

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie  
der Universität Würzburg  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. J. Deckert

**Pharmakotherapie-Epigenetik der Depression –  
DNA-Methylierung des Serotonin-Transporter-Gens  
(5-HTT, SLC6A4)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
**Anna Marlene Kropp**  
aus Frankfurt am Main

Würzburg, Juli 2017



**Referentin:** Univ.-Prof. Dr. Dr. med. Katharina Domschke, M.A. (USA)  
**Korreferent:** Univ.-Prof. Dr. med. Jürgen Deckert  
**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. med. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung: 04.06.2018**

**Die Promovendin ist Ärztin.**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Definition der Depression</b> .....	<b>1</b>
1.1.1	Diagnosekriterien nach ICD-10 und DSM-5 .....	1
1.1.2	Klinischer Verlauf der Depression .....	3
1.1.3	Differentialdiagnostik und Komorbiditäten.....	4
<b>1.2</b>	<b>Epidemiologie der Depression</b> .....	<b>5</b>
1.2.1	Risikofaktoren der Depression .....	5
<b>1.3</b>	<b>Sozioökonomische Bedeutung der Depression</b> .....	<b>6</b>
<b>1.4</b>	<b>Therapie der Depression</b> .....	<b>8</b>
1.4.1	Ablauf und Ziele der Behandlung .....	8
1.4.2	Pharmakotherapie .....	8
1.4.3	Psychotherapie .....	10
1.4.4	Nicht-pharmakologische somatische Therapieverfahren .....	10
1.4.5	Therapieresistenz.....	11
<b>1.5</b>	<b>Ätiopathogenese der Depression</b> .....	<b>12</b>
1.5.1	Monoaminmangel-Hypothese.....	13
<b>1.6</b>	<b>Genetik der Depression</b> .....	<b>13</b>
1.6.1	Klinische Genetik (Familialität und Heritabilität) .....	13
1.6.2	Molekulare Genetik (chromosomale Loci und Kandidatengene).....	14
1.6.3	Genetik des Serotonin-Transporter-Gens .....	16
<b>1.7</b>	<b>Pharmakogenetik der Depression</b> .....	<b>19</b>
1.7.1	Pharmakogenetik des Serotonin-Transporter-Gens.....	20
<b>1.8</b>	<b>Epigenetik der Depression</b> .....	<b>21</b>
1.8.1	Grundlagen der Epigenetik .....	21
1.8.2	Epigenetische Mechanismen der Depression .....	23
1.8.3	Epigenetik des Serotonin-Transporter-Gens .....	25

<b>1.9</b>	<b>Pharmakoepigenetik der Depression .....</b>	<b>27</b>
1.9.1	Epigenetische Marker als Prädiktoren des Therapieerfolg .....	27
1.9.2	Epigenetische Effekte der antidepressiven Therapie .....	29
<b>1.10</b>	<b>Fragestellung .....</b>	<b>32</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>34</b>
<b>2.1</b>	<b>Studiendesign und -ablauf.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2</b>	<b>Studienpopulation .....</b>	<b>35</b>
2.2.1	Ein- und Ausschlusskriterien.....	35
<b>2.3</b>	<b>Psychometrische Diagnostik.....</b>	<b>36</b>
2.3.1	Hamilton-Depressionskala (HAMD-21).....	36
2.3.2	Definition des Schweregrades der Depression.....	36
2.3.3	Definition des Therapieerfolgs .....	36
2.3.4	Beck-Depressions-Inventar (BDI).....	37
2.3.5	Skala zur Beurteilung des Funktionsniveaus (GAF) .....	37
<b>2.4</b>	<b>Molekularbiologische Methoden.....</b>	<b>38</b>
2.4.1	Aufbau des Serotonin-Transporter-Gens ( <i>SLC6A4</i> , <i>5-HTT</i> ) .....	38
2.4.2	Blutentnahme und Isolation der DNA .....	39
2.4.3	Genotypisierung von 5-HTTLPR/rs25531 .....	40
2.4.4	Bisulfit-Sequenzierung.....	40
<b>2.5</b>	<b>Statistische Analysen .....</b>	<b>42</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1</b>	<b>Demographische und klinische Charakteristika der Stichprobe .....</b>	<b>46</b>
3.1.1	Bisheriger Krankheitsverlauf und Komorbiditäten .....	49
3.1.2	Aktuelle Krankheitsepisode und bisherige Therapie.....	50
3.1.3	Studienverlauf und stationäre Therapie.....	52
<b>3.2</b>	<b>Schweregrad der Depression und Therapieerfolg.....</b>	<b>54</b>
3.2.1	Einflussfaktoren auf den HAMD-21-Score.....	55

<b>3.3</b>	<b><i>SLC6A4</i>-Genotypen (5-HTTLPR/rs25531)</b> .....	<b>56</b>
<b>3.4</b>	<b><i>SLC6A4</i>-Methylierungsgrad</b> .....	<b>58</b>
3.4.1	Einfluss des Genotyps auf die Methylierung .....	60
3.4.2	Weitere Einflussfaktoren auf die Methylierung .....	60
<b>3.5</b>	<b>Einfluss des <i>SLC6A4</i>-Methylierungsstatus auf die Response</b> .....	<b>62</b>
3.5.1	Korrelation von Methylierung und Änderung des HAMD-21-Scores .....	62
3.5.2	HAMD-21-Score im Wochenverlauf je nach Methylierungsstatus .....	63
3.5.3	Methylierung zu Studienbeginn und Response bzw. Remission .....	63
<b>3.6</b>	<b>Einfluss der <i>SLC6A4</i>-Methylierungsänderung auf den Therapieerfolg</b> .....	<b>66</b>
3.6.1	Korrelation der Veränderung von Methylierung und HAMD-21-Score .....	66
3.6.2	Änderung der Methylierung in Abhängigkeit von der Response .....	68
3.6.3	Änderung der Methylierung in Abhängigkeit von der Remission .....	70
<b>3.7</b>	<b><i>SLC6A4</i>-Methylierungsänderung und Psychopharmakotherapie</b> .....	<b>72</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>75</b>
<b>4.1</b>	<b>Diskussion der Methoden</b> .....	<b>75</b>
4.1.1	Studiendesign und Stichprobe .....	75
4.1.2	Psychometrische Diagnostik .....	77
4.1.3	Molekularbiologische Methoden .....	77
<b>4.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b> .....	<b>81</b>
4.2.1	Demographische und klinische Charakteristika der Stichprobe .....	81
4.2.2	Schweregrad der Depression und Therapieerfolg.....	84
4.2.3	<i>SLC6A4</i> -Genotypen (5-HTTLPR/rs25531).....	87
4.2.4	<i>SLC6A4</i> -Methylierungsgrad .....	88
4.2.5	Einfluss des <i>SLC6A4</i> -Methylierungsstatus auf die Response .....	91
4.2.6	Änderung der <i>SLC6A4</i> -Methylierung.....	95
4.2.7	Einfluss der <i>SLC6A4</i> -Methylierungsänderung auf den Therapieerfolg .....	97
4.2.8	<i>SLC6A4</i> -Methylierungsänderung und Psychopharmakotherapie .....	99
<b>4.3</b>	<b>Ausblick</b> .....	<b>102</b>

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>106</b>
<b>6</b>	<b>Verzeichnisse.....</b>	<b>108</b>
<b>6.1</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>108</b>
<b>6.2</b>	<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>129</b>
<b>6.3</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>130</b>
<b>6.4</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>130</b>

**Danksagung**

**Lebenslauf**

# 1 Einleitung

## 1.1 Definition der Depression

Die Depression (von lateinisch deprimere, niederdrücken) ist eine Störung des Affekts, die sich in einer Vielzahl von Symptomen äußern kann, jedoch insbesondere durch niedergeschlagene Stimmung, Interessenverlust und Antriebsminderung gekennzeichnet ist. Synonym zum Begriff Depression werden häufig die Bezeichnungen „depressive Episode“, „depressive Störung“, „unipolare Depression“ oder im angloamerikanischen Sprachraum „major depressive disorder“ (MDD), kurz „major depression“ verwendet.

### 1.1.1 Diagnosekriterien nach ICD-10 und DSM-5

Die depressive Erkrankung kann mithilfe der Klassifikationssysteme ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems; Graubner, 2013) oder DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; American Psychiatric Association, 2013) diagnostiziert werden. Beide Systeme orientieren sich am Verlauf (einmalig bzw. rezidivierend) sowie dem Schweregrad (leicht, mittelgradig, schwer) der Erkrankung. Die depressive Erkrankung nach ICD-10 (F32, depressive Episode bzw. F33, rezidivierende depressive Störung) entspricht der „major depression“ (single episode bzw. recurrent episode) des DSM-5.

Da das klinische Bild einer Depression sehr unterschiedlich ausgeprägt sein kann, basieren die Diagnosekriterien der Depression nach ICD-10 auf einer Reihe von Haupt- und Zusatzsymptomen (Abb. 1). Die Patienten leiden unter einer dauerhaft gedrückten Stimmung und beklagen den Verlust von Freude und Interessen sowie einen verminderten Antrieb bei alltäglichen Tätigkeiten. Die Antriebsminderung kann sich in einer psychomotorischen Hemmung zeigen, aber auch Agitiertheit ist möglich. Hinzu kommen oft Gefühle der Wertlosigkeit oder vermindertes Selbstvertrauen sowie unangemessene Schuldgefühle. Diese Gefühle können dazu führen, dass der Patient Selbstmordgedanken entwickelt oder suizidales Verhalten zeigt. Auch das Denk- und Konzentrationsvermögen kann beeinträchtigt sein. Des Weiteren können jede Art von Schlafstörungen (Ein-/Durchschlafstörungen, Hypo-/Hypersomnie) und Veränderungen des

Appetits, die mit Gewichtsveränderungen einhergehen, auftreten (Dilling und World Health Organization, 2006). Der Schweregrad der Depression ergibt sich aus der Anzahl und Kombination dieser Symptome (Abb. 1). Bei schweren Depressionen ist zusätzlich das Vorhandensein von psychotischen Symptomen (Wahn oder depressiver Stupor) möglich und entsprechend kodierbar.

Die Symptome müssen über einen Zeitraum von mindestens zwei Wochen anhalten und dürfen nicht durch Substanzmissbrauch oder eine organische Störung bedingt sein. Ferner dürfen anamnestisch keine (hypo-)manischen Symptome vorhanden sein. Bei der rezidivierenden Depression wechseln sich Phasen depressiver Symptomatik mit beschwerdefreien Intervallen ab, die mindestens zwei Monate dauern (Dilling und World Health Organization, 2006). Im DSM-5 wird als zusätzliches Kriterium gefordert, dass aus den Symptomen eine erhebliche soziale, berufliche oder sonstige Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit hervorgeht (American Psychiatric Association, 2013).

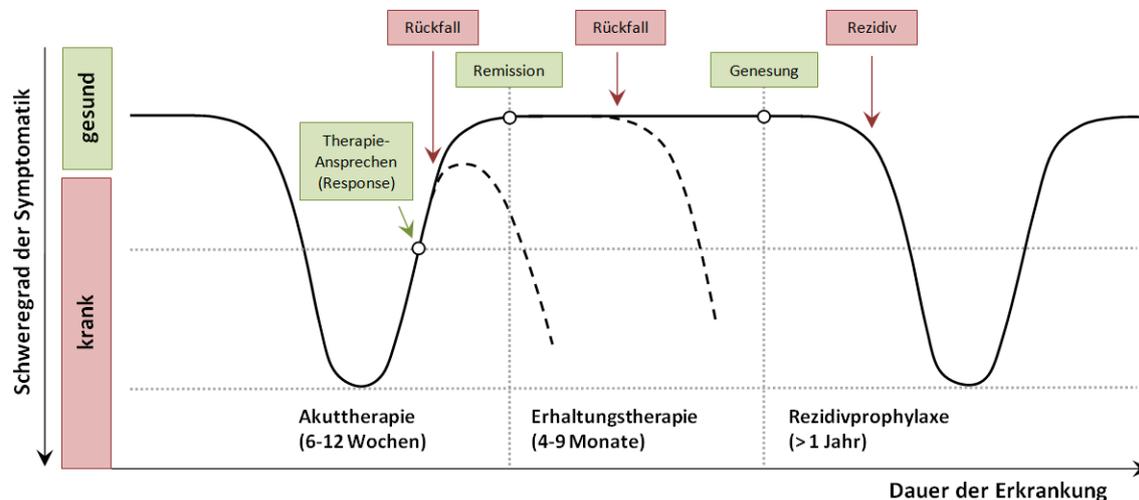
		Schweregrad				
<b>Gesamtzahl der Symptome</b>		4-5	6-7	≥ 8		
<b>Anzahl der Hauptsymptome</b> - depressive Stimmung - Interesse-/Freudlosigkeit - Antriebsminderung		≥ 2	≥ 2	3		
		+	+	+		
<b>Anzahl der Zusatzsymptome</b> - Selbstwertgefühl ↓ - Schuldgefühle - suizidale Ideation - Konzentration ↓ - Hemmung oder Unruhe - Schlafstörungen - Appetitsveränderung		1-3	3-5	≥ 5		
		↓	↓	↓		
		<b>leicht</b>	<b>mittel</b>	<b>schwer</b>		
		Fxx.0	Fxx.1	Fxx.2 / Fxx.3		
<b>psychotische Symptome?</b>				nein	ja	
		↓	↓	↓	↓	
Verlauf		Symptome > 2 Wochen				remittiert
<b>monophasisch</b>	F32.x	F32.0	F32.1	F32.2	F32.3	F32.4
<b>rezidivierend</b>	F33.x	F33.0	F33.1	F33.2	F33.3	F33.4

**Abb. 1. Kodierung der Depression nach ICD-10**

Die Diagnose ergibt sich aus dem Schweregrad und dem Verlauf der Depression. Der Schweregrad wird aus der Anzahl der Haupt- und Zusatzsymptome ermittelt. Eine einzelne depressive Episode wird unter F32, eine rezidivierende Depression unter F33 kodiert. Abbildung modifiziert nach DGPPN et al., 2009.

### 1.1.2 Klinischer Verlauf der Depression

Die depressive Erkrankung ist eine meist phasenweise verlaufende Krankheit mit Episoden von unterschiedlicher Häufigkeit und Dauer (Abb. 2). Bei der Mehrzahl der behandelten Patienten klingt die Depression innerhalb von drei bis sechs Monaten ab (Spijker et al., 2002; Kessler et al., 2003; Keller et al., 1992). Bei 10-30 % kommt es jedoch zur Chronifizierung der Depression ohne Besserung der Symptomatik für über 24 Monate (Spijker et al., 2002). In bis zu 85 % der Fälle verläuft die depressive Erkrankung rezidivierend (Mueller et al., 1999), wobei durchschnittlich vier bis sechs Krankheitsphasen durchlaufen werden (Angst, 1986). Risikofaktoren für die Entwicklung eines Rezidivs sind affektive Erkrankungen in der Familie, psychiatrische Komorbiditäten, junges Alter zu Erkrankungsbeginn sowie eine schwere erste Episode und häufige depressive Episoden (Burgum und Iacono, 2007). So steigt das Risiko eines Rezidivs von < 60 % nach der ersten Episode auf 60-90 % nach der zweiten und > 95 % nach der dritten Episode (Keller, 1999; Keller et al., 1992).



**Abb. 2. Verlauf der depressiven Erkrankung**

Die unipolare Depression verläuft häufig episodisch rezidivierend. Angepasst an diesen Krankheitsverlauf unterscheidet man drei Phasen der Behandlung. Eine Symptomlinderung um 50 % während der Akuttherapie bezeichnet man als Response. Dagegen versteht man unter Remission die Rückkehr zum normalen Niveau eines nahezu symptomfreien Zustands. Von Genesung spricht man erst, wenn der Patient auch über einen längeren Zeitraum symptomfrei geblieben ist (DGPPN et al., 2015). Abbildung modifiziert nach Kupfer, 1991.

### **1.1.3 Differentialdiagnostik und Komorbiditäten**

Im Rahmen der Diagnostik sollte eruiert werden, ob der Depression eine organische Ursache wie eine strukturelle Hirnerkrankung (z.B. Tumor, Infarkt) oder eine begünstigende Begleiterkrankung (z.B. koronare Herzkrankheit, Schilddrüsenfunktionsstörung) zugrunde liegt. Auch verschiedene Medikamente (z.B. Betablocker, Glukokortikoide) können zur Entstehung einer Depression beitragen (Möller et al., 2009). Differentialdiagnostisch sollten andere psychische Erkrankungen berücksichtigt werden, die mit einer depressiven Symptomatik einher gehen. Wichtig ist außerdem die Abgrenzung zu pathologischer Trauer und posttraumatischer Belastungsstörung sowie depressiver Anpassungsstörung (Shear, 2015; Casey, 2008). Ebenso kann eine bipolare Erkrankung, die oft mit einer depressiven Episode beginnt oder bei der noch keine eindeutig manische Phase nachweisbar ist, zunächst als unipolare („pseudounipolare“) Depression fehldiagnostiziert werden (Phillips und Kupfer, 2013). Depressive Symptome können auch bei Erkrankungen des schizophränen Formenkreises in allen Phasen des Krankheitsverlaufs auftreten. Insbesondere schizoaffektive Psychosen und die Negativsymptomatik bei Schizophrenie können eine Depression imitieren (Bartels und Drake, 1988). Da die depressive Erkrankung mit einer Störung der Konzentration und des Gedächtnisses einhergehen kann, ist besonders bei älteren Patienten die Unterscheidung zu einer beginnenden Demenz schwierig („Pseudodemenz“), zumal Depression und Demenz auch häufig komorbid verlaufen (Wright und Persad, 2007). Psychiatrische und somatische Komorbiditäten kommen im Rahmen der depressiven Erkrankung häufig vor. 60-70 % der Patienten haben eine weitere, 30-40 % sogar mehrere psychische Erkrankungen, darunter insbesondere Angsterkrankungen und Substanzmissbrauch, v.a. von Alkohol (Otte, 2008). Betrachtet man die somatischen Komorbiditäten, so leiden Patienten mit Depression im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung häufiger an kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus, Reizdarmsyndrom und einigen Tumorentitäten (Uzun et al., 2009).

## **1.2 Epidemiologie der Depression**

Die unipolare Depression ist weltweit eine der häufigsten Erkrankungen (Mathers et al., 2008). Epidemiologischen Schätzungen zufolge leben alleine in Europa 30,3 Millionen Menschen mit dieser Krankheit. Mit einer 12-Monats-Prävalenz von 6,9 % liegt die Depression damit nach den Angst- und Schlafstörungen auf Platz drei der häufigsten psychiatrischen Erkrankungen (Wittchen et al., 2011). Die 12-Monats-Prävalenz in Deutschland wird je nach Studie zwischen 6 % und 10 % angegeben (Busch et al., 2013; Erhart und Stillfried, 2012; Jacobi et al., 2014). Auffällig ist ein deutlicher Geschlechterunterschied der Prävalenz der depressiven Erkrankung. Nach mehreren nationalen und internationalen Studien leiden Frauen doppelt so häufig unter Depression wie Männer (Busch et al., 2013; Erhart und Stillfried, 2012; Wittchen et al., 2011). Das Risiko jemals in ihrem Leben an Depression zu erkranken liegt bei Frauen bei 15,4 % und damit deutlich höher als die Lebenszeitprävalenz bei Männern mit 7,8 %. (Busch et al., 2013). Das Alter bei Ersterkrankung beträgt durchschnittlich 25 Jahre (Bromet et al., 2011), und die Krankheitshäufigkeit zeigt einen zweigipfligen Altersverlauf mit der höchsten Prävalenz im Alter von 55-60 Jahren und 85-90 Jahren (Erhart und Stillfried, 2012).

### **1.2.1 Risikofaktoren der Depression**

Neben dem oben beschriebenen Geschlechterverhältnis mit erhöhtem Erkrankungsrisiko für Frauen und der charakteristischen Altersverteilung zählen weitere soziodemographische Merkmale zu den Risikofaktoren der depressiven Erkrankung: Unverheiratete, geschiedene und verwitwete Personen erkranken häufiger als Verheiratete (Kessler et al., 2003). Ferner erhöht ein niedriger sozioökonomischer Status bedingt durch Arbeitslosigkeit oder Armut das Risiko zu erkranken (Kessler et al., 2003; Busch et al., 2013). Bezüglich des Wohnorts findet sich die größte Prävalenz der Depression in Großstädten (Busch et al., 2013). Außerdem zählen familiäre und persönliche Faktoren wie Depression in der Familienanamnese, belastende Lebensereignisse und komorbide psychische Erkrankungen zu den Risikofaktoren der Depression (Burcusa und Iacono, 2007).

### **1.3 Sozioökonomische Bedeutung der Depression**

Die depressive Erkrankung hat sowohl für den einzelnen Betroffenen und sein soziales Umfeld als auch für die gesamte Gesellschaft enorme Kosten und Belastungen zur Folge. Ein Maß für die Last einer Erkrankung ist die Kennzahl der DALYs („disability-adjusted life years“, behinderungsbereinigte Lebensjahre). Diese berücksichtigt die Sterblichkeit und die Beeinträchtigung des beschwerdefreien Lebens durch eine Erkrankung mittels Addition der aufgrund von Mortalität und Morbidität verlorenen Lebensjahre (Deveesschauwer et al., 2014). In Europa ist die Depression für 4.320.400 DALYs jährlich (Stand 2004) verantwortlich und liegt damit auf Platz 1 unter den neuropsychiatrischen Erkrankungen. Gemessen an allen Krankheiten trägt die Depression zu 7,2 % der Krankheitslast bei. Insbesondere bei Frauen ist jedes zehnte verlorene Jahr (10,3 % aller DALYs) bedingt durch die depressive Erkrankung (Wittchen et al., 2011).

Die Mortalität von Patienten mit Depression ist mit einem relativen Risiko von 1,81 im Vergleich zu Gesunden erhöht (Cuijpers und Smit, 2002). Dieser Tatsache liegen verschiedene Ursachen zugrunde, wobei das Suizidrisiko unumstritten eine wichtige Rolle spielt. Die Lebenszeit-Suizidmortalität bei depressiver Erkrankung beträgt ca. 4 %, bei schweren depressiven Episoden sogar 14-15 % (Wolfersdorf, 2008). Das entspricht etwa einem Siebtel aller Patienten mit Depression. Außerdem liegt bei etwa 55-85 % aller Suizidopfer eine depressive Erkrankung vor (Rihmer, 2007). Risikofaktoren für suizidales Verhalten sind männliches Geschlecht, hohes Lebensalter, Gefühle der Hoffnungslosigkeit oder Wertlosigkeit, Angst, Unruhe, depressiver Wahn und imperative Stimmen, psychiatrische oder somatische Komorbiditäten sowie Suizid in der Familienanamnese, vorangegangener Suizidversuch und Suizidgedanken (Wolfersdorf, 2008; Rihmer, 2007). Letztere sind sehr häufig und kommen bei 50-70 % der Patienten mit Depression vor (Sokero et al., 2003). Das erhöhte Suizidrisiko erklärt jedoch nur einen kleinen Teil der erhöhten Sterblichkeit bei Depression (Cuijpers und Schoevers, 2004). Vielmehr wird die Assoziation der Depression mit dem Auftreten, der Aufrechterhaltung und Verschlechterung somatischer, v.a. kardiovaskulärer Erkrankungen für die erhöhte Mortalität verantwortlich gemacht. Als weitere Ursachen gelten endokrino-

logische Veränderungen, eine geringere Aktivität des Immunsystems und schlechteres Gesundheitsverhalten, darunter z.B. Nikotin- und Alkoholabusus, Übergewicht und geringere Therapieadhärenz (Kessler und Bromet, 2013).

Die Belastung des Betroffenen ergibt sich aus der depressiven Symptomatik, die mit Einschränkungen der alltäglichen Leistungsfähigkeit und psychosozialen Konsequenzen einhergeht. Die Depression erhöht das Risiko einer vorzeitigen Beendigung der Schul- ausbildung, führt im beruflichen Leben zu geringerer Arbeitsleistung sowie einer hohen Anzahl von Krankheitstagen und ist mit Arbeitslosigkeit und geringerem Einkommen assoziiert (Kessler und Bromet, 2013). Personen, die unter Depression leiden, haben eine geringere Wahrscheinlichkeit jemals zu heiraten sowie ein erhöhtes Risiko für Gewalt in der Ehe und Scheidung. Außerdem besteht eine höhere Wahrscheinlichkeit bereits im Jugendalter Kinder zu bekommen und Defizite im Erziehungsverhalten zu entwickeln (Kessler und Bromet, 2013). Insgesamt gesehen verursachen depressive Erkrankungen die höchste Beeinträchtigung gemessen in den Bereichen Haushalt, Beruf, Sozialleben und Beziehungen, noch vor Krankheiten wie Krebs, Herzerkrankungen oder Diabetes mellitus (Ormel et al., 2008).

Die Belastung der Gesellschaft durch depressive Erkrankungen ergibt sich aus den hohen Behandlungskosten und Arbeitsausfällen. In Europa liegen die Kosten für affektive Störungen auf Platz 1 in der Liste der neuropsychiatrischen Erkrankungen. Die Depression verursacht davon mit jährlich fast 92 Milliarden Euro den größten Anteil, das entspricht ungefähr 3.000 Euro pro Patient und Jahr (Olesen et al., 2012). Ferner werden etwa 7 % aller Arbeitsunfähigkeitstage durch depressive Erkrankungen verursacht (Stand 2013). Dabei fällt v.a. die hohe Dauer der einzelnen Krankschreibungen auf, die in Abhängigkeit vom Schweregrad zwischen 30 und 50 Tage bei leichter und über 100 Tage bei schwerer Depression beträgt (TK-Pressestelle, 2015).

## **1.4 Therapie der Depression**

Die Therapie der Depression basiert auf drei Säulen: Pharmakotherapie, Psychotherapie und nicht-pharmakologische somatische Therapieverfahren. Eine Kombination der verschiedenen Behandlungsmöglichkeiten ist meist sinnvoll. Neben einer ausführlichen Aufklärung des Patienten kann die Therapie durch Psychoedukation, aktive Mitarbeit des Patienten und ggf. Einbeziehung von Angehörigen unterstützt werden. Je nach Schwere der depressiven Episode erfolgt die Behandlung entweder ambulant oder stationär, dies v.a. bei Suizidalität und psychotischen Symptomen (DGPPN et al., 2009). Die Auswahl des Therapieregimes sollte in Absprache mit dem Patienten erfolgen und die Anamnese des Patienten, Subtyp und Schweregrad der aktuellen depressiven Episode, psychosoziale Belastungsfaktoren und Suizidrisiko, Komorbiditäten und Komedikation sowie vorangegangene Therapiepläne berücksichtigen (Bauer et al., 2013).

### **1.4.1 Ablauf und Ziele der Behandlung**

Die antidepressive Therapie gliedert sich in drei Behandlungsphasen (Abb. 2). Zu Beginn steht die Akuttherapie mit dem Ziel einer deutlichen Reduktion der depressiven Symptomatik bis hin zur Remission (siehe Kapitel 2.3.3). Diese dauert im Allgemeinen zwischen 6 und 12 Wochen. Daran anschließend erfolgt eine Erhaltungstherapie zur Vermeidung eines Rückfalls. Hierbei wird über einen Zeitraum von bis zu einem Jahr die Medikamentendosis beibehalten bzw. die Psychotherapie fortgeführt. Bei erhöhtem Rezidivrisiko sollte im Anschluss eine Langzeitprophylaxe für mindestens zwei Jahre erwogen werden (DGPPN et al., 2009).

### **1.4.2 Pharmakotherapie**

Zur Pharmakotherapie der Depression stehen verschiedene Antidepressiva zur Auswahl, die sich anhand ihres biochemischen Wirkmechanismus in unterschiedliche Substanzgruppen einteilen lassen (Tab. 1). Antidepressiva sind die Therapie der Wahl bei mittlerer und schwerer Depression. Ihr Nutzen bei leichten depressiven Episoden ist umstritten (Baghai et al., 2011). Die meisten der heute verfügbaren Medikamente basieren auf der Entdeckung der trizyklischen Antidepressiva, die die Verfügbarkeit

monoaminerger Neurotransmitter im Gehirn erhöhen (Berton und Nestler, 2006). Ein Mangel dieser Neurotransmitter wird daher ursächlich mit der Entstehung der Depression in Verbindung gebracht (siehe Kapitel 1.5.1). Anhand dieses Wirkmechanismus wurden neuere Medikamente entwickelt, die durch selektive Blockade des jeweiligen Transportproteins die Wiederaufnahme von Serotonin und/oder Noradrenalin in die Präsynapse hemmen (z.B. SSRI, SNRI) und somit deren Konzentration im synaptischen Spalt erhöhen (Berton und Nestler, 2006). Obwohl die pharmakologischen Angriffspunkte der meisten Antidepressiva bekannt sind, ist deren vollständige Wirkweise bis heute ungeklärt. Neben den genannten Effekten verursachen antidepressive Medikamente eine Vielzahl anderer biochemischer Veränderungen im Gehirn. Die Relevanz der einzelnen Mechanismen für die klinische Wirksamkeit ist jedoch nicht bekannt (Green, 1988; Berman und Charney, 1999).

Bei der Anwendung von Antidepressiva ist eine Latenz von ein bis zwei Wochen bis zum Eintritt der antidepressiven Wirkung zu beachten. Im Gegensatz dazu können die Nebenwirkungen jedoch bereits mit Beginn der Therapie auftreten. Verbessert sich die depressive Symptomatik nicht innerhalb von 3-4 Wochen, sollte die initiale Therapie überprüft werden (DGPPN et al., 2009).

**Tab. 1. Übersicht gebräuchlicher antidepressiver Medikamente**

<b>Substanzgruppe</b>
<i>Beispielsubstanzen</i>
<b>Tri-/tetrazykl. Antidepressiva (TZA), nichtselektive Monoamin-Rückaufnahme-Inhibitoren (NSMRI)</b>
Imipramin, Amitriptylin, Nortriptylin, Trimipramin, Clomipramin, Doxepin, Opipramol, Maprotilin
<b>Selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren (SSRI)</b>
Citalopram, Escitalopram, Sertralin, Paroxetin, Fluoxetin, Fluvoxamin
<b>Selektive Serotonin-/Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren (SNRI)</b>
Venlafaxin, Duloxetin, Milnacipran
<b>Selektive Noradrenalin-Dopamin-Rückaufnahme-Inhibitoren (NDRI)</b>
Bupropion
<b>Noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva (NaSSA)</b>
Mirtazapin
<b>Monoaminoxidase (MAO)-Inhibitoren (MAOI)</b>
Moclobemid, Tranylcypromin
<b>Melatonin-Rezeptor-Agonist (MRA) und Serotonin-Rezeptor-Antagonist</b>
Agomelatin

Antidepressiva lassen sich anhand ihrer pharmakologischen Angriffspunkte in verschiedene Substanzgruppen einteilen. Häufig verwendete Substanzen sind als Beispiel angegeben.

Die Behandlung der Depression mit Antidepressiva kann zur Steigerung der Wirksamkeit durch weitere Medikamente ergänzt werden. Für diese Augmentation eignen sich atypische Neuroleptika (Quetiapin, Aripiprazol) oder Lithium (Bauer et al., 2013). Letzteres wirkt zusätzlich antisuizidal und kann zur Rezidivprophylaxe eingesetzt werden (DGPPN et al., 2009). Patienten, die unter Depression mit psychotischen Symptomen leiden, profitieren von einer Kombinationstherapie mit Antipsychotika (Wijkstra et al., 2013). Bei depressiver Symptomatik mit Angst, Unruhe und Schlaflosigkeit kann ein überbrückender Einsatz von Benzodiazepinen bis zum Wirkeintritt der Antidepressiva sinnvoll sein, wobei hier das Abhängigkeitspotential zu beachten ist (DGPPN et al., 2009).

### **1.4.3 Psychotherapie**

Die Psychotherapie kommt sowohl in der Akut- als auch in der Erhaltungstherapie, in Kombination mit Antidepressiva oder auch als Monotherapie zum Einsatz. Grundlage dieses Therapiekonzepts ist die Beziehung zwischen Therapeut und Patient sowie die Anwendung psychologischer Methoden (DGPPN et al., 2009). Hierbei stehen mehrere spezifische psychotherapeutische Verfahren zur Verfügung. Im Rahmen der kognitiven Verhaltenstherapie (CBT) werden dem Patienten psychoedukativ mögliche Zusammenhänge zwischen Gedanken, Emotionen und Verhalten vermittelt. Die CBT wird ergänzt durch kognitive Übungen sowie Verhaltensübungen, die dem Aktivitätsaufbau und der Verbesserung der sozialen Integration dienen (Hautzinger, 2008). Bei der interpersonellen Psychotherapie (IPT) werden v.a. zwischenmenschliche und psychosoziale Angelegenheiten des Patienten (z.B. Trauer, Konflikte) thematisiert und an deren Problembewältigung gearbeitet (Hautzinger, 2008). Komplementär kommen Fachtherapien wie u.a. Ergotherapie, Kunst- und Musiktherapie oder Entspannungstechniken zum Einsatz (DGPPN et al., 2009).

### **1.4.4 Nicht-pharmakologische somatische Therapieverfahren**

Verschiedene somatische Therapieverfahren werden in besonderen Fällen meist in Kombination mit der Pharmako- oder Psychotherapie eingesetzt. Die Elektrokrampf-

therapie (EKT) ist bei schwerer therapieresistenter Depression insbesondere mit psychotischen Symptomen indiziert. Durch Auslösung eines generalisierten Krampfanfalls unter Kurznarkose und Muskelrelaxation werden komplexe neurobiologische Mechanismen induziert. Die EKT wird in der Akuttherapie als Serie von meist zwölf Behandlungen durchgeführt und eignet sich auch zur Erhaltungstherapie (Merkl et al., 2009; DGPPN et al., 2009). Des Weiteren haben Schlafentzug, Lichttherapie und körperliches Training einen positiven Effekt auf die depressive Symptomatik (DGPPN et al., 2009).

#### **1.4.5 Therapieresistenz**

Trotz vielfältiger Behandlungsverfahren ist der Therapieverlauf vieler Patienten geprägt durch mangelhaftes Ansprechen auf Medikamente, wechselnde Therapieversuche und fehlende Besserung der depressiven Symptomatik. 60-70 % aller Patienten sprechen auf eine antidepressive Therapie an (Response), gemessen an der Reduktion der depressiven Symptomatik um die Hälfte (Boulenger, 2004). Demnach zeigen etwa 30-40 % der Patienten kein ausreichendes Therapieansprechen auf das initial eingesetzte Antidepressivum (DGPPN et al., 2009; Domschke, 2008). Darüber hinaus liegen die Remissionsraten nach antidepressiver Therapie nur bei 20-30 % (Ferrier, 1999). Etwa die Hälfte der Therapie-Responder (DGPPN et al., 2009) bzw. 30-40 % aller Patienten (Boulenger, 2004) leiden demzufolge trotz Therapieansprechens immer noch an depressiver Symptomatik. Neben der andauernden psychosozialen Belastung erhöht die Persistenz der Residualsymptomatik bei den Betroffenen das Risiko eines Rückfalls und die Gefahr eines früheren Rezidivs (Kennedy und Paykel, 2004). Für die verschiedenen Definitionen des Therapieerfolgs und Wiedererkrankens siehe auch Abb. 2 und Kapitel 2.3.3.

Die Ursachen und Prädiktoren des Nichtansprechens sowie der unvollständigen Remission sind vielfältig. Diskutiert werden verschiedene klinische und biologische Faktoren, die jeweils aber nur einen sehr kleinen Anteil der Varianz des Therapieansprechens auf Antidepressiva ausmachen (Schmauss und Messer, 2010). Einen nachgewiesenen Einfluss auf den Therapieerfolg haben das Alter, der Krankheitsverlauf und Schweregrad

der Depression, psychiatrische und somatische Komorbiditäten, bestimmte Persönlichkeitsmerkmale, sowie pharmakokinetische Unterschiede im Medikamentenmetabolismus (El-Hage et al., 2013; Schmauss und Messer, 2010; Bennabi et al., 2015). Die Auswirkungen genetischer und epigenetischer Mechanismen auf die Pharmakotherapie werden in den Kapiteln 1.7 und 1.9 näher betrachtet. Trotz intensiver Untersuchung der Therapieresistenz ist es bis heute über die klinische Erfahrung hinaus nicht möglich vorherzusagen, welche Behandlungsstrategie für welchen Patienten am besten geeignet und erfolgversprechend ist. Bei der Therapieauswahl werden zurzeit v.a. anamnestische und psychopathologische Faktoren berücksichtigt, um das Therapieansprechen zu optimieren. Biologische Marker haben noch keinen Stellenwert in der klinischen Routine (Schmauss und Messer, 2010).

## **1.5 Ätiopathogenese der Depression**

Die Depression ist eine sehr heterogene Krankheit. Diese Heterogenität ist Ausdruck einer komplexen und multifaktoriellen Ätiopathogenese, die bis heute noch nicht vollständig verstanden ist (Mill und Petronis, 2007). Die Entstehung der Depression lässt sich mithilfe des Vulnerabilitäts-Stress-Modells veranschaulichen. Dieses besagt, dass prädisponierende Einflüsse die Vulnerabilität eines Menschen erhöhen. Kommen zu dieser Vorbelastung zusätzliche Stressoren hinzu, sodass die individuelle Belastungsschwelle überschritten wird, führt dies zur Ausbildung von Symptomen (Wittchen und Hoyer, 2011). Genetik, Epigenetik und Umweltfaktoren sowie deren Wechselwirkung bilden die Grundlage der Prädisposition eines Patienten (Mill und Petronis, 2007). Darunter finden sich neurobiologische Faktoren (z.B. Dysbalancen im Regelkreis verschiedener Neurotransmitter und Veränderungen im Stresshormonhaushalt), bestimmte Persönlichkeitszüge und kognitive Überzeugungen, psychosoziale Faktoren (insbesondere kritische Lebensereignisse und fehlende Ressourcen zu deren Bewältigung) sowie somatische Faktoren wie Komorbiditäten und Medikamente (Laux und Möller, 2011).

### **1.5.1 Monoaminmangel-Hypothese**

Als ätiologisch wichtigste Neurotransmitter-Dysbalance wird ein Mangel an Botenstoffen des monoaminergen Systems angesehen. Diese sog. Monoaminmangel-Hypothese beruht auf der pharmakologischen Wirkweise antidepressiver Medikamente (vgl. Kapitel 1.4.2) und geht von einer Depletion von Serotonin, Noradrenalin und Dopamin im zentralen Nervensystem als Ursache der Depression aus (Delgado, 2000). Die Theorie wird durch verschiedene Studienergebnisse unterstützt: So zeigen depressive Patienten geringere Spiegel eines Serotonin-Metaboliten im Liquor sowie Veränderungen der Dichte der verschiedenen postsynaptischen Serotonin-Rezeptoren und eine erhöhte Zahl präsynaptischer serotonerger und adrenerger Autorezeptoren in der Bildgebung und in Untersuchungen *post mortem* (Delgado, 2000; Hamon und Blier, 2013).

Da der Fokus dieser Arbeit auf den genetischen und insbesondere den epigenetischen Mechanismen der Depression liegt, gehen die nächsten Kapitel näher auf die Genetik und Epigenetik der depressiven Erkrankung ein.

## **1.6 Genetik der Depression**

Die Heterogenität der depressiven Erkrankung zeigt sich auch in ihrer Genetik. Die Depression ist eine komplex-genetische Erkrankung, die nicht den Regeln der Mendelschen Vererbung folgt. Vielmehr wird vermutet, dass der Krankheit polygene Ursachen mit multiplikativem Effekt zugrunde liegen. Dabei könnten sowohl viele allgemein vorkommende Genvarianten mit geringer Penetranz als auch seltene Genvarianten mit stärkerem Effekt zur Entstehung der Krankheit beitragen (Domschke und Reif, 2012; McGuffin et al., 2007). Die Erforschung der genetischen Ursachen der Depression hat sich dementsprechend als schwierig erwiesen.

### **1.6.1 Klinische Genetik (Familialität und Heritabilität)**

Familienstudien geben erste Hinweise auf die Erbllichkeit einer Erkrankung. Angehörige mit einem erstgradig Verwandten, der unter Depression leidet, haben selbst ein erhöh-

tes Risiko zu erkranken. Die Meta-Analyse mehrerer Familienstudien ergab hierfür eine Odds Ratio von 2,84 (Sullivan et al., 2000), also eine erhöhte „Famillialität“. Allerdings können Familienstudien nicht zwischen genetischen Einflüssen und geteilten Umweltfaktoren unterscheiden. Hierzu verwendet man Zwillings- und Adoptionsstudien. In Zwillingsstudien liegt die „Heritabilität“ der Depression, d.h. der genetisch bedingte Anteil an der Varianz, bei 30-40 % (Sullivan et al., 2000; Kendler et al., 2006). Der Einfluss interindividuell verschiedener Umweltfaktoren wird mit 60-65 % angegeben, und der Anteil der geteilten Umwelt wird auf weniger als 5 % geschätzt (Sullivan et al., 2000). Im Gegensatz dazu belegen die wenigen vorhandenen Adoptionsstudien v.a. die elterliche Depression als umweltbedingten Risikofaktor für eine depressive Erkrankung des Kindes (Tully et al., 2008; Marmorstein et al., 2012). Einige Zwillingsstudien fanden einen Unterschied in der Heritabilität der Depression zwischen Frauen und Männern (Kendler et al., 2006; Bierut et al., 1999), die Studienlage hierzu ist jedoch widersprüchlich (Sullivan et al., 2000). Bei bestimmten Subtypen der depressiven Erkrankung (z.B. rezidivierende Depression) oder unter Verwendung strengerer Diagnosekriterien wird eine höhere Heritabilität von bis zu 70 % diskutiert (McGuffin et al., 2007).

### **1.6.2 Molekulare Genetik (chromosomale Loci und Kandidatengene)**

Um die genetischen Ursachen einer Krankheit auf molekularer Ebene zu lokalisieren bedient man sich Kopplungs- oder Assoziationsstudien, die das gesamte Genom abdecken, sowie Kandidatengenstudien, bei denen einzelne Gene untersucht werden, die aufgrund ihrer Funktion eine Rolle in der Pathogenese spielen könnten. Trotz der signifikanten Heritabilität der depressiven Erkrankung liefern diese Methoden bisher nur wenige aussichtsreiche und zum Teil sehr widersprüchliche oder nicht replizierbare Ergebnisse (Cohen-Woods et al., 2013).

Kopplungsstudien untersuchen die Vererbung genetischer Marker in Verwandten mit positiver Familienanamnese für Depression oder mit Charaktereigenschaften, die mit einer erhöhten Vulnerabilität für Depression in Verbindung gebracht werden. Tritt ein solcher Marker in der Familie überzufällig häufig mit der Krankheit gekoppelt auf, kön-

nen anhand der Lokalisation dieses Markers im Genom chromosomale Regionen ermittelt werden, die einen Einfluss auf die Erkrankung haben. Auf diese Weise wurde bereits eine Vielzahl chromosomaler „Risiko-Loci“ der Depression identifiziert (Zubenko et al., 2003; Holmans et al., 2004; Camp et al., 2005; Middeldorp et al., 2009; Breen et al., 2011). Zu den vielversprechendsten Ergebnissen gehören Regionen auf den Chromosomen 2, 3, 8, 11, 12, 15 und 18 (Camp und Cannon-Albright, 2005; Flint und Kendler, 2014). Bei einigen der Marker wird eine Kopplung jedoch nur vermutet, da das Signifikanzniveau nicht erreicht wurde (Camp et al., 2005; Middeldorp et al., 2009). Außerdem waren die Ergebnisse nur bedingt reproduzierbar. Ferner schienen einige der Loci geschlechtsspezifisch zu sein (Holmans et al., 2004; Camp et al., 2005). Eine Studie identifizierte eine mögliche Kopplung auf Chromosom 17 in einer Region, die das Serotonin-Transporter-Gen beinhaltet (Middeldorp et al., 2009). Aus diesen Kopplungsbefunden ergeben sich also sogenannte „positionelle“ Kandidatengene, die in Assoziationsstudien näher untersucht werden können.

Assoziationsstudien untersuchen den Zusammenhang zwischen genetischen Markern und Krankheiten mittels Vergleich von Patienten und gesunden Kontrollpersonen. Auch hier kann durch gemeinsames Auftreten von Marker und Krankheit auf Suszeptibilitätsgene geschlossen werden.

Der technische Fortschritt auf dem Gebiet der DNA-Sequenzierung und der Chip-Technologie ermöglicht genomweite Analysen von einigen Millionen Markern in mehreren tausend Individuen. Die neun bislang publizierten genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) konnten jedoch keine eindeutigen, genomweit signifikanten Ergebnisse erzielen (Sullivan et al., 2009; Lewis et al., 2010; Muglia et al., 2010; Rietschel et al., 2010; Kohli et al., 2011; Shi et al., 2011; Shyn et al., 2011; Wray et al., 2012; Ripke et al., 2013). Lediglich Kohli et al. fanden in einer Meta-Analyse eine genomweit signifikante Assoziation auf Chromosom 12q. Jedoch befindet sich in dieser Region keine kodierende Gensequenz. Das nächstgelegene, annotierte Gen ist *SLC6A15*, das für einen Aminosäuretransporter kodiert (Kohli et al., 2011).

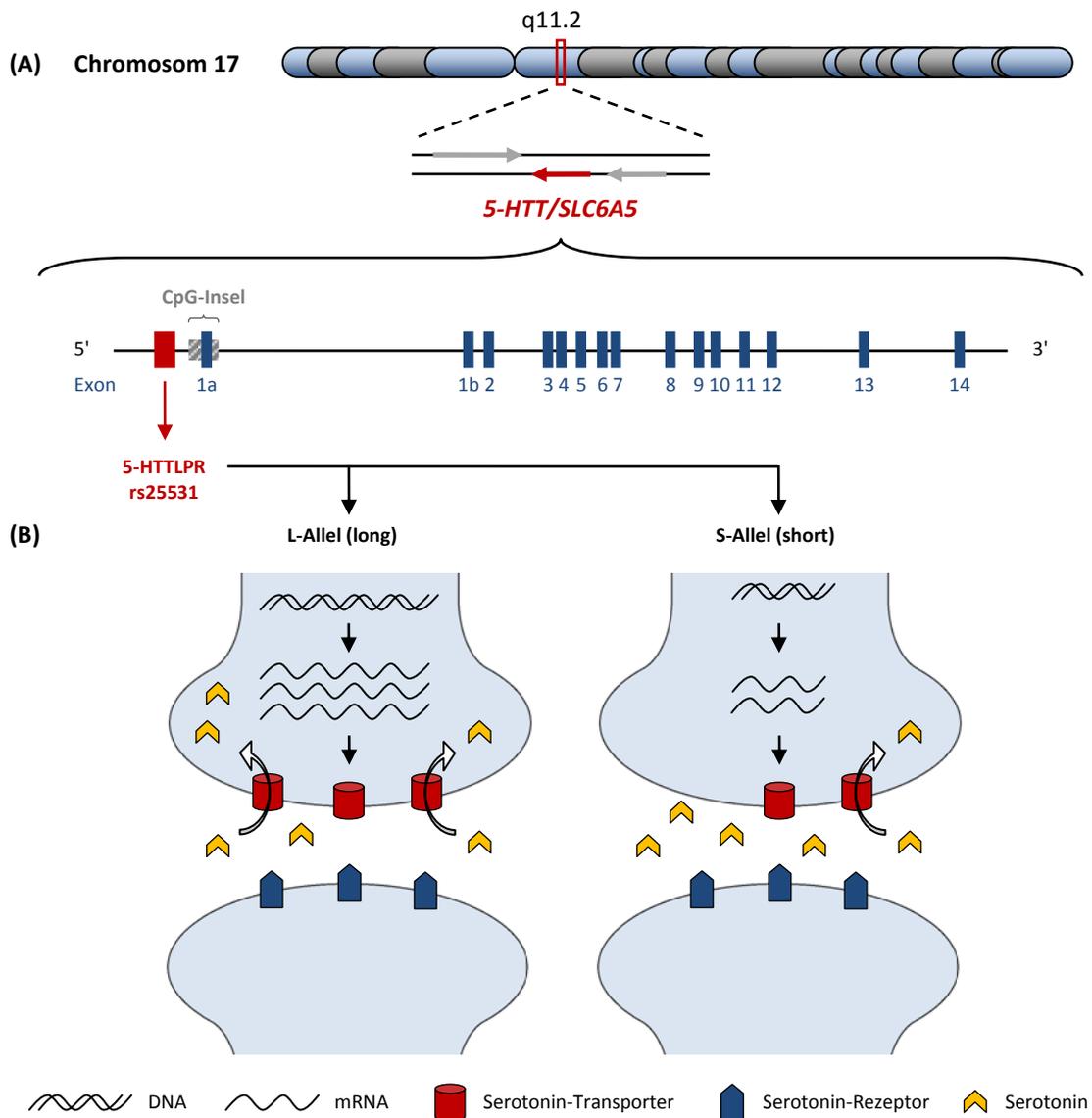
Kandidatengenstudien analysieren im Gegensatz zu genomweiten Ansätzen Varianten einzelner *a priori* selektierter Gene und deren Assoziation zu Krankheiten. Meist werden Kandidatengene dabei anhand von Hypothesen zum Pathomechanismus einer Erkrankung ausgewählt. Im Fall der Depression scheint insbesondere das monoaminerge Neurotransmittersystem eine Rolle zu spielen (vgl. Kapitel 1.5.1). Daher existiert bereits eine Vielzahl von Studien zum Zusammenhang zwischen der Depression und den Genen von Serotonin-, Dopamin- und Noradrenalin-Transportern und -Rezeptoren sowie Tryptophan-Hydroxylase und Monoaminoxidase (Cohen-Woods et al., 2013). Des Weiteren wurden Gene der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse aufgrund des Zusammenhangs zwischen Depression und Stress sowie der Wachstumsfaktor Brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*) und weitere potentielle Suszeptibilitätsgene untersucht (Cohen-Woods et al., 2013). Trotz teils widersprüchlicher Ergebnisse der einzelnen Studien identifizierten Meta-Analysen sieben Gene mit einer signifikanten Assoziation zur Depression, darunter den Serotonin-Transporter (*SLC6A4*), den Serotonin-Rezeptor 1A (*HTR1A*), den Dopamin-Transporter (*SLC6A3*), den Dopamin-Rezeptor D4 (*DRD4*), das Apolipoprotein E (*APOE*), die Methylenetetrahydrofolat-Reduktase (*MTHFR*) und die  $\beta$ -Untereinheit eines G-Proteins (*GNB3*) (Lopez-Leon et al., 2008; Flint und Kendler, 2014).

### **1.6.3 Genetik des Serotonin-Transporter-Gens**

Ein sehr intensiv studiertes Kandidatengen ist das Serotonin-Transporter-Gen *SLC6A4* (solute carrier family 6 member 4), oder auch *5-HTT* (5-Hydroxytryptamin-Transporter) genannt, auf Chromosom 17 (siehe Abb. 3 und Kapitel 2.4.1) mit mehreren bekannten Polymorphismen (Cohen-Woods et al., 2013). Einer der Polymorphismen, bezeichnet als 5-HTTLPR (*5-HTT*-linked polymorphic region), liegt in einer CG-reichen, repetitiven Sequenz des *5-HTT*-Promotors im 5'-Bereich des Gens (Heils et al., 1996). Er besteht aus mehreren Allelen, die durch Insertionen bzw. Deletionen sowie Einzelnukleotid-Polymorphismen gekennzeichnet sind (Nakamura et al., 2000). In der weißen Bevölkerung kommen hauptsächlich die Insertion L (long) bzw. die Deletion S (short) und der A→G „single nucleotide polymorphism“ (SNP) rs25531 vor, sodass hieraus zwei lange

(L<sub>A</sub> und L<sub>G</sub>) und zwei kurze (S<sub>A</sub> und S<sub>G</sub>) Varianten des kombinierten 5-HTTLPR/rs25531-Polymorphismus resultieren (Heils et al., 1996; Nakamura et al., 2000; Kraft et al., 2005; Wendland et al., 2006). Diese vier Allele modifizieren die Aktivität des Promotors auf unterschiedliche Art und Weise (Abb. 3). Das kürzere S-Allel wird *in vitro* mit einer geringeren mRNA-Expression und verminderten Wiederaufnahme von Serotonin in Verbindung gebracht (Lesch et al., 1996). Das L<sub>A</sub>-Allel zeigt die stärkste Promotoraktivität, wobei der A→G Basenaustausch beim L<sub>G</sub>-Allel zu einer Verringerung der Genexpression vergleichbar mit dem S-Allel führt (Hu et al., 2006). Im Einklang damit zeigen *in vivo* Studien eine höhere Serotonin-Transporter-Dichte in Individuen mit L<sub>A</sub>-Allel im Vergleich zu Trägern der anderen Allele (Praschak-Rieder et al., 2007; Reimold et al., 2007). Einige Studien konnten jedoch keinen Einfluss des 5-HTTLPR-Polymorphismus auf die Transporterdichte feststellen (Shioe et al., 2003; Parsey et al., 2006).

Die verschiedenen Varianten des 5-HTTLPR-Polymorphismus zeigen jedoch nicht nur funktionelle Unterschiede, sondern haben auch klinische Relevanz. Das weniger aktive S-Allel war in mehreren Studien und Meta-Analysen assoziiert mit der depressiven Erkrankung und scheint einen rezessiven Effekt auf die Entstehung der Depression zu haben (Lotrich und Pollock, 2004; Lopez-Leon et al., 2008; Clarke et al., 2010; Haenisch et al., 2013). Allerdings ist auch hier die Studienlage gemischt. Einige Daten ergaben keinen Zusammenhang zwischen dem 5-HTTLPR-Polymorphismus und der unipolaren Depression, sondern fanden die Assoziation nur bei bipolarer Erkrankung (Anguelova et al., 2003; Lasky-Su et al., 2005). Andere Studien identifizierten hingegen den stärker aktiven L<sub>A</sub>L<sub>A</sub>-Genotyp, nicht jedoch das einzelne Allel, als Risikofaktor für die Depression (Stacey et al., 2013) bzw. den Subtyp der melancholischen Depression (Baune et al., 2008). Darüber hinaus gehen einige Meta-Analysen davon aus, dass der 5-HTTLPR-Polymorphismus eher den Zusammenhang zwischen Stressfaktoren und Depression moderiert und dass das S-Allel zu einem erhöhten Risiko der Entstehung einer depressiven Episode unter Stress beiträgt (Karg et al., 2011; Sharpley et al., 2014).



**Abb. 3. Lokalisation, Aufbau und Polymorphismen des Serotonin-Transporter-Gens**

Das Schema zeigt die primäre Struktur des *5-HTT*-Gens auf Chromosom 17 (A, nicht maßstabgerecht) sowie den funktionellen Unterschied der beiden Allele des 5-HTTLPR-Polymorphismus (B). Das Gen liegt in der Region 17q11.2 in Antisense-Richtung und umfasst 15 Exons. Etwa 1.400 bp vor Exon 1A befindet sich der 5-HTTLPR-Polymorphismus, der auch den SNP rs25531 enthält. Exon 1A wird außerdem von einer CpG-Insel umgeben. Beide Regionen dienen der Transkriptionskontrolle. Dargestellt sind Exons in blau, die Promotorregion mit 5-HTTLPR-Polymorphismus und SNP rs25531 in rot sowie die CpG-Insel als grau schraffierter Bereich. Das längere L-Allel und das kürzere S-Allel unterscheiden sich in ihrer Transkriptionsaktivität und somit in der Menge an produzierter mRNA. Daher kommt es beim L-Allel zu einer höheren Dichte des Serotonin-Transporters mit schnellerem Abtransport von Serotonin aus dem synaptischen Spalt. Die niedrigere Transporterdichte beim S-Allel führt hingegen zu einer erhöhten Verfügbarkeit von Serotonin für die neuronale Transmission. Abbildung modifiziert nach Gerretsen et al., 2009; Philibert et al., 2007 und dem University of California, Santa Cruz (UCSC) Genome Browser.

Neben den Polymorphismen 5-HTTLPR und rs25531 sind noch weitere Genvarianten des *5-HTT*-Gens bekannt, darunter ein VNTR (variable number of tandem repeats) im zweiten Intron des *5-HTT*-Gens (STin2), der auch auf Assoziation mit der depressiven Erkrankung untersucht wurde (Hranilovic et al., 2004; Lopez-Leon et al., 2008; Cohen-Woods et al., 2013), jedoch nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist.

## **1.7 Pharmakogenetik der Depression**

Die Pharmakogenetik beschäftigt sich mit dem Einfluss der genetischen Merkmale von Patienten auf die Pharmakotherapie. Genetische Variationen können Veränderungen in der Pharmakokinetik (z.B. Unterschiede in Enzymen des Arzneimittelmetabolismus) und der Pharmakodynamik (z.B. Veränderung von pharmakologischen Zielstrukturen) bedingen, die zu Wirksamkeitsverlust und Toxizität von Arzneimitteln führen. Pharmakogenetische Untersuchungen schaffen daher die Voraussetzung zur Berücksichtigung der individuellen genetischen Ausstattung bei der Wahl der Behandlungsform im Sinne einer personalisierten Therapie (Katara, 2014).

Besonders bei der Therapie der Depression spielen genetische Variationen eine wichtige Rolle. Sie sind Schätzungen zufolge für 42 % der interindividuellen Unterschiede im Therapieansprechen verantwortlich (Tansey et al., 2013). In Bezug auf die pharmakokinetischen Eigenschaften von Psychopharmaka ist zu beachten, dass viele Antidepressiva über Enzyme des Cytochrom P450 (CYP)-Systems aktiviert und abgebaut werden, darunter Wirkstoffe aus unterschiedlichen Substanzklassen wie z.B. Amitriptylin, Citalopram, Venlafaxin und Mirtazapin. Polymorphismen in den CYP-Genen führen bei verschiedenen Individuen zur Entstehung von Enzymen mit unterschiedlich starker metabolischer Aktivität. Um den Medikamentenspiegel im therapeutischen Bereich zu halten, wäre daher bei einigen Patienten eine Dosisanpassung der antidepressiven Medikation nötig (Kirchheiner et al., 2004).

Die Wechselwirkung zwischen unterschiedlichen genetischen Merkmalen und pharmakodynamischen Eigenschaften ist weitaus komplexer und noch nicht im Detail verstanden. Meta-Analysen zeigen einen Einfluss verschiedener Genvarianten auf den Erfolg

der antidepressiven Therapie, darunter Polymorphismen in bereits bekannten Kandidatengenomen der Depression (siehe Kapitel 1.6.2), wie z.B. *SLC6A4*, *HTR1A*, *TPH1* und *BDNF* (Kato und Serretti, 2010). Allerdings haben mehrere GWAS sowie deren Meta-Analysen bisher keine genomweit signifikanten Ergebnisse erbracht und konnten die Assoziation zwischen den oben genannten Genen und dem Ansprechen auf serotonerge Antidepressiva nicht replizieren (Ising et al., 2009; Garriock et al., 2010; Uher et al., 2010; GENDEP Investigators et al., 2013; Biernacka et al., 2015).

### **1.7.1 Pharmakogenetik des Serotonin-Transporter-Gens**

Die meisten pharmakogenetischen Studien des *SLC6A4*-Gens untersuchten den Einfluss des L- und S-Allels des 5-HTTLPR-Polymorphismus auf den Therapieerfolg. Zwei Meta-Analysen konnten bei depressiven Patienten mit LL-Genotyp ein besseres Ansprechen (Response) auf die Therapie mit SSRI zeigen. Außerdem erreichten Träger des L-Allels eher eine Remission als Betroffene mit SS-Genotyp (Serretti et al., 2007; Porcelli et al., 2012). Eine weitere Meta-Analyse konnte diesen Effekt jedoch nicht bestätigen (Taylor et al., 2010). Der 5-HTTLPR-Polymorphismus scheint ferner die Entstehung von Nebenwirkungen zu beeinflussen. So haben Patienten mit L-Allel ein reduziertes Risiko unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu entwickeln, insbesondere bei der Einnahme von SSRI (Kato und Serretti, 2010).

Die Datenlage bezüglich des SNPs rs25531 ist spärlicher und zum Teil widersprüchlich. Es gibt Hinweise dafür, dass das G-Allel mit einem schlechteren Therapieansprechen assoziiert ist (Kraft et al., 2005). Hiermit vereinbar konnte gezeigt werden, dass Patienten mit L<sub>A</sub>-Allel besser auf die Medikation mit einem bestimmten SSRI ansprechen (Kato et al., 2013). Unter demselben Medikament war jedoch in einer anderen Studie die Response bei Trägern von L<sub>G</sub> besser (Smeraldi et al., 2006). Darüber hinaus scheint das L<sub>A</sub>-Allel mit einer geringeren Nebenwirkungsrate assoziiert zu sein (Hu et al., 2007).

## **1.8 Epigenetik der Depression**

Insgesamt haben die genetischen Studien nicht die aufgrund der aus Zwillingsstudien bekannten Heritabilität zu erwartenden Ergebnisse erbracht. Stattdessen zeigte sich eine Diskrepanz zwischen dem vermuteten Anteil der Genetik an der Entstehung der depressiven Erkrankung von 30-40 % und den wenigen tatsächlich gefundenen Suszeptibilitätsgenen. Da die bisher durchgeführten genetischen Studien die Erblichkeit der Depression nicht vollständig erklären können, spricht man in diesem Zusammenhang vom Phänomen der „missing heritability“ (Maher, 2008; Manolio et al., 2009; siehe auch Menke et al., 2012). Diese fehlende Erklärung der Erblichkeit legt eine Beteiligung epigenetischer Mechanismen nahe. Außerdem sprechen weitere Gründe für den Einfluss der Epigenetik an der Entstehung der Depression: Zum einen lässt sich die unterschiedliche Erkrankungshäufigkeit bei monozygoten, d.h. bei genetisch identischen Zwillingen durch epigenetische Unterschiede oder nicht geteilte Umwelteinflüsse erklären. Zum anderen können Umweltfaktoren selbst Veränderungen der Epigenetik herbeiführen (Mill und Petronis, 2007).

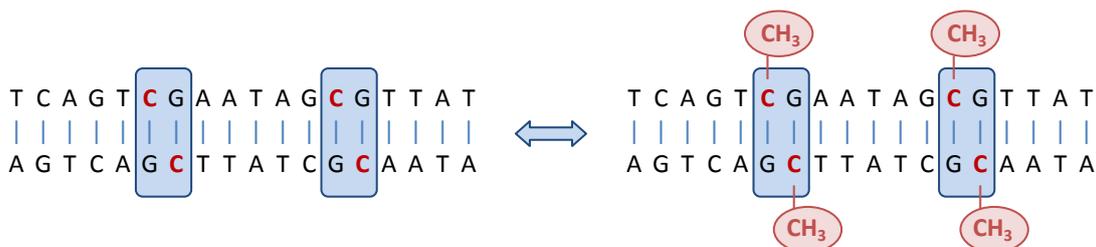
### **1.8.1 Grundlagen der Epigenetik**

Unter dem Begriff Epigenetik summiert man verschiedene Mechanismen mit Einfluss auf die Aktivität von Genen. Dabei handelt es sich um Modifikationen des genetischen Materials, die die Genexpression regulieren, ohne die eigentliche DNA-Sequenz zu verändern (Schroeder et al., 2012). Diese Modifikationen sind zeitlich stabil und können durch Umweltfaktoren beeinflusst sowie vermutlich durch Vererbung an die nächste Generation weiter gegeben werden (Roth et al., 2009; Nestler, 2014). Zu den bisher bekannten epigenetischen Mechanismen gehören die DNA-Methylierung, die Modifikation von Histonen und die Positionierung der Nukleosome (Portela und Esteller, 2010).

Nukleosome bilden die kleinste Verpackungseinheit der DNA und bestehen aus einem Stück des DNA-Strangs, der um ein Histon-Oktamer gewickelt ist. Durch enzymatische Veränderungen der Histone wie Acetylierung, Phosphorylierung und Methylierung kann die DNA-Histon-Verbindung gelockert oder gefestigt werden. Dadurch entsteht

Euchromatin, das die Expression der Gene durch Bindung von Transkriptionsfaktoren ermöglicht, oder Heterochromatin, das die Transkription verhindert (Schroeder et al., 2012). Auch die genaue Positionierung eines Nukleosoms in Bezug zum DNA-Strang spielt eine wichtige Rolle bei der Transkriptionskontrolle (Portela und Esteller, 2010).

Die vorliegende Arbeit legt ihren Schwerpunkt jedoch auf die Untersuchung der DNA-Methylierung, da es sich hierbei in Bezug auf die depressive Erkrankung um den am besten erforschten epigenetischen Mechanismus handelt. Die Methylierung von DNA findet an CpG-Dinukleotiden (Cytosin/Guanin) statt (Abb. 4). Dabei vermitteln DNA-Methyltransferasen die kovalente Bindung einer Methylgruppe an die Cytosinbase des CpG-Dinukleotids (Schroeder et al., 2012). Im Allgemeinen führt DNA-Methylierung der Promotorbereiche von Genen über verschiedene Wege meist zur Reduktion der Genaktivität (Silencing). Dies geschieht sowohl direkt durch Verhinderung der Bindung von Transkriptionsfaktoren als auch indirekt über Methyl-CpG-bindende Proteine (Portela und Esteller, 2010). Bereiche mit erhöhtem Vorkommen der CpG-Dinukleotide werden als CpG-Inseln bezeichnet. Man findet sie vor allem in Promotor-Regionen, wo sie an der Genregulation beteiligt sind (Portela und Esteller, 2010).



**Abb. 4. DNA-Methylierung an CpG-Dinukleotiden**

Das Schema zeigt eine DNA-Sequenz mit komplementärer Basenpaarung, die zwei CpG-Dinukleotide (blau umrahmt) enthält. Die Methylierung erfolgt durch kovalente Bindung einer Methylgruppe (rot umrahmt) an die Cytosinbase des CpG-Dinukleotids. A = Adenin, C = Cytosin, G = Guanin, T = Thymin. Abbildung modifiziert nach Schroeder et al., 2012.

### 1.8.2 Epigenetische Mechanismen der Depression

Epigenetische Mechanismen können auf unterschiedlichen Wegen die Entstehung der depressiven Erkrankung begünstigen: Stress-induzierte epigenetische Modifikationen, stochastische Veränderungen während der Entwicklung sowie hormonelle Einflüsse auf die epigenetische Signatur können eine Prädisposition für depressive Episoden bedingen (Guintivano und Kaminsky, 2016; Nestler, 2014). Insbesondere Stress in frühen Lebensphasen scheint eine langfristige Vulnerabilität für die Entstehung einer Depression zu bewirken. Da epigenetische Mechanismen in der Lage sind solche Gen-Umwelt-Interaktionen abzubilden, können sie Veränderungen der neuronalen Funktion und damit des Krankheitsrisikos verursachen (Menke und Binder, 2014). Eine Vielzahl von Studien bestätigt epigenetische Veränderungen durch „early life stress“ im Tiermodell (Dalton et al., 2014). Dabei ist v.a. die Hypophysen-Nebennieren-Achse (auch HPA-Achse, „Stress-Achse“) von epigenetischen Modifikationen betroffen (Paslakis et al., 2011; Raabe und Spengler, 2013). Aber auch beim Menschen sind diese Veränderungen nachweisbar. So zeigt eine *post mortem* Studie eine verstärkte Methylierung des Glukokortikoid-Rezeptor-Promotors bei Suizid-Opfern mit Kindesmisshandlung in der Anamnese (McGowan et al., 2009). Umweltbedingte Methylierungsänderungen wurden jedoch auch bei anderen Genen gefunden, die mit der Depression assoziiert sind, z.B. im neurotrophen System mit Genen wie *BDNF* und für Tyrosin-Rezeptor-Kinasen (Menke et al., 2012). Außerdem können selbst pränatale Stressoren wie mütterliches Rauchen, Depression, Gewalt des Partners oder Krieg das Methylierungsmuster verschiedener Gene beim Kind beeinflussen (Dalton et al., 2014).

Zur Identifikation von bisher unbekanntem Kandidatengenen mit veränderter Methylierung bei Depression ist analog zum Vorgehen in der Genetik eine genomweite Analyse (epigenomweite Analyse; EWAS) möglich. Diese Methylierungsanalysen erlauben die Untersuchung der Methylierungsunterschiede von mehreren hunderttausend CpG-Dinukleotiden je nach zugrunde liegender Methode (How Kit et al., 2012). Die erste Analyse dieser Art wurde *post mortem* mit Hirngewebe von depressiven Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen durchgeführt. Die größten Methylierungs-

unterschiede zeigten sich in den Genen *LASS2* (ceramide synthase 2), *CPSF3* (cleavage and polyadenylation specific factor 3), *ZNF263* (zinc finger protein 263) und *PRIMA1* (proline rich membrane anchor 1) mit jeweils höherer Methylierung bei Patienten mit Depression (Sabunciyany et al., 2012). Weitere genomweite Methylierungsanalysen wurden anhand von Zwillingsstudien durchgeführt. Dabei konnte kein Unterschied der durchschnittlichen globalen Methylierung zwischen den depressiven Zwillingen und ihren gesunden Geschwistern festgestellt werden (Byrne et al., 2013). Insgesamt wurden jedoch viele Gene mit abweichender Methylierung identifiziert, die bereits zuvor mit der depressiven Erkrankung in Verbindung gebracht wurden (Davies et al., 2014; Dempster et al., 2014; Cordova-Palomera et al., 2015). Insbesondere waren eine Hypermethylierung des Gens *ZBTB20* (zinc finger and BTB domain containing 20) (Davies et al., 2014), eine Hypermethylierung der Serin/Threonin-Kinase *STK32C* (Dempster et al., 2014) sowie eine Hypomethylierung des Gens *WDR26* (WD repeat domain 26) (Cordova-Palomera et al., 2015) mit der Depression assoziiert. Des Weiteren fanden diese Zwillingsstudien eine erhöhte Variabilität im genomweiten Methylierungsprofil von betroffenen Zwillingen im Vergleich zu nicht erkrankten Geschwistern (Byrne et al., 2013; Davies et al., 2014; Cordova-Palomera et al., 2015).

Eine Vielzahl an Methylierungsstudien existiert auch zu bereits aus genetischen Untersuchungen bekannten Kandidatengenen der Depression, darunter Gene für neurotrophe Faktoren und Komponenten des Neurotransmitter-Systems (Dalton et al., 2014; Januar et al., 2015). Für *BDNF* konnten eine erhöhte Methylierung einiger CpG-Dinukleotide sowie ein erniedrigter mRNA-Spiegel im Hirngewebe von Suizid-Opfern nachgewiesen werden (Keller et al., 2010). Auch bei Patienten mit Depression nach Schlaganfall fand sich ein erhöhter Methylierungsstatus im *BDNF*-Promotor (Kim et al., 2013b). Eine weitere Studie zeigte ebenfalls ein verändertes Methylierungsprofil des *BDNF*-Gens bei depressiven Patienten und postulierte dieses als potentiellen Marker für die Diagnostik der Depression (Fuchikami et al., 2011). Bezüglich des Neurotransmitter-Systems sind Gene von Neurotransmitter-Rezeptoren, -Transportern und abbauenden Enzymen zu nennen: Im Promotor des Gens einer GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Subunit

konnte *post mortem* bei Suizid-Opfern eine Hypermethylierung identifiziert werden, die mit einem erhöhten Vorkommen einer DNA-Methyltransferase korrelierte (Poulter et al., 2008). Dagegen fand sich im Serotonin-Rezeptor-Gen *HTR2A* eine Hypomethylierung eines CpG-Dinukleotids, allerdings nur bei Patienten mit bipolarer Depression und Schizophrenie (Ghadirivasfi et al., 2011). Im Bereich des ersten Exon-Intron-Übergangs des *MAO<sub>A</sub>*-Gens konnte bei depressiven Frauen eine verringerte Methylierung nachgewiesen werden (Melas et al., 2013), wohingegen für das Gen der Catechol-O-Methyltransferase (*COMT*) keine Assoziation zwischen Methylierungslevel und Depression gezeigt wurde (Dempster et al., 2006). Bei diesem Gen konnte jedoch wiederum bei Patienten mit bipolarer Depression und Schizophrenie auch eine Hypomethylierung festgestellt werden (Abdolmaleky et al., 2006). Zu den epigenetischen Veränderungen des Serotonin-Transporter-Gens liegen ebenso bereits viele Daten vor.

### **1.8.3 Epigenetik des Serotonin-Transporter-Gens**

Epigenetische Modifikationen des Serotonin-Transporter-Gens (*5-HTT*, *SLC6A4*) und ihr Zusammenhang mit Umwelteinflüssen, Risikofaktoren und verschiedenen psychischen Krankheiten, insbesondere der Depression, sind aktueller Gegenstand der Forschung. Frühe negative Erlebnisse wie pränatale mütterliche Depression, perinataler Stress, traumatische Kindheitserlebnisse und Misshandlung verändern die Methylierung des *5-HTT*-Gens: Dabei wurde in den meisten Studien eine Hypermethylierung (Beach et al., 2010; Booij et al., 2015; Kang et al., 2013b; Provenzi et al., 2015), bei einigen wenigen jedoch auch eine verminderte Methylierung (Alasaari et al., 2012; Devlin et al., 2010) beschrieben (zur Übersicht siehe Provenzi et al., 2016).

Von besonderem Interesse ist die Assoziation des Methylierungsstatus des *5-HTT*-Promotors mit der depressiven Erkrankung. Auch hier fanden die meisten Studien eine erhöhte Methylierung: In einer koreanischen Stichprobe wurde eine höhere durchschnittliche Methylierung des *5-HTT*-Promotors bei depressiven Patienten mit negativen Kindheitserlebnissen nachgewiesen. Außerdem konnte eine Korrelation der Hypermethylierung mit positiver Familienanamnese für Depression, mit höherem subjektiven Stressempfinden und mit stärkerer Beeinträchtigung durch die Depression gezeigt

werden (Kang et al., 2013b). Eine weitere koreanische Studie ergab einen Zusammenhang zwischen erhöhter *5-HTT*-Methylierung und Depression nach Schlaganfall. Diese Korrelation zeigte sich zwei Wochen nach dem Ereignis und besonders ausgeprägt im Follow-up nach einem Jahr. Außerdem war die Hypermethylierung mit der Verschlechterung der depressiven Symptomatik während des Follow-up-Zeitraums assoziiert (Kim et al., 2013a). Auch bei eineiigen Zwillingen aus einer Datenbank amerikanischer Veteranen fand sich eine Assoziation zwischen verstärkter Methylierung des *5-HTT*-Promotors und stärkerer Ausprägung depressiver Symptome (Zhao et al., 2013). Die Auswertung einer Adoptionsstudie zeigte einen Trend zu höheren Methylierungswerten bei Vorliegen einer Depression in der Vorgeschichte der Probanden (Philibert et al., 2008). Zwei weitere Studien konnten keinen allgemeinen Zusammenhang zwischen der Depression und der *5-HTT*-Methylierung nachweisen. Allerdings ergab die eine Studie häufiger depressive Symptome bei Probanden mit erhöhter Methylierung, die gleichzeitig das S-Allel des *5-HTTLPR* trugen (Olsson et al., 2010). Die andere Studie identifizierte für ein einzelnes CpG-Dinukleotid des *5-HTT*-Gens eine positive Korrelation der Methylierung mit dem Hamilton-Depressions-(HAMD)-Score, d.h. der Schwere der Depression (Okada et al., 2014).

Im Gegensatz dazu sind nur wenige Studien bekannt, die einen Zusammenhang von verminderter Methylierung des *5-HTT*-Promotors und der depressiven Erkrankung beschreiben: Eine Studie an Schwangeren zeigte eine geringere Methylierung bei Frauen mit Depression während der Schwangerschaft. Außerdem fand man auch bei den neugeborenen Kindern einen verminderten Methylierungsstatus in Zusammenhang mit vermehrten depressiven Symptomen der Mutter (Devlin et al., 2010). Krankenschwestern mit hoher Stressbelastung auf der Arbeit wiesen ebenfalls niedrigere Methylierungslevel im Promotor des *5-HTT*-Gens auf. Dabei waren Burnout und depressive Symptome häufiger bei hohem Arbeitsstress, allerdings zeigte sich keine Assoziation zum Methylierungsstatus (Alasaari et al., 2012).

## 1.9 Pharmakoepigenetik der Depression

Die Pharmakoepigenetik untersucht den wechselseitigen Einfluss von epigenetischen Mechanismen und Pharmakotherapie. Ein Problem der antidepressiven Therapie ist einerseits das geringe Therapieansprechen bzw. die niedrigen Remissionsraten (siehe Kapitel 1.4.5) und der damit verbundene Leidensdruck der Patienten, was eine Optimierung der Therapie und Medikamentenauswahl nötig macht. Andererseits sind Antidepressiva für ihre lange Latenzzeit bis zum Wirkeintritt bekannt (siehe Kapitel 1.4.2), obwohl auf molekularer Ebene z.B. die monoaminergen Zielstrukturen schon nach Stunden besetzt sind (Menke et al., 2012). Diese Latenz könnte durch längerdauernde, „downstream“ Veränderungen wie epigenetische Modifikationen erklärt werden (Tsankova et al., 2007; Menke et al., 2012). Die Forschung auf dem Gebiet der Pharmakoepigenetik der Depression beschäftigt sich daher insbesondere mit zwei Fragestellungen, auf die im Folgenden näher eingegangen wird: Erstens, lässt sich der Therapieerfolg anhand von epigenetischen Markern vorhersagen? Damit wäre eine Anpassung der Medikamente an die epigenetische Ausstattung des Patienten und somit eine Optimierung des Therapieansprechens durch Individualisierung der Behandlung möglich. Und zweitens, verursacht die antidepressive Therapie epigenetische Veränderungen, die als biologischer Mechanismus des Therapieerfolgs in Betracht kommen? Durch diesen Ansatz könnten wesentliche Fragen zur Pathophysiologie der Depression und zum molekularen Wirkmechanismus der Antidepressiva weiter aufgeklärt werden.

### 1.9.1 Epigenetische Marker als Prädiktoren des Therapieerfolg

Es liegen bereits einige Studien vor, die den Zusammenhang zwischen Epigenetik und antidepressivem Therapieerfolg analysieren. Dabei ließ sich das Therapieansprechen teilweise anhand des untersuchten epigenetischen Markers vorhersagen. Die Methylierung des *BDNF*-Gens ist nicht nur assoziiert mit der depressiven Erkrankung an sich (siehe Kapitel 1.8.2), sondern auch mit dem Therapie-Outcome: Eine niedrigere Methylierung eines bestimmten CpG-Dinukleotids in der Exon-IV-Promotor-Region des *BDNF*-Gens wies in einem naturalistischen Therapie-Setting auf eine spätere Non-Response hin. Dabei hatten Patienten ohne Methylierung an dieser Position ein höheres Risiko

für ein Nicht-Ansprechen als Patienten mit Methylierung (Tadic et al., 2013). In einer weiteren Studie konnte anhand der Methylierung eines anderen *BDNF*-Promotors, der „upstream“ des Transkriptionsstarts lokalisiert ist, die Verbesserung suizidaler Ideation durch antidepressive Therapie vorhergesagt werden: Im Gegensatz zur vorherigen Studie zeigten hierbei jedoch die Patienten mit niedrigerer Methylierung eine deutliche Verbesserung der Suizidalität, während Patienten mit höherer Methylierung einen geringeren Therapieerfolg bezüglich suizidaler Gedanken aufwiesen (Kang et al., 2013a). Auch nach Elektrokrampftherapie hatten Patienten mit geringerer Methylierung ein besseres Outcome. Dabei fand man bei Patienten mit Response bzw. Remission geringere Methylierungslevel im Bereich des Exon-I-Promotors des *BDNF*-Gens (Kleimann et al., 2015).

Anhand des Methylierungsgrades des Interleukin-11-Gens war ebenfalls eine Vorhersage des Therapieansprechens möglich: Eine geringere Methylierung am untersuchten CpG5 war assoziiert mit einem besseren Ansprechen auf Escitalopram und Nortriptylin. Dagegen versprach eine höhere Methylierung an Position CpG4 einen besseren Erfolg unter Escitalopram, jedoch schlechteres Ansprechen auf Nortriptylin (Powell et al., 2013). Für das *MAO<sub>A</sub>*-Gen hingegen konnte kein eindeutiger Einfluss der Methylierung auf das Therapie-Ansprechen unter Escitalopram nachgewiesen werden. Allerdings gab es bei Frauen einen Trend zu einer Assoziation zwischen geringerer Methylierung von zwei CpG-Dinukleotiden des *MAO<sub>A</sub>*-Promotors mit schlechterer Response (Domschke et al., 2015).

Auch bezüglich des Serotonin-Transporter-Gens sind Studien dieser Art vorhanden: Der Methylierungsgrad der Promotorregion des *5-HTT*-Gens war assoziiert mit dem Erfolg der antidepressiven Therapie gemessen an der prozentualen Veränderung im HAMD-21-Score bei kaukasischen Patienten (Domschke et al., 2014). Dabei ging eine verminderte durchschnittliche Methylierung mit einem schlechteren Ansprechen auf die Therapie mit dem SSRI Escitalopram einher. Eine stärkere Methylierung sagte folglich eine bessere Response voraus. Die Analyse der neun untersuchten CpG-Dinukleotide aus dem Bereich der CpG-Insel des *5-HTT*-Promotors ergab insbesondere für CpG2 einen

signifikanten Effekt auf den Therapieerfolg, aber auch CpG1 sowie CpG4 zeigten nominell signifikante Assoziationen (Domschke et al., 2014). Als Erklärung ihrer Ergebnisse nahmen die Autoren an, dass eine Hypomethylierung des *5-HTT*-Gens eine gesteigerte Transkription und damit vermehrte Aktivität des Serotonin-Transporters verursacht, was mit einer geringeren Verfügbarkeit von Serotonin im synaptischen Spalt einhergeht und dem Effekt von Escitalopram entgegenwirken könnte (Domschke et al., 2014). Eine asiatische Studie kam zu einem ähnlichen Ergebnis bei depressiven Patienten unter Behandlung mit den SSRI Paroxetin und Fluvoxamin oder dem SNRI Milnacipran. Hier zeigte die vor der Therapie gemessene Methylierungsrate eines einzelnen CpG-Dinukleotids aus der CpG-Insel des *5-HTT*-Promotors eine signifikante positive Korrelation mit dem Therapieansprechen, gemessen an der relativen Abnahme des HAMD-Scores (Okada et al., 2014). Diese Ergebnisse konnten jedoch in einer weiteren asiatischen Stichprobe unter heterogener Pharmakotherapie nicht bestätigt werden. Im Gegenteil fand sich hier sowohl für die durchschnittliche Methylierung als auch für CpG2 ein Trend zu höherer *5-HTT*-Promotor-Methylierung bei schlechterem Therapieerfolg. Dieser Zusammenhang verlor allerdings nach Korrektur seine statistische Signifikanz (Kang et al., 2013b). Insgesamt betrachtet deutet die Studienlage demnach darauf hin, dass die Methylierung des *5-HTT*-Gens, v.a. an einzelnen CpG-Dinukleotiden, als epigenetischer Biomarker zur Vorhersage des Therapieansprechens auf bestimmte antidepressive Substanzen dienen könnte.

### **1.9.2 Epigenetische Effekte der antidepressiven Therapie**

Die Wirkweise von antidepressiven Medikamenten ist bis heute noch nicht im Detail verstanden. Die Studienlage ergibt zunehmend Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der Verbesserung depressiver Symptome und epigenetischen Veränderungen unter antidepressiver Therapie. Daher postulieren viele Studien epigenetische Modifikationen als einen möglichen biologischen Mechanismus des Therapieerfolgs:

In Tiermodellen sowie in Studien mit psychisch kranken Patienten konnte gezeigt werden, dass viele Psychopharmaka wie Valproat, Lithium, Antidepressiva sowie Antipsychotika und sogar die Elektrokrampftherapie Veränderungen im epigenetischen Code

bewirken (Boyadjieva und Varadinova, 2012; Abdolmaleky, 2014). Eine Studie am Tiermodell für Depression untersuchte das *P11*-Gen, dessen Genprodukt am intrazellulären Transport von Transmembran-Proteinen und damit an der Modulation neuronaler Funktionen beteiligt ist. Die Autoren fanden bei Ratten einer speziellen Linie eine erhöhte Methylierung des *P11*-Promotors, die sich durch Behandlung mit Escitalopram normalisieren ließ (Melas et al., 2012). Allerdings wurde dabei nicht der Zusammenhang zwischen der Methylierung und der Veränderung depressiver Symptome untersucht. Die antidepressive Wirkung von Escitalopram bei diesem Tiermodell wurde jedoch in einer anderen Studie bestätigt (El Khoury et al., 2006). Ein direkter Zusammenhang zwischen antidepressiven Effekten und epigenetischen Veränderungen konnte in einer weiteren Tierstudie nachgewiesen werden. Die Gabe von Inhibitoren der DNA-Methylierung (DNA-Methyltransferase-Hemmer) führte zur Abnahme der Methylierung des *BDNF*-Gens und Zunahme des Protein-Spiegels von BDNF im Hippocampus von Ratten. Nach dieser Behandlung wurden die Tiere außerdem im erzwungenen Schwimmtest beobachtet, der ein Modell für stressinduziertes, depressionsähnliches Verhalten darstellt. Dabei zeigten behandelte Ratten im Vergleich zu ihren unbehandelten Artgenossen eine Verhaltensänderung, die einem antidepressiven Effekt entspricht (Sales et al., 2011).

Weitere Anhaltspunkte für eine Assoziation zwischen Änderungen im epigenetischen Code und antidepressiven Effekten durch die Psychopharmakotherapie stammen von Studien des *BDNF*-Gens am Menschen, allerdings mit teils widersprüchlichen Ergebnissen: In Analogie zu dem oben genannten Tierexperiment erhöhte sich nach antidepressiver Therapie der BDNF-Spiegel im Blut von Patienten mit Depression. Außerdem korrelierte die Veränderung des BDNF-Spiegels mit der Veränderung im Depressions-Score (Brunoni et al., 2008). Der Methylierungsstatus wurde in dieser Studie jedoch nicht erhoben. In einer anderen Stichprobe zeigten Patienten unter antidepressiver Therapie statt der erwarteten Reduktion der Methylierung eine höhere Methylierung des *BDNF*-Gens im Vergleich zu unbehandelten Patienten mit Depression (Carlberg et al., 2014). Diese Studie führte allerdings keinen Prä-Post-Vergleich durch. Ein solcher

Vergleich erbrachte bei Patienten mit antidepressiver Behandlung in einem naturalistischen Therapie-Setting keine signifikante Veränderung der Methylierung der 12 untersuchten CpG-Dinukleotide des Exon-IV-Promotors des *BDNF*-Gens (Tadic et al., 2013). Auch vor und nach Elektrokrampftherapie fand man keine Unterschiede sowohl in der Methylierung des *BDNF*-Gens als auch im BDNF-Serumspiegel bei Patienten mit therapieresistenter Depression (Kleimann et al., 2015), obwohl verschiedene epigenetische Modifikationen in unterschiedlichen Genen, u.a. Demethylierung des *BDNF*-Promotors, durch Elektrokrampftherapie in Tierstudien beschrieben wurden (de Jong et al., 2014). Der Nachweis eines Zusammenhangs zwischen einer Methylierungsänderung des *BDNF*-Gens und dem Therapieeffekt gelang einer Prä-Post-Studie mit Patienten mit Borderline-Persönlichkeitsstörung, die eine psychotherapeutische Behandlung durchliefen. Insgesamt stellte man eine Zunahme der *BDNF*-Methylierung durch die Psychotherapie fest, wobei v.a. die Non-Responder für diese Zunahme verantwortlich waren und die Therapie-Responder eine Abnahme der Methylierung zeigten. Entsprechend war die Veränderung im Methylierungsstatus assoziiert mit einer Veränderung des Depressions-Scores des Beck-Depressions-Inventars (BDI) (Perroud et al., 2013).

Auch für das Serotonin-Transporter-Gen gibt es erste Studien dieser Art: Eine Prä-Post-Studie untersuchte die Veränderung der Methylierung des *5-HTT*-Gens bei Patienten mit Angststörungen unter einer ebenfalls rein psychologisch basierten Therapie, der kognitiven Verhaltenstherapie (CBT). Die gemessene Methylierungsänderung unterschied sich signifikant zwischen Respondern und Non-Respondern, wobei dieser Effekt v.a. auf einem einzelnen CpG-Dinukleotid beruhte. Bei Therapieansprechen ließ sich eine geringe Zunahme der Methylierung nachweisen, während Patienten, die nicht auf die Therapie ansprachen, eine deutliche Abnahme der Methylierung zeigten (Roberts et al., 2014). Auch bei depressiven Patienten konnte in einem Prä-Post-Vergleich eine Methylierungsänderung des *5-HTT*-Gens durch antidepressive Behandlung - insbesondere für eines der untersuchten CpG-Dinukleotide - belegt werden. Hierbei fand sich jedoch keine Korrelation zwischen der Methylierungsänderung und der relativen Änderung des HAMD-Scores als Maß für das Therapieansprechen (Okada et al., 2014).

Insgesamt zeigt die bisherige Datenlage, dass verschiedene antidepressive Therapieformen Veränderungen der epigenetischen Signatur im Mensch und Tiermodell bewirken können. Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass therapeutisch herbeigeführte epigenetische Modifikationen einen potentiellen Wirkmechanismus von Psychopharmaka darstellen und womöglich darüber zu einer klinischen Besserung der depressiven Symptome führen können. Weitere Studien sind jedoch nötig, um diese Hypothese zu untermauern.

### **1.10 Fragestellung**

Die ätiologischen und pathophysiologischen Mechanismen des Krankheitsverlaufs der unipolaren Depression sind bis heute nicht im Detail verstanden. Obwohl viele Studien eine deutliche Heritabilität der depressiven Erkrankung zeigen, konnten nur wenige Suszeptibilitätsgene identifiziert werden („missing heritability“) (Maher, 2008; siehe auch Menke et al., 2012). Epigenetische Mechanismen, v.a. die DNA-Methylierung, die diese „missing heritability“ teilweise erklären könnten, rücken daher in den Fokus der Erforschung der Depression und ihrer Therapie. Erste Studien zeigen, dass die epigenetische Signatur eines Patienten neben einer möglichen ätiopathogenetischen Rolle auch als Marker zur Prädiktion des Therapieerfolgs mit dem Ziel eines personalisierten Therapieansatzes dienen könnte. Z.B. sagt der Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens das Therapieansprechen einer pharmakologischen Behandlung mit einem SSRI voraus (Domschke et al., 2014). Epigenetische Modifikationen kommen außerdem als Korrelat des biologischen Wirkmechanismus der antidepressiven Therapie infrage. So zeigt z.B. die Methylierungsänderung des *5-HTT*-Gens bei Angst-Patienten unter Psychotherapie eine Assoziation mit dem Therapieansprechen (Roberts et al., 2014).

Zur Untersuchung der epigenetischen Signatur der Depression bezüglich des Therapieansprechens wurden in der vorliegenden Arbeit einige CpG-Dinukleotide im Promotorbereich des *5-HTT*-Gens ausgewählt und folgende Fragestellungen analysiert:

1. Wie hoch ist der Methylierungsgrad des *5-HTT*-Gens bei depressiven Patienten?
2. Eignet sich der Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens bei depressiven Patienten als prädiktiver Marker für das Ansprechen auf die antidepressive Therapie?
3. Verändert sich die Methylierung des *5-HTT*-Promotors im Rahmen einer stationären Psychopharmakotherapie?
4. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Änderung der *5-HTT*-Methylierung unter antidepressiver Therapie und dem Therapieerfolg der Patienten?
5. Welchen Einfluss haben Psychopharmaka-Klassen, insbesondere SSRIs, auf die Änderung der Methylierung des Serotonin-Transporter-Gens?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign und -ablauf

Die Datenerhebung zur vorliegenden klinischen Forschungsarbeit erfolgte prospektiv im Rahmen der GEPaRD-Studie (Genetik und Epigenetik von Pharmako- und Psychotherapie bei akuter und rezidivierender Depression; Ltg.: Univ.-Prof. Dr. Dr. K. Domschke) der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie (Dir.: Univ.-Prof. Dr. J. Deckert), Zentrum für Psychische Gesundheit, Universitätsklinikum Würzburg. Aufgrund des Pilotcharakters der Studie wurde ein Ein-Gruppen-Prä-Post-Design gewählt (Abb. 5). Zu Studienbeginn (Zeitpunkt prä) und zu Studienende nach 6 Wochen (Zeitpunkt post) erfolgte bei stationär in der Klinik aufgenommenen Patienten mit diagnostizierter Depression eine Blutentnahme zur Bestimmung des Genotyps und des Methylierungsgrades des Serotonin-Transporter-Gens (siehe Kapitel 2.4). Parallel hierzu und zusätzlich wöchentlich wurden psychometrische Fragebögen zur Erfassung des Schweregrades und der Symptomlast der Depression ausgefüllt (siehe Kapitel 2.3). Während der Studienlaufzeit erhielten die Patienten eine stationäre multimodale Behandlung. Die Psychopharmakotherapie erfolgte entsprechend den Anordnungen des behandelnden Psychiaters in einem naturalistischen Setting ohne Berücksichtigung der aktuellen Studie. Bei vorzeitiger Entlassung von Studienpatienten aus der stationären Behandlung wurde der Studienzeitraum entsprechend verkürzt.

Prä-Therapie	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Post-Therapie
Genotyp						Genotyp
Methylierung						Methylierung
HAMD-21	HAMD-21	HAMD-21	HAMD-21	HAMD-21	HAMD-21	HAMD-21
BDI	BDI	BDI	BDI	BDI	BDI	BDI
GAF						GAF

**Abb. 5. Studienablauf**

Im Rahmen eines Ein-Gruppen-Prä-Post-Designs wurde den Patienten zu Beginn und Ende der Studie Blut abgenommen und der Genotyp sowie der Methylierungsgrad des Serotonin-Transporter-Gens (*5-HTT*) bestimmt. Parallel hierzu sowie teilweise im Wochenverlauf wurden psychometrische Fragebögen (HAMD-21 = Hamilton-Depressionsskala; BDI = Beck-Depressions-Inventar; GAF = Global Assessment of Functioning) bearbeitet. Als antidepressive Therapie erhielten die Patienten eine Pharmako- bzw. Psychotherapie unter naturalistischen stationären Bedingungen.

## **2.2 Studienpopulation**

Die Rekrutierung der Studienteilnehmer erfolgte an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie (Dir.: Univ.-Prof. Dr. J. Deckert), Zentrum für Psychische Gesundheit, Universitätsklinikum Würzburg, unter den stationär aufgenommenen Patienten mit der Diagnose einer unipolaren Depression. Alle Probanden gaben nach ausführlicher Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg begutachtet und genehmigt (Votum 104/12; 01.06.2012).

### **2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien**

Zu den Einschlusskriterien zählte primär das Vorliegen einer unipolaren depressiven Episode, die im stationären Rahmen über voraussichtlich sechs Wochen mit Pharmako- und/oder Psychotherapie behandelt werden sollte. Die Diagnose der Depression wurde klinisch durch erfahrene Psychiater gestellt und mit Hilfe eines standardisierten Interviews (Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse I (SKID-I), Sektion A) bestätigt (Wittchen et al., 1997). Weil genetische und epigenetische Muster eines Menschen je nach Herkunft variieren (Xia et al., 2014), wurden ausschließlich Patienten kaukasischen Ursprungs, d.h. europäischer Abstammung im engeren Sinne bzw. hellhäutige Menschen, eingeschlossen. Des Weiteren wurde das Alter auf 18-75 Jahre beschränkt, da eine Verringerung des Methylierungsgrades mit steigendem Alter beschrieben ist (Pal und Tyler, 2016).

Zu den Ausschlusskriterien zählte das Vorliegen einer bipolaren Störung. Des Weiteren wurden Patienten mit psychotischen Erkrankungen einschließlich der schizo-affektiven Störung sowie Patienten mit Ess- oder Zwangsstörungen ausgeschlossen. Auch der Missbrauch von psychotropen Substanzen, abgesehen vom Nikotinabusus, führte zum Ausschluss. Patienten mit Depression, die eine Elektrokrampftherapie erhielten, wurden in einem zweiten Studienarm eingeschlossen, der nicht in der Auswertung dieser Arbeit enthalten ist.

## **2.3 Psychometrische Diagnostik**

### **2.3.1 Hamilton-Depressionsskala (HAMD-21)**

Zur Beurteilung der depressiven Episode der Probanden, insbesondere zur Messung des Schweregrades der Depression sowie zur Quantifizierung des Therapieerfolgs, wurde die Depressionsskala nach Hamilton in der Version mit 21 Items herangezogen (Hamilton, 1960). Hierbei handelt es sich um eine Fremdbewertungsskala, die verschiedene depressive Symptome mit einer fünfstufigen (0-4) oder dreistufigen (0-2) Antwortskala abfragt (Hamilton, 1960). Die Patienten wurden im Rahmen eines Interviews zu Studienbeginn und -ende sowie wöchentlich beurteilt (Abb. 5). Die Werte der einzelnen Items wurden zu einem Summenscore aufaddiert. Aufgrund von vereinzelt fehlenden Werten mussten die Daten bei einigen wenigen Patienten interpoliert werden. Hierzu wurde die durchschnittlich pro Item erreichte Punktzahl errechnet und diese entsprechend der Anzahl der fehlenden Items zum Gesamtscore addiert.

### **2.3.2 Definition des Schweregrades der Depression**

Aus dem Summenscore des HAMD-21 ergibt sich der Schweregrad der depressiven Episode. Aufgrund von fehlenden Vorgaben für die Auswertung des Fragebogens mit 21 Items wurde die aktuellste Empfehlung zu den Wertegrenzen für die Version mit 17 Items verwendet. Demnach liegt bei einem Score von 0-7 Punkten keine depressive Episode vor. Bei 8-16 Punkten findet sich eine leichte Depression, bei 17-23 Punkten eine mittelschwere und bei 24 oder mehr Punkten eine schwere depressive Episode (Zimmerman et al., 2013).

### **2.3.3 Definition des Therapieerfolgs**

Der Therapieerfolg der antidepressiven Behandlung wurde ebenfalls anhand dieses Fremd-Ratings, der Depressionsskala nach Hamilton, ermittelt. Entsprechend der Leitlinie zur unipolaren Depression (DGPPN et al., 2015) wurde das Therapieansprechen (Response) definiert als Verringerung der depressiven Symptomatik um mindestens die Hälfte, d.h. Abnahme des HAMD-21-Scores um  $\geq 50\%$  im Vergleich zum Ausgangswert

zu Studienbeginn. Dagegen spricht man von Remission bei Erreichen eines nahezu symptomfreien Zustands, der dem ursprünglichen Funktionsniveau entspricht (DGPPN et al., 2015). Dieser liegt bei einem HAMD-21-Score von weniger als 7 Punkten vor (Frank et al., 1991). Treten jedoch erneut depressive Symptome auf, so wird dies als Rückfall (Relapse) gewertet. Bei anhaltender Symptombfreiheit über ca. 6 Monate ist eine Genesung erreicht. Eine Wiedererkrankung nach diesem Zeitraum wird als Rezidiv bezeichnet (DGPPN et al., 2015) (vgl. auch Abb. 2).

#### **2.3.4 Beck-Depressions-Inventar (BDI)**

Zur Selbstbeurteilung der Schwere der depressiven Symptomatik wurde zu Beginn und Ende der Studie sowie wöchentlich das Beck-Depressions-Inventar von den Patienten selbst ausgefüllt (Beck et al., 1961). Hierbei handelt es sich um einen Fragebogen, der 21 Items mit je vier Antwortmöglichkeiten (0-3) umfasst und die unterschiedlich starke Ausprägung von Depressionskriterien und depressiven Symptomen erfragt (Hautzinger et al., 2009). Auch hier wurden die Werte der einzelnen Items zu einem Summenscore addiert.

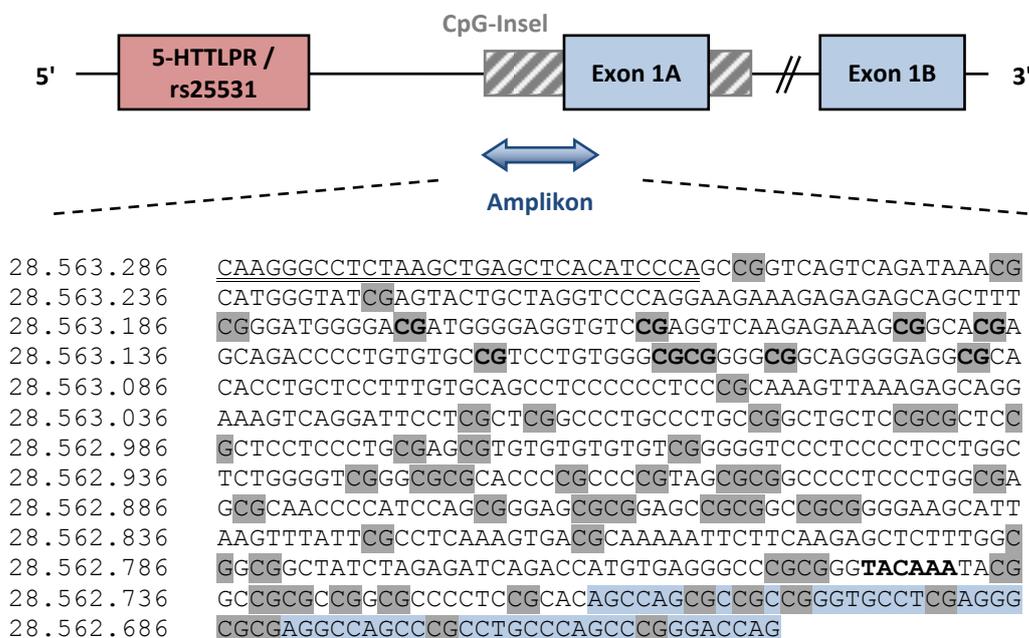
#### **2.3.5 Skala zur Beurteilung des Funktionsniveaus (GAF)**

Als weiteres Messinstrument zur Einschätzung des Therapieerfolgs wurden die Patienten zu Studienbeginn und -ende anhand der Global Assessment of Functioning-Skala beurteilt (Saß et al., 1996). Diese Skala ermittelt das allgemeine Funktionsniveau und berücksichtigt dabei Symptome und Leistungen in psychischen, sozialen und beruflichen Bereichen. Die Skalierung erfolgt von 0 bis 100 und ist in zehn Niveaus unterteilt (Aas, 2011).

## 2.4 Molekularbiologische Methoden

### 2.4.1 Aufbau des Serotonin-Transporter-Gens (*SLC6A4*, *5-HTT*)

Das Serotonin-Transporter-Gen liegt auf Chromosom 17q11.2 und überspannt einen Bereich von ca. 40 Kilobasen genomischer Sequenz. Es beinhaltet 15 Exons, davon zwei nichtkodierende Exons 1A und 1B, und kodiert für das gleichnamige Protein bestehend aus 630 Aminosäuren (Kraft et al., 2005; Bradley und Blakely, 1997; Lesch et al., 1994). Bezüglich der Genetik des Gens insbesondere der vorhandenen Polymorphismen siehe Kapitel 1.6.3.



**Abb. 6. Lokalisation der CpG-Insel inkl. der untersuchten CpG-Dinukleotide des *5-HTT*-Gens**

Der Ausschnitt der schematischen Gensequenz zeigt die Lokalisation des untersuchten Amplikons in der Kontrollregion des *5-HTT*-Gens (nicht maßstabgerecht). Die abgebildete Sequenz entspricht dem untersuchten Amplikon (NCBI Referenz-Sequenz NC\_000017.10, 28.563.286 - 28.562.652). Dargestellt sind die Bindungsstellen der Primer (doppelt unterstrichen), die TATA-Box (**fett**), der Beginn von Exon 1A (blau hinterlegt) und alle CpG-Dinukleotide (grau hinterlegt) samt der in der aktuellen Studie untersuchten CpG-Dinukleotide (zusätzlich **fett**). Die Nummerierung dieser neun CpGs erfolgte in der abgebildeten Sequenz von 3' nach 5' aufgrund der Position des Gens in Antisense-Richtung (vgl. Abb. 3). Die Sequenzkoordinaten sind in Tab. 2 genannt. Abbildung modifiziert nach Domschke et al., 2014.

Die Transkriptionskontrollregion im 5'-Bereich des *5-HTT*-Gens beinhaltet eine CpG-reiche Region, die das Exon 1A einschließt und in einer Sequenz von 799 bp 81 CpG-Dinukleotide enthält (Philibert et al., 2007). Aus diesem Bereich wurde ein Amplikon ausgewählt (Abb. 6), das bereits bei früheren Studien zur Untersuchung der Methylierung des *5-HTT*-Gens im Zusammenhang mit Depression zum Einsatz kam (Domschke et al., 2014; Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a; Alasaari et al., 2012; Devlin et al., 2010). Bei leicht abweichender Nummerierung der CpG-Dinukleotide in den Studien von Kang et al. und Kim et al. (Tab. 2) wurde in der vorliegenden Arbeit die Nomenklatur entsprechend der Studie von Domschke et al., 2014, übernommen.

**Tab. 2. Nomenklatur der verwendeten CpG-Dinukleotide der Kontrollregion des *5-HTT*-Gens**

nach Domschke et al., 2014	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5	CpG6	CpG7	CpG8	CpG9
nach Kang et al., 2013b und Kim et al., 2013a	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5		CpG6	CpG7	
nach Alasaari et al., 2012	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5				
nach Devlin et al., 2010	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5	CpG6	CpG7	CpG8	CpG9

Sequenz-Koordinaten der CpG-Dinukleotide: CpG1: 28.563.090, CpG2: 28.563.102, CpG3: 28.563.107, CpG4: 28.563.109, CpG5: 28.563.120, CpG6: 28.563.139, CpG7: 28.563.144, CpG8: 28.563.160, CpG9: 28.563.175 (NCBI Referenz-Sequenz NC\_000017.10) nach Domschke et al., 2014.

#### 2.4.2 Blutentnahme und Isolation der DNA

Zur Bestimmung des genetischen und epigenetischen Status des *5-HTT*-Gens der Probanden erfolgte die Isolation von DNA aus Leukozyten. Hierzu wurde den Patienten zu Studienbeginn - möglichst kurz nach stationären Aufnahme und schriftlicher Einwilligung zur Studienteilnahme - sowie zu Studienende Blut abgenommen (2 x 9 ml EDTA-Röhrchen). Vor der weiteren Bearbeitung wurden die Blutproben bei -80°C eingefroren. Die Isolation der DNA erfolgte durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Funktionelle Genomik (Ltg.: Univ.-Prof. Dr. Dr. K. Domschke) im Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie, Universitätsklinikum Würzburg, nach vorgeschriebenem Schema (Domschke et al., 2014). Hierzu wurde das FlexiGene DNA Kit (Qiagen, Deutschland) entsprechend den Herstellervorgaben verwendet. Zuerst

wurden die Blutzellen lysiert, um nachfolgend die Zellkerne und Mitochondrien durch Zentrifugation zu separieren. Das entstandene Pellet wurde in denaturierendem Puffer gelöst und die DNA mithilfe von Isopropanol präzipitiert. Nach einem Waschschrift wurde die DNA rehydriert und bis zur weiteren Analyse aufbewahrt (Domschke et al., 2014).

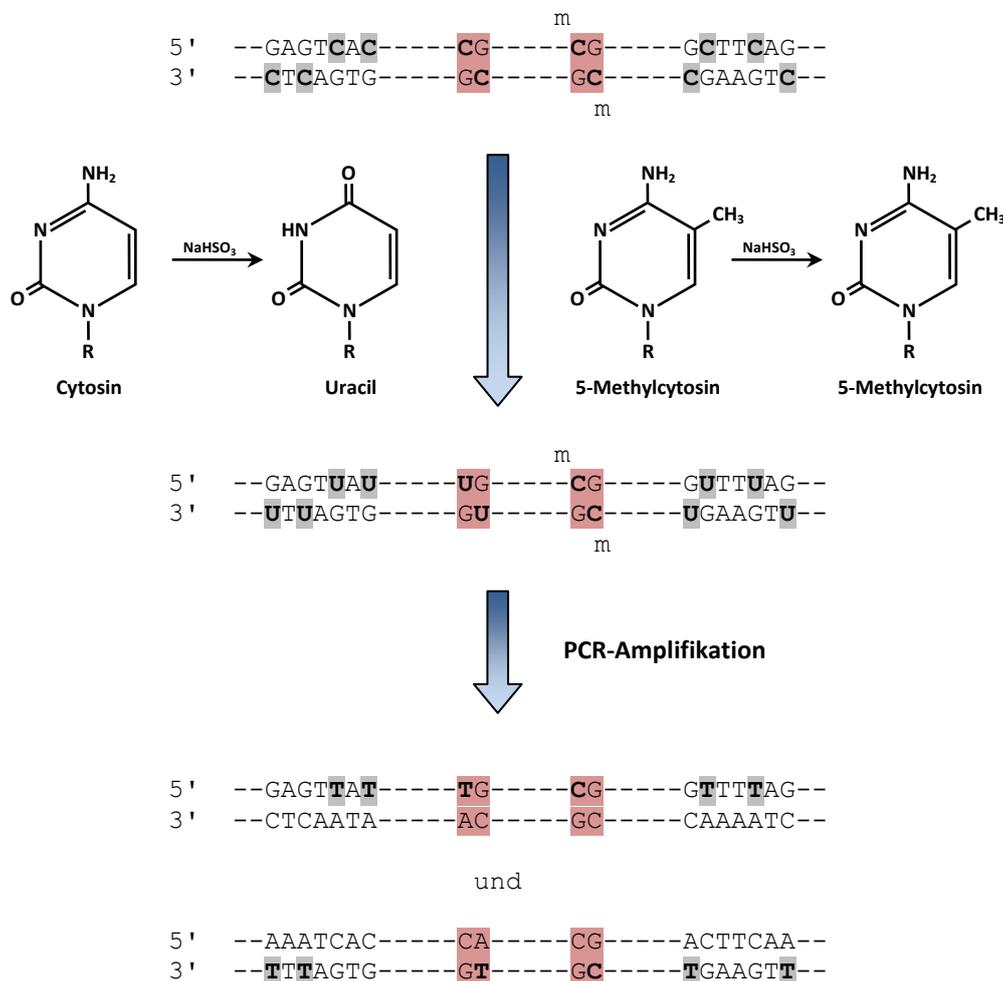
#### **2.4.3 Genotypisierung von 5-HTTLPR/rs25531**

Die Genotypisierung der Blutproben erfolgte ebenso in der Arbeitsgruppe Funktionelle Genomik (Ltg.: Univ.-Prof. Dr. Dr. K. Domschke) im Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie, Universitätsklinikum Würzburg, in Kooperation mit dem Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie (Dir.: Univ.-Prof. Dr. V. Arolt), Universitätsklinikum Münster. Auch hier wurde das genaue Vorgehen bereits in einer früheren Studie publiziert (Domschke et al., 2014). Der Genotyp der Polymorphismen 5-HTTLPR (L- oder S-Allel) und rs25531 (A oder G) wurde in Zweifachbestimmung anhand der Proben vom Zeitpunkt prä und post ermittelt. Hierzu wurde eine Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) mithilfe der Primer 5' GCGTTGCCGCTCTGAATGC 3' (forward) und 5' GAGGGACTGAGCTGGACAACCAC 3' (reverse) zur Amplifikation des entsprechenden Genabschnitts durchgeführt. Nach Restriktionsverdau mit dem Enzym HpaII erfolgte eine Gelelektrophorese mit anschließender Silberfärbung zur Visualisierung der entstandenen DNA-Fragmente (Domschke et al., 2014).

#### **2.4.4 Bisulfit-Sequenzierung**

Auch die Bisulfit-Sequenzierung wurde in der Arbeitsgruppe Funktionelle Genomik (Ltg.: Univ.-Prof. Dr. Dr. K. Domschke) im Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie, Universitätsklinikum Würzburg, in Kooperation mit dem Labor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie (Dir.: Univ.-Prof. Dr. V. Arolt), Universitätsklinikum Münster, durchgeführt. Der Ablauf im Detail ist ebenfalls vorbeschrieben (Domschke et al., 2014). Die Methode beruht darauf, dass die Basen Cytosin und ihre modifizierte Form 5-Methylcytosin sich unterschiedlich auf die Behandlung mit Natriumbisulfit ( $\text{NaHSO}_3$ ) verhalten. Während Cytosin zu Uracil

reagiert, bleibt 5-Methylcytosin in der ursprünglichen Struktur erhalten (Abb. 7). Danach erfolgt eine PCR zur Vervielfältigung des zu untersuchenden DNA-Abschnitts mit anschließender Sequenzierungsreaktion. Die bisulfitkonvertierte und amplifizierte DNA enthält in ihrer Sequenz Thymin anstelle von Uracil bzw. von zuvor unmethyliertem Cytosin und Cytosin anstatt 5-Methylcytosin (Clark et al., 1994). Eine abschließende Sequenzanalyse gibt Auskunft über die Position der methylierten und unmethylierten CpG-Dinukleotide.



**Abb. 7. Bisulfit-Sequenzierung zur Bestimmung der Methylierung**

Bei der Behandlung von DNA mit Natriumbisulfit reagiert die unmethylierte Base Cytosin zu Uracil. Das methylierte Cytosin ist aufgrund des Methylrestes von der Konvertierungsreaktion nicht betroffen. In der nachfolgenden PCR-Amplifikation erscheint Uracil als Thymin und 5-Methylcytosin als Cytosin. Nach Sequenzierung lässt sich dadurch die Lokalisation und der Anteil der Methylierung bestimmen. Einzelne Cytosin-Basen (grau hinterlegt), CpG-Dinukleotide (rot hinterlegt). Abbildung modifiziert nach Clark et al., 1994; Mill und Petronis, 2007.

In der vorliegenden Arbeit wurde das DNA Methylation™ Kit (Zymo Research, HiSS Diagnostics GmbH, Deutschland) zur Bisulfitkonvertierung sowie die Zymo-Spin™ IC Säulen (Zymo Research, HiSS Diagnostics GmbH, Deutschland) zur Aufreinigung der Reaktion verwendet. Zur Amplifikation der so behandelten DNA kamen die Primer 5' TAAGGGTTTTTAAGTTGAGTTTATATTTTA 3' (forward) und 5' CTAATCCCRAACTAAAC-AAACRAACTAA 3' (reverse, R steht für A oder G) zum Einsatz (Domschke et al., 2014; Philibert et al., 2007). Das Produkt hat eine Sequenzlänge von 635 bp und ist in Abb. 6 dargestellt. Neun CpG-Dinukleotide aus der CpG-Insel des *5-HTT*-Gens wurden zur weiteren Analyse ausgewählt (Tab. 2).

## 2.5 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit der Software SPSS Statistics (Version 23, IBM Corporation, Armonk, New York, USA) durchgeführt. Auch die Grafiken des Ergebnisteils wurden mit diesem Programm erstellt. Zunächst wurden die demographischen und klinischen Charakteristika der Stichprobe mittels deskriptiver Statistik ermittelt. Die absoluten Änderungen des HAMD-21- und BDI-Scores im Verlauf der Therapie ergaben sich aus der Differenz der Werte zu Studienende und -beginn. Die relativen Änderungen errechneten sich aus der absoluten Änderung geteilt durch den Ausgangswert zu Studienbeginn. Die Zuordnung zu den Gruppen Response und Non-Response bzw. Remission und keine Remission erfolgte anhand der relativen Änderung des HAMD-21-Scores bzw. anhand des HAMD-21-Wertes zu Studienende wie zuvor definiert (siehe 2.3.3).

Die Ergebnisse der nachfolgend durchgeführten statistischen Tests galten bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als fünf Prozent als statistisch signifikant. Die Signifikanzniveaus  $p \leq 0,05$  (\*),  $p \leq 0,01$  (\*\*) und  $p \leq 0,001$  (\*\*\*) wurden unterschieden. Zum Ausgleich der Alphafehler-Kumulierung aufgrund von multiplem Testen, insbesondere in Zusammenhang mit den Methylierungswerten der neun untersuchten CpG-Dinukleotide, wurde eine *post-hoc* Bonferroni-Korrektur angewandt. Hierzu wurde das

adjustierte Signifikanzniveau ausgehend von  $p \leq 0,05$  geteilt durch die Anzahl der durchgeführten Tests errechnet.

Zur Ermittlung des allgemeinen Therapieerfolgs wurden die Durchschnittswerte des HAMD-21-Scores (sowie von BDI und GAF) zu Studienbeginn und -ende mithilfe des T-Test für abhängige Stichproben verglichen. Da der HAMD-21-Score als grundlegender Parameter für die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit dient, wurden verschiedene Einflussfaktoren auf diesen Score und auf dessen Veränderung untersucht, um potentielle Störgrößen (Confounder) zu ermitteln. Dabei kam bei kontinuierlichen Variablen (z.B. Alter) die Bravais-Pearson-Korrelation zum Einsatz. Bei dichotomen Variablen (z.B. Geschlecht) wurde zur Bestimmung möglicher Assoziationen der T-Test für unabhängige Stichproben verwendet.

Es folgte die Analyse der genetischen und epigenetischen Daten. Nach dem Modell des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts kann anhand der beobachteten Häufigkeiten der Genotypen auf Unregelmäßigkeiten in der Allelverteilung geschlossen werden. Die zugrunde liegende Berechnung beruht auf dem  $\chi^2$ -Test und wurde mit einem im Internet verfügbaren Programm durchgeführt (<http://www.had2know.com/academics/hardy-weinberg-equilibrium-calculator-2-alleles.html>). Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht kann angenommen werden, wenn die resultierenden p-Werte nicht signifikant sind. Zur Bestimmung der Einflussfaktoren des Genotyps wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt, die laut Literatur hoher und niedrigerer Transkriptionsaktivität entsprechen (vgl. 1.6.3). Dann wurden T-Tests für unabhängige Stichproben angewandt.

Zur Beantwortung der ersten und dritten Fragestellung dieser Arbeit wurden Methylierungsdaten ausgewertet, die in den folgenden Berechnungen als kontinuierliche Variable angesehen wurden. Aus den Methylierungswerten der neun CpG-Dinukleotide wurde die mittlere Methylierung als arithmetisches Mittel berechnet. Für alle Wertepaare wurde ein Prä-Post-Vergleich mittels T-Test für abhängige Stichproben durchgeführt. Die absolute Änderung der Methylierung wurde ebenfalls als Differenz zwischen den Werten zu Studienende und -beginn berechnet. Die relative Änderung ergab sich aus dieser Differenz im Verhältnis zur Methylierung zu Beginn. Da der Messwert der

Methylierung bei einigen Probanden zu Studienbeginn null betrug, kam es bei der Berechnung der relativen Methylierungsänderung zum Problem der Division durch Null, was bei allen statistischen Tests mit relativen Methylierungsdaten zu fehlenden Werten führte (vgl. Kapitel 4.2.6). Zur Ermittlung paarweiser Assoziationen zwischen den Methylierungswerten einzelner CpG-Dinukleotide wurde die Bravais-Pearson-Korrelation verwendet. Bezüglich der untersuchten Einflussfaktoren wurde wie beim HAMD-21-Score verfahren.

Die weiteren Fragestellungen thematisierten den Zusammenhang zwischen der Methylierung bzw. der Methylierungsänderung und den primären Zielgrößen HAMD-21-Score bzw. dessen Änderung sowie den weiteren Ergebnisvariablen Response und Remission. Zur Beantwortung der zweiten Frage - ob eine Vorhersage des Therapieansprechens anhand der Methylierungswerte möglich ist - wurde eine Bravais-Pearson-Korrelation mit den Methylierungsdaten zu Studienbeginn und der Änderung des HAMD-21-Scores durchgeführt. Aufgrund des Pilotcharakters der Studie und der geringen Stichprobengröße sowie aufgrund der fehlenden Signifikanz der untersuchten Einflussfaktoren auf die Methylierung und den HAMD-21-Score wurde auf eine lineare Regressionsanalyse verzichtet und keine Adjustierung für mögliche Kovariablen vorgenommen.

Zur graphischen Darstellung des Therapieansprechens in Abhängigkeit von der Methylierung wurde ein Median Split durchgeführt. Anhand des Medians der Methylierung zu Studienbeginn wurden die Patienten nach hoher und niedriger Methylierung gruppiert. Die Änderung des HAMD-21-Scores im Wochenverlauf wurde dann im Gruppenvergleich dargestellt. Zum Vergleich des Therapieansprechens zwischen den beiden Gruppen in den einzelnen Wochen wurden T-Tests für unabhängige Stichproben angewendet. Außerdem wurden die Unterschiede in der Methylierung in den Gruppen Response vs. Non-Response bzw. Remission vs. keine Remission graphisch aufgezeigt und anhand von T-Tests für unabhängige Stichproben bewertet.

Die vierte Fragestellung untersuchte den Zusammenhang zwischen der Methylierungsänderung und der gesundheitlichen Besserung der Patienten, gemessen anhand der

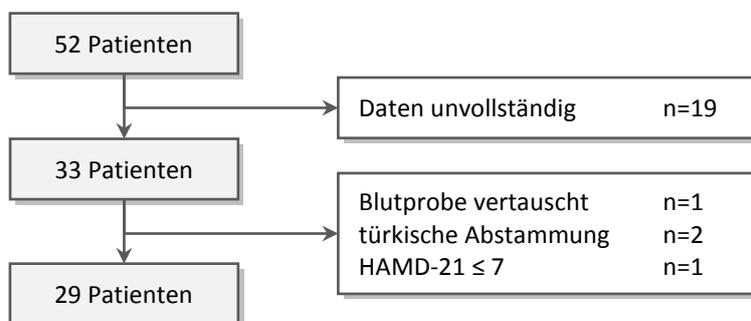
Änderung des HAMD-21-Scores. Hierbei wurde ebenfalls zuerst die Bravais-Pearson-Korrelation angewendet. Danach wurden die Unterschiede in der Methylierungsänderung in den Gruppen Response vs. Non-Response bzw. Remission vs. keine Remission graphisch dargestellt. Zur Untersuchung des multivariaten Modells der Methylierungsänderungen der einzelnen CpG-Dinukleotide wurde eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) mit den neun Methylierungsänderungen als abhängige Variablen und der Response bzw. der Remission als feste Faktoren durchgeführt. Danach erfolgten einzelne T-Tests für unabhängige Stichproben.

Zum Schluss wurde zur Beantwortung der fünften Fragestellung der Arbeit der Einfluss der eingenommenen Psychopharmaka auf die Methylierungsänderung analysiert. Zuerst wurden die Patienten in je zwei Gruppen eingeteilt, abhängig davon, ob sie ein Medikament der untersuchten Substanzklassen eingenommen hatten oder nicht. Dann wurde die mittlere Methylierungsänderung in den beiden Gruppen mithilfe von T-Tests für unabhängige Stichproben analysiert. Da die selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmer direkt am Serotonin-Transporter angreifen, wurde für diese Substanzgruppe auch die Methylierungsänderung der einzelnen CpG-Dinukleotide in den beiden Gruppen mittels T-Tests für unabhängige Stichproben untersucht.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Demographische und klinische Charakteristika der Stichprobe

Im Zeitraum von Oktober 2012 bis Juni 2014 wurden insgesamt 52 Patienten mit unipolarer Depression rekrutiert, die in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie (Dir.: Univ.-Prof. Dr. J. Deckert), Universitätsklinikum Würzburg, stationär behandelt wurden. Bei 33 Probanden waren die Daten (HAMD-21 Prä- und Post-Therapie sowie die jeweiligen Methylierungsdaten) insoweit vollständig, um eine Auswertung durchführen zu können. Aufgrund einer Verwechslung einer Blutprobe, was sich durch einen unterschiedlichen Genotyp in Zweifachbestimmung bemerkbar machte, wurde eine Patientin aus den Analysen ausgeschlossen. Außerdem konnten zwei Probanden mit türkischer Abstammung aufgrund der Ausschlusskriterien nicht in der Auswertung berücksichtigt werden. Ein Patient erreichte zu Studienbeginn einen HAMD-21-Score von lediglich 4 Punkten. Da es sich bei diesem Wert definitionsgemäß nicht um eine depressive Episode handelte (vgl. Kapitel 2.3.2), wurde dieser Patient ebenfalls ausgeschlossen (Abb. 8).



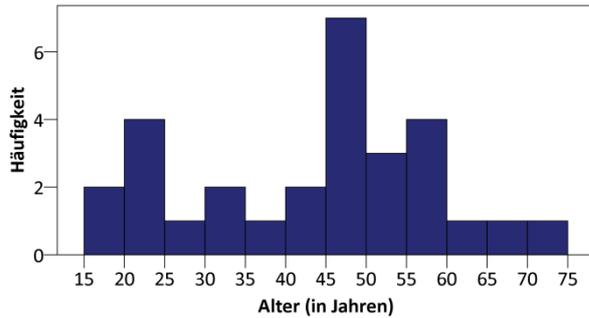
**Abb. 8. Flussdiagramm der rekrutierten Studienpatienten**

Die Charakteristika der Studienpopulation sind in Tab. 3 zusammengefasst. Die teilnehmenden Patienten waren im Durchschnitt 42,8 (Standardabweichung bzw. SD=15,2) Jahre alt mit einer Altersspanne von 18 bis 71 Jahren und einer zweigipfligen Altersverteilung (Abb. 9). 21 Patienten (72,4 %) waren weiblich und 8 (27,6 %) männlich. Unter den 29 Probanden waren zu Studienbeginn 12 (41,4 %) aktive Raucher mit einem durchschnittlichen Konsum von 14,1 Zigaretten pro Tag seit 14,7 Jahren.

**Tab. 3. Charakteristika der Studienpopulation**

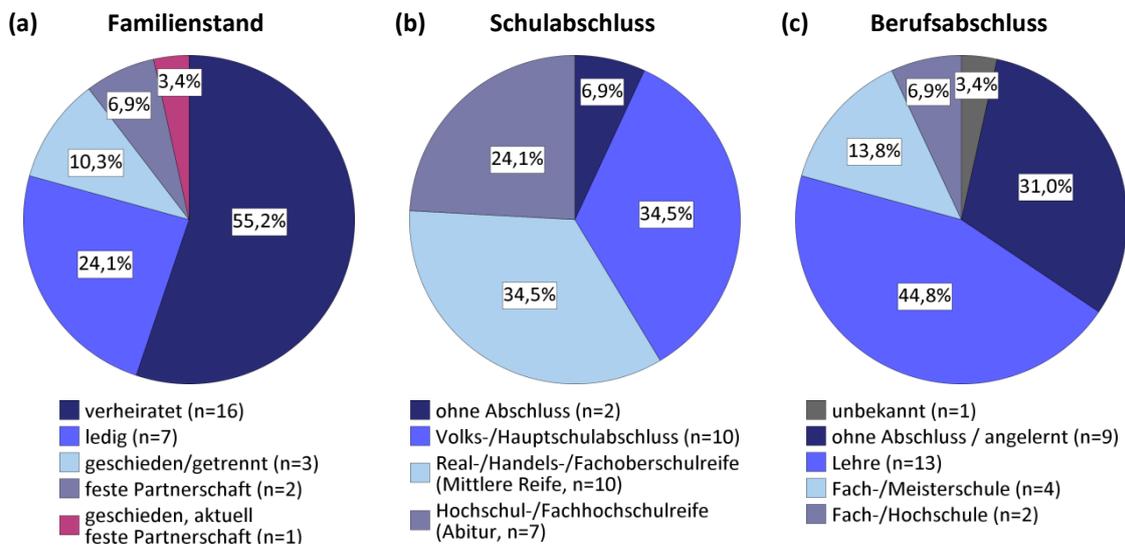
<b>Variable (n=29)</b>	<b>Mittelwert (SD) oder wie angegeben</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	42,8 (15,2) Jahre
Altersspanne (Jahre)	18-71 Jahre
<b>Geschlecht</b>	
männlich, n (%) vs. weiblich, n (%)	8 (27,6 %) vs. 21 (72,4 %)
<b>Raucher, n (%)</b>	12 (41,4 %)
Dauer des Konsums (Jahre, n=11)	14,7 (12,8)
Anzahl Zigaretten/Tag (n=12)	14,1 (7,1)
<b>HAMD-21-Score</b>	
zu Studienbeginn (prä)	21,2 (8,3)
Minimum-Maximum	9-36
zu Studienende (post)	7,1 (4,4)
Minimum-Maximum	2-19
absolute Änderung	-14,1 (9,0)
relative Änderung (%)	-61,6 % (30,1 %)
Response vs. Nonresponse, n (%)	23 (79,3 %) vs. 6 (20,7 %)
Remission vs. keine Remission, n (%)	19 (65,5 %) vs. 10 (34,5 %)
<b>BDI-Score (n=19)</b>	
zu Studienbeginn (prä)	29,8 (8,3)
zu Studienende (post)	15,7 (10,5)
absolute Änderung	-14,1 (9,3)
relative Änderung (%)	-47,4 % (30,3 %)
<b>GAF (n=28)</b>	
zu Studienbeginn	43,4 (8,6)
zu Studienende	64,5 (8,7)
<b>Alter bei erster depressiver Episode (Jahre, n=28)</b>	35,2 (15,2) Jahre
Altersspanne (Jahre)	7-69 Jahre
<b>bisherige Krankheitsdauer (Jahre, n=28)</b>	6,9 (8,7) Jahre
Minimum-Maximum (Jahre)	0,25-35 Jahre
<b>Dauer der aktuellen Episode (Monate)</b>	7,6 (6,4) Monate
Minimum-Maximum (Monate)	1-24 Monate
<b>Anzahl der bisherigen depressiven Episoden (n=27)</b>	6,4 (26,7)
Minimum-Maximum	0-140
<b>Anzahl der bisherigen psych. Krankenhausaufenthalte</b>	1,1 (1,6)
Minimum-Maximum	0-6
<b>Suizidversuch in der Vorgeschichte, n (%)</b>	1 (3,4 %)
<b>Komorbiditäten</b>	
Angststörungen (F40.1, F41.0, F41.1), n (%)	5 (17,2 %)
hyperkinetische Störung (F90.9), n (%)	2 (6,9 %)
<b>Depression in der Familienanamnese, n (%)</b>	20 (69,0 %)
<b>medikamentöse Vorbehandlung</b>	
ja, n (%)	25 (86,2 %)
nein, n (%)	4 (13,8 %)
<b>stationäre Pharmakotherapie (Antidepressiva), n (%)</b>	TZA: 16 (55,2 %), Venlafaxin: 15 (51,7 %), Mirtazapin: 8 (27,6 %), SSRI: 7 (24,1 %), Agomelatin: 2 (6,9 %), Tranlycypromin: 1 (3,4 %)
<b>häufigste Komedikation, n (%)</b>	Antipsychotika: 15 (51,7 %) Benzodiazepine: 13 (44,8 %)

Sofern nicht anders angegeben handelt es sich bei den Werten um Mittelwerte (Standardabweichung). Abweichende Stichprobengrößen werden bei der jeweiligen Variable genannt.



**Abb. 9. Altersverteilung der Studienpopulation (n=29)**

Die Intervallbreite der Balken entspricht 5 Jahren. Die Altersspanne in der Studienpopulation reichte von 18 bis 71 Jahren, und die Verteilung zeigte einen zweigipfligen Verlauf mit den meisten Patienten in den Altersgruppen von 20 bis 25 sowie 45 bis 60 Jahren.



**Abb. 10. Kreisdiagramme zu Familienstand und Bildung (Schul- und Berufsabschluss) (n=29)**

Alle in die Auswertung eingeschlossenen Probanden wurden in Deutschland geboren. Auch die Eltern stammten zum Großteil aus Deutschland, mit Ausnahme von drei Patienten mit Wurzeln in Italien, der Ukraine sowie den USA. Drei weitere hatten keine Angaben zur Herkunft ihrer Eltern gemacht.

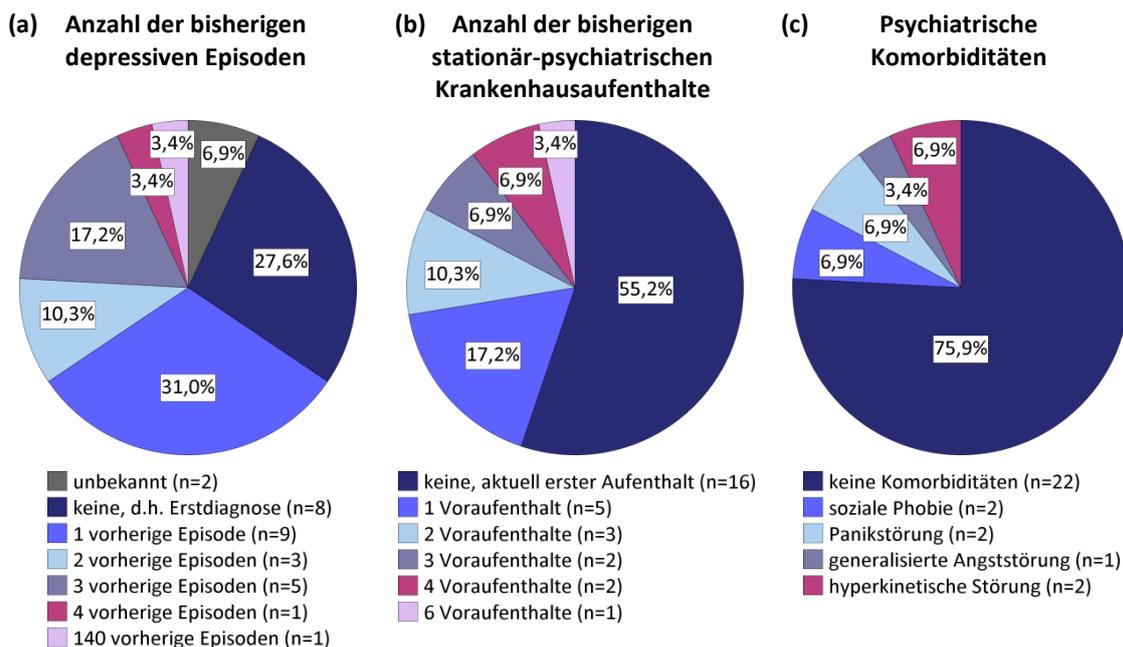
Die Angaben zu Familienstand und Bildung sind in Abb. 10 dargestellt. Demnach lebten knapp zwei Drittel der Probanden in einer festen Beziehung, und mehr als die Hälfte war verheiratet (n=16, 55,17 %). Ungefähr ein Drittel hatte keinen Partner, d.h. war ledig (n=7, 24,24 %) oder geschieden (n=3, 10,34 %) (Abb. 10a). Jeweils ca. ein Drittel der Patienten hatte die Schule mit einem Hauptschulabschluss (n=10, 34,48 %) oder der mittleren Reife (n=10, 34,48 %) abgeschlossen. Etwa ein Viertel besaß das Abitur

(n=7, 24,14 %) und zwei Patienten hatten keinen Schulabschluss (Abb. 10b). Die meisten Studienteilnehmer verfügten über einen Berufsabschluss (Abb. 10c). Am häufigsten war dies eine abgeschlossene Lehre (n=13, 44,8 %). Einige Probanden hatten auch eine Meisterschule durchlaufen (n=4, 13,8 %) oder eine Fach-/Hochschulausbildung abgeschlossen (n=2, 6,9 %). Neun Patienten (31,0 %) hatten bisher noch keinen Berufsabschluss erworben, von denen sich einige in Ausbildung oder im Studium befanden.

### **3.1.1 Bisheriger Krankheitsverlauf und Komorbiditäten**

Die Probanden der Stichprobe erkrankten im Durchschnitt mit 35,2 Jahren (SD=15,2) an der ersten depressiven Episode. Die Altersspanne hierbei reichte von 7 bis 69 Jahren. Die bisherige Dauer der Erkrankung betrug durchschnittlich 6,9 Jahre (SD=8,7), darunter neu diagnostizierte Patienten mit kurzer Krankheitsdauer und Patienten, die bereits seit 35 Jahren unter rezidivierender Depression litten. Im Schnitt lag die Anzahl der bisherigen depressiven Episoden bei 6,4 (SD=26,7). Der Großteil der Patienten (n=18, 62,1 %) gab eine bis vier bisherige Krankheitsphasen an, während bei den acht (27,3 %) erstdiagnostizierten Patienten bisher noch keine depressive Episode aufgetreten war (Abb. 11a). Des Weiteren handelte es sich bei dem aktuellen stationärpsychiatrischen Krankenhausaufenthalt für 16 Patienten (55,2 %) um den Erstaufenthalt. Fünf Patienten (17,2 %) waren bereits einmal und acht Patienten (27,5 %) zwei bis sechsmal in stationärer Behandlung einer psychiatrischen Klinik (Abb. 11b). Einer der Patienten hatte in der Vorgeschichte einen Suizidversuch begangen.

Etwa ein Viertel der Studienpatienten (n=7) litt neben der Depression an einer weiteren psychischen Erkrankung, wobei es sich fast ausschließlich um Angststörungen handelte (Abb. 11c). Jeweils zwei Patienten hatten eine soziale Phobie (F40.1) und eine Panikstörung (F41.0). Ein weiterer Patient war von einer generalisierten Angststörung (F41.1) betroffen. Außerdem berichteten zwei Patienten über eine hyperkinetische Störung (F90.9). In der Familienanamnese waren bei 23 Patienten (79,2 %) psychische Erkrankungen bekannt. Eine depressive Erkrankung kam bei 20 Patienten (69,0 %) in der Familie vor.



**Abb. 11. Kreisdiagramme zur Anzahl der bisherigen depressiven Episoden und Anzahl der stationär-psychiatrischen Krankenhausaufenthalte sowie zu psychiatrischen Komorbiditäten (n=29)**

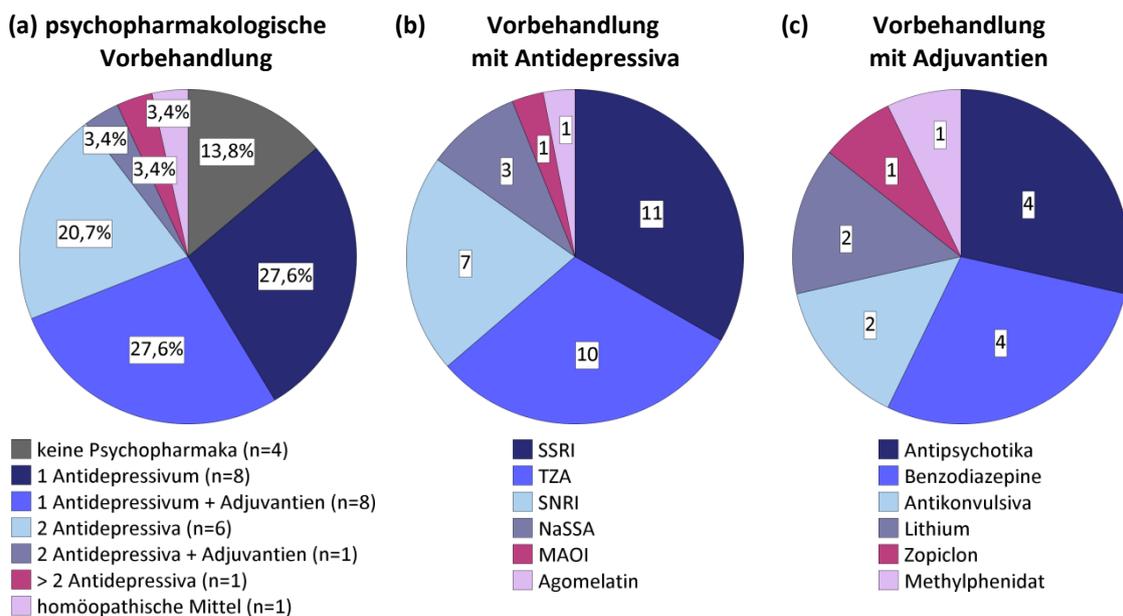
### 3.1.2 Aktuelle Krankheitsepisode und bisherige Therapie

Die aktuelle Krankheitsepisode und damit der Grund der stationär-psychiatrischen Aufnahme bestand bei den Patienten bereits seit durchschnittlich 7,6 (SD=6,4) Monaten. Daher hatten die meisten Patienten schon eine ambulante Vorbehandlung erfahren. Nur vier (13,8 %) Patienten hatten in den letzten acht Wochen vor der Aufnahme noch keine psychopharmakologisch wirksamen Medikamente bekommen. Demzufolge waren 25 (86,2 %) Patienten medikamentös anbehandelt worden (Abb. 12a). Jeweils acht Patienten wurden mit einer Monotherapie eines Antidepressivums bzw. mit einem Antidepressivum in Kombination mit einem psychopharmakologisch wirksamen Adjuvans therapiert. Wiederum acht Patienten hatten zwei oder mehr Antidepressiva erhalten. Dabei wurde jedoch nicht erfasst, ob die Antidepressiva in Kombination oder im Sinne eines Medikamentenwechsels verordnet worden waren. Ein Patient hatte ein homöopathisches Präparat eingenommen.

Die verwendeten Substanzgruppen der Antidepressiva sind in Abb. 12b dargestellt. Die meisten Patienten (11 von 24) hatten selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer eingenommen, darunter Citalopram, Escitalopram, Fluoxetin, Paroxetin und Sertralin.

Dicht darauf folgten die trizyklische Antidepressiva (10 von 24) mit den Präparaten Amitriptylin, Doxepin, Trimipramin, Opipramol sowie Clomipramin, gefolgt von den selektiven Serotonin-/Noradrenalin-Wiederaufnahme-Inhibitoren Duloxetin und Venlafaxin (7 von 24). Drei Patienten wurden mit Mirtazapin und je ein Patient mit Tranylcypromin und Agomelatin behandelt.

Als Adjuvantien wurden am häufigsten Benzodiazepine (Lorazepam, Oxazepam) und Antipsychotika (Quetiapin) verwendet. Daneben kamen auch Stimmungsstabilisierer wie Lithium und Antikonvulsiva (Pregabalin, Carbamazepin) sowie Methylphenidat und Zopiclon zum Einsatz (Abb. 12c). Des Weiteren war ein Patient mit Lichttherapie vorbehandelt worden und drei Patienten hatten an einer Psychotherapie teilgenommen.



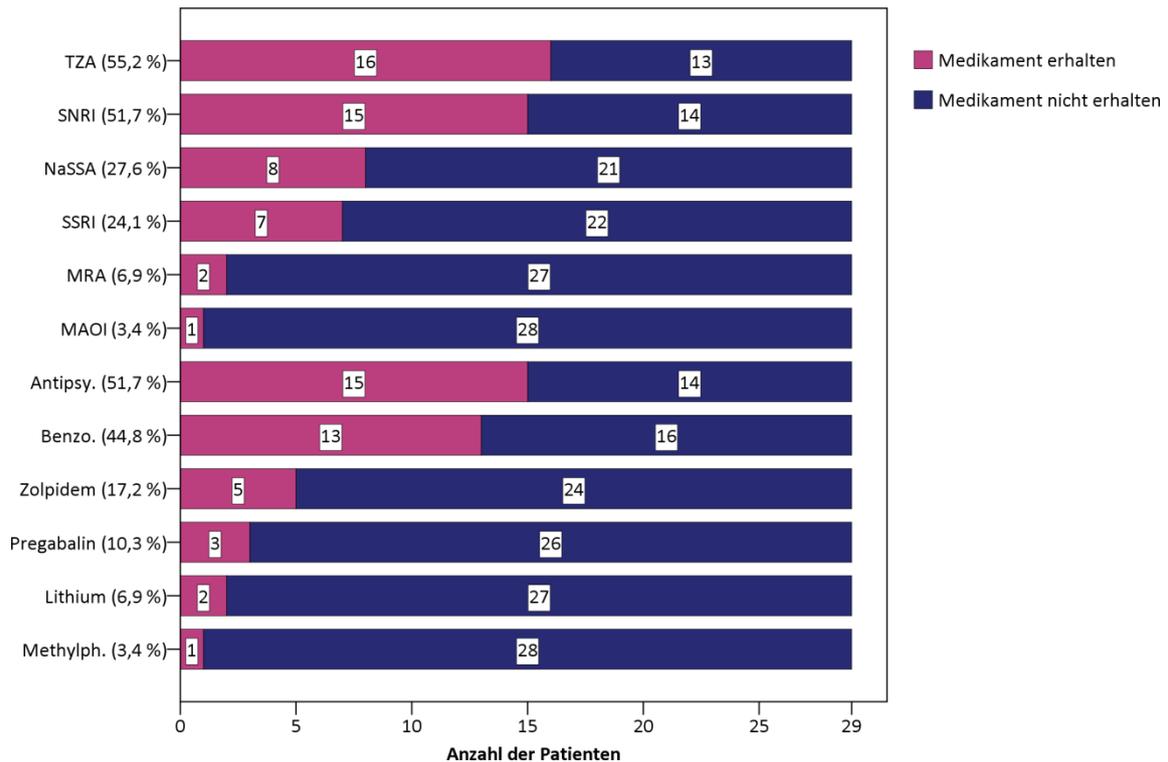
**Abb. 12. Kreisdiagramme zur medikamentösen Vorbehandlung vor Studienbeginn**

24 Patienten wurden mit Antidepressiva vorbehandelt. Die Summe der verwendeten Substanzgruppen in (b) ist aufgrund von Mehrfachnennungen durch Kombinationstherapien oder Medikamentenwechsel größer. SSRI = selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren, TZA = trizyklische Antidepressiva, SNRI = selektive Serotonin-/Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren, NaSSA = noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva, MAOI = Monoaminoxidase-Inhibitoren.

### **3.1.3 Studienverlauf und stationäre Therapie**

Die Patienten wurden im Durchschnitt 7,7 Tage (SD=5,7) nach stationärer Aufnahme in die Studie eingeschlossen. Vierzehn Patienten begannen die Studie bereits in ihrer ersten Behandlungswoche, davon sechs Patienten direkt am Tag nach der Aufnahme. Zwölf Patienten nahmen ab ihrer zweiten und drei Patienten ab der dritten Behandlungswoche an der Studie teil. Von den 29 analysierten Patienten haben 19 (65,5 %) die Studie gemäß dem beschriebenen Studienablauf komplett durchlaufen. Aufgrund von vorzeitiger Entlassung wurde die Studie bei den restlichen zehn Patienten (34,5 %) verkürzt. Die Studiendauer betrug durchschnittlich 33,7 Tage (SD=11,7), gemessen am Zeitraum zwischen den Blutentnahmen zum Zeitpunkt prä und post.

Die antidepressive Therapie während des stationären Aufenthaltes beinhaltete sowohl Pharmako- als auch Psychotherapie. Während der gesamten Studienlaufzeit erhielten alle Probanden mit Ausnahme eines Patienten eine medikamentöse Psychopharmakotherapie gemäß den ärztlichen Anordnungen. Dabei handelte es sich zumeist um eine Kombinationstherapie aus ein bis zwei Antidepressiva mit Antipsychotika und/oder Benzodiazepinen. Die am meisten eingesetzten Antidepressiva kamen aus der Gruppe der Trizyklika (Amitriptylin, Nortriptylin, Doxepin, Trimipramin, Clomipramin) und der SNRI (Venlafaxin) und wurden bei etwas mehr als der Hälfte der Patienten angewendet. Mirtazapin und SSRI (Escitalopram, Sertralin) kamen bei einem Viertel der Patienten zum Einsatz. Zwei Patienten erhielten während des Studienverlaufs Agomelatin und ein Patient nahm Tranylcypromin ein. Zusätzlich wurden über 50 % der Patienten Antipsychotika (Quetiapin, Aripiprazol, Risperidon) verschrieben und etwas weniger als die Hälfte bekam Benzodiazepine (Lorazepam, Temazepam). Weiterhin erhielten drei Patienten Pregabalin und zwei Patienten Lithium zur Stimmungsstabilisierung. Fünf Patienten nahmen Zolpidem zur Nacht ein und ein Patient wurde zusätzlich zur antidepressiven Therapie noch mit Methylphenidat behandelt (Abb. 13).



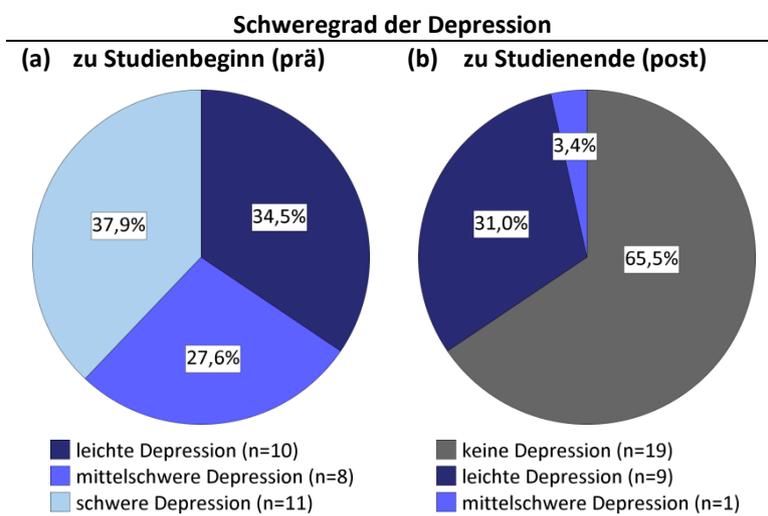
**Abb. 13. Übersicht über die antidepressive Therapie der Studienpatienten nach Substanzgruppen**

In den Balken angegeben, ist die Anzahl der Patienten, die ein Medikament der aufgeführten Substanzgruppen erhalten bzw. nicht erhalten haben. Die Werte in Klammern entsprechen dem prozentualen Anteil der Patienten, die diese Therapie bekommen haben. TZA = trizyklische Antidepressiva, SNRI = selektive Serotonin-/Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren, NaSSA = noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva, SSRI = selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren, MRA = Melatonin-Rezeptor-Agonist, MAOI = Monoaminoxidase-Inhibitoren, Antipsy. = Antipsychotika, Benzo. = Benzodiazepine, Methylph. = Methylphenidat.

Neben der Pharmakotherapie konnten die Patienten die von der Station angebotenen komplementären Therapiemöglichkeiten und Aktivitäten wie z.B. Sport und Kunsttherapie nutzen. Vier Patienten nahmen regelmäßig während ihres Aufenthaltes an Interpersoneller Psychotherapie (IPT) teil, die psychosoziale Angelegenheiten aufarbeitet. Fünfzehn Patienten besuchten diese Sitzungen nicht, während bei 10 Patienten keine Angaben zur Teilnahme dokumentiert wurde.

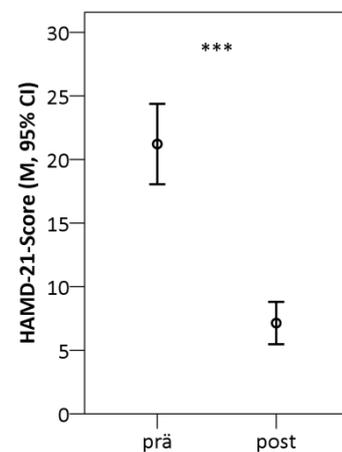
### 3.2 Schweregrad der Depression und Therapieerfolg

Zu Studienbeginn betrug der HAMD-21-Score im Schnitt 21,2 Punkte (SD=8,3). Die Verteilung der daraus resultierenden Schweregrade ergab bei einem Drittel der Patienten eine leichte Depression. Mehr als ein Viertel litt an einer mittelschweren und über ein Drittel an einer schweren depressiven Episode (Abb. 14a). Zu Studienende lag der durchschnittliche HAMD-21-Score bei 7,1 Punkten (SD=4,4) und sank damit auf ca. ein Drittel des Ausgangswerts. Dies entspricht einer signifikanten Verbesserung (Abb. 15,  $t(28)=8,40$ ;  $p<0,001$ ). Die Schweregradverteilung zeigte zu diesem Zeitpunkt bei knapp einem Drittel der Patienten noch eine leichte Depression. Ein Patient fiel weiterhin unter die Kategorie mittelschwere Depression, während sich 19 Patienten (65,5 %) bereits in Remission befanden (Abb. 14b). Die relative Abnahme im HAMD-21-Score bezogen auf die Werte zu Studienbeginn betrug im Durchschnitt 61,6 %. Insgesamt zeigten 23 Patienten (79,3 %) eine Response (Abnahme im HAMD-Score um  $\geq 50$  %) und bei 6 Patienten (20,7 %) ließ sich kein Ansprechen nachweisen.



**Abb. 14. Kreisdiagramme zum Schweregrad der Depression**

Schweregrad nach HAMD-21-Score: 0-7 Punkte = keine Depression, 8-16 Punkte = leichte Depression, 17-23 Punkte = mittelschwere Depression,  $\geq 24$  = schwere Depression.



**Abb. 15. HAMD-21-Score im Prä-Post-Vergleich**

\*\*\* $p<0,001$

Eine Besserung der Erkrankung zeigte sich auch in den Werten des Beck-Depressions-Inventars (BDI) und der Skala zur globalen Erfassung des Funktionsniveaus (GAF): 19 von 29 Patienten nahmen eine Selbsteinschätzung ihres Erkrankungszustands anhand des BDI zu Studienbeginn und -ende vor. Der BDI-Score verringerte sich bei diesen Patienten vom Zeitpunkt prä ( $M=29,8$ ;  $SD=8,3$ ) bis zum Zeitpunkt post ( $M=15,7$ ;  $SD=10,5$ ) signifikant ( $t(18)=6,6$ ;  $p<0,001$ ). Auch die GAF-Skala zeigte eine signifikante Verbesserung ( $t(27)=-10,63$ ;  $p<0,001$ ). Die hierbei vorgenommene Fremdeinschätzung der Beschwerden ergab zu Studienbeginn im Mittel ernste Symptome bzw. eine ernste Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit ( $M=43,4$ ;  $SD=8,6$ ). Zu Studienende waren im Schnitt nur noch einige leichte Symptome bzw. leichte Schwierigkeiten hinsichtlich der Leistungsfähigkeit vorhanden ( $M=64,5$ ;  $SD=8,7$ ).

### **3.2.1 Einflussfaktoren auf den HAMD-21-Score**

Die als Einflussfaktoren auf die Schwere der Depression infrage kommenden Patientencharakteristika ergaben allesamt keinen signifikanten Zusammenhang mit dem HAMD-21-Score zu Studienbeginn: So waren weder das Alter ( $r(27)=0,079$ ;  $p=0,685$ ) noch das Geschlecht ( $t(27)=0,728$ ;  $p=0,473$ ) mit dem HAMD-21 prä assoziiert. Auch zwischen Rauchern und Nichtrauchern zeigte sich kein Unterschied in diesem Score ( $t(27)=0,080$ ;  $p=0,937$ ). Des Weiteren fand sich für die Gesamtdauer der depressiven Erkrankung ( $r(26)=0,091$ ;  $p=0,647$ ) und für die Dauer der aktuellen Krankheitsperiode ( $r(27)=0,028$ ;  $p=0,885$ ) sowie für die Anzahl der bisherigen depressiven Episoden ( $r(25)=0,238$ ;  $p=0,232$ ) und für die Anzahl der stationär-psychiatrischen Krankenhausaufenthalte ( $r(27)=0,138$ ;  $p=0,475$ ) keine Korrelation mit dem HAMD-21-Score zu Studienbeginn.

Die Änderungen des HAMD-21-Scores - sowohl absolut als auch relativ - korrelierten ebenfalls nicht mit dem Alter ( $r(27)=-0,110$ ;  $p=0,568$  bzw.  $r(27)=-0,194$ ;  $p=0,312$ ) oder dem Geschlecht ( $t(27)=-0,947$ ;  $p=0,352$  bzw.  $t(8)=-1,234$ ;  $p=0,252$ ). Außerdem waren diese Änderungen des Scores nicht abhängig von der Studiendauer ( $r(27)=0,112$ ;  $p=0,562$  bzw.  $r(27)=0,245$ ;  $p=0,200$ ). Auch die eingenommenen Medikamente, einge-

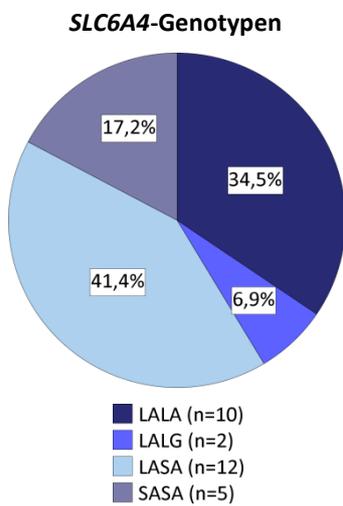
teilt nach Substanzgruppen, hatten keinen Einfluss auf die absolute und relative Änderung des HAMD-21-Scores. Hierbei zeigte sich nach Bonferroni-Korrektur kein Unterschied zwischen den Patienten, die ein Medikament der jeweiligen Substanzgruppen der Antidepressiva und Adjuvantien eingenommen hatten, im Vergleich zum Rest der Patienten, die kein Medikament dieser Substanzgruppe erhalten hatten (TZA:  $t(27)=-0,790$ ,  $p=0,436$ ; SNRI:  $t(27)=-1,279$ ,  $p=0,212$ ; NaSSA:  $t(27)=1,539$ ,  $p=0,136$ ; SSRI:  $t(27)=-0,791$ ,  $p=0,436$ ; Antipsychotika:  $t(27)=0,686$ ,  $p=0,499$ ; Benzodiazepine:  $t(27)=0,243$ ,  $p=0,810$  für die absolute Änderung des HAMD-21-Scores bzw. TZA:  $t(27)=-0,729$ ,  $p=0,473$ ; SNRI:  $t(27)=0,152$ ,  $p=0,880$ ; NaSSA:  $t(27)=2,409$ ,  $p=0,023$ ; SSRI:  $t(27)=0,092$ ,  $p=0,927$ ; Antipsychotika:  $t(20)=0,917$ ,  $p=0,370$ ; Benzodiazepine:  $t(27)=0,462$ ,  $p=0,648$  für die relative Änderung). Die Signifikanz bei NaSSA bezüglich der relativen Änderung im HAMD-21-Score blieb nach Bonferroni-Korrektur nicht bestehen.

### **3.3 SLC6A4-Genotypen (5-HTTLPR/rs25531)**

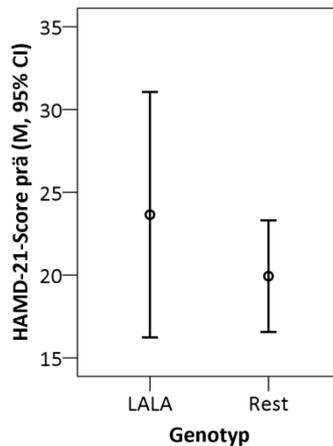
Die Genotypisierung ergab bei 10 (34,5 %) Patienten den Genotyp  $L_A L_A$ , bei 2 (6,9 %) Patienten  $L_A L_G$ , bei 12 (41,4 %) Patienten  $L_A S_A$  und bei 5 (17,2 %) Patienten  $S_A S_A$  (Abb. 16). Die Verteilung der Genotypen beider Polymorphismen befand sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht: Für den 5-HTTLPR-Polymorphismus betrug die Anzahl der Genotypen  $LL=12$ ,  $SL=12$  sowie  $SS=5$  ( $p=0,514$ ) und für den SNP rs25531 ergab sich eine Genotypverteilung von  $AA=27$ ,  $AG=2$  und  $GG=0$  ( $p=0,848$ ). Eingeteilt nach Funktionalität bildeten die Patienten mit dem Genotyp  $L_A L_A$  ( $n=10$ , 34,5 %) die Gruppe mit hoher Transkriptionsaktivität und alle weiteren Genotypen die Gruppe 'Rest' ( $n=19$ , 65,5 %) mit niedriger Aktivität.

Bezüglich ausgewählter Patientencharakteristika zeigten sich in den beiden Genotyp-Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Der mittlere HAMD-21-Score zu Studienbeginn (Abb. 17) lag in der Gruppe  $L_A L_A$  ( $M=23,6$ ,  $SD=10,4$ ) marginal höher als beim Rest ( $M=19,9$ ,  $SD=7,0$ ), unterschied sich jedoch nicht signifikant ( $t(27)=-1,149$ ;  $p=0,261$ ). Auch die absolute ( $t(27)=0,717$ ;  $p=0,480$ ) und relative ( $t(27)=-0,349$ ;  $p=0,730$ ) Änderung des HAMD-21-Scores war nicht vom Genotyp abhängig.

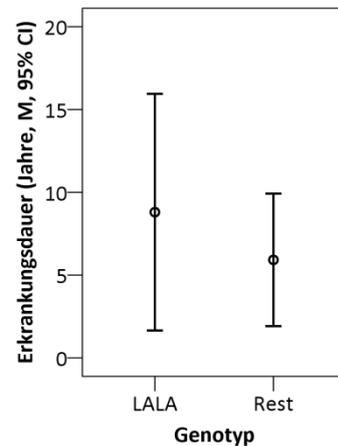
Im Hinblick auf die ermittelten Krankheitsmerkmale schien die Gesamtdauer der depressiven Erkrankung (Abb. 18) in der Gruppe  $L_{ALA}$  (M=8,8 Jahre, SD=10,0 Jahre) etwas länger zu sein als beim Rest (M=5,9 Jahre, SD=8,0 Jahre). Dieser Unterschied erreichte allerdings ebenfalls keine Signifikanz ( $t(26)=-0,833$ ;  $p=0,413$ ). Auf die Dauer der aktuellen Krankheitsepisode ( $t(27)=-0,149$ ;  $p=0,883$ ), die Anzahl der bisherigen depressiven Episoden ( $t(7)=-1,020$ ;  $p=0,341$ ) sowie die Anzahl der bisherigen stationär-psychiatrischen Krankenhausaufenthalte ( $t(27)=-0,075$ ;  $p=0,940$ ) hatten die beiden Genotyp-Gruppen darüber hinaus auch keinen Einfluss.



**Abb. 16. Genotyp-Verteilung**  
Vier verschiedene Genotypen kamen bei den Patienten vor.



**Abb. 17. HAMD-21-Score gruppiert nach Genotyp**  
 $p=0,261$



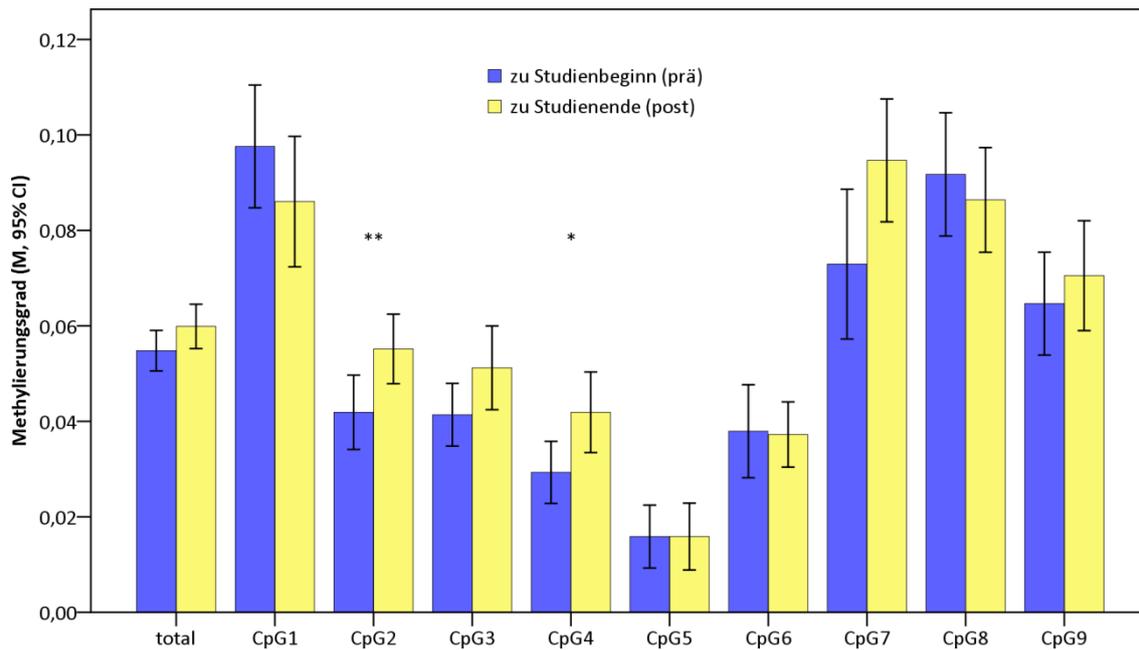
**Abb. 18. Gesamtdauer der Erkrankung nach Genotyp**  
 $p=0,413$

### 3.4 SLC6A4-Methylierungsgrad

Die erste und dritte Fragestellung der vorliegenden Arbeit behandelte den Methylierungsstatus des 5-HTT-Gens (*SLC6A4*) der Studienpopulation und fragte nach Methylierungsänderungen im Studienverlauf. Der durchschnittliche Methylierungsgrad aller neun CpG-Dinukleotide betrug zu Studienbeginn 5,5 % (SD=1,1 %) bei einer Spanne von 3,6 % bis 8,0 %. Zu Studienende lag die mittlere Methylierung im Schnitt bei 6,0 % (SD=1,2 %) mit einem Minimum von 2,2 % und einem Maximum von 8,8 %. Dieser Unterschied war nicht signifikant ( $t(28)=-1,55$ ;  $p=0,133$ ). Die Methylierungswerte der einzelnen CpG-Dinukleotide sind in Abb. 19 und in Tab. 4 dargestellt. Sie reichten zu Studienbeginn von durchschnittlich 1,6 % bei CpG5 bis 9,8 % bei CpG1 und zu Studienende von 1,6 % bei CpG5 bis 9,5 % bei CpG7. Die individuellen Extremwerte ergaben ein Minimum von 0,0 % als niedrigsten Wert bei CpG4, CpG5 und CpG6 sowie ein Maximum von 20,0 % bei CpG7.

Die paarweise berechneten Korrelationen zwischen den Methylierungswerten der einzelnen CpG-Dinukleotide zu Studienbeginn ergaben Korrelationskoeffizienten nach Pearson im Bereich von  $r=-0,437$  bis  $r=0,423$ . Am ehesten signifikant war der Zusammenhang zwischen CpG2 und CpG6 ( $r(27)=0,423$ ;  $p=0,022$ ), zwischen CpG3 und CpG6 ( $r(27)=-0,437$ ;  $p=0,018$ ) sowie zwischen CpG7 und CpG8 ( $r(27)=0,419$ ;  $p=0,024$ ). Nach Bonferroni-Korrektur blieb jedoch keine dieser Signifikanzen bestehen.

Im deskriptiven Vergleich der beiden Zeitpunkte Prä- und Post-Therapie fiel bei den meisten CpG-Dinukleotiden eine geringe Zunahme der Methylierung auf (Abb. 19). Lediglich CpG1 und CpG8 zeigten eine leichte Abnahme des Methylierungsgrades. Die Methylierung von CpG5 und CpG6 veränderte sich nicht wesentlich. Ein nominell signifikanter Unterschied ergab sich bei CpG2 mit einer Zunahme des Methylierungsgrades von 4,2 % (SD=2,0 %) auf 5,5 % (SD=1,9 %) ( $t(28)=-2,99$ ;  $p=0,006$ ) und bei CpG4 mit einer Zunahme von 2,9 % (SD=1,7 %) auf 4,2 % (SD=2,2 %) ( $t(28)=-2,57$ ;  $p=0,016$ ). Ein Trend zur Steigerung der Methylierung zeigte sich auch bei CpG7 ( $t(28)=-1,90$ ;  $p=0,067$ ). Keine dieser Signifikanzen blieb jedoch nach Bonferroni-Korrektur bestehen.



**Abb. 19. SLC6A4-Methylierungsgrad zu Studienbeginn (prä) und -ende (post)**

Dargestellt sind die Mittelwerte des Methylierungsgrades der einzelnen CpG-Dinukleotide sowie die mittlere Methylierung über alle CpGs (total). Fehlerbalken entsprechen dem 95% CI. \*\*p<0,01, \*p<0,05 (signifikant vor Bonferroni-Korrektur).

**Tab. 4. SLC6A4-Methylierungsstatus**

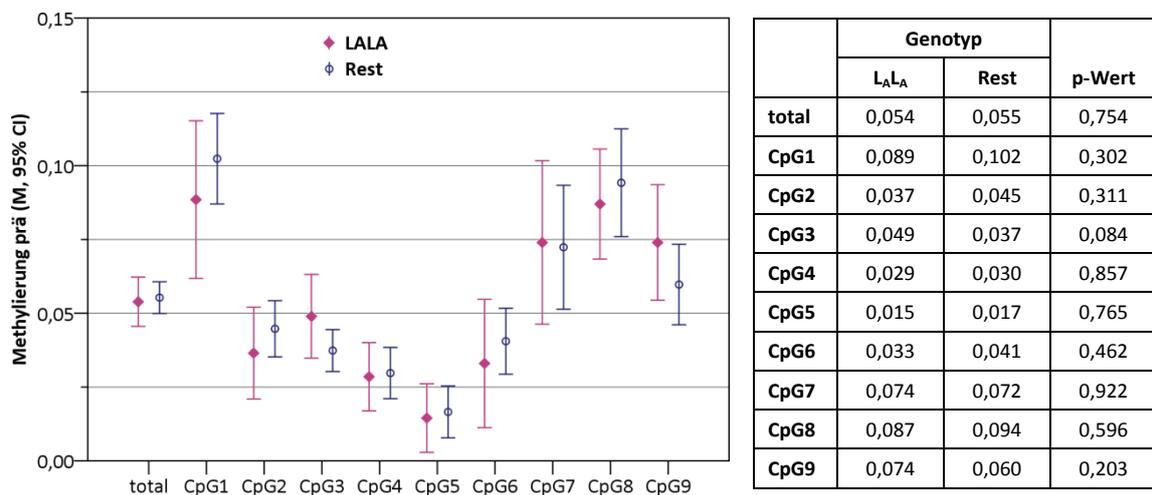
	zu Studienbeginn (prä)				zu Studienende (post)				p
	M	SD	Min.	Max.	M	SD	Min.	Max.	
<b>CpG1</b>	0,098	0,034	0,025	0,165	0,086	0,036	0,015	0,160	0,155
<b>CpG2</b>	0,042	0,020	0,005	0,085	0,055	0,019	0,015	0,090	<b>0,006**</b>
<b>CpG3</b>	0,041	0,017	0,010	0,085	0,051	0,023	0,005	0,105	0,106
<b>CpG4</b>	0,029	0,017	0,000	0,075	0,042	0,022	0,000	0,105	<b>0,016*</b>
<b>CpG5</b>	0,016	0,017	0,000	0,075	0,016	0,018	0,000	0,065	1,000
<b>CpG6</b>	0,038	0,026	0,000	0,110	0,037	0,018	0,000	0,070	0,909
<b>CpG7</b>	0,073	0,041	0,015	0,200	0,095	0,034	0,025	0,170	0,067
<b>CpG8</b>	0,092	0,034	0,020	0,170	0,086	0,029	0,030	0,130	0,544
<b>CpG9</b>	0,065	0,028	0,020	0,135	0,071	0,030	0,025	0,155	0,440
<b>total</b>	0,055	0,011	0,036	0,080	0,060	0,012	0,022	0,088	0,133

Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung sowie die jeweiligen Minimal- und Maximalwerte des Methylierungsgrades der einzelnen CpGs sowie der mittleren Methylierung über alle CpGs (total). \*\*p<0,01, \*p<0,05 (signifikant vor Bonferroni-Korrektur).

### 3.4.1 Einfluss des Genotyps auf die Methylierung

Die beiden Genotyp-Gruppen  $L_{ALA}$  (hohe Aktivität) und 'Rest' (niedrige Aktivität) zeigten keinen Einfluss auf den Methylierungsstatus zu Studienbeginn. Weder die mittlere Methylierung noch die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide zum Zeitpunkt prä ergab signifikante Unterschiede gruppiert nach Genotyp (Abb. 20).

Auch bezüglich der Methylierungsänderung unterschieden sich die beiden Genotyp-Gruppen nicht. Der Genotyp hatte weder einen Einfluss auf die absolute ( $t(27)=0,005$ ,  $p=0,996$ ) noch auf die relative mittlere Methylierungsänderung ( $t(27)=0,100$ ,  $p=0,921$ ). Auch die absolute ( $p=0,088$  bis  $p=0,990$ ) bzw. relative ( $p=0,219$  bis  $p=0,954$ ) Änderung der Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide war nicht vom Genotyp abhängig.



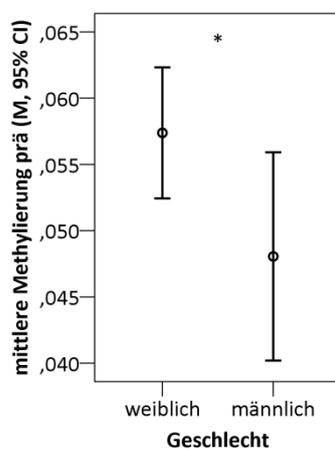
**Abb. 20. SLC6A4-Methylierung zu Studienbeginn gruppiert nach Genotyp**

Dargestellt ist die mittlere Methylierung sowie die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide gruppiert nach Genotyp mit den beiden 5-HTTLPR/rs25531-Gruppen  $L_{ALA}$  ( $n=10$ ) und Rest, d.h. alle anderen Genotypen ( $n=19$ ). Die Fehlerbalken entsprechen dem 95% CI.

### 3.4.2 Weitere Einflussfaktoren auf die Methylierung

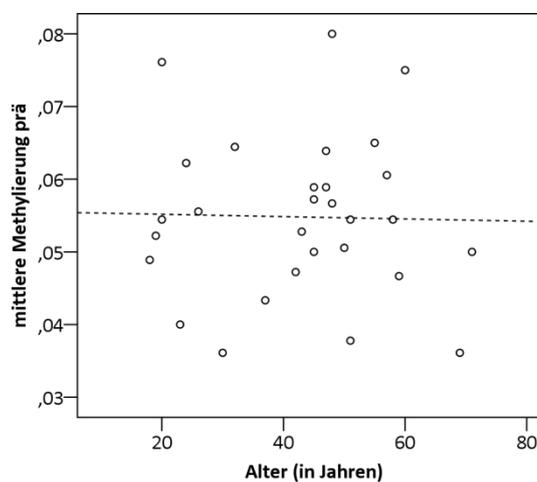
Als weitere Einflussfaktoren auf die Methylierung wurden verschiedene Patientencharakteristika betrachtet: Das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide zu Studienbeginn ( $p=0,152$  bis  $p=0,957$ ). Allerdings wiesen Frauen ( $M=0,057$ ,  $SD=0,011$ ) eine signifikant höhere mittlere Methylierung auf als Männer ( $M=0,048$ ,  $SD=0,009$ ) ( $t(27)=2,14$ ;  $p=0,042$ ) (Abb. 21). Diese Signifikanz blieb

jedoch nach Bonferroni-Korrektur nicht bestehen. Des Weiteren zeigte der Methylierungsstatus zu Studienbeginn keine Assoziation mit dem Alter der Patienten. Weder die mittlere Methylierung ( $r(27)=-0,022$ ;  $p=0,911$ ) (Abb. 22) noch die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide ( $p=0,150$  bis  $p=0,936$ ) korrelierte mit dem Patientenalter. Auch zwischen Rauchern und Nichtrauchern zeigte sich kein Unterschied bezüglich der Methylierung zu Studienbeginn: Die mittlere Methylierung ( $t(27)=0,857$ ;  $p=0,399$ ) und die der einzelnen CpG-Dinukleotide ( $p=0,052$  bis  $p=0,745$ ) waren nicht mit dem Raucherstatus assoziiert.



**Abb. 21. SLC6A4-Methylierungsstatus zu Studienbeginn nach Geschlecht**

\* $p < 0,05$  (sig. vor Bonferroni-Korrektur).



**Abb. 22. SLC6A4-Methylierungsstatus zu Studienbeginn und Alter**

$p=0,911$ , gestrichelte Linie = Regressionsgerade.

Ebenso fand sich keine signifikante Korrelation zwischen der mittleren Methylierung zu Studienbeginn und den dokumentierten Krankheitsmerkmalen, darunter die Gesamtdauer der depressiven Erkrankung ( $r(26)=-0,213$ ;  $p=0,276$ ), die Dauer der aktuellen Episode ( $r(27)=0,219$ ;  $p=0,253$ ), die Anzahl der bisherigen depressiven Episoden ( $r(25)=-0,311$ ;  $p=0,114$ ) sowie die Anzahl der bisherigen stationär-psychiatrischen Krankenhausaufenthalte ( $r(27)=-0,193$ ;  $p=0,316$ ).

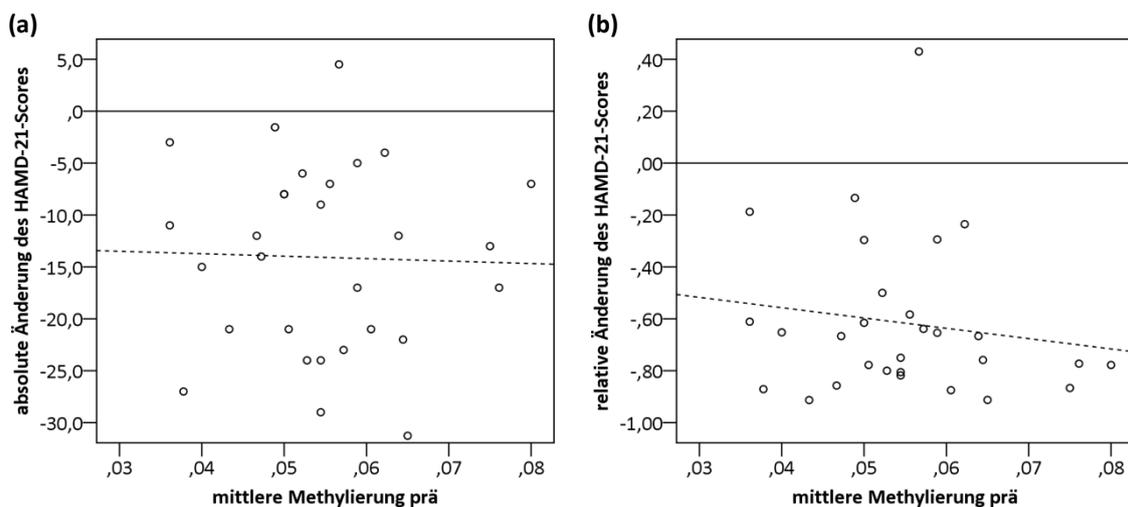
Die Symptomschwere der aktuellen depressiven Episode gemessen anhand des HAMD-21-Scores zu Studienbeginn korrelierte ebenfalls nicht mit der mittleren Methylierung ( $r(27)=-0,074$ ;  $p=0,702$ ) oder mit der Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide ( $p=0,145$  bis  $p=0,977$ ).

### 3.5 Einfluss des *SLC6A4*-Methylierungsstatus auf die Response

Die zweite Fragestellung der vorliegenden Arbeit lautete, ob anhand des Methylierungsgrades zu Studienbeginn eine Vorhersage über das Therapieansprechen möglich ist. Daher wurde untersucht, ob eine Assoziation zwischen der mittleren Methylierung zum Zeitpunkt prä und der Änderung im HAMD-21-Score vorliegt.

#### 3.5.1 Korrelation von Methylierung und Änderung des HAMD-21-Scores

Die mittlere Methylierung des *5-HTT*-Gens zu Studienbeginn zeigte keine signifikante Korrelation mit der absoluten ( $r(27)=-0,029$ ;  $p=0,881$ ) oder der relativen ( $r(27)=-0,147$ ;  $p=0,446$ ) Änderung des HAMD-Scores. Die dazugehörigen Streudiagramme sind in Abb. 23 dargestellt.



**Abb. 23. Streudiagramme zur HAMD-21-Änderung in Abhängigkeit von der *SLC6A4*-Methylierung**  
Weder die absolute (a) noch die relative (b) Veränderung des HAMD-21-Scores zeigte eine eindeutige Abhängigkeit vom *SLC6A4*-Methylierungsstatus zu Studienbeginn. (a)  $p=0,881$ , (b)  $p=0,446$ , gestrichelte Linie = Regressionsgerade.

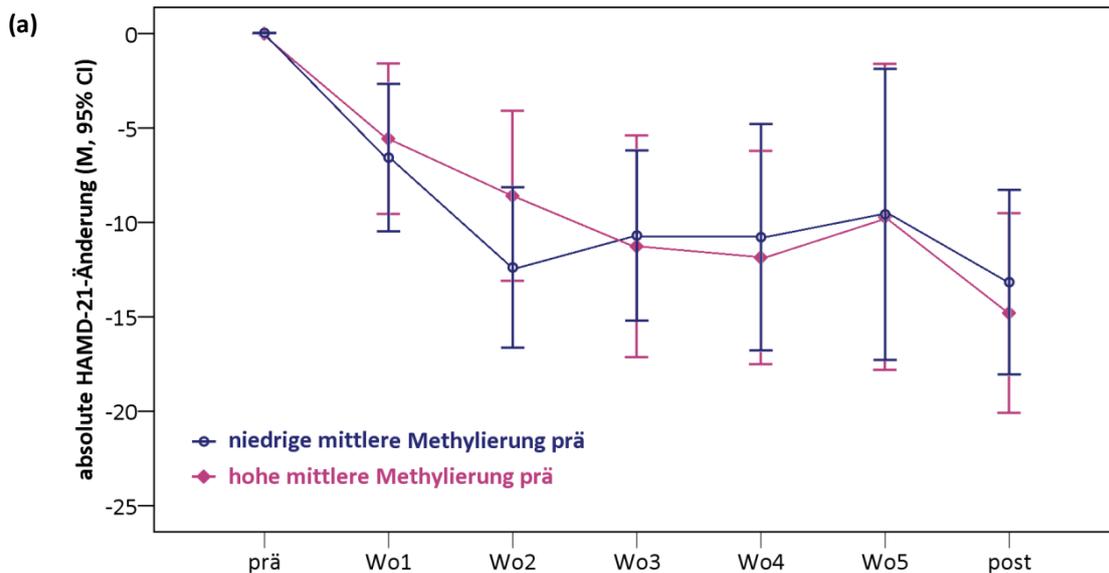
Danach wurde überprüft, ob der Methylierungsgrad der einzelnen CpG-Dinukleotide zum Zeitpunkt prä mit dem Therapieansprechen zusammenhängt. Allerdings konnte ebenso keine signifikante Korrelation des Methylierungsgrades der einzelnen Lokalisationen mit der absoluten ( $r(27)=-0,259$  bis  $r(27)=0,192$  und  $p=0,174$  bis  $p=0,834$ ) oder der relativen ( $r(27)=-0,308$  bis  $r(27)=0,143$  und  $p=0,104$  bis  $p=0,965$ ) Änderung des HAMD-21-Scores gefunden werden.

### **3.5.2 HAMD-21-Score im Wochenverlauf je nach Methylierungsstatus**

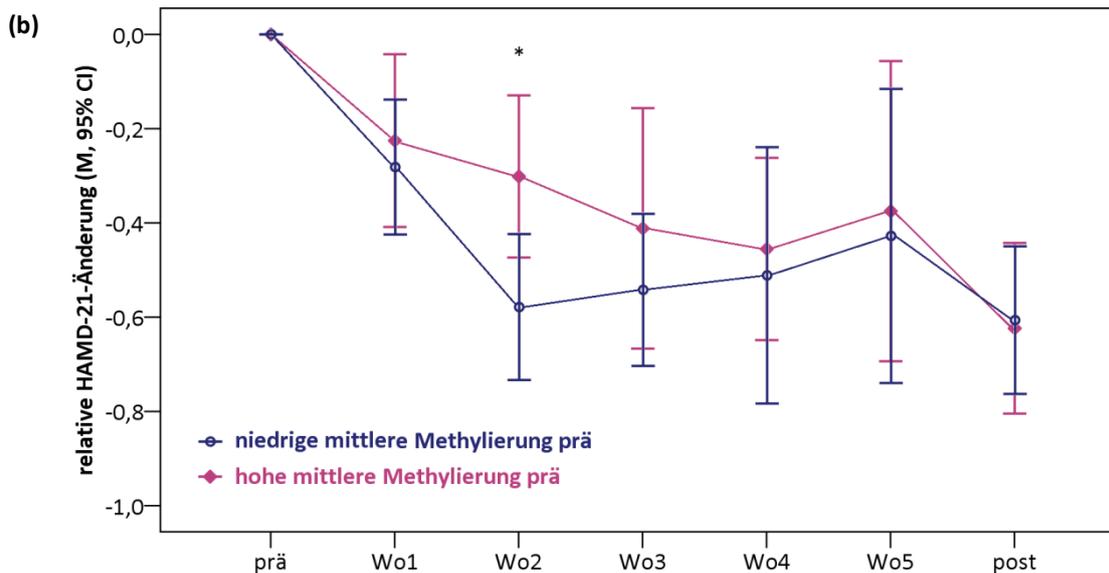
Zur Veranschaulichung des Einflusses der Methylierung zu Studienbeginn auf das Therapieansprechen wurde ein Median Split des Methylierungsstatus durchgeführt, um die Änderung des HAMD-21-Scores im Wochenverlauf in den Gruppen mit hoher und niedriger Methylierung graphisch darzustellen (Abb. 24). Insbesondere in den ersten zwei Wochen schienen die Patienten mit niedriger mittlerer Methylierung eine stärkere Abnahme im HAMD-21-Score zu zeigen. Betrachtet man die relative Änderung des HAMD-21-Scores (Abb. 24b), so ergab sich in Woche zwei ein signifikanter Unterschied mit einem besseren Therapieansprechen in der Gruppe mit niedrigem mittlerem Methylierungsgrad ( $t(25)=-2,527$ ;  $p=0,018$ ), der jedoch nach Bonferroni-Korrektur nicht bestehen blieb. Im weiteren Wochenverlauf näherten sich die Gruppen wieder einander an, während zu Studienende die Gruppe mit hohem Methylierungsgrad eine marginal größere Abnahme im HAMD-21-Score aufwies. Die Unterschiede waren im Gruppenvergleich jedoch nicht signifikant (Abb. 24). Da einige Probanden die Studie aufgrund von vorzeitiger Entlassung abgekürzt hatten, kam es im Wochenverlauf zu abweichenden Stichprobengrößen.

### **3.5.3 Methylierung zu Studienbeginn und Response bzw. Remission**

Gruppierte man die Patienten nach Therapieansprechen in die beiden Gruppen mit Response und ohne Response bzw. in die beiden Gruppen mit Remission und ohne Remission, so ergaben sich jeweils zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede in der Methylierung zu Studienbeginn (Abb. 25): Sowohl die mittlere Methylierung ( $t(27)=-0,654$ ;  $p=0,519$ ) als auch die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide ( $p=0,245$  bis  $p=0,901$ ) unterschied sich nicht signifikant zwischen Respondern und Non-Respondern (Abb. 25a). Auch zwischen Patienten mit Remission und ohne Remission (Abb. 25b) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der mittleren Methylierung prä ( $t(27)=-0,863$ ;  $p=0,396$ ) sowie in der Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide ( $p=0,153$  bis  $p=0,963$ ).



niedrige Methylierung	0	-6,6	-12,4	-10,7	-10,8	-9,6	-13,2
	(n=13)	(n=11)	(n=12)	(n=9)	(n=9)	(n=7)	(n=13)
hohe Methylierung	0	-5,6	-8,6	-11,3	-11,9	-9,7	-14,8
	(n=16)	(n=15)	(n=15)	(n=14)	(n=14)	(n=11)	(n=16)
p-Wert	-	0,699	0,201	0,888	0,790	0,985	0,643

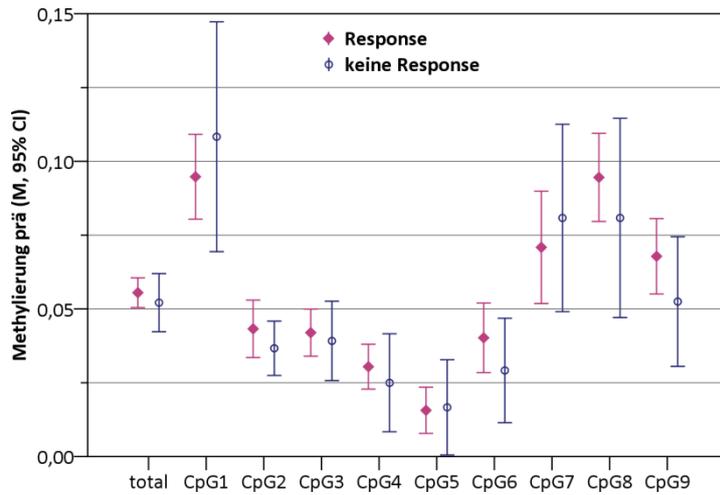


niedrige Methylierung	0,00%	-28,15 %	-57,86 %	-54,21 %	-51,14 %	-42,77 %	-60,63 %
	(n=13)	(n=11)	(n=12)	(n=9)	(n=9)	(n=7)	(n=13)
hohe Methylierung	0,00 %	-22,54 %	-30,14 %	-41,16 %	-45,53 %	-37,51 %	-62,37 %
	(n=16)	(n=15)	(n=15)	(n=14)	(n=14)	(n=11)	(n=16)
p-Wert	-	0,628	<b>0,018*</b>	0,353	0,705	0,803	0,880

**Abb. 24. HAMD-21-Änderung im Wochenverlauf in Abhängigkeit vom SLC6A4-Methylierungsstatus**

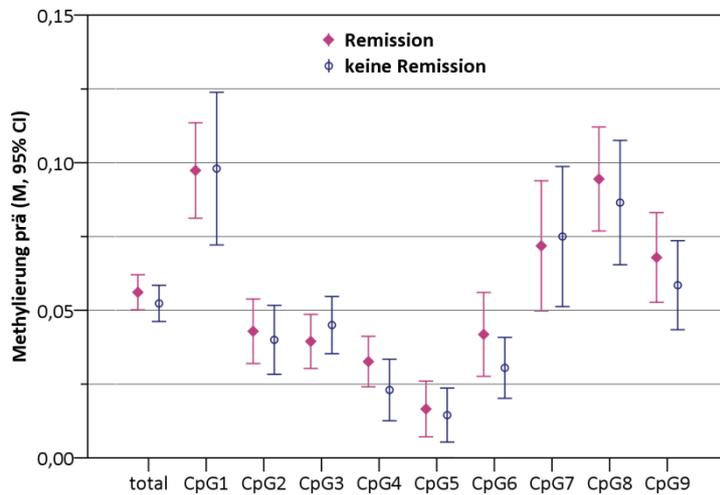
Die Einteilung nach Methylierungsstatus erfolgte mittels Median Split (Median = 0,0544) anhand der Methylierung zu Studienbeginn. Dadurch ergab sich eine Gruppe mit niedriger Methylierung prä (n=13, M=0,046, SD=0,006) und eine Gruppe mit hoher Methylierung prä (n=16, M=0,062, SD=0,008). Dargestellt sind die absolute (a) und die relative (b) Änderung des HAMD-21-Scores im Wochenverlauf in Relation zum Studienbeginn. \*p<0,05 (signifikant vor Bonferroni-Korrektur).

(a)



	Response		p-Wert
	ja	nein	
total	0,056	0,052	0,519
CpG1	0,095	0,108	0,392
CpG2	0,043	0,037	0,275
CpG3	0,042	0,039	0,731
CpG4	0,030	0,025	0,498
CpG5	0,016	0,017	0,901
CpG6	0,040	0,029	0,356
CpG7	0,071	0,081	0,607
CpG8	0,095	0,081	0,387
CpG9	0,068	0,053	0,245

(b)



	Remission		p-Wert
	ja	nein	
total	0,056	0,052	0,396
CpG1	0,097	0,098	0,963
CpG2	0,043	0,040	0,724
CpG3	0,039	0,045	0,423
CpG4	0,033	0,023	0,153
CpG5	0,017	0,015	0,765
CpG6	0,042	0,031	0,265
CpG7	0,072	0,075	0,849
CpG8	0,094	0,087	0,557
CpG9	0,068	0,059	0,406

**Abb. 25. SLC6A4-Methylierung zu Studienbeginn gruppiert nach Response (a) und Remission (b)**

Im Vergleich zwischen den Patienten mit Response (n=23) und ohne Response (n=6) konnten keine signifikanten Unterschiede in der Methylierung zu Studienbeginn nachgewiesen werden. Dies war ebenso der Fall bei der Gegenüberstellung von Patienten mit Remission (n=19) und ohne Remission (n=10).

### 3.6 Einfluss der *SLC6A4*-Methylierungsänderung auf den Therapieerfolg

Die vierte Fragestellung der Studie bezog sich auf den Zusammenhang zwischen der Änderung des Methylierungsgrades und der Änderung im HAMD-21-Score und fragte im Detail, ob sich die Methylierung von Respondern und Non-Respondern unterschiedlich stark verändert.

#### 3.6.1 Korrelation der Veränderung von Methylierung und HAMD-21-Score

Zwischen der mittleren absoluten bzw. der mittleren relativen Änderung der Methylierung und der absoluten bzw. relativen Änderung des HAMD-21-Scores konnte kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden (Tab. 5). Auch die dazugehörigen Streudiagramme gaben keinen Hinweis auf eine Assoziation (Abb. 26).

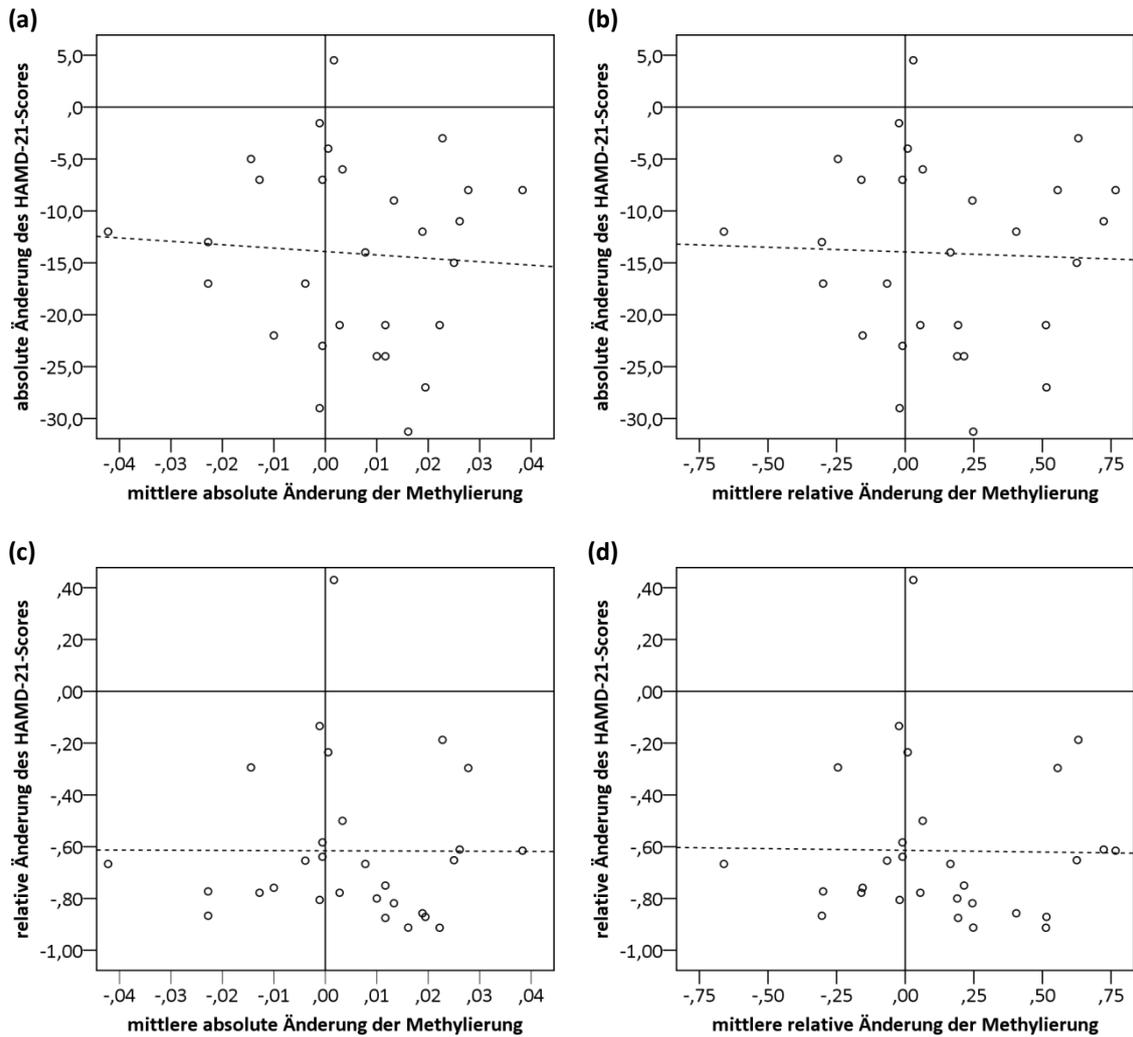
Betrachtet man die einzelnen CpG-Dinukleotide, so ergaben sich ebenfalls keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen der jeweiligen Methylierungsänderung und der Änderung im HAMD-21-Score (Tab. 5). Lediglich die relative Änderung des HAMD-21-Scores zeigte einen Trend zu einer signifikanten Korrelation mit der absoluten Änderung der Methylierung von CpG6 ( $r(27)=0,387$ ,  $p=0,038$ ) sowie mit der relativen Änderung der Methylierung von CpG9 ( $r(27)=0,410$ ,  $p=0,027$ ), der jedoch nach Bonferroni-Korrektur nicht mehr signifikant war.

**Tab. 5. Korrelation der Veränderung von *SLC6A4*-Methylierung und HAMD-21-Score**

Angegeben sind der Korrelationskoeffizient und der p-Wert der entsprechenden Pearson-Korrelationen. \* $p<0,05$  (sig. vor Bonferroni-Korrektur). abs. Änd. = absolute Änderung, rel. Änd. = relative Änderung.

		absolute Änderung der Methylierung										
		total	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5	CpG6	CpG7	CpG8	CpG9	
HAMD-21	abs. Änd.	r	-0,064	-0,329	-0,255	-0,164	-0,283	0,049	0,290	-0,039	0,060	0,285
		p	0,740	0,082	0,182	0,394	0,136	0,801	0,127	0,840	0,758	0,134
	rel. Änd.	r	-0,004	-0,351	-0,072	-0,236	-0,211	-0,071	0,387	-0,036	0,144	0,349
		p	0,985	0,062	0,710	0,217	0,273	0,713	<b>0,038*</b>	0,851	0,455	0,064

		relative Änderung der Methylierung										
		total	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5	CpG6	CpG7	CpG8	CpG9	
HAMD-21	abs. Änd.	r	-0,034	-0,262	-0,145	-0,072	-0,202	0,120	0,142	-0,211	0,159	0,286
		p	0,860	0,170	0,454	0,709	0,312	0,594	0,480	0,271	0,411	0,133
	rel. Änd.	r	-0,015	-0,264	-0,088	-0,193	-0,252	-0,067	0,224	-0,202	0,208	0,410
		p	0,938	0,166	0,650	0,315	0,205	0,769	0,262	0,293	0,278	<b>0,027*</b>



**Abb. 26. Streudiagramme zur Änderung der SLC6A4-Methylierung und des HAMD-21-Scores**  
 Graphische Darstellung der Zusammenhänge zwischen absoluter bzw. relativer Änderung des HAMD-21-Scores und absoluter bzw. relativer Methylierungsänderung. (a)  $p=0,740$ , (b)  $p=0,860$ , (c)  $p=0,985$ , (d)  $p=0,938$ , gestrichelte Linie = Regressionsgerade.

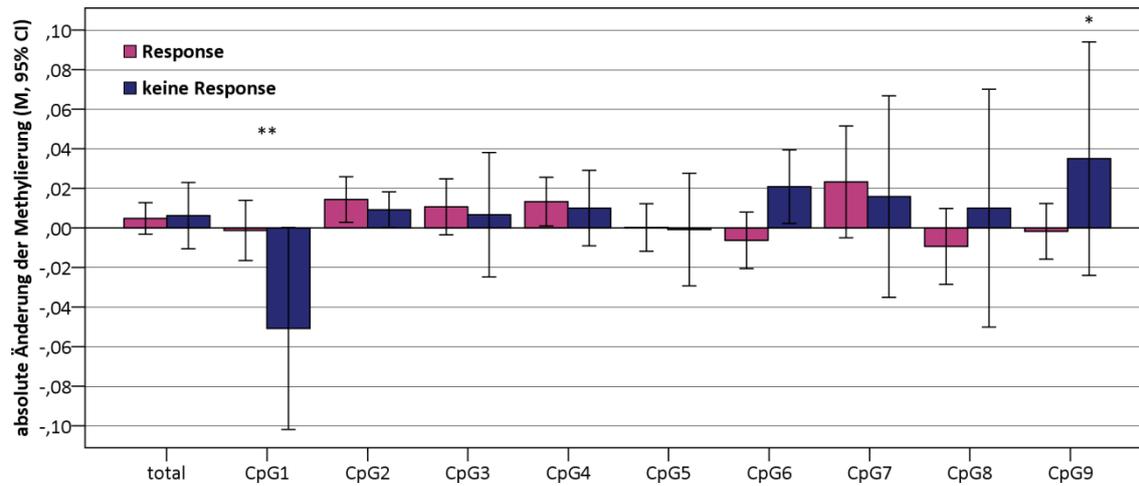
### 3.6.2 Änderung der Methylierung in Abhängigkeit von der Response

Daraufhin wurde die absolute (Abb. 27a) und relative (Abb. 27b) Methylierungsänderung von den Patienten mit Response (n=23) und den Patienten ohne Response (n=6) verglichen. Die mittleren Änderungen der Methylierung - sowohl absolut ( $t(27)=0,172$ ,  $p=0,864$ ) als auch relativ ( $t(27)=0,117$ ,  $p=0,908$ ) - unterschieden sich nicht signifikant in den beiden Gruppen. Sowohl Responder als auch Non-Responder zeigten insgesamt über die untersuchte Region eine leichte Zunahme der Methylierung.

Vor der Analyse der Methylierungsänderungen der einzelnen CpG-Dinukleotide wurde zuerst eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) durchgeführt, um das multivariate Modell unter Berücksichtigung aller neun CpGs zu testen. Sowohl für die absolute Methylierungsänderung (Wilks' Lambda = 0,309,  $F(9;19)=4,721$ ,  $p=0,002$ ), als auch für die relative Methylierungsänderung (Wilks' Lambda = 0,192,  $F(9;9)=4,210$ ,  $p=0,022$ ) waren die multivariaten Modelle signifikant.

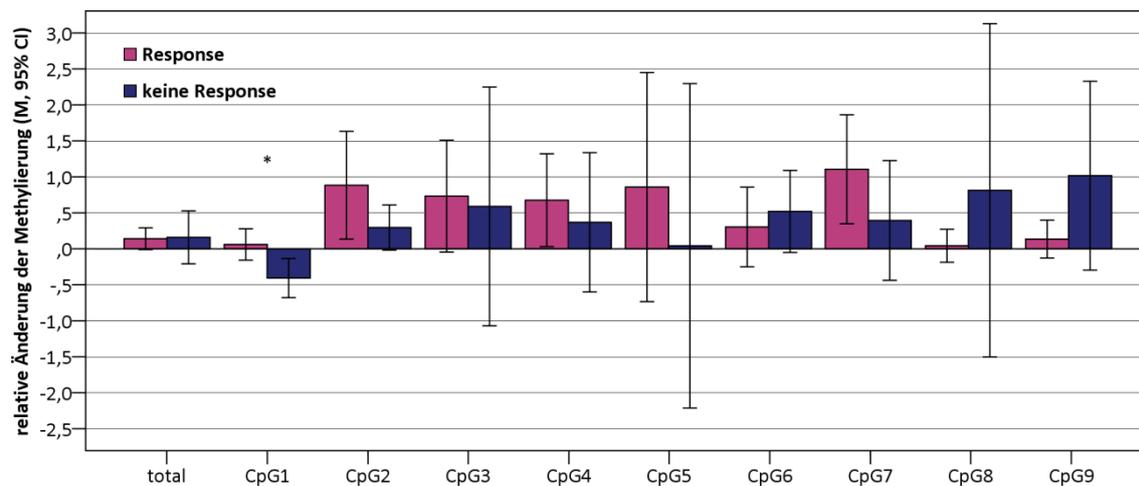
Darauffolgend wurden die Unterschiede der Methylierungsänderungen der einzelnen CpG-Dinukleotide betrachtet: Non-Responder zeigten eine deutliche Abnahme der Methylierung von CpG1, während sich die Methylierung bei Respondern absolut gesehen kaum veränderte ( $t(27)=-2,842$ ;  $p=0,008$ ) und relativ betrachtet sogar zunahm ( $t(27)=-2,181$ ;  $p=0,038$ ). Diese Unterschiede stellten sich allerdings nur vor Bonferroni-Korrektur als signifikant heraus. Im Gegenteil dazu ergab die absolute Änderung der Methylierung von CpG6, CpG8 und CpG9 eine Zunahme bei Non-Respondern und eine leichte Verringerung bei Respondern (Abb. 27a). Dieser Effekt war für CpG9 vor Korrektur signifikant ( $t(27)=2,107$ ;  $p=0,045$ ), für CpG6 ( $t(27)=1,925$ ;  $p=0,065$ ) und CpG8 ( $t(27)=0,898$ ;  $p=0,377$ ) jedoch nicht. Bezogen auf die relative Methylierungsänderung dieser drei CpG-Dinukleotide zeigten beide Patientengruppen eine Erhöhung der Methylierung, die trotz des unterschiedlichen Ausmaßes nicht signifikant verschieden war (Abb. 27b).

(a)



Response	0,005	-0,001	0,014	0,011	0,013	0,000	-0,006	0,023	-0,009	-0,002
keine Response	0,006	-0,051	0,009	0,007	0,010	-0,001	0,021	0,016	0,010	0,035
p-Wert	0,864	<b>0,008**</b>	0,437	0,789	0,793	0,935	0,065	0,798	0,377	<b>0,045*</b>

(b)



Response	0,141	0,060	0,884	0,732	0,675	0,858	0,304	1,105	0,042	0,135
keine Response	0,159	-0,407	0,296	0,589	0,368	0,042	0,519	0,394	0,813	1,016
p-Wert	0,908	<b>0,038*</b>	0,420	0,860	0,625	0,637	0,711	0,346	0,434	0,148

**Abb. 27. Änderung der SLC6A4-Methylierung in Abhängigkeit von der Response**

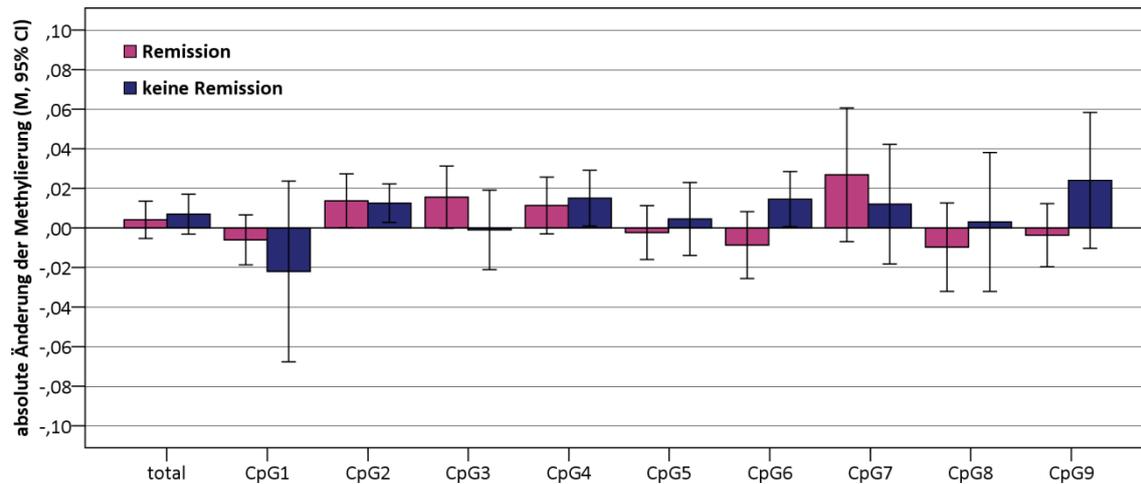
Absolute (a) und relative (b) Änderung der Methylierung in den Gruppen Response (n=23) und keine Response (n=6). Abweichende Stichprobengrößen ergaben sich bei der relativen Methylierungsänderung von CpG4 (Response n=21), CpG5 (Response n=18, keine Response n=4) und CpG6 (Response n=22, keine Response n=5). Graphisch und tabellarisch dargestellt sind die Mittelwerte der Methylierungsänderung der gesamten Region sowie der einzelnen CpG-Dinukleotide. Die Fehlerbalken entsprechen dem 95% CI. \*p<0,05, \*\*p<0,01 (signifikant vor Bonferroni-Korrektur).

### 3.6.3 Änderung der Methylierung in Abhängigkeit von der Remission

Dieselbe Auswertung wurde mit den Patientengruppen mit Remission (n=19) und ohne Remission (n=10) durchgeführt (Abb. 28a,b). Auch hier ergab sich für die mittlere absolute ( $t(27)=0,407$ ;  $p=0,688$ ) und die mittlere relative ( $t(27)=0,308$ ;  $p=0,761$ ) Änderung der Methylierung kein signifikanter Unterschied in den beiden Gruppen. Sowohl die Patienten mit Remission als auch die Patienten ohne Remission zeigten im Schnitt eine leichte Zunahme der Methylierung.

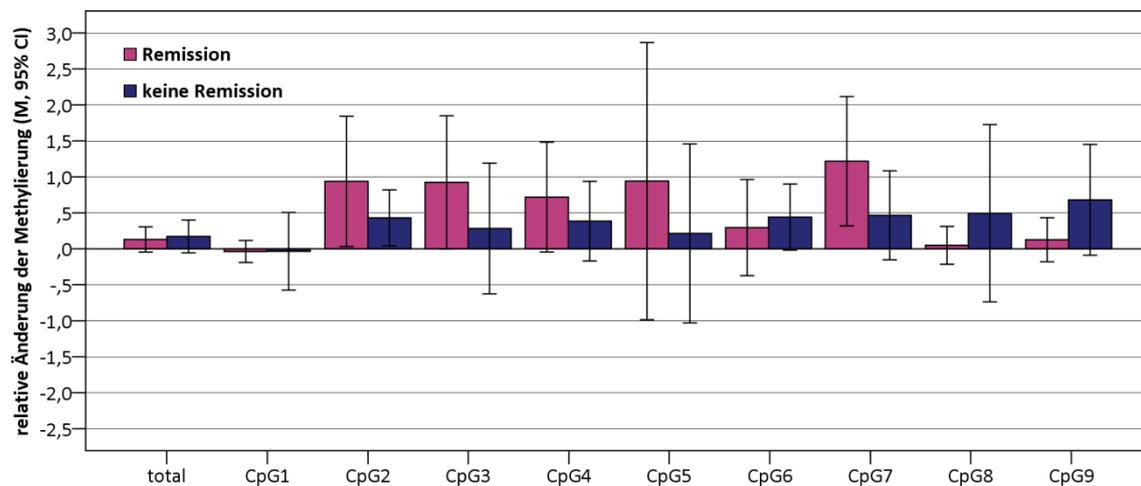
Das mittels MANOVA berechnete multivariate Modell war hier jedoch sowohl für die absolute (Wilks' Lambda = 0,634,  $F(9;19)=1,217$ ,  $p=0,341$ ) als auch für die relative Methylierungsänderung (Wilks' Lambda = 0,368,  $F(9;9)=1,716$ ,  $p=0,217$ ) nicht signifikant. Bezüglich der Methylierungsänderungen der einzelnen CpG-Dinukleotide ergaben sich in diesen beiden Gruppen ähnliche Trends wie bei Respondern und Non-Respondern. Allerdings waren die Unterschiede zwischen Patienten mit Remission und ohne Remission eindeutig schwächer ausgeprägt und erreichten keine Signifikanz (Abb. 28a,b).

(a)



Remission	0,004	-0,006	0,014	0,016	0,011	-0,002	-0,009	0,027	-0,010	-0,004
keine Remission	0,007	-0,022	0,013	-0,001	0,015	0,005	0,015	0,012	0,003	0,024
p-Wert	0,688	0,347	0,880	0,186	0,728	0,527	0,064	0,546	0,496	0,078

(b)



Remission	0,130	-0,037	0,937	0,924	0,719	0,941	0,295	1,217	0,048	0,126
keine Remission	0,172	-0,035	0,430	0,283	0,384	0,214	0,441	0,466	0,494	0,680
p-Wert	0,761	0,992	0,414	0,351	0,546	0,611	0,762	0,240	0,303	0,091

**Abb. 28. Änderung der SLC6A4-Methylierung in Abhängigkeit von der Remission**

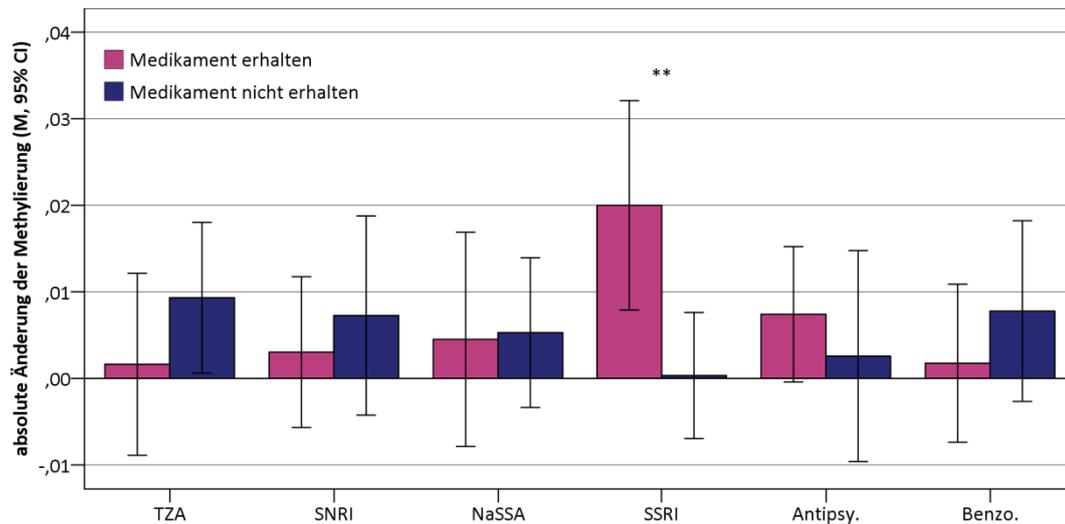
Absolute (a) und relative (b) Änderung der Methylierung in den Gruppen Remission (n=19) und keine Remission (n=10). Abweichende Stichprobengrößen ergaben sich bei der relativen Methylierungsänderung von CpG4 (Remission n=18, keine Remission n=9), CpG5 (Remission n=15, keine Remission n=7), CpG6 (Remission n=18, keine Remission n=9). Graphisch und tabellarisch dargestellt sind die Mittelwerte der Methylierungsänderung der gesamten Region sowie der einzelnen CpG-Dinukleotide. Die Fehlerbalken entsprechen dem 95% CI.

### 3.7 *SLC6A4*-Methylierungsänderung und Psychopharmakotherapie

Zur Beantwortung der fünften Fragestellung wurde abschließend der Einfluss der verschiedenen Psychopharmaka auf die Methylierungsänderung untersucht. Hierzu wurden für die am häufigsten verschriebenen Substanzgruppen die Unterschiede zwischen den Patienten, die ein Medikament dieser Klasse eingenommen hatten und die kein solches erhalten hatten, analysiert. Bezüglich der mittleren absoluten (Abb. 29a) und der mittleren relativen (Abb. 29b) Änderung der Methylierung ergab sich hierbei ein ähnliches Bild: Patienten, die trizyklische Antidepressiva, SNRI, NaSSA oder Benzodiazepine erhalten hatten, wiesen eine geringere durchschnittliche Zunahme der Methylierung auf als Patienten, die diese Medikamente nicht bekommen hatten. Dieser Unterschied war für Trizyklika und Benzodiazepine am größten, erreichte jedoch nicht das Signifikanzniveau. Patienten, die SSRI oder Antipsychotika eingenommen hatten, zeigten eine stärkere Zunahme der Methylierung als Patienten, denen diese Medikamente nicht verschrieben wurden. Besonders deutlich und signifikant war dieser Unterschied für SSRI: Sowohl die mittlere absolute Methylierungsänderung ( $t(27)=-2,879$ ;  $p=0,008$ ) als auch die mittlere relative Änderung der Methylierung ( $t(27)=-2,979$ ;  $p=0,006$ ) war bei Patienten unter Therapie mit SSRI wesentlich größer als bei Patienten ohne SSRI. Dieser Effekt behielt seine Signifikanz auch nach Bonferroni-Korrektur.

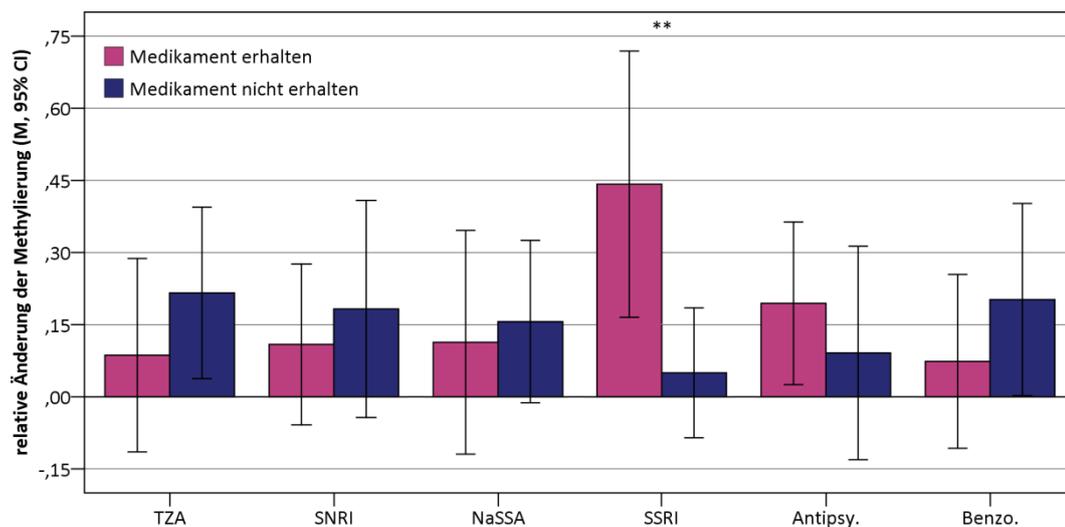
Daraufhin wurden die Unterschiede der Methylierungsänderung der einzelnen CpG-Dinukleotide bei Patienten mit und ohne SSRI-Therapie untersucht. Sowohl die absolute (Abb. 30a) als auch die relative (Abb. 30b) Änderung der Methylierung zeigte bei allen CpG-Dinukleotiden unter Medikation mit SSRI eine Zunahme der Methylierung. Diese Zunahme war - bis auf die relative Veränderung von CpG6 - stets größer als die Methylierungsänderung bei Patienten ohne Einnahme von SSRI. Patienten ohne SSRI-Therapie zeigten bei einigen CpG-Dinukleotiden sogar eine Abnahme der Methylierung und zwar absolut gesehen von CpG1, CpG5, CpG6 und CpG8 sowie relativ betrachtet von CpG1. Der Unterschied zwischen Patienten mit und ohne SSRI-Einnahme war jedoch nur für die absolute ( $t(27)=-2,444$ ;  $p=0,021$ ) und relative ( $t(27)=-2,636$ ;  $p=0,014$ ) Methylierungsänderung von CpG1 und auch nur vor Bonferroni-Korrektur signifikant.

(a)



erhalten	0,002	0,003	0,005	0,020	0,007	0,002
nicht erhalten	0,009	0,007	0,005	0,000	0,003	0,008
p-Wert	0,251	0,530	0,918	<b>0,008**</b>	0,472	0,371

(b)

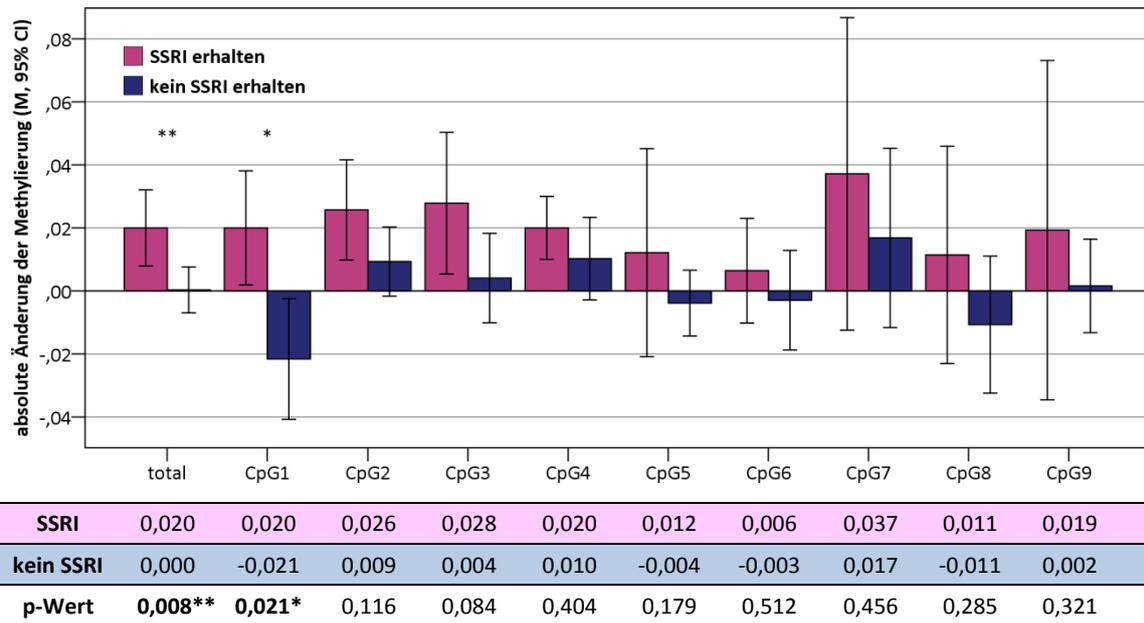


erhalten	0,086	0,109	0,113	0,442	0,194	0,074
nicht erhalten	0,216	0,183	0,156	0,050	0,091	0,202
p-Wert	0,321	0,573	0,769	<b>0,006**</b>	0,429	0,325

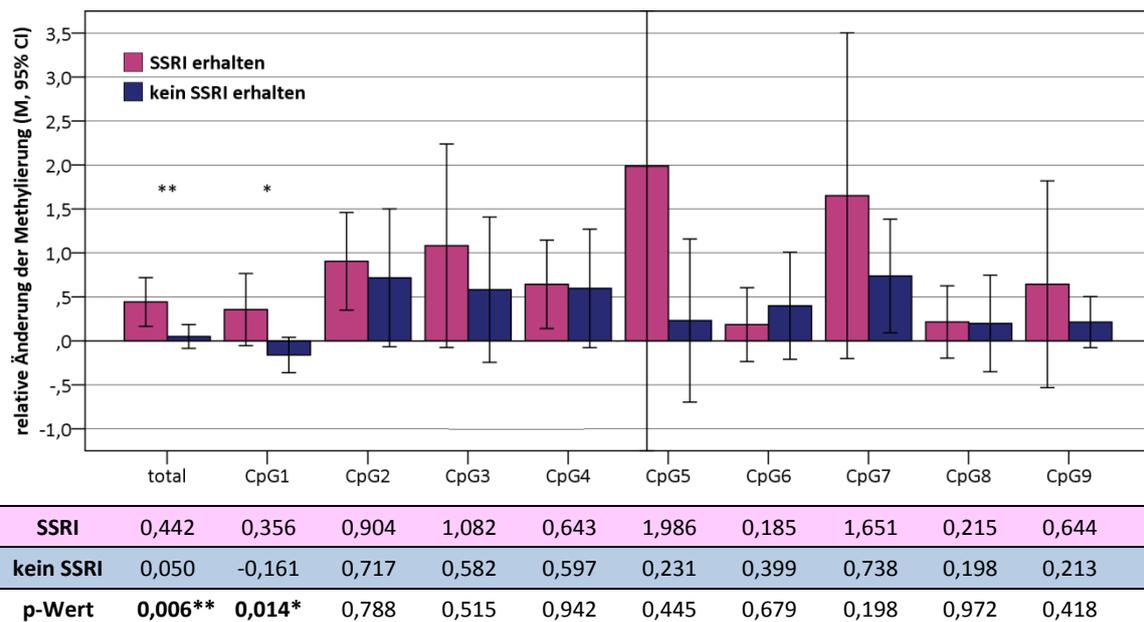
**Abb. 29. Änderung der *SLC6A4*-Methylierung in Abhängigkeit von der Psychopharmakotherapie**

Mittlere absolute (a) und mittlere relative (b) Änderung der Methylierung gruppiert nach den am meisten verwendeten Psychopharmaka-Substanzgruppen. Die Anzahl der Patienten betrug in den jeweiligen Gruppen (n=Medikament erhalten/nicht erhalten) für TZA n=16/13, SNRI n=15/14, NaSSA n=8/21, SSRI n=7/22, Antipsychotika n=15/14 und Benzodiazepine n=13/16. TZA = trizyklische Antidepressiva, SNRI = selektive Serotonin-/Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren, NaSSA = noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva, SSRI = selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren, Antipsy. = Antipsychotika, Benzo. = Benzodiazepine. \*\*p<0,01 (signifikant vor und nach Bonferroni-Korrektur).

(a)



(b)



**Abb. 30. Änderung der SLC6A4-Methylierung unter Therapie mit SSRI**

Absolute (a) und relative (b) Änderung der Methylierung in den beiden Gruppen von Patienten, die SSRI erhalten hatten (n=7) und die keine SSRI bekamen (n=22). Abweichende Stichprobengrößen ergaben sich bei der relativen Methylierungsänderung von CpG4 (SSRI erhalten n=6, kein SSRI n=21), CpG5 (SSRI erhalten n=6, kein SSRI n=16), CpG6 (kein SSRI n=20). Graphisch und tabellarisch dargestellt sind die Mittelwerte der Methylierungsänderung der gesamten Region sowie der einzelnen CpG-Dinukleotide. SSRI = selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren. \*p<0,05, \*\*p<0,01 (signifikant vor Bonferroni-Korrektur).

## 4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit untersuchte im Wesentlichen den Methylierungsstatus bzw. die Methylierungsänderung des Serotonin-Transporter-Gens (*5-HTT*, *SLC6A4*) in Zusammenhang mit dem Therapieansprechen bei Patienten mit unipolarer depressiver Episode. In den folgenden Kapiteln werden die Stärken und Limitationen der verwendeten Methoden sowie die Ergebnisse der beschriebenen Studie erörtert.

### 4.1 Diskussion der Methoden

#### 4.1.1 Studiendesign und Stichprobe

Die in die aktuelle Studie eingeschlossenen Teilnehmer wurden im Rahmen der GEPaD-Studie (Genetik und Epigenetik von Pharmako- und Psychotherapie bei akuter und rezidivierender Depression; Ltg.: Univ.-Prof. Dr. Dr. K. Domschke) an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie (Dir.: Univ.-Prof. Dr. J. Deckert), Zentrum für Psychische Gesundheit, Universitätsklinikum Würzburg, unter den stationär aufgenommenen Patienten mit unipolarer depressiver Episode rekrutiert. Die GEPaD-Studie ist eine laufende Studie in naturalistischem Therapie-Setting im Rahmen der stationären Behandlung. Daher wurde ein Ein-Gruppen-Prä-Post-Design gewählt und auf eine Kontroll- bzw. Placebo-Gruppe verzichtet.

Für die durchgeführte Auswertung waren von 33 der 52 eingeschlossenen Patienten (63,5 %) vollständige Daten vorhanden. Dieser etwas geringe Rücklauf war zumeist bedingt durch kurzfristige vorzeitige Entlassungen oder mangelnde Mitarbeit der Patienten besonders zu Studienbeginn bei noch schwer ausgeprägter Symptomatik. Außerdem wurden vier weitere Patienten aus den Analysen ausgeschlossen (Blutprobe vertauscht, türkische Abstammung, HAMD-Score  $\leq 7$  Punkte; siehe Kapitel 3.1). Eine entscheidende Limitation der vorliegenden Arbeit ist daher die geringe Stichprobengröße von  $n=29$  und die damit verbundene geringe Power. Des Weiteren wurde der

Anteil der rekrutierten Studienpatienten an allen Patienten, die mit unipolarer Depression in der Klinik aufgenommen wurden, nicht erfasst. Somit ist nicht bekannt, wie viele Patienten die Studienteilnahme abgelehnt haben oder bereits im Vorhinein ausgeschlossen wurden und ob die dem zugrundeliegenden Beweggründe bereits einen Bias in die Selektion der Studienpopulation eingeführt haben. Eine Aussage über die Repräsentativität der Stichprobe für die Gesamtpopulation der depressiven Patienten in stationärer Behandlung ist deshalb nicht möglich.

Die Dauer bis zum Studieneinschluss neu aufgenommener Patienten lag im Schnitt bei 7,7 Tagen, gemessen an der Anzahl der Tage von der Aufnahme bis zur Blutentnahme "Prä-Therapie". Knapp die Hälfte aller Patienten wurde in ihrer ersten Behandlungswoche rekrutiert. Die restlichen Patienten wurden größtenteils in der zweiten Behandlungswoche eingeschlossen. Dies hat zur Folge, dass bei einigen Patienten schon vor der ersten Blutentnahme eine stationäre Psychopharmakotherapie initiiert bzw. die bereits ambulant begonnene Medikation gewechselt wurde. Aufgrund der niedrigen Einstiegsdosen sowie der bekannten Wirklatenz von Antidepressiva war ein Einfluss auf den *SLC6A4*-Methylierungsstatus im längeren Beobachtungsverlauf dennoch zu erwarten.

Die Dauer der Studienteilnahme betrug durchschnittlich 33,7 Tage, gemessen am Zeitraum zwischen den beiden Blutentnahmen. Bei vorzeitiger Entlassung von Patienten wurde der Studienzeitraum entsprechend verkürzt, was bei etwa einem Drittel der Patienten der Fall war. Durch Verzögerungen bei der Blutentnahme "Post-Therapie" ergab sich bei drei Studienteilnehmern eine verlängerte Studiendauer von mehr als sechs Wochen. Daher liegen dem Therapieansprechen, das anhand der Änderung des HAMD-Scores zwischen Studienbeginn und -ende berechnet wurde, unterschiedliche Zeitspannen zugrunde. Unter der Annahme, dass eine vorzeitige Entlassung nur bei entsprechender Besserung der klinischen Symptomatik erfolgte, wurde ein potentieller Zusammenhang zwischen Therapieansprechen und Methylierungsänderung jedoch auch in einem kürzeren Zeitraum erwartet.

#### **4.1.2 Psychometrische Diagnostik**

Der Schweregrad der depressiven Episode sowie der antidepressive Therapieerfolg wurden mithilfe der Hamilton-Depressionsskala (HAMD-21) quantifiziert (Hamilton, 1960). Dieses Fremdrating findet in klinischen Studien zur Wirksamkeit von Antidepressiva breite Anwendung (Kriston und von Wolff, 2011). Da in der Literatur verschiedene Versionen des Fragebogens verwendet werden, existieren keine einheitlichen Grenzwerte. Zum Ausschluss einer depressiven Episode ist ein Score von  $\leq 7$  Punkten weitestgehend akzeptiert. Die Definitionen von leichter, mittelschwerer und schwerer Depression divergieren jedoch je nach Autor stark (Kriston und von Wolff, 2011). Dies erschwert die Interpretation der Daten im Kontext anderer Veröffentlichungen. Zur besseren Vergleichbarkeit, insbesondere mit der Publikation von Domschke et al., 2014, wurde daher in der vorliegenden Studie die Version mit 21 Items verwendet. Zur Selbstbeurteilung der depressiven Episode durch die Patienten wurde das Beck-Depressions-Inventar (BDI) eingesetzt (Beck et al., 1961). Hierzu existiert bereits eine revidierte Version, das BDI-II (Beck et al., 2006), auf das jedoch ebenfalls aus Gründen der Vergleichbarkeit verzichtet wurde.

#### **4.1.3 Molekularbiologische Methoden**

Zu den molekularbiologischen Methoden dieser Arbeit, die im Labor für Funktionelle Genomik, Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie, Universitätsklinikum Würzburg, durchgeführt wurden, gehören die Genotypisierung des kombinierten 5-HTTLPR/rs25531-Polymorphismus des *5-HTT*-Gens sowie die Bisulfitsequenzierung zur Bestimmung des Methylierungsgrades der untersuchten CpG-Dinukleotide.

Zur Genotypisierung wurden die Patienten auf die in der kaukasischen Bevölkerung am häufigsten vorkommenden Varianten des *5-HTT*-Promotors untersucht (Nakamura et al., 2000). Dies sind die zwei langen Allele  $L_A$  und  $L_G$  sowie die zwei kurzen Allele  $S_A$  und  $S_G$  (vgl. Kapitel 1.6.3). Im Rahmen der Beschreibung dieser Promotor-Varianten in der Literatur wurden verschiedene Definitionen der Grenzen der Insertion bzw. Deletion des 5-HTTLPR-Polymorphismus verwendet, die auch die Lokalisation des SNP rs25531 betreffen (Wendland et al., 2006). Außerdem vergleichen einige Studien nur die

5-HTTLPR-Genotypen ohne Berücksichtigung des A→G Polymorphismus, da dieser erst später identifiziert wurde (Nakamura et al., 2000). Dies muss bei der Interpretation und der Gegenüberstellung von Studien zum Genotyp des *5-HTT*-Promotors berücksichtigt werden, zumal der SNP rs25531 funktionelle Relevanz hat (Hu et al., 2006).

Zur Erhebung des Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens wurden neun CpG-Dinukleotide aus dem Promotorbereich des Gens mittels Bisulfitesequenzierung analysiert. Die ausgewählten CpG-Dinukleotide repräsentieren jedoch nur einen kleinen Bereich der CpG-Insel (vgl. Kapitel 2.4.1). Sie sind allerdings Gegenstand aktueller Forschung und in der Literatur bereits etabliert (Domschke et al., 2014; Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a; Alasaari et al., 2012; Devlin et al., 2010).

Die vorliegende Arbeit untersuchte den Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens von depressiven Patienten als prädiktiven Marker bzw. die Methylierungsänderung als biologisches Korrelat des Therapieerfolgs der antidepressiven Behandlung. Hinsichtlich der Depression als psychische Erkrankung läge die Untersuchung von Hirngewebe als Ort der Krankheitsmanifestation nahe. Allerdings ist die Entnahme dieses Gewebes *in vivo* für prospektive Studien zweifelsohne nicht durchführbar. Daher greifen viele Studien auf periphere Gewebe zurück, die leichter zugänglich sind. Insbesondere die Verwendung von Zellen aus Blut oder Speichel ist für epigenetische Analysen psychischer Erkrankungen etabliert (Domschke et al., 2012; Fuchikami et al., 2011; Ghadirivasfi et al., 2011). Folglich stellt sich die Frage der Übertragbarkeit der aus peripheren Zellen gewonnenen Methylierungsdaten auf die Nervenzellen des Gehirns. Einige Studien an Tieren und Menschen zeigen, dass der Methylierungsstatus verschiedener Gewebe zu einem gewissen Grad vergleichbar ist (Davies et al., 2012; Ghadirivasfi et al., 2011; Nohesara et al., 2011; Ursini et al., 2011). Auch für das *5-HTT*-Gen gibt es solche Hinweise: Eine Studie konnte das gleiche epigenetische Muster, nämlich eine Hypermethylierung des *5-HTT*-Promotors, an der DNA aus *post mortem* gewonnenem Hirngewebe und Speichelproben von verschiedenen Patienten mit Schizophrenie nachweisen (Abdolmaleky et al., 2014). Eine weitere Studie fand bei Männern mit aggressivem

Verhalten in der Kindheit eine Assoziation zwischen erhöhter *SLC6A4*-Methylierung in Leukozyten und geringerem zerebralen Serotoninspiegel, der mittels Positronen-Emissions-Tomographie *in vivo* gemessen wurde (Wang et al., 2012). Insgesamt kann demnach vom Methylierungsstatus peripherer Zellen theoretisch auf das Methylierungsmuster zentraler Neuronen geschlossen werden. Es ist jedoch keine direkte Aussage über die epigenetischen Veränderungen im Gehirn möglich. Dafür sind periphere Zellen leichter zu gewinnen und weniger heterogen als Hirngewebe. Epigenetische Muster im Blut werden daher als vielversprechende periphere Biomarker zerebraler epigenetischer Prozesse diskutiert (Mill und Petronis, 2007).

Für die Analyse der DNA-Methylierung des *5-HTT*-Gens in dieser Arbeit wurden Zellen aus Vollblut gewonnen. Die quantitative Verteilung der Blutzellen konnte allerdings bei der Auswertung nicht berücksichtigt werden, da nicht von allen Patienten ein Differentialblutbild vorlag. Eine Adjustierung für die Leukozytenzahl kann jedoch sinnvoll sein, da Methylierungsänderungen auch durch eine Stress- oder Inflammations-assoziierte Veränderung der Zellzusammensetzung des Blutes suggeriert werden können (Unternaehrer et al., 2012). Um eine noch homogenere Zellpopulation zu erhalten, wäre die Verwendung einzelner Zelllinien aus der weißen Reihe möglich. T-Zellen und Monozyten zum Beispiel zeigen aber auch gewisse Differenzen in den Methylierungsdaten (Wang et al., 2012). Dagegen fand eine andere Studie, die das *MAO<sub>A</sub>*-Gen untersuchte, keinen Unterschied zwischen der mittleren Methylierung von DNA aus Vollblut und aus einer Lymphoblasten-Line, die aus denselben Blutproben gewonnen wurde (Philibert et al., 2010). Die Verwendung von Vollblut für die Untersuchungen der hier vorliegenden Studie schien daher geeignet zu sein. Das optimale Biomaterial für epigenetische Untersuchungen ist allerdings noch Gegenstand des aktuellen wissenschaftlichen Diskurses.

Bei der Interpretation von Methylierungsdaten ist weiterhin zu berücksichtigen, dass die nötige Stichprobengröße für epigenetische Studien und das Ausmaß relevanter Methylierungsunterschiede noch weitgehend unbekannt sind. Die zu beobachtenden

Effekte sind jedoch wahrscheinlich eher gering (Mill und Petronis, 2007). Bei Patienten mit Schizophrenie konnte in *post mortem* gewonnenem Hirngewebe im Vergleich zu Kontrollen eine um ca. 5 % höhere Methylierung des *5-HTT*-Promotors nachgewiesen werden. Diese Hypermethylierung war mit einer signifikanten Reduktion der Genexpression verbunden. Dabei analysierten die Autoren eine mit der vorliegenden Studie vergleichbar kleine Stichprobe von 35 Gewebeproben pro Gruppe (Abdolmaleky et al., 2014). In Zelllinien von Lymphoblasten konnte ebenfalls ein Zusammenhang zwischen der Methylierung des *5-HTT*-Gens und den mRNA-Spiegeln belegt werden, allerdings nur unter Berücksichtigung des 5-HTTLPR-Polymorphismus (Philibert et al., 2007). Dieses Ergebnis konnten die Autoren jedoch nicht replizieren (Philibert et al., 2008). Da der Einfluss einer Methylierungsänderung - v.a. von einzelnen CpG-Dinukleotiden - auf die Aktivität des *5-HTT*-Gens bis heute noch unklar ist, wäre eine parallele Analyse der Genexpressionslevel, z.B. mittels mRNA- oder Proteinexpressionsanalysen, auch für die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit interessant gewesen, um den tatsächlichen Effekt von Methylierungsänderungen auf die Genaktivität zu messen. Außerdem sollten Methylierungsdaten des *5-HTT*-Gens immer in Zusammenhang mit dem Genotyp beurteilt werden („Allel-spezifische Methylierung“), weshalb der Genotyp auch in der aktuellen Studie bestimmt wurde.

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 Demographische und klinische Charakteristika der Stichprobe**

Zur Bewertung der demographischen und klinischen Charakteristika der Studienpopulation wurden die Studien zum Vergleich herangezogen, an die die vorliegende Arbeit anknüpft (vgl. Kapitel 1.9). Das Durchschnittsalter in der untersuchten kaukasischen Stichprobe betrug 42,8 Jahre und lag damit in einem ähnlichen Bereich wie die vorausgehende kaukasische Studie von Domschke et al., 2014, mit einem durchschnittlichen Alter von 47,4 Jahren und wie eine japanische Studienpopulation mit im Mittel 40,3 Jahren (Okada et al., 2014). Das mittlere Alter in den beiden weiteren asiatischen Studien lag mit 54,9 Jahren (Kang et al., 2013b) sowie 64,5 Jahren (Kim et al., 2013a) deutlich höher. Da Alter und ethnische Herkunft die DNA-Methylierung beeinflussen können (vgl. Kapitel 2.2.1), sollte dies bei der Diskussion der Methylierungsdaten berücksichtigt werden. Die bekannte höhere Prävalenz der depressiven Erkrankung bei Frauen (vgl. Kapitel 1.2) spiegelte sich auch in den Studien wieder, mit einem Frauenanteil von 72,4 % in der vorliegenden Stichprobe und einem Anteil von 75 % (Kang et al., 2013b) sowie 64,9 % (Domschke et al., 2014). Es kamen jedoch mit 46 % (Okada et al., 2014) und 43,7% (Kim et al., 2013a) auch abweichende Geschlechterverhältnisse vor. Die letztere Studie hatte jedoch Patienten mit Depression nach Schlaganfall untersucht, was einen höheren Männeranteil erklären könnte.

Auch bezüglich der Krankheitscharakteristika zeigten sich zum Teil deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Studienpopulationen, jedoch hatten nicht alle Studien diese Daten im Detail ermittelt. Das Alter zum Zeitpunkt der ersten depressiven Episode lag in der hier untersuchten Stichprobe mit durchschnittlich 35,2 Jahren etwas über dem mittleren Krankheitsbeginn in Deutschland von 27,6 Jahren (Bromet et al., 2011). Das Studienkollektiv von Kang et al., 2013b, war dagegen mit im Schnitt 51,6 Jahren bei Krankheitsbeginn auffallend älter. Aus den Daten der vorliegenden Studie ergab sich eine durchschnittliche Krankheitsdauer von 6,9 Jahren, wobei die Patienten im Mittel 6,4 depressive Episoden erlebt und etwa einen psychiatrischen

Krankenhausaufenthalt durchlaufen hatten. In der Studie von Domschke et al., 2014, lag die bisherige Krankheitsdauer im Schnitt bei 12,4 Jahren mit einer durchschnittlichen Anzahl von 3,1 vorausgegangenen depressiven Episoden sowie 3,2 stationär-psychiatrischen Aufenthalten. Bei den asiatischen Studienpatienten mit mittlerem Krankheitsbeginn in höherem Alter war die bisherige Krankheitsdauer mit 3,9 Jahren entsprechend geringer (Kang et al., 2013b). Dagegen schloss die japanische Studie nur Patienten ohne Vorgeschichte einer depressiven Erkrankung ein (Okada et al., 2014). Im vorliegenden Studienkollektiv gaben 69 % der Patienten an, dass auch bei Familienmitgliedern eine Depression bekannt sei. Kang et al., 2013b, ermittelten bei nur 10,2 % der Studienteilnehmer eine positive Familienanamnese. Demnach untersuchten die beschriebenen Studien in einigen Punkten sehr unterschiedliche Stichproben. Sollten dieser Tatsache verschiedene Entitäten der Depression zugrunde liegen, so würde dies die Vergleichbarkeit der Studien mindern.

Die depressive Erkrankung ist bekannt für ein häufiges Auftreten von Komorbiditäten (vgl. Kapitel 1.1.3). Das Vorliegen komorbider psychischer Krankheiten ist in den Studienkollektiven jedoch häufig durch die Ausschlusskriterien beeinflusst. Insbesondere Patienten mit Substanzmissbrauch, darunter auch Alkoholabhängigkeit, werden oft aus den Analysen ausgeschlossen. In der vorliegenden Stichprobe fanden sich fünf Patienten (17,2 %) mit Angststörung, darunter soziale Phobie, Panikstörung und generalisierte Angststörung, sowie zwei Patienten (6,9 %) mit hyperkinetischer Störung. In der anderen kaukasischen Studienpopulation hatten nur zwei Patienten (2,1 %) zusätzlich eine Angststörung (Domschke et al., 2014). Tendenziell lag die beobachtete Häufigkeit von psychischen Komorbiditäten, hier insbesondere von Angsterkrankungen, demnach niedriger als erwartet (Goes et al., 2012; Kessler et al., 1998; Kessler et al., 1999). Die Ergebnisse sind daher nicht ohne Weiteres auf alle depressiven Patienten der Gesamtpopulation übertragbar.

Hinsichtlich der untersuchten antidepressiven Therapie und des Studienzeitraums sind die Studien ebenfalls nicht einheitlich. In dieser Arbeit waren die meisten der Studien-

teilnehmer vorbehandelt (vgl. Kapitel 3.1.2), durchliefen allerdings in der Regel einen Wechsel des Therapieregimes. Die Patienten erhielten größtenteils eine Kombinationstherapie aus einem oder zwei Antidepressiva mit, zumindest zu Therapiebeginn, einem Antipsychotikum oder Benzodiazepin (vgl. Kapitel 3.1.3). Unter den Antidepressiva waren TZA und SNRI am häufigsten vertreten, gefolgt von SSRI und Mirtazapin sowie seltener Agomelatin und Tranylcypromin. Die Patienten wurden über einen geplanten Zeitraum von sechs Wochen begleitet, der in einigen Fällen jedoch verkürzt wurde. Im Gegensatz dazu untersuchte die Studie von Domschke et al., 2014, nur Patienten, die mit dem SSRI Escitalopram zum Teil in Kombination mit Mirtazapin behandelt wurden. Als Komedikation wurden atypische Antipsychotika und sogenannte Mood-Stabilizer, jedoch keine Benzodiazepine verwendet. Auch hier wurde ein Studienzeitraum von sechs Wochen gewählt (Domschke et al., 2014). Ein ähnliches Studiendesign wählten Okada et al., 2014. Sie erhoben die Patientendaten vor und nach einer sechswöchigen Behandlung mit einem SSRI (Paroxetin, Fluvoxamin) oder SNRI (Milnacipran). Hierbei wurden jedoch explizit nur Patienten ohne Vorbehandlung eingeschlossen (Okada et al., 2014). Wie in der vorliegenden Studie untersuchten auch Kang et al., 2013b, ein Patientenkollektiv unter einer sehr heterogenen Medikamentenauswahl, darunter TZA, SSRI, SNRI sowie Mirtazapin und Bupropion. Die Autoren entschlossen sich jedoch für einen Studienzeitraum von zwölf Wochen (Kang et al., 2013b). Die andere koreanische Studie unterschied sich deutlich in ihrem Studiendesign, da sie das Auftreten von Depression und die *SLC6A4*-Methylierung zwei Wochen und ein Jahr nach einem Schlaganfallereignis untersuchte. Außerdem berichteten die Autoren nicht über eine eventuell durchgeführte antidepressive Therapie (Kim et al., 2013a). Die Unterschiede in der Psychopharmakotherapie sowie in den Studienzeiträumen beschränken die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien. Das naturalistische Therapiesetting mit Einchluss der Patienten unabhängig von der Entscheidung für ein bestimmtes Medikament ist jedoch eine Stärke der vorliegenden Arbeit. Dies erschwert zwar die Auswertung und den Vergleich mit anderen Studien, stellt aber die reale Situation der psychiatrischen Behandlung dar und macht eine Auswertung nach Substanzgruppen in demselben Studienkollektiv möglich, was bei Kang et al., 2013b, leider nicht erfolgte.

Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs sind diese einzelnen Gruppen allerdings zum Teil recht klein. Ein Nachteil der untersuchten Stichprobe ist die größtenteils erfolgte Vorbehandlung der Patienten, die nicht detailliert eruiert werden konnte und womöglich einen Einfluss auf die Methylierungsdaten haben könnte.

#### **4.2.2 Schweregrad der Depression und Therapieerfolg**

Die für diese Arbeit relevanten Studien untersuchten Patientenkollektive mit vergleichbarem Schweregrad der Depression, gemessen am durchschnittlichen Hamilton-Score. Allerdings ist zu beachten, dass unterschiedliche Versionen des Fragebogens zum Einsatz kamen. Die vorliegende Studie replizierte das Vorgehen von Domschke et al., 2014, und verwendete die HAMD-Version mit 21 Items. Kim et al., 2013a, hingegen nutzten den Fragebogen mit 17 Items und aus den anderen beiden Publikationen geht die verwendete Version nicht hervor (Kang et al., 2013b; Okada et al., 2014).

Die hier ausgewerteten Daten ergaben einen HAMD-21-Score von durchschnittlich 21,2 Punkten zu Studienbeginn, was einer mittelschweren Depression entspricht. Zu Studienende nahm der Score um 14,1 Punkte (61,6 %) signifikant ab ( $p < 0,001$ ) und sank auf im Durchschnitt 7,1 Punkte. Das Studienkollektiv von Domschke et al., 2014, zeigte bei Aufnahme ebenfalls einen mittleren HAMD-21-Score von 21,2 Punkten. Der Wert fiel nach sechs Wochen auf 10,4 Punkte und betrug bei Entlassung im Mittel 5,4 Punkte. Da in dieser Studie die relative Abnahme des Hamilton-Scores zwischen den Wochen 1 und 6 berechnet wurde, ergab sich hierfür ein geringerer Wert von 35,0 % (Domschke et al., 2014). Vergleichbare Daten fanden sich auch in der japanischen Stichprobe mit einem durchschnittlichen HAMD-Score von 20,6 Punkten vor Therapie und 8,1 Punkten nach sechs Wochen, was einer Abnahme um 12,5 Punkte (60,7 %) entspricht (Okada et al., 2014). Kang et al., 2013b, berichteten einen initialen mittleren HAMD-Wert von 20,5 Punkten und gaben eine Verringerung des Scores um 9,3 Punkte nach zwölf Wochen an. Dies entspricht einer relativen Abnahme von 45,4 %. Hinsichtlich des doppelt so langen Studienzeitraum fiel die Reduktion des Hamilton-Scores und damit die Besserung der depressiven Symptomatik deutlich geringer aus als im

Vergleich mit den anderen Studien erwartet. Da die andere koreanische Studie ein Gesamtkollektiv von Schlaganfallpatienten untersuchte, wobei nur ein Teil der Patienten (28,0 %) an Depression erkrankt war, ergab sich hier ein durchschnittlicher HAMD-Score von lediglich 7,9 Punkten und die mittlere Änderung zeigte eine Abnahme von 1,5 Punkten zum Zeitpunkt des Follow-Ups nach einem Jahr (Kim et al., 2013a). Die Mehrzahl der Studien wies jedoch eine vergleichbare Patientenklientel bezüglich des Schweregrads der Depression sowie der Änderung im Hamilton-Score auf.

Eine ähnliche Schwere der depressiven Symptomatik resultierte auch aus den Werten von BDI und GAF: Der BDI-Score betrug in der vorliegenden Arbeit im Durchschnitt zu Studienbeginn 29,8 Punkte und zu Studienende 15,7 Punkte. Dies stellt eine Reduktion des Scores um 14,1 Punkte (47,4 %) dar. Im Vergleich dazu dokumentierten Domschke et al., 2014, einen mittleren BDI-Wert von 26,5 Punkten bei Aufnahme und 10,8 Punkten bei Entlassung. Es ergab sich demnach eine Abnahme um 15,7 Punkte (59,2 %), die größer erscheint, da der Zeitpunkt für die zweite Erhebung bei Entlassung angesetzt wurde, d.h. später als das Studienende nach sechs Wochen. Der GAF-Wert stieg in der aktuellen Untersuchung von durchschnittlich 43,4 Punkten auf 64,5 Punkte nach sechs Wochen und zeigte in der vorangegangenen Studie einen Anstieg von 42,9 Punkten bei Aufnahme auf 68,6 Punkte bei Entlassung (Domschke et al., 2014).

Insgesamt betrachtet kommt demnach das Patientenkollektiv von Domschke et al., 2014, der hier untersuchten Studienpopulation hinsichtlich der Quantifizierung der Depression am nächsten, unterscheidet sich jedoch insbesondere im untersuchten Therapieregime.

Ein schwerwiegendes Problem bei der Behandlung der depressiven Erkrankung ist die hohe Therapieresistenz gemessen an den Response- und Remissionsraten (vgl. Kapitel 1.4.5). Die vorliegende Studienpopulation zeigte ein Therapieansprechen (Response) von knapp 80 % und eine Remissionsrate von etwa 65 %. In den anderen Studien wurde das Therapie-Outcome weithin nicht berichtet. Lediglich eine Studie dokumentierte eine Remissionsrate von 52,1 % (Domschke et al., 2014). Im Vergleich zu Übersichts-

arbeiten mit Werten von maximal 60-70 % für die Response und lediglich 20-30 % für die Remission nach initialer antidepressiver Therapie (Boulenger, 2004; Ferrier, 1999) mögen diese Werte recht hoch erscheinen. Es gilt aber zu bedenken, dass die aktuelle Stichprobe größtenteils vorbehandelte Patienten umfasst. Das heißt, dass auch nach Änderung des Therapieregimes noch etwa jeder fünfte Patient nicht adäquat auf die Therapie anspricht und ca. 35 % der Patienten z.T. trotz Therapieansprechen noch eine gewisse Restsymptomatik aufweisen. Diese Daten bestätigen den Bedarf eines objektiven Markers zur Vorhersage des Therapieerfolgs, um solche Patienten identifizieren zu können, die voraussichtlich nicht von einer gewählten Pharmakotherapie profitieren werden.

Da der HAMD-21-Score bzw. das daraus ermittelte Therapieansprechen in der vorliegenden Studie als primäre Zielgröße diente, wurden potentielle Einflussfaktoren auf diesen Score bzw. dessen Änderung analysiert (vgl. Kapitel 3.2.1). Die Schwere der Depression sowie die Besserung der Symptomatik waren jedoch nicht abhängig vom Alter oder Geschlecht der Patienten. Auch für die anderen untersuchten Patientencharakteristika zeigte sich keine Korrelation mit dem HAMD-21-Score. Demnach konnte keine Subgruppe identifiziert werden, die kränker war als der Rest der Patienten. Auch die anderen Studien berichteten nicht über Störgrößen mit Einfluss auf den Hamilton-Score (Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a; Okada et al., 2014), allerdings korrigierten Domschke et al., 2014, für den Hamilton-Wert bei Aufnahme. Aufgrund der geringen Stichprobengröße wurde in der hier vorgenommenen Auswertung keine Adjustierung für mögliche Einflussvariablen durchgeführt.

Obwohl es sich bei der vorliegenden Untersuchung nicht um eine Studie zur Effektivität antidepressiver Medikamente handelt, so kann abschließend zum Therapieerfolg der Patienten dennoch gesagt werden, dass gemessen an der Änderung im Hamilton-Score keine Substanzgruppe im Vergleich zu allen anderen bei der Behandlung der Depression überlegen war.

#### 4.2.3 *SLC6A4*-Genotypen (5-HTTLPR/rs25531)

Da der kombinierte 5-HTTLPR/rs25531-Polymorphismus des *5-HTT*-Gens das Risiko für die Entstehung der Depression zu beeinflussen scheint (vgl. Kapitel 1.6.3), wurden die Studienpatienten diesbezüglich genotypisiert, um die Bedeutung des Genotyps für den Methylierungsstatus sowie das Therapieansprechen zu ermitteln.

Lediglich vier verschiedene Genotypen von den zehn möglichen Kombinationen (ohne zwischen maternaler und paternaler Herkunft zu unterscheiden) kamen in der untersuchten Stichprobe vor. Der Häufigkeit nach waren dies: 41,4 %  $L_A S_A$ , 34,5 %  $L_A L_A$ , 17,2 %  $S_A S_A$  und 6,9 %  $L_A L_G$ . Nach Funktionalität gruppiert hatten 34,5 % der Patienten einen Genotyp mit hoher Aktivität und 65,5 % einen Genotyp mit niedriger Aktivität. Die gefundene Genotypverteilung war weitestgehend vergleichbar mit publizierten Daten anderer kaukasischer Studienkollektive (Domschke et al., 2014; Nakamura et al., 2000). Zum Beispiel konnten Domschke et al., 2014, eine Häufigkeitsverteilung von 38,2 %  $L_A S_A$ , 30,9 %  $L_A L_A$ , 14,9 %  $L_A S_G$ , 13,8 %  $S_A S_A$  und 2,1 %  $L_G L_G$  dokumentieren. Auffallend ist hierbei v.a. der Anteil des Genotyps  $L_A S_G$ , der in der vorliegenden Studie nicht vorkam. Aufgrund der geringen Stichprobengröße ist eine gewisse Abweichung von den Werten in der Literatur zu tolerieren. Die funktionelle Gruppierung war jedoch ebenfalls vergleichbar zu publizierten Anteilen von 30,9 % bzw. 69,1 % in den Gruppen mit hoher bzw. niedriger Aktivität (Domschke et al., 2014).

Aus der Genotypverteilung der vorliegenden Studie ergaben sich die Allelfrequenzen von 62,1 % für das L-Allel und 37,9 % für das S-Allel des 5-HTTLPR-Polymorphismus sowie 96,6 % für Adenin und 3,4 % für Guanin an Position des SNP rs25531. In Studien mit größerem Stichprobenumfang wurden für die Risiko-Allele mit 43 % für das S-Allel und 7,5 % für das G-Allel vergleichbare Werte angegeben (Goldman et al., 2010; Odgerel et al., 2013). Auch die ermittelten Haplotyp-Frequenzen von 58,6 % für  $L_A$ , 3,4 % für  $L_G$ , 37,9 % für  $S_A$  und 0 % für  $S_G$  entsprachen der Verteilung in anderen kaukasischen Studien (Odgerel et al., 2013; Wendland et al., 2006).

Zwei der zum Vergleich herangezogenen asiatischen Studien berücksichtigten ebenfalls den 5-HTTLPR-Polymorphismus, jedoch nicht den womöglich funktionell relevanten SNP rs25531. Die Autoren identifizierten unter den depressiven Patienten 65-68 % homozygote Träger des S-Allels, dessen Allelfrequenz mit 80-84 % deutlich über dem Wert kaukasischer Patienten lag (Kim et al., 2013a; Okada et al., 2014). Ein vermehrtes Vorkommen des SS-Genotyps in asiatischen Populationen wird durch vorbekannte Daten bestätigt (Goldman et al., 2010).

Bei kaukasischen Patienten wird das S-Allel als Risikoallel für ein unzulängliches Therapieansprechen angesehen, da Patienten mit LL-Genotyp eine bessere Response zeigen und Träger des L-Allels eher eine Remission erreichen (Serretti et al., 2007; Porcelli et al., 2012). In der aktuellen Studie sowie bei Domschke et al., 2014, hatte der Genotyp hingegen keinen Einfluss auf das Therapieansprechen. Hier zeigte sich zwischen den Gruppen mit hoher und niedriger Promotoraktivität ( $L_A L_A$  vs. 'Rest') kein Unterschied in der absoluten oder relativen Änderung des Hamilton-Scores. Auch der Hamilton-Score zu Studienbeginn sowie die ermittelten Krankheitsmerkmale waren nicht vom Genotyp abhängig. Die zum Vergleich herangezogenen asiatischen Studien machten keine Angaben zum Zusammenhang zwischen Genotyp und Therapie-Outcome (Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a; Okada et al., 2014). Dies wäre in Anbetracht der abweichenden Allelfrequenzen interessant gewesen, zumal bei asiatischen Patienten eine umgekehrte genetische Risikokonstellation mit dem L-Allel als Risikoallel für Non-Response diskutiert wird (Myung et al., 2013). Demnach beeinflussen ethnische Unterschiede die genetische Ausstattung und Funktion und verringern die Vergleichbarkeit von Studienkollektiven unterschiedlicher Herkunft.

#### **4.2.4 SLC6A4-Methylierungsgrad**

Das erste Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, den Methylierungsstatus depressiver Patienten zu erfassen. Zu Studienbeginn zeigten die Patienten einen mittleren Methylierungsgrad von 5,5 % mit einem individuellen Minimum von 3,6 % und einem Maximum von 8,0 %. Diese Werte zeigten eine ähnliche Größenordnung wie die Daten

von Domschke et al., 2014: Dort ergab sich eine mittlere Methylierung derselben CpG-Dinukleotide von 3,6 % mit individuellen Extremwerten von 1,2 % bis 8,3 %. Die beiden koreanischen Studien untersuchten sieben der neun CpGs der aktuellen Studie (vgl. Kapitel 2.4.1) und fanden bei depressiven Patienten durchschnittliche Methylierungsraten von 8,7 % (Kang et al., 2013b) bzw. 16,4 % (Kim et al., 2013a). Diese Werte lagen deutlich über dem mittleren Methylierungsgrad der kaukasischen Patienten. Okada et al., 2014, publizierten Daten für 29 CpG-Einheiten, die zum Teil mehrere CpGs umfassen. Unter der Annahme, dass die Autoren das Referenzgenom GRCh37 nutzten, waren die neun hier untersuchten CpG-Dinukleotide in der angegebenen Sequenz enthalten. Eine genaue Erklärung der verwendeten Nomenklatur fehlte jedoch, sodass keine exakte Zuordnung der CpG-Lokalisationen möglich war. Die Autoren machten außerdem keine Angaben zur mittleren Methylierung der untersuchten CpG-Insel. Aus den Einzelwerten errechnete sich jedoch ein Mittelwert von 13,2 % bei depressiven Patienten (Okada et al., 2014).

Die Durchschnittswerte der Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide reichten in der vorliegenden Studie von 1,6 % bei CpG5 bis 9,8 % bei CpG1. Ähnliche Extremwerte fanden sich in der anderen kaukasischen Studie bei denselben CpGs mit 0,4 % bei CpG5 und 7,1 % bei CpG1 (Domschke et al., 2014). Die größte Spanne in der mittleren Methylierung der einzelnen CpG-Einheiten zeigte die japanische Stichprobe mit 1,1 % bis 51,1 % (Okada et al., 2014). Einzelne CpG-Dinukleotide innerhalb der CpG-Insel können demnach sehr unterschiedliche Methylierungsraten aufweisen. Die daraus resultierende funktionelle Relevanz auf die Promotoraktivität bleibt jedoch ungeklärt. Außerdem tragen einzelne Regionen mit veränderter Methylierung, entsprechend der in GWAS gefundenen Effekte genetischer Varianten, wahrscheinlich nur mit einem geringen Anteil zur Pathogenese komplexer Erkrankungen wie der Depression bei (Zhao et al., 2013).

Die Methylierungsrate des *5-HTT*-Gens scheint insgesamt bei kaukasischen Patienten mit Depression geringer zu sein als in vergleichbaren asiatischen Stichproben. Aller-

dings ist bei der Interpretation dieser Daten der *SLC6A4*-Genotyp zu berücksichtigen, da dieser womöglich Einfluss auf den *SLC6A4*-Methylierungsstatus hat: Das L-Allel zeigt im Vergleich zum S-Allel einen Trend zu geringeren Methylierungswerten (Philibert et al., 2007). Dieser Zusammenhang wurde in einer anderen Studie jedoch nicht repliziert (Zhao et al., 2013). Kim et al., 2013a, konnten wiederum bestätigen, dass bei Studienteilnehmern mit SS-Genotyp höhere Methylierungslevel im Vergleich zu Probanden mit LL- oder LS-Genotyp vorlagen. Die höhere mittlere *SLC6A4*-Methylierungsrate in dieser Stichprobe könnte demnach zumindest zum Teil durch das häufigere Vorkommen des SS-Genotyps bedingt sein. Im Gegensatz dazu fand die japanische Studie keinen Unterschied im Methylierungsstatus zwischen Patienten mit SS-Genotyp und Trägern des L-Allels (Okada et al., 2014). Bei kaukasischen Patienten konnte unter Berücksichtigung der funktionellen Gruppierung des Genotyps ebenfalls keine Assoziation zum *SLC6A4*-Methylierungsstatus nachgewiesen werden (Domschke et al., 2014). Die vorliegende Studie zeigte dasselbe Ergebnis: Auch hier war kein Unterschied in der Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide sowie im Durchschnitt zwischen den beiden Genotypgruppen  $L_{A}L_{A}$  und 'Rest' feststellbar. Demnach gibt es Hinweise, dass die Unterschiede in der *SLC6A4*-Methylierung zwischen kaukasischen und asiatischen Studienpatienten durch die abweichende Genotypverteilung bedingt sein könnten. Dies konnte jedoch nicht von allen Studien repliziert werden, sodass die Methylierungsunterschiede zusätzlich mit anderen Einflussfaktoren, wie z.B. dem unterschiedlichen Durchschnittsalter, den verschiedenen Geschlechterverhältnissen sowie der ethnischen Herkunft, in Verbindung gebracht werden sollten.

Allgemein betrachtet sind DNA-Methylierungsmuster unter anderem abhängig vom Alter (Pal und Tyler, 2016), dem Geschlecht (Uddin et al., 2013) und der ethnischen Abstammung (Xia et al., 2014) sowie vom Raucherstatus (Gao et al., 2015). Allerdings sind nicht für alle diese Störgrößen eindeutige Daten speziell für das *5-HTT*-Gen vorhanden. In der vorliegenden Studie waren Alter und Nikotinabusus nicht mit der *SLC6A4*-Methylierung assoziiert. Bezüglich des Geschlechts zeigte sich jedoch eine höhere mittlere Methylierung bei Frauen vor Bonferroni-Korrektur. Dies deckt sich mit

einer früheren Publikation, die ebenfalls eine höhere Methylierung des *5-HTT*-Gens bei Frauen feststellen konnte (Philibert et al., 2008). Im Gegensatz dazu fanden Domschke et al., 2014, keinen solchen Einfluss des Geschlechts. Stattdessen ergab sich hier eine Assoziation zwischen Alter und Methylierungsstatus mit vermehrter Methylierung in höherem Alter (Domschke et al., 2014). Dementgegen geht man im Allgemeinen jedoch eher von einer Hypomethylierung im Alter aus (Pal und Tyler, 2016).

Weitere potentielle Einflussfaktoren, darunter ausgewählte Krankheitscharakteristika sowie der HAMD-21-Score zu Studienbeginn, zeigten in der aktuellen Studie keinen Zusammenhang mit dem *SLC6A4*-Methylierungsgrad. Der Hamilton-Score zum Zeitpunkt der Aufnahme war in anderen Studien ebenfalls nicht mit der mittleren Methylierung assoziiert (Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a). Weitere Faktoren mit einem potentiellen Einfluss auf den Methylierungsstatus, wie z.B. negative Kindheitserfahrungen und Stress (Kang et al., 2013b; Lam et al., 2012), wurden in der vorliegenden Studie nicht dokumentiert. Da keine der untersuchten Einflussgrößen nach Bonferroni-Korrektur das Signifikanzniveau erreichte und es sich bei der vorliegenden Pilotstudie um eine kleine Stichprobe handelt, wurde insgesamt auf eine Adjustierung für mögliche Störgrößen verzichtet.

#### **4.2.5 Einfluss des *SLC6A4*-Methylierungsstatus auf die Response**

Die zweite Fragestellung der aktuellen Studie beschäftigte sich mit der Eignung des *SLC6A4*-Methylierungsstatus als prädiktiver Marker für das antidepressive Therapieansprechen. Anhand der vorliegenden Daten konnte allerdings keine Korrelation der mittleren Methylierung zu Studienbeginn mit der absoluten oder relativen Änderung des HAMD-Scores festgestellt werden. Auch für die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide fand sich kein solcher Zusammenhang. Die Ergebnisse von Domschke et al., 2014, konnten demnach in der gegenwärtigen Stichprobe nicht repliziert werden. Die Autoren hatten gezeigt, dass der mittlere *SLC6A4*-Methylierungsgrad und insbesondere der Methylierungsstatus von CpG2 signifikant mit dem Therapieansprechen assoziiert waren. Für CpG1 und CpG4 ergaben sich nominell signifikante Ergebnisse. Dabei sagte ein geringerer Methylierungsgrad ein schlechteres Ansprechen nach sechswöchi-

ger Therapie mit Escitalopram zum Teil kombiniert mit Mirtazapin voraus (Domschke et al., 2014). Dieser Zusammenhang schien v.a. bei Trägern der gering aktiven Genotypen vorhanden zu sein, obwohl kein Einfluss des 5-HTTLPR/rs25531-Polymorphismus auf die DNA-Methylierung erkennbar war (Domschke et al., 2014).

Eine Ursache der erfolglosen Replikation könnte die heterogene Psychopharmakotherapie in der vorliegenden Studie sein, da hier die Patienten unabhängig vom Therapie- regime eingeschlossen wurden. So hatten insgesamt nur sieben Patienten SSRI einge- nommen, und auch innerhalb dieser kleinen Gruppe gab es deutliche Unterschiede in der Begleitmedikation, da die meisten Patienten eine Kombinationstherapie erhalten hatten (vgl. Kapitel 4.2.8). Eine entsprechende Auswertung in Subgruppen je nach ein- genommener Substanzklasse erschien daher aufgrund mangelnder Vergleichbarkeit für diese Fragestellung nicht sinnvoll. Ein weiterer Punkt ist der geringere Stichprobenum- fang, der eventuell zu klein war, um einen vergleichbaren Effekt messen zu können. Zudem wurde das Therapieansprechen, d.h. die Änderung im Hamilton-Score, in der aktuellen Studie in Bezug zum Wert "Prä-Therapie" berechnet, anstatt zum Wert von Woche 1 wie bei Domschke et al., 2014.

Die asiatischen Studien ergaben zum Teil widersprüchliche Ergebnisse: Zwar machten Okada et al., 2014, zum Zusammenhang zwischen dem *SLC6A4*-Methylierungsstatus und dem Therapieansprechen keine Angaben in Bezug auf die Durchschnittswerte, sie konnten jedoch bei einem einzelnen CpG-Dinukleotid (sog. CpG3) eine Korrelation in dieselbe Richtung wie Domschke et al., 2014, nachweisen. So hatten Patienten mit einer höheren Methylierungsrate dieses CpGs ein besseres Therapieansprechen unter Behandlung mit den SSRI Paroxetin oder Fluvoxamin bzw. dem SNRI Milnacipran (Okada et al., 2014). Aufgrund der nicht standardisiert verwandten Nomenklatur bleibt aber unklar, ob das sog. CpG3 einem der neun aktuell untersuchten CpG-Dinukleotide entspricht. Im Gegensatz dazu war bei den zwei koreanischen Studien eine höhere Methylierung des *5-HTT*-Gens mit einer Verschlechterung im Hamilton-Score assoziiert (Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a). Bei Betrachtung der einzelnen CpG-Dinukleotide zeigte sich dieser Zusammenhang bei vergleichbarer Nomenklatur für sechs von sieben

CpGs (Kim et al., 2013a) sowie insbesondere für CpG2 (Kang et al., 2013b), was im Widerspruch zum Ergebnis von Domschke et al., 2014, steht. Interessanterweise war die Korrelation zwischen höherer *SLC6A4*-Methylierung und Verschlechterung im Hamilton-Score in der Subgruppe mit *SS*-Genotyp ebenfalls stärker (Kim et al., 2013a). Beide Studien verwendeten jedoch nur die absolute Änderung des Hamilton-Scores als Maß für die Änderung der depressiven Symptomatik. Auch war der Studienzeitraum mit zwölf Wochen (Kang et al., 2013b) bzw. einem Jahr (Kim et al., 2013a) deutlich länger als in den anderen Studien. Darüber hinaus wurde eine heterogene Pharmakotherapie verwendet (Kang et al., 2013b) bzw. ein Studienkollektiv von Schlaganfall-Patienten untersucht, die nur zum Teil an Depression erkrankten, wobei unklar blieb, ob in diesem Fall überhaupt eine Therapie erfolgte (Kim et al., 2013a). Zusätzlich müssen ethnische und genetische Unterschiede bedacht werden, da die Allele des 5-HTTLPR-Polymorphismus unterschiedlich häufig vorkamen und möglicherweise gegensätzliche Effekt bezüglich des Non-Response-Risikos in asiatischen und kaukasischen Patienten vermitteln (vgl. Kapitel 4.2.3). All diese Faktoren tragen einen gewissen Anteil zur Erklärung der widersprüchlichen Ergebnisse der verschiedenen ethnischen Studienpopulationen bei.

Zur schematischen Darstellung der Änderung des Hamilton-Scores im Wochenverlauf in Abhängigkeit vom Methylierungsstatus zu Studienbeginn (Abb. 24) wurde in der vorliegenden Auswertung aus Gründen der Vergleichbarkeit mit der Studie von Domschke et al., 2014, ebenso ein Median Split durchgeführt. Die Autoren dieser Studie konnten zeigen, dass Patienten mit hohem Methylierungslevel im Wochenverlauf durchgängig eine stärkere prozentuale Abnahme im HAMD-21-Score erreichten als Patienten mit niedriger Methylierung. Nach sechs Wochen war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen signifikant, mit einer Reduktion des Scores von -47 % in der Gruppe mit hoher und -21 % in der Gruppe mit niedriger Methylierung (Domschke et al., 2014). Betrachtet man im Vergleich die Mittelwerte der relativen Änderungen des Hamilton-Scores im Wochenverlauf in der aktuellen Studie (Abb. 24b), so zeigt sich deskriptiv eher folgendes Muster: Hier schienen Patienten mit niedriger mittlerer Methylierung ein

besseres Therapieansprechen zu zeigen. Allerdings waren die Mittelwertunterschiede lediglich in Woche 2 nominell signifikant. Erst in Woche 6 wiesen Patienten mit hoher Methylierung eine unwesentlich stärkere Abnahme im Hamilton-Score auf als solche mit niedriger Methylierung (-62,37 % vs. -60,63 %). Zu fast allen Zeitpunkten ergaben sich dabei deutliche Überlappungen der Konfidenzintervalle, sodass nicht von einem relevanten Effekt ausgegangen werden kann. Außerdem könnte das gegensätzlich erscheinende Ergebnis durch folgende Tatsachen bedingt sein: Die relative Änderung des Hamilton-Scores wurde bei Domschke et al., 2014, im Verhältnis zum Messwert von Woche 1 und in der aktuellen Studie in Bezug zum Zeitpunkt Prä-Therapie berechnet. Dadurch ergaben sich auch die unterschiedlichen Größenverhältnisse der Werte der Hamilton-Reduktion. Des Weiteren erhielten die beiden Methylierungsgruppen der vorliegenden Auswertung trotz Median Split nicht die gleiche Anzahl an Teilnehmern, da drei Patienten, deren Methylierungswert exakt dem Median entsprach, in der Gruppe mit hoher Methylierung eingeordnet wurden. Zusätzlich kam es im Wochenverlauf zur Abnahme der Stichprobengröße durch Verkürzungen des Studienzeitraums bei vorzeitiger Entlassung. Dies führte zu einer Verzerrung der Abbildung insbesondere zum Zeitpunkt "Post-Therapie", da nicht alle Patienten dieselbe Therapiedauer aufwiesen.

Schlussendlich wurde noch eine Gruppierung nach Response bzw. Remission durchgeführt und der *SLC6A4*-Methylierungsstatus zwischen den Patienten verglichen. Die mittlere Methylierung zu Studienbeginn und auch die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide unterschied sich nicht zwischen Respondern und Non-Respondern sowie zwischen Patienten mit Remission und ohne Remission. Auch Okada et al., 2014, gruppierten ihre Patienten nach einer Verbesserung im Hamilton-Score von mehr oder weniger als 50 %, was einer Einteilung nach Response entspricht. Die von den Autoren durchgeführte hierarchische Clusteranalyse konnte die Patienten jedoch nicht anhand des Methylierungsstatus zu Studienbeginn in Einklang mit dem Therapieansprechen klassifizieren (Okada et al., 2014).

Zusammenfassend ist die Datenlage bezüglich der Prädiktion des Ansprechens auf eine antidepressive Pharmakotherapie anhand des Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens widersprüchlich. Bei kaukasischen Patienten scheint eine *SLC6A4*-Hypomethylierung mit einer geringeren Abnahme im Hamilton-Score einherzugehen, wobei v.a. der Methylierungsgrad von CpG2 zur Vorhersage des Therapieerfolgs geeignet sein könnte (Domschke et al., 2014). Weitere Untersuchungen mit größeren Stichproben als in der vorliegenden Studie sind jedoch nötig, um dieses Ergebnis zu replizieren, bevor eine klinische Überprüfung der *SLC6A4*-Methylierung als epigenetischer Marker für Therapieentscheidungen überhaupt denkbar ist (vgl. Kapitel 4.3).

#### **4.2.6 Änderung der *SLC6A4*-Methylierung**

Die dritte Fragestellung der vorliegenden Arbeit befasste sich mit der Änderung der *SLC6A4*-Methylierung bei depressiven Patienten nach sechswöchiger Psychopharmakotherapie. Hierbei konnte im Durchschnitt keine signifikante Methylierungsänderung nachgewiesen werden, da die mittlere Methylierung lediglich einen geringen Anstieg von 5,5 % auf 6,0 % zeigte. Die Methylierung einzelner CpG-Dinukleotide veränderte sich dagegen etwas deutlicher: Eine signifikante Zunahme, jedoch nur vor Bonferroni-Korrektur, fand sich bei CpG2 (von 4,2 % auf 5,5 %) und CpG4 (von 2,9 % auf 4,2 %). Auch CpG7 zeigte einen Trend zur Steigerung der Methylierung (von 7,3 % auf 9,5 %). Hingegen nahm die Methylierung von CpG1 und CpG8 leicht ab, was allerdings keine signifikante Veränderung darstellte.

Diese Fragestellung wurde nur von einer der zum Vergleich herangezogenen Studien untersucht (Okada et al., 2014). Die mittlere Methylierung wurde dort nicht angegeben, jedoch ließen sich aus den Methylierungswerten der einzelnen CpG-Dinukleotide die Mittelwerte von 13,2 % vor und 13,3 % nach sechswöchiger Therapie berechnen, woraus ebenfalls keine relevante Methylierungsänderung resultiert. Die Autoren fanden jedoch eine signifikante Änderung der Methylierung des als CpG3 bezeichneten Dinukleotids mit einer Zunahme von 4,9 % auf 6,1 %. Allerdings war aufgrund der abweichenden Nomenklatur leider nicht ersichtlich, ob es sich dabei um eines der neun aktuell untersuchten CpG-Dinukleotide handelt (Okada et al., 2014).

Zusammenfassend fiel in der aktuellen Stichprobe die Veränderung der Methylierung des *5-HTT*-Gens bei depressiven Patienten über einen sechswöchigen Therapiezeitraum demnach nur sehr gering aus. Außerdem schien sich die Methylierungsänderung hauptsächlich in einzelnen CpG-Dinukleotiden abzuspielen, wohingegen die mittlere Methylierung eher unverändert blieb.

Bei der Auswertung der nachfolgenden Fragestellungen wurde teilweise der relative Wert der *SLC6A4*-Methylierungsänderung verwendet, um die Methylierungsänderung in Bezug zum Ausgangswert zu setzen (vgl. Kapitel 2.5). Da bei einigen Patienten der Methylierungsgrad einzelner CpG-Dinukleotide unter der messbaren Grenze lag und somit bei T0 (d.h. vor Therapie) einen Wert von 0 % aufwies, ergab sich in diesen Fällen das Problem der Division durch Null. Dies führte zu vereinzelt fehlenden Werten und verringerte die Genauigkeit und Aussagekraft des Mittelwerts der Methylierungsänderung sowohl von einzelnen Patienten als auch von einzelnen CpGs: Bei Errechnung der mittleren Methylierungsänderung über alle CpG-Dinukleotide eines Patienten entsprechen fehlende Werte einer Reduktion der gemessenen CpGs. Bei Betrachtung der mittleren Methylierungsänderung eines CpG-Dinukleotids gemittelt über alle Patienten kommt dem eine Verringerung der Stichprobengröße gleich. Diese beiden Tatsachen sollten bei der nachfolgenden Bewertung der relativen Werte der Methylierungsänderung bedacht werden. Ferner ergibt sich daraus ein Problem bei der Berechnung des Durchschnittswerts der mittleren relativen Methylierungsänderungen, d.h. des Mittelwerts über alle CpGs und alle Patienten. Hierbei führen die fehlenden Werte dazu, dass der Durchschnittswert der mittleren relativen Methylierungsänderungen der einzelnen Patienten nicht identisch ist mit dem Durchschnittswert der mittleren relativen Methylierungsänderungen der einzelnen CpG-Dinukleotide. In der vorliegenden Arbeit wurde der erstgenannte der beiden Werte verwendet, da bereits zuvor immer zuerst die durchschnittliche Methylierung bzw. Methylierungsänderung der Patienten betrachtet wurde (u.a. zur Berechnung der Korrelationen, vgl. Kapitel 3.6.1). In den Abbildungen 27b, 28b und 30b darf der Wert "total" daher nicht als Durchschnitt der dargestellten Mittelwerte der einzelnen CpG-Dinukleotide angesehen werden.

#### **4.2.7 Einfluss der *SLC6A4*-Methylierungsänderung auf den Therapieerfolg**

Gemäß der vierten Fragestellung der vorliegenden Studie wurde der Zusammenhang zwischen der Änderung der *SLC6A4*-Methylierung und dem Therapieerfolg untersucht, basierend auf der Hypothese, dass die Methylierungsänderung Teil des biologischen Wirkmechanismus von antidepressiven Substanzen sein könnte. Die absolute bzw. relative mittlere Änderung der Methylierung korrelierte jedoch nicht mit der absoluten bzw. relativen Änderung des Hamilton-Scores. Bei der Auswertung der einzelnen CpG-Dinukleotide zeigte sich zumindest eine nominell signifikante positive Korrelation der absoluten Methylierungsänderung von CpG6 sowie der relativen Methylierungsänderung von CpG9 mit der relativen Änderung des Hamilton-Scores. Des Weiteren wurde die Änderung der Methylierung des *5-HTT*-Gens in Abhängigkeit von der Response bzw. der Remission analysiert. Auch hier ergab die Betrachtung der mittleren Methylierungsänderung keine signifikanten Ergebnisse. Die einzelnen CpG-Dinukleotide wiederum zeigten teilweise deutliche Unterschiede in der Veränderung der Methylierung zwischen den jeweiligen Gruppen. Insbesondere CpG1 und CpG9 waren auffällig: Non-Responder zeigten bei CpG1 eine nominell signifikante Methylierungsabnahme und gegensätzlich dazu bei CpG9 eine starke Zunahme während sich die Methylierung von Respondern an diesen beiden Positionen kaum veränderte. Insgesamt betrachtet fielen jedoch eher die Therapie-Responder durch eine relative Zunahme der Methylierung der meisten CpGs auf. Nur an den Dinukleotiden CpG6, CpG8 und CpG9 wiesen Non-Responder eine stärkere Methylierungszunahme auf. Zwischen den Gruppen der Patienten mit und ohne Remission waren diese Unterschiede ebenfalls vorhanden, aber weniger deutlich ausgeprägt.

Eine Zunahme der *SLC6A4*-Methylierung der untersuchten CpG-Insel scheint mit einer Abnahme der Genexpression einher zu gehen (Philibert et al., 2007), die zu einer verringerten Verfügbarkeit des Serotonin-Transporters an der Synapse führen würde. In der Folge wäre mehr Serotonin im synaptischen Spalt für die Neurotransmission vorhanden, was einen antidepressiven Effekt bedingt und der Wirkweise von Antidepressiva mit Serotonin-Wiederaufnahmehemmung entspricht (Hamon und Blier, 2013).

Dieser antidepressive Effekt durch Zunahme der *SLC6A4*-Methylierung könnte bei den Therapie-Respondern in der vorliegenden Studienpopulation eine Rolle gespielt haben, auch wenn die im Vergleich zu Non-Respondern stärkere Zunahme der Methylierung, die bei den meisten CpG-Dinukleotiden beobachtet wurde, nicht signifikant war. Ebenso könnte die ausschließlich bei Non-Respondern gefundene auffällige Abnahme der Methylierung von CpG1 mitverantwortlich für das schlechte Therapieansprechen bei diesen Patienten gewesen sein. In den beiden Patientengruppen veränderte sich die Methylierung einzelner CpG-Dinukleotide sehr unterschiedlich, aber auch innerhalb der beiden Gruppen veränderten sich nicht alle CpGs in dieselbe Richtung. Demzufolge könnten einzelne CpG-Dinukleotide eine unterschiedliche funktionelle Relevanz für die Regulation der Genexpression und einen gegensätzlichen Einfluss auf den Therapieerfolg haben. Die mittlere Methylierungsänderung würde dann eine eher untergeordnete Rolle bei der Beurteilung der Genaktivität spielen. Allerdings ist zu beachten, dass die Aussagekraft des Gesamtdurchschnitts der relativen Methylierungsänderung in der vorliegenden Auswertung durch messtechnische und mathematische Gründe verringert wurde (vgl. Kapitel 4.2.6).

Soweit bekannt, wurde der Zusammenhang zwischen der Änderung der Methylierung des *5-HTT*-Gens und der Veränderung des Hamilton-Scores bei depressiven Patienten lediglich von einer weiteren Studie untersucht: In der japanischen Studie hatte sich nur die Methylierung des sog. CpG3 während des Studienzeitraums signifikant verändert, sodass ausschließlich dieses Dinukleotid für die Berechnung der Korrelation herangezogen wurde. Allerdings konnte dabei kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Methylierungsänderung und der relativen Änderung des Hamilton-Scores gefunden werden. Ein Gruppenvergleich zwischen Respondern und Non-Respondern wurde nicht durchgeführt (Okada et al., 2014).

Eine andere Studie analysierte die *SLC6A4*-Methylierung vor und nach Psychotherapie bei Patienten mit Angststörungen. Dabei konnte ein Unterschied in der Methylierungsänderung zwischen den Patientengruppen je nach Therapieansprechen nachgewiesen werden. Bei Respondern zeigte sich eine Zunahme und bei Non-Respondern eine Ab-

nahme der Methylierung einer CpG-Einheit derselben CpG-Insel des *5-HTT*-Gens, die jedoch nicht in den aktuell untersuchten CpG-Dinukleotiden enthalten war (Roberts et al., 2014). Dieses Ergebnis steht in Einklang mit der oben genannten Hypothese, dass eine Zunahme der *SLC6A4*-Methylierung über eine Erhöhung der Serotonin-Spiegel zum Therapieansprechen beitragen könnte, zumal auch Angsterkrankungen erfolgreich medikamentös mit Antidepressiva, darunter v.a. Serotonin-Wiederaufnahmehemmer, behandelt werden können (Bandelow et al., 2014).

Trotz der fehlenden statistischen Signifikanz bestärken die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die Datenlage in der Literatur, die einen Unterschied in der Methylierungsänderung des *5-HTT*-Gens zwischen Respondern und Non-Respondern bei Angsterkrankungen zeigt (Roberts et al., 2014). Die Veränderung der *SLC6A4*-Methylierung kommt demnach als biologisches Korrelat des Therapieerfolgs in Betracht. Folglich stellt sich die Frage, ob die Psycho- bzw. Pharmakotherapie für die Methylierungsänderung ursächlich verantwortlich war. Das heißt in diesem Fall, ob die Zunahme der *SLC6A4*-Methylierung einen molekularen Wirkmechanismus der antidepressiven Behandlung darstellt. Da im aktuellen Studiendesign keine Placebogruppe untersucht wurde und damit keine Kontrollbedingung bestand, kann die Methylierungsänderung des *5-HTT*-Gens nicht kausal auf die medikamentöse Therapie zurückgeführt werden. Allerdings war in diesem Studiensetting ein Vergleich zwischen den verschiedenen Medikamentengruppen möglich, worauf im folgenden Kapitel näher eingegangen wird.

Zudem sind folgende Störgrößen auch bei der Betrachtung der Methylierungsveränderung in Korrelation mit dem Therapieansprechen zu bedenken, für die in der aktuellen Studie nur bedingt kontrolliert werden konnte: unterschiedliche Dosis und Form einer Psychotherapie (IPT, CBASP, supportiv) sowie nicht-psycho-/pharmakotherapeutische Einflüsse wie somatische Erkrankungen, Life events, Nikotinabusus, etc.

#### **4.2.8 *SLC6A4*-Methylierungsänderung und Psychopharmakotherapie**

Die bekannte Wirklatenz der Antidepressiva legt nahe, dass diese Substanzen neben einem schnellen Effekt, z.B. durch die Blockade von Neurotransmitter-Transportern,

zusätzlich über einen zeitlich verzögerten Wirkmechanismus verfügen, wie etwa durch epigenetische Modifikationen. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass die Änderung der Methylierung des *5-HTT*-Gens nicht nur ein Korrelat der Genesung, sondern auch eine direkte Wirkung der antidepressiven Medikation sein könnte. Um den Einfluss der Psychopharmakotherapie auf die Methylierungsänderung zu untersuchen, wurde eine Auswertung nach Substanzgruppen durchgeführt. Nur für die Gruppe der SSRI und für keine der anderen untersuchten Medikamentenklassen (TZA, SNRI, NaSSA, Antipsychotika, Benzodiazepine) fand sich ein signifikanter Unterschied der Änderung der *SLC6A4*-Methylierung zwischen Patienten, die ein Medikament der jeweiligen Substanzgruppe eingenommen hatten und solchen, die keine Behandlung aus dieser Substanzgruppe erhalten hatten. Studienpatienten, die mit SSRI therapiert wurden, zeigten eine starke Zunahme der Methylierung des *5-HTT*-Gens, während Patienten ohne SSRI-Einnahme sich kaum in der Methylierung veränderten. Dies ist von besonderem Interesse, da eine Wirkung auf die Genregulation des Serotonin-Transporters v.a. bei der Substanzgruppe der SSRI nahe liegt, weil diese selektiv in die serotonerge Neurotransmission eingreifen. Außerdem wirkt eine Zunahme der *SLC6A4*-Methylierung synergistisch mit der Blockade des Serotonin-Transporters: Durch die Verringerung der Genexpression sind weniger Transporter an der Synapse verfügbar, sodass die Effektivität von SSRI bzw. der Anteil blockierter Transporter bei gleichbleibendem Medikamentenspiegel steigt.

Allerdings war die Gruppe der Patienten unter SSRI-Therapie in der aktuellen Studienpopulation sehr klein und heterogen: Insgesamt erhielten sieben Patienten über einen gewissen Zeitraum während der Studie SSRI, darunter Escitalopram (n=5) und Sertralin (n=2). Vier der Patienten waren bereits mit einem SSRI vorbehandelt worden. Nur zwei Patienten nahmen über den gesamten Studienzeitraum durchgängig SSRI ein. Die SSRI-Therapie wurde teilweise mit einem weiteren Antidepressivum kombiniert, darunter Doxepin und Mirtazapin. Zu Studienende erhielten nur noch drei der Patienten SSRI. Bei den restlichen vier Patienten hatte ein Therapiewechsel zu Venlafaxin in Kombination mit Mirtazapin (n=3) bzw. zu Amitriptylin (n=1) stattgefunden. Nur ein Patient

erhielt während des gesamten Studienzeitraums neben dem SSRI kein weiteres Antidepressivum. Fünf Patienten bekamen zeitweise atypische Antipsychotika und/oder Benzodiazepine. Demzufolge standen die Patienten der Gruppe SSRI zum Teil zusätzlich unter dem Einfluss von TZA, SNRI, NaSSA, Antipsychotika und Benzodiazepinen, was die Aussagekraft über die SSRI-Wirkung auf die *SLC6A4*-Methylierung herabsetzt. Außerdem wurden zwei verschiedene SSRI in unterschiedlichen Dosierungen eingesetzt. Bei einigen Patienten erfolgte eine Dosissteigerung, während bei anderen das Medikament ausgeschlichen wurde. Eine Berücksichtigung der Plasmaspiegel erscheint daher für zukünftige, detailliertere Untersuchungen sinnvoll.

Bis heute ist die Datenlage zu *SLC6A4*-Methylierungsänderungen unter SSRI-Therapie spärlich. Soweit bekannt, hat bisher keine Studie mit longitudinalem Ansatz den Einfluss verschiedener Medikamentenklassen im Vergleich betrachtet, sodass das Ergebnis der aktuellen Arbeit - die Zunahme der Methylierung bei Einnahme von SSRI, aber nicht bei anderen Medikamenten - von besonderem Interesse ist. Okada et al., 2014, zeigten ebenfalls eine Methylierungszunahme, jedoch nur bei einem einzelnen CpG-Dinukleotid des *5-HTT*-Gens. Hierbei wurde außerdem die gesamte Studienpopulation mit SSRI bzw. SNRI, welche beide in die serotonerge Neurotransmission eingreifen, behandelt. Im Einklang mit diesen Ergebnissen fand eine Fall-Kontroll-Studie eine erhöhte *SLC6A4*-Methylierung bei Patienten unter SSRI-Therapie im Vergleich zu gesunden Probanden (Booij et al., 2015). Auch der Methylierungsstatus anderer Gene wird durch SSRI beeinflusst: So weisen Patienten, die eine antidepressive Behandlung mit SSRI bzw. SNRI erhielten, einen erhöhten Methylierungsgrad des *BDNF*-Promotors auf (D'Addario et al., 2013). Des Weiteren konnte im Tiermodell nachgewiesen werden, dass die Methylierung des *P11*-Gens, die bei einer Rattenlinie für Depression erhöht ist, durch Escitalopram normalisiert wird (Melas et al., 2012). Die aktuellen Ergebnisse bestärken demnach die Annahme, dass SSRI epigenetische Modifikationen bewirken. Gemeinsam mit der Tatsache, dass Methylierungsänderungen des *5-HTT*-Gens zum Teil mit der Therapie-Response in Zusammenhang gebracht werden konnten, ergeben sich hieraus neue Ansätze für die antidepressive Therapie, worauf im folgenden Kapitel

näher eingegangen wird. Allerdings gibt es auch für andere Antidepressiva sowie für Antipsychotika bzw. Mood-Stabilizer Hinweise auf eine Beeinflussung der Epigenetik (Boyadjieva und Varadinova, 2012; Menke und Binder, 2014), sodass die Komedikation von Patienten als Störgröße zu bedenken ist. Beispielsweise war die Methylierung des *5-HTT*-Gens bei Schizophrenie-Patienten unter Therapie mit atypischen Antipsychotika deutlich geringer als bei Patienten ohne Medikamenteneinnahme (Abdolmaleky et al., 2014). Bei depressiven Patienten war die zusätzliche Einnahme von Mood-Stabilizern, v.a. Lithium und Valproinsäure, assoziiert mit einer reduzierten *BDNF*-Methylierung im Vergleich zu Patienten, die ausschließlich Antidepressiva (SSRI bzw. SNRI) einnahmen (D'Addario et al., 2013). Solche Kombinationstherapien erschweren folglich die Analyse und verringern die Aussagekraft auch in Bezug auf die vorliegende Studie. Neben verschiedenen Medikamentenklassen und Dosierungen gehören auch die Psychotherapie, körperliche Erkrankungen, Traumata, Rauchgewohnheiten, etc. zu den möglichen Confoundern. Aufgrund der fehlenden Kontrollgruppe konnten die nicht-medikamentösen Einflüsse auf die *SLC6A4*-Methylierung nicht erkannt werden, sodass eine Aussage über Kausalzusammenhänge nicht möglich war. Daher sind weitere und detailliertere Untersuchungen nötig, um die Wirkung von SSRI auf die *SLC6A4*-Methylierung zu bestätigen. Dennoch lieferte das Studiendesign wichtige Erkenntnisse über die Rolle des Methylierungsstatus bzw. der Methylierungsänderung des *5-HTT*-Gens bei der Therapie der depressiven Erkrankung.

### **4.3 Ausblick**

Neben einem deskriptiven Teil mit Dokumentation des Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens bei depressiven Patienten untersuchte die aktuelle Arbeit drei zentrale Themen: den *SLC6A4*-Methylierungsstatus als prädiktiven Marker für das Therapieansprechen, die Methylierungsänderung als Korrelat des Therapieerfolgs und die Methylierungsänderung als möglicher Wirkmechanismus von Antidepressiva.

Zur Reduktion von Krankheitsdauer, Nebenwirkungen und Kosten wäre es für die Behandlung depressiver Patienten hilfreich, die im Einzelfall effektivste Therapie bereits im Voraus zu kennen (Kato und Serretti, 2010). Eine Blutentnahme zur Bestimmung eines prädiktiven Biomarkers wäre zu diesem Zweck ein geeignetes, da wenig invasives Verfahren. Viele genetische und epigenetische Marker wurden bereits auf ihre Eignung zur Vorhersage des Therapieansprechens untersucht. Einige wurden sogar in Pilotstudien auf ihre klinische Anwendbarkeit geprüft, konnten sich jedoch aufgrund unklarer Indikationen und Kosten-Nutzen-Verhältnisse bisher nicht durchsetzen (Fabbri et al., 2017). Zwei Studien identifizierten eine Hypomethylierung im Bereich des *5-HTT*-Promotors als prädiktiven Marker für ein schlechtes Ansprechen auf die antidepressive Therapie (Domschke et al., 2014; Okada et al., 2014). Dieses Ergebnis konnte durch die vorliegenden Daten allerdings nicht repliziert werden. Die aktuelle Studie reiht sich damit in die zum Teil widersprüchliche Datenlage der Literatur ein (Domschke et al., 2014; Kang et al., 2013b; Kim et al., 2013a; Okada et al., 2014). Für zukünftige Studien sind detailliertere Auswertungen größerer und klinisch exakt für multiple Parameter charakterisierter Stichproben nötig, da die Prädiktion des Therapieansprechens anhand des *SLC6A4*-Methylierungsstatus spezifisch für gewisse Substanzklassen (z.B. SSRI) sein könnte sowie u.a. von Therapiedauer, Genotypverteilung und ethnischer Herkunft abhängig zu sein scheint. Möglicherweise ist die depressive Erkrankung sowie deren Therapie aber auch zu heterogen, um sie durch Biomarker zu charakterisieren (Fabbri et al., 2017).

Epigenetische Modifikationen, darunter auch die Veränderung der DNA-Methylierung, scheinen im Verlauf komplexer multifaktorieller Erkrankungen einschließlich der unipolaren Depression eine wichtige Rolle zu spielen (Menke und Binder, 2014; Portela und Esteller, 2010). Dabei handelt es sich um dynamische Prozesse mit Einfluss auf die ansonsten unveränderliche Information der DNA. Die Daten der vorliegenden Studie ergaben einen Trend zur Zunahme der Methylierung einzelner CpG-Dinukleotide des *5-HTT*-Gens bei Therapie-Respondern sowie eine Abnahme der Methylierung von CpG1 bei Non-Respondern. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit früheren Erkennt-

nissen zur *SLC6A4*-Methylierungsänderung unter Psychotherapie (Roberts et al., 2014). In der aktuellen Studienpopulation zeigten die Patienten unter SSRI-Therapie einen deutlichen Methylierungsanstieg, sodass ein Eingriff in die Epigenetik des *5-HTT*-Gens als molekularer Wirkmechanismus dieser Behandlung infrage kommt. Einige weitere Studien fanden Veränderungen der DNA-Methylierung sowie der Histon-Acetylierung verschiedener Gene unter Verabreichung von unterschiedlichen Antidepressiva im Tiermodell (Melas et al., 2012; Onishchenko et al., 2008; Tsankova et al., 2006). Andere Untersuchungen zeigten einen Einfluss von antidepressiven Substanzen auf weitere Komponenten der epigenetischen Maschinerie, darunter DNA-Methyltransferasen, Methyl-CpG-bindende Proteine und Histon-Deacetylasen (Cassel et al., 2006; Gassen et al., 2015; Zimmermann et al., 2012; zur Übersicht siehe Lötsch et al., 2013). Sie alle unterstützen die Hypothese, dass Antidepressiva über epigenetische Modifikationen in die Regulation verschiedener Gene eingreifen können. Diese Erkenntnis führte zu der Bestrebung, neue antidepressive Medikamente mit direkter Wirkung auf epigenetische Faktoren zu entwickeln, um einen schnelleren Wirkeintritt und eine bessere Wirksamkeit zu erzielen (Abdolmaleky, 2014; Fuchikami et al., 2016). DNA-Methyltransferase (DNMT)-Hemmer (Sales et al., 2011) sowie Histon-Deacetylase (HDAC)-Inhibitoren (Fuchikami et al., 2016) zeigten im Tierversuch antidepressive Effekte. Diese Ergebnisse stehen jedoch in Widerspruch zu den Daten der vorliegenden Studie sowie zu anderen Untersuchungen zum *5-HTT*-Gen bzw. zur Behandlung mit SSRI, die eine höhere DNA-Methylierung bzw. erniedrigte Histon-Acetylierung mit der antidepressiven Therapie in Verbindung brachten (Cassel et al., 2006; Domschke et al., 2014; Okada et al., 2014; Roberts et al., 2014). Epigenetische Modifikationen durch SSRI können jedoch in verschiedenen Hirnregionen sowie in unterschiedlichen Zelltypen (z.B. Neuronen, Glia) entgegengesetzt ausfallen (Toffoli et al., 2014; Zimmermann et al., 2012). Außerdem zeigten andere Gene, z.B. das *BDNF*-Gen, eine verringerte Methylierung und eine erhöhte Acetylierung sowie eine verstärkte Genexpression bei Behandlung mit verschiedenen antidepressiven Verfahren, was in Einklang mit den wie oben dargestellt propagierten Therapieansätzen steht (Duclot und Kabbaj, 2015). Demzufolge kann die Wirkung von Antidepressiva auf epigenetische Prozesse nicht pauschalisiert werden und

erfordert weitere Untersuchungen der zugrundeliegenden Mechanismen sowie eine gewebs-, zell- und genspezifische Betrachtungsweise. Neue epigenetische Therapeutika werden bereits in verschiedenen Phasen klinischer Studien zur Behandlung neoplastischer Erkrankungen getestet. Einige Inhibitoren der Histon-Deacetylase sind zur Krebstherapie sogar schon zugelassen (Egger et al., 2004; Manal et al., 2016). Ob DNMT- und HDAC-Hemmer in Zukunft auch zur Behandlung der Depression zum Einsatz kommen, ist noch fraglich. Aufgrund ihrer globalen Wirkung auf die Epigenetik vermitteln diese Substanzen keine differentiellen oder genspezifischen Effekte und sind potentiell nebenwirkungsreich. Da die depressive Erkrankung zumeist eine langfristige Pharmakotherapie erfordert, sind weitere Studien insbesondere zu den unerwünschten Wirkungen wie Zytotoxizität, Immunmodulation und Tumorinduktion nötig (Schroeder et al., 2010; Schroeder et al., 2012). Trotzdem stellen epigenetische Therapeutika einen innovativen Ansatz zur antidepressiven Therapie dar.

Zusammenfassend sollten die aktuellen Ergebnisse zur Pharmakoepigenetik des *5-HTT*-Gens bei depressiven Patienten aufgrund des Pilotcharakters der Studie sowie der geringen Stichprobengröße als vorläufig und lediglich hypothesengenerierend eingestuft werden. Die Methylierungsdaten einzelner CpG-Dinukleotide zeigten sich insgesamt aussagekräftiger als die durchschnittliche *SLC6A4*-Methylierung. Bei der Analyse des Therapieansprechens ergaben sich potentielle Unterschiede in der Methylierungsänderung zwischen Respondern und Non-Respondern. Eine Methylierungszunahme war insbesondere bei Patienten unter SSRI-Therapie zu beobachten. Es scheinen jedoch große Stichproben nötig zu sein, um bei der Vielzahl möglicher Einflussfaktoren gesicherte epigenetische Effekte nachweisen zu können. Weitere Untersuchungen in größerem Umfang sind deswegen nötig, um die gefundenen Ergebnisse zu untermauern und zu replizieren.

## 5 Zusammenfassung

Die unipolare Depression ist eine der häufigsten psychiatrischen Erkrankungen und geht mit einem hohen Leidensdruck für die Betroffenen einher. Die Symptomatik der Depression besteht v.a. aus gedrückter Stimmung, Interessenverlust und Antriebslosigkeit und führt bei den Betroffenen zu Einbußen in der sozialen und beruflichen Funktionalität. Daneben leiden die Patienten aber auch unter wechselnden Therapieversuchen u.a. aufgrund von fehlendem Ansprechen auf Medikamente.

Trotz intensiver Forschung sind die Mechanismen der Krankheitsentstehung und die Wirkweise der antidepressiven Therapie nur teilweise verstanden. Genetische Studien identifizierten einige Suszeptibilitätsgene, die jedoch die Erblichkeit der depressiven Erkrankung nicht ausreichend erklären. Diese „missing heritability“ könnte durch epigenetische Faktoren wie z.B. Veränderungen in der DNA-Methylierung bedingt sein. Neben einer ätiopathogenetischen Rolle kommen epigenetische Modifikationen auch als Marker zur Prädiktion des Therapieerfolgs sowie als Korrelat des biologischen Wirkmechanismus der antidepressiven Therapie infrage. Die vorliegende Arbeit untersuchte daher die Pharmakotherapie-Epigenetik eines Suszeptibilitätsgens (*SLC6A4*, *5-HTT*), das den Serotonin-Transporter kodiert. Hierbei wurde die wechselseitige Beziehung zwischen der antidepressiven Pharmakotherapie und der DNA-Methylierung von neun CpG-Dinukleotiden des Serotonin-Transporter-Gens in Hinblick auf den Therapieerfolg analysiert. Dabei kamen molekularbiologische Methoden wie die Bisulfitsequenzierung zur Ermittlung der DNA-Methylierung sowie psychometrische Diagnostik zur Quantifizierung des Therapieansprechens zum Einsatz.

Stationär aufgenommene Patienten mit einer aktuellen depressiven Episode wiesen einen eher geringen durchschnittlichen Methylierungsgrad des Serotonin-Transporter-Gens von 5,5 % auf, wobei die Werte der einzelnen CpG-Dinukleotide von 1,6 % bis 9,8 % reichten. Die mittlere Methylierung zu Studienbeginn sowie die Methylierung der einzelnen CpG-Dinukleotide zeigte dabei keine Korrelation mit dem Therapieerfolg, d.h. der Änderung im Hamilton-Score. Patienten mit hoher und niedriger Methylierung

unterschieden sich nicht eindeutig im Wochenverlauf der Hamilton-Scores und auch eine Einteilung der Patienten nach Response bzw. Remission ergab keine Unterschiede der *SLC6A4*-Methylierung in den jeweiligen Gruppen. Der Methylierungsstatus des *5-HTT*-Gens sowie die Methylierungswerte einzelner CpG-Dinukleotide sind demnach diesen Daten zufolge nicht zur Prädiktion des Therapieerfolgs geeignet.

Nach sechswöchiger Psychopharmakotherapie lag die mittlere Methylierung bei 6,0 %, wobei keine signifikante Veränderung nachgewiesen werden konnte. Einzelne CpG-Dinukleotide zeigten jedoch einen Trend zu einer Methylierungszunahme. Die mittlere Methylierungsänderung korrelierte nicht mit der Änderung des Hamilton-Scores, nur für CpG6 und CpG9 ergaben sich nominell signifikante positive Korrelationen. Gruppiert nach Response bzw. Remission konnte kein signifikanter Unterschied der mittleren Methylierungsänderungen nachgewiesen werden. Bei Therapie-Respondern schien die Methylierung an den meisten CpG-Dinukleotiden zuzunehmen. Lediglich bei CpG6, CpG8 und CpG9 wiesen Non-Responder eine stärkere Methylierungszunahme auf. Auffällig war v.a. CpG1, das bei Non-Respondern eine nominell signifikante Methylierungsabnahme zeigte. Demnach besteht möglicherweise ein Zusammenhang zwischen der Methylierungsänderung einzelner CpG-Dinukleotide des *5-HTT*-Gens unter antidepressiver Therapie und dem Therapieerfolg der Patienten.

In Bezug auf die Pharmakotherapie hatten ausschließlich SSRI einen signifikanten Einfluss auf die Änderung der *SLC6A4*-Methylierung. Dabei zeigten Patienten unter SSRI-Therapie eine deutliche Methylierungszunahme, die synergistisch mit der Blockade des Serotonin-Transporters wirken könnte. Epigenetische Modifikationen des *5-HTT*-Gens kommen folglich als molekularer Wirkmechanismus dieser Behandlung in Betracht und implizieren neue Ansätze für innovative Pharmakotherapeutika.

Die vorliegende Arbeit liefert somit einen Beitrag zum Verständnis der zugrundeliegenden molekularbiologischen Prozesse der antidepressiven Therapie. Zur Sicherung und Replikation der gefundenen Ergebnisse sind jedoch weitere Studien mit größeren und genauestens charakterisierten Stichproben nötig.

## 6 Verzeichnisse

### 6.1 Literaturverzeichnis

Aas,I.H. (2011). Guidelines for rating Global Assessment of Functioning (GAF). *Ann. Gen. Psychiatry* 10, 2.

Abdolmaleky,H.M. (2014). Horizons of psychiatric genetics and epigenetics: where are we and where are we heading? *Iran J. Psychiatry Behav. Sci.* 8, 1-10.

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., and Thiagalingam,S. (2006). Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. *Hum. Mol. Genet.* 15, 3132-3145.

Abdolmaleky,H.M., Nohesara,S., Ghadirivasfi,M., Lambert,A.W., Ahmadkhaniha,H., Ozturk,S., Wong,C.K., Shafa,R., Mostafavi,A., and Thiagalingam,S. (2014). DNA hypermethylation of serotonin transporter gene promoter in drug naive patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 152, 373-380.

Alasaari,J.S., Lagus,M., Ollila,H.M., Toivola,A., Kivimaki,M., Vahtera,J., Kronholm,E., Harma,M., Puttonen,S., and Paunio,T. (2012). Environmental stress affects DNA methylation of a CpG rich promoter region of serotonin transporter gene in a nurse cohort. *PLoS. One.* 7, e45813.

American Psychiatric Association (2013). *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition.: DSM 5.*

Angst,J. (1986). The course of affective disorders. *Psychopathology* 19 *Suppl* 2, 47-52.

Anguelova,M., Benkelfat,C., and Turecki,G. (2003). A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: I. Affective disorders. *Mol. Psychiatry* 8, 574-591.

Baghai,T.C., Blier,P., Baldwin,D.S., Bauer,M., Goodwin,G.M., Fountoulakis,K.N., Kasper,S., Leonard,B.E., Malt,U.F., Stein,D., Versiani,M., and Moller,H.J. (2011). General and comparative efficacy and effectiveness of antidepressants in the acute treatment of depressive disorders: a report by the WPA section of pharmacopsychiatry. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 261 *Suppl* 3, 207-245.

Bandelow,B., Lichte,T., Rudolf,S., Wiltink,J., and Beutel,M.E. (2014). The diagnosis of and treatment recommendations for anxiety disorders. *Dtsch. Arztebl. Int.* 111, 473-480.

Bartels,S.J. and Drake,R.E. (1988). Depressive symptoms in schizophrenia: comprehensive differential diagnosis. *Compr. Psychiatry* 29, 467-483.

Bauer,M., Pfennig,A., Severus,E., Whybrow,P.C., Angst,J., and Moller,H.J. (2013). World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for biological treatment of unipolar depressive disorders, part 1: update 2013 on the acute and continuation treatment of unipolar depressive disorders. *World J. Biol. Psychiatry* 14, 334-385.

Baune,B.T., Hohoff,C., Mortensen,L.S., Deckert,J., Arolt,V., and Domschke,K. (2008). Serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) association with melancholic depression: a female specific effect? *Depress. Anxiety*. 25, 920-925.

Beach,S.R., Brody,G.H., Todorov,A.A., Gunter,T.D., and Philibert,R.A. (2010). Methylation at SLC6A4 is linked to family history of child abuse: an examination of the Iowa Adoptee sample. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 153B, 710-713.

Beck,A.T., Hautzinger,M., Keller,F., Brown,G.K., Kühner,C., and Steer,R.A. (2006). Beck-Depressions-Inventar: BDI-II ; Manual. Harcourt Test Services).

Beck,A.T., Ward,C.H., Mendelson,M., Mock,J., and Erbaugh,J. (1961). An inventory for measuring depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 4, 561-571.

Bennabi,D., Aouizerate,B., El-Hage,W., Doumy,O., Moliere,F., Courtet,P., Nieto,I., Bellivier,F., Bubrovsky,M., Vaiva,G., Holztmann,J., Bougerol,T., Richieri,R., Lancon,C., Camus,V., Saba,G., Haesbaert,F., d'Amato,T., Charpeaud,T., Llorca,P.M., Leboyer,M., and Haffen,E. (2015). Risk factors for treatment resistance in unipolar depression: a systematic review. *J. Affect. Disord.* 171, 137-141.

Berman,R.M. and Charney,D.S. (1999). Models of antidepressant action. *J. Clin. Psychiatry* 60 Suppl 14, 16-20.

Berton,O. and Nestler,E.J. (2006). New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 137-151.

Biernacka,J.M., Sangkuhl,K., Jenkins,G., Whaley,R.M., Barman,P., Batzler,A., Altman,R.B., Arolt,V., Brockmoller,J., Chen,C.H., Domschke,K., Hall-Flavin,D.K., Hong,C.J., Illi,A., Ji,Y., Kampman,O., Kinoshita,T., Leinonen,E., Liou,Y.J., Mushiroda,T., Nonen,S., Skime,M.K., Wang,L., Baune,B.T., Kato,M., Liu,Y.L., Praphanphoj,V., Stingl,J.C., Tsai,S.J., Kubo,M., Klein,T.E., and Weinshilboum,R. (2015). The International SSRI Pharmacogenomics Consortium (ISPC): a genome-wide association study of antidepressant treatment response. *Transl. Psychiatry* 5, e553.

Bierut,L.J., Heath,A.C., Bucholz,K.K., Dinwiddie,S.H., Madden,P.A., Statham,D.J., Dunne,M.P., and Martin,N.G. (1999). Major depressive disorder in a community-based twin sample: are there different genetic and environmental contributions for men and women? *Arch. Gen. Psychiatry* 56, 557-563.

Booij,L., Szyf,M., Carballado,A., Frey,E.M., Morris,D., Dymov,S., Vaisheva,F., Ly,V., Fahey,C., Meaney,J., Gill,M., and Frodl,T. (2015). DNA methylation of the serotonin transporter gene in peripheral cells and stress-related changes in hippocampal volume: a study in depressed patients and healthy controls. *PLoS. One.* *10*, e0119061.

Boulenger,J.P. (2004). Residual symptoms of depression: clinical and theoretical implications. *Eur. Psychiatry* *19*, 209-213.

Boyadjieva,N. and Varadinova,M. (2012). Epigenetics of psychoactive drugs. *J. Pharm. Pharmacol.* *64*, 1349-1358.

Bradley,C.C. and Blakely,R.D. (1997). Alternative splicing of the human serotonin transporter gene. *J. Neurochem.* *69*, 1356-1367.

Breen,G., Webb,B.T., Butler,A.W., van den Oord,E.J., Tozzi,F., Craddock,N., Gill,M., Korszun,A., Maier,W., Middleton,L., Mors,O., Owen,M.J., Cohen-Woods,S., Perry,J., Galwey,N.W., Upmanyu,R., Craig,I., Lewis,C.M., Ng,M., Brewster,S., Preisig,M., Rietschel,M., Jones,L., Knight,J., Rice,J., Muglia,P., Farmer,A.E., and McGuffin,P. (2011). A genome-wide significant linkage for severe depression on chromosome 3: the depression network study. *Am. J. Psychiatry* *168*, 840-847.

Bromet,E., Andrade,L.H., Hwang,I., Sampson,N.A., Alonso,J., de,G.G., de,G.R., Demyttenaere,K., Hu,C., Iwata,N., Karam,A.N., Kaur,J., Kostyuchenko,S., Lepine,J.P., Levinson,D., Matschinger,H., Mora,M.E., Browne,M.O., Posada-Villa,J., Viana,M.C., Williams,D.R., and Kessler,R.C. (2011). Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC. Med.* *9*, 90.

Brunoni,A.R., Lopes,M., and Fregni,F. (2008). A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* *11*, 1169-1180.

Burcusa,S.L. and Iacono,W.G. (2007). Risk for recurrence in depression. *Clin. Psychol. Rev.* *27*, 959-985.

Busch,M.A., Maske,U.E., Ryl,L., Schlack,R., and Hapke,U. (2013). [Prevalence of depressive symptoms and diagnosed depression among adults in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]. *Bundesgesundheitsblatt. Gesundheitsforschung. Gesundheitsschutz.* *56*, 733-739.

Byrne,E.M., Carrillo-Roa,T., Henders,A.K., Bowdler,L., McRae,A.F., Heath,A.C., Martin,N.G., Montgomery,G.W., Krause,L., and Wray,N.R. (2013). Monozygotic twins affected with major depressive disorder have greater variance in methylation than their unaffected co-twin. *Transl. Psychiatry* *3*, e269.

Camp,N.J. and Cannon-Albright,L.A. (2005). Dissecting the genetic etiology of major depressive disorder using linkage analysis. *Trends Mol. Med.* *11*, 138-144.

Camp,N.J., Lowry,M.R., Richards,R.L., Plenk,A.M., Carter,C., Hensel,C.H., Abkevich,V., Skolnick,M.H., Shattuck,D., Rowe,K.G., Hughes,D.C., and Cannon-Albright,L.A. (2005). Genome-wide linkage analyses of extended Utah pedigrees identifies loci that influence recurrent, early-onset major depression and anxiety disorders. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 135B, 85-93.

Carlberg,L., Scheibelreiter,J., Hassler,M.R., Schloegelhofer,M., Schmoeger,M., Ludwig,B., Kasper,S., Aschauer,H., Egger,G., and Schosser,A. (2014). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-epigenetic regulation in unipolar and bipolar affective disorder. *J. Affect. Disord.* 168, 399-406.

Casey,P. (2008). Diagnosing adjustment disorder with depressive features. *Expert. Rev. Neurother.* 8, 1203-1208.

Cassel,S., Carouge,D., Gensburger,C., Anglard,P., Burgun,C., Dietrich,J.B., Aunis,D., and Zwiller,J. (2006). Fluoxetine and cocaine induce the epigenetic factors MeCP2 and MBD1 in adult rat brain. *Mol. Pharmacol.* 70, 487-492.

Clark,S.J., Harrison,J., Paul,C.L., and Frommer,M. (1994). High sensitivity mapping of methylated cytosines. *Nucleic Acids Res.* 22, 2990-2997.

Clarke,H., Flint,J., Attwood,A.S., and Munafo,M.R. (2010). Association of the 5- HTTLPR genotype and unipolar depression: a meta-analysis. *Psychol. Med.* 40, 1767-1778.

Cohen-Woods,S., Craig,I.W., and McGuffin,P. (2013). The current state of play on the molecular genetics of depression. *Psychol. Med.* 43, 673-687.

Cordova-Palomera,A., Fatjo-Vilas,M., Gasto,C., Navarro,V., Krebs,M.O., and Fananas,L. (2015). Genome-wide methylation study on depression: differential methylation and variable methylation in monozygotic twins. *Transl. Psychiatry* 5, e557.

Cuijpers,P. and Schoevers,R.A. (2004). Increased mortality in depressive disorders: a review. *Curr. Psychiatry Rep.* 6, 430-437.

Cuijpers,P. and Smit,F. (2002). Excess mortality in depression: a meta-analysis of community studies. *J. Affect. Disord.* 72, 227-236.

D'Addario,C., Dell'Osso,B., Galimberti,D., Palazzo,M.C., Benatti,B., Di,F.A., Scarpini,E., Altamura,A.C., and Maccarrone,M. (2013). Epigenetic modulation of BDNF gene in patients with major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 73, e6-e7.

Dalton,V.S., Kolshus,E., and McLoughlin,D.M. (2014). Epigenetics and depression: return of the repressed. *J. Affect. Disord.* 155, 1-12.

Davies,M.N., Krause,L., Bell,J.T., Gao,F., Ward,K.J., Wu,H., Lu,H., Liu,Y., Tsai,P.C., Collier,D.A., Murphy,T., Dempster,E., Mill,J., Battle,A., Mostafavi,S., Zhu,X., Henders,A., Byrne,E., Wray,N.R., Martin,N.G., Spector,T.D., and Wang,J. (2014). Hypermethylation

in the ZBTB20 gene is associated with major depressive disorder. *Genome Biol.* 15, R56.

Davies, M.N., Volta, M., Pidsley, R., Lunnon, K., Dixit, A., Lovestone, S., Coarfa, C., Harris, R.A., Milosavljevic, A., Troakes, C., Al-Sarraj, S., Dobson, R., Schalkwyk, L.C., and Mill, J. (2012). Functional annotation of the human brain methylome identifies tissue-specific epigenetic variation across brain and blood. *Genome Biol.* 13, R43.

de Jong, J.O., Arts, B., Boks, M.P., Sienaert, P., van den Hove, D.L., Kenis, G., van, O.J., and Rutten, B.P. (2014). Epigenetic effects of electroconvulsive seizures. *J. ECT.* 30, 152-159.

Delgado, P.L. (2000). Depression: the case for a monoamine deficiency. *J. Clin. Psychiatry* 61 Suppl 6, 7-11.

Dempster, E.L., Mill, J., Craig, I.W., and Collier, D.A. (2006). The quantification of COMT mRNA in post mortem cerebellum tissue: diagnosis, genotype, methylation and expression. *BMC. Med. Genet.* 7, 10.

Dempster, E.L., Wong, C.C., Lester, K.J., Burrage, J., Gregory, A.M., Mill, J., and Eley, T.C. (2014). Genome-wide methylomic analysis of monozygotic twins discordant for adolescent depression. *Biol. Psychiatry* 76, 977-983.

Devleeschauwer, B., Havelaar, A.H., Maertens de, N.C., Haagsma, J.A., Praet, N., Dorny, P., Duchateau, L., Torgerson, P.R., Van, O.H., and Speybroeck, N. (2014). Calculating disability-adjusted life years to quantify burden of disease. *Int. J. Public Health* 59, 565-569.

Devlin, A.M., Brain, U., Austin, J., and Oberlander, T.F. (2010). Prenatal exposure to maternal depressed mood and the MTHFR C677T variant affect SLC6A4 methylation in infants at birth. *PLoS. One.* 5, e12201.

DGPPN, BÄK, KBV, AWMF, AkdÄ, BpTK, BApK, DAGSHG, DEGAM, DGPM, DGPs, and DGRW (Hrsg) für die Leitliniengruppe Unipolare Depression. S3-Leitlinie/Nationale VersorgungsLeitlinie Unipolare Depression - Langfassung. DGPPN, ÄZQ, AWMF - Berlin, Düsseldorf [1. Auflage]. 2009.

Ref Type: Online Source

DGPPN, BÄK, KBV, AWMF, AkdÄ, BpTK, BApK, DAGSHG, DEGAM, DGPM, DGPs, and DGRW (Hrsg.) für die Leitliniengruppe Unipolare Depression\* (2015). S3-Leitlinie/Nationale VersorgungsLeitlinie Unipolare Depression - Langfassung, 2. Auflage. Version 3. Available from: [www.depression.versorgungsleitlinien.de](http://www.depression.versorgungsleitlinien.de) (\*Organisationen, die in der Leitliniengruppe kooperierten: DGPPN, BÄK, KBV, AWMF, ACKPA, AkdÄ, BpTK, BApK, DAGSHG, DEGAM, DGPM, DGPs, DGRW, BDK, BDP, BPM, BVDN, BVDP, BVVP, CPKA, DÄVT, DFT, DGGPP, DGPT, DGVT, DPG, DPV, DPtV, DVT, GwG, Stiftung Deutsche Depressionshilfe).

Dilling,H. and World Health Organization (2006). Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen: mit Glossar und Diagnostischen Kriterien ICD-10 : DCR-10. Huber).

Domschke,K. (2008). Pharmacogenetics - A Useful Tool in Antidepressant Pharmacotherapy? *Child and Adolescent Psychopharmacology News* 13, 1-4.

Domschke,K. and Reif,A. (2012). Behavioral genetics of affective and anxiety disorders. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 12, 463-502.

Domschke,K., Tidow,N., Kuithan,H., Schwarte,K., Klauke,B., Ambree,O., Reif,A., Schmidt,H., Arolt,V., Kersting,A., Zwanzger,P., and Deckert,J. (2012). Monoamine oxidase A gene DNA hypomethylation - a risk factor for panic disorder? *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 15, 1217-1228.

Domschke,K., Tidow,N., Schwarte,K., Deckert,J., Lesch,K.P., Arolt,V., Zwanzger,P., and Baune,B.T. (2014). Serotonin transporter gene hypomethylation predicts impaired antidepressant treatment response. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 17, 1167-1176.

Domschke,K., Tidow,N., Schwarte,K., Ziegler,C., Lesch,K.P., Deckert,J., Arolt,V., Zwanzger,P., and Baune,B.T. (2015). Pharmacoeigenetics of depression: no major influence of MAO-A DNA methylation on treatment response. *J. Neural Transm. (Vienna.)* 122, 99-108.

Duclot,F. and Kabbaj,M. (2015). Epigenetic mechanisms underlying the role of brain-derived neurotrophic factor in depression and response to antidepressants. *J. Exp. Biol.* 218, 21-31.

Egger,G., Liang,G., Aparicio,A., and Jones,P.A. (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 429, 457-463.

El Khoury,A., Gruber,S.H., Mork,A., and Mathe,A.A. (2006). Adult life behavioral consequences of early maternal separation are alleviated by escitalopram treatment in a rat model of depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 30, 535-540.

El-Hage,W., Leman,S., Camus,V., and Belzung,C. (2013). Mechanisms of antidepressant resistance. *Front Pharmacol.* 4, 146.

Erhart, M. and Stillfried, D. von. Analyse regionaler Unterschiede in der Prävalenz und Versorgung depressiver Störungen auf Basis vertragsärztlicher Abrechnungsdaten - Teil 1 Prävalenz. 2012.

Ref Type: Online Source

Fabbri,C., Hosak,L., Mossner,R., Giegling,I., Mandelli,L., Bellivier,F., Claes,S., Collier,D.A., Corrales,A., Delisi,L.E., Gallo,C., Gill,M., Kennedy,J.L., Leboyer,M., Lisoway,A., Maier,W., Marquez,M., Massat,I., Mors,O., Muglia,P., Nothen,M.M., O'Donovan,M.C., Ospina-Duque,J., Propping,P., Shi,Y., St,C.D., Thibaut,F., Cichon,S.,

- Mendlewicz,J., Rujescu,D., and Serretti,A. (2017). Consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics: Genetics, epigenetics and gene expression markers of major depressive disorder and antidepressant response. *World J. Biol. Psychiatry* 18, 5-28.
- Ferrier,I.N. (1999). Treatment of major depression: is improvement enough? *J. Clin. Psychiatry* 60 *Suppl* 6, 10-14.
- Flint,J. and Kendler,K.S. (2014). The genetics of major depression. *Neuron* 81, 484-503.
- Frank,E., Prien,R.F., Jarrett,R.B., Keller,M.B., Kupfer,D.J., Lavori,P.W., Rush,A.J., and Weissman,M.M. (1991). Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch. Gen. Psychiatry* 48, 851-855.
- Fuchikami,M., Morinobu,S., Segawa,M., Okamoto,Y., Yamawaki,S., Ozaki,N., Inoue,T., Kusumi,I., Koyama,T., Tsuchiyama,K., and Terao,T. (2011). DNA methylation profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potent diagnostic biomarker in major depression. *PLoS. One.* 6, e23881.
- Fuchikami,M., Yamamoto,S., Morinobu,S., Okada,S., Yamawaki,Y., and Yamawaki,S. (2016). The potential use of histone deacetylase inhibitors in the treatment of depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 64, 320-324.
- Gao,X., Jia,M., Zhang,Y., Breitling,L.P., and Brenner,H. (2015). DNA methylation changes of whole blood cells in response to active smoking exposure in adults: a systematic review of DNA methylation studies. *Clin. Epigenetics.* 7, 113.
- Garriock,H.A., Kraft,J.B., Shyn,S.I., Peters,E.J., Yokoyama,J.S., Jenkins,G.D., Reinalda,M.S., Slager,S.L., McGrath,P.J., and Hamilton,S.P. (2010). A genomewide association study of citalopram response in major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 67, 133-138.
- Gassen,N.C., Fries,G.R., Zannas,A.S., Hartmann,J., Zschocke,J., Hafner,K., Carrillo-Roa,T., Steinbacher,J., Preissinger,S.N., Hoeijmakers,L., Knop,M., Weber,F., Kloiber,S., Lucae,S., Chrousos,G.P., Carell,T., Ising,M., Binder,E.B., Schmidt,M.V., Ruegg,J., and Rein,T. (2015). Chaperoning epigenetics: FKBP51 decreases the activity of DNMT1 and mediates epigenetic effects of the antidepressant paroxetine. *Sci. Signal.* 8, ra119.
- GENDEP Investigators, MARS Investigators, and STAR\*D Investigators (2013). Common genetic variation and antidepressant efficacy in major depressive disorder: a meta-analysis of three genome-wide pharmacogenetic studies. *Am. J. Psychiatry* 170, 207-217.
- Gerretsen,P., Muller,D.J., Tiwari,A., Mamo,D., and Pollock,B.G. (2009). The intersection of pharmacology, imaging, and genetics in the development of personalized medicine. *Dialogues. Clin. Neurosci.* 11, 363-376.

- Ghadirivasfi,M., Nohesara,S., Ahmadkhaniha,H.R., Eskandari,M.R., Mostafavi,S., Thiagalingam,S., and Abdolmaleky,H.M. (2011). Hypomethylation of the serotonin receptor type-2A Gene (HTR2A) at T102C polymorphic site in DNA derived from the saliva of patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* *156B*, 536-545.
- Goes,F.S., McCusker,M.G., Bienvenu,O.J., Mackinnon,D.F., Mondimore,F.M., Schweizer,B., Depaulo,J.R., and Potash,J.B. (2012). Co-morbid anxiety disorders in bipolar disorder and major depression: familial aggregation and clinical characteristics of co-morbid panic disorder, social phobia, specific phobia and obsessive-compulsive disorder. *Psychol. Med.* *42*, 1449-1459.
- Goldman,N., Gleib,D.A., Lin,Y.H., and Weinstein,M. (2010). The serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR): allelic variation and links with depressive symptoms. *Depress. Anxiety.* *27*, 260-269.
- Graubner,B. (2013). ICD-10-GM 2014 Systematisches Verzeichnis: Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme11. Revision - German Modification Version 2014. Deutscher Aerzte-Verlag).
- Green,A.R. (1988). The mechanism of action of antidepressant treatments: basic aspects. *Pharmacopsychiatry* *21*, 3-5.
- Guintivano,J. and Kaminsky,Z.A. (2016). Role of epigenetic factors in the development of mental illness throughout life. *Neurosci. Res.* *102*, 56-66.
- Haenisch,B., Herms,S., Mattheisen,M., Steffens,M., Breuer,R., Strohmaier,J., Degenhardt,F., Schmal,C., Lucae,S., Maier,W., Rietschel,M., Nothen,M.M., and Cichon,S. (2013). Genome-wide association data provide further support for an association between 5-HTTLPR and major depressive disorder. *J. Affect. Disord.* *146*, 438-440.
- Hamilton,M. (1960). A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* *23*, 56-62.
- Hamon,M. and Blier,P. (2013). Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* *45*, 54-63.
- Hautzinger,M. (2008). [Psychotherapy of depression]. *Bundesgesundheitsblatt. Gesundheitsforschung. Gesundheitsschutz.* *51*, 422-429.
- Hautzinger,M., Beck,A.T., Keller,F., and Kühner,C. (2009). Beck Depressions-Inventar: BDI-II ; Revision ; Manual. Pearson).
- Heils,A., Teufel,A., Petri,S., Stober,G., Riederer,P., Bengel,D., and Lesch,K.P. (1996). Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J. Neurochem.* *66*, 2621-2624.

Holmans,P., Zubenko,G.S., Crowe,R.R., DePaulo,J.R., Jr., Scheftner,W.A., Weissman,M.M., Zubenko,W.N., Boutelle,S., Murphy-Eberenz,K., MacKinnon,D., McInnis,M.G., Marta,D.H., Adams,P., Knowles,J.A., Gladis,M., Thomas,J., Chellis,J., Miller,E., and Levinson,D.F. (2004). Genomewide significant linkage to recurrent, early-onset major depressive disorder on chromosome 15q. *Am. J. Hum. Genet.* *74*, 1154-1167.

How Kit,A., Nielsen,H.M., and Tost,J. (2012). DNA methylation based biomarkers: practical considerations and applications. *Biochimie* *94*, 2314-2337.

Hranilovic,D., Stefulj,J., Schwab,S., Borrmann-Hassenbach,M., Albus,M., Jernej,B., and Wildenauer,D. (2004). Serotonin transporter promoter and intron 2 polymorphisms: relationship between allelic variants and gene expression. *Biol. Psychiatry* *55*, 1090-1094.

Hu,X.Z., Lipsky,R.H., Zhu,G., Akhtar,L.A., Taubman,J., Greenberg,B.D., Xu,K., Arnold,P.D., Richter,M.A., Kennedy,J.L., Murphy,D.L., and Goldman,D. (2006). Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am. J. Hum. Genet.* *78*, 815-826.

Hu,X.Z., Rush,A.J., Charney,D., Wilson,A.F., Sorant,A.J., Papanicolaou,G.J., Fava,M., Trivedi,M.H., Wisniewski,S.R., Laje,G., Paddock,S., McMahon,F.J., Manji,H., and Lipsky,R.H. (2007). Association between a functional serotonin transporter promoter polymorphism and citalopram treatment in adult outpatients with major depression. *Arch. Gen. Psychiatry* *64*, 783-792.

Ising,M., Lucae,S., Binder,E.B., Bettecken,T., Uhr,M., Ripke,S., Kohli,M.A., Hennings,J.M., Horstmann,S., Kloiber,S., Menke,A., Bondy,B., Rupprecht,R., Domschke,K., Baune,B.T., Arolt,V., Rush,A.J., Holsboer,F., and Muller-Myhsok,B. (2009). A genomewide association study points to multiple loci that predict antidepressant drug treatment outcome in depression. *Arch. Gen. Psychiatry* *66*, 966-975.

Jacobi,F., Hofler,M., Siegert,J., Mack,S., Gerschler,A., Scholl,L., Busch,M.A., Hapke,U., Maske,U., Seiffert,I., Gaebel,W., Maier,W., Wagner,M., Zielasek,J., and Wittchen,H.U. (2014). Twelve-month prevalence, comorbidity and correlates of mental disorders in Germany: the Mental Health Module of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1-MH). *Int. J. Methods Psychiatr. Res.* *23*, 304-319.

Januar,V., Saffery,R., and Ryan,J. (2015). Epigenetics and depressive disorders: a review of current progress and future directions. *Int. J. Epidemiol.* *44*, 1364-1387.

Kang,H.J., Kim,J.M., Lee,J.Y., Kim,S.Y., Bae,K.Y., Kim,S.W., Shin,I.S., Kim,H.R., Shin,M.G., and Yoon,J.S. (2013a). BDNF promoter methylation and suicidal behavior in depressive patients. *J. Affect. Disord.* *151*, 679-685.

- Kang,H.J., Kim,J.M., Stewart,R., Kim,S.Y., Bae,K.Y., Kim,S.W., Shin,I.S., Shin,M.G., and Yoon,J.S. (2013b). Association of SLC6A4 methylation with early adversity, characteristics and outcomes in depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 44, 23-28.
- Karg,K., Burmeister,M., Shedden,K., and Sen,S. (2011). The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation. *Arch. Gen. Psychiatry* 68, 444-454.
- Katara,P. (2014). Single nucleotide polymorphism and its dynamics for pharmacogenomics. *Interdiscip. Sci.* 6, 85-92.
- Kato,M., Nonen,S., Serretti,A., Tetsuo,S., Takekita,Y., Azuma,J., and Kinoshita,T. (2013). 5-HTTLPR rs25531A > G differentially influence paroxetine and fluvoxamine antidepressant efficacy: a randomized, controlled trial. *J. Clin. Psychopharmacol.* 33, 131-132.
- Kato,M. and Serretti,A. (2010). Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 15, 473-500.
- Keller,M.B. (1999). The long-term treatment of depression. *J. Clin. Psychiatry* 60 *Suppl* 17, 41-45.
- Keller,M.B., Lavori,P.W., Mueller,T.I., Endicott,J., Coryell,W., Hirschfeld,R.M., and Shea,T. (1992). Time to recovery, chronicity, and levels of psychopathology in major depression. A 5-year prospective follow-up of 431 subjects. *Arch. Gen. Psychiatry* 49, 809-816.
- Keller,S., Sarchiapone,M., Zarrilli,F., Videtic,A., Ferraro,A., Carli,V., Sacchetti,S., Lembo,F., Angiolillo,A., Jovanovic,N., Pisanti,F., Tomaiuolo,R., Monticelli,A., Balazic,J., Roy,A., Marusic,A., Coccozza,S., Fusco,A., Bruni,C.B., Castaldo,G., and Chiariotti,L. (2010). Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 258-267.
- Kendler,K.S., Gatz,M., Gardner,C.O., and Pedersen,N.L. (2006). A Swedish national twin study of lifetime major depression. *Am. J. Psychiatry* 163, 109-114.
- Kennedy,N. and Paykel,E.S. (2004). Residual symptoms at remission from depression: impact on long-term outcome. *J. Affect. Disord.* 80, 135-144.
- Kessler,R.C., Berglund,P., Demler,O., Jin,R., Koretz,D., Merikangas,K.R., Rush,A.J., Walters,E.E., and Wang,P.S. (2003). The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 289, 3095-3105.
- Kessler,R.C. and Bromet,E.J. (2013). The epidemiology of depression across cultures. *Annu. Rev. Public Health* 34, 119-138.

Kessler,R.C., Stang,P., Wittchen,H.U., Stein,M., and Walters,E.E. (1999). Lifetime comorbidities between social phobia and mood disorders in the US National Comorbidity Survey. *Psychol. Med.* 29, 555-567.

Kessler,R.C., Stang,P.E., Wittchen,H.U., Ustun,T.B., Roy-Burne,P.P., and Walters,E.E. (1998). Lifetime panic-depression comorbidity in the National Comorbidity Survey. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 801-808.

Kim,J.M., Stewart,R., Kang,H.J., Kim,S.W., Shin,I.S., Kim,H.R., Shin,M.G., Kim,J.T., Park,M.S., Cho,K.H., and Yoon,J.S. (2013a). A longitudinal study of SLC6A4 DNA promoter methylation and poststroke depression. *J. Psychiatr. Res.* 47, 1222-1227.

Kim,J.M., Stewart,R., Kang,H.J., Kim,S.Y., Kim,S.W., Shin,I.S., Park,M.S., Kim,H.R., Shin,M.G., Cho,K.H., and Yoon,J.S. (2013b). A longitudinal study of BDNF promoter methylation and genotype with poststroke depression. *J. Affect. Disord.* 149, 93-99.

Kirchheiner,J., Nickchen,K., Bauer,M., Wong,M.L., Licinio,J., Roots,I., and Brockmoller,J. (2004). Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol. Psychiatry* 9, 442-473.

Kleimann,A., Kotsiari,A., Sperling,W., Groschl,M., Heberlein,A., Kahl,K.G., Hillemacher,T., Bleich,S., Kornhuber,J., and Frieling,H. (2015). BDNF serum levels and promoter methylation of BDNF exon I, IV and VI in depressed patients receiving electroconvulsive therapy. *J. Neural Transm. (Vienna.)* 122, 925-928.

Kohli,M.A., Lucae,S., Saemann,P.G., Schmidt,M.V., Demirkan,A., Hek,K., Czamara,D., Alexander,M., Salyakina,D., Ripke,S., Hoehn,D., Specht,M., Menke,A., Hennings,J., Heck,A., Wolf,C., Ising,M., Schreiber,S., Czisch,M., Muller,M.B., Uhr,M., Bettecken,T., Becker,A., Schramm,J., Rietschel,M., Maier,W., Bradley,B., Ressler,K.J., Nothen,M.M., Cichon,S., Craig,I.W., Breen,G., Lewis,C.M., Hofman,A., Tiemeier,H., van Duijn,C.M., Holsboer,F., Muller-Myhsok,B., and Binder,E.B. (2011). The neuronal transporter gene SLC6A15 confers risk to major depression. *Neuron* 70, 252-265.

Kraft,J.B., Slager,S.L., McGrath,P.J., and Hamilton,S.P. (2005). Sequence analysis of the serotonin transporter and associations with antidepressant response. *Biol. Psychiatry* 58, 374-381.

Kriston,L. and von Wolff,A. (2011). Not as golden as standards should be: interpretation of the Hamilton Rating Scale for Depression. *J. Affect. Disord.* 128, 175-177.

Kupfer,D.J. (1991). Long-term treatment of depression. *J. Clin. Psychiatry* 52 *Suppl*, 28-34.

Lam,L.L., Emberly,E., Fraser,H.B., Neumann,S.M., Chen,E., Miller,G.E., and Kobor,M.S. (2012). Factors underlying variable DNA methylation in a human community cohort. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 109 *Suppl* 2, 17253-17260.

Lasky-Su, J.A., Faraone, S.V., Glatt, S.J., and Tsuang, M.T. (2005). Meta-analysis of the association between two polymorphisms in the serotonin transporter gene and affective disorders. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 133B, 110-115.

Laux, G. and Möller, H.J. (2011). *Memorix Psychiatrie und Psychotherapie*. Thieme).

Lesch, K.P., Balling, U., Gross, J., Strauss, K., Wolozin, B.L., Murphy, D.L., and Riederer, P. (1994). Organization of the human serotonin transporter gene. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 95, 157-162.

Lesch, K.P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S.Z., Greenberg, B.D., Petri, S., Benjamin, J., Muller, C.R., Hamer, D.H., and Murphy, D.L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274, 1527-1531.

Lewis, C.M., Ng, M.Y., Butler, A.W., Cohen-Woods, S., Uher, R., Pirlo, K., Weale, M.E., Schosser, A., Paredes, U.M., Rivera, M., Craddock, N., Owen, M.J., Jones, L., Jones, I., Korszun, A., Aitchison, K.J., Shi, J., Quinn, J.P., Mackenzie, A., Vollenweider, P., Waeber, G., Heath, S., Lathrop, M., Muglia, P., Barnes, M.R., Whittaker, J.C., Tozzi, F., Holsboer, F., Preisig, M., Farmer, A.E., Breen, G., Craig, I.W., and McGuffin, P. (2010). Genome-wide association study of major recurrent depression in the U.K. population. *Am. J. Psychiatry* 167, 949-957.

Lopez-Leon, S., Janssens, A.C., Gonzalez-Zuloeta Ladd, A.M., Del-Favero, J., Claes, S.J., Oostra, B.A., and van Duijn, C.M. (2008). Meta-analyses of genetic studies on major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 13, 772-785.

Lotrich, F.E. and Pollock, B.G. (2004). Meta-analysis of serotonin transporter polymorphisms and affective disorders. *Psychiatr. Genet.* 14, 121-129.

Lötsch, J., Schneider, G., Reker, D., Parnham, M.J., Schneider, P., Geisslinger, G., and Doehring, A. (2013). Common non-epigenetic drugs as epigenetic modulators. *Trends Mol. Med.* 19, 742-753.

Maher, B. (2008). Personal genomes: The case of the missing heritability. *Nature* 456, 18-21.

Manal, M., Chandrasekar, M.J., Gomathi, P.J., and Nanjan, M.J. (2016). Inhibitors of histone deacetylase as antitumor agents: A critical review. *Bioorg. Chem.* 67, 18-42.

Manolio, T.A., Collins, F.S., Cox, N.J., Goldstein, D.B., Hindorff, L.A., Hunter, D.J., McCarthy, M.I., Ramos, E.M., Cardon, L.R., Chakravarti, A., Cho, J.H., Guttmacher, A.E., Kong, A., Kruglyak, L., Mardis, E., Rotimi, C.N., Slatkin, M., Valle, D., Whittemore, A.S., Boehnke, M., Clark, A.G., Eichler, E.E., Gibson, G., Haines, J.L., Mackay, T.F., McCarroll, S.A., and Visscher, P.M. (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461, 747-753.

- Marmorstein,N.R., Iacono,W.G., and McGue,M. (2012). Associations between substance use disorders and major depression in parents and late adolescent-emerging adult offspring: an adoption study. *Addiction* *107*, 1965-1973.
- Mathers,C., Fat,D.M., Boerma,J.T., and World Health Organization (2008). *The Global Burden of Disease: 2004 Update*. World Health Organization).
- McGowan,P.O., Sasaki,A., D'Alessio,A.C., Dymov,S., Labonte,B., Szyf,M., Turecki,G., and Meaney,M.J. (2009). Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat. Neurosci.* *12*, 342-348.
- McGuffin,P., Cohen,S., and Knight,J. (2007). Homing in on depression genes. *Am. J. Psychiatry* *164*, 195-197.
- Melas,P.A., Rogdaki,M., Lennartsson,A., Bjork,K., Qi,H., Witasp,A., Werme,M., Wegener,G., Mathe,A.A., Svenningsson,P., and Lavebratt,C. (2012). Antidepressant treatment is associated with epigenetic alterations in the promoter of P11 in a genetic model of depression. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* *15*, 669-679.
- Melas,P.A., Wei,Y., Wong,C.C., Sjöholm,L.K., Aberg,E., Mill,J., Schalling,M., Forsell,Y., and Lavebratt,C. (2013). Genetic and epigenetic associations of MAOA and NR3C1 with depression and childhood adversities. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* *16*, 1513-1528.
- Menke,A. and Binder,E.B. (2014). Epigenetic alterations in depression and antidepressant treatment. *Dialogues. Clin. Neurosci.* *16*, 395-404.
- Menke,A., Klengel,T., and Binder,E.B. (2012). Epigenetics, depression and antidepressant treatment. *Curr. Pharm. Des* *18*, 5879-5889.
- Merkel,A., Heuser,I., and Bajbouj,M. (2009). Antidepressant electroconvulsive therapy: mechanism of action, recent advances and limitations. *Exp. Neurol.* *219*, 20-26.
- Middeldorp,C.M., Sullivan,P.F., Wray,N.R., Hottenga,J.J., De Geus,E.J., van den Berg,M., Montgomery,G.W., Coventry,W.L., Statham,D.J., Andrews,G., Slagboom,P.E., Boomsma,D.I., and Martin,N.G. (2009). Suggestive linkage on chromosome 2, 8, and 17 for lifetime major depression. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* *150B*, 352-358.
- Mill,J. and Petronis,A. (2007). Molecular studies of major depressive disorder: the epigenetic perspective. *Mol. Psychiatry* *12*, 799-814.
- Möller,H.J., Laux,G., and Deister,A. (2009). *Duale Reihe Psychiatrie und Psychotherapie*. Thieme).
- Mueller,T.I., Leon,A.C., Keller,M.B., Solomon,D.A., Endicott,J., Coryell,W., Warshaw,M., and Maser,J.D. (1999). Recurrence after recovery from major depressive disorder during 15 years of observational follow-up. *Am. J. Psychiatry* *156*, 1000-1006.

Muglia,P., Tozzi,F., Galwey,N.W., Francks,C., Upmanyu,R., Kong,X.Q., Antoniadis,A., Domenici,E., Perry,J., Rothen,S., Vandeleur,C.L., Mooser,V., Waeber,G., Vollenweider,P., Preisig,M., Lucae,S., Muller-Myhsok,B., Holsboer,F., Middleton,L.T., and Roses,A.D. (2010). Genome-wide association study of recurrent major depressive disorder in two European case-control cohorts. *Mol. Psychiatry* 15, 589-601.

Myung,W., Lim,S.W., Kim,S., Kim,H., Chung,J.W., Seo,M.Y., Kim,J.W., Carroll,B.J., and Kim,D.K. (2013). Serotonin transporter genotype and function in relation to antidepressant response in Koreans. *Psychopharmacology (Berl)* 225, 283-290.

Nakamura,M., Ueno,S., Sano,A., and Tanabe,H. (2000). The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. *Mol. Psychiatry* 5, 32-38.

Nestler,E.J. (2014). Epigenetic mechanisms of depression. *JAMA Psychiatry* 71, 454-456.

Nohesara,S., Ghadirivasfi,M., Mostafavi,S., Eskandari,M.R., Ahmadkhaniha,H., Thiagalingam,S., and Abdolmaleky,H.M. (2011). DNA hypomethylation of MB-COMT promoter in the DNA derived from saliva in schizophrenia and bipolar disorder. *J. Psychiatr. Res.* 45, 1432-1438.

Odgerel,Z., Talati,A., Hamilton,S.P., Levinson,D.F., and Weissman,M.M. (2013). Genotyping serotonin transporter polymorphisms 5-HTTLPR and rs25531 in European- and African-American subjects from the National Institute of Mental Health's Collaborative Center for Genomic Studies. *Transl. Psychiatry* 3, e307.

Okada,S., Morinobu,S., Fuchikami,M., Segawa,M., Yokomaku,K., Kataoka,T., Okamoto,Y., Yamawaki,S., Inoue,T., Kusumi,I., Koyama,T., Tsuchiyama,K., Terao,T., Kokubo,Y., and Mimura,M. (2014). The potential of SLC6A4 gene methylation analysis for the diagnosis and treatment of major depression. *J. Psychiatr. Res.* 53, 47-53.

Olesen,J., Gustavsson,A., Svensson,M., Wittchen,H.U., and Jonsson,B. (2012). The economic cost of brain disorders in Europe. *Eur. J. Neurol.* 19, 155-162.

Olsson,C.A., Foley,D.L., Parkinson-Bates,M., Byrnes,G., McKenzie,M., Patton,G.C., Morley,R., Anney,R.J., Craig,J.M., and Saffery,R. (2010). Prospects for epigenetic research within cohort studies of psychological disorder: a pilot investigation of a peripheral cell marker of epigenetic risk for depression. *Biol. Psychol.* 83, 159-165.

Onishchenko,N., Karpova,N., Sabri,F., Castren,E., and Ceccatelli,S. (2008). Long-lasting depression-like behavior and epigenetic changes of BDNF gene expression induced by perinatal exposure to methylmercury. *J. Neurochem.* 106, 1378-1387.

Ormel,J., Petukhova,M., Chatterji,S., Aguilar-Gaxiola,S., Alonso,J., Angermeyer,M.C., Bromet,E.J., Burger,H., Demyttenaere,K., de,G.G., Haro,J.M., Hwang,I., Karam,E., Kawakami,N., Lepine,J.P., Medina-Mora,M.E., Posada-Villa,J., Sampson,N., Scott,K.,

Ustun,T.B., Von,K.M., Williams,D.R., Zhang,M., and Kessler,R.C. (2008). Disability and treatment of specific mental and physical disorders across the world. *Br. J. Psychiatry* 192, 368-375.

Otte,C. (2008). Incomplete remission in depression: role of psychiatric and somatic comorbidity. *Dialogues. Clin. Neurosci.* 10, 453-460.

Pal,S. and Tyler,J.K. (2016). Epigenetics and aging. *Sci. Adv.* 2, e1600584.

Parsey,R.V., Hastings,R.S., Oquendo,M.A., Hu,X., Goldman,D., Huang,Y.Y., Simpson,N., Arcement,J., Huang,Y., Ogden,R.T., Van Heertum,R.L., Arango,V., and Mann,J.J. (2006). Effect of a triallelic functional polymorphism of the serotonin-transporter-linked promoter region on expression of serotonin transporter in the human brain. *Am. J. Psychiatry* 163, 48-51.

Paslakis,G., Bleich,S., Frieling,H., and Deuschle,M. (2011). [Epigenetic mechanisms in major depression]. *Nervenarzt* 82, 1431-1438.

Perroud,N., Salzmann,A., Prada,P., Nicastro,R., Hoeppli,M.E., Furrer,S., Ardu,S., Krejci,I., Karege,F., and Malafosse,A. (2013). Response to psychotherapy in borderline personality disorder and methylation status of the BDNF gene. *Transl. Psychiatry* 3, e207.

Philibert,R., Madan,A., Andersen,A., Cadoret,R., Packer,H., and Sandhu,H. (2007). Serotonin transporter mRNA levels are associated with the methylation of an upstream CpG island. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 144B, 101-105.

Philibert,R.A., Beach,S.R., Gunter,T.D., Brody,G.H., Madan,A., and Gerrard,M. (2010). The effect of smoking on MAOA promoter methylation in DNA prepared from lymphoblasts and whole blood. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 153B, 619-628.

Philibert,R.A., Sandhu,H., Hollenbeck,N., Gunter,T., Adams,W., and Madan,A. (2008). The relationship of 5HTT (SLC6A4) methylation and genotype on mRNA expression and liability to major depression and alcohol dependence in subjects from the Iowa Adoption Studies. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 147B, 543-549.

Phillips,M.L. and Kupfer,D.J. (2013). Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. *Lancet* 381, 1663-1671.

Porcelli,S., Fabbri,C., and Serretti,A. (2012). Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with antidepressant efficacy. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 22, 239-258.

Portela,A. and Esteller,M. (2010). Epigenetic modifications and human disease. *Nat. Biotechnol.* 28, 1057-1068.

Poulter,M.O., Du,L., Weaver,I.C., Palkovits,M., Faludi,G., Merali,Z., Szyf,M., and Anisman,H. (2008). GABAA receptor promoter hypermethylation in suicide brain: implications for the involvement of epigenetic processes. *Biol. Psychiatry* 64, 645-652.

Powell,T.R., Smith,R.G., Hackinger,S., Schalkwyk,L.C., Uher,R., McGuffin,P., Mill,J., and Tansey,K.E. (2013). DNA methylation in interleukin-11 predicts clinical response to antidepressants in GENDEP. *Transl. Psychiatry* 3, e300.

Praschak-Rieder,N., Kennedy,J., Wilson,A.A., Hussey,D., Boovariwala,A., Willeit,M., Ginovart,N., Tharmalingam,S., Masellis,M., Houle,S., and Meyer,J.H. (2007). Novel 5-HTTLPR allele associates with higher serotonin transporter binding in putamen: a [(11)C] DASB positron emission tomography study. *Biol. Psychiatry* 62, 327-331.

Provenzi,L., Fumagalli,M., Sirgiovanni,I., Giorda,R., Pozzoli,U., Morandi,F., Beri,S., Menozzi,G., Mosca,F., Borgatti,R., and Montirosso,R. (2015). Pain-related stress during the Neonatal Intensive Care Unit stay and SLC6A4 methylation in very preterm infants. *Front Behav. Neurosci.* 9, 99.

Provenzi,L., Giorda,R., Beri,S., and Montirosso,R. (2016). SLC6A4 methylation as an epigenetic marker of life adversity exposures in humans: A systematic review of literature. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 71, 7-20.

Raabe,F.J. and Spengler,D. (2013). Epigenetic Risk Factors in PTSD and Depression. *Front Psychiatry* 4, 80.

Reimold,M., Smolka,M.N., Schumann,G., Zimmer,A., Wrase,J., Mann,K., Hu,X.Z., Goldman,D., Reischl,G., Solbach,C., Machulla,H.J., Bares,R., and Heinz,A. (2007). Midbrain serotonin transporter binding potential measured with [(11)C]DASB is affected by serotonin transporter genotype. *J. Neural Transm.* 114, 635-639.

Rietschel,M., Mattheisen,M., Frank,J., Treutlein,J., Degenhardt,F., Breuer,R., Steffens,M., Mier,D., Esslinger,C., Walter,H., Kirsch,P., Erk,S., Schnell,K., Herms,S., Wichmann,H.E., Schreiber,S., Jockel,K.H., Strohmaier,J., Roeske,D., Haenisch,B., Gross,M., Hoefels,S., Lucae,S., Binder,E.B., Wienker,T.F., Schulze,T.G., Schmal,C., Zimmer,A., Juraeva,D., Brors,B., Bettecken,T., Meyer-Lindenberg,A., Muller-Myhsok,B., Maier,W., Nothen,M.M., and Cichon,S. (2010). Genome-wide association-, replication-, and neuroimaging study implicates HOMER1 in the etiology of major depression. *Biol. Psychiatry* 68, 578-585.

Rihmer,Z. (2007). Suicide risk in mood disorders. *Curr. Opin. Psychiatry* 20, 17-22.

Ripke,S., Wray,N.R., Lewis,C.M., Hamilton,S.P., Weissman,M.M., Breen,G., Byrne,E.M., Blackwood,D.H., Boomsma,D.I., Cichon,S., Heath,A.C., Holsboer,F., Lucae,S., Madden,P.A., Martin,N.G., McGuffin,P., Muglia,P., Nothen,M.M., Penninx,B.P., Pergadia,M.L., Potash,J.B., Rietschel,M., Lin,D., Muller-Myhsok,B., Shi,J., Steinberg,S., Grabe,H.J., Lichtenstein,P., Magnusson,P., Perlis,R.H., Preisig,M., Smoller,J.W., Stefansson,K., Uher,R., Kutalik,Z., Tansey,K.E., Teumer,A., Viktorin,A., Barnes,M.R.,

Bettecken,T., Binder,E.B., Breuer,R., Castro,V.M., Churchill,S.E., Coryell,W.H., Craddock,N., Craig,I.W., Czamara,D., De Geus,E.J., Degenhardt,F., Farmer,A.E., Fava,M., Frank,J., Gainer,V.S., Gallagher,P.J., Gordon,S.D., Goryachev,S., Gross,M., Guipponi,M., Henders,A.K., Herms,S., Hickie,I.B., Hoefels,S., Hoogendijk,W., Hottenga,J.J., Iosifescu,D.V., Ising,M., Jones,I., Jones,L., Jung-Ying,T., Knowles,J.A., Kohane,I.S., Kohli,M.A., Korszun,A., Landen,M., Lawson,W.B., Lewis,G., Macintyre,D., Maier,W., Mattheisen,M., McGrath,P.J., McIntosh,A., McLean,A., Middeldorp,C.M., Middleton,L., Montgomery,G.M., Murphy,S.N., Nauck,M., Nolen,W.A., Nyholt,D.R., O'Donovan,M., Oskarsson,H., Pedersen,N., Scheftner,W.A., Schulz,A., Schulze,T.G., Shyn,S.I., Sigurdsson,E., Slager,S.L., Smit,J.H., Stefansson,H., Steffens,M., Thorgeirsson,T., Tozzi,F., Treutlein,J., Uhr,M., van den Oord,E.J., Van,G.G., Volzke,H., Weilburg,J.B., Willemsen,G., Zitman,F.G., Neale,B., Daly,M., Levinson,D.F., and Sullivan,P.F. (2013). A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 18, 497-511.

Roberts,S., Lester,K.J., Hudson,J.L., Rapee,R.M., Creswell,C., Cooper,P.J., Thirlwall,K.J., Coleman,J.R., Breen,G., Wong,C.C., and Eley,T.C. (2014). Serotonin transporter [corrected] methylation and response to cognitive behaviour therapy in children with anxiety disorders. *Transl. Psychiatry* 4, e444.

Roth,T.L., Lubin,F.D., Funk,A.J., and Sweatt,J.D. (2009). Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biol. Psychiatry* 65, 760-769.

Sabunciyan,S., Aryee,M.J., Irizarry,R.A., Rongione,M., Webster,M.J., Kaufman,W.E., Murakami,P., Lessard,A., Yolken,R.H., Feinberg,A.P., and Potash,J.B. (2012). Genome-wide DNA methylation scan in major depressive disorder. *PLoS. One.* 7, e34451.

Sales,A.J., Biojone,C., Terceti,M.S., Guimaraes,F.S., Gomes,M.V., and Joca,S.R. (2011). Antidepressant-like effect induced by systemic and intra-hippocampal administration of DNA methylation inhibitors. *Br. J. Pharmacol.* 164, 1711-1721.

Saß,H., Wittchen,H.U., and Zaudig,M. (1996). Skala zur Globalbeurteilung des Funktionsniveaus für DSM-IV. [Global Assessment of Functioning Scale.] Diagnostisches und Statistisches Manual psychischer Störungen. Hogrefe.

Schmauss,M. and Messer,T. (2010). [Treatment-resistant depression: part I: background and rationale options, prediction of antidepressant response, psychotherapeutic treatment]. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* 78, 45-57.

Schroeder,M., Hillemacher,T., Bleich,S., and Frieling,H. (2012). The epigenetic code in depression: implications for treatment. *Clin. Pharmacol. Ther.* 91, 310-314.

Schroeder,M., Krebs,M.O., Bleich,S., and Frieling,H. (2010). Epigenetics and depression: current challenges and new therapeutic options. *Curr. Opin. Psychiatry* 23, 588-592.

Serretti,A., Kato,M., De,R.D., and Kinoshita,T. (2007). Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with selective

serotonin reuptake inhibitor efficacy in depressed patients. *Mol. Psychiatry* 12, 247-257.

Sharpley,C.F., Palanisamy,S.K., Glyde,N.S., Dillingham,P.W., and Agnew,L.L. (2014). An update on the interaction between the serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress and depression, plus an exploration of non-confirming findings. *Behav. Brain Res.* 273, 89-105.

Shear,M.K. (2015). Clinical practice. Complicated grief. *N. Engl. J. Med.* 372, 153-160.

Shi,J., Potash,J.B., Knowles,J.A., Weissman,M.M., Coryell,W., Scheftner,W.A., Lawson,W.B., DePaulo,J.R., Jr., Gejman,P.V., Sanders,A.R., Johnson,J.K., Adams,P., Chaudhury,S., Jancic,D., Evgrafov,O., Zvinyatskovskiy,A., Ertman,N., Gladis,M., Neimanas,K., Goodell,M., Hale,N., Ney,N., Verma,R., Mirel,D., Holmans,P., and Levinson,D.F. (2011). Genome-wide association study of recurrent early-onset major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 16, 193-201.

Shioe,K., Ichimiya,T., Suhara,T., Takano,A., Sudo,Y., Yasuno,F., Hirano,M., Shinohara,M., Kagami,M., Okubo,Y., Nankai,M., and Kanba,S. (2003). No association between genotype of the promoter region of serotonin transporter gene and serotonin transporter binding in human brain measured by PET. *Synapse* 48, 184-188.

Shyn,S.I., Shi,J., Kraft,J.B., Potash,J.B., Knowles,J.A., Weissman,M.M., Garriock,H.A., Yokoyama,J.S., McGrath,P.J., Peters,E.J., Scheftner,W.A., Coryell,W., Lawson,W.B., Jancic,D., Gejman,P.V., Sanders,A.R., Holmans,P., Slager,S.L., Levinson,D.F., and Hamilton,S.P. (2011). Novel loci for major depression identified by genome-wide association study of Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression and meta-analysis of three studies. *Mol. Psychiatry* 16, 202-215.

Smeraldi,E., Serretti,A., Artioli,P., Lorenzi,C., and Catalano,M. (2006). Serotonin transporter gene-linked polymorphic region: possible pharmacogenetic implications of rare variants. *Psychiatr. Genet.* 16, 153-158.

Sokero,T.P., Melartin,T.K., Rytsala,H.J., Leskela,U.S., Lestela-Mielonen,P.S., and Isometsa,E.T. (2003). Suicidal ideation and attempts among psychiatric patients with major depressive disorder. *J. Clin. Psychiatry* 64, 1094-1100.

Spijker,J., de,G.R., Bijl,R.V., Beekman,A.T., Ormel,J., and Nolen,W.A. (2002). Duration of major depressive episodes in the general population: results from The Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study (NEMESIS). *Br. J. Psychiatry* 181, 208-213.

Stacey,D., Cohen-Woods,S., Toben,C., Arolt,V., Dannlowski,U., and Baune,B.T. (2013). Evidence of increased risk for major depressive disorder in individuals homozygous for the high-expressing 5-HTTLPR/rs25531 (L(A)) allele of the serotonin transporter promoter. *Psychiatr. Genet.* 23, 222-223.

Sullivan,P.F., De Geus,E.J., Willemsen,G., James,M.R., Smit,J.H., Zandbelt,T., Arolt,V., Baune,B.T., Blackwood,D., Cichon,S., Coventry,W.L., Domschke,K., Farmer,A., Fava,M., Gordon,S.D., He,Q., Heath,A.C., Heutink,P., Holsboer,F., Hoogendijk,W.J., Hottenga,J.J., Hu,Y., Kohli,M., Lin,D., Lucae,S., Macintyre,D.J., Maier,W., McGhee,K.A., McGuffin,P., Montgomery,G.W., Muir,W.J., Nolen,W.A., Nothen,M.M., Perlis,R.H., Pirlo,K., Posthuma,D., Rietschel,M., Rizzu,P., Schosser,A., Smit,A.B., Smoller,J.W., Tzeng,J.Y., van,D.R., Verhage,M., Zitman,F.G., Martin,N.G., Wray,N.R., Boomsma,D.I., and Penninx,B.W. (2009). Genome-wide association for major depressive disorder: a possible role for the presynaptic protein piccolo. *Mol. Psychiatry* 14, 359-375.

Sullivan,P.F., Neale,M.C., and Kendler,K.S. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am. J. Psychiatry* 157, 1552-1562.

Tadic,A., Muller-Engling,L., Schlicht,K.F., Kotsiari,A., Dreimuller,N., Kleimann,A., Bleich,S., Lieb,K., and Frieling,H. (2013). Methylation of the promoter of brain-derived neurotrophic factor exon IV and antidepressant response in major depression. *Mol. Psychiatry*.

Tansey,K.E., Guipponi,M., Hu,X., Domenici,E., Lewis,G., Malafosse,A., Wendland,J.R., Lewis,C.M., McGuffin,P., and Uher,R. (2013). Contribution of common genetic variants to antidepressant response. *Biol. Psychiatry* 73, 679-682.

Taylor,M.J., Sen,S., and Bhagwagar,Z. (2010). Antidepressant response and the serotonin transporter gene-linked polymorphic region. *Biol. Psychiatry* 68, 536-543.

TK-Pressestelle (2015). *Depressionsatlas, Arbeitsunfähigkeit und Arzneiverordnungen* Techniker Krankenkasse, Hamburg.

Toffoli,L.V., Rodrigues,G.M., Jr., Oliveira,J.F., Silva,A.S., Moreira,E.G., Pelosi,G.G., and Gomes,M.V. (2014). Maternal exposure to fluoxetine during gestation and lactation affects the DNA methylation programming of rat's offspring: modulation by folic acid supplementation. *Behav. Brain Res.* 265, 142-147.

Tsankova,N., Renthal,W., Kumar,A., and Nestler,E.J. (2007). Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 355-367.

Tsankova,N.M., Berton,O., Renthal,W., Kumar,A., Neve,R.L., and Nestler,E.J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat. Neurosci.* 9, 519-525.

Tully,E.C., Iacono,W.G., and McGue,M. (2008). An adoption study of parental depression as an environmental liability for adolescent depression and childhood disruptive disorders. *Am. J. Psychiatry* 165, 1148-1154.

Uddin,M., Sipahi,L., Li,J., and Koenen,K.C. (2013). Sex differences in DNA methylation may contribute to risk of PTSD and depression: a review of existing evidence. *Depress. Anxiety.* 30, 1151-1160.

Uher,R., Perroud,N., Ng,M.Y., Hauser,J., Henigsberg,N., Maier,W., Mors,O., Placentino,A., Rietschel,M., Souery,D., Zagar,T., Czerski,P.M., Jerman,B., Larsen,E.R., Schulze,T.G., Zobel,A., Cohen-Woods,S., Pirlo,K., Butler,A.W., Muglia,P., Barnes,M.R., Lathrop,M., Farmer,A., Breen,G., Aitchison,K.J., Craig,I., Lewis,C.M., and McGuffin,P. (2010). Genome-wide pharmacogenetics of antidepressant response in the GENDEP project. *Am. J. Psychiatry* 167, 555-564.

Unternaehrer,E., Luers,P., Mill,J., Dempster,E., Meyer,A.H., Staehli,S., Lieb,R., Hellhammer,D.H., and Meinschmidt,G. (2012). Dynamic changes in DNA methylation of stress-associated genes (OXTR, BDNF ) after acute psychosocial stress. *Transl. Psychiatry* 2, e150.

Ursini,G., Bollati,V., Fazio,L., Porcelli,A., Iacovelli,L., Catalani,A., Sinibaldi,L., Gelao,B., Romano,R., Rampino,A., Taurisano,P., Mancini,M., Di,G.A., Popolizio,T., Baccarelli,A., De,B.A., Blasi,G., and Bertolino,A. (2011). Stress-related methylation of the catechol-O-methyltransferase Val 158 allele predicts human prefrontal cognition and activity. *J. Neurosci.* 31, 6692-6698.

Uzun,S., Kozumplik,O., Topic,R., and Jakovljevic,M. (2009). Depressive disorders and comorbidity: somatic illness vs. side effect. *Psychiatr. Danub.* 21, 391-398.

Wang,D., Szyf,M., Benkelfat,C., Provencal,N., Turecki,G., Caramaschi,D., Cote,S.M., Vitaro,F., Tremblay,R.E., and Booij,L. (2012). Peripheral SLC6A4 DNA methylation is associated with in vivo measures of human brain serotonin synthesis and childhood physical aggression. *PLoS. One.* 7, e39501.

Wendland,J.R., Martin,B.J., Kruse,M.R., Lesch,K.P., and Murphy,D.L. (2006). Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol. Psychiatry* 11, 224-226.

Wijkstra,J., Lijmer,J., Burger,H., Geddes,J., and Nolen,W.A. (2013). Pharmacological treatment for psychotic depression. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* 11, CD004044.

Wittchen,H.U. and Hoyer,J. (2011). *Klinische Psychologie & Psychotherapie (Lehrbuch mit Online-Materialien)*. Springer Berlin Heidelberg).

Wittchen,H.U., Jacobi,F., Rehm,J., Gustavsson,A., Svensson,M., Jonsson,B., Olesen,J., Allgulander,C., Alonso,J., Faravelli,C., Fratiglioni,L., Jennum,P., Lieb,R., Maercker,A., van,O.J., Preisig,M., Salvador-Carulla,L., Simon,R., and Steinhausen,H.C. (2011). The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 21, 655-679.

Wittchen,H.U., Wunderlich,U., Gruschwitz,S., and Zaudig,M. (1997). SKID I. Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV. Achse I: Psychische Störungen. Interviewheft und Beurteilungsheft. Eine deutschsprachige, erweiterte Bearb. d. amerikanischen Originalversion des SKID I. Göttingen: Hogrefe).

Wolfersdorf, M. (2008). [Depression and suicide]. *Bundesgesundheitsblatt. Gesundheitsforschung. Gesundheitsschutz.* 51, 443-450.

Wray, N.R., Pergadia, M.L., Blackwood, D.H., Penninx, B.W., Gordon, S.D., Nyholt, D.R., Ripke, S., Macintyre, D.J., McGhee, K.A., Maclean, A.W., Smit, J.H., Hottenga, J.J., Willemsen, G., Middeldorp, C.M., De Geus, E.J., Lewis, C.M., McGuffin, P., Hickie, I.B., van den Oord, E.J., Liu, J.Z., Macgregor, S., McEvoy, B.P., Byrne, E.M., Medland, S.E., Statham, D.J., Henders, A.K., Heath, A.C., Montgomery, G.W., Martin, N.G., Boomsma, D.I., Madden, P.A., and Sullivan, P.F. (2012). Genome-wide association study of major depressive disorder: new results, meta-analysis, and lessons learned. *Mol. Psychiatry* 17, 36-48.

Wright, S.L. and Persad, C. (2007). Distinguishing between depression and dementia in older persons: neuropsychological and neuropathological correlates. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 20, 189-198.

Xia, Y.Y., Ding, Y.B., Liu, X.Q., Chen, X.M., Cheng, S.Q., Li, L.B., Ma, M.F., He, J.L., and Wang, Y.X. (2014). Racial/ethnic disparities in human DNA methylation. *Biochim. Biophys. Acta* 1846, 258-262.

Zhao, J., Goldberg, J., Bremner, J.D., and Vaccarino, V. (2013). Association between promoter methylation of serotonin transporter gene and depressive symptoms: a monozygotic twin study. *Psychosom. Med.* 75, 523-529.

Zimmerman, M., Martinez, J.H., Young, D., Chelminski, I., and Dalrymple, K. (2013). Severity classification on the Hamilton Depression Rating Scale. *J. Affect. Disord.* 150, 384-388.

Zimmermann, N., Zschocke, J., Perisic, T., Yu, S., Holsboer, F., and Rein, T. (2012). Antidepressants inhibit DNA methyltransferase 1 through reducing G9a levels. *Biochem. J.* 448, 93-102.

Zubenko, G.S., Maher, B., Hughes, H.B., III, Zubenko, W.N., Stiffler, J.S., Kaplan, B.B., and Marazita, M.L. (2003). Genome-wide linkage survey for genetic loci that influence the development of depressive disorders in families with recurrent, early-onset, major depression. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 123B, 1-18.

## 6.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Kodierung der Depression nach ICD-10 .....	2
Abb. 2. Verlauf der depressiven Erkrankung.....	3
Abb. 3. Lokalisation, Aufbau und Polymorphismen des Serotonin-Transporter-Gens..	18
Abb. 4. DNA-Methylierung an CpG-Dinukleotiden.....	22
Abb. 5. Studienablauf .....	34
Abb. 6. Lokalisation der CpG-Insel inkl. der untersuchten CpG-Dinukleotide des 5-HTT-Gens .....	38
Abb. 7. Bisulfit-Sequenzierung zur Bestimmung der Methylierung.....	41
Abb. 8. Flussdiagramm der rekrutierten Studienpatienten .....	46
Abb. 9. Altersverteilung der Studienpopulation (n=29) .....	48
Abb. 10. Kreisdiagramme zu Familienstand und Bildung (Schul- und Berufsabschluss) (n=29) .....	48
Abb. 11. Kreisdiagramme zur Anzahl der bisherigen depressiven Episoden und Anzahl der stationär-psychiatrischen Krankenhausaufenthalte sowie zu psychiatrischen Komorbiditäten (n=29).....	50
Abb. 12. Kreisdiagramme zur medikamentösen Vorbehandlung vor Studienbeginn ...	51
Abb. 13. Übersicht über die antidepressive Therapie der Studienpatienten nach Substanzgruppen.....	53
Abb. 14. Kreisdiagramme zum Schweregrad der Depression .....	54
Abb. 15. HAMD-21-Score im Prä-Post-Vergleich.....	54
Abb. 16. Genotyp-Verteilung.....	57
Abb. 17. HAMD-21-Score gruppiert nach Genotyp.....	57
Abb. 18. Gesamtdauer der Erkrankung nach Genotyp .....	57
Abb. 19. SLC6A4-Methylierungsgrad zu Studienbeginn (prä) und -ende (post) .....	59
Abb. 20. SLC6A4-Methylierung zu Studienbeginn gruppiert nach Genotyp .....	60
Abb. 21. SLC6A4-Methylierungsstatus zu Studienbeginn nach Geschlecht.....	61
Abb. 22. SLC6A4-Methylierungsstatus zu Studienbeginn und Alter .....	61
Abb. 23. Streudiagramme zur HAMD-21-Änderung in Abhängigkeit von der SLC6A4- Methylierung .....	62
Abb. 24. HAMD-21-Änderung im Wochenverlauf in Abhängigkeit vom SLC6A4- Methylierungsstatus.....	64
Abb. 25. SLC6A4-Methylierung zu Studienbeginn gruppiert nach Response (a) und Remission (b) .....	65
Abb. 26. Streudiagramme zur Änderung der SLC6A4-Methylierung und des HAMD-21-Scores .....	67
Abb. 27. Änderung der SLC6A4-Methylierung in Abhängigkeit von der Response .....	69
Abb. 28. Änderung der SLC6A4-Methylierung in Abhängigkeit von der Remission .....	71
Abb. 29. Änderung der SLC6A4-Methylierung in Abhängigkeit von der Psychopharmakotherapie .....	73
Abb. 30. Änderung der SLC6A4-Methylierung unter Therapie mit SSRI .....	74

### 6.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1. Übersicht gebräuchlicher antidepressiver Medikamente .....	9
Tab. 2. Nomenklatur der verwendeten CpG-Dinukleotide der Kontrollregion des 5- <i>HTT</i> -Gens .....	39
Tab. 3. Charakteristika der Studienpopulation .....	47
Tab. 4. <i>SLC6A4</i> -Methylierungsstatus .....	59
Tab. 5. Korrelation der Veränderung von <i>SLC6A4</i> -Methylierung und HAMD-21-Score	66

### 6.4 Abkürzungsverzeichnis

5-HTT	5-Hydroxytryptamin-Transporter (Serotonin-Transporter)
5-HTTLPR	5- <i>HTT</i> -linked polymorphic region
A	Adenin
APOE	Apolipoprotein E
BDI	Beck-Depressions-Inventar
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
bp	base pair (Basenpaar)
C	Cytosin
CI	confidence interval, Konfidenzintervall
CBT	cognitive behaviour therapy (kognitive Verhaltenstherapie)
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CpG	Cytosin-Phosphat-Guanin
CPSF3	cleavage and polyadenylation specific factor 3
CYP	Cytochrom P450
DALYs	disability-adjusted life years (behinderungsbereinigte Lebensjahre)
DGPPN	Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde
Dir.	Direktor
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRD4	dopamine receptor D4 (Dopamin-Rezeptor D4)
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKT	Elektrokrampftherapie
EWAS	epigenome-wide association study (epigenomweite Assoziationsstudie)
G	Guanin
GABA <sub>A</sub>	Type A gamma-aminobutyric acid receptor
GAF	global assessment of functioning (globale Erfassung des Funktionsniveaus)
GEPaD	Genetik und Epigenetik von Pharmako- und Psychotherapie bei akuter und rezidivierender Depression
GNB3	G protein subunit beta 3 ( $\beta$ -Untereinheit eines G Proteins)
GRCh37	Genome Reference Consortium Human genome build 37
GWAS	genome-wide association study (genomweite Assoziationsstudie)
HAMD-21	Hamilton-Depressionsskala in der Version mit 21 Items

HpaII	type II restriction enzyme of <i>Haemophilus parainfluenzae</i>
HTR1A	5-hydroxytryptamine receptor 1A (Serotonin-Rezeptor 1A)
HTR2A	5-hydroxytryptamine receptor 2A (Serotonin-Rezeptor 2A)
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10
IPT	interpersonal psychotherapy (interpersonelle Psychotherapie)
LASS2	ceramide synthase 2 (Ceramid-Synthase 2)
Ltg.	Leitung
M	Mittelwert, arithmetisches Mittel
MANOVA	multivariate analysis of variance (multivariate Varianzanalyse)
MAO <sub>A</sub>	monoamine oxidase A (Monoaminoxidase A)
MAOI	Monoaminoxidase-Inhibitoren
MDD	major depressive disorder (unipolare Depression)
MRA	Melatonin-Rezeptor-Agonist
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
NaSSA	noradrenerge und spezifisch serotonerge Antidepressiva
NDRI	selektive Noradrenalin-Dopamin-Rückaufnahme-Inhibitoren
NSMRI	nichtselektive Monoamin-Rückaufnahme-Inhibitoren
P11	S100 calcium binding protein A10
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Ketten-Reaktion)
PRIMA1	proline rich membrane anchor 1
SD	standard deviation (Standardabweichung)
SKID-I	strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV, Achse I
SLC6A3	solute carrier family 6 member 3 (Dopamin-Transporter)
SLC6A4	solute carrier family 6 member 4 (Serotonin-Transporter)
SLC6A15	solute carrier family 6 member 15 (Aminosäure-Transporter)
SNP	single nucleotide polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)
SNRI	selektive Serotonin-/Noradrenalin-Rückaufnahme-Inhibitoren
SSRI	selektive Serotonin-Rückaufnahme-Inhibitoren
STin2	serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region
STK32C	Serin/Threonin-Kinase 32C
T	Thymin
TK	Techniker Krankenkasse
TPH1	Tryptophan-Hydroxylase 1
TZA	tri-/tetrazyklische Antidepressiva
UCSC	University of California, Santa Cruz
VNTR	variable number of tandem repeats
WDR26	WD repeat domain 26
ZBTB20	zinc finger and BTB domain containing 20
ZNF263	zinc finger protein 263
z.T.	zum Teil

## Danksagung

An erster Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Deckert, Direktor der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie des Universitätsklinikums Würzburg für die Überlassung des Themas dieser Dissertation. Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Dr. med. Katharina Domschke, die mir diese Arbeit in Ihrer Arbeitsgruppe ermöglicht hat, für ihre stets präzise und motivierende Betreuung. Durch die eigenverantwortliche Durchführung der Studie konnte ich interessante Erfahrungen in der klinischen Forschung sammeln. Für die Einarbeitung möchte ich mich bei Sabine Meininger bedanken, die mich in die klinischen Abläufe der Studie eingewiesen und mir viele Tipps zum Führen von Patientengesprächen gegeben hat. Mein Dank gilt ferner allen Ärzten, Psychologen und Mitarbeitern des Pflegepersonals, die an der Studie beteiligt waren. Insbesondere danke ich auch allen Studienpatienten für ihr Vertrauen und ihre Mitarbeit. Ich weiß ihren Beitrag zur Forschung trotz der eigenen gesundheitlichen Probleme zu schätzen und bin dankbar für das was ich von ihnen vor allem zum Krankheitsbild der Depression und über Kommunikation lernen durfte.

Außerdem möchte ich allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe "Funktionelle Genomik" meinen Dank aussprechen. Insbesondere danke ich Christiane Ziegler und Carola Gagel in Kooperation mit Frau Schwarte für die Weiterverarbeitung der Blutproben und ihre Beratung bei allen Fragen zur Laboranalytik. Auch danke ich Marina Mahr, die mir bei jeglichen Problemen mit Rat und Tat zur Seite stand, sowie Maximilian Geiger für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung. Des Weiteren bedanke ich mich bei Saskia Stonawski für ihr Engagement bei der Übernahme der zukünftigen Betreuung der Studie.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich in allen Phasen meines Studiums sowie der Dissertation unterstützt hat sowie meinem Freund Jens Behrendt, der mir immer geduldig zur Seite stand.

# Lebenslauf

## Anna Marlene Kropp

---

- Approbation als Ärztin 11/2016
- Studium der Humanmedizin, 2011-2016  
Julius-Maximilians Universität, Würzburg  
und Goethe-Universität, Frankfurt am Main
- Studium der Biomedizin (M.Sc.), 2009 - 2011  
Julius-Maximilians Universität, Würzburg
- Studium der Biomedizin (B.Sc.), 2006 - 2009  
Julius-Maximilians Universität, Würzburg
- Georg-Büchner-Gymnasium, Bad Vilbel 1997-2006

Frankfurt am Main, 07.07.2017

Anna Marlene Kropp