (2003).

538. Mundo, E., Walker, M., Cate, T., Macciardi, F. & Kennedy, J.L. The role of serotonin transporter protein gene in antidepressant-induced mania in bipolar disorder: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry* **58**, 539-44 (2001).
539. Ng, C.H. *et al.* Serotonin transporter polymorphisms and clinical response to sertraline across ethnicities. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **30**, 953-7 (2006).
540. Takahashi, H. *et al.* No association between the serotonergic polymorphisms and incidence of nausea induced by fluvoxamine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* **12**, 477-81 (2002).
541. Tanaka, M. *et al.* Genetic polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine type 3B receptor gene and paroxetine-induced nausea. *Int J Neuropsychopharmacol* **11**, 261-7 (2008).
542. Serretti, A., Drago, A. & De Ronchi, D. HTR2A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies. *Curr Med Chem* **14**, 2053-69 (2007).
543. Murphy, G.M., Jr., Kremer, C., Rodrigues, H.E. & Schatzberg, A.F. Pharmacogenetics of antidepressant medication intolerance. *Am J Psychiatry* **160**, 1830-5 (2003).
544. Adkins, D.E. *et al.* Genome-wide pharmacogenomic study of citalopram-induced side effects in STAR*D. *Transl Psychiatry* **2**, e129 (2012).
545. Tollefson, G.D., Sanger, T.M., Lu, Y. & Thieme, M.E. Depressive signs and symptoms in schizophrenia: a prospective blinded trial of olanzapine and haloperidol. *Arch Gen Psychiatry* **55**, 250-8 (1998).
546. Gao, K. *et al.* Number needed to treat to harm for discontinuation due to adverse events in the treatment of bipolar depression, major depressive disorder, and generalized anxiety disorder with atypical antipsychotics. *J Clin Psychiatry* **72**, 1063-71 (2011).
547. Laje, G. *et al.* Genetic variation in HTR2A influences serotonin transporter binding potential as measured using PET and [¹¹C]DASB. *Int J Neuropsychopharmacol* **13**, 715-24 (2010).
548. Rajkumar, A.P. *et al.* Outcome definitions and clinical predictors influence pharmacogenetic associations between HTR3A gene polymorphisms and response to clozapine in patients with schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* **224**, 441-9 (2012).
549. Souza, R.P., de Luca, V., Meltzer, H.Y., Lieberman, J.A. & Kennedy, J.L. Influence of serotonin 3A and 3B receptor genes on clozapine treatment response in schizophrenia. *Pharmacogenet Genomics* **20**, 274-6 (2010).
550. Iidaka, T. *et al.* A variant C178T in the regulatory region of the serotonin receptor gene HTR3A modulates neural activation in the human amygdala. *J Neurosci* **25**, 6460-6 (2005).
551. Bymaster, F.P. *et al.* Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. *Neuropsychopharmacology* **14**, 87-96 (1996).
552. Souza, R.P., De Luca, V., Manchia, M. & Kennedy, J.L. Are serotonin 3A and 3B receptor genes associated with suicidal behavior in schizophrenia subjects? *Neurosci Lett* **489**, 137-41 (2011).
553. Maas, J.W. *et al.* Studies of catecholamine metabolism in schizophrenia/psychosis--I. *Neuropsychopharmacology* **8**, 97-109 (1993).
554. Carrera, N., Sanjuan, J., Molto, M.D., Carracedo, A. & Costas, J. Recent adaptive selection at MAOB and ancestral susceptibility to schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **150B**, 369-74 (2009).
555. Antypa, N. *et al.* MAOA and MAOB polymorphisms and anger-related traits in suicidal participants and controls. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* (2012).
556. Gao, X. *et al.* Gene-gene interaction between FGF20 and MAOB in Parkinson disease. *Ann Hum Genet* **72**, 157-62 (2008).
557. Jakubauskiene, E., Janaviciute, V., Peciuliene, I., Soderkvist, P. & Kanopka, A. G/A polymorphism in intronic sequence affects the processing of MAO-B gene in patients with Parkinson disease. *FEBS Lett* **586**, 3698-704 (2012).
558. Kang, S.G. *et al.* Association study between antipsychotic-induced restless legs syndrome and polymorphisms of monoamine oxidase genes in schizophrenia. *Hum Psychopharmacol* **25**, 397-403 (2010).
559. World Health Organization. Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Index 2010 Including Defined Daily Doses (DDD), http://www.whocc.no/atc_ddd_index/. (2010).
560. Boldrini, M., Underwood, M.D., Mann, J.J. & Arango, V. More tryptophan hydroxylase in the brainstem dorsal raphe nucleus in depressed suicides. *Brain Res* **1041**, 19-28 (2005).
561. Bach-Mizrachi, H. *et al.* Elevated expression of tryptophan hydroxylase-2 mRNA at the neuronal level in the dorsal and median raphe nuclei of depressed suicides. *Mol Psychiatry* **13**, 507-13, 465 (2008).
562. Hamilton, M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **23**, 56-62 (1960).

563. Shen, X. *et al.* Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depressive disorder in a female Chinese population. *J Affect Disord* **133**, 619-24 (2011).
564. Dichter, G.S., Damiano, C.A. & Allen, J.A. Reward circuitry dysfunction in psychiatric and neurodevelopmental disorders and genetic syndromes: animal models and clinical findings. *J Neurodev Disord* **4**, 19 (2012).
565. Pinsonneault, J.K. *et al.* Dopamine transporter gene variant affecting expression in human brain is associated with bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* **36**, 1644-55 (2011).
566. Brookes, K.J. *et al.* Association of ADHD with genetic variants in the 5'-region of the dopamine transporter gene: evidence for allelic heterogeneity. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **147B**, 1519-23 (2008).
567. Miller, G.M. & Madras, B.K. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry* **7**, 44-55 (2002).
568. Gao, K. *et al.* Number needed to treat to harm for discontinuation due to adverse events in the treatment of bipolar depression, major depressive disorder, and generalized anxiety disorder with atypical antipsychotics. *J Clin Psychiatry*.
569. Kugaya, A. *et al.* Changes in human in vivo serotonin and dopamine transporter availabilities during chronic antidepressant administration. *Neuropsychopharmacology* **28**, 413-20 (2003).
570. Guzey, C., Scordo, M.G., Spina, E., Landsem, V.M. & Spigset, O. Antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia: associations with dopamine and serotonin receptor and transporter polymorphisms. *Eur J Clin Pharmacol* **63**, 233-41 (2007).
571. Vehof, J. *et al.* Clinical response to antipsychotic drug treatment: association study of polymorphisms in six candidate genes. *Eur Neuropsychopharmacol* **22**, 625-31 (2012).
572. McClay, J.L. *et al.* Genome-wide pharmacogenomic study of neurocognition as an indicator of antipsychotic treatment response in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **36**, 616-26 (2011).
573. Bradley, R.G. *et al.* Influence of child abuse on adult depression: moderation by the corticotropin-releasing hormone receptor gene. *Arch Gen Psychiatry* **65**, 190-200 (2008).
574. Kajitani, N. *et al.* Antidepressant acts on astrocytes leading to an increase in the expression of neurotrophic/growth factors: differential regulation of FGF-2 by noradrenaline. *PLoS One* **7**, e51197 (2012).
575. Kuehner, C., Huffziger, S., Witt, S.H. & Rietschel, M. PCLO rs2522833 impacts HPA system activity in healthy young adults. *Translational psychiatry* **1**, e10 (2011).
576. Reynolds, G.P., Zhang, Z.J. & Zhang, X.B. Association of antipsychotic drug-induced weight gain with a 5-HT_{2C} receptor gene polymorphism. *Lancet* **359**, 2086-7 (2002).
577. Zhang, J.P. & Malhotra, A.K. Pharmacogenetics and antipsychotics: therapeutic efficacy and side effects prediction. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **7**, 9-37 (2011).
578. Sicard, M.N. *et al.* Polymorphisms of the HTR_{2C} gene and antipsychotic-induced weight gain: an update and meta-analysis. *Pharmacogenomics* **11**, 1561-71 (2010).
579. Ellingrod, V.L., Bishop, J.R., Moline, J., Lin, Y.C. & Miller, D.D. Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and increases in body mass index (BMI) from olanzapine treatment in persons with schizophrenia. *Psychopharmacol Bull* **40**, 57-62 (2007).
580. Roerig, J.L., Steffen, K.J. & Mitchell, J.E. Atypical antipsychotic-induced weight gain: insights into mechanisms of action. *CNS Drugs* **25**, 1035-59 (2011).
581. Masud, S. & Ye, S. Effect of the peroxisome proliferator activated receptor-gamma gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta-analysis. *J Med Genet* **40**, 773-80 (2003).
582. Adkins, D.E. *et al.* Genomewide pharmacogenomic study of metabolic side effects to antipsychotic drugs. *Mol Psychiatry* **16**, 321-32 (2011).
583. Henderson, D.C. *et al.* Clozapine, diabetes mellitus, weight gain, and lipid abnormalities: A five-year naturalistic study. *Am J Psychiatry* **157**, 975-81 (2000).
584. Wirshing, D.A. *et al.* Novel antipsychotics: comparison of weight gain liabilities. *J Clin Psychiatry* **60**, 358-63 (1999).
585. Leadbetter, R. *et al.* Clozapine-induced weight gain: prevalence and clinical relevance. *Am J Psychiatry* **149**, 68-72 (1992).
586. Crettol, S., Petrovic, N. & Murray, M. Pharmacogenetics of phase I and phase II drug metabolism. *Curr Pharm Des* **16**, 204-19.
587. Sim, S.C., Kacevska, M. & Ingelman-Sundberg, M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *The pharmacogenomics journal* **13**, 1-11 (2013).

588. Victor, A., Elsasser, A., Hommel, G. & Blettner, M. Judging a plethora of p-values: how to contend with the problem of multiple testing--part 10 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int* **107**, 50-6.
589. Zhou, S.F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet* **48**, 689-723 (2009).
590. Poste, G. Bring on the biomarkers. *Nature* **469**, 156-7.
591. Ivanov, M., Kacevska, M. & Ingelman-Sundberg, M. Epigenomics and interindividual differences in drug response. *Clin Pharmacol Ther* **92**, 727-36 (2012).
592. Hung, E.C., Chiu, R.W. & Lo, Y.M. Detection of circulating fetal nucleic acids: a review of methods and applications. *Journal of clinical pathology* **62**, 308-13 (2009).
593. Urbanova, M., Plzak, J., Strnad, H. & Betka, J. Circulating nucleic acids as a new diagnostic tool. *Cellular & molecular biology letters* **15**, 242-59 (2010).
594. Klein, T.E. *et al.* Integrating genotype and phenotype information: an overview of the PharmGKB project. Pharmacogenetics Research Network and Knowledge Base. *Pharmacogenomics J* **1**, 167-70 (2001).
595. Sander, T. *et al.* Allelic association of a dopamine transporter gene polymorphism in alcohol dependence with withdrawal seizures or delirium. *Biol Psychiatry* **41**, 299-304 (1997).
596. Zalsman, G. *et al.* Association of a triallelic serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with stressful life events and severity of depression. *Am J Psychiatry* **163**, 1588-93 (2006).
597. Sistonen, J. *et al.* CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genomics* **17**, 93-101 (2007).

Veröffentlichungen und Kongressbeiträge

Staecker J, Leucht S, Laika B, Steimer W. Polymorphisms in Serotonergic Pathways Influence the Outcome of Antidepressant Therapy in Psychiatric Inpatients. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2013 [Epub ahead of print].

Staecker J, Leucht S, Steimer W. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) Pro12Ala: lack of association with weight gain in psychiatric inpatients treated with olanzapine or clozapine. *Mol Diagn Ther* **16**, 93-8 (2012).

Staecker J, Popp J, Leucht S, **Steimer W**. 5-HTT VNTR - impact on clinical outcome under treatment with 5-HTT blocking antidepressants. *Therapeutic Drug Monitorin* **33**, 510-1 (2011).

J. Stäker, B. Laika, S. Leucht, **W. Steimer**. 5-HTT Polymorphisms - Significant Impact on Response and Side Effects under SSRI Therapy. *Pharmacogenetics in Psychiatry Meeting, New York* (2011).

Staecker J, Laika B, Leucht S, Heres S, **Steimer W**. Monoamine oxidase B A644G intron 13 SNP and clinical outcome under antidepressant therapy. *Clin Chem* **56**, Supplement A239 (2010).

Stäker J, Schneider H, Leucht S, Zöpf K, Kissling W, **Steimer W**. CYP2C19 *2 but not *17 Influence Amitriptyline and Citalopram Serum Concentrations: Intermediate Metabolizer Status may be of Clinical Relevance. *Therapeutic Drug Monitoring* **31**, 661–2 (2009).

Stäker J, **Steimer W**. Detection of the CYP2C19*17 Allele with Real Time PCR. *Therapeutic Drug Monitoring* **31**, 623 (2009).

Ausgewählt für einen Vortrag im Rahmen des 11. IATDMCT-Kongresses 2009 in Montreal.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Wichtige CYP2D6-Gen-Polymorphismen.....	16
Tabelle 2	Verwendete Reagenzien	29
Tabelle 3	Verwendete Geräte	30
Tabelle 4	Verwendete Software	30
Tabelle 5	Restriktionsendonukleasen	32
Tabelle 6	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560)	40
Tabelle 7	Protokoll der allelspezifischen PCR am Thermocycler zum Nachweis des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560).....	41
Tabelle 8	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des POR*28-Polymorphismus (rs1057868)	43
Tabelle 9	Protokoll der Thermocycler-PCR mit anschließendem enzymatischen Verdau zum Nachweis des POR*28-Polymorphismus (rs1057868)	44
Tabelle 10	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der ABCB1-Polymorphismen (rs2235015 und rs2032583)	46
Tabelle 11	Protokoll der allelspezifischen PCR Thermocycler-PCR zum Nachweis der ABCB1-Polymorphismen (rs2235015 und rs2032583)	48
Tabelle 12	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der CRHR1- und CRHR2-Polymorphismen (rs242941, rs110402, rs2270007).....	50
Tabelle 13	Enzymatischen Verdau der LightCycler-PCR-Produkte (rs242941 und rs2270007).....	52
Tabelle 14	Protokoll der allelspezifischen PCR am Thermocycler zum Nachweis des CRHR1-Polymorphismus rs110402	53
Tabelle 15	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der DRD2-Polymorphismen (rs2283265 und rs1076560).....	55
Tabelle 16	Protokoll der allelspezifischen PCR Thermocycler-PCR zum Nachweis der DRD2-Polymorphismen (rs2283265 und rs1076560)	57
Tabelle 17	Protokoll der LightCycler-PCR mit anschließendem Restriktionsverdau zum Nachweis der FGF2-Polymorphismen	59
Tabelle 18	Protokoll der allelspezifischen PCR Thermocycler-PCR zum Nachweis des FGF2-Polymorphismus rs1048201 (zur Überprüfung der LightCycler-Methode).....	61
Tabelle 19	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des 5-HTR3A-Polymorphismus (rs1176713) mit anschließendem enzymatischen Verdau	63
Tabelle 20	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des MAOB-Polymorphismus (rs1799836) mit anschließendem enzymatischen Verdau.....	65
Tabelle 21	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des PCLO-Polymorphismus (rs2522833) mit anschließendem enzymatischen Verdau.....	67
Tabelle 22	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis der TPH2-Polymorphismen (rs7305115 und rs17110747)	69
Tabelle 23	Enzymatischen Verdau des LightCycler-PCR-Produkts (rs7305115)	70
Tabelle 24	Protokoll der allelspezifischen PCR zum Nachweis des TPH2-Polymorphismus (rs17110747)	71
Tabelle 25	Protokoll der LightCycler-PCR zum Nachweis des PPAR γ -Polymorphismus (rs1801282) mit anschließendem enzymatischen Verdau	73
Tabelle 26	Verwendete Geräte, Reagenzien und Software	76

Tabelle 27	Massenübergänge der analysierten Wirkstoffe und der verwendeten internen Standards	76
Tabelle 28	Citalopram – Präzision und Richtigkeit	83
Tabelle 29	Haloperidol – Präzision und Richtigkeit.....	83
Tabelle 30	Mirtazapin – Präzision und Richtigkeit	84
Tabelle 31	Olanzapin – Präzision und Richtigkeit.....	84
Tabelle 32	Quetiapin – Präzision und Richtigkeit	84
Tabelle 33	Risperidon – Präzision und Richtigkeit.....	85
Tabelle 34	Demografische Daten - Studienpopulation n_{gesamt} zum Aufnahmezeitpunkt	87
Tabelle 35	CGI-1-Werte - Studienpopulation n_{gesamt} zum Aufnahmezeitpunkt	87
Tabelle 36	ICD-10-Diagnosen - Studienpopulation n_{gesamt}	88
Tabelle 37	Demografische Daten - Studienpopulation n_2 zum Aufnahmezeitpunkt	89
Tabelle 38	CGI-1-Werte - Studienpopulation n_2 zum Aufnahmezeitpunkt	89
Tabelle 39	ICD-10-Diagnosen - Studienpopulation n_2	90
Tabelle 40	Krankheitsmerkmale und unerwünschte Arzneimittelwirkungen - Studienpopulation n_{gesamt}	94
Tabelle 41	CGI-1-Werte - Studienpopulation n_{gesamt}	95
Tabelle 42	CGI-2-Werte - Studienpopulation n_{gesamt}	95
Tabelle 43	CGI-3-Werte - Studienpopulation n_{gesamt}	95
Tabelle 44	Krankheitsmerkmale und unerwünschte Arzneimittelwirkungen -Studienpopulation n_2 ..	96
Tabelle 45	CGI-1-Werte - Studienpopulation n_2	96
Tabelle 46	CGI-2-Werte - Studienpopulation n_2	97
Tabelle 47	CGI-3-Werte - Studienpopulation n_2	97
Tabelle 48	Daten der Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_2)	101
Tabelle 49	Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_2)	102
Tabelle 50	CYP2D6-Gendosis: Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_2)	102
Tabelle 51	Daten der Patienten mit CYP2D6-Substraten (n_{gesamt}).....	106
Tabelle 52	Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_{gesamt})	107
Tabelle 53	CYP2D6-Gendosis: Patienten mit CYP2D6-abhängigen Wirkstoffen (n_{gesamt})	107
Tabelle 54	CYP2D6-Metabolisierungsstatus: PD-S-D- und DOTES-Gesamtwerte unter Gabe von CYP2D6-abhängigen Antidepressiva (n_{gesamt})	108
Tabelle 55	CYP2D6-Gendosis: Responseraten (gemäß CGI-2 \leq 2)	110
Tabelle 56	Anteil der Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben (abhängig von Medikation und CYP2D6-Genotyp).....	111
Tabelle 57	Mirtazapin-Serumkonzentrationen und Carbamazepin-Komedikation.....	113
Tabelle 58	CYP2D6-Metabolisierungsstatus: Mirtazapin-Serumkonzentrationen unterteilt nach Altersgruppen (> 60 Jahre \leq).....	114
Tabelle 59	CYP2D6-Metabolisierungsstatus: DOTES unter Gabe von Mirtazapin (Patienten > 60 Jahre)	115
Tabelle 60	CYP2D6-Metabolisierungsstatus: CGI-3/1-Werte unter Gabe von Mirtazapin (Patienten \leq 60 Jahre)	115

Tabelle 61	CYP2D6-Metabolisierungsstatus: stationäre Aufenthaltsdauer unter Mirtazapin-Therapie (Patienten ≤ 60 Jahre).....	116
Tabelle 62	Patienten mit CYP2C19-abhängigen Wirkstoffen eingeteilt nach CYP2C19-Genotypen....	119
Tabelle 63	Daten der Patienten unter Citalopram-Therapie.....	120
Tabelle 64	Mediane Citalopram-Serumkonzentrationen, -Dosen und normalisierte Serumwerte sowie mediane PD-S-Werte zur Aufnahme und nach 4 Wochen.....	121
Tabelle 65	CYP2C19-Metabolisierungsstatus: Responseparameter und Nebenwirkungen unter Escitalopram-Therapie	123
Tabelle 66	Daten der Patienten mit Olanzapin-Therapie	126
Tabelle 67	Mediane normalisierte Olanzapin-Serumkonzentrationen mit und ohne Carbamazepin-Komedikation abhängig vom Rauchverhalten	127
Tabelle 68	Olanzapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion.....	127
Tabelle 69	Daten der Patienten mit Mirtazapin-Therapie.....	131
Tabelle 70	Mediane normalisierte Mirtazapin-Serumkonzentrationen mit und ohne Carbamazepin-Komedikation sowie abhängig vom Rauchverhalten	132
Tabelle 71	Mirtazapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion.....	132
Tabelle 72	Mirtazapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion (unter Berücksichtigung des Alters).....	134
Tabelle 73	Zustandsverbesserung und Nebenwirkungen bei Patienten CYP1A2-abhängigen Neuroleptika abhängig vom CYP1A2*1F-Genotyp und Enzyminduktion.....	135
Tabelle 74	rs2032583-Genotyp und Krankheitszustand unter Antidepressiva-Therapie.....	138
Tabelle 75	rs2032583-Genotyp und Körpergewicht unter Antidepressiva-Therapie	139
Tabelle 76	rs2235015-Genotyp und Körpergewicht unter Antidepressiva-Gabe	140
Tabelle 77	rs2032583-Genotyp und Körpergewicht unter Antipsychotika-Gabe.....	141
Tabelle 78	Art und Anzahl der in der Population n_{gesamt} verordneten 5-HTT-blockierenden Antidepressiva	143
Tabelle 79	5-HTT VNTR: Nebenwirkungen und Ansprechen unter Therapie mit 5-HTT-blockierenden Antidepressiva.....	144
Tabelle 80	5-HTT VNTR 12/12-Genotyp: Nebenwirkungen und Ansprechen unter Therapie mit verschiedenen Antidepressiva.....	144
Tabelle 81	5-HTTLPR/5-HTT rs25531: Responderaten der Population n_2	146
Tabelle 82	5-HTTLPR/5-HTT rs25531: Nebenwirkungen und Ansprechen unter SSRI-Therapie ..	148
Tabelle 83	5-HTTLPR/5-HTT rs25531-Genotyp: Nebenwirkungen und Ansprechen unter Therapie mit verschiedenen Antidepressiva	150
Tabelle 84	rs7997012: Response und Nebenwirkungen unter Therapie mit Atypika.....	152
Tabelle 85	rs7997012: Neurologische Nebenwirkungen unter Olanzapin-Therapie	153
Tabelle 86	rs7997012: Nebenwirkungsraten und Aufenthaltsdauer unter SRI-Therapie.....	154
Tabelle 87	rs1176713: CGI-1 und Aufenthaltsdauer unter Atypika-Gabe.....	155
Tabelle 88	rs1799836: Response und Nebenwirkungen unter SSRI-Therapie.....	156
Tabelle 89	rs1799836: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie (weibliche Patienten).....	157
Tabelle 90	rs1799836: Nebenwirkungen nach 4-wöchiger Antipsychotika-Therapie	157
Tabelle 91	Art und Anzahl der in der Population n_{gesamt} verordneten 5-HTT-blockierenden Antidepressiva	158

Tabelle 92	rs7305115: Aufenthaltsdauer in verschiedenen Medikationsgruppen	159
Tabelle 93	rs28363170: Nebenwirkungen unter Antidepressiva-Gabe (n_2)	160
Tabelle 94	rs28363170: Response und Nebenwirkungen unter Antidepressiva-Gabe (n_{gesamt}).....	161
Tabelle 95	rs28363170: Response und Nebenwirkungen unter kombinierter Antidepressiva- und Antipsychotika-Therapie.....	162
Tabelle 96	rs2283265: Krankheitszustand und Nebenwirkungen unter Olanzapintherapie	164
Tabelle 97	rs1076560: Nebenwirkungen unter Olanzapintherapie.....	165
Tabelle 98	Verordnete SSRI (n_{gesamt})	166
Tabelle 99	rs2270007: Nebenwirkungen unter SSRI-Therapie.....	167
Tabelle 100	Art und Anzahl der nicht-selektiven SRI	168
Tabelle 101	rs110402: PD-S D-Wertveränderung unter Therapie mit nicht-selektiven SRI.....	169
Tabelle 102	rs110402: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie	170
Tabelle 103	Verordnete SSRI (n_{gesamt}).....	172
Tabelle 104	rs1048201: Symptomremission gemäß CGI-1 und -2 unter SSRI-Therapie	173
Tabelle 105	rs1048201: Symptomremission gemäß PD-S D unter SSRI-Therapie	173
Tabelle 106	Verordnete nicht-selektiven SRI (n_{gesamt})	174
Tabelle 107	rs1449683: Nebenwirkungen unter Therapie mit nicht-selektiven SRI	174
Tabelle 108	rs1449683: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie.....	175
Tabelle 109	Verordnete SSRI (n_{gesamt}).....	177
Tabelle 110	Verordnete nicht-selektiven SRI (n_{gesamt})	178
Tabelle 111	rs2522833: PD-S D-Wertveränderung unter Therapie mit nicht-selektiven SRI.....	178
Tabelle 112	rs2522833: Nebenwirkungen unter Therapie mit nicht-selektiven SRI	179
Tabelle 113	rs2522833: Nebenwirkungen unter Mirtazapin-Therapie.....	179
Tabelle 114	Körpergewicht und BMI bei Olanzapin- und Clozapin-Patienten abhängig vom Geschlecht	182
Tabelle 115	Körpergewicht und BMI bei Olanzapin- und Clozapin-Patienten abhängig vom PPAR γ Pro12Ala-Genotyp	183
Tabelle 117	Antidepressive und antipsychotische Medikation der Gesamtpopulation n_{gesamt}	257
Tabelle 117	Komedikation der Gesamtpopulation n_{gesamt}	258
Tabelle 118	Antidepressive und antipsychotische Medikation der Population n_2	259
Tabelle 119	Komedikation der Population n_2	260

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Pharmakogenetische Mechanismen variabler Arzneistoffwirkungen	6
Abbildung 2	Schematische Darstellung des Taqman-Formats (nach ³⁹⁸).....	34
Abbildung 3	Schematische Darstellung des FRET-Prozesses bei Hybridisierungssonden (nach ³⁹⁸)	34
Abbildung 4	Schematische Darstellung des FRET-Prozesses bei SimpleProbe-Sonden (nach ³⁹⁸)	35
Abbildung 5	Schmelzkurven des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560)	41
Abbildung 6	Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des CYP2C19*17-Polymorphismus (rs12248560).....	42
Abbildung 7	Schmelzkurven des POR*28-Polymorphismus (rs1057868)	44
Abbildung 8	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1057868-Polymorphismus entstehen	45
Abbildung 9	Schmelzkurven des ABCB1-Polymorphismus rs2235015.....	47
Abbildung 10	Schmelzkurven des ABCB1-Polymorphismus rs2032583.....	47
Abbildung 11	Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung der ABCB1-Polymorphismen rs2235015 und rs2032583.....	48
Abbildung 12	Schmelzkurven des CRHR1-Polymorphismus rs242941	51
Abbildung 13	Schmelzkurven des CRHR1-Polymorphismus rs110402	51
Abbildung 14	Schmelzkurven des CRHR2-Polymorphismus (rs2270007)	52
Abbildung 15	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs2270007-Polymorphismus entstehen	53
Abbildung 16	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs242941-Polymorphismus entstehen	53
Abbildung 17	Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des CRHR1-Polymorphismus rs110402	54
Abbildung 18	Schmelzkurven des DRD2-Polymorphismus rs2283265.....	56
Abbildung 19	Schmelzkurven des DRD2-Polymorphismus rs1076560.....	56
Abbildung 20	Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung der DRD2-Polymorphismen rs2283265 und rs1076560	57
Abbildung 21	Schmelzkurven des FGF2-Polymorphismus rs1449683	60
Abbildung 22	Schmelzkurven des FGF2-Polymorphismus rs1048201	60
Abbildung 23	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1449683-Polymorphismus entstehen	61
Abbildung 24	Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des FGF2-Polymorphismus rs1048201	62
Abbildung 25	Schmelzkurven des 5-HTR3A-Polymorphismus rs1176713.....	64
Abbildung 26	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1176713-Polymorphismus entstehen	64
Abbildung 27	Schmelzkurven des MAOB-Polymorphismus rs1799836	66
Abbildung 28	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1799836-Polymorphismus entstehen	66
Abbildung 29	Schmelzkurven des PCLO-Polymorphismus rs2522833.....	68
Abbildung 30	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs2522833-Polymorphismus entstehen	68

Abbildung 31	Schmelzkurven des TPH2-Polymorphismus rs7305115	70
Abbildung 32	Schmelzkurven des TPH2-Polymorphismus rs17110747	70
Abbildung 33	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs7305115-Polymorphismus entstehen	71
Abbildung 34	Gelelektrophorese der Produkte der allelspezifischen PCR zur Bestimmung des TPH2-Polymorphismus rs17110747	72
Abbildung 35	Schmelzkurven des PPAR γ -Polymorphismus rs1801282	74
Abbildung 36	Gelelektrophorese zur Darstellung der Fragmente, die durch enzymatischen Verdau der PCR-Produkte des rs1801282-Polymorphismus entstehen	74
Abbildung 37	LC-MS/MS-Chromatogramm von Citalopram mit Imipramin-D3 als IS	77
Abbildung 38	LC-MS/MS-Chromatogramm von Haloperidol mit Doxepin-D3 als IS	77
Abbildung 39	LC-MS/MS-Chromatogramm von Mirtazapin mit Doxepin-D3 als IS	78
Abbildung 40	LC-MS/MS-Chromatogramm von Olanzapin mit Doxepin-D3 als IS	78
Abbildung 41	LC-MS/MS-Chromatogramm von Quetiapin mit Imipramin-D3 als IS	79
Abbildung 42	LC-MS/MS-Chromatogramm von Risperidon mit Methylrisperidon als IS	79
Abbildung 43	CRHR1 (rs242941)	81
Abbildung 44	PCLO (rs2522833)	82
Abbildung 45	Diagnosen nach ICD-10 in der Studienpopulation n_{gesamt}	88
Abbildung 46	Diagnosen nach ICD-10 in der Studienpopulation n_2	90
Abbildung 47	Verordnete Antidepressiva in der Gesamtpopulation n_{gesamt}	91
Abbildung 48	Verordnete Neuroleptika in der Gesamtpopulation n_{gesamt}	92
Abbildung 49	Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen in der Population n_2	100
Abbildung 50	Anteile der Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben (mit bzw. ohne CYP2D6-Medikation) (n_2)	103
Abbildung 51	Verteilung der CYP2D6-Metabolisierungstypen in der Population n_{gesamt}	105
Abbildung 52	CYP2D6-Metabolisierungsstatus: Nebenwirkungsraten unter Gabe von CYP2D6-abhängigen Antidepressiva (n_{gesamt})	109
Abbildung 53	Anteil der Patienten, die auf die Therapie angesprochen haben (mit bzw. ohne CYP2D6-Medikation)	111
Abbildung 54	Metabolisierungsweg von Citalopram ⁴¹⁸	116
Abbildung 55	Verteilung der CYP2C19-Gendosen in der Population n_{gesamt}	118
Abbildung 56	Darstellung der für Dosis und Körpergewicht normalisierten Citalopram-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von der CYP2C19-Gendosis	122
Abbildung 57	Darstellung der normalisierten Olanzapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und gruppiert nach verschiedenen Möglichkeiten der Enzyminduktion	128
Abbildung 58	Darstellung der für Dosis und Körpergewicht normalisierten Mirtazapin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom CYP1A2*1F-Genotyp und gruppiert nach verschiedenen Möglichkeiten der Enzyminduktion	133
Abbildung 60	5-HTTLPR/5-HTT rs25531: Gastrointestinale Nebenwirkungen unter SSRI- oder Mirtazapin-Therapie	147
Abbildung 61	5-HTTLPR/5-HTT rs25531: CGI-1-Werte nach 4 Wochen unter SSRI- oder Mirtazapin-Therapie	149
Abbildung 61	rs7997012: Nebenwirkungsraten unter Olanzapin-Therapie (OR (95%-KI): 9,0 (1,6 – 52,0))	153

A Anhang

A.1 Selbst- und Fremdbeurteilungsskalen

A.1.1 Paranoid-Depressivitäts-Skala

Prüfungsnummer: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Testcode: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Patient/Proband laufende Nr.: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Prüftag Nr.: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Nr. der Messung: <input type="text"/> <input type="text"/>	Prüf-stelle: <input type="text"/> <input type="text"/>	Prüfer-Nr.: <input type="text"/> <input type="text"/>
Code des Patienten/Probanden: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>						
Datum: Tag <input type="text"/> <input type="text"/> Monat <input type="text"/> <input type="text"/> Jahr <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Tageszeit <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>						
Medikation: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>						
Initialen des Probanden (Patienten): _____						
Unterschrift des Untersuchers: _____						

CIPS

PD-S

Anleitung
 Lesen Sie bitte die folgenden Sätze. Entscheiden Sie bei jeder Feststellung, ob sie für Sie zutrifft oder nicht. Machen Sie ein Kreuz in eines der vier Kästchen rechts entsprechend der Stärke Ihrer Zustimmung bzw. Ablehnung. Füllen Sie den Bogen sorgfältig und möglichst schnell selbstständig aus. Lassen Sie keinen Satz aus!

	trifft ausgesprochen zu	trifft überwiegend zu	trifft etwas zu	trifft gar nicht zu		trifft ausgesprochen zu	trifft überwiegend zu	trifft etwas zu	trifft gar nicht zu
Bitte, hier anfangen (1.–13.)					hier fortsetzen (14.–26.)				
1. Ich habe die Anweisung verstanden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	14. Ich fühle mich niedergeschlagen und schwermütig	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Ich bin bereit, jede Frage so wahrheitsgetreu wie möglich zu beantworten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	15. Man will mich geistig vernichten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Ich habe Freude an den verschiedensten Spielen und Freizeitbeschäftigungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	16. Ich kann das, was ich lese, nicht mehr so gut verstehen wie früher	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Kritik verletzt mich stärker als früher	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	17. Am liebsten würde ich mir das Leben nehmen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. In letzter Zeit bin ich sehr ängstlich und schreckhaft	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	18. Ich war schon mal so aufgeregt, daß ich nur schwer einschlafen konnte	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Ich war hin und wieder erkältet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	19. An manchen Tagen kann ich mich schlechter konzentrieren als gewöhnlich	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Ich werde gegen meinen Willen von anderen Menschen beeinflusst	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	20. Ich werde dauernd von anderen beobachtet oder kontrolliert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Ich weine leicht	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	21. Morgens fühle ich mich besonders schlecht	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Ich hatte schon mal das Gefühl, den Weltuntergang zu erleben	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	22. Ich leide unter fremdartigen Veränderungen am oder im Körper	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Gelegentlich fühle ich mich müde	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	23. Es gibt Leute, die meine Gedanken und Ideen zu stehlen versuchen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Ich werde von anderen zu Unrecht für krank gehalten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	24. Ich habe zu anderen Menschen keine innere Beziehung mehr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Manchmal kommen mir Körperbewegungen wie von selbst	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	25. Zu allen meinen Handlungen und Gedanken werden Bemerkungen gemacht	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. Ich habe Angst, den Verstand zu verlieren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	26. Ich habe manchmal im Leben Angst gehabt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PD-S

Seite 2

Bitte hier anfangen (27.–35.)		hier fortsetzen (36.–43.)			
trifft ausgesprochen zu	trifft überwiegend zu	trifft ausgesprochen zu	trifft überwiegend zu		
27. Man ist neidisch auf mein Wissen, meine Entdeckungen und besonderen Erfahrungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	36. Ich bin jetzt viel weniger am Liebesleben interessiert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28. Ich habe eigenartige Erlebnisse wie Eingebungen, Visionen und dergleichen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	37. Wenn ich einen Gedanken denke, wird er auch schon von anderen gewußt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Hin und wieder bin ich schlecht gelaunt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	38. Für manche Dinge muß ich eigene, neue Worte bilden, die andere Leute zunächst nicht verstehen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Man trachtet mir nach dem Leben	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	39. Oft fühle ich mich einfach miserabel	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Ich fühle, daß ich nahe daran bin zusammenzubrechen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	40. Ich habe schon mal vor lauter Aufregung Herzklopfen bekommen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Ich habe das Gefühl, mit elektrischen Strömen, Strahlen oder Hypnose beeinflußt zu werden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	41. Ich komme beim besten Willen nicht mit den kleinsten Gedankenschritten voran	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Ich habe mir schon mal den Magen verdorben	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	42. Ich habe keine Gefühle mehr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34. Ich habe ständig Angst, daß ich etwas Falsches sagen oder tun könnte	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	43. Ich glaube, daß ich jede Frage wahrheitsgetreu beantwortet habe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35. Manchmal fühle ich eine übermenschliche und überströmende Kraft in mir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			

Bitte prüfen Sie, ob Sie alle Feststellungen beantwortet haben!

Score P Score D Score Kv

A.1.2 Clinical-Global-Impressions-Skala

Prüfungsnummer	Testcode	Patient/Proband laufende Nr.	Prüftag Nr.	Nr. der Messung	Prüfstelle	Prüfer-Nr.
Code des Patienten/Probanden	Datum Tag	Monat	Jahr	Tageszeit	Medikation	Initialen des Probanden (Patienten)
						Unterschrift des Untersuchers

Collegium Internationale Psychiatriae Sclalarum

Clinical Global Impressions

Anleitung
 Beurteilen Sie den Schweregrad der Krankheit und die Zustandsänderung beim Patienten. Bitte kreuzen Sie bei den Fragen jeweils nur eine, d.h. die am ehesten zutreffende Ziffer an! Ermitteln Sie weiterhin den Wirksamkeits-Index. Seine zweififfrige Codenummer kennzeichnen Sie bitte durch zwei Kreuze in den entsprechenden Kästchen. Es ist nur eine Codenummer anzukreuzen! Bitte machen Sie alle oben genannten Angaben!

<p>1. Schweregrad der Krankheit Ziehen Sie Ihren gesamten Erfahrungsschatz an dieser Art von Kranken in Betracht, und geben Sie an, wie hoch Sie den jetzigen Grad der seelischen Erkrankung des Patienten einschätzen.</p>	<p>2. Gesamtbeurteilung der Zustandsänderung Bitte vergleichen Sie den jetzigen Zustand des Patienten mit dem zu Beginn der Studie, und geben Sie an, inwieweit sich das Krankheitsbild des Patienten geändert hat. Beurteilen Sie dabei die Zustandsänderung insgesamt, also nicht nur das Ergebnis der Medikamentenbehandlung. Diese Frage muß bei Erstbewertungen ausgeklammert werden, indem man die Rubrik 1 (= „nicht beurteilbar“) ankreuzt.</p>
Nicht beurteilbar <input type="checkbox"/>	Nicht beurteilbar <input type="checkbox"/>
Patient ist überhaupt nicht krank <input type="checkbox"/>	Zustand ist sehr viel besser <input type="checkbox"/>
Patient ist ein Grenzfall psychiatrischer Erkrankung <input type="checkbox"/>	Zustand ist viel besser <input type="checkbox"/>
Patient ist nur leicht krank <input type="checkbox"/>	Zustand ist nur wenig besser <input type="checkbox"/>
Patient ist mäßig krank <input type="checkbox"/>	Zustand ist unverändert <input type="checkbox"/>
Patient ist deutlich krank <input type="checkbox"/>	Zustand ist etwas schlechter <input type="checkbox"/>
Patient ist schwer krank <input type="checkbox"/>	Zustand ist viel schlechter <input type="checkbox"/>
Patient gehört zu den extrem schwer Kranken <input type="checkbox"/>	Zustand ist sehr viel schlechter <input type="checkbox"/>

3. Wirksamkeits-Index
 Bitte beurteilen Sie das Verhältnis von therapeutischem Effekt und auftretenden Nebenwirkungen nur auf der Grundlage des Medikamenten-Effekts! Suchen Sie die zutreffende Kombination von therapeutischem Effekt (Zeilen) und Nebenwirkungen (Spalten) auf, und kreuzen Sie den in diesem Feld stehenden zweififfrigen Code an. Bei Erstbewertungen entfällt diese Beurteilung, und man kreuzt entsprechend die Rubrik „nicht beurteilbar“ an.

Beispiel
 Der therapeutische Effekt wird als „mäßig“ beurteilt, und zu den Nebenwirkungen wird festgestellt, daß sie den Patienten nicht wesentlich beeinträchtigen.
 Es ist anzukreuzen.

THERAPEUTISCHE WIRKSAMKEIT (gewünschte Arzneiwirkungen)	THERAPIE-RISIKEN (unerwünschte Arzneiwirkungen)			
	Keine	Beeinträchtigen den Patienten nicht wesentlich	Beeinträchtigen den Patienten wesentlich	Überwiegt die therapeutische Wirksamkeit
Sehr gut – Umfassende Besserung. Vollständige oder fast vollständige Remission aller Symptome	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Mäßig – Deutliche Besserung. Teilweise Remission der Symptome	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Gering – Leichte Besserung. Eine weitere Behandlung des Patienten ist dennoch nötig	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Unverändert oder schlechter	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Nicht beurteilbar	<input type="checkbox"/> 1			

Bitte prüfen Sie, ob Sie alle erforderlichen Angaben gemacht bzw. die jeweiligen Ziffern zutreffend angekreuzt haben!

A.1.3 Dosage Record and Treatment Emergent Symptom-Skala

Pharmakogenetische Untersuchung bei psychiatrischen Patienten - DOTES

Betr.NN-4Wo.....

Hat die Patientin/ der Patient während der Therapie unter einer/mehrerer der folgenden Nebenwirkungen gelitten, und war dies evtl. der Grund, eine Medikamentenumstellung vorzunehmen?

		gering mäßig stark	ggf. Zusammenhang zu welchem Medikament?	ggf. Absetzgrund?
a. Verhalten	Toxischer Verwirrheitszustand	① ② ③		
	Erregung/ Agitation	① ② ③		
	Depressive Stimmung	① ② ③		
	Gesteigerte mot. Aktivität	① ② ③		
	Verminderte mot. Aktivität	① ② ③		
	Schlaflosigkeit	① ② ③		
	Schläfrigkeit, Somnolenz, Dösigkeit	① ② ③		
b. Neurologisch	Rigor	① ② ③		
	Tremor	① ② ③		
	Dystonische Symptome	① ② ③		
	Akathisie	① ② ③		
	Spätdyskinesien	① ② ③		
c. Vegetativ	Mundtrockenheit	① ② ③		
	Behinderte Nasenatmung	① ② ③		
	Verschwommenes Sehen	① ② ③		
	Obstipation	① ② ③		
	Vermehrter Speichelfluß	① ② ③		
	Schwitzen	① ② ③		
	Übelkeit/ Erbrechen	① ② ③		
d. Kardiovaskulär	Hypotonie	① ② ③		
	Ohnmacht/ Schwindelgefühl	① ② ③		
	Tachykardie	① ② ③		
	Hypertonie	① ② ③		
	Abnormes EKG	① ② ③		
e. Andere	Dermatologische Symptome	① ② ③		
	Gewichtszunahme	① ② ③		
	Gewichtsverlust	① ② ③		
	Anorexie/ Appetitverlust	① ② ③		
	Kopfschmerzen	① ② ③		
f. Sonstige	① ② ③		

Wie **beeinträchtigt** sind die Begleitsymptome bei diesem Pat. verglichen mit denen anderer Pat.?

- | | | | |
|-------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| gar nicht | <input type="radio"/> | | |
| sehr wenig | <input type="radio"/> | nicht beurteilbar | <input type="radio"/> |
| mäßig | <input type="radio"/> | | |
| deutlich | <input type="radio"/> | | |

A.2 Medikation

A.2.1 Medikation der Gesamtpopulation n_{gesamt}

Tabelle 116 Antidepressive und antipsychotische Medikation der Gesamtpopulation n_{gesamt}

Antidepressiva	Anzahl der Verordnungen 484		Anzahl der behandelten Patienten 348
Mirtazapin			157
Venlafaxin			33
Moclobemid			17
Reboxetin			15
Duloxetin			11
Trazodol			1
Tranlycypromin			2
Maprotilin			1
SSRI	189		186
R/S-Citalopram	1 Wirkstoff	183	69
S-Citalopram	2 Wirkstoffe	3	65
Paroxetin			20
Sertralin			19
Fluoxetin			16
TCA	58		56
Doxepin	1 Wirkstoff	54	18
Trimipramin	2 Wirkstoffe	2	17
Amitriptylin			11
Clomipramin			7
Imipramin			2
Opipramol			3
Neuroleptika	Anzahl der Verordnungen 723		Anzahl der behandelten Patienten 452
Atypische Neuroleptika	538		411
Olanzapin	1 Wirkstoff	295	159
Quetiapin	2 Wirkstoffe	100	132
Risperidon	3 Wirkstoffe	13	81
Amisulprid	4 Wirkstoffe	1	66
Clozapin			41
Paliperidon			31
Ziprasidon			15
Aripiprazol			12
Sertindol			1

Typische Neuroleptika	185	179
Pipamperon	1 Wirkstoff	122
Haloperidol	2 Wirkstoffe	24
Perazin	3 Wirkstoffe	5
Flupentixol		16
Chlorpromazin		10
Promethazin		10
Melperon		7
Zuclopenthixol		6
Chlorprothixen		5
Prothipendyl		4
Fluspirilen		2
Sulpirid		2
Levopromazin		1
Fluphenazin		1
Pimozid		1

Tabelle 117 Komedikation der Gesamtpopulation n_{gesamt}

	Anzahl der Verordnungen	Anzahl der behandelten Patienten
Sedativa/Anxiolytika	519	357
Benzodiazepine	1 Wirkstoff	214
Zolpidem	2 Wirkstoffe	135
Zopiclon	3 Wirkstoffe	9
Clomethiazol	4 Wirkstoffe	2
Buspiron		1
Anticholinergikum		
Biperiden	99	78 21 (bei Bedarf)
Phasenprophylaktika/Antiepileptika	160	144
Lithium	1 Wirkstoff	128
Carbamazepin	2 Wirkstoffe	16
Valproinsäure		31
Lamotrigin		27
Oxcarbazepin		3
Gabapentin		1
Schilddrüsentherapeutika	93	93
L-Thyroxin		75
Kaliumiodid		18
Protonenpumpeninhibitoren	54	
Omeprazol		35
Pantoprazol		19
Antihypertensiva	223	120
ACE-Inhibitoren	1 Wirkstoff	62
β-Rezeptor-Inhibitoren	2 Wirkstoffe	30
Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten	3 Wirkstoffe	17
Calcium-Kanal-Inhibitoren	4 Wirkstoffe	5
Herzwirksame Glykoside	5 Wirkstoffe	6
Diuretika		1
		7
Antidiabetika	26	26
Cholesterolsenker	24	23

A.2.2 Medikation der Population n₂Tabelle 118 Antidepressive und antipsychotische Medikation der Population n₂

Antidepressiva	Anzahl der Verordnungen 161		Anzahl der behandelten Patienten 118
Mirtazapin			35
Venlafaxin			16
Moclobemid			1
Reboxetin			7
Duloxetin			11
Trazodol			1
Tranlycypromin			1
Maprotilin			1
SSRI	75		74
R/S-Citalopram	1 Wirkstoff	73	27
S-Citalopram	2 Wirkstoffe	1	36
Paroxetin			4
Sertralin			2
Fluoxetin			6
TCA	13		12
Doxepin	1 Wirkstoff	11	2
Trimipramin	2 Wirkstoffe	1	2
Amitriptylin			4
Clomipramin			4
Imipramin			1
Neuroleptika	Anzahl der Verordnungen 287		Anzahl der behandelten Patienten 166
Atypische Neuroleptika	223		160
Olanzapin	1 Wirkstoff	108	38
Quetiapin	2 Wirkstoffe	48	88
Risperidon	3 Wirkstoffe	5	22
Amisulprid	4 Wirkstoffe	1	17
Clozapin			16
Paliperidon			31
Ziprasidon			2
Aripiprazol			9
Typische Neuroleptika	64		51
Pipamperon	1 Wirkstoff	41	19
Haloperidol	2 Wirkstoffe	7	20
Perazin	3 Wirkstoffe	3	4
Flupentixol			4
Promethazin			3
Melperon			5
Zuclopenthixol			1
Chlorprothixen			5
Prothipendyl			1
Levopromazin			1
Fluphenazin			1

Tabelle 119 Komedikation der Population n₂

	Anzahl der Verordnungen		Anzahl der behandelten Patienten
Sedativa/Anxiolytika	241		141
Benzodiazepine	1 Wirkstoff	57	136
Zolpidem	2 Wirkstoffe	79	43
Zopiclon	3 Wirkstoffe	6	35
Clomethiazol			1
Buspiron	4 Wirkstoffe	2	1
Anticholinergikum			
Biperiden	47		43
			4 (bei Bedarf)
Phasenprophylaktika/Antiepileptika	60		50
Lithium	1 Wirkstoff	44	29
Carbamazepin	2 Wirkstoffe	8	3
Valproinsäure			11
Lamotrigin			20
Schilddrüsentherapeutika	34		33
L-Thyroxin			33
Kaliumiodid			1
Protonenpumpeninhibitoren	24		24
Omeprazol			13
Pantoprazol			11
Antihypertensiva	67		36
β-Rezeptor-Inhibitoren	1 Wirkstoff	18	29
ACE-Inhibitoren	2 Wirkstoffe	9	12
Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten	3 Wirkstoffe	7	7
Calcium-Kanal-Inhibitoren	5 Wirkstoffe	2	6
Herzwirksame Glykoside			1
Diuretika			7
Antidiabetika	9		9
Cholesterolsenker	7		6

A.3 Allelhäufigkeiten

A.3.1 Allelhäufigkeiten der Gesamtpopulation n_{gesamt}

ABCB1 rs2235015

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2235015

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/T	T/T	G	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,652	0,320	0,028	0,812	0,188
HapMap-CEU	europäisch	60	0,567	0,400	0,033	0,767	0,233
SNP500Cancer	europäisch	30	0,600	0,367	0,033	0,783	0,217
HWE $p=0,480$							

ABCB1 rs2032583

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2032583

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			T/T	T/C	C/C	T	C
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,774	0,208	0,017	0,878	0,122
HapMap-CEU	europäisch	60	0,683	0,300	0,017	0,833	0,167
SNP500Cancer	europäisch	31	0,613	0,387	0,000	0,806	0,194
HWE $p=0,828$							

CRHR1 rs242941

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=242941

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/T	T/T	G	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	571	0,441	0,466	0,093	0,674	0,326
⁵⁹⁴	nicht angegeben	606	-	-	-	0,670	0,330
³⁶⁸ Patienten	asiatisch	233	-	-	-	0,754	0,246
³⁶⁸ Kontrollen	asiatisch	251	-	-	-	0,793	0,207
HWE $p=0,357$							

CRHR1 rs110402

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=110402

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/T	T/T	C	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,315	0,488	0,198	0,559	0,441
HapMap-CEU	europäisch	60	0,319	0,522	0,159	0,550	0,450
³⁶⁹ Patienten	europäisch	156	0,346	0,487	0,167	0,590	0,410
³⁶⁹ Kontrollen	europäisch	96	0,354	0,490	0,156	0,599	0,401
HWE $p=0,999$							

CRHR2 rs2270007

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2270007

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/G	G/G	C	G
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,698	0,271	0,031	0,833	0,167
³⁶⁹ Patienten	europäisch	157	0,752	0,210	0,038	0,857	0,143
³⁶⁹ Kontrollen	europäisch	95	0,716	0,211	0,074	0,821	0,179
HWE $p=0,480$							

DRD2 rs2283265

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2283265

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/T	T/T	G	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,729	0,243	0,028	0,851	0,149
HapMap-CEU 235	europäisch	57	0,702	0,263	0,035	0,833	0,167
	europäisch	105	-	-	-	0,830	0,170
HWE $p=0,626$							

DRD2 rs1076560

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1076560

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/T	T/T	G	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,708	0,262	0,030	0,839	0,161
HapMap-CEU 235	europäisch	49	0,759	0,223	0,018	0,878	0,122
	europäisch	105	-	-	-	0,830	0,170
HWE $p=0,836$							

FGF2 rs1449683

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1449683

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/T	T/T	C	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,851	0,135	0,014	0,919	0,081
³⁷⁸	asiatisch	162	-	-	-	0,847	0,153
HWE $p=0,055$							

FGF2 rs1048201

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1048201

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/T	T/T	C	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,687	0,271	0,042	0,823	0,177
HapMap-CEU 378	europäisch	60	0,567	0,367	0,067	0,750	0,250
	asiatisch	162	-	-	-	0,507	0,493
HWE $p=0,264$							

5-HTR3A rs1176713

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1176713

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			A/A	A/G	G/G	A	G
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,614	0,346	0,04	0,787	0,213
HapMap-CEU 306	europäisch	60	0,517	0,383	0,100	0,708	0,292
	asiatisch	107	0,551	0,411	0,037	0,757	0,243
HWE $p=0,663$							

MAOB rs1799836
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1799836

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			A/A	A/G	G/G	A	G
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572					
weiblich		351	0,296	0,496	0,208	0,544	0,456
männlich		221	-	-	-	0,566	0,434
HapMap-CEU	europäisch	60	-	-	-	0,625	0,375
³⁴² weiblich	europäisch	76	0,303	0,539	0,158	0,572	0,428
³⁴² männlich	europäisch	26	-	-	-	0,538	0,462
HWE $p=0,978$ (weibliche Patienten)							

PCLO rs2522833
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2522833

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			A/A	A/C	C/C	A	C
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	570	0,333	0,489	0,177	0,578	0,422
HapMap-CEU	europäisch	60	0,317	0,517	0,167	0,575	0,425
⁸³ Patienten	europäisch	1738	-	-	-	0,515	0,485
⁸³ Kontrollen	europäisch	1802	-	-	-	0,573	0,427
HWE $p=0,986$							

POR*28 (rs1057868)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1057868

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/T	T/T	C	T
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,502	0,413	0,086	0,708	0,292
SNP500Cancer	europäisch	124	0,500	0,339	0,161	0,669	0,331
¹⁹⁹	europäisch	518	-	-	-	0,736	0,264
HWE $p=0,991$							

PPAR γ rs1801282
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1801282

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/G	G/G	C	G
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,719	0,257	0,024	0,847	0,153
HapMap-CEU	europäisch	59	0,864	0,119	0,017	0,924	0,076
HWE $p=0,843$							

TPH2 rs7305115
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=7305115

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/A	A/A	G	A
Studienpopulation n_{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,400	0,467	0,133	0,634	0,366
HapMap-CEU	europäisch	60	0,450	0,367	0,183	0,633	0,367
HWE $p=1,000$							

TPH2 rs17110747

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=17110747

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/A	A/A	G	A
Studienpopulation n _{gesamt}	europäisch (99,3%)	572	0,766	0,213	0,021	0,872	0,128
HapMap-CEU	europäisch	60	0,783	0,200	0,017	0,883	0,117
³⁵⁸ Patienten	asiatisch	508	0,571	0,377	0,051	0,760	0,240
³⁵⁸ Kontrollen	asiatisch	463	0,496	0,398	0,106	0,695	0,305
HWE p=0,631							

CYP2C19

<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>

CYP2C19-Genotyp	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	
*1/*1	228	0,399	
*17/*1	151	0,264	
*1/*2	125	0,219	
*17/*2	36	0,063	
*17/*17	20	0,035	
*2/*2	9	0,016	
*4/*17	2	0,003	
*4/*1	1	0,002	
n	572	1,000	

CYP2C19-Allel	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	Relative Häufigkeit*
*1	733	0,641	
*17	229	0,200	0,217
*2	179	0,157	0,155
*4	3	0,005	0,000

*http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=12248560

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=4244285

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=28399504

(HapMap-CEU, n = 60)

CYP2C19-Genodosis	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	
0	9	0,016	
1	126	0,220	
2	417	0,729	
>2	20	0,035	
n	572	1,000	

A.3.2 Allelhäufigkeiten der Population n₂

DAT VNTR rs28363170

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=28363170

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten								
			7/7	7/9	8/9	8/10	9/9	9/10	10/10	10/11	9/11
Studienpopulation n ₂	europäisch (99,1%)	216	0,5	0,9	0,5	0,9	6,9	38,0	48,6	3,2	0,5
			Relative Häufigkeiten								
			7	8	9	10	11				
			0,014	0,014	0,271	0,697	0,037				
PDR90-Global	europäisch	61	0	0	0	0	0,02	0,23	0,75	0	0
			0	0	0,13	0,87	0				
⁵⁹⁵ Patienten	europäisch	293	0	0	0	0	0,065	0,362	0,560	0,01	0,003
			0	0	0,247	0,746	0,007				
⁵⁹⁵ Kontrollen	europäisch	93	0	0	0	0	0,054	0,258	0,645	0,03	0,011
			0	0	0,188	0,790	0,022				
HWE p=0,969											

5-HTTLPR rs4795541/5-HTT rs25531

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4795541

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=25531

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten								
			LaLa	LaLg	LgLg	LaS	LgS	SS	La	Lg	S
Studienpopulation n ₂	europäisch (99,1%)	216	0,292	0,069	0,009	0,426	0,046	0,157	0,539	0,067	0,394
⁵⁹⁶ Patienten	europäisch	191	0,288	0,052	0,000	0,058	0,424	0,178	0,526	0,055	0,419
⁵⁹⁶ Kontrollen	europäisch	125	0,264	0,056	0,008	0,064	0,395	0,216	0,490	0,060	0,446
HWE p=0,934											

5-HTT VNTR rs57098334

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=57098334

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten								
			9/10	9/12	10/10	10/12	12/12	9	10	12	
Studienpopulation n ₂	europäisch (99,1%)	216	0,009	0,023	0,134	0,481	0,352	0,016	0,380	0,604	
			55	-	-	-	-	0,018	0,436	0,546	
HWE p=0,939											

5-HTR2A intron2 rs7997012

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=7997012

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			G/G	G/A	A/A	G	A
Studienpopulation n ₂	europäisch (99,1%)	216	0,315	0,417	0,269	0,523	0,477
HapMap-CEU ²⁷⁰	europäisch	60	0,333	0,550	0,117	0,608	0,392
	asiatisch	265	0,652	0,332	0,015	0,819	0,181
HWE p=0,053							

CYP1A2*1F rs762551

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=762551

Quelle	Herkunft	N	Relative Häufigkeiten				
			C/C	C/A	A/A	C	A
Studienpopulation n ₂	europäisch (99,1%)	216	0,083	0,417	0,500	0,292	0,708
HapMap-CEU ¹⁸¹	europäisch	60	0,100	0,417	0,483	0,308	0,692
		236	0,0102	0,441	0,458	0,320	0,680
HWE p=0,992							

CYP2D6<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>

CYP2D6-Genotyp	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	
*1*2	42	0,194	
*1*4	36	0,167	
*1*1	34	0,157	
*2*4	17	0,079	
*2*2	12	0,056	
*1*41	9	0,042	
*2*41	7	0,032	
*4*4	7	0,032	
*1*9	5	0,023	
*1*3	4	0,019	
*1XN*2	4	0,019	
*1XN*4	4	0,019	
*2*5	4	0,019	
*4*41	4	0,019	
*1*10	3	0,014	
*41*41	3	0,014	
*1*6	2	0,009	
*2*10	2	0,009	
*4*5	2	0,009	
*4*9	2	0,009	
*1*7	1	0,005	
*1XN*3	1	0,005	
*1XN*41	1	0,005	
*2*9	1	0,005	
*3*3	1	0,005	
*3*41	1	0,005	
*4*41*41	1	0,005	
*4*6	1	0,005	
*4XN*41*41	1	0,005	
*4XN*5	1	0,005	
*5*5	1	0,005	
*6*41	1	0,005	
*9*41	1	0,005	
n	216	1,000	

CYP2D6-Allel	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	Relative Häufigkeit (n = 157)⁵⁹⁷
*1	180	0,417	0,344
*2 (-1584G, 4180C)	98	0,227	0,287
*4	81	0,188	0,172
*41	59	0,137	0,070
Duplikation	12	0,028	0,028
*5	9	0,021	0,032
*1XN	9	0,021	0,006
*9	9	0,021	0,025
*3	8	0,019	0,003
*10	5	0,012	0,029
*6	4	0,009	0,006
*4XN	2	0,005	0,006
*2XN	1	0,002	0,013
*7	1	0,002	0,015 (n = 97) ¹³⁰

CYP2D6-Gendosis	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit	
0	12	0,056	
0,5	9	0,042	
1,0	68	0,315	
1,5	29	0,134	
2,0	93	0,431	
2,5	1	0,005	
3,0	4	0,019	
n	216	1,000	

A.4 Primer und Sonden

Gen	Polymorphismus	Bezeichnung	Sequenz (5' → 3')	Primer- bzw. Sondenlänge (bp)	Produktlänge (bp)	T _m (°C)
CYP2C19	rs12248560 (CYP2C19*17)	2C19-1.1kb	GCCCTTAGCACCAAATTCTC	20	472	58.8
		2C19-0.6kb	ATTTAACCCCCTAAAAAACACG	23		59.6
		2C19*17-SP	TCTGT X TCTCAAAG C ATCTCTGATGTAAGA-Phosphat	29		60.6
CYP2C19	rs12248560 (CYP2C19*17)	2C19F-806wt	GTCTTCTGTTCTCAAAG C	18	203	47.5
		2C19F-806mut	GTCTTCTGTTCTCAAAG I	18		43.7
		2C19R-806	ATTTAACCCCCTAAAAA	17		47.1
CYP2D6	rs1135840 (CYP2D6*2)	1135840-F	CACCATGGTGTCTTTGCTTTC	21	260	60.5
		1135840-R	CAGCCTCAACGTACCCCT	18		58.7
		1135840-SP	TAGGGGG X TGGG C TCACC-Phosphat	19		63.2
ABCB1 (MDR1)	rs2235015	2235015-F	ATGTGGTTGCACACAGTCAG	20	244	58.1
		2235015-R	GGAGAATGTCTAATTACCTG	20		58.2
		2235015-anc	ATTGATATCACCTAGACCACCACAAAACA-Fluorescein	29		66.1
		2235015-sen	LC705-AT A CCATTTATGTCTCTTTAGTCTCCATT-Phosphat	29		63.2
ABCB1 (MDR1)	rs2235015	2235015-F G	GAGACTAAAGAGACATAAATG G	22	115	59.6
		2235015-F T	GAGACTAAAGAGACATAAATG T	22		56.6
		2235015-R	GGAGAATGTCTAATTACCTG	20		58.2
ABCB1 (MDR1)	rs2032583	2032583-F	TAGGTTCCAGGCTTGCTG	18	384	57.5
		2032583-R	TCCAAGAAGTGGCTTTGC	18		57.4
		2032583-anc	TAGAGCATAGTAAGCAGTAGGGAGTAACAA-Fluorescein	30		66.8
		2032583-sen	LC640-AACACTGATT G GAATACTTTACTCTAC-Phosphat	27		62.9
ABCB1 (MDR1)	rs2032583	2032583-F C	GATTAATTAAGTAGAGTAAAGTATT C	27	191	59.6
		2032583-F T	GATTAATTAAGTAGAGTAAAGTATT I	27		58.1
		2032583-R	TCCAAGAAGTGGCTTTGC	18		57.4
CRHR1	rs242941	242941-F	GGCACAAGAGTGGACAGACA	20	162	59.9
		242941-R	CTGAGAGACTGGGGACAAGC	20		60.0
		242941-anc	FI-CATGGTTCCTGGCCCTCCGT-Phosphat	20		69.5
		242941-sen	CCCAC C CGCGCTGG-LC610	14		65.1
CRHR1	rs110402	110402-F	ATTCCAGGCAAAGGGCTAGT	20	162	60.1
		110402-R	GGAAAGGTTGGTTTGGGAAT	20		60.0
		110402-anc	CACAGGCATTTTCTAAACACAGAGGAC-Fluorescein	27		66.5
		110402-sen	LC705-GTGT G CGTTATGCAAAGAAA-Phosphat	21		61.8
CRHR1	rs110402	110402-F	ATTCCAGGCAAAGGGCTAGT	23	137	60.1
		110402-R G	GAAGCATTTTTCTTTGCATAAC G	23		60.1
		110402-R A	GAAGCATTTTTCTTTGCATAAC A	20		60.0

fett und unterstrichen: SNP; fett und kursiv: interne Markierung d. SimpleProbe-Sonden

Gen	Polymorphismus	Bezeichnung	Sequenz (5' → 3')	Primer- bzw. Sondenlänge (bp)	Produktlänge (bp)	T _m (°C)
CRHR2	rs2270007	2270007-F	CCTGGCTTTCTCAGCATTGT	20	204	60.4
		2270007-R	CTCTATATGCCACCCCGTA	20		59.8
		2270007-anc	CTCCTCCCAGAGAAAGAGCCC-Fluorescein	21		67.3
		2270007-sen	LC640-AGGTCA <u>C</u> CAGAGTGGTGC-Phosphat	18		65.1
DRD2	rs2283265	2283265-F	GGCACAGAAGGAACAAGAGC	20	157	60.0
		2283265-R	CACCCTGTGAGGCTGGTATT	20		60.0
		2283265-anc	CCATTTAACAGATGAGGAAACAGGCTC-Fluorescein	27		66.9
		2283265-sen	LC640 -GAAGGTAAG <u>C</u> AACCTGCCT-Phosphat	19		61.5
DRD2	rs2283265	2283265-F G	CTGAGTGACCTTAGGCAAGTT <u>G</u>	22	90	62.0
		2283265-F T	CTGAGTGACCTTAGGCAAGTT <u>I</u>	22		60.0
		2283265-R	CACCCTGTGAGGCTGGTATT	20		60.0
DRD2	rs1076560	1076560-F	GGCAGAACAGAAGTGGGGTA	20	212	60.1
		1076560-R	GACAAGTTCCCAGGCATCAG	20		60.7
		1076560-anc	CACCCATCTCACTGGCCC-Fluorescein	18		64.8
		1076560-sen	LC705-CCTTT <u>C</u> CCCCTCTGAAGA-Phosphat	18		57.8
DRD2	rs1076560	1076560-F G	GCAGGAGTCTTCAGAGGG <u>G</u>	19	67	62.0
		1076560-F T	GCAGGAGTCTTCAGAGGG <u>I</u>	19		60.0
		1076560-R	GACAAGTTCCCAGGCATCAG	20		60.7
FGF2	rs1449683	1449683-F	GGGGGTGGAGATGTAGAAGAT	21	212	59.3
		1449683-R	CTCGGCCGCTCTTCTGTC	18		62.3
		1449683-anc	Fluorescein-GTCCC GGGCCGCC-Phosphat	13		68.4
		1449683-sen	CACCCAT <u>C</u> CGTGAACCC-LC640	17		65.1
FGF2	rs1048201	1048201-F	TGCTGGTGATGGGAGTTGTA	20	240	60.1
		1048201-R	ACACAGCGGTTTCGAGAAGTT	20		59.9
		1048201-anc	GACTTCCAAAAGCTCCAGGATT-Fluorescein	23		65.4
		1048201-sen	705-GTGCTGTTGC <u>C</u> GAATACT-Phosphat	18		60.9
FGF2	rs1048201	1048201-F	TGCTGGTGATGGGAGTTGTA	20	190	60.1
		1048201-R C	AGGTCCGTCCTGAGTATT <u>C</u> G	20		59.2
		1048201-R T	AGGTCCGTCCTGAGTATT <u>C</u> A	20		58.0
5-HTR3A	rs1176713	1176713-F	GGTCTCCCTCTCTTGCCAAT	20	407	60.6
		1176713-R	GGGCCTAAGCAGAAATCCTC	20		60.2
		1176713-SP	TTTACCTGCT <u>A</u> GCGG <u>X</u> TGCTGGCC -Phosphat	23		67.4

fett und unterstrichen: SNP; fett und kursiv: interne Markierung d. SimpleProbe-Sonden

Gen	Polymorphismus	Bezeichnung	Sequenz (5' → 3')	Primer- bzw. Sondenlänge (bp)	Produktlänge (bp)	T _m (°C)
MAOB	rs1799836	1799836-F	TTCTGGCCTTTACCTTGGTG	20	168	60.1
		1799836-R	GCCAGATTTTCATCCTCTGGA	20		60.2
		1799836-anc	CAGGATCTGAAATGAAAGAACACTGG-Fluorescein	28		67.3
		1799836-sen	LC640-ATAGCAAAAAG <u>C</u> GACACCATCT-Phosphat	21		61.3
PCLO	rs2522833	2522833-F	TTGCCATGATCAATGCTTTC	20	248	59.6
		2522833-R	TGGTGAAGAAAACCTGAGGAAGA	22		59.0
		2522833-SP	TCGAGG <u>X</u> TGAG <u>C</u> TGTGCTAGA-Phosphat	21		57.4
POR*28	rs1057868	1057868-F	TGTGGAGTACGAGACCAAGG	20	567	58.7
		1057868-R	TTAGCAGGTGCTGGACGTAG	20		59.1
		1057868-anc	CAACTGGCTGCGGGCC-Fluorescein	16		67.1
		1057868-sen	LC705-GAGCCTG <u>C</u> CGGGGAG-Phosphat	15		61.0
POR*28	rs1057868	1057868-F	TGTGGAGTACGAGACCAAGG	20	171	58.7
		1057868-R TC	CCCACCATGATGACAGGC	18		61.0
PPAR γ	rs1801282	1801282-F	TCCATGCTGTTATGGGTGAA	20	242	54.9
		1801282-R	CGATAGCAACGAGCTAAGCA	20		59.7
		1801282-anc	Fluorescein-TCCTTCACTGATACACTGTCTGCAAACA-Phosphat	28		57.4
		1801282-sen	CTCCTATTGACCCAGAAAGCG-LC640	21		62.5
TPH2	rs7305115	7305115-F	TGGCTTTTTCTGTTGCCTTT	20	188	59.9
		7305115-R	GTGGCCTGGGCTTTAATGTA	20		60.0
		7305115-anc	Fluorescein-AGAGGGGATCTGAGCCATGCCG-Phosphat	22		70.1
		7305115-sen	CTCACGGTTC <u>C</u> GGGG-LC640	15		61.2
TPH2	rs17110747	17110747-F	AAAGCAGTGAAGCTGTTTCCA	21	227	60.0
		17110747-R	CAAGGTCAACGCAACCTACA	20		59.8
		17110747-anc	TGCTGTGTTACCTCAACAATTT-Fluorescein	22		61.0
		17110747-sen	LC705-AAATAGAATATTGAAC <u>C</u> TTTGTTATT-Phosphat	26		58.0
TPH2	rs17110747	17110747-F G	CTTCCCATCACAATAACAAAG	21	137	58.0
		17110747-F A	CTTCCCATCACAATAACAAAA	21		57.0
		17110747-R	CAAGGTCAACGCAACCTACA	20		59.8

fett und unterstrichen: SNP; fett und kursiv: interne Markierung d. SimpleProbe-Sonden