

Diplomarbeit

Genexpression des CLOCK-Gens ARNTL und MAOA in der bipolaren Störung

Eingereicht von

Bernhard Tropper

Zur Erlangung des akademischen Grades

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

An der

Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt an der

Universitätsklinik für Psychiatrie Graz

Unter der Anleitung von

Ass.-Prof. Priv.-Doz Dr. med. univ. Eva Reininghaus

Dr. med. univ. Bengesser Susanne

Graz, 04.07.2017

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 04.07.2017

Bernhard Tropper eh

1 Danksagungen

Wenn man sich intensiv mit der menschlichen Psyche beschäftigt, gibt es immer wieder Momente, in denen man auf seine eigene Geschichte zurück sieht und sich fragt, was einen selbst geprägt hat. Diese Seite soll ein Moment des bewussten Zurücksehens und vor allem des Dankesagens sein.

Mein innigster Dank gilt den beiden Menschen, die es mir beigebracht haben, danke zu sagen. Die mich mit dem versorgt haben, was ich als existentiell betrachte – Liebe, Geborgenheit und Beständigkeit. Aus diesem und vielen anderen Gründen widme ich diese Arbeit meinen Eltern.

Danke!

Mein Dank gebührt auch der Person, die schon seit Jahren mit mir gemeinsam meinen Lebensweg geht, der mich besser kennt als jeder andere Mensch und an meiner Seite steht, meinem Lebensgefährten Daniel.

Danke!

Ein großes Dankeschön auch an meine Freundinnen und Freunde. Danke für das Aushalten des Themas „Medizinstudium“, für das Interesse und vor allem für jede Ablenkung.

Danke!

Nicht zuletzt möchte ich den Menschen danken, die für das Gelingen dieser Arbeit mitverantwortlich gewesen sind. Vielen Dank für die Zeit und vor allem für die Expertise gilt es, den ExpertInnen (Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Eva Reininghaus, Dr.med.univ. Bengesser Susanne, Univ.-Ass. Mag.rer.nat. Dr.scient.med. Robert Fuchs, Nathalie Meier-Allard) zu sagen. Ohne sie hätte diese Arbeit keinen stabilen Boden gefunden.

Danke!

2 Zusammenfassung

Die bipolare Störung (BD für engl.: Bipolar Disorder) ist eine affektive Störung mit weitreichenden Auswirkungen auf das Leben der Betroffenen. Ihre Ätiologie ist nicht ausreichend geklärt, aber es wurden kürzlich Zusammenhänge zwischen Mutationen des *CLOCK*-Gens (Circadian locomotor output cycles Kaput) *ARNTL* (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1) und des Gens *MAOA* (Monoaminoxidase A) und einem erhöhten Risiko für BD bewiesen.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Genexpression des Clock Gens *ARNTL* und des Gens *MAOA* im Blut zwischen Menschen mit BD und gesunden Kontrollen zu vergleichen bzw. Unterschiede in Abhängigkeit von der aktuellen Stimmungslage zu detektieren. Dazu wurde die Genexpression der Gene *ARNTL* und *MAOA* in PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cell; Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes) von 111 gesunden und erkrankten Individuen mittels qPCR (quantitative real-time polymerase chain reaction; Quantitative Echtzeit-Polymerasereaktion) überprüft.

Entgegen unserer Erwartungen konnten unsere Daten keinen signifikanten Unterschied in der Genexpression dieser beiden Gene zwischen gesunden ProbandInnen und PatientInnen mit BD feststellen. Es zeigte sich allerdings bei depressiven PatientInnen eine signifikant höhere Genexpression von *ARNTL* im Vergleich zu PatientInnen in einer euthymen Phase ($p < 0,05$). Ebenso konnten wir eine signifikant höhere Genexpression von *MAOA* bei PatientInnen mit (hypo)manischer Symptomatik im Vergleich zu euthymen PatientInnen ohne aktuelle Symptomatik nachweisen ($p < 0,05$).

Die Messergebnisse geben einen Hinweis darauf, dass die Genexpression von *ARNTL* und *MAOA* bei Individuen mit BD in akut (sub)manischen oder depressiven Episoden erhöht sein könnte. Weitere Studien mit einer höheren Fallzahl und Berücksichtigung von klinischen Kovariaten sollten in diesem Bereich durchgeführt werden, auch Verlaufsuntersuchungen einzelner PatientInnen erscheinen sinnvoll.

3 Abstract

The bipolar disorder (BD) is an affective disorder with profound effects on the life of the concerned. Its aetiology has not been fully clarified. Previous literature discovered an association of the CLOCK gene ARNTL and the MAOA gene with BD.

This study investigates whether this relationship is also detectable for the gene expression of ARNTL and MAOA in blood samples from healthy volunteers and patients with BD. For this purpose, the gene expression of the genes ARNTL and MAOA in PBMCs (peripheral mononuclear blood cells) of 111 individuals was examined using qPCR (quantitative real-time polymerase chain reaction).

Contradicting our expectations, gene expression did not differ between healthy volunteers and patients with BD.

However, the difference between the gene expression of ARNTL ($p < 0.05$) and MAOA ($p < 0.05$) was found to be statistically significant when a subgroup of the patients with BD, who were not euthymic at the time of the blood sampling, was being compared to healthy probands.

These results suggest that the gene expression of ARNTL and MAOA could be used as a marker for follow-up in individuals with BD in acute (sub) manic or depressive episodes. Further studies with an increased number of participants and an advanced consideration of clinical covariants should be taken into account. Furthermore, follow-up trials are being recommended.

4 Inhaltsverzeichnis

1 Danksagungen.....	3
2 Zusammenfassung.....	4
3 Abstract.....	5
4 Inhaltsverzeichnis.....	6
5 Glossar.....	8
6 Abkürzungen.....	9
7 Abbildungsverzeichnis.....	10
8 Tabellenverzeichnis.....	11
9 Einleitung.....	12
9.1 Die Bipolare Störung.....	12
9.1.1 Epidemiologie.....	12
9.1.2 Ätiologie.....	13
9.1.3 Symptome.....	17
9.1.4 Diagnosewerkzeuge.....	22
9.1.5 Diagnosekriterien der bipolaren Störung.....	22
9.1.6 Therapie.....	23
9.2 Genexpression.....	27
9.2.1 Ablauf.....	27
9.2.2 Regulation.....	28
9.3 Circadiane Uhr.....	29
9.3.1 Physiologie.....	30
9.3.2 Molekulare Grundlagen der inneren Uhr.....	31
9.3.3 CLOCK-Gene und BD.....	34
9.4 Hypothese.....	35
10 Material und Methoden.....	36
10.1 Studienteilnehmer.....	36
10.2 Ablauf.....	37

10.2.1 Blutabnahme.....	37
10.2.2 Testbefragung.....	37
10.2.3 Isolierung der RNA.....	38
10.2.4 Durchführung der qPCR (real time quantitative PCR).....	38
10.3 Analyse der Daten.....	39
10.4 Statistik.....	40
11 Ergebnisse – Resultate.....	41
11.1 Vergleich der Genexpression von ARNTL und MAOA zwischen PatientInnen mit BD und gesunden ProbandInnen.....	42
11.2 Vergleich der Genexpression von ARNTL zwischen PatientInnen in einer depressiven oder (hypo)manischen Episode und euthymen ProbandInnen.....	44
11.3 Vergleich der Genexpression von MAOA zwischen PatientInnen in einer depressiven oder (hypo)manischen Episode und euthymen ProbandInnen.....	45
12 Diskussion.....	47
12.1 Beantwortung der Forschungsfrage und Positionierung der Resultate.....	47
12.2 Limitationen.....	48
12.3 Konklusion und Ausblick.....	49
13 Literaturverzeichnis.....	51

5 Glossar

Affekt: Gemütsregung. Eine besondere Qualität des Fühlens.

Ätiologie: Ursache für das Entstehen von Krankheiten.

Depression: Psychische Störung, gekennzeichnet durch gedrückte Stimmung.

Dysphorie: Herabgesetzte Stimmung, gereizte Stimmung.

Episode: Abschnitt eines periodischen Krankheitsverlaufs.

Euphorie: Überschwängliche Gemütsverfassung mit Hochstimmung.

Euthymie: Ausgeglichene, nicht-pathologische Stimmungslage.

Manie: Psychische Störung, gekennzeichnet durch gehobene und/oder gereizte Stimmung.

Prävalenz: Krankheitshäufigkeit. Welcher Anteil einer Population zu einem gewissen Zeitpunkt an einer Krankheit erkrankt ist.

Prophylaxe: Vorbeugende Maßnahmen um eine Erkrankung zu verhindern.

Remission: Dauerhaftes oder temporäres Nachlassen von Krankheitssymptomen.

Tremor: Unwillkürliches, rhythmisch wiederholendes Zusammenziehen einander entgegenwirkenden Muskelgruppen.

6 Abkürzungen

ARNTL: Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1

BD: Bipolare Störung (engl.: Bipolar Disorder)

CLOCK: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput

DNS: Desoxyribonukleinsäure

DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

GABA: γ -Aminobuttersäure (engl.: gamma-Aminobutyric acid)

HAMD: Hamilton rating scale for depression

HPA-Achse: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse

ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems

IPSRT: Interpersonal and Social Rhythm Therapy

PBMC: mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (engl.: Peripheral Blood Mononuclear Cell)

RNS: Ribonukleinsäure

SKID-1: Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV

YMRS: Young Mania Rating Scale

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: HPA-Achse.....	15
Abbildung 2: Depression, Euthymie und Hypomanie auf einer Stimmungssachse.	18
Abbildung 3: Darstellung der Genexpression von DNS zum fertigen Molekül.....	28
Abbildung 4: Physiologie des circadianen Rhythmus	31
Abbildung 5: Schematische Darstellung der CLOCK-Rückkopplungsschleife.....	32
Abbildung 6: Vergleich der dCQ-Werte der Genexpression von MAOA zwischen Test- und Kontrollgruppe.....	42
Abbildung 7: Kein Unterschied der dCQ-Werte der Genexpression von ARNTL zwischen Test- und Kontrollgruppe.....	43
Abbildung 8: Vergleich der dCQ-Werte für ARNTL bei ProbandInnen in manischen und depressiven Phasen im Vergleich zu euthymen ProbandInnen.....	45
Abbildung 9: Vergleich der dCQ-Werte für MAOA bei ProbandInnen in manischen und depressiven Phasen im Vergleich zu euthymen ProbandInnen.....	46

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Symptome der Depression, Hypomanie und Manie im Vergleich.....	21
Tabelle 2: Befüllung der Wells für die qPCR.....	39
Tabelle 3: Cycle Conditions.....	39
Tabelle 4: Kohortenbeschreibung der Test- und Kontrollgruppe im Vergleich.....	41

9 Einleitung

9.1 Die Bipolare Störung

Die bipolare Störung (BD) ist eine psychische Erkrankung und zählt zu den affektiven Störungen. Bei der BD schwingen Antrieb, Stimmung und Aktivität zwischen zwei Extremen, der Depression und der Manie.¹

In der Manie steht vor allem die Euphorie und/oder Dysphorie im Vordergrund, gekennzeichnet durch eine unangemessen gehobene oder gereizte Stimmung. Eine Depression auf der anderen Seite ist definiert durch eine herabgesetzte Stimmung, welche häufig durch reduzierten Antrieb, Freud- und Interessenlosigkeit, sowie reduziertem Selbstwert begleitet wird.²

Die Ätiologie der BD ist nicht ausreichend geklärt. Es gibt Hinweise auf eine genetische Komponente, insgesamt wird aber eine multifaktorielle Ätiologie vermutet. Eine Diagnosefindung der BD gestaltet sich oft langwierig, da besonders die Diagnose einer manischen Episode einen längeren Beobachtungszeitraum benötigt. Behandelt wird sie auf Basis einer psychopharmakologischen Therapie mit stimmungsstabilisierenden Medikamenten. Jedoch ist eine multimodale Therapie am erfolgversprechendsten.²

9.1.1 Epidemiologie

Die Lebensprävalenz der BD aus Metaanalysen liegt bei 1,2%.³ Das bedeutet, dass in Österreich rund 100.000 Personen mit dieser Erkrankung leben. Die Angaben zur Prävalenz der BD unterscheiden sich deutlich in verschiedenen Studien. Bei liberaleren Kriterien erreicht diese Prävalenz jedoch bis zu 10,9% für BD II und für alle Erkrankungen des bipolaren Spektrums gesamt 23,7%.⁴ Frauen leiden häufiger am Subtyp BD II als Männer, insgesamt sind aber Männer und Frauen gleich häufig von BD betroffen.³

Es gibt Prävalenzunterschiede nach Alter. Die Erstdiagnose der BD wird in der Regel im Alter von 17 bis 21 Jahren gestellt. Oft sind diskrete Symptome schon vorher zu finden.²

Die Diagnose der BD gestaltet sich oft als schwierig, da die Abgrenzung zu einer unipolaren Depression nicht einfach ist. Besonders hypomanische Episoden werden häufig bagatellisiert und somit nur durch gut ausgebildetes Personal erkannt.

Auf gängige Diagnosekriterien wird in Kapitel 9.1.5 auf Seite 21 näher eingegangen.

9.1.2 Ätiologie

Die Ätiologie der BD ist bisher nicht ausreichend geklärt. Neue methodische Ansätze, speziell in der molekularen Genetik, ermöglichen einen besseren Einblick in die Entstehung der BD.⁵

In den letzten Jahrzehnten wurden deutliche Hinweise auf eine genetische Prädisposition der BD gefunden. Diese können aber die Entstehung der BD nicht vollständig klären. Eine multifaktorielle Genese mit einem Zusammenspiel aus psychischen und biologischen, mitunter genetischen, neuroendokrinen und neuropathologischen Faktoren wird angenommen.⁶

9.1.2.1 Biologische Faktoren

Die BD ist eine psychiatrische Erkrankung, welche sich unter anderem auf biologische Ursachen zurückführen lässt. In dieser Arbeit werden diese biologischen Einflussgrößen in die Bereiche genetische Studien und neuroendokrine Faktoren unterteilt.

9.1.2.1.1 Genetische Faktoren

Erste Hinweise auf eine Heritabilität der BD ergaben sich aus Familien- und Zwillingsstudien. Bei Erkrankung eines Familienmitgliedes ist das statistische Risiko von Familienangehörigen ersten Grades, ebenfalls an BD zu erkranken, massiv erhöht.⁷

Ist ein Elternteil erkrankt, beträgt das Risiko für dessen Kinder eine BD zu entwickeln 25%. Sind beide Elternteile betroffen, erhöht sich dieses Risiko auf 50%.⁸ Erkrankt ein eineiiger Zwilling an BD, beträgt das Risiko für den anderen 80%, ebenfalls dieses Krankheitsbild zu entwickeln.⁹

Auch andere psychiatrische Erkrankungen häufen sich in Familien mit Angehörigen mit BD. Bei erstgradiger Verwandtschaft zu einer Person mit BD beträgt die Lebenszeitprävalenz für eine unipolare Depression 8-20% und ist somit deutlich gegenüber dem Risiko der Gesamtbevölkerung erhöht.⁹

Genom-weite und hypothesengeleitete Gen-Assoziationsstudien konnten einige Gene ausfindig machen, die als BD Risikogene in Betracht gezogen werden.¹⁰

Zu den Ergebnissen zählen Single-Nucleotide-Polymorphismen (SNPs) der *CLOCK*-Gene wie beispielsweise *ARNTL*¹¹ (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1). *ARNTL* wurde in dieser Arbeit näher untersucht und wird in den folgenden Kapiteln genauer erläutert.

Diese Ergebnisse legen einen Einfluss der genetischen Disposition auf die Entstehung der BD nahe. Wichtig ist insbesondere der polygene Erbgang. Eineiige Zwillinge haben eine idente genetische Information, jedoch kommt es nicht mit hundertprozentiger Sicherheit zum Ausbruch der Krankheit bei beiden Zwillingen wenn einer von ihnen an BD leidet. Umwelteinflüsse müssen daher zusätzlich eine Rolle bei der Entstehung der BD spielen.

9.1.2.1.2 Neuroendokrine Faktoren

Neben einigen anderen psychiatrischen Erkrankungen hat die HPA-Achse auch einen großen Einfluss auf die BD wie in einem Review von McQuade et al. gezeigt wird.¹²

Das neuroendokrine System des Menschen wird von drei großen Drüsen bestimmt: Hypothalamus, Hypophyse und Nebennierenrinde. Zusammenwirkend werden sie als Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) bezeichnet und stellen eine komplexe Reihe von Rückkopplungs-Schleifen dar, welche die Hormone des neuroendokrinen Systems regulieren. Die HPA-Achse kontrolliert die körperliche Reaktion auf psychischen Stress. Zudem regelt

sie noch weitere Prozesse im Körper wie Sexualität, Verdauung, Stimmung und auch Emotionen, welche auch eine circadiane Periodik aufweisen.¹³

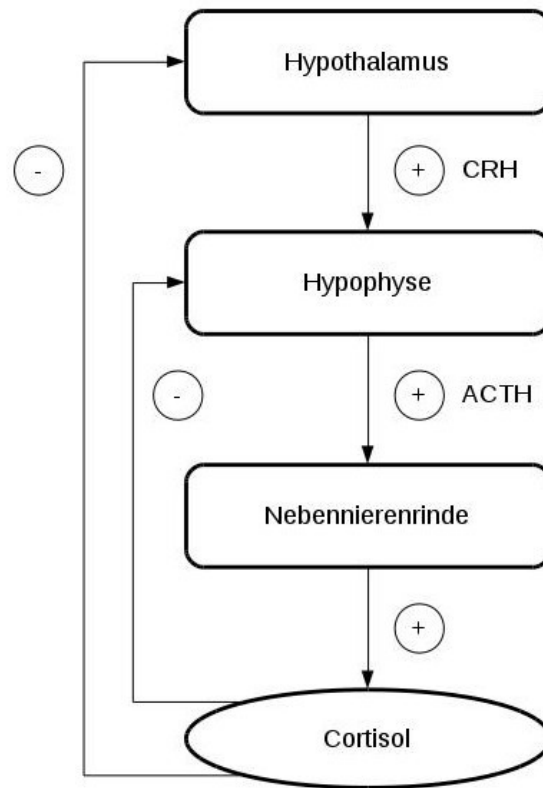


Abbildung 1: HPA-Achse

In der HPA-Achse produziert der Hypothalamus Corticotropes Releasing Hormon (CRH). CRH wirkt auf die Hypophyse, die ihrerseits Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) freisetzt. ACTH wirkt außerhalb des Gehirns und sorgt für die Freisetzung von Cortisol in der Nebennierenrinde. Cortisol stellt das Endprodukt der HPA-Achse dar und hemmt die Ausschüttung von CRH und ACTH.

Veränderungen der HPA-Achse werden häufig im Zusammenhang mit psychiatrischen Erkrankungen beobachtet. So werden bei Menschen mit Depressionen höhere Cortisol-Werte im Blut gemessen und sie reagieren sensibler auf einen Anstieg von ACTH. Postmortem zeigt sich zudem bei PatientInnen mit BD eine verminderte Genexpression von Glucocorticoid-Rezeptoren im Hippocampus. Es gibt Hinweise, dass Antidepressiva und Phasenprophylaktika die Genexpression dieser Gene anhebt und so zu einer Normalisierung des Cortisol-Spiegels führen.¹⁴

Neben der negativen Rückkopplung von Cortisol gibt es einige weitere Feedback-Mechanismen, welche die HPA-Achse regulieren. So haben Amygdala, Hippocampus und weitere Hirnregionen Einfluss auf die Aktivität des Hypothalamus mithilfe von neuroendokrinen Hormonen. Einige dieser Hormone werden im Gehirn mithilfe der Monoaminoxidase A (MAOA) abgebaut. Dabei handelt es sich unter anderem um Serotonin, Melatonin, Noradrenalin, Adrenalin, Dopamin, Tyramin und Tryptophan.¹⁵ Medikamente, welche die Funktion von MAOA hemmen, werden MAO-Hemmer genannt und sind potente Antidepressiva.¹⁶ Punktmutationen in MAOA haben Einfluss auf diese Hormone und somit auch auf die HPA-Achse, da durch veränderte MAOA-Enzyme neuroendokrine Hormone unterschiedlich verstoffwechselt werden.¹⁷

9.1.2.2 Psychische Faktoren

Wie bereits in vorigen Kapiteln erwähnt, ist die BD eine psychiatrische Erkrankung die vergleichsweise stark auf biologische Faktoren, insbesondere die Genetik zurückzuführen ist. Jedoch können diese die Ätiologie der Erkrankung nicht vollständig klären. Zwei Theorien werden hier diskutiert: Soziale-Zeitgeber-Theorie und das Vulnerabilitäts-Stress-Modell.

So erhöhen Ereignisse, die den sozialen Rhythmus eines/r PatientIn mit BD von seiner gewohnten Bahn abbringen, ein signifikant erhöhtes Risiko, in einen nicht-euthymen Zustand zu fallen.¹⁸ Dieses Ergebnis stützt die Soziale-Zeitgeber-Theorie, nach der eine Störung des Tagesrhythmus das Auftreten von psychiatrischen Erkrankungen begünstigen kann. Auf die Soziale-Zeitgeber-Theorie wird in Kapitel 9.1.6.2.2 auf Seite 26 genauer eingegangen.

Ein weiteres Modell zur Erklärung dieses Phänomens liefert das Vulnerabilitäts-Stress-Modell. Dieses Paradigma der klinischen Psychologie geht davon aus, dass jeder Mensch eine individuelle Disposition für psychiatrische Erkrankungen, insbesondere Psychosen, besitzt. Diese können biologischer bzw. genetischer Natur sein oder lerngeschichtlich. Als Stressoren bezeichnet man belastende Umwelteinflüsse, die auf den/die Betroffenen einwirken. Je nach individueller Schwelle sind unterschiedlich starke Stressoren notwendig, um eine psychiatrische Erkrankung zum Ausbruch zu bringen. Individuelle Schutzfaktoren,

wie etwa ein stabiles soziales Netz, können diese Schwelle beeinflussen.¹⁶

9.1.3 Symptome

Die Symptome der BD unterscheiden sich stark davon, in welcher Episode der Erkrankung sich der Patient zum Zeitpunkt der Untersuchung befindet. Die Euthymie ist gekennzeichnet durch das Fehlen von affektiven Symptomen und repräsentiert eine Stimmungslage, welche charakteristisch für das Individuum ist. Daneben gibt es die beiden im extremen Gegensatz zueinander stehenden Zustände der Depression und der Manie bzw. Hypomanie.¹⁹

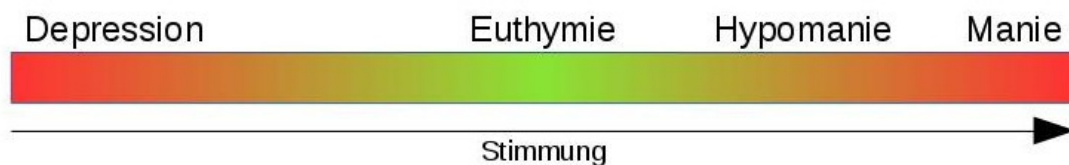


Abbildung 2: Depression, Euthymie und (Hypo)manie auf einer Stimmungsschale. Depression ist am unteren Ende der Stimmungsschale angesiedelt und zeichnet sich durch eine gedrückte Stimmung aus. Manie ist dazu gegensätzlich eine unangemessen gesteigerte und/oder gereizte Stimmung. Mildere Formen der Manie werden als Hypomanie bezeichnet. Die Euthymie ist gekennzeichnet durch das Fehlen von pathologischen affektiven Symptomen und repräsentiert eine unauffällige Stimmungslage, welche charakteristisch für das Individuum ist und ist in der Mitte zwischen Depression und Manie auf der Stimmungsskala angesiedelt.

9.1.3.1 Manie und Hypomanie

Manie ist der Zustand einer entweder unangemessen gehobenen Stimmung, der Euphorie, oder einer unangemessen gereizten Stimmung, der Dysphorie. PatientInnen in manischen Episoden sind nicht mehr im Stande, einer geregelten Arbeit nachzugehen und neigen in einigen Fällen zu selbst- oder fremd-gefährdendem Verhalten. Oftmals ist eine vorübergehende Unterbringung in einer spezialisierten psychiatrischen Einrichtung notwendig.¹

Hypomanische Episoden sind ebenfalls durch eine gehobene Stimmung gekennzeichnet, aber in einem deutlich weniger schwerem Ausmaß.

In den folgenden Unterkapiteln werden die Symptome in der Reihenfolge einer ambulanten Untersuchung behandelt.³

9.1.3.1.1 Verhalten

Enthemmtes Verhalten ist ein typisches Charakteristikum der Manie. Meist wird die manische Symptomatik von nahen Angehörigen und engen Freunden zuerst erkannt.

Im Gespräch verhalten sich PatientInnen oft übermäßig vertrauensselig oder provokant, durch einen gesteigerten Antrieb vermögen die PatientInnen oft nicht während der Dauer eines Gesprächs sitzen zu bleiben und bewegen sich oft im Raum umher.²

9.1.3.1.2 Sprache

Die Sprachmenge und Sprechgeschwindigkeit ist erhöht als Zeichen der rasenden Geschwindigkeit der eintreffenden Gedanken. Dies wird als Logorrhoe bezeichnet. Bei einer ausgeprägten Logorrhoe spricht der/die Betroffene so viel und so schnell, dass das Gegenüber nicht mehr zu Wort kommt.

Bei schwerwiegenden Ausprägungen der Störungen des Denkverhaltens kommt es zudem zur Ideenflucht. Die angesprochenen Themen der PatientInnen sind in sich schlüssig, das Ziel des Gesprächs ist in der Regel für den Gegenüber aufgrund von Themensprüngen aber nicht erkennbar. PatientInnen kommen umgangssprachlich gesagt vom „Hundertsten ins Tausende“.

9.1.3.1.3 Stimmung

Für gewöhnlich ist die Stimmung in der Manie deutlich gehoben. Häufig ist die Stimmung jedoch auch gereizt statt euphorisch.

Euphorie wirkt oft ansteckend und ist in einigen Fällen von Größenwahn begleitet. Eine erhöhte Reizbarkeit zeigt sich hingegen oft in verbalen oder verhaltensmäßigen Ausbrüchen oder in extremen Fällen Gewalt.^{2,20}

9.1.3.1.4 Vegetative Symptome

Der Nahrungsbedarf der PatientInnen ist in manischen Episoden oft erhöht, häufig ist aber die Nahrungszufuhr in dieser Zeit auch vermindert. PatientInnen verlieren oft während manischen Episoden an Gewicht, da sie aufgrund der vermehrten Aktivität einen erhöhten Kalorienbedarf haben, diesen aber oft nicht ausreichend mit Nahrung decken.

Das Schlafbedürfnis ist ebenfalls meist vermindert, PatientInnen schlafen während dieser Zeit häufig nur maximal 2-3 Stunden pro Nacht. Die Libido ist zudem bei vielen PatientInnen erhöht und PatientInnen suchen häufig Geschlechtspartner, unabhängig von eventuell sozialen oder gesundheitlichen Konsequenzen.^{3,19,21}

9.1.3.1.5 Psychotische Symptome

PatientInnen zeigen gelegentlich im Rahmen von Manien einen Wahn. Dabei handelt es sich oft um religiöse Wahnideen, wie beispielsweise ein Gesandter Gottes zu sein²², oder Größenwahn. Akustische oder optische Halluzinationen hingegen sind keine klassischen Symptome der bipolaren Erkrankung.

9.1.3.2 Depression

Bei depressiven Verstimmungen bzw. depressiven Episoden ist die Befindlichkeit der PatientInnen negativ getönt. Sie berichten von einer niedergedrückten oder niedergeschlagenen Stimmung, meist in Kombination mit einem verminderten Antrieb.

Die Intensität der genannten Modalitäten von depressiven Episoden schwankt oft in einem circadianen Rhythmus. Meist fühlen sich PatientInnen beispielsweise morgens niedergeschlagener als in den Abendstunden.^{3,23}

9.1.3.2.1 Verhalten

Das Spektrum der angezeigten Gefühle des PatientInnen ist vermindert. PatientInnen wirken teilnahmslos und unbeteiligt. PatientInnen berichten oft von einer Gefühlsleere, Freude wie auch Trauer können nicht wahrgenommen werden.¹⁹

9.1.3.2.2 Sprache

Der Sprachfluss von PatientInnen in depressiven Episoden ist oft herabgesetzt. Es kommt häufiger zu längeren Pausen, die Artikulation ist bei vielen PatientInnen vermindert und die Lautstärke gesenkt.²⁴

9.1.3.2.3 Stimmung

Die Stimmung der PatientInnen ist meist gedrückt und melancholisch. Sie fühlen sich anderen gegenüber unterlegen. Die eigene Arbeit und Leistung, sowie die eigene Person wird als minderwertig empfunden. Das Vertrauen in die eigene Leistungsfähigkeit ist oft vermindert.

PatientInnen fühlen sich verantwortlich für begangene Taten, Verhalten oder Gedanken und Wünsche, die ihrer Meinung nach von anderen Personen, einer religiösen Instanz oder sich selbst verwerflich sind.¹⁹

9.1.3.2.4 Vegetative Symptome

PatientInnen sind oft von objektiv nicht nachvollziehbaren ängstlichen Gefühlen geplagt. Ängste können in Angstanfällen auftreten und sind oft von vegetativen Symptomen (Schweiß, Zittern) begleitet.¹⁹

9.1.3.2.5 Psychotische Symptome

Psychotische Symptome sind seltene Erscheinungsformen von schweren Depressionen. In einzelnen Fällen können PatientInnen fürchten, nicht die notwendigen finanziellen und materiellen Mittel zur Bewältigung des Alltages zur Verfügung zu haben. Dies kann in einen Verwahrungswahn übergehen. Auch entwickeln PatientInnen gelegentlich einen nihilistischen Wahn, bei dem die Betroffenen davon überzeugt sind, nicht zu existieren bzw. tot zu sein.¹⁹

	Depression	Hypomanie	Manie
Verhalten	Gezeigtes Gefühlsspektrum vermindert	Erhöhte Geselligkeit und Enthemmung	Hyperaktivität und Erregbarkeit Soziale Enthemmung
Sprache	Sprachfluss herabgesetzt	Redselig	Ideenflucht
Stimmung	Gedrückt, Melancholisch	Leichte Euphorie oder Erregbarkeit	Euphorisch oder Erregbarkeit Übermäßiger Optimismus Kein Tagesrhythmus
Vegetative Symptome	Häufig Ansgtsymptome (Schweiß, Zittern)	Erhöhter oder verminderter Appetit Verringertes Schlafbedürfnis Erhöhte Libido	Erhöhter oder verminderter Appetit Verringertes Schlafbedürfnis Erhöhte Libido
Psychotische Syndrome	Verarmungswahn	Nicht vorhanden	Größenwahn

Tabelle 1: Symptome der Depression, Hypomanie und Manie im Vergleich

9.1.4 Diagnosewerkzeuge

Die Diagnose der BD wird durch ein ausführliches Anamnesege­spräch entsprechend der Diagnosekriterien des ICD-10 gestellt. Fremdanamnesen können hierbei unterstützen.

Gebräuchliche Werkzeuge sind die Young Mania Rating Scale (YMRS) zur Beurteilung von manischen Zuständen und die Hamilton Skala (HAMD) zur Beurteilung von depressiven Zuständen.²⁵

Beide werden im Kapitel 10.2.2 auf Seite 36 genauer behandelt.

9.1.5 Diagnosekriterien der bipolaren Störung

Je nach Dauer und Ausprägung der einzelnen Phasen unterscheidet die DSM-5 Klassifikation zwischen verschiedenen Subtypen der BD. Die wichtigsten werden hier aufgelistet.

9.1.5.1 Bipolar I

Die BD vom Typ I ist charakterisiert durch das Auftreten mindestens einer manischen und mindestens einer depressiven Episode im Laufe des Lebens. Hierbei ist das Zeitkriterium für die Diagnose einer Manie anhaltende Symptome

über zumindest eine Woche, jenes für eine depressive Episode 2 Wochen.²⁶

9.1.5.2 Bipolar II

Die DSM-5 Klassifikation bezeichnet Bipolar II als eine Form der BD, bei der mindestens eine depressive Phase mit einer Dauer von mindestens zwei Wochen auftritt. Weiter setzt die Diagnose das Auftreten einer hypomanischen Episode mit einer Mindestdauer von vier Tagen voraus. Es darf jedoch nicht zum Auftreten einer manischen Episode in seiner vollen Ausprägung kommen, da dies für eine BD vom Typ I spricht.²⁶

Diese Art der BD wird häufig als eine unipolare Depression missinterpretiert, da die Hypomanie oft nicht als solche wahrgenommen wird.

In der ICD-10-Klassifikation wird eine BD vom Typ II unter F31.8: „Sonstige bipolare affektive Störungen“ kodiert.

9.1.5.3 Rapid Cycling

Unter Rapid Cycling versteht der DSM-5 eine Form der BD mit einer schnellen Folge von manischen und depressiven Phasen. Mindestens 4 Phasen pro Jahr müssen vorliegen, um die Kriterien eines Rapid Cyclings zu erfüllen.²⁷

In der ICD-10-Klassifikation wird Rapid Cycling, analog zu einer BD vom Typ II, ebenfalls unter F31.8: „Sonstige bipolare affektive Störungen“ kodiert.

9.1.5.4 Zylothymia

Zylothymia ist eine pathologische Erscheinung, bei der es über den Zeitraum von mindestens zwei Jahren wechselnd zu hypomanischen Episoden und zu Episoden mit depressiver Symptomatik, die aber nicht als Vollbild einer depressiven Episode zu deuten sind, auftreten. Die Wahrscheinlichkeit, dass PatientInnen mit Zylothymia eine BD entwickeln, liegt bei 15%-50%.²⁶

9.1.6 Therapie

Die Therapiebedürftigkeit einer BD wird oft als erstes von nahestehenden Angehörigen und engen Familienmitgliedern erkannt. Aufgrund von selbst- oder fremd-gefährdenden Verhaltens kann eine Unterbringung in eine geschlossene

Anstalt vorübergehend notwendig sein.³

Den Grundpfeiler der Therapie einer BD bildet die medikamentöse Versorgung. Unterstützend werden auch verschiedene konservative Therapien angewendet.²

9.1.6.1 Medikamentöse Therapie

Medikamente stellen den Hauptpfeiler der Therapie einer BD dar. Sie wird unterteilt in eine Akutbehandlung von manischen und depressiven, sowie Mischzuständen auf der einen, und Phasenprophylaxe mit Stimmungsstabilisatoren auf der anderen Seite.¹⁹

9.1.6.1.1 Phasenprophylaktika

Phasenprophylaktika sind Medikamente, die in der Lage sind sowohl den Zustand einer Manie als auch den Zustand einer Depression zu verbessern, ohne jedoch das Auftreten des jeweiligen Gegenstücks zu provozieren. Sie werden zur Prophylaxe von manischen und depressiven Episoden verwendet und um die Auslenkung der Stimmung positiv beeinflussen.¹⁹

Lithium

Lithium ist seit den 1950er Jahren das Standardmedikament zur Behandlung von manischen Zuständen und der Prophylaxe bei BD. Laut den deutschen S3-Richtleitlinien ist es das beste stimmungsstabilisierende Medikament mit einem Evidenzgrad A.²⁸ Wenn Lithium als Monotherapie nicht ausreicht, ist eine Kombinationstherapie mit Phasenprophylaktika anderer Klassen möglich.²

Lithium erweist sich bei korrektem Ansprechen als sehr potent, jedoch gibt es PatientInnen bei denen Lithium keinen Effekt zeigt.²⁹ Zudem ist die therapeutische Breite von Lithium gering und regelmäßige Blutkontrollen der Konzentration von Lithium müssen durchgeführt werden um Nebenwirkungen zu vermeiden.

Der genaue Wirkmechanismus von Lithium ist nicht vollständig geklärt, es wurde aber gezeigt, dass die Einnahme von Lithium direkt inhibierend auf die Aktivität der Glykogen Synthase Kinase 3 beta (GSK3 β) wirkt und auf diese Art zumindest einen Teil seiner Wirkung entfaltet.³⁰ Änderungen an GSK3 β wirken sich in molekularer Ebene auf den circadianen Rhythmus aus. Näheres dazu wird in

Kapitel 9.3.3.5 auf Seite 34 erläutert.

Nebenwirkungen von Lithium können sein:³¹

Schilddrüsenfunktionsstörung: Die Einnahme von Lithium kann in seltenen Fällen zu Hypothyreodismus führen. Diese äußert sich laborchemisch durch ein gesteigertes Thyreoidea-stimulierendes Hormon (TSH), sowie klinisch durch Symptome der Hypothyreose, wie etwa Gewichtszunahme und Lethargie. In seltenen Fällen wurden Fälle einer Schilddrüsenüberfunktion durch die Einnahme von Lithium berichtet.

Nierenfunktionsstörung: Bis zu ein Drittel aller PatientInnen unter Lithium-Therapie weisen eine Polyurie auf. Diese ist meist reversibel durch eine Dosisreduktion.

Beeinträchtigungen des zentralen Nervensystems: Ein Viertel aller PatientInnen berichten einen feinschlägigen Tremor bedingt durch die Einnahme von Lithium, welcher durch eine Dosisreduktion reversibel ist.

Hauterscheinungen: Das Auftreten von Akne und Psoriasis nach Einnahme von Lithium wurde berichtet. Auch Haarausfall wurde bei PatientInnen beschrieben.

Gewichtszunahme: Appetitsteigerung und damit assoziierte Gewichtszunahme ist eine häufige Nebenwirkung von Lithium und ist ein wichtiger Faktor für die Non-Compliance der Einnahme bei PatientInnen.

Der therapeutische Effekt von Lithium tritt in der Regel bis zu drei Wochen nach erstmaliger Einnahme ein, ein Wirkungseintritt kann sich jedoch auch bis zu drei Monate verzögern. Nierenfunktionsstörungen verursachen durch eine verringerte Ausscheidung den Bedarf einer geringeren Einnahmemenge von Lithium. Der Lithiumspiegel sollte deshalb regelmäßig kontrolliert und entsprechend angepasst werden.

Valproat

Valproate sind Salze der Valproinsäure und zählen zu den Antikonvulsiva. Es blockiert Natrium- und Calcium-Kanäle, zudem hat es eine hemmende Wirkung auf den Abbau von γ -Aminobuttersäure (GABA).³²

Das Hauptanwendungsgebiet von Valproat ist die Prophylaxe von epileptischen Zuständen. Es wird jedoch auch als Phasenprophylaktikum bei der BD eingesetzt, in Kombination mit Lithium oder auch als Einzelmedikation.

Valproat, insbesondere in Kombination mit Lithium, zeigt sich in Studien als besonders wirksam bei PatientInnen mit Rapid-Cycling.³²

Valproat wird für gewöhnlich gut vertragen. Zu den Nebenwirkungen zählen aber Übelkeit, Tremor, Ataxie, Gewichtszunahme, Haarverlust. Zudem besteht das Risiko einer Leberschädigung bei der Einnahme von Valproat. Die Leberwerte sollten daher regelmäßig überprüft werden.³

9.1.6.1.2 Antipsychotika

Typische (uA. Haloperidol) und atypische Antipsychotika (uA. Quetiapin, Olanzapin, Aripiprazol, Ziprasidon etc.) können bei manischen Episoden von PatientInnen mit BD zur Anwendung gebracht werden. Aufgrund der extrapyramidalen Nebenwirkungen ist von einer Dauertherapie mittels typischer Antipsychotika jedoch abzuraten.^{3,33}

9.1.6.1.3 Antidepressiva

Antidepressiva (uA. Sertralin, Escitalopram, Citalopram etc.) werden verwendet, um die Symptome von depressiven Episoden zu lindern. Die Dosierung muss vorsichtig erfolgen um keine manischen Episoden zu provozieren, insbesondere bei trizyklischen und dualen Antidepressiva ist dieses Risiko erhöht. Die Verabreichung von Antidepressiva sollte deshalb im Rahmen der BD nur in Kombination mit Phasenprophylaktika erfolgen.^{34,35}

9.1.6.1.4 Benzodiazepine

Benzodiazepine sind oft notwendig zur Akutbehandlung von PatientInnen mit BD, insbesondere bei manischen Phasen. Der Gebrauch von Benzodiazepinen sollte so kurz und so niedrig dosiert wie möglich erfolgen, um eine potentielle Abhängigkeit zu vermeiden.^{36,37}

9.1.6.2 Psychotherapie

Obwohl die pharmakologische Therapie den Hauptbestandteil der Therapie der BD darstellt, gab es in den letzten Jahrzehnten vermehrte Hinweise auf die Wirksamkeit von verhaltenstherapeutischen Ansätzen um Symptome der BD zu mindern und die psychosoziale Funktionstüchtigkeit wieder herzustellen und zu bewahren.²

9.1.6.2.1 Psychoedukation

Psychoedukation ist eine psychotherapeutische Methode der supportiven Therapie bei BD. Den PatientInnen wird dabei die Ursache und Verlauf der eigenen Erkrankung erläutert, sowie Möglichkeiten deren Therapie.³⁸

Psychoedukation in Gruppen konnte in Studien die Anzahl des Auftretens von nicht-euthymen Phasen verringern, sowie die Dauer der Remission bis zu diesen verlängern.³⁹

9.1.6.2.2 Interpersonal and social rhythm therapy (IPSRT)

Die Interpersonal and social rhythm therapy (IPSRT) stützt sich auf die Soziale-Zeitgeber-Theorie. Nach dieser Theorie können Ereignisse, welche immens den Tagesablauf von PatientInnen stören, zu Rezidiven von manischen oder depressiven Episoden führen.

Studien konnten zeigen, dass PatientInnen unter einer Behandlung durch IPSRT eine längere Dauer bis zu Rezidiven von manischen oder depressiven Episoden aufweisen.⁴⁰

9.1.6.2.3 Achtsamkeitsbasierte Kognitive Therapie

Die achtsamkeitsbasierte kognitive Therapie (engl. Mindfulness Based Cognitive Therapy, MBCT) ist eine gruppenbasierte Therapieform, ähnlich der IPSRT. Bei ihr werden jedoch in erster Linie Achtsamkeitsübungen gelernt und geprobt zur Beobachtung von und dem Umgang mit Gedanken, um so mögliche Entgleisungen der Stimmung abzuwenden.

In Studien konnte diese Therapieform die Dauer zwischen Rezidiven von PatientInnen mit BD nicht verlängern, jedoch berichten die Teilnehmer signifikant

weniger innere Unruhe als die Vergleichsgruppe.⁴¹

9.2 Genexpression

Die Genexpression beschreibt den Vorgang, bei dem Proteine anhand der Vorlage der DNS hergestellt werden. Dieser Vorgang ist streng reguliert und variiert stark abhängig von einzelnen Zeitpunkten und Umwelteinflüssen und kann Ursache für verschiedene Erkrankungen sein. Die durchgeführte Genexpression von Zellen kann mittels Genexpressionsanalyse quantifiziert werden.

9.2.1 Ablauf

Die Vorlage dafür bildet die DNS, welche im Zellkern in einer „aufgewickelten“ Form gelagert ist. Der erste Schritt vom Gen zum Protein ist die Transkription. Dabei wird RNA durch RNS-Polymerasen anhand der Vorlage der DNS synthetisiert. Die RNS Stränge, die zur Codierung von Proteinen vorgesehen sind, werden als mRNA bezeichnet. Manchmal werden anschließend die mRNA-Stränge im Zellkern weiter modifiziert durch sogenanntes Splicing und Capping, wo ganze Teile der mRNA entfernt oder hinzugefügt werden.

Die mRNA-Stränge wandern aus dem Zellkern heraus ins Zytoplasma. Im Anschluss erfolgt dort die Translation. Die Ribosomen im Zytoplasma synthetisieren anhand der mRNA das entsprechende Protein.⁴²

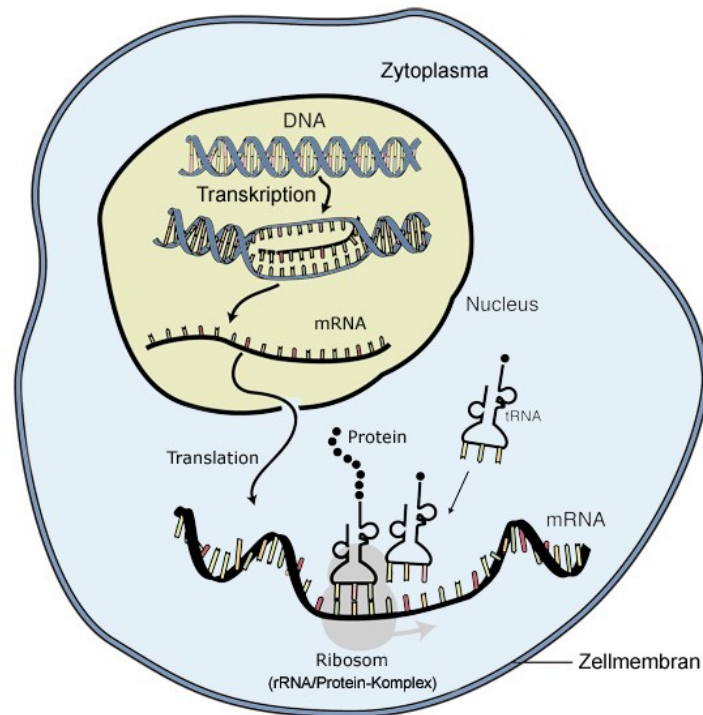


Abbildung 3: Darstellung der Genexpression von DNS zum fertigen Molekül.

©commons.wikimedia.org

9.2.2 Regulation

Obwohl alle Zellen im menschlichen Körper dieselbe Erbinformation in der DNS gespeichert haben, weisen sie doch unterschiedliche Eigenschaften auf und sind auf verschiedene Aufgaben spezialisiert. Dies wird auf molekularer Ebene dadurch gesteuert, dass nicht alle Gene in derselben Menge exprimiert, also in Proteine umgewandelt werden. Eine Muskelzelle benötigt beispielsweise Proteine zur Herstellung von Muskelfasern. Diese findet man nicht in einer Leberzelle, dafür aber speziell auf die Stoffwechselfunktion der Leber abgestimmte, andere Proteine.

Die Regulation der Genexpression kann auf verschiedenen Ebenen stattfinden. Sehr kompakte Bereiche der DNS entziehen sich grundsätzlich der Transkription und werden als Heterochromatin bezeichnet, im Gegensatz zum Euchromatin, wo ein Ablesen möglich ist. Transkriptionsfaktoren aktivieren oder inaktivieren die Transkription einzelner Genabschnitte.

Einige Gene unterliegen keiner Regulation. Diese werden unabhängig von Zelltyp und Zellstadium immer im gleichen Maß exprimiert, dazu gehören viele sogenannte Haushaltsgene. Solche „House-keeping-genes“ codieren für Proteine, welche ständig benötigte Grundfunktionen in der Zelle wahrnehmen (z.B. Energiebereitstellung). Diese werden auch als konstitutiv exprimierte Gene bezeichnet.⁴²

9.3 Circadiane Uhr

Im Laufe der Evolution passte sich der Mensch, sowie viele andere Spezies, an die 24 Stunden dauernde Periode einer Erdumdrehung und den damit verbundenem Wechsel von Tag und Nacht an. Viele Körperfunktionen folgen dabei einer täglich wiederkehrenden Rhythmik, die sich in ca. 24-stündigen Abständen wiederholt. Diese Rhythmik wird als circadian bezeichnet und im Volksmund „innere Uhr“ genannt. Sie und ihre Auswirkungen sind Gegenstand der Forschung der Chronobiologie.⁴³

Zu den oben erwähnten beeinflussten Körperfunktionen zählen beispielsweise das Aufnehmen von Nahrung, der Wechsel von Schlaf- und Wachzustand und die Körpertemperatur. Den genetischen Hintergrund dazu bildet ein komplexes System aus hormonellen Rückkopplungsmechanismen, das als Oszillator für die circadiane Wiederholung dieser Körperfunktionen dient.⁴⁴

Die molekulare Uhr wird über äußere Reize, wie Sonnenlicht und Temperatur, ständig synchronisiert.⁴⁵ Ohne äußere Reize bleibt der circadiane Rhythmus aber dennoch bis über mehrere Wochen hinweg erhalten.^{46,47} Spürbar wird dies im Alltag beispielsweise, wenn man eine Flugreise in eine entfernte Zeitzone unternimmt. Die fehlende Synchronisation mit Umwelteinflüssen wird als Jetlag wahrgenommen und besteht so lange, bis die innere circadiane Uhr wieder an die Umgebung angepasst ist.⁴⁸

9.3.1 Physiologie

In mehrzelligen Organismen verfügen die meisten Zellen, also auch in peripheren

Gewebe, über eine eigene, innere Uhr.⁴⁷ Um ein korrektes Zusammenspiel zu gewährleisten, wird ein zentraler Taktgeber benötigt. Beim Menschen übernimmt der Nucleus Suprachiasmaticus (engl.: suprachiasmatic nucleus, SNC), ein Kern des Hypothalamus, diese Aufgabe.^{44,49}

Der SNC erhält Schlüsselreize, sogenannte Zeitgeber, anhand äußerer Sinnesreize. Diese können in Lichtreize, also der Einstrahlung von Sonnenlicht auf die Retina, und andere Reize, wie Gerüche oder Geräusche, unterteilt werden. Der SNC wandelt diese Information in chemische und elektrische Signale um, die weitere Regionen des Gehirns oder periphere Organsysteme ansteuern.⁵⁰

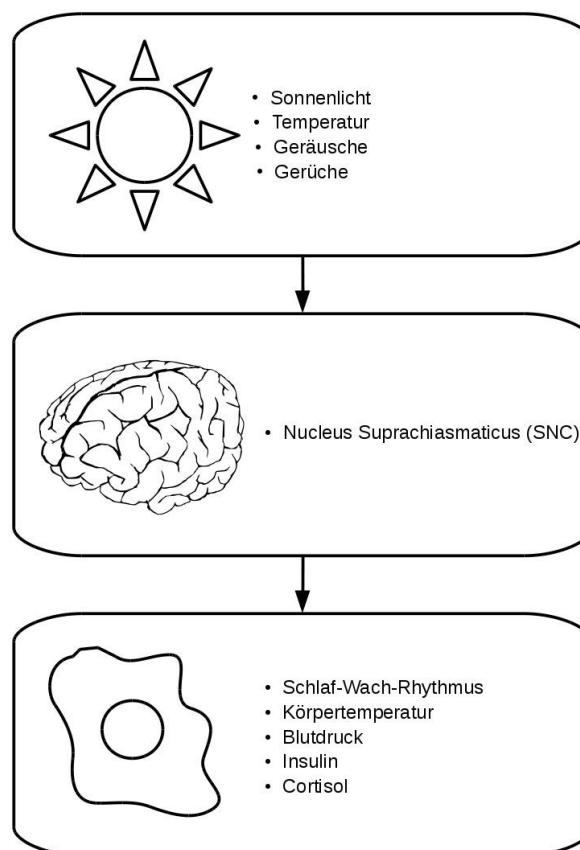


Abbildung 4: Physiologie des circadianen Rhythmus ©openclipart.com

9.3.2 Molekulare Grundlagen der inneren Uhr

Auf molekularer Ebene werden der SCN und periphere biologische Uhren von negativen Rückkopplungsmechanismen reguliert, welche die Transkription und

Translation von *CLOCK*-Genen beeinflussen. Der bedeutendste Rückkopplungsmechanismus besteht dabei aus den Genen *CLOCK* und *ARNTL*. *ARNTL* und *CLOCK* formen ein Heterodimer, welches die Transkription vieler Gene mit unterschiedlichsten Auswirkungen für den gesamten Körper haben. Zudem regelt das *CLOCK/ARNTL* Heterodimer die Transkription der Period-Gene (*PER1*, *PER2* und *PER3*), sowie die Transkription der Cryptochrom-Gene (*CRY1* und *CRY2*). Diese Gene formen ihrerseits wiederum Heterodimere, wandern in den Zellkern und hemmen dort die Tätigkeit von *CLOCK/ARNTL* und sorgen so für eine Rhythmik mit einer Länge von ca. 24 Stunden. Dabei ist zu beachten, dass die Regulation des Kreislaufs hauptsächlich über die Genexpression von *ARNTL* gesteuert wird, und nicht direkt über *CLOCK*, weshalb in dieser Arbeit *ARNTL* untersucht wird.⁵¹

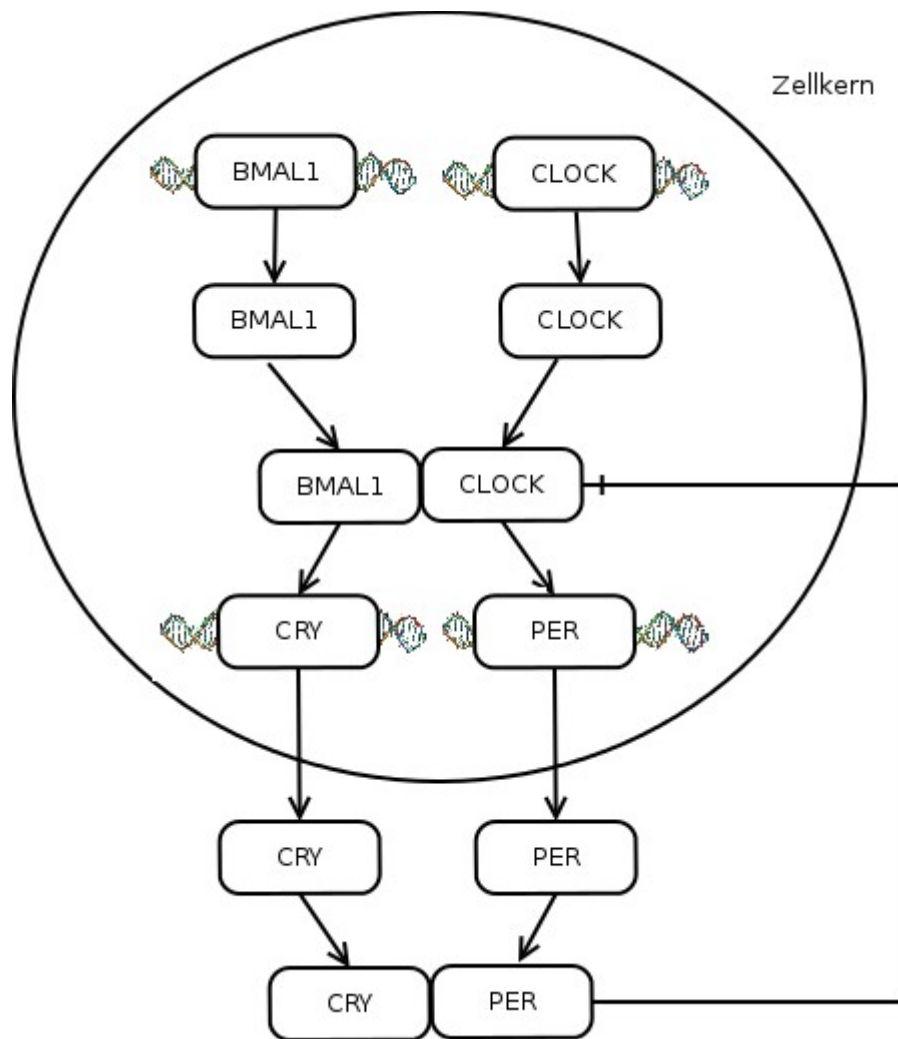


Abbildung 5: Schematische Darstellung der *CLOCK*-Rückkopplungsschleife. Die Gene *CLOCK* und *BMAL1* werden im Zellkern exprimiert und bilden die Proteine *CLOCK* und *BMAL1*. Diese bilden das Dimer *CLOCK/BMAL1*, welches die Genexpression von *CRY* und *PER*, sowie einiger weiterer (hier nicht gezeigten) Gene aktiviert. Die Proteine *CRY* und *PER* verlassen den Zellkern und bilden im Zytoplasma das Dimer *CRY/PER*, welches inhibierend auf das Dimer *CLOCK/BMAL1* einwirkt.

9.3.3 CLOCK-Gene und BD

Neue technische, insbesondere molekulargenetische Methoden ermöglichten ein besseres Verständnis der Funktionsweise der *CLOCK*-Gene und ihren Zusammenhang mit der BD.⁵¹

9.3.3.1 CLOCK

Mehrere Studien bestätigen einen Zusammenhang einer Punktmutation (Engl.: Single Nucleotide Punctual Mutation, SNP) von *CLOCK*, einem Tausch der Nukleotide Thymin (T) mit Cystein (C) an der Stelle 3111, mit einem erhöhten Rückfallrisiko bei PatientInnen mit bekannter BD⁵² und einem erhöhten Risiko, an Schlaflosigkeit zu leiden.^{53,54} Zudem neigen Menschen mit dieser Mutation eher zum Chronotyp eines Abendmenschen, also mit der Tendenz, spät einzuschlafen und spät aufzuwachen.^{52,55}

Mäuse mit Mutationen im *CLOCK*-Gen zeigen ein Manie-ähnliches Verhalten, gekennzeichnet durch erhöhte Aktivität und vermindertem Schlafbedürfnis. Eine Medikation dieser Mäuse mit Lithium kann diese Ausprägung dieser Verhaltensweisen mindern.⁵⁶

9.3.3.2 ARNTL

Änderungen von *ARNTL* konnten beim Menschen mit BD⁵⁷⁻⁶² und Schlafstörungen⁶³ in Verbindung gebracht werden. Weiter gibt es Hinweise, dass SNPs von *ARNTL* im Zusammenhang mit cholerischem und ängstlichem Temperament von ProbandInnen stehen.⁶⁴ Zudem wird ein Zusammenhang zwischen Mutationen von *ARNTL* und der Wirksamkeit einer prophylaktischen Medikation durch Lithium vermutet.⁶⁵

9.3.3.3 PER

Von den Periode-Genen zeigte *PER3* den größten Einfluss auf BD.⁵⁷⁻⁵⁹ Mutationen in diesem Gen erwiesen sich als maßgeblich beteiligt am Ersterkrankungsalter und dem Therapieerfolg von BD.^{66,67}

Per konnte auch mit der Verteilung der Chronotypen in Verbindung gebracht

werden. Polymorphismen in *PER1* konnten mit einer Neigung zum Morgentypus⁶⁸ und Polymorphismen in *PER3* mit einer Neigung zum Abendtypus in Verbindung gebracht werden.⁶⁹

9.3.3.4 CRY

Genvariationen von *CRY2* konnten mit BD in Verbindung gebracht werden.^{57,70} Eine Zusammenhang mit einer Neigung zum Rapid Cycling wird vermutet.

9.3.3.5 GSK3 β

GSK3 β spielt eine wichtige Rolle in der Regulation der Transkription der *CLOCK*-Gene im SCN. Es hat direkten Einfluss auf die Phosphorylierung von *ARNTL* und trägt damit zur Stabilisierung des Circadianen Rhythmus bei.³⁰

Polymorphismen von GSK3 β konnten mit dem Ersterkrankungsalter von PatientInnen mit BD in Zusammenhang gebracht werden.^{71,72} Die Aktivität von GSK3 β wird durch die Einnahme von Lithium beeinflusst, was eine mögliche Erklärung für dessen Wirkmechanismus bietet.⁷³

9.4 Hypothese

Das Ziel dieser Studie war es, die Genexpression der beiden Gene *ARNTL* und *MAOA*, gewonnen aus peripheren Blutproben von 111 Individuen, auf ihren Zusammenhang mit BD zu überprüfen um so den Pathomechanismus der BD weiter zu klären. Des Weiteren sollen Unterschiede in Abhängigkeit von der Stimmungslage der PatientInnen untersucht werden.

Es wird angenommen, dass die Genexpression der beiden genannten Gene sich zwischen gesunden ProbandInnen und PatientInnen mit BD unterscheidet.

Zweitens wird angenommen, dass PatientInnen mit BD in depressiver Stimmungslage sich von euthymen PatientInnen in der Genexpression unterscheiden.

Drittens wird angenommen, dass PatientInnen mit BD in (hypo)manischer Stimmungslage sich von euthymen in der Genexpression unterscheiden.

10 Material und Methoden

10.1 Studienteilnehmer

Der Zeitraum der Rekrutierung für die Studie wurde von 1. März 2014 bis 31. Juli 2015 angesetzt und erfolgte ausschließlich am Universitätsklinikum Graz. Alle Teilnehmer wurden aus der laufenden BIPFAT Studie rekrutiert. Die BIPFAT Studie ist eine Studie der Medizinischen Universität Graz, mit dem Ziel biologische Zusammenhänge zwischen metabolischen Faktoren und der BD zu erforschen.⁷⁴

Einschlusskriterien waren ein Alter über 18 Jahre und in der Bipolar Gruppe die Diagnose einer BD, diagnostiziert nach DSM-IV Kriterien.

Die Ausschlusskriterien für ProbandInnen der Testgruppe waren schwere internistische Grunderkrankungen oder neurologische Erkrankungen: Chronisch obstruktive Lungenkrankheit (COPD), Rheumatische Arthritis, systemischer Lupus Erythematodes (SLE), chronisch entzündliche Darmerkrankungen, neurodegenerative und neuroinflammatorische Störungen wie Alzheimer, Huntington, Parkinson, Multiple Sklerose (MS), weiters Behandlung durch Hämodialyse oder mittels Interferon-Alpha-basierter Immuntherapie.

Die Ausschlusskriterien für ProbandInnen der Kontrollgruppe beinhalteten eine diagnostizierte psychiatrische Erkrankung (nach SCID) und eine erst- oder zweitgradige Verwandtschaft zu einer Person mit einer diagnostizierten psychiatrischen Störung.

Alle TeilnehmerInnen haben eine schriftliche Zustimmung unterzeichnet. Die Studie wurde von der örtlichen Ethikkommission nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki geprüft und abgeseget.

10.2 Ablauf

10.2.1 Blutabnahme

Die Blutproben wurden zwischen 8:30 und 10:00 Uhr morgens von den nüchternen PatientInnen aus der Ellenbeugenvene genommen und innerhalb der nächsten vier Stunden weiter verarbeitet.

10.2.2 Testbefragung

Bei ProbandInnen der Testgruppe wurden die Schwere einer möglichen Depression mittels Hamilton Skala (HAMD) und die Schwere einer möglichen Manie mittels der Young Mania Rating Scale (YMRS) bestimmt. Eine bipolare Störung wurde mittels SKID I (Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV) diagnostiziert.

Bei TeilnehmerInnen der Kontrollgruppe wurde eine psychiatrische Erkrankung mittels eines strukturierten klinischen Interviews für DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) Interviews ausgeschlossen.

Die Testbefragungen beider Gruppen wurden durch PsychiaterInnen und PsychologInnen durchgeführt.

10.2.2.1 HAMD

Bei der HAMD handelt es sich um eine Skala zur Fremdbeurteilung der Schwere einer depressiven Episode bewertet wird. Es behandelt 24 Fragen, unter anderem über die Themen Schuldgefühle, Schlafstörungen, Suizidgedanken und Hypochondrie. Diese werden auf einer Skala von 0 bis 4 bzw. 0 bis 2 bewertet. Man erhält einen Zahlenwert zwischen 0 und 66. Eine übliche Einteilung ist es, ab einem Wert von 9 von einer leichten, ab 20 von einer mittelschweren und von 30 von einer schweren Depression auszugehen.²

10.2.2.2 YMRS

Die YMRS ist eine Skala zur Fremdbeurteilung der Schwere einer manischen Episode. Es besteht aus 11 Fragen, die unter anderem Schlaf, sexuelles

Verhalten, Sprache und Erscheinungsbild behandeln. Diese werden auf einer Skala von 0 bis 4 bzw. 0 bis 8 bewertet. Man erhält einen Zahlenwert von 0 bis 60. Es wird empfohlen, ab einem Wert von 8 von einer Manie auszugehen.⁷⁵

10.2.2.3 SKID1

Das SKID1 ist ein Interview-Leitfaden zur Diagnostik psychischer Störungen nach dem DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders). Es beinhaltet eine Reihe von Fragen, die eine Untersuchung auf bestimmte psychiatrische Erkrankungen ermöglichen. Dabei handelt es sich unter anderem um psychotische, affektive und somatoforme Störungen.⁷⁶

10.2.3 Isolierung der RNA

Die notwendige RNA zur Durchführung der Messungen wurde aus PBMCs des zuvor entnommenen Blutes der ProbandInnen isoliert.

Dazu wurden zunächst 8-9ml EDTA Blut mit gleicher Menge CMF PBS (pH~7,4) gemischt. 9ml Histopaque®-1077 wurden vorgelegt und die Blut/PBS Mischung vorsichtig auf Ficoll (Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer) geschichtet und anschließend für 30 Minuten bei 1380rpm abzentrifugiert.

Der Buffy Coat wurde abgehoben und ein neues Gefäß übergeben und mit 30ml CMF PBS gemischt. Nach erneutem Zentrifugieren mit 1380rpm für 10 Minuten wurde der Überstand abgehoben um das Pellet erneut mit 30ml CM PBS abzuzentrifugieren und den Überstand erneut abzuheben.

Das Pellet wurde mit 1ml CMF PBS resuspendiert und die Zellzahl mittels CASY® gemessen. Danach wurden die Zellen bis zur weiteren Verwendung bei -20°C eingefroren.

10.2.4 Durchführung der qPCR (real time quantitative PCR)

Zunächst wurden die Proben auf Eis aufgetaut. Dann wurden die verdünnten Proben als Triplicates in 93 Wells einer 96-Well-Platte pipettiert, 1 Well wurde mit der selben Menge an RNase freiem Wasser zum Zweck einer Non-Template Kontrolle (NTC) befüllt. Anschließend wurde der Mastermix hergestellt, bestehend

jeweils aus 0,5µl des entsprechenden Genexpression Assays (Thermo Scientific® Assays: Bestellnummer #4331182 für *ARNTL* und #4331182 für *MAOA*), 5µl TaqMan Gene Expression Master Mix und 0,5µl RNase freiem Wasser für jede Probe, wie in Tabelle 2 ersichtlich.

Pro Reaktion		Für 93 Reaktionen	
Genexpression Assay	0,5µl	Genexpression Assay	46,5µl
TaqMan Genexpression Master Mix	5µl	TaqMan Genexpression Master Mix	465µl
cDNA Template	4µl	cDNA Template	372µl
RNase freies Wasser	0,5µl	RNase freies Wasser	46,5µl
Gesamt	10µl		930µl

Tabelle 2: Befüllung der Wells für die qPCR

Die 96-Well-Platte wurde versiegelt, abzentrifugiert und die qPCR in einem BioRad CFX96 Thermal Cycler gestartet, mit einem Programm wie in Tabelle 3 beschrieben.

95°C	10 Minuten	
95°C	15 Sekunden	40X
60°C	1 Minute	

Tabelle 3: Cycle Conditions

Untersucht wurde die Genexpression der Gene *ARNTL*, *MAOA* und des Haushaltsgens *S18*. Nach jedem Zyklus wurde die Intensität der Fluoreszenz des Sybr-Green-Farbstoffes gemessen.

10.3 Analyse der Daten

Mittels Bio-Rad CFX Manager Version 2.0 erfolgte eine Schmelzkurvenanalyse der Proben. Die Fluoreszenz-Kurven geben den Verlauf der Intensität der Fluoreszenz des Sybr-Green-Farbstoffes während der einzelnen Zyklen wieder. Dieser wird als Cycle-Quantification-Wert (Cq) angegeben. Der erste Wendepunkt der Kurve stellt den Schwellenwert dar.

Der Cq-Wert des Haushaltsgens wurde vom Cq-Wert des zu untersuchenden Gens abgezogen um ΔCq zu erhalten. ΔCq bezeichnet somit die Differenz der Expression des gesuchten Gens im Vergleich zu einem Haushaltsgen, welches unabhängig von äußeren Einflussfaktoren exprimiert wird. Mittels des ΔCq kann die Genexpression der gesuchten Gene zwischen verschiedenen ProbandInnen verglichen werden.

$$\Delta Cq = Cq \text{ Target} - Cq \text{ Reference}$$

10.4 Statistik

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mit SPSS. Als statistisch signifikant wurden Werte erachtet, die ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ aufwiesen.

Alle Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung überprüft und je nach Resultat des vorherigen Tests mit t-Test für parametrische oder u-Test auf nicht-parametrische Daten auf Differenzen zwischen den beiden Studiengruppen ausgewertet.

Als Kovariaten wurden mittels multivariabler schrittweiser Rückwärts-Regression (multivariable step-wise backward regression) geprüft: Die Einnahme von Lithium oder Antiepileptika, sowie BMI, Alter und Geschlecht der ProbandInnen.

11 Ergebnisse – Resultate

Für die Studie wurden insgesamt n=111 Personen rekrutiert:

Parameter	Kollektiv	Kontrollgruppe	Fallgruppe	P f. Differenz
Klinische Angaben				
Alter	n = 111; 41,5 ± 15,3	n = 56; 39,8 ± 16,1	n = 55; 43,1 ± 14,4	0,256
Geschlecht (M)	n = 109; 48 (44%)	n = 54; 17 (31%)	n = 55; 31 (56%)	0,012*
Größe	n = 103; 1,7 ± 0,1	n = 49; 1,7 ± 0,1	n = 54; 1,7 ± 0,1	0,004**
Gewicht	n = 104; 81,1 ± 18,5	n = 50; 74,8 ± 17,2	n = 54; 86,9 ± 17,8	0,001**
BMI	n = 107; 26,8 ± 4,9	n = 52; 25,3 ± 4,4	n = 55; 28,3 ± 5,0	0,002**
BD Systolisch	n = 91; 125,4 ± 13,3	n = 41; 125,1 ± 13,6	n = 50; 125,7 ± 13,1	0,831
BD Diastolisch	n = 91; 83,2 ± 8,0	n = 41; 82,9 ± 8,3	n = 50; 83,5 ± 7,8	0,713
Raucher	n = 110; 44 (40%)	n = 56; 19 (34%)	n = 54; 25 (46%)	0,243
Fragebogen				
HAMD	n = 55		n = 55; 5,3 ± 4,8	
YMRS	n = 57		n = 55; 2,9 ± 4,8	
Laborwerte				
Cholesterin	n = 75; 194,0 ± 37,6	n = 26; 196,2 ± 23,9	n = 49; 192,8 ± 43,4	0,711
HDL	n = 74; 58,4 ± 19,2	n = 26; 65,2 ± 18,3	n = 48; 54,8 ± 18,9	0,025*
LDL	n = 74; 112,6 ± 32,7	n = 26; 109,9 ± 23,4	n = 48; 114,1 ± 36,9	0,601
Triglyzeride	n = 75; 121,5 ± 70,7	n = 26; 105,5 ± 66,6	n = 49; 130,0 ± 71,9	0,156
Medikamente				
Lithium	n = 55; 24 (44%)		n = 55; 24 (44%)	-
Atyp. Neuroleptika	n = 55; 30 (55%)		n = 55; 30 (55%)	-
Antiepileptika	n = 54; 18 (33%)		n = 54; 18 (33%)	-
SSRI	n = 55; 12 (22%)		n = 55; 12 (22%)	-

*Tabelle 4: Kohortenbeschreibung der Testgruppe und Kontrollgruppe im Vergleich, *p < 0,05, **p > 0,01.*

Aufgrund des Kolmogorov-Smirnov-Tests von dCQ MAOA ($p < 0,05$) und dCQ ARNTL ($p < 0,05$) ist von nicht normalverteilten Daten auszugehen.

Der Einfluss der Kovariaten wurde wie oben beschreiben mittels multivariabler schrittweiser Rückwärts-Regression (multivariable step-wise backward regression) geprüft. Da keine der Kovariaten einen signifikanten Einfluss auf die Genexpression der gesuchten Gene ausübt, wurden sie nicht in die Beurteilung einbezogen.

Zur Testung der Hypothesen bei zwei nicht verbundenen Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Es wurde zuerst die Genexpression von ARNTL und MAOA zwischen der Gesamtgruppe PatientInnen versus gesunde

Kontrollen geprüft. In einem weiteren Schritt wurden die PatientInnen anhand der aktuellen Stimmungslage in die Gruppe euthym (HAM < 9, YMRS < 8, n = 95), depressiv (HAM >= 9, YMRS < 8, n = 11) und (hypo)man (HAM < 9, YMRS >= 8, n = 5) eingeteilt, um die Gruppen miteinander vergleichen zu können und mögliche Unterschiede der Genexpression von MAOA und ARNTL zwischen den Stimmungslagen zu detektieren.

11.1 Vergleich der Genexpression von *ARNTL* und *MAOA* zwischen PatientInnen mit BD und gesunden ProbandInnen.

Entgegen der ursprünglichen Hypothese weist die Genexpression von *MAOA* ($p = 0,9700$) und *ARNTL* ($p = 0,1787$) keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Testgruppe auf (Abbildung 6 und 7):

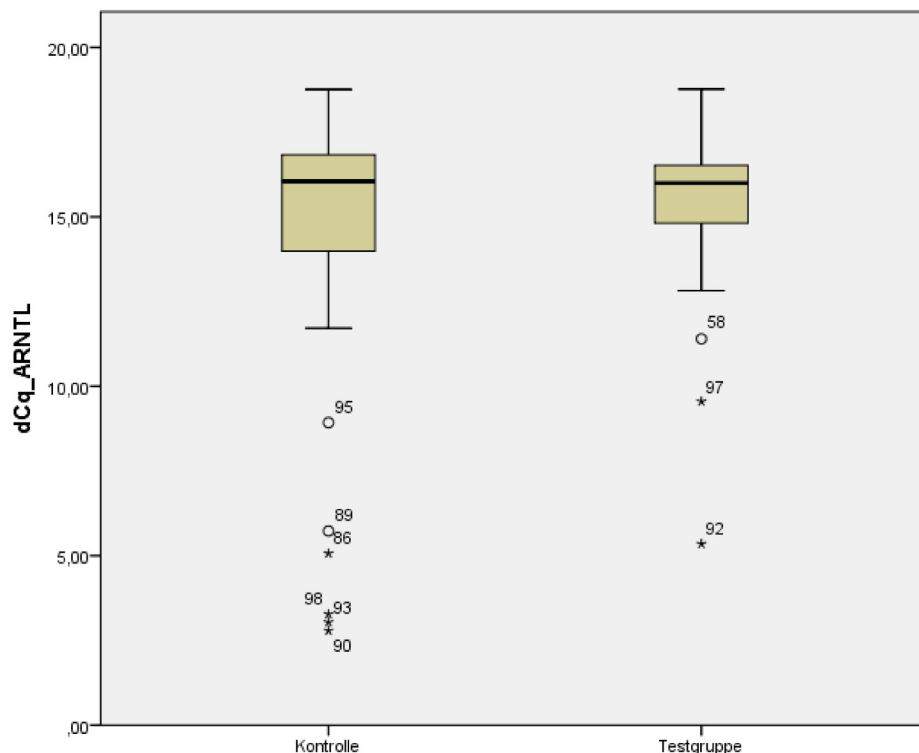


Abbildung 6: Vergleich der dCQ-Werte der Genexpression von *MAOA* zwischen Test- und Kontrollgruppe

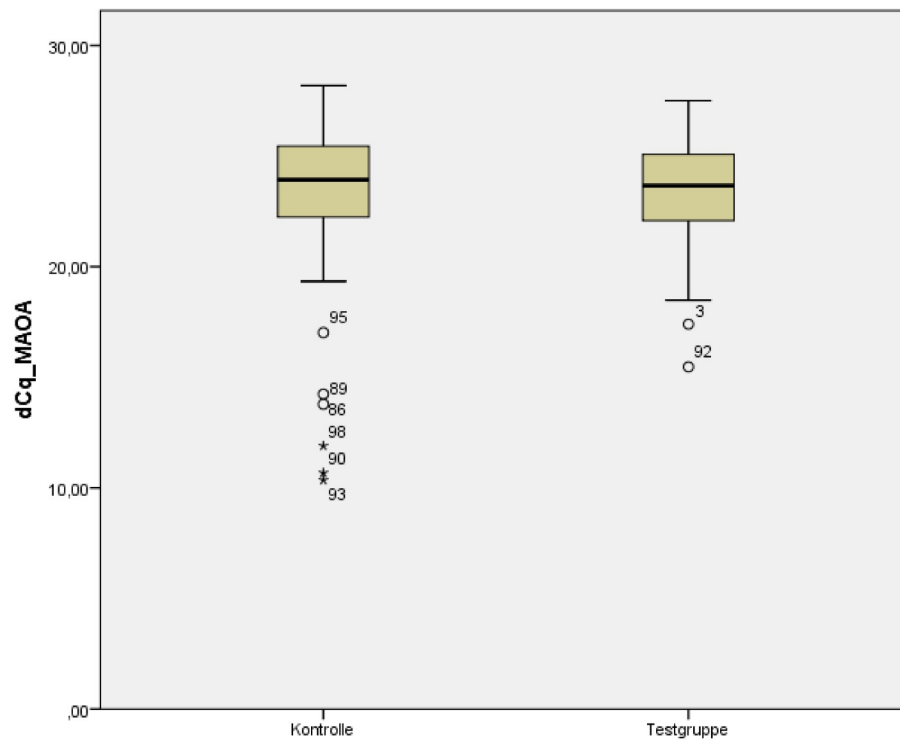


Abbildung 7: Kein Unterschied der dCQ-Werte der Genexpression von ARNTL zwischen Test- und Kontrollgruppe

Somit konnte die Nullhypothese bestätigt und die Alternativhypothese verworfen werden.

11.2 Vergleich der Genexpression von *ARNTL* zwischen PatientInnen in einer depressiven oder (hypo)manischen Episode und euthymen ProbandInnen (siehe Abbildung 8).

Der dCQ-Wert von *ARNTL* ist bei ProbandInnen, die sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einer depressiven Phase befanden, im Mittel um 1,44 höher als bei der euthymen Kontrollgruppe ($p < 0,05$, *depressive PatientInnen*: $M = 16,52$, $SD = 1,03$ versus *euthyme PatientInnen*: $M = 15,08$, $SD = 2,37$).

Der dCQ-Wert von *ARNTL* ist bei ProbandInnen, die sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einer (hypo)manen Phase befanden, änderte sich jedoch nicht signifikant ($p = 0,0509$) auf einen im Mittel um 0,93 höheren Wert als bei der euthymen Kontrollgruppe (*hypomanische PatientInnen* $M = 16,05$, $SD = 0,62$).

Zwischen der Gruppe der ProbandInnen, die sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einer depressiven Phase befanden und der Gruppe der ProbandInnen, die sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einer (hypo)manen Phase befanden, lässt sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Genexpression von *ARNTL* feststellen ($p = 0,365$).

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die ProbandInnen, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme depressiv waren, eine um den Faktor 2,64 verminderte Genexpression von *ARNTL* im Vergleich zu euthymen ProbandInnen aufwiesen.

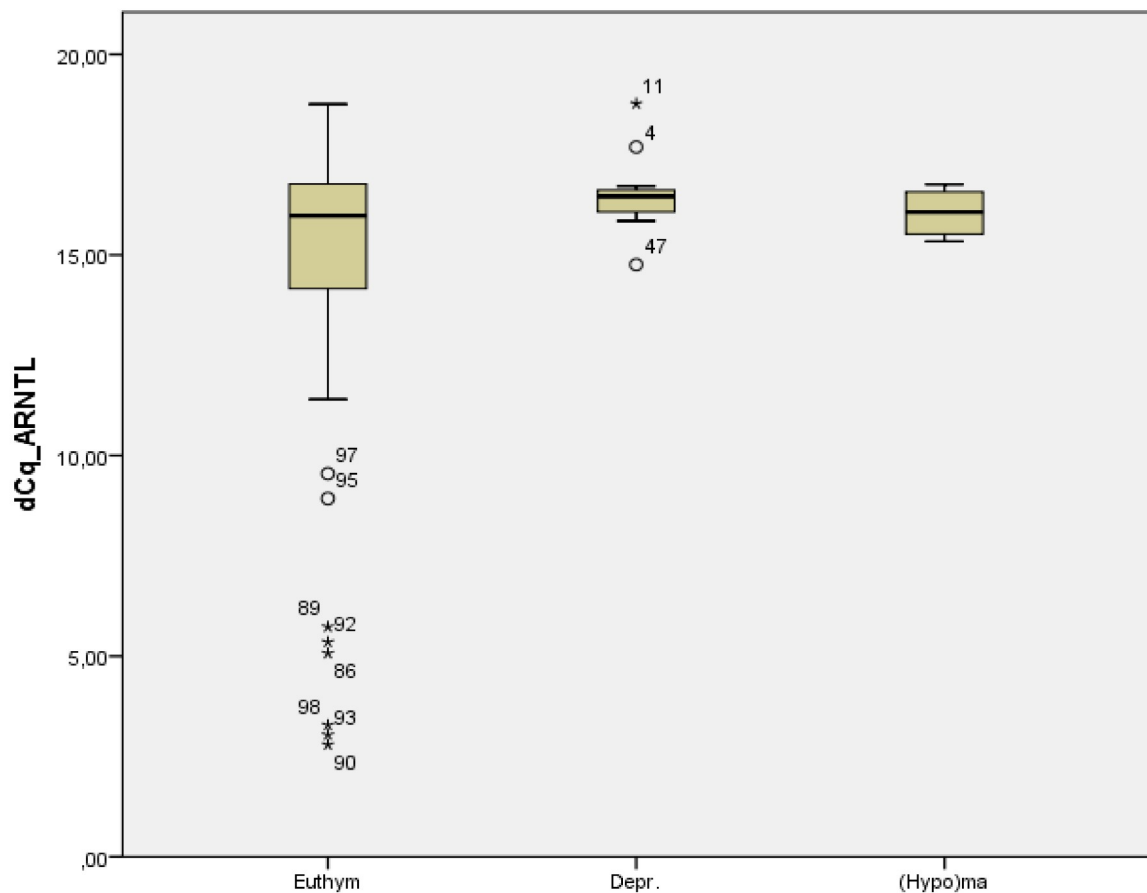


Abbildung 8: Vergleich der dCQ-Werte für ARNTL bei ProbandInnen in manischen und depressiven Phasen im Vergleich zu euthymen ProbandInnen.

11.3 Vergleich der Genexpression von MAOA zwischen PatientInnen in einer depressiven oder (hypo)manischen Episode und euthymen ProbandInnen (siehe Abbildung 9).

Der dCQ Wert von MAOA ist bei PatientInnen, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme (hypo)man waren, ist im Mittel um 3,5 höher als bei euthymen ProbandInnen. ($p < 0,05$, (Hypo)Manie: $M = 25,62$, $SD = 0,51$, euthyme Pat.: $M = 22,01$, $SD = 6,99$)

Der dCQ Wert von MAOA ist bei PatientInnen jedoch, die zum Zeitpunkt der

Blutabnahme sich in einer depressiven Episode befanden, nicht signifikant ($p=0,139$) im Mittel um 1,4 höher als bei euthymen ProbandInnen (*Depressive PatientInnen* $M = 23,83$, $SD = 1,32$).

Die Genexpression von MAOA der Gruppe der ProbandInnen, die sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einer depressiven Phase befanden, ist im Vergleich der Gruppe der ProbandInnen, die sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einer (hypo)manen Phase befanden, statistisch signifikant im Mittel um 1,79 verringert ($p = 0,012$).

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass PatientInnen, bei der Blutabnahme als (hypo)man einzustufen waren, im Schnitt eine um den Faktor 11,3 verminderte Genexpression von MAOA aufwiesen als euthyme ProbandInnen. Zudem weisen ProbandInnen, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme sich in einer (hypo)manen Phase befanden, eine unterschiedliche Genexpression auf als ProbandInnen, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme sich in einer depressiven Phase befanden.

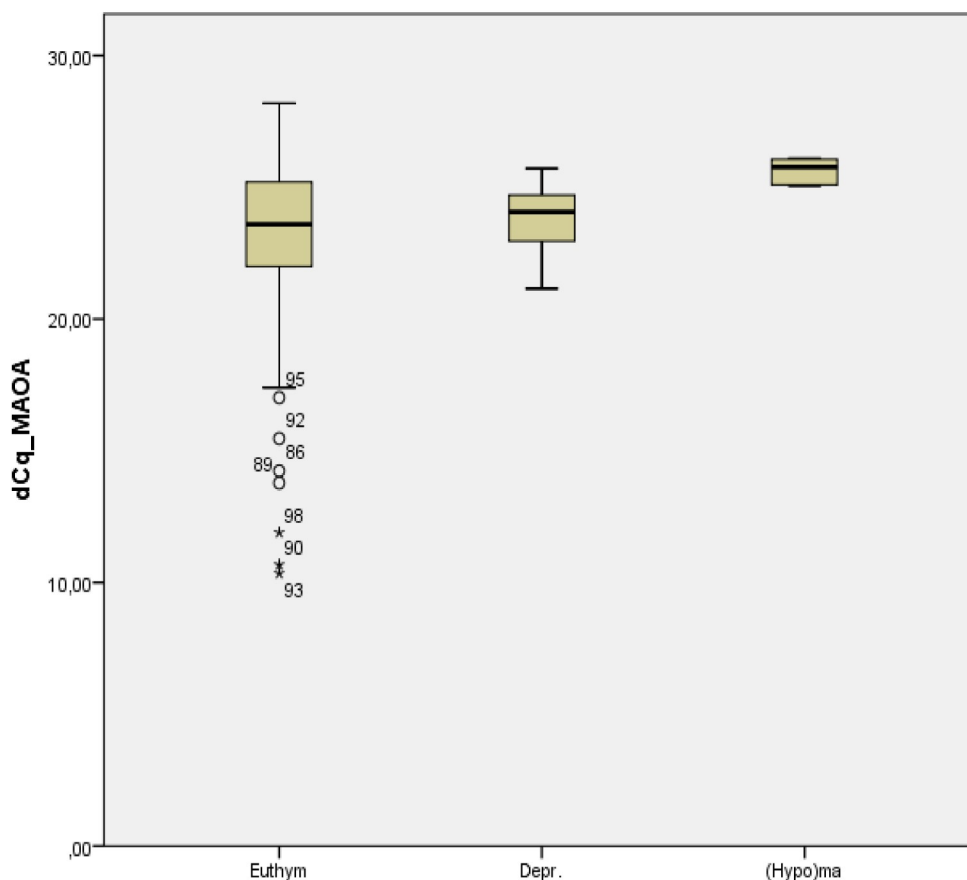


Abbildung 9: Vergleich der dCQ-Werte für MAOA bei ProbandInnen in manischen und depressiven Phasen im Vergleich zu euthymen ProbandInnen.

12 Diskussion

12.1 Beantwortung der Forschungsfrage und Positionierung der Resultate

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Genexpression des Clock Gens ARNTL und des Gens MAOA im Blut zwischen Menschen mit BD und gesunden Kontrollen zu vergleichen bzw. Unterschiede in Abhängigkeit von der aktuellen Stimmungslage zu detektieren. Wir fanden keine signifikanten Unterschiede in der Genexpression zwischen PatientInnen mit BD und gesunden Kontrollen. Es zeigte sich allerdings bei depressiven PatientInnen eine signifikant höhere Genexpression von ARNTL im Vergleich zu PatientInnen in einer euthymen Phase. Ebenso konnten wir eine signifikant höhere Genexpression von MAOA bei PatientInnen mit (hypo)manischer Symptomatik im Vergleich zu euthymen PatientInnen nachweisen.

Die Bipolare Störung ist Gegenstand extensiver aktueller Forschungen. Sie hat immense Auswirkungen auf die Lebenswelt der Betroffenen, da depressive und/oder (hypo)manische Episoden, die das Krankheitsbild der BD kennzeichnen, negative Auswirkungen auf das berufliche, wie auch auf das private Leben der PatientInnen haben können. Die medikamentöse Therapie der BD ist mit nebenwirkungsreichen Substanzen verbunden, die auch nicht bei dem kompletten Patientengut ausgeprägte Wirkungen zeigen. Bei einigen Individuen bleibt der Therapieerfolg selbst bei hoch dosierter Medikation komplett aus.

Bislang gibt es nur Hypothesen, die den differenzierten Therapieerfolg bei PatientInnen mit BD mit der selben Medikation beschreiben. Diese beinhalten auch Theorien über die Ätiopathogenese der BD, die ebenfalls nicht akzeptabel geklärt ist. Eine multifaktorielle Genese der Entstehung der BD ist derzeit wissenschaftlicher Konsens, auch wird eine starke genetische Komponente vermutet.

Eine Beteiligung der Uhrengene in der Ätiologie und Pathogenese der BD wurde in diversen Studien mehrfach diskutiert. Auch vom klinischen Verlauf, bei dem bei der BD Erkrankung vor allem Störungen des Schlaf- Wach-Rhythmus als auch der Tagesstruktur vorliegen, kann eine Beteiligung vermutet werden. Eine multifaktorielle Genese der Entstehung der BD ist derzeit wissenschaftlicher Konsens, auch wird eine starke genetische Komponente vermutet. Einige dieser „Target Genes“, die mit der Ätiopathogenese der BD und diversen weiteren psychiatrischen Erkrankungen wie unipolare Depression oder Schizophrenien in Verbindung gebracht werden können, zählen zu den sogenannten „Zeitgebergenen“, wie *ARNTL*. *ARNTL* ist maßgeblich an der Konfiguration der inneren Uhr von Säugetieren durch Etablierung eines Rückkopplungsmechanismus auf molekularer Ebene verantwortlich. Dieser Rückkopplungsmechanismus wirkt sich auf die Aktivierung und Inaktivierung einer Reihe von Effektor-Genen aus, unter anderem *MAOA*.

In vergangenen Studien konnten SNPs in *ARNTL*^{58,62} und *MAOA*⁷⁷ mit einem erhöhten Risiko zur Entstehung einer BD in Verbindung gebracht werden und eine Beteiligung der Genexpression von *CLOCK*-Genen zur BD wurde vermutet.⁷⁸ Diese Vermutung wurde in der Arbeit von Le-Niculescu et al. bestätigt, da man die Genexpression von *ARNTL*, einem Gen des *CLOCK*-Transkriptionszyklus, mit BD in Verbindung bringen konnte.⁶⁰ Diese Unterschiede in der Genexpression zwischen Individuen mit BD und gesunden Kontrollen wurden sowohl bei Menschen in der Arbeit Nakatani et al.¹¹, als auch bei Mäusen in der Arbeit von Ogden et al.⁷⁹ beschrieben, jedoch nur, wenn die dazu benötigte Erbinformation mittels Biopsie von Hirngewebe gewonnen wurde. Eine Evidenz für die Einsetzbarkeit der Genexpression von *ARNTL* aus menschlichen PBMCs als Marker für BD fehlte bisher.

12.2 Limitationen

Limitierend für die Aussagekraft dieser Ergebnisse ist die geringe Fallzahl der zum Zeitpunkt der Blutabnahme akut depressiven (n = 11) und (hypo)manischen

PatientInnen (n = 5). Zur Vermeidung eines statistischen Fehlers und zur Sicherstellung der Verwendbarkeit der Genexpression von *ARNTL* und *MAOA* als Marker für den Verlauf einer BD in depressiven oder (hypo)manischen Phasen ist die Untersuchung eines größeren PatientInnenkollektivs notwendig. Die Rekrutierung von ProbandInnen gestaltet sich erfahrungsgemäß aber als schwer, da insbesondere PatientInnen in akut (hypo)manischen Episoden oft keine medizinische Hilfe suchen.¹⁶ Weiters wirkt sich Schlafmangel signifikant auf die Genexpression von *ARNTL* aus⁸⁰. Da Unregelmäßigkeiten des Schlafverhaltens ein Diagnosekriterium von Manie und Depression darstellen, ist bei diesem PatientInnenkollektiv unter Umständen von einer gestörten Nachtruhe in der Vornacht zur Entnahme der Blutprobe auszugehen, was zu einer Verfälschung der Messergebnisse führen geführt haben könnte. Das Schlafverhalten der ProbandInnen wurde in diesem Studiendesign nicht berücksichtigt und kann somit zu Verzerrungen der Ergebnisse geführt haben.

Zukünftige Studien zur Genexpressionsanalyse von *ARNTL* und *MAOA* benötigen ein größeres PatientInnenkollektiv von ProbandInnen mit BD, welche sich zum Zeitpunkt der Blutabnahme in einem depressiven oder (hypo)manischen Zustand befinden. Zudem sollte der Einfluss des Schlafes der ProbandInnen auf die Genexpression von *ARNTL* berücksichtigt und ins Studiendesign aufgenommen werden, um die Verfälschung von Messergebnissen zu vermeiden. Die vorliegende Studie wurde als cross-sektionale Studie durchgeführt, eine Aussage über *MAOA* und *ARNTL* als Verlaufsmarker kann daher aus den vorliegenden Daten nicht getroffen, aber zumindest für zukünftige Untersuchungen angedacht werden.

12.3 Konklusion und Ausblick

Die hier vorliegende Studie untersuchte die Genexpression der Gene *ARNTL* und *MAOA* in PBMCs von 111 Individuen, rekrutiert an der Medizinischen Universität Graz, mittels qPCR auf Ihren Zusammenhang mit BD. Entgegen unserer Hypothese konnten unsere Daten keinen signifikanten Unterschied in der

Genexpression dieser beiden Gene zwischen gesunden ProbandInnen und PatientInnen mit BD feststellen. Die Alternativhypothese kann somit verworfen und die Nullhypothese als richtig angenommen werden. Demnach ist die Genexpression von ARNTL und MAOA bei PatientInnen mit BD im Vergleich zu psychisch gesunden ProbandInnen nicht signifikant unterschiedlich.

Aufgrund der Ergebnisse ist davon auszugehen, dass die Genexpression von *ARNTL* und *MAOA* gemessen mit Zellmaterial gewonnen aus PBMCs kein geeigneter Marker für Unterscheidung von PatientInnen mit BD und psychisch gesunden Menschen ist, allerdings mit depressiven oder (hypo)manischen Symptome assoziiert sein könnte.

Diese Conclusio steht in Kongruenz zu bereits bestehenden Forschungsergebnissen, die eine generelle Differenz in der Genexpression von ARNTL und MAOA zwischen gesunden ProbandInnen und PatientInnen mit DB bestätigen. Die Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass Patienten mit BD in euthymen Phasen eine ähnliche Genexpression wie psychisch gesunde PatientInnen aufweisen, während PatientInnen mit BD in depressiven oder (hypo)manischen Phasen eine signifikant unterschiedliche Genexpression dieser Beiden Gene aufweisen.

Zur Verwendung der Genexpression von ARNTL und MAOA gemessen mit Zellmaterial gewonnen aus PBMCs liegen derzeit nur eine begrenzte Menge an Daten vor. Durch weiteres Explorieren der Messergebnisse von ARNTL und MAOA durch prospektive Studien und eventueller Festlegung von physiologischen Grenzwerten kann die Genexpression von ARNTL und MAOA, in Relation mit diversen weiteren Laborparametern, verwendet werden, um eine akute depressive oder (hypo)manische Episode bei Patienten mit BD anhand eines Blutbefundes zu diagnostizieren. Spekulativ lässt sich dadurch eine eventuelle Verwendbarkeit dieser Laborwerte der Krankheitsfortschritt und/oder eine Therapieevaluation ableiten. Zur Verwendung der Genexpression von ARNTL und MAOA im Krankheitsverlauf liegen derzeit aber nicht ausreichend Studien vor, um eine solche Aussage zu bestätigen.

13 Literaturverzeichnis

1. Bäuml, J., Förstl, H. & Leucht, S. *Kurzlehrbuch Psychiatrie und Psychotherapie*. (Georg Thieme Verlag, 2012).
2. Angst, J. *Handbuch bipolare Störungen: Grundlagen - Diagnostik - Therapie*. (W. Kohlhammer Verlag, 2006).
3. Wright, P., Stern, J. & Phelan, M. *Core Psychiatry*. (Elsevier Health Sciences, 2012).
4. Angst, J. *et al.* Diagnostic issues in bipolar disorder. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **13**, 43–50 (2003).
5. Tansey, K. E. *et al.* Genetic susceptibility for bipolar disorder and response to antidepressants in major depressive disorder. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **165**, 77–83 (2014).
6. Grande, I., Berk, M., Birmaher, B. & Vieta, E. Bipolar disorder. *The Lancet* **387**, 1561–1572 (2016).
7. Squarcina, L., Fagnani, C., Bellani, M., Altamura, C. A. & Brambilla, P. Twin studies for the investigation of the relationships between genetic factors and brain abnormalities in bipolar disorder. *Epidemiol. Psychiatr. Sci.* **25**, 515–520 (2016).
8. Craddock, N. & Jones, I. Genetics of bipolar disorder. *J. Med. Genet.* **36**, 585 (1999).
9. al, M. P., *et.* The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1pubmed.han.medunigraz.at/pubmed/12742871>. (Accessed: 28th December 2016)
10. Consortium, T. P. G. Genomewide association studies: History, rationale and prospects for psychiatric disorders. *Am. J. Psychiatry* **166**, 540 (2009).

11. Nakatani, N. *et al.* Genome-wide expression analysis detects eight genes with robust alterations specific to bipolar I disorder: relevance to neuronal network perturbation. *Hum. Mol. Genet.* **15**, 1949–1962 (2006).
12. McQUADE, R. & Young, A. H. Y. Future therapeutic targets in mood disorders: the glucocorticoid receptor. *Br. J. Psychiatry* **177**, 390–395 (2000).
13. Ehlert, U. & Känel, R. von. *Psychoendokrinologie und Psychoimmunologie*. (Springer-Verlag, 2010).
14. E, B. C. and B. de V. The design of new antidepressants: can formal models help? A first attempt using a model of the hippocampal control over the HPA-axis based on a re... - PubMed - NCBI. Available at: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1pubmed.han.medunigraz.at/pubmed/21051994>. (Accessed: 28th December 2016)
15. Kalgutkar, A. S., Dalvie, D. K., Castagnoli, N. & Taylor, T. J. Interactions of nitrogen-containing xenobiotics with monoamine oxidase (MAO) isozymes A and B: SAR studies on MAO substrates and inhibitors. *Chem. Res. Toxicol.* **14**, 1139–1162 (2001).
16. Beiglböck, W., Feselmayer, S. & Honemann, E. *Handbuch der klinisch-psychologischen Behandlung*. (Springer Science & Business Media, 2006).
17. Brummett, B. H. *et al.* HPA axis function in male caregivers: effect of the monoamine oxidase-A gene promoter (MAOA-uVNTR). *Biol. Psychol.* **79**, 250 (2008).
18. Social Rhythm Disrupting Events Increase the Risk of Recurrence among Individuals with Bipolar Disorder. Available at: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1pubmed.han.medunigraz.at/pmc/articles/PMC4702482/>. (Accessed: 3rd January 2017)
19. Kasper, S. & Volz, H.-P. *Psychiatrie und Psychotherapie compact: Das gesamte Facharztwissen*. (Georg Thieme Verlag, 2014).
20. Ortiz, A., Bradler, K., Garnham, J., Slaney, C. & Alda, M. Nonlinear

- dynamics of mood regulation in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* **17**, 139–149 (2015).
21. Yatham, L. N. & Kusumakar, V. *Bipolar Disorder: A Clinician's Guide to Treatment Management*. (Routledge, 2013).
 22. Grover, S., Hazari, N., Aneja, J., Chakrabarti, S. & Avasthi, A. Influence of religion and supernatural beliefs on clinical manifestation and treatment practices in patients with bipolar disorder. *Nord. J. Psychiatry* **70**, 442–449 (2016).
 23. Nováková, M., Praško, J., Látalová, K., Sládek, M. & Sumová, A. The circadian system of patients with bipolar disorder differs in episodes of mania and depression. *Bipolar Disord.* **17**, 303–314 (2015).
 24. Ellgring, H. *Non-verbal Communication in Depression*. (Cambridge University Press, 2007).
 25. Johnson, S. L. & Leahy, R. L. *Psychological Treatment of Bipolar Disorder*. (Guilford Press, 2005).
 26. Association, A. P. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)*. (American Psychiatric Pub, 2013).
 27. Dilling, H., Freyberger, H. J. & Coltart, W.-W. H. O. W. P. M. I. *Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen: nach dem Pocket Guide von J.E. Cooper*. (Hogrefe, vorm. Verlag Hans Huber, 2013).
 28. DGBS & DGPPN. *S3-Leitlinie - Diagnostik und Therapie bipolarer Störungen*. (Springer-Verlag, 2013).
 29. Hou, L. *et al.* Genetic variants associated with response to lithium treatment in bipolar disorder: a genome-wide association study. *Lancet Lond. Engl.* (2016). doi:10.1016/S0140-6736(16)00143-4
 30. Freland, L. & Beaulieu, J.-M. Inhibition of GSK3 by lithium, from single molecules to signaling networks. *Front. Mol. Neurosci.* **5**, 14 (2012).
 31. Brown, R., Adshead, G. & Pollard, A. *The Approved Mental Health*

- Professional's Guide to Psychiatry and Medication*. (SAGE, 2009).
32. Cipriani, A., Reid, K., Young, A. H., Macritchie, K. & Geddes, J. Valproic acid, valproate and divalproex in the maintenance treatment of bipolar disorder. in *Cochrane Database of Systematic Reviews* (John Wiley & Sons, Ltd, 2013). doi:10.1002/14651858.CD003196.pub2
 33. Bhalerao, S. *et al.* Mortality Risk with Use of Atypical Antipsychotics in Later-Life Bipolar Disorder. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* **25**, 29 (2012).
 34. Tondo, L., Baldessarini, R. J., Vázquez, G., Lepri, B. & Visioli, C. Clinical responses to antidepressants among 1036 acutely depressed patients with bipolar or unipolar major affective disorders. *Acta Psychiatr. Scand.* **127**, 355–364 (2013).
 35. Pacchiarotti, I. *et al.* The International Society for Bipolar Disorders (ISBD) Task Force Report on Antidepressant Use in Bipolar Disorders. *Am. J. Psychiatry* **170**, 1249 (2013).
 36. Goodwin, G. M. *et al.* Evidence-based guidelines for treating bipolar disorder: revised third edition Recommendations from the British Association for Psychopharmacology. *J. Psychopharmacol. Oxf. Engl.* **30**, 495 (2016).
 37. Poon, S. H., Sim, K. & Baldessarini, R. J. Pharmacological Approaches for Treatment-resistant Bipolar Disorder. *Curr. Neuropharmacol.* **13**, 592 (2015).
 38. Wagner, P. & Bräunig, P. *Psychoedukation bei bipolaren Störungen: ein Therapiemanual für Gruppen ; mit 76 Kopiervorlagen*. (Schattauer Verlag, 2004).
 39. al, C. F., *et.* A randomized trial on the efficacy of group psychoeducation in the prophylaxis of recurrences in bipolar patients whose disease is in remission. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1pubmed.han.medunigraz.at/pubmed/12695318>. (Accessed: 8th January 2017)
 40. Frank, E., Swartz, H. A. & Boland, E. Interpersonal and social rhythm therapy: an intervention addressing rhythm dysregulation in bipolar disorder.

- Dialogues Clin. Neurosci.* **9**, 325–332 (2007).
41. al, P. T., et. A randomized controlled trial of mindfulness-based cognitive therapy for bipolar disorder. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1pubmed.han.medunigraz.at/pubmed/23216045>. (Accessed: 8th January 2017)
 42. Buselmaier, W. *Biologie für Mediziner*. (Springer-Verlag, 2015).
 43. Husse, J., Eichele, G. & Oster, H. Synchronization of the mammalian circadian timing system: Light can control peripheral clocks independently of the SCN clock: Alternate routes of entrainment optimize the alignment of the body's circadian clock network with external time. *Bioessays* **37**, 1119 (2015).
 44. Albrecht, U. Timing to Perfection: The Biology of Central and Peripheral Circadian Clocks. *Neuron* **74**, 246–260 (2012).
 45. al, C. E., et. Synchronization of the molecular clockwork by light- and food-related cues in mammals. - PubMed - NCBI. Available at: <https://www-1ncbi-1nlm-1nih-1gov-1pubmed.han.medunigraz.at/pubmed/12817467>. (Accessed: 24th January 2017)
 46. Yamazaki, S. Resetting Central and Peripheral Circadian Oscillators in Transgenic Rats. *Science* **288**, 682–685 (2000).
 47. Balsalobre, A., Damiola, F. & Schibler, U. A Serum Shock Induces Circadian Gene Expression in Mammalian Tissue Culture Cells. *Cell* **93**, 929–937 (1998).
 48. Reid, K. J. & Abbott, S. M. Jet Lag and Shift Work Disorder. *Sleep Med. Clin.* **10**, 523–535 (2015).
 49. Pace-Schott, E. F. & Hobson, J. A. The Neurobiology of Sleep: Genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat. Rev. Neurosci.* **3**, 591–605 (2002).
 50. Patton, D. F. *et al.* Circadian Mechanisms of Food Anticipatory Rhythms in Rats Fed Once or Twice Daily: Clock Gene and Endocrine Correlates. *PLOS ONE* **9**, e112451 (2014).

51. Abreu, T. & Bragança, M. The bipolarity of light and dark: A review on Bipolar Disorder and circadian cycles. *J. Affect. Disord.* **185**, 219–229 (2015).
52. Benedetti, F. *et al.* Influence of CLOCK gene polymorphism on circadian mood fluctuation and illness recurrence in bipolar depression. *Am. J. Med. Genet.* **123B**, 23–26 (2003).
53. Serretti, A. *et al.* Genetic dissection of psychopathological symptoms: insomnia in mood disorders and CLOCK gene polymorphism. *Am. J. Med. Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet. Off. Publ. Int. Soc. Psychiatr. Genet.* **121B**, 35–38 (2003).
54. Serretti, A. *et al.* Insomnia improvement during antidepressant treatment and CLOCK gene polymorphism. *Am. J. Med. Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet. Off. Publ. Int. Soc. Psychiatr. Genet.* **137B**, 36–39 (2005).
55. Katzenberg, D. *et al.* A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep* **21**, 569–576 (1998).
56. Roybal, K. *et al.* Mania-like behavior induced by disruption of CLOCK. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 6406–6411 (2007).
57. Mansour, H. A. *et al.* Association study of 21 circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia. *Bipolar Disord.* **11**, 701–710 (2009).
58. Mansour, H. A. *et al.* Association study of eight circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder and schizophrenia. *Genes Brain Behav.* **5**, 150–157 (2006).
59. Nievergelt, C. M. *et al.* Suggestive evidence for association of the circadian genes *PERIOD3* and *ARNTL* with bipolar disorder. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **141B**, 234–241 (2006).
60. Le-Niculescu, H. *et al.* Convergent functional genomics of genome-wide association data for bipolar disorder: Comprehensive identification of candidate genes, pathways and mechanisms. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr.*

- Genet.* **150B**, 155–181 (2009).
61. Soria, V. *et al.* 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* **35**, 1279–1289 (2010).
 62. Bengesser, S. A. *et al.* Is the molecular clock ticking differently in bipolar disorder? Methylation analysis of the clock gene ARNTL. *World J. Biol. Psychiatry* 1–9 (2016). doi:10.1080/15622975.2016.1231421
 63. Laposky, A. *et al.* Deletion of the mammalian circadian clock gene BMAL1/Mop3 alters baseline sleep architecture and the response to sleep deprivation. *Sleep* **28**, 395–409 (2005).
 64. Rybakowski, J. K. *et al.* Polymorphism of circadian clock genes and temperamental dimensions of the TEMPS-A in bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* **159**, 80–84 (2014).
 65. Rybakowski, J. K., Dmitrzak-Weglarz, M., Kliwicki, S. & Hauser, J. Polymorphism of circadian clock genes and prophylactic lithium response. *Bipolar Disord.* **16**, 151–158 (2014).
 66. Artioli, P. *et al.* How do genes exert their role? Period 3 gene variants and possible influences on mood disorder phenotypes. *Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol.* **17**, 587–594 (2007).
 67. Genetic and clinical factors predict lithium's effects on PER2 gene expression rhythms in cells from bipolar disorder patients. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3818008/>. (Accessed: 31st January 2017)
 68. Carpen, J. D., von Schantz, M., Smits, M., Skene, D. J. & Archer, S. N. A silent polymorphism in the PER1 gene associates with extreme diurnal preference in humans. *J. Hum. Genet.* **51**, 1122–1125 (2006).

69. Archer, S. N. *et al.* A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference. *Sleep* **26**, 413–415 (2003).
70. Nievergelt, C. M. *et al.* Examination of the clock gene Cryptochrome 1 in bipolar disorder: mutational analysis and absence of evidence for linkage or association. *Psychiatr. Genet.* **15**, 45–52 (2005).
71. Benedetti, F. *et al.* A single nucleotide polymorphism in glycogen synthase kinase 3- β promoter gene influences onset of illness in patients affected by bipolar disorder. *Neurosci. Lett.* **355**, 37–40 (2004).
72. Benedetti, F. *et al.* A glycogen synthase kinase 3- β promoter gene single nucleotide polymorphism is associated with age at onset and response to total sleep deprivation in bipolar depression. *Neurosci. Lett.* **368**, 123–126 (2004).
73. Mansour, H. A., Monk, T. H. & Nimgaonkar, V. L. Circadian genes and bipolar disorder. *Ann. Med.* **37**, 196–205 (2005).
74. Reininghaus, E. Z. *et al.* Tryptophan breakdown is increased in euthymic overweight individuals with bipolar disorder: a preliminary report. *Bipolar Disord.* **16**, 432–440 (2014).
75. Lukasiewicz, M. *et al.* Young Mania Rating Scale: how to interpret the numbers? Determination of a severity threshold and of the minimal clinically significant difference in the EMBLEM cohort. *Int. J. Methods Psychiatr. Res.* **22**, 46–58 (2013).
76. Wittchen, H.-U. *Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV: psychische Störungen ; Interviewheft und Beurteilungsheft ; SKID-I.. Achse I.* (Hogrefe, 1997).
77. Amirabadi, M. R. E. *et al.* Monoamine Oxidase A Gene Polymorphisms and Bipolar Disorder in Iranian Population. *Iran. Red Crescent Med. J.* **17**, (2015).
78. McClung, C. A. Role for the Clock Gene in Bipolar Disorder. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **72**, 637–644 (2007).

79. Ogden, C. A. *et al.* Candidate genes, pathways and mechanisms for bipolar (manic–depressive) and related disorders: an expanded convergent functional genomics approach. *Mol. Psychiatry* **9**, 1007–1029 (2004).
80. Kavčič, P. *et al.* The impact of sleep deprivation and nighttime light exposure on clock gene expression in humans. *Croat. Med. J.* **52**, 594 (2011).