

Diplomarbeit

MOLEKULARE UHR UND TEMPERAMENT IN DER BIPOLAREN STÖRUNG

**Zusammenhang zwischen Uhrengenen und
Persönlichkeitsfaktoren bei PatientInnen mit Bipolarer
Störung**

eingereicht von

Christa Hörmanseder

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde (Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapeutische Medizin Graz

unter der Anleitung von

Assoz.-Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. et scient.med. Eva Reininghaus, MBA

Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. et scient.med. Susanne Bengesser Bakk.rer.nat.

Graz, am 24.09.2017

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 24.09.2017

Christa Hörmanseder eh.

„...Diese Menschen haben alle zwei Seelen, zwei Wesen in sich, in ihnen ist Göttliches und Teuflisches, ist mütterliches und väterliches Blut, ist Glücksfähigkeit und Leidenschaft ebenso feindlich und verworren neben- und ineinander vorhanden, (...). Und diese Menschen, deren Leben ein sehr unruhiges ist, erleben zuweilen in ihren seltenen Glücksaugenblicken so Starkes und unnennbar Schönes, der Schaum des Augenblicksglückes spritzt zuweilen so hoch und blendend über das Meer des Leides hinaus, dass dies kurze aufleuchtende Glück ausstrahlend auch andere berührt und bezaubert...“

(Auszug aus *Der Steppenwolf* von Hermann Hesse, 1974)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt Klinikvorstand Univ.-Prof. Dr.med.univ. Dr.phil. Hans-Peter Kapfhammer und Assoz.-Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. et scient.med. Eva Reininghaus, MBA für das Ermöglichen der Diplomarbeit an der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapeutische Medizin.

Besonders bedanke ich mich bei Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. et scient.med. Susanne Bengesser Bakk.rer.nat. für die kompetente Betreuung während der Entstehung dieser Arbeit. Danke für die vielen hilfreichen Anregungen und die Engelsgeduld.

Darüber hinaus möchte ich dem gesamten Team der Spezialambulanz für Bipolar affektive Störungen Graz ein herzliches Dankeschön für die gute Zusammenarbeit aussprechen. Ich habe mich während meiner Zeit dort sehr gut betreut und gefördert gefühlt.

An dieser Stelle möchte ich mich außerdem noch bei meiner Familie, insbesondere bei meinen Eltern bedanken, die mir mein Studium überhaupt ermöglicht haben. Ein letzter besonderer Dank gilt meinen wundervollen Freunden, allen voran Lucia Hörmanseder und Veronika Schusterbauer, für deren wertvollen Rückhalt und deren motivierende Worte, womit sie mir während des Medizinstudiums stets zur Seite standen.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
1.1 Bipolar affektive Störung.....	1
1.1.1 Geschichte der Bipolaren Störung.....	1
1.1.2 Symptomatik und Klassifikation.....	2
1.1.3 Epidemiologie.....	7
1.1.4 Pathophysiologie.....	8
1.1.5 Pharmakotherapie.....	12
1.2 Zirkadiane Rhythmen und Uhrengene.....	15
1.2.1 Zirkadiane Abläufe und deren Steuerungsprozesse.....	15
1.2.2 Die molekulare Uhr und ihre Regulation.....	16
1.2.3 Chronobiologische Rhythmen und Bipolare Störung.....	20
1.3 Das Feld der Temperamentsforschung.....	22
1.3.1 Erklärungsmodelle der Temperamente.....	22
1.3.2 Temperament und Affektive Erkrankungen.....	25
1.4 Hypothesen.....	30
2 Material und Methoden.....	31
2.1 PatientInnenanalyse.....	31
2.2 Ausschlusskriterien.....	32
2.3 Genotypisierungsmethoden.....	32
2.4 Methoden zur Temperamentserhebung.....	36
2.5 Statistische Methoden.....	36
2.6. Störfaktoren.....	37
3 Ergebnisse.....	39
4 Diskussion.....	42

4.1. Beantwortung und Erörterung der Forschungsfrage.....	42
4.2. Limitationen	45
4.3. Weiterführende Forschungsansätze	45
5 Literaturverzeichnis	47
6 Anhang.....	55

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ANCOVA	<i>Analysis of Covariance</i>
ARNTL	<i>Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1-Like-Protein 1 (Syn. Bmal1)</i>
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung
APA	<i>American Psychiatric Association</i>
BCL-2	<i>B-Cell Lymphoma/Leukemia-2</i>
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
Bmal1	<i>Brain and Muscle Arylhydrocarbon Receptor Nuclear Translocator-Like Protein 1</i>
CACNA1C	<i>Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 C</i>
CANMAT	<i>Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments</i>
CLOCK	<i>Circadian Locomotor Output Cycles Kaput</i>
COX 2	Cyclooxygenase 2
CpG Islands	Cytosin und Guanin reiche Gensequenzen
CRY 1-3	<i>Cytochrome Genes 1-3</i>
C	Cytosin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EKT	Elektrokrampftherapie
FSH	Follikel stimulierendes Hormon

G	Guanin
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GSK-3β	Glykogen-Synthase-Kinase-3 β
GWAS	Genomweite Assoziationsanalyse
HAM-D	<i>Hamilton Rating Scale for Depression</i>
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
HTR2A	<i>Serotonin Receptor Type-2</i>
ICD-10	<i>International Classification of Diseases</i>
LH	Luteinisierendes Hormon
MAF	<i>Minor Allele Frequency</i>
MAO-A	Monoaminoxidase-A
MB-COMT	<i>Membrane-Bound Catechol-O-Methyltransferase</i>
NCAN	<i>Neurocan</i>
NPAS2	<i>Neuronal Per-Arnt-Sim domain-containing protein 2</i>
NR1D1	<i>Nuclear Receptor Subfamily 1, Group D, Member 1</i> (Syn. Rev-erba)
ÖGPP	Österreichische Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie
PER1-3	<i>Period Genes 1-3</i>
PG 2	Prostaglandin 2
PTBS	Posttraumatische Belastungsstörung

RELN	<i>Reelin</i>
REM	<i>Rapid Eye Movement</i>
RNA	Ribonukleinsäure
SCN	Nucleus suprachiasmaticus
SKID-I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SNP ID	<i>Single Nucleotide Polymorphism Identification</i>
SNRI	Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer
T	Thymin
TCA	Trizyklische Antidepressiva
TCI	<i>Cloninger's Temperament and Character Inventory</i>
TEMPS-A	<i>Temperament Scale of Memphis, Pisa, Paris and San Diego- Autoquestionnaire</i>
TENM4	<i>Teneurin Transmembrane Protein 4 (Syn. ODZ4)</i>
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
YMRS	<i>Young Mania Rating Scale</i>

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1.	DSM-IV-Diagnosen des Bipolaren Spektrums.....	5
Tabelle 2.1.	Beschreibung der analysierten Polymorphismen.....	33
Tabelle 2.2.	Häufigkeitsverteilung der analysierten Polymorphismen	35
Tabelle 2.3.	Mittelwerte und Standardabweichungen der Temperamentswerte in Abhängigkeit vom Geschlecht	37
Tabelle 3.1.	Temperament Scores und Uhren-genotypen in Individuen mit bipolarer Störung.....	40
Abbildung 1.1.	Vereinfachte Darstellung der molekularen Steuerung zirkadianer Rhythmen	19
Abbildung 1.2.	Ausschnitt aus dem TEMPS-M Fragebogen	25
Abbildung 3.1.	Ängstliches Temperament und Genotypen des <i>PER3</i> SNP rs10864315	39

Zusammenfassung in Deutsch

Hintergrund: Gen-Assoziations-Studien zeigten bereits eine Assoziation zwischen Uhrengenen und der Bipolaren Störung. Die aktuelle Studie widmet sich der Frage, ob sich auch Temperament Scores zwischen unterschiedlichen Uhrengen-Genotypen innerhalb der Bipolaren Störung unterscheiden.

Methoden: Für die prospektive Datenerhebung wurden 66 PatientInnen (32 Männer, 34 Frauen; mittleres Alter $44,39 \pm 14,51$ Jahre) mit einer Bipolaren Störung in die Studie inkludiert. Es erfolgte die Genotypisierung mittels *Omniexpress1.1* von *Illumina*. In Folge wurden hypothesengeleitet folgende Genvarianten isoliert: 3 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) vom *CLOCK (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput)*-Gen, 8 SNPs vom *ARNTL (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1-Like-Protein 1)*-Gen, 5 SNPs vom *PER3 (Period Gene 3)*-Gen, 2 SNPs vom *TIMELESS*-GEN und 2 SNPs vom *NPAS2 (Neuronal Per-Arnt-Sim domain-containing protein 2)*-Gen. Die Temperamentserhebung erfolgte mittels dem TEMPS-M-Fragebogen, bei dem anhand von 35 Fragen die Klassifizierung in 5 Temperamentstypi (*depressiv, hyperthym, zylothym, reizbar, ängstlich*) erfolgte. Zusätzlich wurden Alter, Geschlecht, Lithium- und Valproateinnahme, Übergewicht, und Rauchverhalten als mögliche beeinflussende Faktoren erhoben.

Resultate: Die Temperament Scores hinsichtlich *ängstlichem Temperament* unterschieden sich signifikant zwischen den Genotypen des *PER3* SNPs rs10864315. Hierbei zeigte der Genotyp GG signifikant höhere Werte (Mittelwert: 20,13, Standardabweichung: $\pm 6,93$) als die Genotypengruppe AG+AA (Mittelwert: 14,47, Standardabweichung: $\pm 5,26$) ($F(1,63) = 12,094$, $p = 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,161$).

Diskussion: Dieses Ergebnis zeigt, dass das G-Allel des genannten *PER3* SNPs signifikant mit dem *ängstlichen Temperament* bei Menschen mit einer bipolaren Erkrankung in der Temperamentsklassifikation des TEMPS-M assoziiert werden kann. Dies lässt vermuten, dass chronobiologische Mechanismen einen wichtigen Anteil am Pathomechanismus der Ängstlichkeit bei bipolarer Störung haben.

Abstract in English

Background: Gene association studies have already shown an association between clock genes and bipolar disorder. The aim of the current study is to investigate if temperament scores differ between clock gene genotypes of patients with bipolar disorder.

Methods: The study included 66 patients (32 males, 34 females, mean age 44,39±14,51 years) with bipolar disorder and was arranged in a prospective trial. Genotyping was performed with the *Omniplex1.1* from *Illumina*. Subsequently, hypotheses based extraction of genotypes was done for 3 SNPs of the *CLOCK* gene, 8 SNPs of the *ARNTL* gene, 5 SNPs of the *PER3* gene, 2 SNPs of the *TIMELESS* gene and 2 SNPs of the *NPAS2* gene. The assessment of the temperaments was done using the TEMPS-M questionnaire, 35 questions version. Based on this manual, 5 temperaments (*depressive, cyclothymic, hyperthymic, irritable and anxious*) were determined. Additionally, potentially biasing cofactors such as age, sex, lithium and valproate intake, obesity and smoking were assessed.

Results: Scores of the *anxious temperament* differed significantly between genotypes of the *PER3* gene variant rs10864315 ($F(1,63)= 12,094, p= 0,001, \text{partial } \eta^2= 0,161$) in individuals with bipolar disorder. GG carrier had significantly higher scores (Mean: 20,13, Standard variance: ±6,93) than AA+AG carriers (Mean: 14,47, Standard variance: ±5,26).

Discussion: This result suggests that the *PER3* gene is significantly associated with the dimension *anxious temperament* of the TEMPS-M questionnaire in individuals with bipolar disorder. The latter implicates that aberrant chronobiologic features of the *PER3* clock gene SNP may result in increased anxiety in bipolar disorder.

1 Einleitung

1.1 Bipolar affektive Störung

Unter der Bipolaren Störung versteht man eine psychiatrische Erkrankung des affektiven Formenkreises. Zu ihren Charakteristika zählen der chronische episodenhafte Verlauf und der Wechsel zwischen manischen und depressiven Stimmungslagen (Barnett, Smoller 2009). Fakt ist, dass Einschränkungen - sowohl im Umfeld, als auch in der Kognition - und eine Reduktion der Lebensqualität mit dieser Erkrankung einhergehen. Laut *World Health Organisation* (WHO) wird sie als Erkrankung mit den zweit häufigsten Krankheitstagen gelistet (Alonso et al. 2011, Grande et al. 2016, Berk et al. 2011).

Seit jeher gibt es Bestrebungen, die genauen pathophysiologischen Abläufe der Bipolaren Störung zu erkunden. Im ersten Kapitel der folgenden Arbeit wird ein Überblick über die erforschten Facetten der Erkrankung gegeben und dabei besonders genau auf die bereits bekannten genetischen Ursachen der Bipolaren Störung eingegangen.

1.1.1 Geschichte der Bipolaren Störung

Konzepte und Definitionen von Manie und Depression existieren schon seit dem Bestehen der Medizin. Im alten Griechenland wurde Melancholie bereits als Störung der Gehirnfunktion beschrieben. *Aretaios von Kappadokien*, welcher 200 vor Christus lebte, fasste als erster Melancholie und Manie zu einem Syndrom zusammen. Die damals beschriebenen Auffassungen des Krankheitsbilds waren dabei umfassender als heute (Goodwin, Jamison 2007, Rothenhäusler HB 2007, Phillips, Kupfer 2013).

Das Konzept der manisch-depressiven Erkrankung geht auf *Falret* und *Baillarger* ins 19. Jahrhundert zurück. Sie beschreiben eine neue Spezies der Krankheiten des Geistes, welche sich aus zwei regelmäßigen Perioden - der Depression und der Exaltiertheit - zusammensetzten. 30 Jahre später rundete *Mendel* dies mit der

Beschreibung der Hypomanie als einer Variante der Manie ab (Goodwin, Jamison 2007, Baillaroer 1855).

In den folgenden Jahren definierte *Kahlbaum* eine zirkuläre Störung, welche der heutigen zylothymen Störung ähnelt (Goodwin, Jamison 2007).

Letztendlich war es dennoch *Kraepelin* vorbehalten, die Dichotomie zwischen affektiven Erkrankungen und denen aus dem psychotischen Formenkreis zu benennen. Infolgedessen trennte er den “manisch-depressiven Irrsinn” von der “Dementia Praecox” (Goodwin, Jamison 2007, Rothenhäusler HB 2007, Phillips, Kupfer 2013).

Basierend auf einer psychopathologischen Sicht entwickelten *Klerman* (1981) und *Akiskal* und *Pinto* 1991 ein neues Konzept - das sogenannte “Bipolare Spektrum”. Es orientiert sich an einem Kontinuum an Phänotypen im Bereich schizoaffektiver und Persönlichkeitsstörungen mit verschwimmenden Grenzen (Müller-Oerlinghausen, Berghöfer & Bauer 2002, Akiskal, Pinto 1999).

1.1.2 Symptomatik und Klassifikation

Die einzelnen Phasen der Bipolaren Störung umspannen ein weites und umfangreiches Feld an klinischen Manifestationen. Sie reichen von der milden Hypomanie und Manie, bis hin zu leichten sowie schweren Depressionen – zusätzlich können schwergradige depressive Episoden und Manien von psychotischen Symptomen begleitet sein (Müller-Oerlinghausen, Berghöfer & Bauer 2002).

Die am häufigsten verwendeten Klassifikationen sind

- die zehnte Revision der *International Classification of Diseases* (ICD-10), welche von der WHO entwickelt wurde,
- und das *Statistic Manual of Mental Disorders* (DSM-IV), welches von der *American Psychiatric Association* (APA) herausgegeben wird (Grande et al. 2016, Dilling H 2010, Craddock, Sklar 2013).

Die Diagnosestellung der Erkrankung erfolgt anhand des gebotenen klinischen Abbilds und mit Hilfe von Manualen, wie zum Beispiel dem *Strukturierten Klinischen Interview für DSM-IV (SKID-I)* (Wittchen, H. U., Wunderlich, U., Gruschwitz, S., & Zaudig, M. 1997). Anhand der ICD-10-Klassifizierung lassen sich Manien in drei Schweregrade einteilen: Manie mit und ohne psychotischen Symptomen und Hypomanie (Dilling H 2010). Die Diagnosekriterien laut DSM-IV werden in Tabelle 1.1 näher beschrieben.

1.1.2.1 Diagnosekriterien der Manie

Eine manische Episode im Rahmen einer Bipolaren Störung Typ I wird anhand der DSM-IV-Kriterien dann diagnostiziert, wenn sie eine Woche oder länger andauert und drei oder mehr der folgenden Symptome vorhanden sind: gehobene oder gereizte Stimmung, erhöhte Gesprächigkeit und vermehrte Geselligkeit, Gedankenrasen, erhöhte zielgerichtete Aktivität und Agitiertheit, hohe Impulsivität und höhere Risikobereitschaft, wie zum Beispiel leichtsinnigere finanzielle Ausgaben und Hypersexualität (American Psychiatric Association 2000). Laut den Kriterien einer Manie, beeinträchtigen diese Veränderungen merklich das soziale und berufliche Umfeld der Erkrankten. Fakt ist, dass diese Symptome meist zuerst vom Umfeld des Patienten/der Patientin erkannt werden (Barnett, Smoller 2009, Angst et al. 2003).

Eine Phasenvariante stellt die gemischte Episode dar. In dieser werden beide Kriterien – jene für eine manische und jene für eine depressive Episode erfüllt (Grande et al. 2016).

Obwohl Manie und Hypomanie viele ähnliche Symptome aufweisen, gibt es deutliche Unterscheidungsmerkmale. Die sozial beeinträchtigende Komponente zum Beispiel ist bei der Hypomanie viel geringer und die Symptome müssen nur für mindestens vier Tage bestehen (Barnett, Smoller 2009, Müller-Oerlinghausen, Berghöfer & Bauer 2002).

Eine spezielle Verlaufsform der Bipolaren Störung, welche nicht außer Acht gelassen werden sollte, ist das *Rapid Cycling*. Davon spricht man, wenn innerhalb eines Jahres vier oder mehr Episoden (Manie, Hypomanie, Depression oder gemischte Stadien) durchlaufen werden. Das Rapid Cycling hat klinische Relevanz, da es mit häufigeren

Episoden, erhöhter Suizidalität und höherer Komorbidität einhergeht (Barnett, Smoller 2009, Grande et al. 2016).

Tabelle 1.1: DSM-IV-Diagnosen des Bipolaren Spektrums (American Psychiatric Association 2000)

Bipolare Störung I
Mindestens eine manische und eine weitere affektive Episode
Bipolare Störung II
Mindestens eine hypomanische und eine weitere affektive Episode
Zyklothyme Störung
Rezidivierende dysthyme Stimmungslage über mind. 2 Jahre und intermittierend kurze hypomane Phasen, wobei die Kriterien für eine Depression oder Hypomanie nicht vollständig erfüllt werden.
Spezifizierte Diagnosen im Bipolaren Spektrum
Episoden, die der Bipolaren Störung ähnlich sind, aber keine der oben genannten Kriterien erfüllen:
<ul style="list-style-type: none"> • Kurzzeitige Hypomanie oder kurzzeitige Depression • Hypomanische Episode mit insuffizienten Symptomen bei gegebener <i>Major Depression</i> • Hypomansche Episode ohne <i>Major Depression</i> • Kurzzeitige Zyklothyme Störung
Nicht spezifizierte Diagnosen im Bipolaren Spektrum
Charakteristische Symptome des Bipolaren Spektrums, welche keine der oben genannten Kriterien erfüllen.
Induzierte Störung aus dem Bipolaren Spektrum bei gegebener Substanzabhängigkeit
Störung aus dem Bipolaren Spektrum bei sonstiger Grunderkrankung

1.1.2.2 Diagnosekriterien der Depression

Laut DSM-IV sind die Kriterien der bipolaren und der unipolaren Depression ident: Eine *Major Depression* dauert mindestens zwei Wochen an und die zentralen Charakteristika sind die deutlich gedrückte Stimmung und der Verlust sämtlicher Interessen (Grande et al. 2016).

Zusätzlich können Symptome, wie verringertes Selbstwertgefühl, Abgeschlagenheit, Teilnahmslosigkeit, Konzentrationsstörungen, Appetitverlust, sozialer Rückzug und die Unfähigkeit, Entscheidungen zu treffen, auftreten (Grande et al. 2016, Bowden 2005).

Die korrekte Diagnosestellung wird oft dadurch erschwert, dass viele PatientInnen während der ersten depressiven Episode erstmals einem Arzt/einer Ärztin vorstellig werden und somit die Unterscheidung zwischen einer unipolaren und einer bipolaren Depression erschwert wird. Richtungsweisende Anzeichen für eine Depression im Rahmen einer Bipolaren Störung können Hypersomnie, Stimmungsschwankungen, früher Erkrankungsbeginn und eine positive Familienanamnese sein (Bowden 2005).

Für die Anamnese ist das direkte Gespräch mit dem Patienten/der Patientin UND den Angehörigen am gewinnbringendsten, um auch den longitudinalen Verlauf der Erkrankung adäquat einschätzen zu können. Nichtsdestotrotz verbergen sich in der Gruppe der mit unipolarer Depression diagnostizierten PatientInnen dennoch unentdeckte Fälle mit bipolarer Depression. Milde Verläufe, welche sich schwer von alltäglichen Stimmungsschwankungen und Persönlichkeitsmerkmalen abgrenzen lassen, Frühphasen und gemischte Episoden komplizieren die Diagnosestellung zusätzlich (Grande et al. 2016, Phillips, Kupfer 2013, Malhi 2016).

Etwa 20% der PatientInnen mit einer Bipolaren Störung werden bei Auftreten der ersten depressiven Episode bereits im ersten Behandlungsjahr mit einer bipolar affektiven Störung diagnostiziert. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer bis zum Zeitpunkt der adäquaten Diagnosestellung beträgt jedoch fünf bis zehn Jahre. Vor allem die Bipolare Störung Typ II wird oft verkannt und fälschlicherweise als unipolare Depression klassifiziert (Bowden 2005, Angst et al. 2005).

Das Risiko, dass PatientInnen mit einer unipolaren Depression eine bipolare Störung entwickeln, bleibt im Laufe des Lebens bei 1% (Typ I) und 0,5% (Typ II) pro Jahr konstant (Angst et al. 2005).

1.1.3 Epidemiologie

Die Bipolaren Störungen Typ I und II betreffen in etwa 2% der Weltbevölkerung. Laut dem Konsensusstatement der *Österreichischen Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie* (ÖGPP) aus dem Jahr 2013 wird die Lebenszeitprävalenz sogar auf 5% geschätzt. Erkrankungen des Bipolaren Spektrums betreffen weitere 2,4% (Bach et al. 2013, Geddes et al. 2016).

Das mediane Erkrankungsalter beträgt 25 Jahre, weshalb die Bipolare Störung auch eine der führenden Erkrankungen unter jungen Leuten ist (Grande et al. 2016). Schätzungen ergeben außerdem ein 5 bis 17fach erhöhtes Selbstmordrisiko für PatientInnen mit Bipolarer Störung im Vergleich zur Gesamtpopulation (Grande et al. 2016, Schloesser, Martinowich & Manji 2012).

Es wird vermutet, dass den beiden Erkrankungstypen I und II unterschiedliche Vererbungspfade zugrunde liegen. Unter anderem auch deswegen, weil das Erkrankungsrisiko innerhalb Verwandter bei Bipolarer Störung Typ II höher ist als bei Bipolarer Störung Typ I oder unipolarer Depression (Geddes, Miklowitz 2013). Außerdem betrifft die Bipolare Störung Typ I mehr Männer, während von der Bipolaren Störung Typ II mehr Frauen betroffen sind (Barnett, Smoller 2009).

Es wurde außerdem herausgefunden, dass Faktoren, wie der Therapieerfolg mit Lithium, Psychosen und komorbide Panikstörungen, ebenfalls vererbt werden (Barnett, Smoller 2009, Smoller, Finn 2003, Hou et al. 2016).

Im Gegensatz zur Gesamtpopulation beträgt die Lebenszeitprävalenz, an einer Bipolaren Störung zu erkranken, bei einem Verwandten ersten Grades 5-10%. Monozygote Zwillinge haben sogar eine Lebenszeitprävalenz von 40-70% (Craddock, Sklar 2013). Neben dem erhöhten Erkrankungsrisiko haben Verwandte von PatientInnen auch eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, an verwandten Krankheiten, wie

unipolaren Depressionen und schizoaffektiven Störungen zu erkranken (Barnett, Smoller 2009).

1.1.4 Pathophysiologie

Wie bereits erwähnt, liegt bei der Bipolaren Störung eine sehr hohe Heritabilität vor. Dennoch liegt die monozygote Konkordanzrate unter 100%, was bedeutet, dass die genetische Prädisposition nicht alleine für das Ausbrechen der Erkrankung verantwortlich ist, sondern auch Gen-Umwelt-Interaktionen notwendig sind (Craddock, Sklar 2013).

Im Jahr 1992 formulierte *Post* seine Theorie über "progressive Mechanismen" der Bipolaren Störung als ein Zusammenspiel von Veränderungen der neuronalen Aktivität und der Genexpression, sowie fehlenden endogenen Kompensationsmechanismen. Daraufhin postulierte *Kapczinski* seine "*allostatic load hypothesis*", welche den pathophysiologischen Prozess der Bipolaren Störung als eine Kombination aus genetischer Vorlast, externen Stressoren und zusätzlichen, erschwerenden Faktoren, wie zum Beispiel Substanzabhängigkeit, zu einem kumulativen Prozess veränderter neuronaler und synaptischer Plastizität führen. *Neuroimaging*- und *Post mortem*-Studien haben diese metabolischen und morphologischen Veränderungen belegen können (Berk et al. 2011, Schloesser, Martinowich & Manji 2012).

Das aktuelle pathophysiologische Erklärungsmodell der Bipolaren Störung beinhaltet eine genetische Prädisposition, sowie durch epigenetische Veränderungen vermittelte Gen-Umwelt-Interaktionen (Barnett, Smoller 2009).

In den letzten zwei Jahrzehnten fokussierte sich die Forschung mehr und mehr auf die Identifizierung von prädisponierenden Genvarianten. Der Fokus wurde bei Gen-Assoziations-Studien vor allem auf die Identifizierung von prädisponierenden SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*, ausgesprochen „snips“) gelegt – darunter versteht man seltene Genvarianten, welche sich im Laufe der Zeit aus Punktmutationen entwickelt und sich schließlich in der Gesamtpopulation etabliert haben (Barnett, Smoller 2009). Um einen SNP auch als solchen benennen zu können, muss mehr als ein Prozent der Gesamtpopulation an der exakt gleichen Stelle der DNA ein

abweichendes Nukleotid aufweisen. Sobald er innerhalb einer gencodierenden Sequenz auftritt, können zwei Allele des Gens beschrieben werden (Lytras, Papadopoulou 2017).

Man möchte also die phänotypischen Auswirkungen gewisser genetischer Varianten von Genen besser verstehen und infolgedessen zu einem besseren Verständnis der Ätiologie der Bipolaren Störung gelangen.

Im Bereich der strukturellen Veränderungen von Chromosomen wurde eine Assoziation zwischen der Deletion am Chromosom 22q11, dessen Klinik unter dem Namen *DiGeorge-Syndrom* zusammengefasst wird, und der Bipolaren Störung gefunden. Eine weitere zeigte sich in der Deletion am Chromosom 15q11-13, besser bekannt unter dem *Prader-Willi Syndrom* (Craddock, Sklar 2013).

Weitere Forschungsansätze betreffen strukturelle Genvariationen innerhalb eines Chromosoms. Darunter fallen Kopienzahlvariationen und dynamische Mutationen (Trinukleotid-Repeats und mitochondriale Desoxyribonukleinsäure(DNA)-Variationen) (Craddock, Sklar 2013).

Eine Vielzahl genetischer Analysen (frühe Kopplungsanalysen, Hypothesen geleitete Gen-Assoziations-Studien und genomweite Assoziations-Studien (GWAS)) zeigten, dass der Bipolaren Störung ein polygener Erbgang zugrunde liegt. Die verdächtigsten Allele zeichnen sich durch eine große Bandbreite an Größen und Häufigkeiten aus. Es handelt sich also nicht um einen Mendelschen Erbgang (Barnett, Smoller 2009, Craddock, Sklar 2013).

Mit Hilfe der neuen Forschungsmethoden, wie der genomweiten Assoziationsanalyse (GWAS) (siehe Kapitel 1.3.3) und dem *Whole Exome Sequencing* (WES), konnten durch hypothesenfreies Testen und Vergleichen zahlreicher SNPs zwischen Kontrollen und PatientInnen eine Vielzahl von neuen Risikogenen gefunden werden. Es konnte auch gezeigt werden, dass Risikogene der Schizophrenie und der unipolaren Depression in der Bipolaren Störung ebenso eine Rolle spielen. Die Annahme, dass sie sich in gewisser Weise einen pathophysiologischen Pfad mit der Bipolaren Störung teilen widerspricht der einst postulierten völligen Dichotomie *Kraepelins*.

Ein repräsentierendes Beispiel eines solchen Gens ist das *Calcium Voltage-gated Channel Subunit alpha1 C-Gen (CACNA1C)*, welches für eine Subunit eines Calcium-Kanals codiert. Das synthetisierte Protein dieser Genvariante verursacht abweichende Calciumströme in den Zellen und konsekutiv temporäre Regulationsänderungen. Signifikante Ergebnisse liegen auch für das Transmembranglycoprotein *Teneurin Transmembrane Protein 4 (TENM4, ODZ4)* und *Neurocan (NCAN)* vor, dessen Genprodukt eine Schlüsselfunktion in der Regulation der Zelladhäsion und –migration aufweist (Barnett, Smoller 2009, Grande et al. 2016, Craddock, Sklar 2013, Smoller, Finn 2003, Kakiuchi et al. 2007, McCarthy et al. 2016). Durch die bisher durchgeführten GWAS-Analysen konnten bereits eine Vielzahl an Risikogenen entdeckt werden.

Trotzdem gibt es noch immer eine große Anzahl unbekannter genetischer Vererbungsfaktoren. Diese könnten möglicherweise auf epigenetische Ursachen zurückzuführen sein. Zum Beispiel treten in regulatorischen Elementen von Cytosin und Guanin reichen Sequenzen (*CpG Islands*) alternierende Methylierungsmuster von Cytosinen auf, woraus abweichende DNA-Expressionen resultieren. Der benannte Effekt tritt in der Nähe des Promotors auf und kann sogar zur Stilllegung des jeweiligen Gens führen (Abdolmaleky et al. 2004).

Abdolmaleky et al zeigten zum Beispiel, dass alternierende Methylierungsmuster der *Membrane-bound Catechol-O-Methyltransferase (MB-COMT)* und des *Serotonin Receptor Type-2 (HTR2A)* zur Dysregulation der Proteinsynthese führen und somit einen Risikofaktor für die Bipolare Störung, aber auch für die Schizophrenie darstellen (Abdolmaleky et al. 2006, Abdolmaleky et al. 2011).

Weiters ergeben abweichende Methylierungsmuster von *Reelin (RELN)* ein höheres Risiko, an Schizophrenie zu erkranken. In der Analyse von Histonmodifikationen und Micro-Ribonukleinsäure (Micro-RNA) erhofft man sich ebenfalls vielversprechende Ergebnisse (Ozomaro, Wahlestedt & Nemeroff 2013).

Ein weiterer Forschungsfokus der Bipolaren Störung liegt im Feld monoaminerger Neurotransmitter. Hypothesen, dass Norepinephrin-, Dopamin- und Serotoninspiegel in unterschiedlichen Ausmaßen bei PatientInnen mit Bipolarer Störung abweichen, scheinen unbestritten zu sein. Trotzdem konnte bislang noch keine genaue

pathophysiologische Aufschlüsselung der zugrundeliegenden Prozesse erlangt werden (Grande et al. 2016, Müller-Oerlinghausen, Berghöfer & Bauer 2002).

Studienergebnisse postulieren sogar, dass man den Ursprung der Neurotransmitterimbalance unter anderem in genetischen Mutationen des Glutamatstoffwechsels festmachen kann (Berk et al. 2011, Sanacora et al. 2008, Yildiz-Yesiloglu, Ankerst 2006).

Im Bereich der neuronalen Plastizität und der Entstehung bestimmter Dendritennetzwerke fand man Veränderungen bei Neurotrophen, vor allem beim *Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)*. Es konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass Personen mit Bipolarer Störung mit einem *Val66Met-BDNF* im Vergleich zu Personen mit einem homozygoten *Val/Val-BDNF* ein signifikant geringeres Volumen des anterioren zingulären Kortex aufweisen. Außerdem wurden verringerte BDNF-Spiegel in PatientInnen mit akuten manischen oder depressiven Episoden gemessen. Das Ausmaß dieses Abfalls korrelierte dabei mit dem Schweregrad der Episode (Grande et al. 2016, Berk et al. 2011).

Ein SNP im *B-cell Lymphoma/Leukemia-2 (BCL-2)* - Gen ging ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für Bipolare Störung einher. Das synthetisierte Protein dieses Gens ist wichtig für die zelluläre Resilienz. Diese beschreibt die Fähigkeit einer Zelle, Veränderungen der Umwelt, wie zum Beispiel Toxineinwirkungen, zu tolerieren. Das Bcl-2-Protein hat außerdem eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Calciumhomöostase einer Zelle (Schloesser, Martinowich & Manji 2012).

In der Erforschung inflammatorischer Prozesse im Zusammenhang mit der Entstehung der Bipolaren Störung konnten in den letzten Jahren gute Fortschritte gemacht werden. Es wird angenommen, dass milde chronische Entzündungsprozesse sowohl im Gehirn als auch in der Peripherie eine wichtige Rolle spielen. Im Jahr 2009 konnten *Goldstein et al* zeigen, dass sich in PatientInnen mit Bipolarer Störung entweder erhöhte proinflammatorische Marker oder eine Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Markern bestimmen lässt. Außerdem ließ sich eine genetische Prädisposition in Interleukin 1- und 6- Genen festmachen (Berk et al. 2011, Goldstein et al. 2009).

Auch im Zusammenhang mit oxidativem Stress konnten gute Ergebnisse erzielt werden. *Andreazza et al* führten dazu eine Metaanalyse durch, welche zeigte, dass Lipidperoxidation, DNA/RNA-Schäden und Stickstoffmonoxid in Personen mit Bipolarer Störung im Vergleich zu gesunden Kontrollen deutlich erhöht waren. Wichtige Quellen von Stickstoffmonoxid im Gehirn sind erhöhte Dopaminspiegel und eine Dysfunktion der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden(HPA)-Achse - also auch abweichende Cortisolspiegel (Berk et al. 2011, Ozomaro, Wahlestedt & Nemeroff 2013, Andreazza et al. 2008).

Aufgrund der Tatsache, dass annähernd alle Personen mit Bipolarer Störung alternierende zirkadiane Rhythmen und vor allem eine veränderte Schlaf-/Wach-Dynamik aufweisen, und auch die mehrfach wahrgenommene Dysbalance von Hormonen und Neurotransmitter unangefochten ist, erhärtet sich der Verdacht, dass dies auf einer Dysfunktion der intrinsischen zirkadianen Uhr beruhe und diese wiederum einen wesentlichen Einfluss auf den Tag-/Nacht-Rhythmus und den Affekt der PatientInnen habe. Zahlreiche Studien haben dabei die einzelnen Uhrengene aufgegriffen und zu Beginn mit Studien an Knock-out-Mäusen, später mit modernen genetischen Assoziationsanalysen untersucht. Im Kapitel 1.2. wird dieses Thema nochmals aufgegriffen und anhand der bisher existierenden Studienlage aufgeschlüsselt (McClung 2007, Konno 2013).

1.1.5 Pharmakotherapie

Um auch einen kurzen Überblick über aktuelle therapeutische Möglichkeiten der Bipolaren Störung zu geben, wird nun in einem kurzen Exkurs auf die einzelnen Substanzklassen eingegangen.

Das Hauptaugenmerk in der Therapie der Bipolaren Störung liegt in der Stabilisierung der Stimmungslage und in weiterer Folge in der Verhinderung zukünftiger Krankheitsepisoden und suizidaler Absichten. Außerdem ist das schnelle und suffiziente Management akut auftretender manischer oder depressiver Phasen von großer Bedeutung (Müller-Oerlinghausen, Berghöfer & Bauer 2002, Geddes, Miklowitz 2013). Aufgrund der chronischen Entität der Erkrankung bedeutet dies eine langzeitige und multidisziplinäre Therapie (Yatham et al. 2013).

Für die medikamentöse Therapie haben sich mehrere Wirkstoffklassen als zielführend erwiesen. Die stimmungsstabilisierenden und phasenprophylaktischen Medikamente Lithium, die atypischen Antipsychotika, sowie Antiepileptika haben dabei eine zentrale Bedeutung. Während depressiver Episoden ist die Ergänzung eines Antidepressivums sinnvoll. Der Großteil der verwendeten Psychopharmaka wurde im Vorfeld bereits in der Behandlung anderer Krankheiten verwendet (unipolare Depression, Schizophrenie) (Geddes, Miklowitz 2013).

Gute aktuelle Therapiemanuale werden unter anderem von der *Österreichischen Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie* (ÖGPP) und vom *Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments* (CANMAT) herausgegeben. (Bach et al. 2013, Yatham et al. 2013)

37% der PatientInnen haben trotz Therapie innerhalb eines Jahres eine weitere manische oder depressive Phase, weshalb die weitere wissenschaftliche Untersuchung der Bipolaren Störung essentiell ist um in Zukunft noch bessere Therapieoptionen anbieten zu können (Geddes, Miklowitz 2013).

1.1.5.1 Behandlung der Manie

Zur Behandlung der akuten Manie stehen Lithium, Valproinsäure und atypische Antipsychotika zur Verfügung (Malhi, Tanious & Berk 2012). Zu letzteren zählen Aripiprazol, Clozapin, Olanzapin, Quetiapin, Risperidon und Ziprasidon (Bach et al. 2013, Yatham et al. 2013).

1.1.5.2 Behandlung der Depression

Die Behandlung depressiver Phasen inkludiert Antidepressiva (insbesondere SSRI und Bupropion) sowie Quetiapin (atypisches Antipsychotikum) (Möller, Laux & Kapfhammer 2007). Hierbei sind Antidepressiva die am häufigsten erstverschriebenen Medikamente bei Bipolarer Störung. Um das *Switching*-Risiko zu minimieren, sollten sie mit einem antimanisch wirksamen Stimmungsstabilisierer verschrieben werden (Yatham et al. 2013, Frye et al. 2011).

1.1.5.3 Phasenprophylaktika

Das Hauptziel in der Stimmungsstabilisierung ist die Rezidivprophylaxe. Das heißt, man möchte die Zahl, Intensität und Länge kommender Episoden reduzieren (Geddes, Miklowitz 2013, Yatham et al. 2013).

Der Goldstandard in der Rezidivprophylaxe ist nach wie vor Lithium (DGBS e.V. & DGPPN e.V. 2013). In den letzten Jahren stellt die Identifizierung der zahlreichen Wirkmechanismen dieses Salzes einen hochinteressanten Forschungsfokus dar. Zum Beispiel ließen sich Effekte auf glutaminerge und GABAerge Nervenbahnen – vor allem im limbischen System - nachweisen (Berk et al. 2011, Schloesser, Martinowich & Manji 2012). Zentral für diese Arbeit ist dessen inhibierende Wirkung auf die Serin/Threonin Kinase *Glykogen-Synthase-Kinase-3 β* (GSK-3 β). Dieses Protein spielt eine bedeutende Rolle in der Regulation zirkadianer Rhythmen. Durch seinen variierenden Phosphorylierungsgrad reguliert es die Aktivität mehrerer Proteinsyntheseprodukte der Uhrengene (McCarthy et al. 2016, Sahar et al. 2010, Iitaka et al. 2005, Harada et al. 2005, Yin et al. 2006a, Besing et al. 2015). Auf die detaillierten Mechanismen zirkadianer Rhythmen wird in Kapitel 1.3.2. genauer eingegangen.

Die Antiepileptika Lamotrigin und Valproat sind laut CANMAT ebenfalls als Phasenprophylaktika erster Wahl gelistet (Yatham et al. 2013). Hierbei ist jedoch anzuführen, dass Lamotrigin lediglich zur Prävention depressiver Phasen zugelassen ist (Rothenhäusler HB 2007).

Valproat beeinflusst - wie auch Lithium - die Regulation der intrinsischen zirkadianen Rhythmik (z.B. über die Hemmung der GSK-3 β). Beide Substanzen haben zudem über die Hemmung der Histondeacetylase Einfluss auf epigenetische Mechanismen (Berk et al. 2011, Schloesser, Martinowich & Manji 2012).

Unter den Dopamin-Rezeptor-Antagonisten haben sich Olanzapin, Quetiapin, Risperidon und Aripiprazol als Phasenprophylaktika erster Wahl bewährt (Berk et al. 2011, Yatham et al. 2013).

1.2 Zirkadiane Rhythmen und Uhrengene

Die für diese Arbeit zentrale Sparte der Ursachenforschung – die der molekularen Uhr – wurde in Kapitel 1.1.4. bei der Beschreibung relevanter Pathomechanismen der Bipolaren Störung ausgespart. Ihr wird nun das folgende Kapitel gewidmet.

Zunächst erfolgt eine genaue Darstellung der bisher bekannten physiologischen Regelwerke. Anschließend wird auf die genetischen Zusammenhänge der Uhrengene mit der Bipolaren Störung und auch auf deren Einfluss auf Ebene des synaptischen Spalts sowie des klinischen Bilds eingegangen.

1.2.1 Zirkadiane Abläufe und deren Steuerungsprozesse

Viele physiologische Prozesse des Körpers werden über rhythmische Aktivierung und Inhibierung der individuellen Funktionen im Laufe des Tages gesteuert.

Dauert ein solcher Regelkreis in etwa 24 Stunden, also einen Tag, so spricht man von einer zirkadianen Rhythmik. Abgeleitet von diesem Begriff bezeichnen infradiane Rhythmen eine längere Intervalldauer und ultradiane eine kürzere (Abreu, Bragança 2015).

Die zirkadiane Steuerung gelingt anhand dreier hauptsächlicher Komponenten (McClung 2011):

- Der adäquaten Verarbeitung von Umweltinformationen,
- der zentralen Steuerung an sich
- und der Synchronisation der intrinsischen Uhren mit allen individuellen Zellen und Organen.

Über den Informationsgewinn von außen gelingt die Synchronisation der inneren Uhr mit externen Einflüssen. Das wichtigste Adaptionssignal ist die Hell/Dunkel-Wahrnehmung, bewirkt durch die Drehung der Erde um die eigene Achse. Sie gelingt über spezialisierte retinale Ganglien, welche Melanopsin produzieren und über den

Tractus retinohypothalamicus mit dem *Nucleus suprachiasmaticus* (SCN) im ventralen Teil des Hypothalamus in Verbindung stehen. Ein zweiter wichtiger Schrittmacher dieses Regelkreises ist die *Glandula pinealis*, deren Melaninproduktion vom Licht inhibiert wird und somit sowohl täglichen, als auch saisonalen Schwankungen unterlegen ist. Weitere externe sogenannte "Zeitgeber" sind Temperatur und Mahlzeiten (Abreu, Bragança 2015, McClung 2011, Etain et al. 2011, Bengesser S 2013).

Aufgrund der Tatsache, dass fast jede Zelle im Körper seine eigene molekulare Uhr besitzt, dient der SCN der zentralen Steuerung und Synchronisation. Diese Kontrolle funktioniert hauptsächlich über Natrium-abhängige Aktionspotentiale, welche von Calcium und Kalium-Strömen (über Änderung des Membranpotentials) reguliert werden. Die Generierung einer intrinsischen "Uhr" in den Zellen des SCN erfolgt über die oszillierende und kontrollierte Proteinsynthese der ca. 20 Uhrengenen und deren transkriptionelle und translationelle Autoregulation - sie funktioniert also auch bei Ausfall von äußeren Triggern ohne äußere Einflüsse. Die Signalprozessierung erfolgt vom SCN weiter über neuronale und neuroendokrine Bahnen in hierarchisch nachgeschaltete Regelzentren im Gehirn und im restlichen Körper, wo viele - endogenen Rhythmen unterlegene - physiologische Funktionen, wie zum Beispiel Tag/Nacht-Rhythmus, Körpertemperatur, Appetit, Körpergewicht und Reproduktion ausgeführt werden (Abreu, Bragança 2015, McClung 2011, Etain et al. 2011, Bengesser S 2013, Landgraf, McCarthy & Welsh 2014, Novakova et al. 2015).

Nakagawa und *Okomura* zeigten 2010, dass Hormone wie Aldosteron, Testosteron, Luteinisierendes Hormon(LH), Somatotropin, Thyroidea stimulierendes Hormon(TSH) und Follikel stimulierendes Hormon(FSH) ebenfalls der Periodizität des SCN unterliegen (Nakagawa, Okumura 2010).

1.2.2 Die molekulare Uhr und ihre Regulation

Das Regelwerk der molekularen Uhr beginnt mit der Heterodimerisation der Proteine *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput* (CLOCK) und *Arnt-Like-Protein 1* (ARNTL oder Bmal1). Das entstandene Molekül bindet an der sogenannten „E-Box“, der Bindestelle für Transkriptionsfaktoren, der *Period genes* (*PER1-3*) und der

Cytochrome genes (CRY1-2) und bewirkt somit deren Transkription, sowie deren Translation. Die synthetisierten Proteine akkumulieren nach 12 Stunden im Cytoplasma und werden dort von den *Caseinkinasen 1 ε* und *δ* und der GSK-3β phosphoryliert. Diese Phosphorylierungsreaktion bestimmt weitgehend die Dauer eines Zyklusdurchgangs. Im Anschluss an diese Reaktion dimerisieren das phosphorylierte PER und CRY und werden zurück in den Zellkern transportiert, wo CRY-Proteine den ARNTL-CLOCK-Heterodimer binden und somit die negative Rückkopplungsschleife über die Hemmung der eigenen Transkription bilden. Außerhalb dieser autoregulatorischen Hemmung gibt es zahlreiche epigenetische Rückkopplungsmechanismen, die in den intrinsischen Zyklus eingreifen (Abreu, Bragança 2015, McClung 2011, Bengesser S 2013).

CLOCK und ARNTL inhibieren zudem die Transkription der nuklearen Rezeptoren Rev-erba (auch NR1D1: *Nuclear Receptor Subfamily 1, Group D, Member 1*) und RORα. Rev-erba und RORα sind wiederum in der Lage, am Promoter von *ARNTL* zu binden und dessen Transkription im Falle von Rev-erba zu inhibieren, und im Falle von RORα zu aktivieren (McClung 2011, Bengesser S 2013).

Außerhalb des SNC ist ARNTL in der Lage, an *Neuronal PAS-Domain Protein 2* (NPAS2) zu binden. Dies bewirkt zum einen eine Regulation der Proteinbiosynthese von PER und CRY. Der entstandene Dimer kann sich zum anderen aber auch an der Promoter-E-Box des *Monoaminoxidase A(MAO-A)*-Gens binden, was zur Aktivierung der Transkription führt. Das synthetisierte MAO-A Enzym bewirkt den Abbau der Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin und Dopamin und inhibiert den promanischen Effekt jener Neurotransmitter (McClung 2011, Bengesser S 2013, Hampp et al. 2008).

In Abbildung 1.1. wird die soeben beschriebene molekulare Steuerung zirkadianer Rhythmen vereinfacht in einer Grafik aufbereitet.

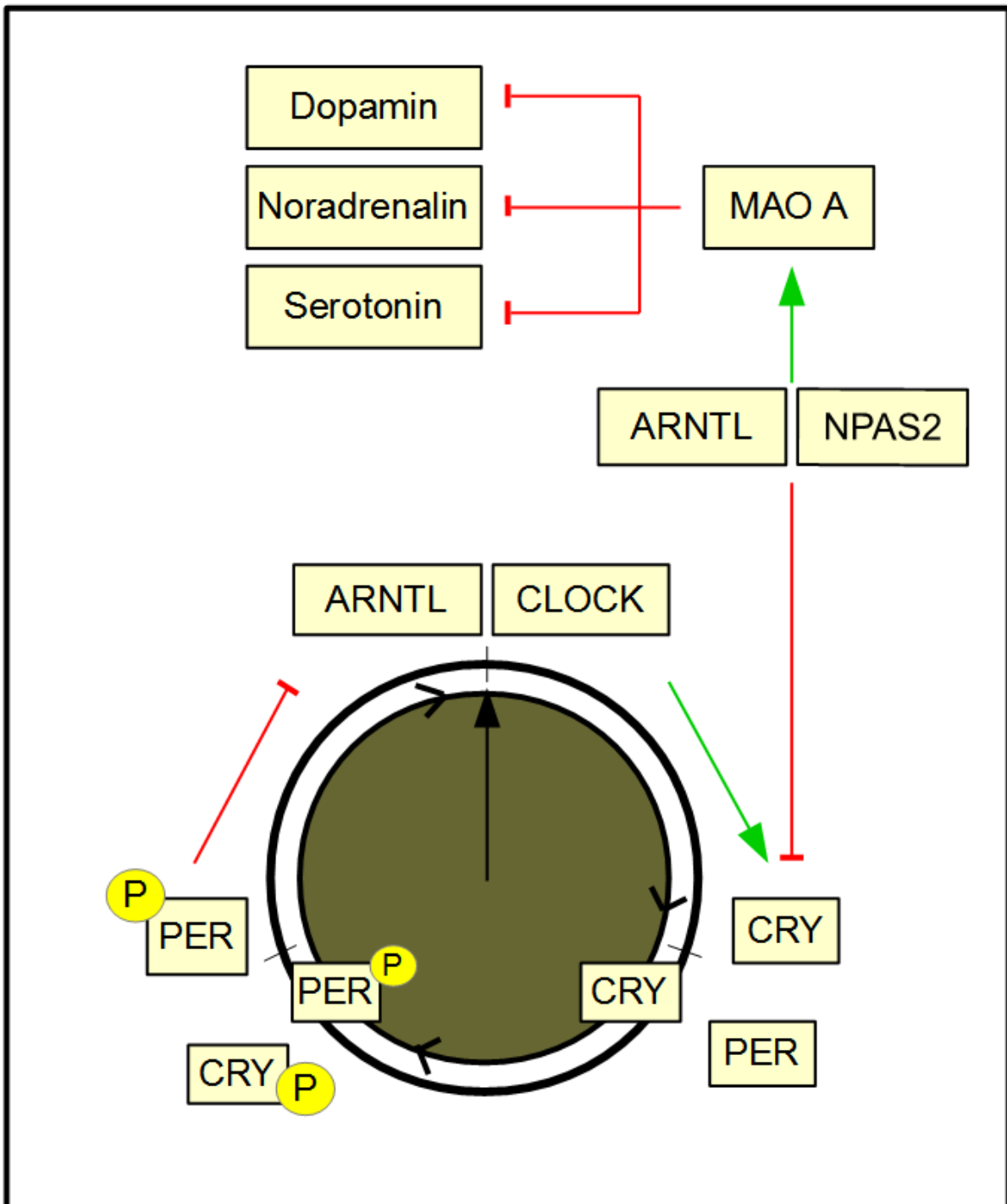
Ein weiteres Uhrgen, welches von ARNTL und CLOCK reguliert wird, ist das *TIMELESS*-Gen. Es interagiert unter anderem mit PER1-3 und bewirkt deren Down-Regulation. *Mansour et al* wiesen Assoziationen zwischen SNPs dieses Gens und der Bipolaren Störung nach (Mansour et al. 2006).

SNPs am Promoter des Rev-erb α -Gens und auch variable Genotypen von *TIMELESS* und *ARNTL* werden außerdem mit einem guten therapeutischen Effekt von Lithium assoziiert (McCarthy et al. 2011, Rybakowski et al. 2014a)

Yin et al konnten 2006 zudem beweisen, dass Lithium die GSK-3 β inhibiert und somit zu einem Abfall von Rev-erb α und einer Aktivierung von ROR α führt. Dieser Erkenntnis steht die große Bedeutung der Substanz als Phasenprophylaktikum synergistisch gegenüber (Yin et al. 2006b).

Der idente Effekt, also die Inhibierung der GSK-3 β lässt sich auch für Valproinsäure nachweisen (Jope, Roh 2006).

Abbildung 1.1: Vereinfachte Darstellung der molekularen Steuerung zirkadianer Rhythmen



ARNTL-CLOCK-Heterodimer aktiviert molekulare Uhr und wird im Zuge der negativen Rückkopplungsschleife von phosphoryliertem CRY inhibiert. ARNTL-NPAS2-Heterodimer aktiviert Transkription von MAO-A, welches den Abbau monoaminerger Neurotransmitter katalysiert (Roter Pfeil: Inhibierender Faktor, Grüner Pfeil: Aktivierender Faktor; P: Phosphorylierungsreaktion, ARNTL: Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1-Like-Protein 1, CLOCK: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput, CRY: Cytochrome Genes, MAO-A: Monoaminoxidase-A, NPAS2: Neuronal Per-Arnt-Sim domain-containing protein 2, PER: Period Genes)

1.2.3 Chronobiologische Rhythmen und Bipolare Störung

Aufgrund der Tatsache, dass abweichende Schlaf-/Wachrhythmen, Appetitänderungen und veränderte soziale Muster wesentliche Symptome der Bipolaren Störung darstellen und zudem die hereditäre Komponente als unumstritten gilt, wird bereits seit einiger Zeit eine Ursache in gestörten chronobiologischen Rhythmen vermutet. PatientInnen mit Bipolarer Störung weisen zudem eine veränderte zirkadiane Rhythmik bei Körpertemperatur, Blutdruck, Puls und Plasmaspiegel von Melatonin, Norepinephrin und TSH auf (McClung 2011, Landgraf, McCarthy & Welsh 2014).

Interessanterweise treten die Symptome und Phasen der Bipolaren Störung ebenfalls in zirkadianer und saisonaler Abhängigkeit auf. Depressive Symptome verstärken sich in den Morgenstunden und eher in den Wintermonaten, Manien häufen sich vor allem in den Sommermonaten (Etain et al. 2011).

Als Ursache dafür wird angenommen, dass bestimmte Faktoren zu einer Desynchronisation der Rhythmik führen, und so interner und externer Rhythmus nicht mehr kongruent ablaufen können. Das bedeutet wiederum, dass der intrinsische Rhythmus dann länger oder kürzer als 24 Stunden dauert. Ein physiologisches Beispiel dieses Phänomens stellt beispielsweise der *Jet Lag* dar (Abreu, Bragança 2015).

In einem Versuch, bei dem Mäuse einem 22-Stunden Hell-Dunkel-Rhythmus ausgesetzt waren, gelang es, eine kontrollierte Desynchronisation herbeizuführen. Dabei waren Veränderungen der Körpertemperatur und im Schlaf-Wachrhythmus die die Folge, sowie veränderte Melatoninspiegel (Schwartz et al. 2009).

Den weitaus größten Aufschluss in der Uhrengenforschung brachten GWAS-Studien. Aufgrund des *Human Genome Project* wurde es möglich, Genome zur Gänze zu entschlüsseln und Untersuchungen auf Krankheitsassoziationen durchzuführen. Eine funktionelle Reanalyse von GWAS Daten ergab dabei signifikante Zusammenhänge zwischen diversen Uhrengenen (insbesondere *ARNTL*) und der Bipolaren Störung (Le-Niculescu et al. 2009). In hypothesen-geleiteten Gen-Assoziations-Studien fand

man für *CLOCK* (Kripke et al. 2009, Lee et al. 2010, Shi et al. 2008, Soria et al. 2010), *NPAS2* (Kripke et al. 2009, Soria et al. 2010, Mansour et al. 2009), *ARNTL* (Mansour et al. 2006, Soria et al. 2010, Mansour et al. 2009, Nievergelt et al. 2006, Le-Niculescu et al. 2008), *PER3* (Mansour et al. 2006, Soria et al. 2010, Nievergelt et al. 2006) und *Rev-erba* (Kripke et al. 2009, Kishi et al. 2008, Severino et al. 2009), aber auch für *GSK-3 β* (Le-Niculescu et al. 2009) und *TIMELESS* (Mansour et al. 2006) signifikante Assoziationen mit der Bipolaren Störung.

1.3 Das Feld der Temperamentsforschung

Die nun gewonnenen Erkenntnisse chronobiologischer Abweichungen aufgrund variierender zirkadianer Regulationsprofile lassen sich wie beschrieben auf genetischer Ebene gut nachweisen.

Interessant wäre es im Weiteren auch, ein Pendant zur klinischen Manifestation zu finden. Um den Persönlichkeitstyp eines Menschen erfassen und anhand eines Manuals klassifizieren zu können, braucht es eine Auseinandersetzung mit den verschiedenen Eigenschaften eines solchen, sowie standardisierte Testverfahren.

In den folgenden Kapiteln wird auf die verschiedenen Ansichtsweisen des „Temperaments“ im engeren Sinne eingegangen und zudem eine Untersuchung auf deren Relevanz für die bipolare Störung angestrebt.

1.3.1 Erklärungsmodelle der Temperamente

Für den Begriff „Temperament“ haben sich in den letzten Jahrzehnten mehr als 80 Definitionen etabliert. Am besten hat sich dabei die Beschreibung des Temperaments als „ein Aspekt der Persönlichkeit, der die emotionalen Anlagen und Reaktionen umfasst, sowie deren Geschwindigkeiten und Intensität“ durchgesetzt. Demzufolge wird das Temperament eines Individuums vor allem durch dessen Persönlichkeit, aber auch durch dessen Affektivität beeinflusst. Auf neurobiologischer Ebene gilt der Erklärungsversuch des Temperaments als Zusammenspiel verschiedener Erregungs- und Hemmprozesse (Akiskal et al. 2002).

In der Temperamentsforschung werden aktuell fünf Temperamentstypen unterschieden, wobei der individuell bestimmte Typus als lebenslanges Konzept angenommen werden kann (Goldsmith et al. 1987).

Man unterscheidet nach *Akiskal et al. (2002)*

- das *depressive*,
- das *hyperthyme*,
- das *zyklothyme*,
- das *reizbare* und das
- *phobische Temperament*.

Zur Diagnostik des jeweiligen Temperamentstypus wird der *TEMPS-A*-Fragebogen (*Temperament Scale of Memphis, Pisa, Paris and San Diego-Autoquestionnaire*) verwendet, welcher von *Akiskal et al. (2002)* basierend auf der vorangegangenen klassischen Konzeptualisierung entwickelt wurde. Das diagnostische Hilfsmittel wurde bereits in 32 verifizierte Sprachversionen übersetzt und in zahlreichen epidemiologischen und klinischen Studien eingesetzt. Im Fragebogen werden 110 Aussagen, welche die einzelnen Temperamente widerspiegeln, von der Probandin bzw. /dem Probanden mit Werten von 1 bis 5 beziffert. Der große Nutzen dieses Tests ist, dass der gegebenen Klinik eine valide metrische Komponente beiseitegestellt wird (*Akiskal et al. 2002, Rybakowski et al. 2014b, Placidi et al. 1998*).

Um die Validität des *TEMPS-A* mit anderen Temperamentsskalen zu überprüfen, wurde ein Vergleich einer ProbandInnengruppe mit dem *Cloninger's Temperament and Character Inventory (TCI)* anhand der zentralen Eigenschaften *Neugierverhalten* und *Schadensvermeidung* durchgeführt. Dabei bestätigten sich die laut TCI erwarteten negativen Korrelationen zwischen „Neugierverhalten“ und *ängstlichem* und *dysthymen Temperament* und die angenommenen positiven Korrelationen zwischen dem *ängstlichen, dysthymen* und *zyklothymen Temperament* und der Eigenschaft „Schadensvermeidung“. Für das *hyperthyme Temperament* ergaben sich in beiden Kategorien negative Korrelationen. Interessanterweise fanden sich außerdem mit allen fünf Temperamenten negative Korrelationen in der „Kooperativität“ (*Akiskal et al. 2005*).

2005 entwickelten *Erfurth et al.* einen deutschen repräsentativen Kurzfragebogen, den *TEMPS-M* (siehe Abbildung 1.2.). Laut einem Versuch an 1056 StudentInnen der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster resultiert dieser – verglichen mit der

langen TEMPS-A-Version – in entsprechenden, validen Ergebnissen (Erfurth et al. 2005).

Greenwood versuchte 2012, durch eine genomweite Assoziationsanalyse mit Hilfe des TEMPS-A-Fragebogens, temperamentsabhängige Genloci zu finden. Dabei kam heraus, dass das *hyperthyme Temperament* signifikant mit den Chromosomen 12 und 22, und das *reizbare Temperament* signifikant mit dem Chromosom 1 assoziiert werden kann. In einer weiteren Studie im darauffolgenden Jahr verglich *Greenwood* die Daten des TEMPS-A-Fragebogens mithilfe einer genomweiten SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) Korrelationsanalyse (*Linkage study*) mit dem Genom Bipolarer PatientInnen und fand heraus, dass alle fünf Temperamentstypen signifikant vererbbar sind. Die Vererbbarkeitsraten betragen 21% für das *hyperthyme*, 29% für das *depressive*, 36% für das *ängstliche*, 46% für das *zyklothyme* und 52% für das *reizbare Temperament*. Außerdem korrelierte das *hyperthyme Temperament* signifikant mit den Genloci 1q44, 2p16, 6q16 und 14q23. Das *depressive Temperament* korrelierte signifikant mit den Genloci 3p21 und 13q34, das *reizbare* mit 6q24 (*Greenwood et al. 2012, Greenwood et al. 2013*).

Abbildung 1.2: Ausschnitt aus dem TEMPS-M Fragebogen (Erfurth et al. 2005)

German version of the new briefTEMPS-M

Alter	_____	Datum	_____
Geschlecht	männlich / weiblich	Beruf	_____
Familienstand	_____	höchste Ausbildung	_____
		Muttersprache	_____

Im Folgenden möchten wir Sie bitten, die nachstehenden Aussagen zu lesen und zu beantworten, welche dieser Aussagen die meiste Zeit in Ihrem Leben zutreffend waren.

Verwenden Sie dabei bitte folgende Skala:

1.....2.....3.....4.....5
 gar nicht etwas ziemlich sehr völlig

- | | | |
|----|---|---------------------------|
| 01 | Man sagt mir, dass ich unfähig sei, die positive Seite von Dingen zu erkennen | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 02 | Ich denke, dass sich Dinge oft zum Schlechtesten wenden. | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 03 | Ich habe mir immer Vorwürfe gemacht wegen Dingen, die Andere für unwesentlich hielten. | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 04 | Ich gehöre zu jenen Menschen, die alles in Zweifel ziehen. | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 05 | Man sagt mir, dass ich oft die Dinge pessimistisch sehe und damit frühere glückliche Zeiten vergesse. | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 06 | Solange ich mich erinnern kann, bin ich immer jemand gewesen, der sich zu viele Sorgen macht. | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 07 | Viele Leute haben mir gesagt, ich solle mir nicht so viele Sorgen machen. | 1.....2.....3.....4.....5 |
| 08 | Ich habe plötzliche Wechsel in Stimmung und Antrieb. | 1.....2.....3.....4.....5 |

1.3.2 Temperament und Affektive Erkrankungen

Bereits *Kraepelin* beschrieb ein existierendes Kontinuum zwischen affektiven Störungen und Temperamenten: "Die leichteren und leichtesten Formen gehen ganz unmerklich in gewisse persönliche Eigentümlichkeiten über". Für die Annahme, dass sich "auf dem Boden verschiedener Temperamente" im Laufe der Jahre eine affektive Störung entwickelt, sprechen zahlreiche Untersuchungen. Anhand der Theorie des Bipolaren Spektrums (siehe Kapitel 1.1.1) und anhand der Temperamentsdefinition unabhängig bzw. sogar gleichzusetzend mit psychiatrischen Störungen lässt sich ein

fließender Übergang des einen in das andere resümieren (Erfurth et al. 2005, Akiskal et al. 2002).

Im folgenden Teil werden den einzelnen Temperamenten relevante Studienergebnisse zugeordnet:

1.3.2.1 Das *depressive Temperament*

Das *depressive Temperament* ist in seiner Bedeutung der dysthymen Persönlichkeitsstörung angelehnt und tritt bei Frauen häufiger auf als bei Männern. Charakteristische Symptome sind "Lethargie, andauernde Schwermut und ständige Selbstzweifel". Es konnte gezeigt werden, dass depressive PatientInnen - ohne die Diagnosekriterien einer Depression zu erfüllen - bereits unterschwellige Anzeichen aufweisen. Studien ergaben verkürzte *Rapid Eye Movement* (REM) - Latenzen und eine Umverteilung der REM-Phasen in die erste Nachthälfte (Akiskal et al. 1997).

1.3.2.2 Das *zyklothyme Temperament*

Personen mit einem *zyklothymen Temperament* sind vor allem impulsiv und wechselhaft und zeigen gelegentlich "soziale und zwischenmenschliche Schwierigkeiten". Im Konkreten zeigen sich „positive Korrelationen für das *zyklothyme Temperament* mit Belohnungsabhängigkeit, Beharrungsvermögen sowie Selbstlenkungsfähigkeit“. Es lassen sich außerdem in vielen Studien Parallelen zur zyklthymen Störung (DSM-IV) und zur Zyklthymia (ICD-10) finden. In einem prospektiven Setting, bei dem ProbandInnen mit einer unipolaren Depression über einen Zeitraum von bis zu 11 Jahren beobachtet wurden, konnte gezeigt werden, dass sich bei denen, die eine Bipolare Störung II entwickelten, die Temperamentskala als sensitiver darstellte, als die Hypomaniekriterien laut DSM-IV (Akiskal et al. 2002, Boerner 2015).

Betrachtet man Reliabilität und Validität der bei der Temperamentserhebung, so erzielt man das beste Ergebnis, wenn das *zyklothyme Temperament* durch Angaben einer Angehörigen/eines Angehörigen bestimmt wird (Akiskal et al. 2002, Placidi et al. 1998).

1.3.2.3 Das *hyperthyme Temperament*

Das *hyperthyme Temperament* führt im Gegensatz zu den anderen Temperamenten viel seltener zu psychiatrischen Konsultationen, weshalb in der Regel auch weniger Augenmerk daraufgelegt wird. Personen mit einem *hyperthymen Temperament* haben typischerweise viel Erfolg im beruflichen Umfeld, da sie weniger Schlaf brauchen und ein hohes Maß an Selbstvertrauen aufweisen. Im privaten Bereich kommt es jedoch häufig zu Problemen in Bezug auf finanzielle, soziale und sexuelle Aspekte. Bei Personen mit einem *hyperthymen Temperament* können intermittierende hypomane Phasen auftreten, welche sich jedoch immer wieder zur Euthymie rückentwickeln (Akiskal et al. 2002). Für das *hyperthyme Temperament* konnten außerdem positive Korrelationen mit der Eigenschaft „Selbsttranszendenz“ nachgewiesen werden (Akiskal et al. 2005).

Eine Untersuchung im Rahmen des *Oregon Adolescent Depression Project* kam zu dem Ergebnis, dass Personen mit hypomanen Persönlichkeitszügen wahrscheinlicher als die mit ihnen verglichenen Personen der Kontrollgruppe an einer affektiven Störung erkrankten (Klein, Lewinsohn & Seeley 1996).

Wie bereits berichtet wurde auch eine Korrelation zwischen den *hyperthymen Temperamentswerten* und der Lithiumverträglichkeit gefunden (Rybakowski et al. 2014a).

In einer Studie von Savitz et al wurde eine Verbindung zwischen dem *hyperthymen Temperament* und dem Val66Met-Polymorphismus nachgewiesen. Dieses Ergebnis konnte in einer darauffolgenden japanischen Studie jedoch nicht reproduziert werden (Savitz, van der Merwe & Ramesar 2008, Tsutsumi et al. 2011).

Zu einem weiteren interessanten Ergebnis kamen Perugi et al., als sie nachweisen konnten, dass Personen mit einer ersten manischen Phase signifikant öfter ein *hyperthymes* als ein *depressives Temperament* aufwiesen (Perugi et al. 2000).

1.3.2.4 Das reizbare Temperament

Das *reizbare Temperament* tritt selten auf und lässt sich vom *zyklothymen Temperament* nicht klar abgrenzen. Aus diesem Grund wird es manchmal als Untergruppe desselben angeführt. Eine deutliche Unterscheidung zeigt sich in der Geschlechterverteilung. Während das *zyklothyme Temperament* mehr Frauen betrifft, ergibt sich bei Männern häufiger das *reizbare Temperament* (Akiskal et al. 2002).

Die typische Charakterkonstellation besteht aus konstant bestehenden “depressiven und hyperthymenten Zügen”. Außerdem treten “dysphorische Überreaktivität, ständige Ärgerlichkeit und klagsame Äußerungen” auf. Aufgrund dieser Charakterbeschreibung ist es nachvollziehbar, dass bei Personen mit *reizbarem Temperament* häufig Persönlichkeitsstörungen aus dem Cluster B diagnostiziert werden. Außerdem zeigt sich eine Prädisposition für Mischzustände und Manien (Akiskal et al. 2002).

1.3.2.5 Das ängstliche Temperament

Persönlichkeitsstörungen aus dem Cluster C treffen hingegen eher auf das *phobische Temperament* zu, aus welchem vor allem Panikstörungen und Agoraphobien hervortreten (Akiskal et al. 2002). So ist es auch nicht verwunderlich, dass die Merkmale des *ängstlichen Temperaments* mit denen der generalisierten Angststörung nahezu übereinstimmen (Boerner 2015).

Es bestehen Hinweise, dass sich die Entwicklung einer Angststörung ähnlicher Mechanismen bedienen kann. Eine Studie an 126 Personen mit einer Panikstörung mit oder ohne Agoraphobie ergab, dass bei 30 % von ihnen ein *phobisches Temperament* nachgewiesen wurde (Perugi et al. 1998).

Vor allem für das *hyperthyme*, das *zyklothyme* und das *reizbare Temperament* ergeben sich deutliche Hinweise für einen Zusammenhang mit der Bipolaren Störung. Dies lässt sich auch in der punktuellen Überschneidung einzelner symptomatischer Ausprägungen der Temperamente mit der Bipolaren Störung erkennen (Akiskal et al. 2002, Boerner 2015, Klein, Lewinsohn & Seeley 1996, Perugi et al. 2000).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass zur möglichen Anwendbarkeit des TEMPS-A bzw. des TEMPS-M Tests in der Bipolaren Störung noch wenig und manchmal auch widersprüchliches Studienmaterial zur Verfügung steht. Es gilt also umso mehr, das allgemeine Potential des Tests in diesem Bereich zu erkunden.

1.4 Hypothesen

Wie in Kapitel 1.3. berichtet, lassen sich deutliche Zusammenhänge zwischen affektiven Erkrankungen, Temperamentsausprägungen und Vererbung zeigen. In der Uhrengenforschung (Kapitel 1.2) konnten wiederum zahlreiche Gen-Assoziationsstudien auf die Zusammenhänge zwischen zirkadianen Genen und bipolarer Störung hinweisen. Kombiniert man diese Erkenntnisse, so stellt sich im Folgenden die Frage, ob zwischen den genetischen Konstellationen der Uhrengene und den Temperamentsausprägungen bipolar erkrankter PatientInnen Zusammenhänge festgemacht werden können.

Fragestellung: *Unterscheiden sich Temperament Scores zwischen Uhrengen-Genotypgruppen bei Individuen mit bipolarer Störung?*

Hypothese: *Es gibt einen signifikanten Unterschied in den Temperament Scores (depressiv, zylothym, hyperthym, reizbar, ängstlich) zwischen den Uhrengengenotypen (CLOCK, ARNTL, TIMELESS, PER3 und NPAS2) bipolarer PatientInnen.*

Null-Hypothese: *Es gibt keinen signifikanten Unterschied in den Temperament Scores zwischen den Uhrengengenotypen bipolarer PatientInnen.*

2 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit entstand an der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapeutische Medizin der Medizinischen Universität Graz und wurde an der Spezialambulanz für Bipolare Störungen im Rahmen der *BIPFAT*-Studie und der *BIPGENETIK*-Studie umgesetzt.

Die Studien wurden durch ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz ermöglicht.

2.1 PatientInnenanalyse

Es konnten 66 PatientInnen mit dem Einschlusskriterium einer Bipolar affektiven Störung zur Testung rekrutiert werden. Diese sind an der Spezialambulanz für Bipolar affektive Störungen im Vorfeld ambulant oder stationär vorstellig geworden und haben nach umfangreicher Aufklärung über den Ablauf und den Nutzen der Studie die Einverständniserklärung unterschrieben.

Das ProbandInnenkollektiv setzte sich aus 32 Männern und 34 Frauen zwischen 20 und 73 Jahren zusammen. Das mittlere Alter betrug 44,39 Jahre bei einer Standardabweichung von $\pm 14,51$ Jahren. Der Median ergab 42,84 Jahre.

Das durchschnittliche Gewicht der PatientInnen betrug 87,64kg ($\pm 20,9$ kg), wobei 56,10% an Übergewicht litten. Zudem gaben 33,33% an, dass sie aktiv rauchen würden. 31,80% der ProbandInnen wurden zum Testzeitpunkt mit Lithium und 24,60% mit Valproat therapiert.

Die Diagnosestellung erfolgte anhand der DSM IV-Kriterien, validiert durch das Strukturierte Klinische Interview für DSM IV (SKID-I-Interview) nach *Wittchen et al.* (Wittchen, H. U., Wunderlich, U., Gruschwitz, S., & Zaudig, M. 1997).

Anhand dieser Methode ergab sich für 48 Testpersonen die Diagnose Bipolare Störung Typ I und für 18 Personen die Diagnose Bipolare Störung Typ II.

2.2 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme waren schwere substanzgebundene Abhängigkeiten und klinisch im Vordergrund stehende Persönlichkeitsstörungen.

Zu den körperlichen Ausschlusskriterien zählten chronische pulmonale Krankheiten, maligne Prozesse, rheumatoide Arthritis, systemischer Lupus erythematodes und neurodegenerative sowie neuroinflammatorische Erkrankungen (Morbus Parkinson, Multiple Sklerose, Chorea Huntington, Alzheimer).

2.3 Genotypisierungsmethoden

Die Proben wurden anonymisiert und am *Institut für Humangenetik Graz* weiterverarbeitet. *Desoxyribonukleinsäure* (DNA) wurde aus 10ml mit *Ethylendiamintetraessigsäure* (EDTA) antikoaguliertem Gesamtblut mittels Aussalzmethode extrahiert (Miller, Dykes & Polesky 1988) (siehe Details im Anhang).

Anschließend erfolgte die Genotypisierung mit dem *Omniexpress1.1 bead Chip* von *Illumina* entsprechend der öffentlich zugänglichen Firmenmanuale (siehe http://support.illumina.com/array/array_kits/humanomniexpress-24-beadchip-kit/documentation.html). Im Anschluss erfolgten die wissenschaftlich üblichen bioinformatischen Qualitätskontrollen (*Hardy Weinberg Equilibrium, SNP Calling, Checks für Geschlechts Inkonsistenzen, Analysen von Verwandtschaftsgraden etc.*).

Entsprechend unserer Hypothesen wurden Genotypen der ausgewählten Uhrengen-SNPs von *ARNTL, CLOCK, TIMELESS, PER3* und *NPAS2* mittels des Software-Programms *PLINK* isoliert. Dieses ist über die Internetseite <http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/> kostenlos beziehbar.

Die Charakteristika der einzelnen SNPs der ausgewählten Gene werden in den Tabellen 2.1 zusammengefasst. Tabelle 2.2 zeigt deren Häufigkeitsverteilung im ProbandInnenkollektiv. Aufgrund der Tatsache, dass in manchen Genotypgruppen weniger als 10 Personen denselben Genotyp aufwiesen, wurden in jenem Fall - um

eine repräsentative statistische Auswertung zu gewährleisten - die Kollektive vor der Berechnung in zwei Gruppen (Beispiel: (AA+AG) versus GG) zusammengefasst.

Tabelle 2.1.: Beschreibung der analysierten Polymorphismen laut NCBI SNP-Datenbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)

Gen	SNP ID	Chromosomenposition		MAF	RefSNP Allele	Funktion
CLOCK	rs12649507	4	56380484	0,331	A:G (FWD)	Intron
	rs534654	4	55984977	0,140	A:C:T (FWD)	Intron
	rs1801260	4	55996126	0,274	C:T (FWD)	Exon 23
ARNTL	rs7107287	11	13269545	0,246	G:T (FWD)	Intron
	rs1982350	11	13306707	0,336	C:T (REV)	Intron
	rs6486121	11	13312346	0,351	C:T (FWD)	Intron
	rs7937060	11	13319391	0,359	C:T (FWD)	Intron
	rs1562438	11	13320776	0,305	A:G (REV)	Intron
	rs3789327	11	13341892	0,490	C:T (REV)	Intron
	rs11022778	11	13347436	0,358	G:T (FWD)	Intron
	rs11600996	11	13352742	0,483	C:T (FWD)	Intron
	rs11022780	11	13353485	0,467	C:T (FWD)	Intron
PER3	rs10864315	1	7772668	0,317	C:T (FWD)	Intron
	rs228682	1	7778933	0,440	C:T (FWD)	Intron

Gen	SNP ID	Chromosomenposition		MAF	RefSNP Allele	Funktion
PER3	rs228642	1	7785880	0,396	C:T (FWD)	Intron
	rs10462021	1	7819720	0,151	A:G (FWD)	Exon 20
	rs11123857	2	100970244	0.2511	A:G (FWD)	Intron
TIMELESS	rs7302060	12	55115359	0,429	C:T (FWD)	Intron
	rs11171856	12	55128086	0,491	C:G:T (FWD)	Intron
NPAS2	rs13025524	2	100916613	0,3808	A:G (FWD)	Intron
	rs11123857	2	100970244	0.2511	A:G (FWD)	Intron

(MAF= Minor Allele Frequency, SNP ID= Single Nucleotide Polymorphism Identification, RefSNP Allele: ursprüngliches Allel, aus einigen Referenzgenomen des Human Genome Project erhoben, wird laufend aktualisiert, Orientierung: FWD: vorwärts, REV: rückwärts)

Tabelle 2.2: Häufigkeitsverteilung der analysierten Polymorphismen

Gen	SNP ID	Genotyp	Anzahl	Genotyp	Anzahl	Genotyp	Anzahl
CLOCK	rs12649507*	AG	33	GG	24	AA	8
	rs534654*	AG	18	GG	48	AA	0
	rs1801260*	AG	26	GG	4	AA	36
ARNTL	rs7107287*	AC	19	CC	41	AA	6
	rs1982350	AG	21	GG	29	AA	15
	rs6486121*	AG	33	GG	9	AA	24
	rs7937060	AG	32	GG	11	AA	23
	rs1562438*	AG	25	GG	37	AA	4
	rs3789327	AG	31	GG	15	AA	20
	rs11022778*	AC	24	CC	7	AA	35
	rs11600996	AG	32	GG	19	AA	15
	rs11022780	AG	32	GG	15	AA	19
PER3	rs10864315*	AG	31	GG	32	AA	3
	rs228682	AG	35	GG	16	AA	15
	rs228642*	AG	33	GG	6	AA	27
	rs10462021*	AG	19	GG	2	AA	45
TIMELESS	rs7302060	AG	31	GG	13	AA	22

Gen	SNP ID	Genotyp	Anzahl	Genotyp	Anzahl	Genotyp	Anzahl
TIMELESS	rs11171856	AG	30	GG	24	AA	12
NPAS2	rs13025524*	AG	29	GG	32	AA	5
	rs11123857*	AG	32	GG	8	AA	26

(SNP ID= Single Nucleotide Polymorphism Identification, AG/GG/AA= Genotyp, *Berechnung in zwei Gruppen (n<10))

2.4 Methoden zur Temperamentserhebung

Zur Erhebung der jeweiligen Temperamentstypen diente der TEMPS-M-Fragebogen von *Erfurth et al.* (Erfurth et al. 2005).

Die Evaluierung gliederte sich dabei in 5 Fragedomänen:

- *depressive* (Frage 1-7),
- *zyklothyme* (Frage 8-14),
- *hyperthyme* (Frage 15-21),
- *reizbare* (Frage 22-28) und
- *ängstliche* (Frage 29-35) Fragestellungen

Die einzelnen Temperamentwerte wurden aus den Quersummen der Fragedomänen errechnet.

Der Fragebogen wurde den Testpersonen am Tag der Blutabnahme ausgehändigt.

2.5 Statistische Methoden

Zur statistischen Auswertung wurde die *IBM SPSS Software Version 22* verwendet.

Die erhobenen Daten waren normalverteilt. Zusätzlich zeigte der Levene-Test kein signifikantes Ergebnis, weshalb die Voraussetzungen einer Berechnung mit ANCOVA (*Analysis of Covariance*) nicht verletzt wurden.

Mittels ANCOVA wurde verglichen, ob sich die Temperament Scores zwischen den Genotypen der Uhrengene unterscheiden. Um eine repräsentative statistische Auswertung gewährleisten zu können, wurden die Studienteilnehmer bei einer unzureichenden Zellzahl ($n < 10$) in zwei Gruppen unterteilt (z.B. GG+GC, CC).

Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ festgelegt.

Die Beschreibung der Testpersonen erfolgte deskriptiv.

2.6. Störfaktoren

Bei der Literaturrecherche wurden die Variablen Alter, Geschlecht, Übergewicht, Medikamenteneinnahme und Rauchen als potentielle Einflussfaktoren erhoben. Bei der Überprüfung auf deren Zusammenhang mit den Temperament Scores im vorliegenden Datensatz konnte nur für das Geschlecht der ProbandInnen ein signifikanter Zusammenhang mit den Temperament Scores gefunden werden, weshalb in Folge im ANCOVA Modell zum Testen der Haupthypothese Geschlecht als Kovariate eingeführt wurde. In Tabelle 2.3 werden die Mittelwerte der Temperament Scores (mit Standardabweichung) entsprechend Geschlecht aufgelistet.

Tabelle 2.3.: Mittelwerte und Standardabweichungen der Temperamentswerte in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	Temperament				
	Depressiv	Zyklothym	Hyperthym	Reizbar	Ängstlich
Weiblich	16,29±7,15	19,78±8,71	20,90±7,81	15,50±7,16	19,21±7,64
Männlich	20,53±7,15	20,34±6,10	21,60±5,58	16,56±5,06	15,10±4,83
Gesamt	18,35±7,53*	20,05±7,50	21,23±6,77	16,02±6,21	17,21±6,71*

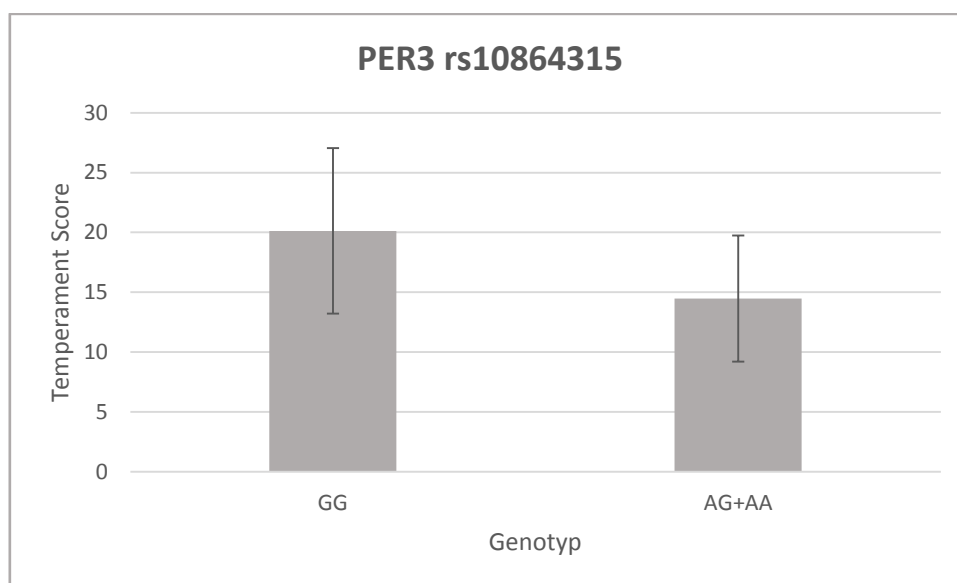
(*Signifikanz $p < 0,05$)

Weil sich bei den restlichen potentiellen Kofaktoren kein signifikanter Einfluss auf die Temperament Scores zeigte, wurde lediglich die Variable Geschlecht als temperamentsbeeinflussende Größe bestimmt und in den anschließenden Berechnungen der Haupthypothesen als Kovariate im ANCOVA-Modell berücksichtigt.

3 Ergebnisse

Die Berechnungen des *PER3* SNPs rs10864315 ergaben einen signifikanten Unterschied zwischen dem Genotyp GG (Mittelwert: 20,13, Standardabweichung: $\pm 6,93$) und der Genotypengruppe AA+AG (Mittelwert: 14,47, Standardabweichung: $\pm 5,26$) ($F(1,63) = 12,094$, $p = 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,161$) in Bezug auf das *ängstliche Temperament* (siehe Abbildung 3.1.). PatientInnen mit einem GG-Genotyp erzielten höhere Scores hinsichtlich des *ängstlichen Temperaments* als PatientInnen mit AA oder AG im Genotyp.

Abbildung 3.1. Ängstliches Temperament und Genotypen des *PER3* SNP rs10864315



x-Achse: Genotypgruppen GG und AG+AA des *PER3* SNPs rs10864315, *y*-Achse: Mittelwerte der errechneten Temperament Scores für ängstliches Temperament inkl. Standardabweichung; der Genotyp GG zeigte signifikant höhere Temperament Score Werte in der Kategorie ängstliches Temperament als die Genotypengruppe AG+AA ($F(1,63) = 12,094$, $p = 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,161$)

In der anschließenden Tabelle werden die *p*-Werte der ANCOVA, welche die Unterschiede der Temperament Scores zwischen den beschriebenen Genotypgruppen untersuchte, dargestellt.

Tabelle 3.1 Temperament Scores und Uhrengen-Genotypen in Individuen mit bipolarer Störung (n= 66)

Uhrengen	Genvariante	Temperament				
		<i>Depressiv</i>	<i>Zyklothym</i>	<i>Hyperthym</i>	<i>Reizbar</i>	<i>Ängstlich</i>
CLOCK	rs12649507	0,908	0,951	0,123	0,646	0,967
	rs534654	0,552	0,813	0,487	0,614	0,740
	rs1801260	0,659	0,097	0,365	0,787	0,432
ARNTL	rs7107287	0,963	0,679	0,932	0,533	0,654
	rs1982350	0,899	0,398	0,511	0,610	0,618
	rs6486121	0,392	0,445	0,170	0,299	0,630
	rs7937060	0,330	0,219	0,192	0,397	0,948
	rs1562438	0,998	0,624	0,640	0,053	0,857
	rs3789327	0,343	0,285	0,743	0,081	0,695
	rs11022778	0,411	0,506	0,220	0,101	0,590
	rs11600996	0,137	0,617	0,090	0,863	0,847
	rs11022780	0,137	0,617	0,090	0,863	0,847
PER3	rs10864315	0,933	0,597	0,685	0,506	0,001*
	rs228682	0,341	0,402	0,836	0,077	0,558
	rs228642	0,682	0,841	0,765	0,103	0,187
	rs10462021	0,276	0,667	0,778	0,958	0,936

Uhrengen	Genvariante	Temperament				
		<i>Depressiv</i>	<i>Zyklothym</i>	<i>Hyperthym</i>	<i>Reizbar</i>	<i>Ängstlich</i>
TIMELESS	rs7302060	0,995	0,187	0,453	0,668	0,300
	rs11171856	0,408	0,208	0,638	0,168	0,144
NPAS2	rs13025524	0,256	0,785	0,489	0,938	0,814
	rs11123857	0,122	0,303	0,866	0,848	0,440

*Diese Tabelle zeigt die p-Werte der ANCOVAs zur Testung der Haupthypothese – das ANCOVA-Modell inkludierte den Temperament Score als abhängige Variable, den Uhrengen-Genotypen als unabhängige Variable und das Geschlecht als Kovariate, signifikante p-Werte werden gekennzeichnet *p<0,05*

4 Diskussion

4.1. Beantwortung und Erörterung der Forschungsfrage

Ziel dieser Diplomarbeit war es, zu untersuchen, ob sich Temperament Scores des TEMPS-M-Tests signifikant zwischen den Uhrengen-Genotypgruppen bei ProbandInnen mit Bipolarer Störung unterscheiden. Dies konnte beim *PER3* SNPs rs10864315 bestätigt werden. Die Temperament Scores hinsichtlich *ängstlichem Temperament* ergaben im Falle des genannten *PER3* SNPs signifikant höhere Werte für den Genotyp GG.

In der Literatur finden sich bisher sehr wenige Studien von Forschungsgruppen, die sich auf Persönlichkeit Scores in unterschiedlichen Uhrengen-Genotypen in der Bipolaren Störung fokussiert haben. Zu Interaktionen zwischen zirkadianen Rhythmen und Persönlichkeit lassen sich einige gute Arbeiten finden. Ein Abriss wird in den folgenden Zeilen dargestellt.

Allen voran steht eine Arbeit von *Caci et al.*, die im Jahr 2004 unter Verwendung der *Composite Scale of Morningness* zur Bestimmung des chronobiologischen Typs und des *Cloninger's Temperament and Character Inventory* (TCI) zur Temperamentserhebung herausfanden, dass eine vermehrte Aktivität am Morgen positiv mit Beharrlichkeit und negativ mit der Suche nach Neuem korreliert (Caci, Robert & Boyer 2004). Dadurch konnten erste Zusammenhänge morgendlicher bzw. abendlicher Polarität mit bestimmten Persönlichkeitsausprägungen in Verbindung gebracht werden.

Auf die konsekutive Frage, ob der beschriebenen Polarität der *Morgendlichkeit* und der *Abendlichkeit* auch Temperamentsausprägungen folgen würden, publizierten *Park et al.* von der *Cornell University* im Jahr 2015 klärende Antworten. Bei ihrer Studie – unter Verwendung des TEMPS-A-Fragebogens – zeigte sich, dass den verschiedenen Temperamenten unterschiedliche chronobiologische Typen zugeordnet werden können. Demzufolge hatten Personen, die am Abend aktiver sind, wahrscheinlicher ein *depressives, zykllothymes, reizbares, oder ängstliches Temperament*.

Testpersonen, welche Morgenstunden präferieren, hatten eher ein *hyperthymes Temperament* (Park et al. 2015).

Nimmt man Bezug auf die einzelnen Uhrengene und deren Auswirkung auf die Temperamentstypi, so finden sich in der Literatur verschiedene Variationen im *CLOCK*-Gen, welche Assoziationen mit der Belohnungsabhängigkeit von ProbandInnen zeigen. Außerdem ergab die Analyse einer *PER3* Variante einen Zusammenhang mit saisonalen Stimmungsschwankungen (Tsuchimine et al. 2013, Zhang et al. 2016). Interessanterweise kann in einer aktuellen Arbeit von *Dmitrzak-Węglarz et al.* aus dem Jahr 2016 eine Assoziation zwischen Schlafstörungen und verschiedenen SNPs von *CLOCK*, *PER3*, *ARNTL* und *TIMELESS* gefunden werden. Es konnte ebenfalls eine signifikante Assoziation zwischen SNPs von *ARNTL* und *CLOCK* und einem weiteren Fragebogen zu „Morningness and Eveningness“ gezeigt werden (Dmitrzak-Węglarz et al. 2016). Auch Mansour et al. kamen 2017 bei der Untersuchung von *PER3* zu ähnlichen Ergebnissen. Sie untersuchten dabei PatientInnen mit Altersschlaflosigkeit (Mansour et al. 2017).

Die erste Studie über Uhrengene und die Temperamentklassifikationen des TEMPS-A führten *Rybakowski et al.* im Jahr 2014 durch. Dabei untersuchten sie 70 PatientInnen mit diagnostizierter Bipolarer Störung und fanden Zusammenhänge zwischen drei Uhrengenen (*ARNTL*, *TIMELESS*, *PER3*) und den TEMPS-A Temperamentskategorien. Bei der Datenanalyse zeichnete sich bei dieser Untersuchung der Trend ab, dass *ARNTL*-SNPs signifikant mit dem *hyperthymen* und *ängstlichen Temperament*, *TIMELESS*-SNPs mit dem *zyklothymen* und *PER-3*-SNPs mit dem *depressiven Temperament* assoziiert werden konnten. Dennoch lässt der fehlende Bezug auf mögliche beeinflussende Faktoren für die Bedeutung der Ergebnisse Diskussionspielraum offen (Rybakowski et al. 2014b). In einer weiteren Untersuchung zeigten SNPs von *ARNTL* und *TIMELESS* Zusammenhänge mit der Wirksamkeit der Lithiumtherapie (Rybakowski et al. 2014a).

Im Gegensatz dazu konnte in der vorliegenden Studie durch eine breit angelegte und sorgfältig durchgeführte Datenerhebung auf mögliche beeinflussende Komponenten eingegangen werden, was robustere Ergebnisse ermöglicht. Der in der Arbeit von *Rybakowski et al.* 2014 beschriebene Trend konnte dabei nicht bestätigt werden

(Rybakowski et al. 2014b). Vielmehr ergaben sich ein vielversprechendes signifikantes Ergebnis eines bisher noch nicht in diesem Zusammenhang untersuchten SNPs.

Die in dieser Diplomarbeit beschriebene Studie konnte bestätigen, dass eine Assoziation zwischen dem SNP rs10864315 von *PER3* und dem *ängstlichen Temperament* besteht.

Interessanterweise konnte auch schon in der Literatur bei der *ängstlich/reaktiven* Temperamentsklassifikation des *TCIs* bei Angehörigen ersten Grades von PatientInnen mit Bipolarer Störung ein signifikant höheres Ergebnis erreicht werden, als in der Kontrollgruppe (Evans et al. 2005) Diese Tatsache und auch das aktuelle Ergebnis zeigen somit, dass die Kombination aus *ängstlichem Temperament* und bestimmten *PER3* Genotypen einen möglichen prädisponierenden Faktor für die bipolare Störung darstellt.

Das *ängstliche Temperament* gilt im Allgemeinen als ein prädisponierender Faktor für eine Reihe psychiatrischer Krankheiten – allen voran für Angststörungen und Depressionen (Karam et al. 2010b). Laut einer Arbeit von *Wang et al.* erklärt sich der Zusammenhang zwischen einer alterierenden Funktion von *PER3* und dem ängstlichen Phänotyp jedoch eher in einer unphysiologischen Stressbewältigung als über die Dysfunktion zirkadianer Rhythmen (Wang et al. 2011). Im Widerspruch zu dieser Studie kamen *Viena et al.* im Jahr 2016 bei der Untersuchung mehrerer *PER3* Genotypen sehr wohl zu dem Ergebnis, dass bestimmte SNPs des Gens mit einem höheren Risiko für Angstzustände und Affektabweichungen einhergehen, wenn die Testpersonen reduzierten Schlafzeiten ausgesetzt waren. Sie konstatierten folglich die Schlüsselfunktion für das Verständnis über den Zusammenhang zwischen *PER3* und Affektiven Störungen in der Schlaflänge und somit wiederum in chronobiologischen Ursachen (Viena et al. 2016). Die Beeinflussung verschiedener Uhrengen-Genotypen auf die zirkadiane Rhythmik scheint somit gesichert zu sein.

Interessanterweise ergab sich als weiterer beeinflussender Faktor im Versuchsaufbau das Geschlecht der PatientInnen. Dass sich die Temperamente vom Geschlecht beeinflussen lassen, mag möglicherweise auf hormonelle Ursachen zurückgehen (Hayward 2003). Viele Studien konnten den bereits unumstritten angenommenen Einfluss des Geschlechts auf die Persönlichkeitsentwicklung und in weiterer Folge auf

das Temperament einer Person nachweisen (Placidi et al. 1998, Blöink et al. 2005, Perugi et al. 1990).

4.2. Limitationen

Die größte Limitation der vorliegenden Studie stellt die kleine Fallzahl von 66 PatientInnen dar. Beim *PER3* SNP rs10864315 wurden nur 3 ProbandInnen mit der Genkonstellation *AA* getestet. Mit einer größeren ProbandInnenzahl ließen sich möglicherweise noch validere Ergebnisse erzielen.

Wie bei einer Studie von *Karam et al.* liegt des Weiteren die Vermutung nahe, dass z.B. PatientInnen mit einem *hyperthymen Temperament* eher die Tendenz besitzen, keine hohen Scores beim Ausfüllen der Fragebögen erzielen zu wollen (Karam et al. 2010a). Dies könnte auch erklären, warum das *hyperthyme* und das *zyklothyme Temperament*, entgegen der Erwartungen, keine signifikanten Ergebnisse erbrachten.

4.3. Weiterführende Forschungsansätze

Trotz der genannten Limitationen konnte dieses Ergebnis den Zusammenhang der Uhrengene im Falle des genannten SNP von *PER3* mit einem *ängstlichen Temperament* belegen. Dieses Ergebnis bestätigt die Wichtigkeit, der genetischen Komponente als pathophysiologische Ursache der Bipolaren Störung weiterhin nachzugehen und lässt vorsichtige Überlegungen, den TEMPS-M als Früherkennungsmanual der bipolaren Erkrankung einzusetzen, zu. Zukünftige Studien sollten daher den TEMPS-M in Assoziation mit Uhrengen-Genotypen als Methode in der Früherkennung bei Menschen mit dem Verdacht auf eine bipolare Erkrankung, bei der Identifizierung erkrankter Angehöriger und bei der Vorabschätzung der Therapieauswahl andenken.

Wie bereits in Kapitel 1.3 erwähnt, ist in der Früherkennung einer Manie das *zyklothyme Temperament* des TEMPS-M-Fragebogens sensitiver als das DSM IV-Manual. Es sind noch weitere Untersuchungen notwendig, um spezifischere Aussagen zum Früherkennungspotential der Temperamente des TEMPS-M treffen zu können –

auch um das gewonnene Ergebnis beim *ängstlichen Temperament* besser in Beziehung zur Bipolaren Störung stellen zu können. Eine zukünftige Studie könnte beispielsweise erneut ein größeres, gesundes ProbandInnenkollektiv im Langzeitverlauf untersuchen. Aufgrund vorhandener Ergebnisse, dass auch ROR α sowohl auf die bipolare Störung, als auch auf den zirkadianen Phänotyp Einfluss hat, sollte dieses Uhrgen in weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden (Etain et al. 2014).

Ein weiterer interessanter Forschungsansatz wäre der Vergleich der Temperament Scores eines Probanden/einer Probandin während einer manischen, depressiven und euthymen Phase, um die Konstanz der Temperamente auch in dieser Hinsicht zu überprüfen. Des Weiteren könnte auch untersucht werden, ob unterschiedliche Temperamente mit einem speziellen Sub-Phänotyp der Bipolaren Störung assoziiert sind. Wie bereits beschrieben ist die adäquate Diagnosestellung der Bipolaren Störung nach wie vor ein zentrales Problem. Bessere Früherkennungsmaßnahmen implizieren dabei einen schnelleren Zugang zur richtigen Therapie.

Da die Therapieeffizienz sowohl mit dem Temperament, als auch mit der Genotypkonstellation der Uhrgene assoziiert wird, liegt hier wohl der vielversprechendste Ansatz weiterer Forschungsschwerpunkte. Weiß man über die spezifischen genetischen Regulationsmechanismen und deren Persönlichkeitsauswirkungen besser Bescheid, kann man zum Beispiel mit chronotherapeutischen Methoden eingreifen oder auch den Erfolg eines Therapieplans bereits bei der Planung besser abschätzen (McClung 2007, Rybakowski et al. 2014a).

Die Tatsache, dass bestimmte *PER 3* Varianten einen Zusammenhang mit saisonalen Schwankungen ergeben und auch die Schlaflänge bei bestimmten *PER3* Genotypen mit Affektiven Störungen in Verbindung stehen, lässt sich wahrscheinlich mit der bestimmenden Rolle des Genprodukts in der Zyklusdauer der molekularen Uhr erklären (Zhang et al. 2016, Viena et al. 2016). Unter Berücksichtigung dieser Erkenntnisse ließe sich in diesem Zusammenhang auch eine vermeintlich bessere Ansprechbarkeit von Licht- oder Schlafentzugstherapien als beeinflussenden äußeren „Zeitgeber“ bei bestimmten *PER3* Varianten diskutieren.

5 Literaturverzeichnis

- Abdolmaleky, H.M., Cheng, K.H., Faraone, S.V., Wilcox, M., Glatt, S.J., Gao, F., Smith, C.L., Shafa, R., Aeali, B., Carnevale, J., Pan, H., Papageorgis, P., Ponte, J.F., Sivaraman, V., Tsuang, M.T. & Thiagalingam, S. 2006, "Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder", *Human molecular genetics*, vol. 15, no. 21, pp. 3132-3145.
- Abdolmaleky, H.M., Smith, C.L., Faraone, S.V., Shafa, R., Stone, W., Glatt, S.J. & Tsuang, M.T. 2004, "Methylomics in psychiatry: Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation", *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, vol. 127B, no. 1, pp. 51-59.
- Abdolmaleky, H.M., Yaqubi, S., Papageorgis, P., Lambert, A.W., Ozturk, S., Sivaraman, V. & Thiagalingam, S. 2011, "Epigenetic dysregulation of HTR2A in the brain of patients with schizophrenia and bipolar disorder", *Schizophrenia research*, vol. 129, no. 2-3, pp. 183-190.
- Abreu, T. & Bragança, M. 2015, "The bipolarity of light and dark: A review on Bipolar Disorder and circadian cycles", *Journal of affective disorders*, vol. 185, pp. 219-229.
- Akiskal, H.S., Brieger, P., Mundt, C., Angst, J. & Marneros, A. 2002, "Temperament und affektive Störungen Die TEMPS-A-Skala als Konvergenz europäischer und US-amerikanischer Konzepte", *Der Nervenarzt*, vol. 73, no. 3, pp. 262-271.
- Akiskal, H.S., Mendlowicz, M.V., Jean-Louis, G., Rapaport, M.H., Kelsoe, J.R., Gillin, J.C. & Smith, T.L. 2005, "TEMPS-A: validation of a short version of a self-rated instrument designed to measure variations in temperament", *Journal of affective disorders*, vol. 85, no. 1-2, pp. 45-52.
- Akiskal, H.S. & Pinto, O. 1999, "The evolving bipolar spectrum. Prototypes I, II, III, and IV", *The Psychiatric clinics of North America*, vol. 22, no. 3, pp. 517-34, vii.
- Akiskal, H.S., Judd, L.L., Gillin, J.C. & Lemmi, H. 1997, "Subthreshold depressions: clinical and polysomnographic validation of dysthymic, residual and masked forms", *Journal of affective disorders*, vol. 45, no. 1-2, pp. 53-63.
- Alonso, J., Petukhova, M., Vilagut, G., Chatterji, S., Heeringa, S., Ustun, T.B., Alhamzawi, A.O., Viana, M.C., Angermeyer, M., Bromet, E., Bruffaerts, R., de Girolamo, G., Florescu, S., Gureje, O., Haro, J.M., Hinkov, H., Hu, C.Y., Karam, E.G., Kovess, V., Levinson, D., Medina-Mora, M.E., Nakamura, Y., Ormel, J., Posada-Villa, J., Sagar, R., Scott, K.M., Tsang, A., Williams, D.R. & Kessler, R.C. 2011, "Days out of role due to common physical and mental conditions: results from the WHO World Mental Health surveys", *Molecular psychiatry*, vol. 16, no. 12, pp. 1234-1246.
- Andreazza, A.C., Kauer-Sant'anna, M., Frey, B.N., Bond, D.J., Kapczinski, F., Young, L.T. & Yatham, L.N. 2008, "Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis", *Journal of affective disorders*, vol. 111, no. 2-3, pp. 135-144.
- Angst, J., Sellaro, R., Stassen, H.H. & Gamma, A. 2005, "Diagnostic conversion from depression to bipolar disorders: results of a long-term prospective study of hospital admissions", *Journal of affective disorders*, vol. 84, no. 2-3, pp. 149-157.
- Angst, J., Gamma, A., Benazzi, F., Ajdacic, V., Eich, D. & Rössler, W. 2003, "Toward a re-definition of subthreshold bipolarity: epidemiology and proposed criteria for

- bipolar-II, minor bipolar disorders and hypomania", *Journal of affective disorders*, vol. 73, no. 1–2, pp. 133-146.
- Association, A.P. 2000, "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition: DSM-IV-TR®", American Psychiatric Association.
- Bach, M., Butterfield-Meissl, C., Erfurth, A., Haring, C., Hausmann, A., Hofmann, P., Kalousek, M., Klier, C., Marksteiner, J., Mühlbacher, M., Oberlerchner, H., Psota, G., Rados, C., Sachs, G., Windhager, E., Winkler, J. & Wrobel, M. 2013, "ÖGBP Konsensus Statement: Bipolare Störung - Medikamentöse Therapie", *neuropsychy*, .
- Baillaroer 1855, "Baillarger and Falret on a new species of insanity", *AJP*, vol. 11, no. 3, pp. 230-238.
- Barnett, J.H. & Smoller, J.W. 2009, "The genetics of bipolar disorder", *Neuroscience*, vol. 164, no. 1, pp. 331-343.
- Bengesser S, R.E. (ed) 2013, "Genetics of Bipolar Disorder", *Peter-Lang*.
- Berk, M., Kapczynski, F., Andreazza, A.C., Dean, O.M., Giorlando, F., Maes, M., Yucel, M., Gama, C.S., Dodd, S., Dean, B., Magalhaes, P.V., Amminger, P., McGorry, P. & Malhi, G.S. 2011, "Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors", *Neuroscience and biobehavioral reviews*, vol. 35, no. 3, pp. 804-817.
- Besing, R.C., Paul, J.R., Hablitz, L.M., Rogers, C.O., Johnson, R.L., Young, M.E. & Gamble, K.L. 2015, "Circadian rhythmicity of active GSK3 isoforms modulates molecular clock gene rhythms in the suprachiasmatic nucleus", *Journal of Biological Rhythms*, vol. 30, no. 2, pp. 155-160.
- Blöink, R., Brieger, P., Akiskal, H.S. & Marneros, A. 2005, "Factorial structure and internal consistency of the German TEMPS-A scale: validation against the NEO-FFI questionnaire", *Journal of affective disorders*, vol. 85, no. 1, pp. 77-83.
- Boerner, R.J. 2015, „Temperament: Theorie, Forschung, Klinik“, Springer Berlin Heidelberg.
- Bowden, C.L. 2005, "A different depression: clinical distinctions between bipolar and unipolar depression", *Journal of affective disorders*, vol. 84, no. 2–3, pp. 117-125.
- Caci, H., Robert, P. & Boyer, P. 2004, "Novelty seekers and impulsive subjects are low in morningness", *European psychiatry: the journal of the Association of European Psychiatrists*, vol. 19, no. 2, pp. 79-84.
- Craddock, N. & Sklar, P. 2013, "Genetics of bipolar disorder", *The Lancet*, vol. 381, no. 9878, pp. 1654-1662.
- DGBS e.V. & DGPPN e.V. 2013, „S3-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie Bipolarer Störungen“, Langversion, Springer Berlin Heidelberg.
- Dilling H, F.H. 2010, "Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen", vol. 5, pp. 1-532.
- Dmitrzak-Weglarz, M., Pawlak, J., Wilkosc, M., Miechowicz, I., Maciukiewicz, M., Ciarkowska, W., Zaremba, D. & Hauser, J. 2016, "Chronotype and sleep quality as a subphenotype in association studies of clock genes in mood disorders", *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, vol. 76, no. 1, pp. 32-42.
- Erfurth, A., Gerlach, A.L., Michael, N., Boenigk, I., Hellweg, I., Signoretta, S., Akiskal, K. & Akiskal, H.S. 2005, "Distribution and gender effects of the subscales of a German version of the temperament autoquestionnaire briefTEMPS-M in a university student population", *Journal of affective disorders*, vol. 85, no. 1-2, pp. 71-76.
- Etain, B., Jamain, S., Milhiet, V., Lajnef, M., Boudebese, C., Dumaine, A., Mathieu, F., Gombert, A., Ledudal, K., Gard, S., Kahn, J.P., Henry, C., Boland, A., Zelenika, D., Lechner, D., Lathrop, M., Leboyer, M. & Bellivier, F. 2014, "Association

- between circadian genes, bipolar disorders and chronotypes", *Chronobiology international*, vol. 31, no. 7, pp. 807-814.
- Etain, B., Milhiet, V., Bellivier, F. & Leboyer, M. 2011, "Genetics of circadian rhythms and mood spectrum disorders", *European Neuropsychopharmacology*, vol. 21, Supplement 4, pp. S676-S682.
- Evans, L., Akiskal, H.S., Keck, P.E., Jr, McElroy, S.L., Sadovnick, A.D., Remick, R.A. & Kelsoe, J.R. 2005, "Familiality of temperament in bipolar disorder: support for a genetic spectrum", *Journal of affective disorders*, vol. 85, no. 1-2, pp. 153-168.
- Frye, M.A., Ha, K., Kanba, S., Kato, T., McElroy, S.L., Ozerdem, A., Vazquez, G. & Vieta, E. 2011, "International consensus group on depression prevention in bipolar disorder", *The Journal of clinical psychiatry*, vol. 72, no. 10, pp. 1295-1310.
- Geddes, J.R., Gardiner, A., Rendell, J., Voysey, M., Tunbridge, E., Hinds, C., Yu, L.M., Hainsworth, J., Attenburrow, M.J., Simon, J., Goodwin, G.M., Harrison, P.J. & CEQUEL Investigators and Collaborators 2016, "Comparative evaluation of quetiapine plus lamotrigine combination versus quetiapine monotherapy (and folic acid versus placebo) in bipolar depression (CEQUEL): a 2 x 2 factorial randomised trial", *The Lancet.Psychiatry*, vol. 3, no. 1, pp. 31-39.
- Geddes, J.R. & Miklowitz, D.J. 2013, "Treatment of bipolar disorder", *The Lancet*, vol. 381, no. 9878, pp. 1672-1682.
- Goldsmith, H.H., Buss, A.H., Plomin, R., Rothbart, M.K., Thomas, A., Chess, S., Hinde, R.A. & McCall, R.B. 1987, "Roundtable: what is temperament? Four approaches", *Child development*, vol. 58, no. 2, pp. 505-529.
- Goldstein, B.I., Kemp, D.E., Soczynska, J.K. & McIntyre, R.S. 2009, "Inflammation and the phenomenology, pathophysiology, comorbidity, and treatment of bipolar disorder: a systematic review of the literature", *The Journal of clinical psychiatry*, vol. 70, no. 8, pp. 1078-1090.
- Goodwin, F.K. & Jamison, K.R. 2007, "Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression", 2nd edn, Oxford University Press.
- Grande, I., Berk, M., Birmaher, B. & Vieta, E. 2016, "Bipolar disorder", *Lancet (London, England)*, vol. 387, no. 10027, pp. 1561-1572.
- Greenwood, T.A., Akiskal, H.S., Akiskal, K.K., Bipolar Genome Study & Kelsoe, J.R. 2012, "Genome-Wide Association Study of Temperament in Bipolar Disorder Reveals Significant Associations with Three Novel Loci", *Biological psychiatry*,
- Greenwood, T.A., Badner, J.A., Byerley, W., Keck, P.E., McElroy, S.L., Remick, R.A., Sadovnick, A.D., Akiskal, H.S. & Kelsoe, J.R. 2013, "Heritability and genome-wide SNP linkage analysis of temperament in bipolar disorder", *Journal of affective disorders*, vol. 150, no. 3, pp. 1031-1040.
- Hamp, G., Ripperger, J.A., Houben, T., Schmutz, I., Blex, C., Perreau-Lenz, S., Brunk, I., Spanagel, R., Ahnert-Hilger, G., Meijer, J.H. & Albrecht, U. 2008, "Regulation of monoamine oxidase A by circadian-clock components implies clock influence on mood", *Current biology: CB*, vol. 18, no. 9, pp. 678-683.
- Harada, Y., Sakai, M., Kurabayashi, N., Hirota, T. & Fukada, Y. 2005, "Ser-557-phosphorylated mCRY2 is degraded upon synergistic phosphorylation by glycogen synthase kinase-3 beta", *The Journal of biological chemistry*, vol. 280, no. 36, pp. 31714-31721.
- Hayward, C. 2003, "Gender Differences at Puberty", Cambridge University Press.
- Hesse, H. 1974, „Der Steppenwolf: Erzählung“, Suhrkamp Verlag GmbH.
- Hou, L., Heilbronner, U., Degenhardt, F., Adli, M., Akiyama, K., Akula, N., Arda, R., Arias, B., Backlund, L., Banzato, C.E., Benabarre, A., Bengesser, S., Bhattacharjee, A.K., Biernacka, J.M., Birner, A., Brichant-Petitjean, C., Bui, E.T.,

- Cervantes, P., Chen, G.B., Chen, H.C., Chillotti, C., Cichon, S., Clark, S.R., Colom, F., Cousins, D.A., Cruceanu, C., Czerski, P.M., Dantas, C.R., Dayer, A., Etain, B., Falkai, P., Forstner, A.J., Frisen, L., Fullerton, J.M., Gard, S., Garnham, J.S., Goes, F.S., Grof, P., Gruber, O., Hashimoto, R., Hauser, J., Herms, S., Hoffmann, P., Hofmann, A., Jamain, S., Jimenez, E., Kahn, J.P., Kassem, L., Kittel-Schneider, S., Kliwicki, S., Konig, B., Kusumi, I., Lackner, N., Laje, G., Landen, M., Lavebratt, C., Leboyer, M., Leckband, S.G., Jaramillo, C.A., MacQueen, G., Manchia, M., Martinsson, L., Mattheisen, M., McCarthy, M.J., McElroy, S.L., Mitjans, M., Mondimore, F.M., Monteleone, P., Nievergelt, C.M., Nothen, M.M., Osby, U., Ozaki, N., Perlis, R.H., Pfennig, A., Reich-Erkelenz, D., Rouleau, G.A., Schofield, P.R., Schubert, K.O., Schweizer, B.W., Seemuller, F., Severino, G., Shekhtman, T., Shilling, P.D., Shimoda, K., Simhandl, C., Slaney, C.M., Smoller, J.W., Squassina, A., Stamm, T., Stopkova, P., Tighe, S.K., Tortorella, A., Turecki, G., Volkert, J., Witt, S., Wright, A., Young, L.T., Zandi, P.P., Potash, J.B., DePaulo, J.R., Bauer, M., Reininghaus, E.Z., Novak, T., Aubry, J.M., Maj, M., Baune, B.T., Mitchell, P.B., Vieta, E., Frye, M.A., Rybakowski, J.K., Kuo, P.H., Kato, T., Grigoriu-Serbanescu, M., Reif, A., Del Zompo, M., Bellivier, F., Schalling, M., Wray, N.R., Kelsoe, J.R., Alda, M., Rietschel, M., McMahon, F.J. & Schulze, T.G. 2016, "Genetic variants associated with response to lithium treatment in bipolar disorder: a genome-wide association study", *Lancet (London, England)*, vol. 387, no. 10023, pp. 1085-1093.
- Iitaka, C., Miyazaki, K., Akaike, T. & Ishida, N. 2005, "A role for glycogen synthase kinase-3beta in the mammalian circadian clock", *The Journal of biological chemistry*, vol. 280, no. 33, pp. 29397-29402.
- Jope, R.S. & Roh, M.S. 2006, "Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions", *Current Drug Targets*, vol. 7, no. 11, pp. 1421-1434.
- Kakiuchi, C., Ishiwata, M., Nanko, S., Kunugi, H., Minabe, Y., Nakamura, K., Mori, N., Fujii, K., Umekage, T., Tochigi, M., Kohda, K., Sasaki, T., Yamada, K., Yoshikawa, T. & Kato, T. 2007, "Association analysis of HSP90B1 with bipolar disorder", *Journal of human genetics*, vol. 52, no. 10, pp. 794-803.
- Karam, E.G., Salamoun, M.M., Yeretian, J.S., Mneimneh, Z.N., Karam, A.N., Fayyad, J., Hantouche, E., Akiskal, K. & Akiskal, H.S. 2010a, "The role of anxious and hyperthymic temperaments in mental disorders: a national epidemiologic study", *World Psychiatry*, vol. 9, no. 2, pp. 103-110.
- Karam, E.G., Salamoun, M.M., Yeretian, J.S., Mneimneh, Z.N., Karam, A.N., Fayyad, J., Hantouche, E., Akiskal, K. & Akiskal, H.S. 2010b, "The role of anxious and hyperthymic temperaments in mental disorders: a national epidemiologic study", *World Psychiatry*, vol. 9, no. 2, pp. 103-110.
- Kishi, T., Kitajima, T., Ikeda, M., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Okochi, T., Ozaki, N. & Iwata, N. 2008, "Association analysis of nuclear receptor Rev-erb alpha gene (NR1D1) with mood disorders in the Japanese population", *Neuroscience research*, vol. 62, no. 4, pp. 211-215.
- Klein, D.N., Lewinsohn, P.M. & Seeley, J.R. 1996, "Hypomanic personality traits in a community sample of adolescents", *Journal of affective disorders*, vol. 38, no. 2-3, pp. 135-143.
- Konno, M. 2013, "Circadian rhythm and mood disorder", *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, vol. 71, no. 12, pp. 2171-2178.

- Kripke, D.F., Nievergelt, C.M., Joo, E., Shekhtman, T. & Kelsoe, J.R. 2009, "Circadian polymorphisms associated with affective disorders", *Journal of circadian rhythms*, vol. 7, pp. 2.
- Landgraf, D., McCarthy, M.J. & Welsh, D.K. 2014, "Circadian clock and stress interactions in the molecular biology of psychiatric disorders", *Current psychiatry reports*, vol. 16, no. 10, pp. 483-014-0483-7.
- Lee, K.Y., Song, J.Y., Kim, S.H., Kim, S.C., Joo, E.J., Ahn, Y.M. & Kim, Y.S. 2010, "Association between CLOCK 3111T/C and preferred circadian phase in Korean patients with bipolar disorder", *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, vol. 34, no. 7, pp. 1196-1201.
- Le-Niculescu, H., McFarland, M.J., Ogden, C.A., Balaraman, Y., Patel, S., Tan, J., Rodd, Z.A., Paulus, M., Geyer, M.A., Edenberg, H.J., Glatt, S.J., Faraone, S.V., Nurnberger, J.I., Kuczenski, R., Tsuang, M.T. & Niculescu, A.B. 2008, "Phenomic, convergent functional genomic, and biomarker studies in a stress-reactive genetic animal model of bipolar disorder and co-morbid alcoholism", *American journal of medical genetics.Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, vol. 147B, no. 2, pp. 134-166.
- Le-Niculescu, H., Patel, S.D., Bhat, M., Kuczenski, R., Faraone, S.V., Tsuang, M.T., McMahon, F.J., Schork, N.J., Nurnberger, J.I., Jr & Niculescu, A.B., 3rd 2009, "Convergent functional genomics of genome-wide association data for bipolar disorder: comprehensive identification of candidate genes, pathways and mechanisms", *American journal of medical genetics.Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, vol. 150B, no. 2, pp. 155-181.
- Lytras, M.D. & Papadopoulou, P. 2017, *Applying Big Data Analytics in Bioinformatics and Medicine*, IGI Global.
- Malhi, G.S., Tanious, M. & Berk, M. 2012, "Mania: diagnosis and treatment recommendations", *Current psychiatry reports*, vol. 14, no. 6, pp. 676-686.
- Malhi, G.S. 2016, "Bipolar disorders: key clinical considerations", *The Lancet*, vol. 387, no. 10027, pp. 1492-1494.
- Mansour, H.A., Talkowski, M.E., Wood, J., Chowdari, K.V., McClain, L., Prasad, K., Montrose, D., Fagiolini, A., Friedman, E.S., Allen, M.H., Bowden, C.L., Calabrese, J., El-Mallakh, R.S., Escamilla, M., Faraone, S.V., Fossey, M.D., Gyulai, L., Loftis, J.M., Hauser, P., Ketter, T.A., Marangell, L.B., Miklowitz, D.J., Nierenberg, A.A., Patel, J., Sachs, G.S., Sklar, P., Smoller, J.W., Laird, N., Keshavan, M., Thase, M.E., Axelson, D., Birmaher, B., Lewis, D., Monk, T., Frank, E., Kupfer, D.J., Devlin, B. & Nimgaonkar, V.L. 2009, "Association study of 21 circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia", *Bipolar disorders*, vol. 11, no. 7, pp. 701-710.
- Mansour, H.A., Wood, J., Chowdari, K.V., Tumuluru, D., Bamne, M., Monk, T.H., Hall, M.H., Buysse, D.J. & Nimgaonkar, V.L. 2017, "Associations between period 3 gene polymorphisms and sleep- /chronotype-related variables in patients with late-life insomnia", *Chronobiology international*, vol. 34, no. 5, pp. 624-631.
- Mansour, H.A., Wood, J., Logue, T., Chowdari, K.V., Dayal, M., Kupfer, D.J., Monk, T.H., Devlin, B. & Nimgaonkar, V.L. 2006, "Association study of eight circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder and schizophrenia", *Genes, brain, and behavior*, vol. 5, no. 2, pp. 150-157.
- McCarthy, M.J., Nievergelt, C.M., Shekhtman, T., Kripke, D.F., Welsh, D.K. & Kelsoe, J.R. 2011, "Functional genetic variation in the Rev-Erba pathway and lithium

- response in the treatment of bipolar disorder", *Genes, brain, and behavior*, vol. 10, no. 8, pp. 852-861.
- McCarthy, M.J., Le Roux, M.J., Wei, H., Beesley, S., Kelsoe, J.R. & Welsh, D.K. 2016, "Calcium channel genes associated with bipolar disorder modulate lithium's amplification of circadian rhythms", *Neuropharmacology*, vol. 101, pp. 439-448.
- McClung, C.A. 2007, "Role for the Clock gene in bipolar disorder", *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, vol. 72, pp. 637-644.
- McClung, C.A. 2011, "Circadian rhythms and mood regulation: Insights from pre-clinical models", *European Neuropsychopharmacology*, vol. 21, Supplement 4, pp. S683-S693.
- Miller, S.A., Dykes, D.D. & Polesky, H.F. 1988, "A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells", *Nucleic acids research*, vol. 16, no. 3, pp. 1215.
- Möller, H., Laux, G. & Kapfhammer, H. 2007, *Psychiatrie und Psychotherapie: Band 1: Allgemeine Psychiatrie Band 2: Spezielle Psychiatrie*, Springer-Verlag.
- Müller-Oerlinghausen, B., Berghöfer, A. & Bauer, M. 2002, "Bipolar disorder", *The Lancet*, vol. 359, no. 9302, pp. 241-247.
- Nakagawa, H. & Okumura, N. 2010, "Coordinated regulation of circadian rhythms and homeostasis by the suprachiasmatic nucleus", *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences*, vol. 86, no. 4, pp. 391-409.
- Nievergelt, C.M., Kripke, D.F., Barrett, T.B., Burg, E., Remick, R.A., Sadovnick, A.D., McElroy, S.L., Keck, P.E., Jr, Schork, N.J. & Kelsoe, J.R. 2006, "Suggestive evidence for association of the circadian genes PERIOD3 and ARNTL with bipolar disorder", *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, vol. 141B, no. 3, pp. 234-241.
- Novakova, M., Prasko, J., Latalova, K., Sladek, M. & Sumova, A. 2015, "The circadian system of patients with bipolar disorder differs in episodes of mania and depression", *Bipolar disorders*, vol. 17, no. 3, pp. 303-314.
- Ozomaro, U., Wahlestedt, C. & Nemeroff, C.B. 2013, "Personalized medicine in psychiatry: problems and promises", *BMC medicine*, vol. 11, pp. 132-7015-11-132.
- Park, C.I., An, S.K., Kim, H.W., Koh, M.J., Namkoong, K., Kang, J.I. & Kim, S.J. 2015, "Relationships between chronotypes and affective temperaments in healthy young adults", *Journal of affective disorders*, vol. 175, pp. 256-259.
- Perugi, G., Micheli, C., Akiskal, H.S., Madaro, D., Socci, C., Quilici, C. & Musetti, L. 2000, "Polarity of the first episode, clinical characteristics, and course of manic depressive illness: a systematic retrospective investigation of 320 bipolar I patients", *Comprehensive psychiatry*, vol. 41, no. 1, pp. 13-18.
- Perugi, G., Musetti, L., Simonini, E., Piagentini, F., Cassano, G.B. & Akiskal, H.S. 1990, "Gender-mediated clinical features of depressive illness. The importance of temperamental differences", *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, vol. 157, pp. 835-841.
- Perugi, G., Toni, C., Benedetti, A., Simonetti, B., Simoncini, M., Torti, C., Musetti, L. & Akiskal, H.S. 1998, "Delineating a putative phobic-anxious temperament in 126 panic-agoraphobic patients: toward a rapprochement of European and US views", *Journal of affective disorders*, vol. 47, no. 1-3, pp. 11-23.
- Phillips, M.L. & Kupfer, D.J. 2013, "Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions", *The Lancet*, vol. 381, no. 9878, pp. 1663-1671.
- Placidi, G.F., Signoretta, S., Liguori, A., Gervasi, R., Maremmani, I. & Akiskal, H.S. 1998, "The semi-structured affective temperament interview (TEMPS-I): Reliability

- and psychometric properties in 1010 14–26-year-old students", *Journal of affective disorders*, vol. 47, no. 1–3, pp. 1-10.
- Rothenhäusler HB, K.T. 2007, "Kompendium Praktische Psychiatrie", vol. 1, pp. 1-558.
- Rybakowski, J.K., Dmitrzak-Weglar, M., Kliwicki, S. & Hauser, J. 2014a, "Polymorphism of circadian clock genes and prophylactic lithium response", *Bipolar disorders*, vol. 16, no. 2, pp. 151-158.
- Rybakowski, J.K., Dmitrzak-Weglarz, M., Dembinska-Krajewska, D., Hauser, J., Akiskal, K.K. & Akiskal, H.H. 2014b, "Polymorphism of circadian clock genes and temperamental dimensions of the TEMPS-A in bipolar disorder", *Journal of affective disorders*, vol. 159, pp. 80-84.
- Sahar, S., Zocchi, L., Kinoshita, C., Borrelli, E. & Sassone-Corsi, P. 2010, "Regulation of BMAL1 protein stability and circadian function by GSK3beta-mediated phosphorylation", *PloS one*, vol. 5, no. 1, pp. e8561.
- Sanacora, G., Zarate, C.A., Krystal, J.H. & Manji, H.K. 2008, "Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders", *Nature reviews.Drug discovery*, vol. 7, no. 5, pp. 426-437.
- Savitz, J., van der Merwe, L. & Ramesar, R. 2008, "Personality endophenotypes for bipolar affective disorder: a family-based genetic association analysis", *Genes, brain, and behavior*, vol. 7, no. 8, pp. 869-876.
- Schloesser, R.J., Martinowich, K. & Manji, H.K. 2012, "Mood-stabilizing drugs: mechanisms of action", *Trends in neurosciences*, vol. 35, no. 1, pp. 36-46.
- Schwartz, M.D., Wotus, C., Liu, T., Friesen, W.O., Borjigin, J., Oda, G.A. & de la Iglesia, H.O. 2009, "Dissociation of circadian and light inhibition of melatonin release through forced desynchronization in the rat", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 106, no. 41, pp. 17540-17545.
- Severino, G., Manchia, M., Contu, P., Squassina, A., Lampus, S., Arda, R., Chillotti, C. & Del Zompo, M. 2009, "Association study in a Sardinian sample between bipolar disorder and the nuclear receptor REV-ERBalpha gene, a critical component of the circadian clock system", *Bipolar disorders*, vol. 11, no. 2, pp. 215-220.
- Shi, J., Wittke-Thompson, J.K., Badner, J.A., Hattori, E., Potash, J.B., Willour, V.L., McMahon, F.J., Gershon, E.S. & Liu, C. 2008, "Clock genes may influence bipolar disorder susceptibility and dysfunctional circadian rhythm", *American journal of medical genetics.Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, vol. 147B, no. 7, pp. 1047-1055.
- Smoller, J.W. & Finn, C.T. 2003, "Family, twin, and adoption studies of bipolar disorder", *American journal of medical genetics.Part C, Seminars in medical genetics*, vol. 123C, no. 1, pp. 48-58.
- Soria, V., Martinez-Amoros, E., Escaramis, G., Valero, J., Perez-Egea, R., Garcia, C., Gutierrez-Zotes, A., Puigdemont, D., Bayes, M., Crespo, J.M., Martorell, L., Vilella, E., Labad, A., Vallejo, J., Perez, V., Menchon, J.M., Estivill, X., Gratacos, M. & Urretavizcaya, M. 2010, "Differential association of circadian genes with mood disorders: CRY1 and NPAS2 are associated with unipolar major depression and CLOCK and VIP with bipolar disorder", *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, vol. 35, no. 6, pp. 1279-1289.
- Tsuchimine, S., Yasui-Furukori, N., Kaneda, A. & Kaneko, S. 2013, "The CLOCK C3111T polymorphism is associated with reward dependence in healthy Japanese subjects", *Neuropsychobiology*, vol. 67, no. 1, pp. 1-5.

- Tsutsumi, T., Terao, T., Hatanaka, K., Goto, S., Hoaki, N. & Wang, Y. 2011, "Association between affective temperaments and brain-derived neurotrophic factor, Glycogen synthase kinase 3 β and Wnt signaling pathway gene polymorphisms in healthy subjects", *Journal of affective disorders*, vol. 131, no. 1–3, pp. 353-357.
- Viena, T.D., Gobin, C.M., Fins, A.I., Craddock, T.J.A., Tartar, A. & Tartar, J.L. 2016, "A PER3 Polymorphism Interacts with Sleep Duration to Influence Transient Mood States in Women", *Journal of Circadian Rhythms*, vol. 14, pp. 3.
- Wang, X., Mozhui, K., Li, Z., Mulligan, M.K., Ingels, J.F., Zhou, X., Hori, R.T., Chen, H., Cook, M.N., Williams, R.W. & Lu, L. 2011, "A promoter polymorphism in the Per3 gene is associated with alcohol and stress response", *Translational Psychiatry*, vol. 2, no. 1, pp. e73.
- Wittchen, H. U., Wunderlich, U., Gruschwitz, S., & Zaudig, M. 1997, "Skid-I. Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV; Achse I: psychische Störungen.", vol. Hogrefe.
- Yatham, L.N., Kennedy, S.H., Parikh, S.V., Schaffer, A., Beaulieu, S., Alda, M., O'Donovan, C., Macqueen, G., McIntyre, R.S., Sharma, V., Ravindran, A., Young, L.T., Milev, R., Bond, D.J., Frey, B.N., Goldstein, B.I., Lafer, B., Birmaher, B., Ha, K., Nolen, W.A. & Berk, M. 2013, "Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: update 2013", *Bipolar disorders*, vol. 15, no. 1, pp. 1-44.
- Yildiz-Yesiloglu, A. & Ankerst, D.P. 2006, "Neurochemical alterations of the brain in bipolar disorder and their implications for pathophysiology: A systematic review of the in vivo proton magnetic resonance spectroscopy findings", *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, vol. 30, no. 6, pp. 969-995.
- Yin, L., Wang, J., Klein, P.S. & Lazar, M.A. 2006a, "Nuclear receptor Rev-erb α is a critical lithium-sensitive component of the circadian clock", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 311, no. 5763, pp. 1002-1005.
- Yin, L., Wang, J., Klein, P.S. & Lazar, M.A. 2006b, "Nuclear receptor Rev-erb α is a critical lithium-sensitive component of the circadian clock", *Science (New York, N.Y.)*, vol. 311, no. 5763, pp. 1002-1005.
- Zhang, L., Hirano, A., Hsu, P.K., Jones, C.R., Sakai, N., Okuro, M., McMahon, T., Yamazaki, M., Xu, Y., Saigoh, N., Saigoh, K., Lin, S.T., Kaasik, K., Nishino, S., Ptáček, L.J. & Fu, Y.H. 2016, "A PERIOD3 variant causes a circadian phenotype and is associated with a seasonal mood trait", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 113, no. 11, pp. E1536-44.

6 Anhang

Aussalzmethode (DNA isolation)- Humangenetikinstitut

1 Einleitung

Aus den zellhaltigen Zellen des Blutes wird DNA nach der Aussalzmethode isoliert.

2 Mitgeltende AA bzw. Dokumente und Normen

DNA-Isolierung P – SOP

3 Definitionen / Abkürzungen

DNA ETOH Ethanol HCl Salzsäure KHCO₃ Kaliumhydrogencarbonat NaCl Natriumchlorid Na₂EDTA Dinatrium-ethylendiamin-tetraacetat NaOH Natriumhydroxid NH₄Cl Ammoniumchlorid rpm rounds per minute SDS Sodiumdodecylsulfat SE Sodium EDTA TE Tris EDTA

4 Geräte

Zentrifuge Eppendorf Centrifuge 5810R Rotor: Ausschwingrotor A-4-81, max. Drehzahl 4000 1/min.
Kühlschrank Gefrierschrank Brutschrank Pipetten

5 Chemikalien

Chemikalie	Firma	Lagerung
Ammoniumchlorid p.A.	Roth	Raumtemperatur
Chloroform p.A.	Roth	Raumtemperatur
Dinatrium-ethylendiamin-tetraacetat p.A.	Roth	Raumtemperatur
Ethanol absolut p.A.	J.T.Baker	Raumtemperatur
Isoamylalkohol p.A.	Roth	Raumtemperatur
Kaliumhydrogencarbonat p.A.	Roth	Raumtemperatur

Natriumchlorid p.A.	Merck	Raumtemperatur
Natriumhydroxid p.A.	Roth	Raumtemperatur
Proteinase K	Amresco	-15 bis -25°C
Roti-Phenol®	Roth	Raumtemperatur
Salzsäure rauchend 37% z.A.	Merck	Raumtemperatur
Sodiumdodecylsulfat ultra pure	Roth	Raumtemperatur
Tris p.A.	Roth	Raumtemperatur

5.2 Lösungen

Lysepuffer: (für 2 Liter) 16,58g KHCO_3
0,074g Na_2EDTA autoklavieren
 NH_4Cl

10x SE: (für 1 Liter): 43,83g NaCl 93,06g Na_2EDTA
mit 5M NaOH auf pH= 8,0 einstellen autoklavieren
50ml 10x SE 450ml H_2O autoklavieren

1x SE

10x TE: (für 1 Liter) 12,11g Tris 3,72g Na_2EDTA

1x TE

50ml 10x TE 450ml H_2O autoklavieren
mit 6M HCl auf pH= 8,0 einstellen autoklavieren

20% SDS: (für 1 Liter) sterilfiltrieren

200g Sodium-Dodecyl-Sulfat ultra pure

6M NaCl: (gesättigt, für 1 Liter) 350,64g NaCl autoklavieren 90

Ethanol 70%: 70ml EtOH abs. 30ml H_2O

Ethanol absolut z.A. ProteinaseK: 10mg/ml

1. Tag:

* Blutprobe in ein 50ml Greiner Röhrchen (ohne Stehrand) überführen
* mit 3-5fachem Volumen an Lysepuffer überschichten und schwenken
* für 30 bis max. 60 min. auf Eis stellen bzw. in den Kühlschrank zum Lysieren (Lösung muss klar werden, d.h. die roten Blutkörperchen sind geplatzt)

* zentrifugieren: -- 20 min. -- 1300 rpm

-- bei Raumtemperatur * Überstand verwerfen

* Pellet (Leucocyten) in 20ml Lysepuffer lösen = Waschschrift

* zentrifugieren: -- 20 min. -- 1300 rpm

-- bei Raumtemperatur * Überstand verwerfen

Verdau ansetzen:

* 5ml 1x SE für 10ml an Blut-Ausgangsvolumen (Pellet in 1ml 1xSE resuspendieren und weitere 4ml davon zugeben)

*+ 250 μl 20% SDS * + 25 μl Proteinase K

* Bei 37°C (+/- 2°C) im Brutschrank über Nacht verdauen lassen Dieser Ansatz gilt für 5ml Endvolumen.

3ml Endvolumen 3ml 1x SE + 150 μl 20% SDS

+ 15 µl Proteinase K
2ml Endvolumen 2ml 1x SE + 100 µl 20% SDS
+ 10 µl Proteinase K 91

2. Tag:

* + 1,4ml 6M NaCl-Lösung zum Verdau dazugeben Dieser Ansatz gilt für 5ml Endvolumen.
3ml Endvolumen + 840 µl NaCl-Lösung 2ml Endvolumen + 560 µl NaCl-Lösung
* am Vortexer kurz mischen
* zentrifugieren: -- 30 min. -- 4000 rpm
-- bei Raumtemperatur Inzwischen Pasteurpipetten mittels Bunsenbrenner biegen (steril, unter der Werkbank)
* Überstand in ein steriles 50ml Greiner Röhrchen schütten (die Zelltrümmer bleiben zurück und werden verworfen)
* Mit 3-5fachem Volumen ETOH absolut überschichten (bezogen auf das Volumen des Überstandes, z.B. 5ml Lösung → auf 25ml im Greiner auffüllen)

* DNA fällt als weißes Knäuel aus Die DNA mit Hilfe der steril gebogenen Pasteurpipette herausnehmen und kurz in 70%igen ETOH (70ml ETOH abs. + 30ml H₂O) tauchen = Waschschrift

* DNA auf der Pasteurpipette an der Luft ca. 10min trocknen lassen (DNA wird farblos)

* In ein steriles Cryo-Tube 1x TE vorlegen (je nach Pelletgröße 500-1000µl) und die DNA durch leichtes bewegen der Pasteurpipette darin lösen Die fertig isolierte DNA wird kurzfristig im Kühlschrank und langfristig im Gefrierschrank gelagert.

7 Besondere Hinweise

Um den Kontakt von potentiell-infektiösen Probenmaterial mit der Augenschleimhaut zu verhindern, ist während der DNA-Isolierung das Tragen einer Schutzbrille erforderlich."
EDTA-Vollblut und DNA nicht direktem Sonnenlicht aussetzen Wichtig: Genaue 92

Beschriftung der Proben um Verwechslungen auszuschließen!!!

1. Tag Verdau ansetzen:

200 µl DNA 10 µl 20%iges SDS

4 µl Proteinase K

4 µl 0,5M EDTA 200 µl H₂O

Diesen Verdau in einem 1,5 ml Eppi machen und über Nacht in den Brutschrank bei 37°C stellen.

2. Tag siehe 2. Tag DNA-Isolierung P - SOP