Universität Ulm
Institut für Naturheilkunde und Klinische Pharmakologie
Leiter Prof. Dr. Thomas Simmet

Zusammenhang zwischen *NET1287*- und *MAOA*-Polymorphismen und emotionalen Verarbeitungsprozessen im Scrambled Sentences Test

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Marlene Veser
Geb. in Heidelberg
2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Julia C. Stingl

2. Berichterstatter: Prof. Dr. phil. Dipl.-Psych. Georg Grön

Tag der Promotion: 29.10.2015

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis III

1 Einleitung 1

1.1 Scrambled Sentences Task 2
1.2 *MAO*-Polymorphismus 2
1.3 *SLC6A2*-Polymorphismus 3
1.4 Zielsetzung der Arbeit 4

2 Material und Methoden 5

2.1 Studiendesign 5
2.2 Probandenauswahl 5
2.2.1 Einschlusskriterien 5
2.2.2 Ausschlusskriterien 6
2.3 Material 6
2.3.1 Arbeitsgeräte 6
2.3.2 Reagenzien 7
2.3.3 Primersequenzen 8
2.4 Methoden 8
2.4.1 DNA-Extraktion mittels QuiAmp DNA Mini Kit 8
2.4.2 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) 9
2.4.3 Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) 9
2.4.4 Gelelektrophorese 10
2.4.5 Nachweis des NET 1287bp Polymorphismus (*SLC6A2* c.1287G>A) 11
2.4.6 Nachweis des *MAOA*-VNTR-Polymorphismus 13
2.4.7 Wentzlaff Scrambled Sentences Task (SST) 15
2.4.8 Fragebogen 15
2.4.9 Datenanalyse 16

3 Ergebnisse 17
3.1 Stichprobenanalyse, Fragebogen und Genotypen 17
3.1.1 Demographische Daten 17
3.1.2 Korrelation Fragebogen und Genotypen 17
3.1.3 Korrelation der Variablen Alter, Geschlecht etc. und Genotypen 17
3.2 Ergebnisse im Scrambled Sentences Task 19
3.2.1 Durchgang ohne zu merkende Zahl (ohne sog. „Load“) 19
3.2.2 Durchgang mit zu merkender Zahl (mit sog. „Load“) 23

4 Diskussion 24
4.1 Form der Arbeit 24
4.2 Inhalt der Arbeit 26
4.2.1 Scrambled Sentences Task 26
4.2.2 *MAOA*-Polymorphismus 31
4.2.3 *SLC6A2*-Polymorphismus c.1287G>A 34

5 Zusammenfassung 38
6 Literaturverzeichnis 40

Danksagung 53
Eidesstattliche Erklärung 54

Abkürzungsverzeichnis

ADS	Allgemeine Depressionsskala
CES-D	Center for Epidemiologic Studies Depression Scale
DAS	Dysfunctional attitude scale
dbSNP	Single Nucleotide Polymorphism Database
DHPG	Dihydroxyphenylglycol
DLPFC	Dorsolateraler präfrontaler Kortex
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
fMRI	functional magnet resonance imaging
HGVS	Human Genome Variation Society
ICD	International Classification of Mental and Behavioural Disorders
NaSSA	Noradrenalin-Serotonin-spezifisches Antidepressivum
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NNRI	Nichtselektiver Noradrenalin-Reuptake Inhibitor
MAO	Monoaminooxidase
MAO-A	Monoaminooxidase A
MAO-B	Monoaminooxidase B
MAO-I	Monoaminooxidase-Inhibitor
MD	Major Depression
MHPG	3-Methoxy-4-Hydroxyphenylglycol
MRI	Magnet resonance imaging
OFC	Orbitofrontaler Kortex
PCR	Polymerase Chain Reaction
PNS	Peripheres Nervensystem
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
SLC6A2	Solute Carrier Family 6 Member 2
SNP	Single Nucleotide Polymorphismus
SNRI	Selektiver Noradrenalin-Reuptake Inhibitor
SSRI	Selektiver Serotonin-Reuptake Inhibitor
SST	Scrambled Sentences Task
SSTscore	unterschiedlicher prozentualer Score der negativen Sätze im SST: Prozentsatz der negativen Sätze im Load-Durchgang minus des Prozentsatzes der negativen Sätze im Non-Load-Durchgang
TPJ	Temporal-parietaler Übergang

vACC	Ventraler anteriorer cingulärer Kortex
vmPFC	ventromedialer Präfrontaler Kortex
VNTR	Variable Number Tandem Repeat
VLPFC	Ventrolateraler präfrontaler Kortex
WBSI	White Bear suppression inventory
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

In der Annahme, dass dem Krankheitsbild Depression eine genetische Veranlagung zu Grunde liegt, die in Zusammenwirken mit spezifischen Umwelteinflüssen zum Ausbruch der Erkrankung führt, wurden bereits zahlreiche Ansätze zur Entdeckung dieser Verankerung in unserem Genom beschrieben. Sicher ist momentan, dass es nicht ein einzelnes Depressionen verursachendes Gen gibt, sondern ein multifaktorielles Geschehen zur Manifestation einer Depression führt.

Um den aktuellen Gemütszustand von Patienten zu erfassen und daraus abgeleitet die Diagnose „Depression“ stellen zu können, werden in der Klinik vor allem Fragebögen, sog. Rating Scales verwendet. Diese spiegeln allerdings nur den aktuellen Zustand wider, nicht jedoch die Veranlagung der Untersuchten zur Ausbildung eines solchen Zustandes, z.B. können Patienten mit Depression, die sich momentan in Remission befinden, vollkommen unauffällige Rating Scales erreichen. Bisher wurden kaum Tests entwickelt, um Depressionen empirisch zu erfassen oder zu untersuchen. Gleiches gilt für die Forschung: Sollen depressive Merkmale im Rahmen einer Studie erfasst werden, kommen Fragebögen zum Einsatz (z.B. Deckert et al., 1999; Brummet et al., 2007; Soliman et al., 2010; Serretti et al., 2002; Domschke et al., 2007; Yu et al., 2005; Kim et al., 2006; Min et al., 2009; Yoshida et al., 2004; Haenisch et al., 2008; Ryu et al., 2004; Zill et al., 2002; Owen et al., 1999; Inoue et al., 2007). Hierbei bleibt allerdings die Vulnerabilität aller Probanden für Depression durch negative Verarbeitungsprozesse unbeachtet.

In der medikamentösen Therapie der depressiven Erkrankung findet man unter anderem Präparate, die durch Blockade verschiedener Enzyme oder Wiederaufnahmemechanismen in die Neurotransmitterhomöostase des ZNS eingreifen. Hierbei spielt unter anderem das noradrenerge System eine Rolle (Ressler and Nemeroff, 1999; Baghai et al., 2006).

1.1 Scrambled Sentences Task

Der Scrambled Sentences Task (SST) wurde entwickelt, um unterschwellige depressive Merkmale bei aktuell nicht-depressiven Personen aufzuspüren und zu messen. Dieser Test unterscheidet sich somit von den meisten anderen in der Psychiatrie und der Forschung gängigen Tests, die sich in aller Regel auf den aktuellen Depressionsstatus des Patienten beziehen und nicht auf dessen Veranlagung dazu. Dem Test liegt die Annahme zugrunde, dass Personen mit Veranlagung zu depressiven Störungen negative Gedanken aktiv unterdrücken. Diese Unterdrückung ist ein aktiver Verarbeitungsprozess, der durch Ablenkung oder Stress gestört werden kann. Somit gilt die Unterdrückung negativer Gedanken als Faktor für Vulnerabilität für Depression.

Beim SST wird den Probanden eine Auswahl an Worten präsentiert, die diese in einem gewissen Zeitfenster zu einem korrekten Satz umstellen sollen. Es ist dabei möglich sowohl einen Satz mit positiver Bedeutung als auch einen Satz mit negativer Bedeutung zu bilden. In der Regel vermeiden Gesunde Sätze mit negativer Aussage. So liegt der Durchschnitt der negativ geprägten Sätze bei etwa 30% aller gebildeten Sätze. Eine latente Neigung zur Depression erhöht diesen Anteil und er steigt sogar noch, wenn die Probanden zusätzlich die Aufgabe bekommen sich z.B. Zahlen oder Wörter zu merken. Dies trat v.a. bei Probanden ein, die bereits in der Vergangenheit an Depression erkrankt waren. Wenzlaff erklärt diesen Effekt mit der Überlegung, dass eine zusätzliche Denkaufgabe die kognitiven Fähigkeiten des Probanden negative Gedanken zu unterdrücken aushebelt [Wenzlaff und Bates, 1998].

1.2 *MAO*-Polymorphismus

Monoaminooxidasen sind Proteine der äußeren Mitochondrienmembran in Neuronen und sind hauptverantwortlich für den enzymatischen Abbau von biogenen Aminen [Ressler und Nemeroff, 1999].

Fehlt das kodierende Gen und dadurch das Enzym, macht sich das im Verhalten bemerkbar. Brunner beschrieb 1993 den Zusammenhang einer Mutation im *MAOA*-Gen in einer holländischen Familie mit auffällig aggressivem Verhalten bei betroffenen männlichen Familienmitgliedern [Brunner et al., 1993]. 1995 zeigte Cases in einem Tiermodel der *MAOA*-Defizienz, dass *MAOA*-knockout Mäuse

bereits früh auffällige Verhaltensmuster aufweisen. Das aggressive Verhalten erwachsener *MAOA*-knockout-Männchen ist dabei nicht Folge psychosozialer Stressoren sondern direkte Folge der MAO-A-Defizienz [Cases et al., 1995].
Nach Shih et al. ist das *MAOA*-Gen, welches bereits früh in der Entwicklung des Menschen gebildet wird und während der neurologischen Entwicklung eine entscheidende Rolle bei der enzymatischen Degradation von Serotonin und Noradrenalin spielt, ein potentieller Kandidat für die Ausprägung individueller Unterschiede in psychologischen Eigenschaften und psychiatrischen Erkrankungen [Shih, Chen, Ridd, 1999]. So beschreibt beispielsweise Alia-Klein den Zusammenhang niedriger cerebraler MAO-A-Aktivität mit erhöhtem Aggressivitätspotential bei Männern [Alia-Klein et al., 2008].
Sabol et al. zeigten bereits 1998 einen sog. Variable Number Tandem Repeat-Polymorphismus in der aufsteigenden Promotorregion des MAO-A-kodierenden Gens auf, welcher sich auf die Transkription der *MAOA* auswirkt. Hierdurch entstehen Allele mit hoher (*MAOA*-H) oder mit niedriger *MAOA*-Expression (*MAOA*-L) [Sabol et al., 1998]. Hochaktive Genotypen (*MAOA*-H/H) gehen mit einer erhöhten MAO-A-Aktivität einher und gelten unter anderem als Risikofaktor für die Entwicklung affektiver Störungen wie z.B. depressiven Episoden [Schulze et al., 2000].
Auf diesen Polymorphismus beziehen sich die Analysen in der vorliegenden Arbeit.

1.3 *SLC6A2*-Polymorphismus

Monoamine Neurotransmitter wie Noradrenalin oder auch Serotonin spielen eine Rolle sowohl in der Pathophysiologie als auch bei der medikamentösen Behandlung von Depression [Ressler und Nemeroff, 1999]. Im Hinblick auf die Rolle des Noradrenalin-Transporters (NET), auch bekannt als Solute Carrier Family 6 Member 2 (Genname *SLC6A2*), in der medikamentösen Behandlung von Depression scheint dieser Transporter bzw. das kodierende Gen ein vielversprechender Ansatzpunkt für die Analyse der Prädisposition affektiver Störungen zu sein. Er ist mitverantwortlich für die Wiederaufnahme des Neurotransmitters Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt in die präsynaptische Nervenendigung im menschlichen Gehirn. NET kann unter anderem durch

verschiedene nichttherapeutische Substanzen wie z.B. Kokain oder durch Antidepressiva wie Desipramin inhibiert werden [Gelernter, 1993].
Im NET-kodierenden Gen *SLC6A2* gibt es einen Polymorphismus mit Austausch der Basen G>A (*SLC6A2* c.1287G>A), welcher von Jönssen et al. im Jahr 1998 beschrieben und dessen Zusammenhang mit erhöhten 3-Methoxy-4-Hydroxyphenylglycol (MHPG)-Konzentrationen im Liquor aufgezeigt wurde. MHPG ist ein Hauptmetabolit der Monoamine wie z.B. Noradrenalin [Jönsson et al., 1998].
Dieser Polymorphismus (*SLC6A2* c.1287G>A) soll in der vorliegenden Arbeit weiter beleuchtet werden.

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Im Rahmen dieser Arbeit sollen mögliche Zusammenhänge zwischen den empirischen Dimensionen von Depressivität und Emotionaler Stabilität und den oben genannten funktionellen genetischen Polymorphismen untersucht werden.
Ziel war es mittels Genanalyse an gesunden Studienteilnehmern signifikante Unterschiede im Ergebnis des Scrambled Sentences Test in Bezug auf beide genetischen Polymorphismen zu erkennen, um Rückschlüsse auf die Vulnerabilität der Probanden für depressive Züge in Zusammenhang mit natürlichen genetischen Unterschieden schließen zu können. Zudem soll die Bedeutung des SST in der Erfassung von Vulnerabilität für Depression im Vergleich zu gängigen Fragebögen und unabhängig von den beschriebenen Polymorphismen deutlich gemacht werden.
Trotz intensiver Forschungsarbeit im Bereich der Pathophysiologie und der genetischen Grundlagen von Depression sind die genauen Mechanismen weitgehend unklar. Sowohl dem *MAOA*-VNTR- als auch dem Polymorphismus *SLC6A2* c.1287G>A, wird in der Literatur Einfluss auf affektive Reaktionen beigemessen. Mit dem Wissen um individuelle Unterschiede in der Metabolisierung vieler Arzneistoffe sind besonders im Hinblick auf die individualisierte medikamentöse Therapie bisher therapierefraktärer Depressionen neue Informationen und Ansätze für die Klinik wünschenswert.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Nach positivem Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm und schriftlicher Einverständniserklärung der eingeschlossenen Probanden, nach ausführlicher Aufklärung, wurde diese klinische Studie durchgeführt. Sie schließt Daten aus Fragebögen der Probanden, einem spezifischen psychiatrischen Test (SST) und den Genotypisierungen des Noradrenalin-Transporters sowie der Monoaminooxidase-A aus den Blutproben der Probanden ein.

Ziel dieser Studie ist die Untersuchung einer etwaigen Einflussnahme der genetischen Polymorphismen auf das Ergebnis des SST.

Die Durchführung des SST und die Erfassung der Fragebögen fanden in den Räumen der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Leimgrubenweg 16 in Ulm statt.

Die Genotypisierung wurde im Labor des Instituts für Naturheilkunde und Klinische Pharmakologie, Helmholtzstraße 20 in Ulm durchgeführt.

Für die Teilnahme bekamen die Probanden jeweils 2 Kinogutscheine als Aufwandsentschädigung.

2.2 Probandenauswahl

Für die Studie wurden 96 gesunde Probanden untersucht. Es wurden eingeschlossen:

- 50 Männer
- 46 Frauen

Die Probanden wurden von Oktober 2008 bis Januar 2009 rekrutiert und untersucht.

2.2.1 Einschlusskriterien

- Gesunde Probanden/-innen zwischen 18 und 50 Jahren.
- Weiße Europäer.

2.2.2 Ausschlusskriterien

- Vorbestehen einer neurologischen oder psychiatrischen Erkrankung einschließlich Depression.
- Einnahme von MAO-Hemmern, Antidepressiva oder anderweitiger psychotroper Medikamente.
- Alkohol- oder Medikamentenabusus.

2.3 Material

2.3.1 Arbeitsgeräte

Tab. 1 Übersicht der Arbeitsgeräte

Geräte	Hersteller
Pipette 0,1 µl-2,5 µl	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
Pipette 2 µl-20 µl	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
Pipette 20 µl-200 µl	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
Pipette 100 µl-1000 µl	Vaudaux-Eppendorf AG, Deutschland
Pipettenspitzen blau	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
Pipettenspitzen gelb	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
Pipettenspitzen weiß	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
Küvette 1500 µl	Vaudaux-Eppendorf AG; Deutschland
PCR Gefäße	Sarstedt AG & CO; USA
PCR Deckel	Sarstedt AG & CO; USA
Tischrüttler (Vortex-Genie 2)	Scientific Industries, Kanada
Zentrifuge	Hereaus Holding GmbH, Deutschland
Mikrokühlzentrifuge 1-15K	Sigma, Deutschland
Thermocycler	MJ-Research, Biozym, Deutschland
Inkubator	Heraeus Holding GmbH, Deutschland
Präzisionswaage	Sartorius, Deutschland
Gelelektrophorese-Kammer	Scientific Support, USA
Elektrophorese (Power PAC 300)	Scientific Support, USA
Thermomixer compact (ThermoStat plus)	Eppendorf, Deutschland

UV-Transluminator	Herolab GmbH, Deutschland
Photometer (Gene Quant)	Pharmacia Biotech, England

2.3.2 Reagenzien

Tab. 2 Übersicht der Reagenzien

Chemikalien	Hersteller
Primersequenzen	s. Kapitel 2.3.3.
dNTPs 2 mM	Invitrogen, Deutschland
$MgCl_2$ Lösung 50 mM	Invitrogen, Deutschland
10 x Puffer (-MgCl)	Invitrogen, Deutschland
Deaza GTP	Roche, Deutschland
Ampli Taq Polymerase 5 U/µl	Invitrogen, Deutschland
DMSO	Sigma, Deutschland
50 bp Gene Ruler (DNA-Marker)	MBI Fermentas, Litauen
Agarose (NEEO Ultra Qualität)	Roth, Deutschland
Ethidiumbromid 100mg/ml	Fluka, Schweiz
5 x TBE	5 x Stammlösung 54 g Tris, 27,5 g Borsäure, 20 ml 0,5 M EDTA (pH 8)
50 x TAE	242 g Tris, 57,1 ml Eisessig 96 %, 100 ml 0,5 M EDTA (pH 8), 1 l milliQ Wasser
Oligo (dt) 12-18 Primer	Invitrogen, Deutschland
SuperScriptII Reverse Transkriptase 200 U/µl	Invitrogen, Deutschland
dNTP Mix 10 mM	Roche, Deutschland

2.3.3 Primersequenzen

Tab. 3 Übersicht der Primersequenzen

NET-1287-f	5‘-TCC AGG GAG ACC CTA ATT CC-3‘
NET-1287-r	5’-TTG ACT TTA TTG AAA TGC GGC-3’
MAOaPT1	5’-ACA GCC TGA CCG TGG AGA AG-3’
MAOaPB1	5’-GAA CGG ACG CTC CAT TCG GA-3’

2.4 Methoden

2.4.1 DNA-Extraktion mittels QuiAmp DNA Mini Kit

Die Extraktion der DNA aus den Blutproben der Probanden wurde anhand des Protokolls des QuiAmp DNA Mini Kits durchgeführt.

Vor Beginn der DNA-Extraktion werden sowohl die Blutproben als auch die Puffer auf Raumtemperatur (15-25°C) erwärmt. Um die Leukozyten und Erythrozyten der Blutprobe zu lysieren gibt man zu 400 µl Probe je 400 µl Puffer. Anschließend fügt man 40 µl Protease zu und inkubiert den Ansatz nach kurzem Vortexen zehn Minuten in einem 56°C heißen Wasserbad, um Proteinverunreinigungen zu verringern. Nach der Inkubation wird der Ansatz kurz zentrifugiert, wodurch die Zellkerne und Mitochondrien verklumpen, diese werden durch Pufferzugabe gewaschen und resuspendiert.

Durch die Zugabe von 400 µl 100%igen Ethanols, wird die Ausfällung und Waschung der DNA erreicht. Anschließend wird die DNA durch die Zugabe von zweimalig 500 µl Puffer gewaschen und resuspendiert.

Zwischen den einzelnen Schritten wird das QuiAmp Spin Gefäß jeweils bei 8000 rpm eine Minute lang zentrifugiert, damit die Puffer und kleinere Zellbestandteile durch den Filter des Gefäßes hindurch wandern, die DNA aber im Filter hängen bleibt.

Bevor die letzten 400 µl Puffer zugegeben werden, wird einmalig bei 14000 rpm drei Minuten lang zentrifugiert, damit die DNA durch den Spin Gefäß-Filter wandert. Die isolierte DNA wird bei 4°C gelagert.

2.4.2 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion ist ein Amplifikationsverfahren für Nukleinsäuren und ermöglicht das Vervielfältigen von spezifischen DNA-Sequenzen in vitro. Das enzymabhängige Verfahren benötigt eine doppelsträngige DNA mit teilweise bekannter Sequenz, spezifische Primer-RNAs sowie einzelne Nukleosidtriphosphatmoleküle und eine hitzestabile Polymerase, die üblicherweise aus dem Bakterium Thermus aquaticus (Taq-Polymerase) isoliert wird. Die PCR erfolgt in mehreren Schritten und wird in einem sog. Thermocycler durchgeführt. Der erste Schritt der PCR besteht in der Denaturierung: die vorliegende DNA wird in dem hier durchgeführten Protokoll auf 94°C erwärmt, wodurch die Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Ketten der zu vervielfältigenden DNA gespalten werden und die Nukleinsäuren einzelsträngig vorliegen. Nach Abkühlen des Versuchansatzes auf 56°C wird ein erneutes Aneinanderbinden der Einzelstränge verhindert und die spezifischen Oligonukleotidprimer können an die entsprechenden komplementären Strangabschnitte binden (Annealing). Die Oligonukleotidprimer bestehen aus 20-30 Basenpaaren, binden spezifisch an die gewünschte zu amplifizierende Gensequenz in 5'→ 3'-Richtung und begrenzen so das sogenannte Amplikon.

Anschließend erfolgt die Synthese des neuen DNA-Stranges (Elongation). Dafür wird eine hitzebeständige DNA-Polymerase benötigt, die die Primer als Startnukleotide verwendet und die DNA-Sequenz bei 72°C verlängert. Der Anbau der dNTPs erfolgt hierbei immer in 5'→3'-Richtung.

Nach dem ersten PCR-Zyklus liegt nun die Verdopplung der zu vervielfältigenden DNA-Sequenz vor. Da diese Menge an DNA jedoch noch nicht für weitere Untersuchungen ausreicht, wird der Vorgang ab Erhitzen des Ansatzes zur Denaturierung der Doppelstränge bis zur Verlängerung der Sequenzen in 34 Zyklen wiederholt bis sich die Zielsequenz exponentiell vermehrt hat. Mehr als 40 Zyklen sollten in der Regel in keinem Protokoll erfolgen, da sonst unspezifische PCR-Produkte entstehen können.

2.4.3 Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP)

Um den Austausch einzelner Basen („single nucleotide polymorphism" = SNP) zu detektieren, werden die Amplifikationsprodukte der PCR durch Zusatz

eines Restriktionsenzyms „verdaut“. Dieses Restriktionsenzym schneidet den DNA-Strang, sobald es eine spezifische Sequenz von insgesamt vier Basenpaaren erkennt. In dem NET 1287 bp-Protokoll wurde als Restriktionsenzym Cfr13I verwendet, um den SNP G>A im Exon 9 des Gens *SLC6A2* c.1287G>A, mit der Sequenz GGNCC zu detektieren.

Schnittstelle: 5‘- G↓GNCC -3‘
3’- CCNG↓G -5’

Die nach Restriktion entstandenen DNA-Fragmente weisen somit je nach Genotyp unterschiedliche Längen auf, die mittels Gelelektrophese dargestellt werden können. Ein Fragment von 97 bp Länge findet sich beim 1287A-Genotyp und zwei Fragmente von 21 bp und 76 bp finden sich beim 1287G-Genotyp. Es gibt noch zwei weitere Schnittstellen für Cfr13I im Gen *SLC6A2.* Dies ist der Grund für die Entstehung von zwei weiteren Fragmenten von 113 bp und 31 bp Länge nach Zugabe von Cfr13I.
Die Tatsache der nach „Verdau“ erhaltenen unterschiedlich langen Fragmente wird als Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP) bezeichnet.

2.4.4 Gelelektrophorese

Die durch die PCR und RFLP hergestellten DNA-Fragmente können am besten mit Hilfe der Agarose-Gelelektrophorese nach ihrer Größe getrennt und dargestellt werden. Bei der Herstellung des Gels werden lange Fäden aus Agarosepolymeren zu einer Matrix vernetzt, die je nach Prozentzahl des Gels unterschiedlich große Poren bilden. Die Prozentzahl des Agarosegels variiert somit in Abhängigkeit von der Fragmentgröße der aufzutrennenden PCR- und Restriktionsfragmente. Je größer ein Fragment ist, umso kleiner sollte die Prozentzahl des Agarosegels gewählt werden. Ebenfalls abhängig von der Größe der Fragmente sind die angelegte Spannung, die Laufzeit und die unterschiedliche Geschwindigkeit, mit der die DNA-Fragmente durch die netzartige Polysaccharidstruktur des Agarosegels wandern.
Für die Elektrophorese werden 10 µl des PCR-Produkts oder 10 µl des über Nacht bei 37°C inkubierten PCR-Produkts des RFLP mit 2 µl Bromphenolblau in einer Mikrotiterplatte vermischt und in das Agarosegel eingebracht. Aufgrund seiner

hohen Zuckerkonzentration schafft der Bromphenolblaupuffer eine Erhöhung der Dichte des PCR-Produktes, sodass dieses in der Gelelektrophoresekammer leichter in die Taschen des Gels sinkt.
Um die Länge der DNA-Fragmente analysieren zu können, verwendet man einen standardisierten DNA-Marker (z.B. mit einer Basenpaarlänge von 50 bp oder 100 bp).
Mit Hilfe des interkalierenden Phenanthridin-Farbstoffs Ethidiumbromid können die DNA-Fragmente nach ihrer Wanderung durch das elektrische Feld unter UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert werden.

2.4.5 Nachweis des NET 1287bp Polymorphismus (*SLC6A2* c.1287G>A)

Noradrenalin (engl. Norepinephrine, NE) ist ein wichtiger Neurotransmitter des Sympathikus im peripheren Nervensystem (PNS) und im gesamten Gehirn zu finden. NET gehört wie der Serotonin- und der Dopamin-Transporter zu den Na^+/Cl^--abhängigen plasmamembranständigen Neurotransmittertransportern. Es handelt sich bei dem Transporter um ein 69 kD großes Transmembran-Protein aus 617 Aminosäuren mit 12 putativen Transmembrandomänen (TMD), einer großen extrazellulären Schleife zwischen TMD 3 und 4 mit 3 Glycosylierungsstellen und zytoplasmatischen N- und C-Endigungen [Bönisch und Brüss, 1994].
Das NET-kodierende Gen *SLC6A2* liegt auf dem langen Arm von Chromosom 16q12.2, hat eine Intron-Exon-Struktur und umfasst 45 kb [Brüss, Kunz, Lingen, Bönisch, 1993; Gelernter, 1993]. An Stelle 1287 im Exon 9 dieses Gens gibt es einen Polymorphismus mit Austausch der Basen G>A (*SLC6A2* c.1287G>A), welcher erstmals von Jönssen et al. im Jahr 1998 beschrieben wurde [Jönssen et al., 1998]. Dieses Protokoll wurde in der vorliegenden Arbeit angewendet.
Der *SLC6A2*-Polymorphismus trägt die Nummer rs5569 der Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) des National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Für 25 µl des PCR-Substrates wurden 2,5 µl 10x Puffer (Invitrogen), 0,5 µl $MgCl_2$ (50 mM), 2,5 µl dNTPs (2 mM), 18,35 µl H_2O (steril, bidest.), 0,5 µl Primer 8_F (10 µM), 0,5 µl Primer 8_R (10 µM) und 0,15 µl *AmpliTaq* Polymerase

(Invitrogen) angesetzt und in einem PCR-Gefäß je 2 µl der aufbereiteten genomischen DNA hinzugegeben.

Nach der PCR mit dem Cyclerprogramm 94°C für 2 min, 35x (94°C für 30 s - 56°C für 40 s - 72°C für 1 min), 72°C für 7 min und 4°C bis unendlich wurden 10 µl je Probe in eine Mikrotiterplatte zu 2 µl Bromphenolblaupuffer pipettiert, gemischt und auf 2%iges Agarosegel (70 ml 1xTBE + 1,4 g Agarose) aufgetragen.

Als Größenreferenz wurden 3 µl des 50 bp-DNA-Leiters (MBI Fermentas) in eine der Taschen zugefügt und eine Elektrophorese bei 100 Volt für 40 Minuten durchgeführt. Anschließend wurde in 2 ml 50x TAE + 98 ml H_2O mit 10 µl Ethidiumbromid gefärbt und das Ergebnis unter UV-Licht fotografiert werden.

Positive Proben hatten eine 241 bp-Bande und konnten mit dem Restriktionsenzym Cfr13l verdaut werden.

Hierfür wurden 15 µl des PCR-Produktes mit 5 µl des Enzympräparates (1,5 µl Bidest. Wasser, 2 µl Puffer Y* und 1,5 µl Cfr13l) versetzt und für 12 Stunden bei 37°C inkubiert.

Wiederum 10 µl dieses Produktes wurden mit 2 µl Bromphenolblaupuffer auf 3%iges Agarosegel (120 ml 1xTBE + 3,6 g Agarose) neben 3 µl des 50 bp-DNA-Leiters (MBI Fermentas) aufgetragen und eine Elektrophorese bei 100 Volt für 120 Minuten gestartet. Anschließend wurde erneut in 2 ml 50xTAE + 98 ml H_2O mit 10 µl Ethidiumbromid für 20 Minuten gefärbt und das Ergebnis unter UV-Licht fotografiert.

Tab. 4: Auswertung der Gelektrophorese zum Polymorphismus *SLC6A2* c. 1287 G>A

Genotyp	G/G	G/A	A/A
Codierung	0	1	2
Muster (bp)	113 - 76 31 21	113 97 76 31 21	113 97 - 31 -

2.4.6 Nachweis des *MAOA*-VNTR-Polymorphismus

Man unterscheidet bei Säugetieren zwei Isoenzyme der Monoaminooxidase mit unterschiedlicher Substratspezifität: Monoaminooxidase A (MAO-A) für die Desaminierung von Serotonin und Noradrenalin und Monoaminooxidase B (MAO-B) für die Desaminierung von Dopamin und Histamin. In dieser Arbeit liegt der Fokus ausschließlich auf MAO-A.

Das MAO-A-kodierende Gen *MAOA* liegt auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms Xp11.23 und wird somit X-chromosomal vererbt. In der aufsteigenden Promotorregion von *MAOA* findet sich in 1,2 kb Entfernung ein sog. Variable Number Tandem Repeat-Polymorphismus (VNTR-Polymorphismus) [Sabol et al., 1998].

Hierbei handelt es sich um tandemartige Wiederholungen einer bestimmten Sequenz sog. Repeats, z.B. Wiederholungssequenzen wie CATCATCAT... Variabel ist dabei die Anzahl der Wiederholungen. Sabol et al. beschrieb 1998 den 30 bp umfassenden Polymorphismus in 3, 3.5, 4 oder 5 Kopien, der die Transkription der *MAOA* entscheidend beeinflusst. 3.5 oder 4 Repeats bewirken eine hohe *MAOA* Expression (*MAOA*-H), während 3 oder 5 Repeats mit einer niedrigen *MAOA* Expression (*MAOA*-L) assoziiert sind [Sabol et al., 1998]. Da die Wirkungsweise der Enzyme durch diesen Polymorphismus verändert wird, spricht man hier von einem sog. funktionellen Polymorphismus.

In dieser Arbeit wurde das Protokoll nach Sabol et al. zur Erfassung dieses VNTR-Polymorphismus verwendet.

Dieser trägt den Human Genome Variation Society-Namen *MAOA* c.-1241_-1212ACCGGCACCGGCACCAGTACCCGCACCAGT(3_5).

Für 40 µl des PCR-Substrates wurden 4,0 µl 10x Puffer (Invitrogen), 1,2 µl $MgCl_2$ (50 mM), 4,0 µl dNTPs (2 mM), 2,0 µl MAOaPT1 (10 µM), 2,0 µl MAOaPB1 (10 µM), 1,0 µl Taq-Polymerase, 23,8 µl H_2O (steril, bidest) und 2,0 µl DMSO zusammengeführt und in einem PCR-Gefäß je 2 µl der aufbereiteten genomischen DNA zugegeben.

Nach erfolgter PCR mit dem Cycler-Programm 94°C für 2 min, 32x (95°C für 1 min – 61°C für 1 min – 72°C für 1 min), 72°C für 7 min und 4°C bis unendlich wurden 10 µl des PCR-Produktes je Probe in einer Mikrotiterplatte zu 2 µl

Bromphenolblaupuffer pipettiert, auf 3%iges Agarosegel (70 ml 1xTBE + 2,1 g Agarose) neben 3 µl des 50 bp-DNA-Leiters (MBI Fermentas) aufgetragen und eine Elektrophorese bei 120 Volt für 120 Minuten gestartet.
Das Ergebnis wurde in 2 ml 50xTAE + 98 ml H_2O mit 10 µl Ethiudiumbromid für 20 Minuten gefärbt und anschließend unter UV-Licht fotografiert.

Tab. 5: Auswertung der Gelektrophorese zum *MAOA*-VNTR-Polymorphismus

Anzahl Repeats	2	3	3,5	4	5
Codierung	0	1	2	3	4
Muster (bp)	- - - - 291	- - - 321 -	- - 336 - -	- 351 - - -	381 - - - -

In dieser Arbeit wurden nur Allele mit 3, 4 oder 5 Repeats analysiert. Allele mit 4 und 5 Repeats wurden entsprechend der Studie von Deckert et al. (1999) als *MAOA*-H, die Allele mit 3 Repeats als *MAOA*-L benannt.

2.4.7 Wentzlaff Scrambled Sentences Task (SST)

Den Probanden wurde auf einem Computerbildschirm ein Mix aus jeweils sechs Wörtern (z.B. „scheint die Zukunft gut sehr schlecht“) für je drei Sekunden angezeigt (weiße Buchstaben auf schwarzem Hintergrund), die sie anschließend in einem Zeitfenster von jeweils 12 Sekunden zu einem korrekten Satz neu ordnen sollten. Ein Kreuz in der Mitte des Bildschirmes kündigte den nächsten Stimulus an. Für den neuen Satz sollten nur fünf der sechs möglichen Worte verwendet werden, wobei das außer Achtgelassene Wort die Bedeutung des Satzes bestimmt. Die zwei möglichen Sätze haben entgegengesetzte emotionale Aussagen: während der eine Satz positiv/optimistisch ist („Die Zukunft scheint sehr gut.“), ist die andere Möglichkeit eher negativ/pessimistisch („Die Zukunft scheint sehr schlecht.“). Die Aufgabe besteht darin in der vorgegebenen Zeit so viele grammatikalisch korrekte Sätze wie möglich neu zu ordnen und auf ein Blatt Papier zu notieren, unabhängig von deren positiven bzw. negativen Aussage. Die Teilnehmer dieses Testes wurden darauf hingewiesen schnell zu arbeiten, Fehler nicht zu korrigieren und so viele Sätze wie möglich zu vervollständigen. Die insgesamt 40 Sätze wurden in zwei Blöcken zu je 20 Sätzen in willkürlicher Reihenfolge präsentiert, im ersten Block ohne und im zweiten Block mit sog. „cognitive load“: vor dem zweiten Durchgang wurde den Probanden eine neunstellige Zahl auf dem Bildschirm präsentiert, die sie sich einprägen und während des weiteren Tests merken sollten. Nach diesem Block sollten sie diese Zahl korrekt niederschreiben. Das Verhältnis der negativen Sätze zu den insgesamt korrekt gebildeten Sätzen stellt den Test Score dar.

2.4.8 Fragebogen

Die „Allgemeine Depressionsskala“ (ADS, Hautzinger & Bailer, 1993) ist die deutsche Version des „Center for Epidemiologic Studies Depression Scale“ (CES-D; Radloff, 1997). Dieser selbstständig auszufüllende Fragebogen bezieht sich auf Störungen der Stimmungslage innerhalb der letzten Woche und erfasst in 29 Aussagen wie „Haben Sie sich die meiste Zeit des Tages über traurig, niedergeschlagen oder deprimiert gefühlt?“ Gefühle der Hilflosigkeit, Wertlosigkeit, Hoffnungslosigkeit, Appetitlosigkeit, Schuldgefühle und Schlafstörungen.

Die Punkteverteilung sieht hier folgendermaßen aus: Die Antwortmöglichkeit „selten“ ergibt 0 Punkte, „manchmal“ 1 Punkt, „öfters“ 2 Punkte und „meistens“ entspricht 3 Punkten. Je höher die Gesamtpunktzahl, desto mehr depressive Symptome zeigte der Proband.

2.4.9 Datenanalyse

Die statistische Analyse wurde mit dem „R-Paket“ (www.r-project.org) anhand von zur Prüfung und Beurteilung generalisierter linear gemischter Modelle entwickelter Software durchgeführt (package lme 4, version 0.999375-31, Bates, 2007; Bates & Maechler, 2009). Die Anzahl positiver und die Anzahl negativer Sätze an der Gesamtzahl der Sätze wurden in einem Modell einer wiederholten Messung und logistischer Regression als abhängige Variable von „Load“, Geschlecht, Alter, *MAOA*- und *SLC6A2*-Genotyp analysiert. Hierbei wurden die Variablen zunächst separat voneinander untersucht. Zur Bestimmung des Einflusses von Störfaktoren wurde zusätzlich eine logistische Regression mehrerer Variablen durchgeführt. Die *MAOA*- und *SLC6A2*-Genotypen wurden nach Anzahl der hochaktiven Allele additiv kodiert. Von signifikanten Ergebnissen sprachen wir, sobald der p-Wert <0,05 erreichte.

Da wir sehr wenige *MAOA*-L homozygote Frauen (N=3) in unserer Stichprobe fanden und es keine heterozygoten Männer gibt, wurden homozygote und heterozygote Träger des niedrig aktiven *MAOA*-Allels (*MAOA*-L) in einer Gruppe zusammengefasst und mit der Ziffer -1 verschlüsselt.

Die Kodierung der Allele war dabei so, dass sich im Rahmen der Arbeit der Begriff „positive Statistik“ auf eine positive Verknüpfung der high-expression Gene mit einer höheren Anzahl an gemessenen negativen Sätzen bezieht.

3 Ergebnisse

3.1 Stichprobenanalyse, Fragebogen und Genotypen

3.1.1 Demographische Daten

Die Stichprobe dieser Arbeit umfasst insgesamt 96 Probanden, davon 46 Frauen und 50 Männer. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren der jüngste Proband 20 Jahre und der älteste Proband 45 Jahre alt. Das Durchschnittsalter lag bei 24,45 Jahren. Der überwiegende Anteil hatte einen Schulabschluss des Gymnasiums und war zu diesem Zeitpunkt Student.

3.1.2 Korrelation Fragebogen und Genotypen

Der durchschnittliche Wert der allgemeinen Depressivitätsskala der Teilnehmer lag bei 17,6±7,0 von maximal 87 Punkten im ADS-Fragebogen. Maximal wurden 40, minimal wurde 1 Punkt erreicht. Weder der *MAOA*-Genotyp noch der *SLC6A2 c. 1287 G>A*-Genotyp korrelierten signifikant mit diesem Score (t = −1,07 und 0,65 mit 91 d.f., p = 0,29 und 0,51, two-tailed).

3.1.3 Korrelation der Variablen Alter, Geschlecht etc. und Genotypen

In unserer Stichprobe gab es keinen Zusammenhang zwischen Geschlecht und *MAOA*-Genotyp (χ^2 = 0,55, d.f. = 1, p = 0,46, two-tailed). Wie erwartet bestand ebenfalls kein Zusammenhang zwischen Alter und *MAOA*-Genotyp (t = −0,78, d.f. = 94, p = 0,44, two-tailed).

Tab. 6: Genotypverteilung *MAOA*-VNTR-Polymorphismus

	MAOA-L/L	*MAOA*-L/H	*MAOA*-H/H
N	20	17	59
%	20,83	17,71	61,46
Frauen/Männer	3/17	17/0	26/33
Alter	25,0±4,6	25,2±4,7	24,4±4,3
ADS-Punktzahl	16,2±4,7	21,35±7,7	17,0±7,2

N: Anzahl der Allele; %: Anteil des Genotypen an der Gesamtverteilung in %; Alter und ADS-Punktzahl mit Standardabweichung; L = low (niedrige Expression), H = high (hohe Expression)

Es bestand auch beim *SLC6A2 c. 1287 G>A*-Genotyp keine Assoziation zu Alter (χ^2 = 2,32, d.f. = 2, *p* = 0,31, two-tailed) oder Geschlecht der Probanden (t = -0,34, d.f. = 94, p = 0,73, two-tailed).

Tab. 7: Genotypverteilung *SLC6A2 c. 1287 G>A*-Polymorphismus

	SLC6A2-G/G	*SLC6A2*-G/A	*SLC6A2*-A/A
N	43	37	16
%	44,79	38,54	16,67
Frauen/Männer	23/20	18/19	5/11
Alter	24,6±4,4	25,0±5,1	23,9±2,6
ADS-Punktzahl	17,26±7,1	17,7±7,5	18,31±5,9

N: Anzahl der Probanden mit besagtem Allel; %: Anteil des Genotypen an der Gesamtverteilung in %; Alter und ADS-Punktzahl mit Standardabweichung; G = Guanin, A = Adenin

Tab. 8: Allelverteilung *MAOA*-VNTR und *SLC6A2 c. 1287 G>A*

MAOA	L	H
N	57	135
%	29,7	70,3
SLC6A2	G	A
N	123	69
%	64,1	35,9

N: Anzahl der Probanden mit besagtem Allel; %: Anteil des Genotypen an der Gesamtverteilung in %; L = low (niedrige Expression), H = high (hohe Expression), G = Guanin, A = Adenin

3.2 Ergebnisse im Scrambled Sentences Task

3.2.1 Durchgang ohne zu merkende Zahl (ohne sog. „Load“)

Wie erwartet bildeten die Probanden weniger negative Sätze als bei willkürlicher Wahl der Bedeutung des Satzes zu erwarten gewesen wäre. Wäre die Bedeutungsauswahl des Satzes willkürlich statt emotional belegt gewesen, hätten die Probanden durch Weglassen des sechsten Wortes zu 50% den einen oder den anderen möglichen Satz gebildet. In unserer Studie lag der durchschnittliche Anteil negativer Sätze an der Gesamtheit der korrekt gebildeten Sätze bei 24% mit einer Standardabweichung von 12%. Die logistische Regression dieses Anteils zeigte dieses Ergebnis als hoch signifikant ($z = -16,7$, $p < 0,0001$).

Wir fanden einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem *MAOA*-Genotyp und dem Anteil negativer Sätze ($z = -2,37$, $p = 0,018$, two-tailed), wobei das hoch aktive Allel des Enzyms (*MAOA*-H) mit der Tendenz zu weniger negativen Sätzen korrelierte (22% bei *MAOA*-H vs. 27% bei *MAOA*-L, Abb. 1 und Tabelle 9).

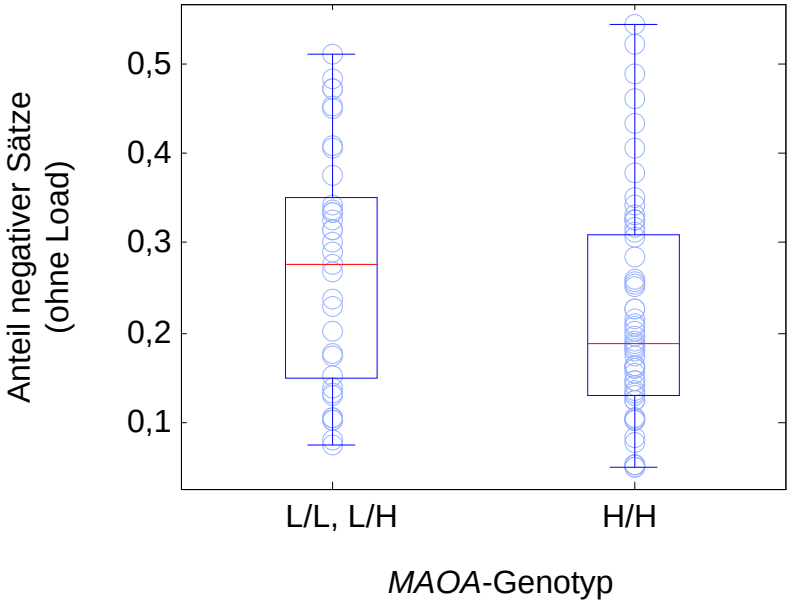


Abb. 1: Boxplot des Zusammenhangs zwischen *MAOA*-Genotyp und dem Anteil negativer Sätze (Durchgang ohne Load)

Box: unteres Quartil, Median und oberes Quartil; Whisker: minimale und maximale Werte innerhalb des 1,5-fachen Interquartilenabstands (1,5xIQR)

Tab. 9: *MAOA*-Genotyp und Anteil negativer Sätze

	MAOA-L/L	*MAOA*-L/H	*MAOA*-H/H
N	20	17	59
Frauen/Männer	3/17	17/0	26/33
Alter	25,0±4,6	25,2±4,7	24,4±4,3
Neg/pos Sätze	10,0±5,3 / 27,1±6,4	10,3±4,6 / 27,6±4,1	8,0±4,6 / 29,1±5,4
Anteil neg. Sätze	0,27±0,14	0,27±0,14	0,22±0,14
Mittelwert neg/pos	5,0±2,9 / 13,5±3,5	5,1±2,6 / 13,8±2,5	4,0±2,5 / 14,5±3,0
Ohne Load	4,5±2,6 / 13,9±3,8	4,5±2,2 / 14,2±2,4	3,7±2,2 / 15,0±3,0
Mit Load	5,6±3,1 / 13,2±3,2	5,8±2,7 / 13,4±2,6	4,3±2,7 / 14,1±2,9
Gesamtanzahl	37,1±2,3	37,9±2,9	37,1±2,8

N: Anzahl der Probanden mit besagtem Allel; Neg/pos Sätze: Durchschnittliche Anzahl negativer/positiver Sätze pro Proband für beide Durchgänge addiert und Standardabweichung; Anteil neg. Sätze: Anteil der negativen Sätze an der

Gesamtanzahl der korrekt gebildeten Sätze und Standardabweichung; Mittelwert neg/pos: Mittelwert der negativen/positiven Sätze pro Durchgang und Proband und Standardabweichung; Ohne Load: Mittelwert der negativen/positiven Sätze pro Proband im Durchgang ohne Load und Standardabweichung; Mit Load: Mittelwert der negativen/positiven Sätze pro Proband im Durchgang mit Load und Standardabweichung; Gesamtanzahl: Durchschnittliche Anzahl der durch die Probanden korrekt gebildeten Sätze unabhängig der Bedeutung und Standardabweichung; L = low (niedrige Expression), H = high (hohe Expression)

Im Gegensatz dazu konnten wir zwischen dem Anteil negativer Sätze und dem *SLC6A2*-Genotyp keine Korrelation nachweisen (z = -0,07, p = 0,9, nicht signifikant, siehe Abb. 2 und Tabelle 10).

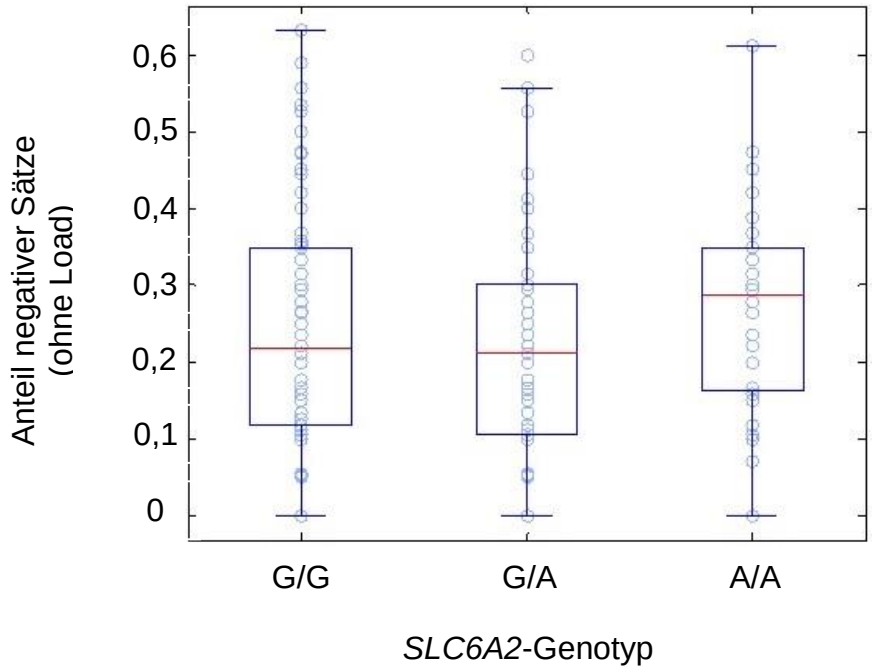


Abb. 2: Boxplot des Zusammenhangs zwischen *SLC6A2*-Genotyp und dem Anteil negativer Sätze (Durchgang ohne Load)

Box: unteres Quartil, Median und oberes Quartil; Whisker: minimale und maximale Werte innerhalb des 1,5-fachen Interquartilenabstands (1,5xIQR), ° Ausreißer

Tab. 10: *SLC6A2 c. 1287 G>A*-Genotyp und Anteil negativer Sätze

	SLC6A2 G/G	*SLC6A2* G/A	*SLC6A2* A/A
N	43	37	16
Frauen/Männer	23/20	18/19	5/11
Alter	24,6±4,4	25,0±5,1	23,9±2,6
Neg/pos Sätze	9,0±4,9 / 28,0±5,8	8,1±4,8 / 29,4±5,2	10,0±4,6 / 27,1±4,7
Anteil neg. Sätze	0,24±0,14	0,22±0,14	0,27±0,14
Mittelwert neg/pos	4,5±2,7 / 14,0±3,2	4,1±2,6 / 14,7±2,9	5,0±2,5 / 13,6±2,7
Ohne Load	3,9±2,4 / 14,4±3,4	3,8±2,3 / 15,0±2,9	4,6±2,3 / 14,2±2,4
Mit Load	5,1±2,8 / 13,6±3,0	4,3±2,9 / 14,4±2,9	5,4±2,7 / 12,9±2,9
Gesamtanzahl	37,0±3,1	37,5±2,6	37,1±2,8

N: Anzahl der Probanden mit besagtem Allel; Neg/pos Sätze: Durchschnittliche Anzahl negativer/positiver Sätze pro Proband für beide Durchgänge addiert und Standardabweichung; Anteil neg. Sätze: Anteil der negativen Sätze an der Gesamtanzahl der korrekt gebildeten Sätze und Standardabweichung; Mittelwert neg/pos: Mittelwert der negativen/positiven Sätze pro Durchgang und Proband und Standardabweichung; Ohne Load: Mittelwert der negativen/positiven Sätze pro Proband im Durchgang ohne Load und Standardabweichung; Mit Load: Mittelwert der negativen/positiven Sätze pro Proband im Durchgang mit Load und Standardabweichung; Gesamtanzahl: Durchschnittliche Anzahl der durch die Probanden korrekt gebildeten Sätze unabhängig der Bedeutung und Standardabweichung; G = Guanin, A = Adenin

Unter den Störfaktoren war ein schwacher Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Anteil negativer Sätze zu finden: Frauen bildeten insgesamt weniger negative Sätze als Männer ($z = -1,92$, $p = 0,05$, two-tailed).

Bei den Männern dieser Studie war der *MAOA*-Genotyp nicht mit dem Anteil negativer Sätze assoziiert ($z = 1,31$, $p = 0,19$, two-tailed).
Wohingegen bei den Frauen dieser Zusammenhang signifikant ausfiel ($z = -2,17$, $p = 0,03$, two-tailed). Bei explizitem Test war der Zusammenhang zwischen

Geschlecht und *MAOA*-Genotyp statistisch jedoch nicht signifikant (z = 0,88, p = 0,38).

Höhere Punktzahlen im ADS, gleichbedeutend mit depressiver Stimmung während der letzten Woche, korrelierten in unseren Daten ebenfalls mit einem höheren Anteil negativer Sätze (z = 3,05, p = 0,002, two-tailed).
Das war im ersten Durchlauf ohne erschwerte Bedingung mit der zu merkenden 9-stelligen Zahl („Load“) bereits auffällig (z = 2,93, p = 0,003) und verstärkte sich im zweiten Durchgang unter „Load“ (z = 3,97, p <0,001), aber die Wechselwirkung von „Load“ und depressiver Stimmung war statistisch nicht signifikant (z = 0,59, p = 0,55).

Um das Ausmaß der Beeinflussung des Effektes des *MAOA*-Genotyps auf den Anteil negativer Sätze durch bereits vorbestehende Depressivität abzuschätzen, wurde der ADS-Score als weitere Variable in das Modell eingeschlossen. Dies machte keinen großen Unterschied aus bezüglich des *MAOA*-Effektes (z = -2,16, p = 0,03, two-tailed).

3.2.2 Durchgang mit zu merkender Zahl (mit sog. „Load“)

In einer zweiten Analyse beobachteten wir den Effekt des *MAOA*-Genotyps auf den Anstieg der negativen Sätze unter „Load“ (ebenfalls Tabelle 9). Bei allen Probanden führte die Belastung unter „Load“ wie erwartet zu einer Erhöhung des Anteils negativer Sätze an der Gesamtanzahl aller gebildeten Sätze. Ohne „Load“ war der Effekt des *MAOA*-Genotyps auf den Anteil negativer Sätze ähnlich wie in der gesamten Analysenprobe (25% bei *MAOA*-L, 20% bei *MAOA*-H, z = -2,49, p = 0,01, two-tailed), wohingegen sich dieser Effekt unter „Load“ etwas verstärkte (30% vs. 24%, z = -3,22, p = 0,001, two-tailed). Diese Interaktion war statistisch jedoch nicht signifikant (z = -0,4, p = 0,69, two-tailed).

Auch hier bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem *SLC6A2*-Genotyp und dem Anstieg der negativen Sätze unter Load (z = -0,07, p = 0,9, siehe Tabelle 10).

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Zusammenhang zwischen dem *MAOA*-Genotyp der Probanden und ihrem Ergebnisscore im Scrambled Sentences Test in Bezug auf den Anteil der negativen Sätze aufgezeigt.

4.1 Form der Arbeit

In dieser Arbeit konnte ein statistisch signifikanter Einfluss des *MAOA*-Polymorphismus auf das Ergebnis des Scrambled Sentences Test beobachtet werden. Es gibt nach aktuellem Kenntnisstand bisher keine vergleichbaren Arbeiten anderer Forschungsgruppen, welche diesen Zusammenhang untersucht haben.

Die mit insgesamt 96 Teilnehmern relativ kleine Probandenzahl dieser Studie ist wie bei allen vergleichbaren Stichprobenanalysen ein möglicher Schwachpunkt bei der Analyse der Ergebnisse. Ein möglicher Trend ist hierbei durchaus zu erkennen, die Reproduktion der Ergebnisse mit einer deutlich größeren Stichprobe wäre allerdings wünschenswert. Rivera et al. analysierten im Rahmen ihrer Depressionsstudie von 2008 insgesamt 1.228 Teilnehmer auf den auch in dieser Arbeit untersuchten *MAOA*-Polymorphismus, um auch die weniger häufigen Allele hinreichend darstellen zu können, und wünschten sich dennoch weitere Untersuchungen mit mehr Probanden und in Hinblick auf externe Störfaktoren [Rivera et al., 2008].

Zusätzlich stellte das gewählte Probandenkollektiv keinen repräsentativen Querschnitt der Bevölkerung dar. Die Rekrutierung erfolgte hauptsächlich über Aushänge auf dem Campus der Universität Ulm, wodurch der Altersdurchschnitt mit 24,45 Jahren recht jung ausfiel. Zwar ändert sich der Genotyp nicht in Abhängigkeit des Alters, aber es wäre denkbar, dass das Verhalten im Scrambled Sentences Test in einer späteren Lebensphase anders ausfallen könnte. Depressionen können in jeder Altersstufe erstmals auftreten. Es wurden bereits depressive Erkrankungen im Vorschulalter beschrieben [Groen und Petermann, Depressive Kinder und Jugendliche, Hogrefe, Göttingen], doch das mittlere Erkrankungsalter der Deutschen für psychische Erkrankungen wie Angst- oder

bipolare Störungen liegt nach Angaben von Jacobi et al. bei 20 Jahren und für depressive oder psychotische Erkrankungen mit durchschnittlich 31 Jahren sogar noch etwas später [Jacobi, Wittchen, Hölting, Höfler, Pfister, Müller und Lieb, 2004].

Des Weiteren hatte die überwiegende Zahl der Studienteilnehmer als Schulabschluss Abitur angegeben und durchlief zum Zeitpunkt der Datenerhebung ein universitäres Studium. Rude et al. bezeichneten Studenten in den ersten beiden Jahren ihres Studiums als besonders vulnerable Gruppe, vermutlich aufgrund der ausgeprägten Veränderungen wie der räumlichen Situation nach Auszug aus dem Elternhaus sowie der intellektuellen Herausforderungen der Universität [Rude et al., 2003]. Die Probanden der vorliegenden Studie waren aktuell nicht depressiv gestimmt. Auffällige Ergebnisse in den Stimmungsfragebögen hätten zum Ausschluss aus der Studie geführt. Ein nicht signifikanter Trend zu negativer Stimmung konnte aber nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Durchführungsort der Studie war eine mittelgroße deutsche Stadt, die Teilnehmer waren alle deutschsprachig und überwiegend mitteleuropäischer Abstammung. Die Daten können nicht ohne weiteres für alle Regionen Deutschlands gleichgestellt oder auf andere ethische Gruppen übertragen werden. Bei Yang et al., welche einen Zusammenhang zwischen dem *SLC6A2*-Polymorphismus und dem Ansprechen ADHS-betroffener Kinder in China auf die medikamentöse Therapie mit Methylphenidat belegten, war der Prozentsatz des 1287A-Allels mit 36,7% etwa so hoch wie in den Studien an Deutschen zum Beispiel von Stöber et al. (35%), Nickchen (35%) oder Zill (34%) und an Polen zum Beispiel bei Leszcynska-Rodziewicz et al. (33,6%). In der gesunden, japanischen Kontrollgruppe von Inouie et al. lag der Prozentsatz des 1287A-Allels bei nur 23,5%. Daten aus anderen ethnischen Gruppen liegen bisher nicht vor [Yang et al., 2004, Stöber et al., 1996, Nickchen, 2008, Zill et al., 2002, Inoue et al., 2007, Leszcynska-Rodziewicz et al., 2002].

4.2 Inhalt der Arbeit

4.2.1 Scrambled Sentences Task

Unter der Bedingung „Load“ mit der zu merkenden 9-stelligen Zahl wurden mehr negative Sätze gebildet als ohne den sog. „Load“. In der vorliegenden Arbeit handelt es sich bei den Probanden um gesunde Individuen. Die Gruppe wurde nicht unterschieden in „niemals“ oder „ehemals“ an Depression Erkrankte.
Somit wurde ein Anteil der Ergebnisse von Wenzlaff und Bates reproduziert. Diese zeigten, dass aktuell depressive Probanden im SST wie erwartet mehr negative Sätze bilden als ehemals Depressive, die aktuell in Remission sind, oder Nichtdepressive, unabhängig von der Belastung einer zu merkenden Zahl. Zusätzlich zeigten sie, dass unter Load ehemals Depressive mehr negative Sätze bilden als Nichtdepressive. Hieraus folgt die Annahme, dass unter mentaler Kontrolle unerwünschte Gedanken unterdrückt werden können. Wird diese Kontrolle ausgeschaltet (z.B. unter Load), treten diese Gedanken an die Oberfläche und werden für das Bewusstsein zugänglich. Depressions-vulnerable Personen versuchen oftmals, als Strategie ihrer Stimmungskontrolle, aktiv negative Gedanken zu unterdrücken [Wenzlaff und Bates, 1998].
Ehemals Depressive gaben bei Wenzlaff und Bates an häufiger ungewollte Gedanken zu unterdrücken als Depressive oder Nichtdepressive und waren dabei erfolgreicher als die aktuell depressiven Probanden. Zusätzlich bildeten Teilnehmer mit hoher Unterdrückungstendenz unter Load mehr negative Sätze als diejenigen, die an gaben nur selten Gedanken zu unterdrücken.

Unter Zeitdruck, wie hier beim SST, werden die Probanden von ihrer möglichen Tendenz die Wertung ihrer Gedanken zu beobachten und zu kontrollieren abgelenkt. Die persönliche Gedankenkontrolle kann ferner durch die kognitive Belastung der zu merkenden Zahl noch weiter reduziert werden. Wie auch in der vorliegenden Arbeit deutlich wird.

Der Anstieg negativer Sätze unter Load bei ehemals an Depression Erkrankten korreliert in einer Arbeit von 2005 [Van der Does et al.] mit der Punktzahl des LEIDS, einem Fragebogen zur Messung von Gedankenunterdrückung, welcher zwischen ehemals depressiven und niemals

depressiv erkrankten Personen unterscheidet. Der WBSI-Score bei Van der Does ist ebenfalls mit dem Anteil negativer Sätze korreliert. Dieser Zusammenhang verschiedener Messmethoden für Gedankenunterdrückung und kognitive Vulnerabilität für Depression unterstützt die Annahme, dass depressive Wahrnehmungsmuster unter Remission einer depressiven Episode nicht inaktiv werden sondern aktiv unterdrückt werden [Van der Does, 2005].

Wobei sowohl Van der Does als auch Wenzlaff den SST in einer etwas anderen Form durchführten. Im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit durchliefen nicht alle Probanden einen Durchlauf ohne und einen Durchlauf mit Load, sondern die Hälfte der Probanden absolvierte den SST ohne zu merkende Nummer vor den einzelnen Blöcken während die andere Hälfte die Instruktion bekam eine vor dem Block gezeigte Nummer anschließend wiederzugeben (Load). Fokus dieser Arbeiten waren Unterschiede des SST-Ergebnisses in verschiedenen Probandengruppen [Wenzlaff und Bates, 1998; Van der Does, 2005]. In der vorliegenden Arbeit war die Probandengruppe einheitlich nicht depressiv. Ziel war es eventuelle Zusammenhänge des SST-Ergebnisses der Probanden mit den analysierten, genetischen Polymorphismen zu detektieren. Der Vorteil der hier gewählten Variante des SST ist die fehlende Störanfälligkeit durch interindividuelle Unterschiede im Ergebnis des SST.

In einer prospektiven Studie an Studenten verwendeten Rude, Wenzlaff, Gibbs, Vane und Whitney 2002 ebenfalls diese Variante des SST, um interindividuelle Unterschiede zu vermeiden und eine Aussage über den prädiktiven Wert des SST mit und ohne Load in Bezug auf spätere depressive Erkrankungen treffen zu können [Rude, Wenzlaff, Gibbs, Vane, Whitney, 2002].

In einer zweiten prospektiven Arbeit von Rude et al. korrelierten die erhobenen Werte des SST unter Belastung sowie des DAS (Dysfunctional Attitudes Scale, Fragebogen) signifikant mit dem späteren Depressionsstatus bei Frauen. SST ohne sog. Load erlaubte hierüber keine Prognose. In einem gemeinsamen Modell war SST unter Belastung der zu merkenden Zahl immer noch ein signifikanter Prädiktor für spätere MDD, während DAS ein nur beinahe signifikanter Prädiktor war. Dies erlaubt die Schlussfolgerung, dass die Verwendung verschiedener Messtypen, z.B. dem SST statt einfacher Fragebögen,

wichtig ist für die Suche nach kognitiven Verzerrungen bei emotionalen Erkrankungen. [Rude et al. (2009)]
Für Depressionen anfällige Individuen geben sehr wahrscheinlich den vollen Umfang ihrer negativen Gedanken nicht zu. Hier könnte ein Test wie der SST mehr erfassen als sonst, unter Kontrolle, preisgegeben wird.

Im direkten Vergleich des SST mit den Ergebnissen sonst üblicher Fragebögen zur Erfassung von wertender Selbsteinschätzung durch Rude et al. bildeten Probanden mit mindestens einer depressiven Episode in der Vergangenheit mehr negative Sätze als Probanden ohne depressive Vorerkrankung, obwohl sie in den Fragebögen keine negativere Selbsteinschätzung an gaben [Rude et al., 2001].
Probanden mit aktuell bestehender depressiver Störung bildeten hier noch mehr negative Sätze. Unter Load gab es wider Erwarten keinen Anstieg der negativen Sätze bei den ehemals Depressiven [Rude et al., 2001].
Der SST bezieht sich wohl eher auf das Verhalten der Probanden als auf die persönliche Darstellung ihres Wesens wie z.B. in Fragebögen zur Erfassung der wertenden Selbsteinschätzung. Somit sind Tests wie der SST sensitiver in der Erkennung negativen Denkens bei Personen, die eine Depression in der Vergangenheit hatten, als die Fragebögen, die für diesen Zweck sonst verwendet werden. SST oder auch der sogenannte Stroop-Test als Messmethoden, die die mentale Kontrolle des Befragten über seine Antworten reduziert, erlauben eine relativ direkte Beobachtung der Prozesse beim Verarbeiten positiven und negativen Gedankenmaterials bezogen auf die eigene Person. [Hedlund and Rude (1995), Rude et al. (2001)]

Man könnte den SST somit klinisch als prognostischen Test zur Früherkennung einer depressiven Veranlagung verwenden. In einer weiteren Arbeit von Rude et al. 2003 prognostizierten die Ergebnisse des SST unter sog. Load die Diagnose einer Major Depression in der nachfolgenden Zeit über 18-28 Monate bei College-Studenten der University of Texas. Ein hoher Anteil negativer Sätze fand sich v.a. bei Studenten, die in der follow-up Periode an einer Depression erkrankten. Die Ergebnisse des SST ohne sog. Load standen in

keinem Zusammenhang zu der später eventuell gestellten Diagnose. [Rude et al. (2003)]

Bildlich dargestellt wird die unterschiedliche Verarbeitung emotional belegter Aussagen im SST z.B. in der Arbeit von Viviani et al. Hier folgte per MRI der Vergleich der Hirnaktivität zweier Gruppen in der Durchführung des SST: eine Gruppe bekam nur die Instruktion Sätze zu bilden, während die andere Gruppe zusätzlich die Anweisung erhielt negative Sätze zu vermeiden. Es gab zwei verschiedene Satztypen, die gebildet werden konnten. Zum einen Sätze mit neutraler Aussage und zum anderen Sätze mit emotional belegter Aussage. Während dem Bilden von Sätzen im SST werden, verglichen mit der Perfusions-Baseline, die mit aufwendiger Aufmerksamkeit assoziierten Areale wie der posteriore parietale Gyrus cinguli, der dorsolaterale präfrontale Kortex und der linke ventrolaterale präfrontale Kortex/anteriore Insula vermehrt aktiviert, unabhängig von der Aussage des Satzes oder Instruktion des Probanden.
Der posteriore und ventrale cinguläre Kortex, posteriore Insula und das angrenzende parietale Operculum sowie der superiore temporale Gyrus hingegen werden verglichen mit der Baseline weniger aktiviert.
Im dorsalen Anteil des dorsolateralen präfrontalen Kortex nahm unter spontan gebildeten Sätzen mit emotionaler versus neutrale Bedeutung die Perfusion ab, während sie bei den vorher instruierten Teilnehmern leicht zunahm [Viviani et al., 2010]. Dies bekräftigt die Annahme, dass der spontanen Emotionsverarbeitung komplett andere Prozesse zugrunde liegen als der gezielten und kontrollierten Verarbeitung.

Auch in der Arbeit von Hanna Lo mit dem Thema „Thought suppression as a cognitive vulnerability factor for depression – an fMRI study“ kam der Scrambled Sentences Test mit deutschen Wortvorgaben als Mittel zur Messung emotionaler Verarbeitung in der funktionellen Bildgebung zum Einsatz [Lo, 2009]. Diese deutsche Version des SST fand in der vorliegenden Arbeit Verwendung.
Probanden waren in der Studie von Lo ehemals depressive Patienten und gesunde Kontrollen, die vor der Bildgebung mittels fMRI den hier angewendeten SST und während der Bildgebung einen modifizierten SST absolvierten.

Hierbei zeigten Probanden mit Minor Depression, sprich einer milden depressiven Episode, ebenfalls einen Anstieg des Anteils negativer Sätze unter Load und die vorangegangene Erfahrung einer Minor Depression war mit dem rechten ventrolateralen präfrontalen Kortex (VLPFC) assoziiert. Des Weiteren zeigte die Verarbeitung des emotionalen Satzmaterials im Vergleich zu Wert-neutralen Vorgaben eine Verbindung sowohl zu erhöhter Aktivität in ventraler anteriorer cingulärer Kortex (vACC) und Putamen, als Zeichen erhöhten Stresses und negativer Empfindung, als auch erniedrigter Aktivität des dorsolateralen präfrontalen Kortex (DLPFC), als Hinweis auf einen weniger fordernden Prozess.
Beim Bilden negativ beladener Aussagen konnten Aktivierungen in TPJ, OFC und Insula beobachtet werden, welche einen erhöhten Aufwand für gezielte Aufmerksamkeit und Kontrolle emotionaler Antwort wiederspiegeln [Lo, 2009].
Hier zeigte sich der SST ebenfalls als ein gutes Mittel zur Messung der Vulnerabilität für negative Verarbeitungsprozesse in aktuell nicht depressiven Personen.

4.2.2 *MAOA*-Polymorphismus

In der vorliegenden Arbeit konnte belegt werden, dass es einen Zusammenhang zwischen dem *MAOA* VNTR-Polymorphismus und dem Ergebnis des SST gibt: Probanden mit dem niedrig aktiven Allel (*MAOA*-L/L) bildeten mehr negative Sätze als diejenigen mit dem hoch aktiven Allel (*MAOA*-H/H).
In der Literatur sind die Forschungsergebnisse in Bezug auf die Auswirkungen dieses Polymorphismus recht unterschiedlich.

Hochaktive Genotypen (*MAOA*-H/H) und eine somit erhöhte MAO-A-Aktivität gelten als Risikofaktor für die Entwicklung einer depressiven Episode [Schulze et al. 2000], einer bipolaren Störung [Hauser et al., 2001] oder auch Panikstörungen bei Frauen [Deckert et al. 1999].
Bei Gutierrez et al. hingegen konnte keine Assoziation von *MAOA*-Genotyp zu bipolaren oder depressiven Erkrankungen festgestellt werden [Gutierrez et al. 2003]. 2008 wurde mit ihrer Zusammenarbeit in der Gruppe von Rivera analog zu der Arbeit von Schulze et al. doch ein Zusammenhang zwischen *MAOA*-H-Genotypen und Depression beschrieben. Dies galt ebenfalls nur für Frauen, die Daten bei den männlichen Patienten und Probanden waren nicht signifikant [Rivera et al. 2008].

Dagegen scheint auch der wenig aktive Genotyp *MAOA*-L ein erhöhtes Risiko für depressive Symptome und eine schlechte Schlafqualität darzustellen [Brummet et al. 2007]. Dies wäre am ehesten mit den hier erzielten Ergebnissen zu vereinbaren, unter der Voraussetzung die Vulnerabilität für Depression im SST nachgewiesen zu haben.
Bei Suizidopfern mit psychiatrischer Vorerkrankung wurde durch Du et al. der ebenfalls mit zwei unterschiedlich aktiven Allelen assoziierte EcoRV-Restriktionslängenpolymorphismus des *MAOA*-Gens untersucht: Hier wurden bei männlichen Suizidopfern mit Depression in der Krankheitsgeschichte signifikant häufiger hoch aktive *MAOA*-Gen-Allele gefunden als bei Frauen oder bei an anderen Todesursachen Verstorbenen, die nicht psychiatrisch erkrankt waren [Du et al., 2002].

Wie in der Einleitung bereits erwähnt wurde bereits 1993 der Zusammenhang zwischen auffällig aggressivem Verhalten einiger männlicher Mitglieder einer niederländischen Familie mit einer genetisch weitergegebenen MAO-A-Defizienz beschrieben [Brunner et al., 1993] und 1995 in einem Tiermodell mit *MAOA*-knockout-Mäusen bestätigt [Cases et al., 1995].
Des Weiteren scheint es, unabhängig vom *MAOA*-Genotyp, einen prinzipiellen Zusammenhang zwischen niedriger kortikaler und subkortikaler MAO-A-Aktivität mit erhöhtem Aggressivitätspotential bei Männern zu geben, aber nicht mit anderen Charakterzügen [Alia-Klein et al., 2008].
Einen ähnlichen Zusammenhang beschreibt die Tatsache, dass männliche *MAOA*-L-Träger mit Missbrauch oder Misshandlung in der frühen Kindheit im Vergleich zu *MAOA*-H-Träger ein erhöhtes Risiko haben im Erwachsenenalter unsoziales Verhalten zu entwickeln [Caspi et al., 2002, Kim-Cohen et al., 2006]. Hier gab es einen eindeutigen Zusammenhang zwischen Genotyp und Outcome.

Mit den neuen Techniken zur Neuro-Bildgebung konnten präzisere Ansätze zur Entschlüsselung der Beeinflussungsmechanismen der bekannten erblichen *MAOA*-Variationen auf zerebrale Verarbeitungsprozesse wie z.B. Impulskontrolle gewonnen werden.
Bei Buckholtz et al. z.B. zeigten Männer mit *MAOA*-L-Genotyp eine erhöhte Konnektivität zwischen Amygdala und vmPFC, vermittelt über den Cingulus, im Sinne unterschiedlicher Temperamentausprägung [Buckholtz et al., 2008].
Bei weiteren Strukturanalysen fanden sie bei *MAOA*-L-Trägern im direkten Vergleich zu *MAOA*-H eine quantitativ geringere Menge an grauer Substanz, aber ein erhöhtes orbitofrontales Volumen. Durch Änderungen der Serotonin- und Noradrenalinspiegel während eines vulnerablen Fensters in der Entwicklung der kortikolimbischen Bahnung könnten *MAOA*-L-Allele das Netzwerk für Affektregulation und soziale Entscheidungsfindung schwächen und Allelträger vulnerabel machen für ungünstige frühkindliche Erfahrungen [Buckholtz und Meyer-Lindenberg, 2008].

Der Zusammenhang zwischen niedriger präfrontaler MAO-A-Aktivität und Aggression, wie durch Alia-Klein et al. aufgezeigt, wurde von Soliman et al. bestätigt und um die Erkenntnis einer positiven Korrelation hoher Aktivität mit Bedächtigkeit ergänzt [Soliman et al., 2010].

Eventuell aufgrund der erniedrigten Verfügbarkeit von Serotonin und Noradrenalin könnten die hochaktiven *MAOA*-Genotypen die Antwort auf eine medikamentöse antidepressive Therapie negativ beeinflussen. Wiederum nur bei Frauen wurde dieser negative Einfluss der langen, höher aktiven Allele im Sinne eines langsameren und insgesamt weniger ausgeprägten Erfolges verschiedener Antidepressiva belegt [Domschke et al. 2008].

Hier wurden erstmals die Ergebnisse von Yu et al. repliziert, nach denen nicht nur die Frequenz der hochaktiven *MAOA*-H-Allele bei MD-Patienten erhöht zu sein scheint, sondern zusätzlich im Vergleich zu den homozygoten niedrig aktiven *MAOA*-L/L-Allelen ein schlechteres Ansprechen auf die vierwöchige medikamentöse Therapie mit dem Antidepressivum Fluoxetin zeigten [Yu et al., 2005].

Bei der Langzeitprognose der Lithiumprophylaxe bei psychiatrischen Erkrankungen hingegen scheint der *MAOA* VNTR-Polymorphismus keine Rolle zu spielen [Serreti et al., 2002].

Der in dieser Studie auffällige Zusammenhang zwischen *MAOA*-Genotyp und Depressivitätsveranlagung scheinen am ehesten die Erkenntnisse von Caspi et al. in Bezug auf die Richtung des Zusammenhangs, L-Allelträger bilden mehr negative Sätze im SST, zu bestätigen.

4.2.3 *SLC6A2*-Polymorphismus c.1287G>A

Es konnte kein Zusammenhang nachgewiesen werden zwischen dem *SLC6A2 c. 1287 G>A*-Genoytp und dem Anteil negativer Sätze an der Gesamtheit der gebildeten Sätze im SST, weder mit noch ohne die zu merkende Zahl („Load“). Auch in der Fachliteratur sind die Resultate bezüglich der *SLC6A2* c.1287G>A-Forschung uneinheitlich.

Zum einen gibt es Ergebnisse, welche keinerlei Zusammenhang zwischen *SLC6A2*-Genotyp und der Prädisposition für eine Major Depression [Inoue et al., 2007, Zill et al., 2002, Owen et al., 1999] oder andere psychiatrischen Erkrankungen wie z.B. Schizophrenie [Leszczynska-Rodziewicz et al., 2002, Stöber et al., 1996] belegen.
Zum anderen gibt es allerdings auch zahlreiche Hinweise auf eine Assoziation von *SLC6A2*-Polymorphismen und Auffälligkeiten in der Krankheitshistorie. Urwin beschrieb beispielsweise einen Zusammenhang von einem Polymorphismus in der Promotorregion von *SLC6A2* mit der Essstörung Anorexia nervosa [Urwin et al., 2002].
Koreanischen Kindern mit ADHS mit *SLC6A2* G/G-Genotyp zeigten eine bessere Fähigkeit ungewollte Reaktionen zu unterdrücken als diejenigen mit G/A- oder A/A-Genotypen [Song et al., 2011]. Bei jugendlichen Han-Chinesen mit ADHS wurde ein positiver Zusammenhang zwischen G/G-Genotypen und dem Ansprechen auf die Medikation mit Methylphenidat beschrieben [Yang et al., 2004]. Da Vergleichsarbeiten aus anderen Bevölkerungsgruppen fehlen, können interethnische Unterschiede bei diesen Assoziationen nicht ausgeschlossen werden.

Es ist nicht auszuschließen, dass der Polymorphismus *SLC6A2* c.1287G>A, obwohl hier kein signifikantes Level erreicht wurde, zwar nicht als Hauptfaktor, aber eventuell als zusätzlicher Faktor Einfluss nimmt auf die Entstehung von Depression.
Nachgewiesen ist die Korrelation von *SLC6A2* c.1287G>A mit der MHPG-Konzentration im Liquor: Bei Individuen mit G/G-Genotyp wurden höhere Konzentration von 3-Methoxy-4-Hydroxyphenylglycol im Liquor festgestellt als bei

G/A- oder A/A-Genotyp. MHPG ist der Hauptmetabolit von Noradrenalin [Jönsson et al., 1998]. Somit liegt die Annahme nahe, dass *SLC6A2*-Polymorphismen auf die Noradrenalin-Homöostase des ZNS einwirken.

In der Annahme, dass unterschiedlich hohe monoaminerge Neurotransmitterspiegel die Neuronalentwicklung von Feten beeinflussen, untersuchten Zhang et al. 2010 unter anderem den auch hier beschriebenen *MAOA* VNTR-Polymorphismus und die von Urwin [Urwin et al., 2002] beschriebene polymorphe Promotorregion von *SLC6A2*. Nach den Daten von Zang et al. beeinflussen diese Polymorphismen zwar die Höhe der Genexpression und die Proteinaktivität in Plazenta bzw. Fetus, aber nicht die Höhe der Katecholamine [Zang et al., 2010].

Auch peripher hat Noradrenalin eine Rolle als Haupttransmitter des sympathischen Nervensystems inne. Als Zeichen einer sympathischen Hyperaktivität bei affektiven Störungen wurden bei Patienten mit MD erhöhte Plasma-Noradrenalinspiegel und Tachykardien nachgewiesen, der Blutdruck der Patienten war normwertig [Lake et al., 1982].
Blakely betonte die Bedeutung von NET in der Peripherie nicht zu vergessen und verwies dabei auf einen Zusammenhang von NET-Mutationen mit orhtostatischer Intoleranz und Herz-Kreislauf-Beschwerden [Blakely, 2001].
Bei Zwillingen mit orthostatischer Intoleranz, sprich die Erhöhung der Herzfrequenz um mindestens 30 Schläge pro Minute ohne orthostatische Hypotension, wurde eine nicht-synonyme Mutation in Exon 9 (p.*Ala457Pro*) des *SLC6A2*-Gens beschrieben. Diese Mutation führt zu einem 98%-igen Funktionsverlust des Transporters verglichen mit dem Wildtyp-Gen. Die Patienten hatten eine erhöhte NE-Konzentration im Plasma und als Zeichen eines verminderten systemischen NE-Abbaus einen erniedrigten DHPG:NE-Quotienten. Wobei auch in dieser Arbeit betont wird, dass zu der veränderten Herzfrequenzregulation und dem veränderten Noradrenalinmetabolismus neben der beschriebenen Mutation noch weitere genetische oder Umwelt-Faktoren wohl zu diesem Phänotyp beitragen [Shannon et al., 2000]. Bei genaueren Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass *hNET p.Ala457Pro* durch mangelndes Processing nicht nur einen ausgeprägten Funktionsverlust mit sich

bringt und in deutlich geringerer Menge exprimiert wird, sondern zusätzlich negativ auf die Aufnahmeaktivität von „normalen“ Transportern des Wildtyp-Gens einwirkt [Hahn et al., 2003].
Verschiedene Single Nucleotide Polymorphismen (SNP) in *SLC6A2* haben unterschiedlichen Einfluss auf die Genexpression, den Noradrenalin-Transport, die Regulation durch Protein Kinase C und die Antwort auf Desipramin [Hahn et al., 2005]. Somit liegt die Annahme nicht fern, dass zum Beispiel der Genotyp in einer depressiven Episode eine entscheidende Rolle im Ansprechen auf Antidepressiva spielt.

In der Auswirkung der verschiedenen Genotypen auf das Ansprechen auf antidepressive Medikamente ist man sich in der Literatur ebenfalls uneinig.
Es gibt Daten, die bei A/A-Genotypen des *SLC6A2* c.1287G>A ein langsameres Einsetzen des Therapieerfolgs des SNRI Milnacipran belegen [Yoshida et al., 2004]. Es bestand allerdings kein Zusammenhang mit dem endgültigen Therapieerfolg.
Es gibt des weiteren Belege dafür, dass G/G-Genotypen z.B. auf Nortriptylin, ein Derivat des Trizyklischen Antidepressivums (TZA) Amitriptylin, besser ansprechen [Kim et al., 2006], was nicht weiter überrascht, wenn man überlegt, dass der Noradrenalintransporter Hauptangriffspunkt für Noradrenalin Reuptake Inhibitoren darstellt. Diese Annahme spräche dafür, dass der *SLC6A2* c.1287G>A-Polymorphismus doch keine stumme Mutation sondern eine Mutation mit funktionellen Auswirkungen ist.
Im Gegensatz zu diesen Informationen stehen die Aussagen von Miguita et al. und Min et al., die weder einen Zusammenhang zwischen *SLC6A2* c.1287G>A und dem Ansprechen auf das TZA Clomipramin noch auf das Ansprechen auf SSRI oder SNRI nachweisen konnten [Miguita et al., 2010, Min et al., 2009].

In der Literatur finden sich einige Beiträge zu weiteren Polymorphismen im Gen *SLC6A2*, welche unter anderem in Zusammenhang mit MD stehen [Zill et al., 2002; Ryu et al., 2004; Yoshida et al., 2004; Haenisch et al., 2008]. Das NET-kodierende Gen *SLC6A2* bleibt somit ein interessanter Kandidat für Suszeptibilität für affektive Störungen, auch wenn in der vorliegenden Arbeit keine Korrelation

zwischen *SLC6A2* c.1287G>A und dem Ergebnis des SST nachgewiesen werden konnte.

5 Zusammenfassung

Vorangegangene Arbeiten haben gezeigt, dass der Scrambled Sentences Test eine geeignete Messmethode für negative Verarbeitungsprozesse bei ehemals Depressiven ist. Des Weiteren gibt es zahlreiche Belege in der einschlägigen Literatur für den Einfluss verschiedener genetischer Polymorphismen wie bei der Monoaminooxidase-A oder auch Noradrenalintransportern auf die Entstehung von psychiatrischen Erkrankungen wie Depression.

Zielsetzung der Arbeit war es, interindividuelle Unterschiede der genetischen Polymorphismen in den Genen des Enzyms Monoaminooxidase-A und des Noradrenalintransporters aufzuzeigen, sowie deren Einfluss auf das Ergebnis des Scrambled Sentences Tests als Messmethode für die Vulnerabilität einer Person für Depression zu beleuchten.

Hierfür erfolgten eine Genotypisierung des Noradrenalin-Transporters und der Monoaminoxidase A von insgesamt 96 gesunden Studienteilnehmern, die Durchführung des Scrambled Sentences Test zur Vulnerabilitätsbestimmung der Probanden für Depression im Vergleich zu einem gängigen Fragebogen sowie eine Analyse dieser Polymorphismen in Bezug auf das Ergebnis der Teilnehmer im Scrambled Sentences Test.

Der Scrambled Sentences Test hat sich als valides Messinstrument für depressive Merkmale bei aktuell nicht depressiven Personen bewährt. Der hier verwendete ADS-Fragebogen hingegen erfasst nur die aktuelle Stimmungslage des Patienten, nicht aber die feinen Unterschiede bei der emotionalen Verarbeitung wertbeladener Aussagen wie der Scrambled Sentences Test.

Personen mit dem Genotyp Monoaminooxidase-A-Low/Low, kodierend für niedrig aktive Monoaminooxidase-A, bildeten im Vergleich zu Monoaminooxidase-A-High/High-Trägern, welche die höher aktive Variante des Enzyms ausbilden, insgesamt mehr negative Sätze, unabhängig von zusätzlicher kognitiver Belastung unter „Load“. Frauen bildeten im Vergleich zu Männern insgesamt weniger negative Sätze.

Zwischen den drei verschiedenen *SLC6A2* c.1287G>A Genotypen und dem Ergebnis des SST gab es nach vorliegenden Daten keinen Zusammenhang.

Anhand dieser Funde wird deutlich, dass es in der Tat genetische Faktoren gibt, die Einfluss auf die Entstehung von Depression nehmen können und starke interindividuelle Unterschiede aufweisen.

6 Literaturverzeichnis

[1] Alia-Klein N, Goldstein RZ, Kriplani A, Logan J, Tomasi, D, Williams B, Telang F, Shumay E, Biegon A, Craig IW, Henn F, Wang G-J, Volkow ND, Fowler JS: Brain Monoamine Oxidase A Activity Predicts Trait Aggression. The Journal of Neuroscience, 2008, 28: 5099-5104

[2] Baghai TC, Volz H-P, Möller H-J: Drug treatment of depression in the 2000s: An overview of achievements in the last 10 years and future possibilities. The World Journal of Biological Psychiatry, 2006, 7: 198-222

[3] Blakely RD: Physiological Genomics of Antidepressant Targets: Keeping the Periphery in Mind. The Journal of Neuroscience, 2001, 21: 8319-8323

[4] Bönisch H, Brüss M: The Noradrenaline Transporter of the Neuronal Plasma Membrane. Annals of the New York Academy of Sciences, 1994, 733: 193-202

[5] Brummett BH, Krystal AD, Siegler IC, Kuhn C, Surwit RS, Züchner S, Ashley-Koch A, Barefoot JC, Williams RB: Associations of a Regulatory Polymorphism of Monoamine Oxidase-A Gene Promoter (MAOA-uVNTR) With Symptoms of Depression and Sleep Quality. Psychosomatic Medicine, 2007, 69: 396-401

[6] Brunner HG, Nelen MR, Van Zandvoort P, Abeling NGGM, Van Gennip AH, Wolters EC, Kuiper MA, Ropers HH, Van Oost BA: X-Linked Borderline Mental Retardation with Prominent Behavioral Disturbance: Phenotype, Genetic Localization, and Evidence for Disturbed Monoamine Metabolism. American Journal of Human Genetics, 1993, 52: 1032-1039

[7] Brüss M, Kunz J, Lingen B, Bönisch H: Chromosomal mapping of the human gene for the tricyclic antidepressant-sensitive nordadrenaline transporter. Human Genetics, 1993, 91:278-280

[8] Buckholtz JW, Callicott JH, Kolachana B, Hariri AR, Goldberg TE, Genderson M, Egan MF, Mattay VS, Weinberger DR, Meyer-Lindenberg A: Genetic variation in MAOA modulates ventromedial prefrontal circuitry mediating individual differences in human personality. Molecular Psychiatry, 2008, 13: 313-324

[9] Buckholtz JW, Meyer-Lindenberg A: MAOA and the neurogenetic architecture of human aggression. Trends in Neurosciences, 2008, 31: 120-129

[10] Cases O, Seif I, Grimsby J, Gaspar P, Chen K, Pournin S, Müller U, Aguet M, Babinet C, Chen Shih J, De Maeyer E: Aggressive Behavior and Altered Amounts of Brain Serotonin and Norepinephrine in Mice Lacking MAOA. Science, 1995, 268: 1763-1766

[11] Caspi A, McClay J, Mofitt TE, Mill J, Martin J, Craig IW, Tayler A, Poulton R: Role of Genotype in the Cycle of Violence in Maltreated Children. Science, 2002, 297: 851-854

[12] Deckert J, Catalano M, Syagailo YV, Bosi M, Okladnova O, Di Bella D, Nöthen MM, Maffei P, Franke P, Fritze J, Maier W, Propping P, Beckmann H, Bellodi L, Lesch K-P: Excess of high activity monoamine oxidase A gene promoter alleles in female patients with panic disorder. Human Molecular Genetics, 1999, 8: 621-624

[13] Domschke K, Hohoff C, Mortensen LS, Roehrs T, Deckert J, Arolt V, Baune BT: Monoamine oxidase A variant influences antidepressant treatment response in female patients with Major Depression. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 2008, 32: 224-228

[14] Du L, Faludi G, Palkovits M, Sotonyi P, Bakish D, Hrdina PD: High activity-related allele of MAO-A gene associated with depressed suicide in males. NeuroReport, 2002, 13: 1195-1198

[15] Gelernter J, Kruger S, Pakstis AJ, Pacholczyk T, Sparkes RS, Kidd KK, Amara S: Assignment of the Norepinephrine Transporter Protein (NET1) Locus to Chromosome 16. Genomics, 1993, 18: 690-692

[16] Groen G, Petermann F: Depressive Kinder und Jugendliche. Hogrefe Verlag GmbH & Co. KG, Göttingen, 2002.

[17] Gutierrez B, Arias B, Gastó C, Catalán, Papiol S, Pintor L, Fananás L: Association analysis between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and severe mood disorders. Psychiatric Genetics, 2004, 14: 203-208

[18] Haenisch B, Linsel K, Brüss M, Gilsbach R, Propping P, Nöthen MM, Rietschel M, Fimmers R, Maier W, Zobel A, Höfels S, Guttenthaler V, Göthert M, Bönisch H: Association of Major Depression With Rare

Functional Variants in Norepinephrine Transporter and Serotonin1A Receptor Genes. American Journal of Medical Genetics Part B, 2009, 150B: 1013-1016

[19] Hahn Mk, Mazei-Robison MS, Blakely RD: Single Nucleotide Polymorphisms in the Human Norepinephrine Transporter Gene Affect Expression, Trafficking, Antidepressant Interaction, and Protein Kinase C Regulation. Molecular Pharmacology, 2005, 68: 457-466

[20] Hahn MK, Robertson D, Blakely RD: A Mutation in the Human Norepinephrine Transporter Gene (SLC6A2) Associated with Orthostatic Intolerance Disrupts Surface Expression of Mutant and Wild-Type Transporters. The Journal of Neuroscience, 2003, 23(11): 4470-4478

[21] Hauser J, Leszczynska A, Samochowiec J, Czerski PM, Rybakowski JK: Association between MAO-A gene promoter VNTR polymorphism and female bipolar patients. European Neuropsychopharmacology, 2001, 11(suppl. 1): 231

[22] Hedlund S, Rude S: Evidence of Latent Depressive Schemas in Formerly Depressed Individuals. Journal of Abnormal Psychology, 1995, 104: 517-525

[23] Inoue K, Itoh K, Yoshida K, Higuchi H, Kamata M, Takahashi H, Shimizu T, Suzuki T: No Association of the G1287A Polymorphism in the Norepinephrine Transporter Gene and Susceptibility to Major Depressive Disorder in a Japanese Population. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2007, 30

[24] Jacobi F, Wittchen H-U, Hölting C, Höfler M, Pfister H, Müller N, Lieb R: Prevelance, co-morbidity and correlates of mental disorders in the general population: results from the German Health Interview and Examination Survey (GHS). Psychological Medicine, 2004, 34: 597-611

[25] Jönssen EG, Nöthen MM, Gustavsson JP, Neidt H, Bunzel R, Propping P, Sedvall GC: Polymorphisms in the dopamine, serotonin, and norepinephrine transporter genes and their relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers. Psychiatry Research, 1998, 79: 1-9

[26] Kim H, Lim S-W, Kim S, Kim J-W, Chang Y-H, Carroll BJ, Kim DK: Monoamine Transporter Gene Polymorphisms and Antidepressant

Response in Koreans With Late-Life Depression. Journal of American Medical Association, 2006, 269: 1609-1618

[27] Kim-Cohen J, Caspi A, Taylor A, Williams B, Newcombe R, Craig IW, Mofitt TE: MAOA, maltreatment, and gene-environment interaction predicting children's mental health: new evidence and a meta-analysis. Molecular Psychiatry, 2006, 11: 903-913

[28] Lake CR, Pickar D, Ziegler MG, Lipper S, Slater S, Murphy DL: High Plasma Norepinephrine Levels in Patients with Major Affective Disorder. American Journal of Psychiatry, 1982, 139: 10, 1315-1318

[29] Leszczynska-Rodziewicz A, Czerski PM, Kapelski P, Godlewski S, Dmitrzak-Weglarz M, Rybakowski JK, Hauser J: A Polymorphism of the Norepinephrine Transporter Gene in Bipolar Disorder and Schizophrenia: Lack of Association. Neuropsychobiology, 2002, 45: 182-285

[30] Lo H: Thought suppression as a cognitive vulnerability factor for depression – an fMRI study. Med Dissertation, Universität Ulm (2009)

[31] Miguita K, Cordeiro Q, Shavitt RG, Miquel EC, Vallada H: Association study between genetic monoaminergic polymorphisms and OCD response to clomipramine treatment. Arquivos de Neuro-Psiquiatria, 2011, 69(2-B): 283-287

[32] Min W, Li T, Ma X, Li Z, Yu T, Gao D, Zhang B, Yun Y, Sun X: Monoamine transporter gene polymorphisms affect susceptibility to depression and predict antidepressant response. Psychopharmacology, 2009, 205: 409-417

[33] Nickchen K: Die Bedeutung von Polymorphismen in den Monoamintransportergenen für das Ansprechen auf die Therapie mit Antidepressiva bei depressiven Patienten. Med Dissertation, Charité Universitätsmedizin Berlin (2008)

[34] Owen D, Du L, Bakish D, Lapierre YD, Hrdina PD: Norepinephrine transporter gene polymorphism is not associated with susceptibility to major

[35] Ressler KJ, Nemeroff CB: Role of Norepinephrine in the Pathophysiology and Treatment of Mood Disorders. Biological Psychiatry, 1996, 46: 1219-1233

[36] Rivera M, Gutiérrez B, Molina E, Torres-González F, Bellón JA, Moreno-Küstner B, King M, Nazareth I, Martínez-González LJ, Martínez-Espín E, CMunoz-García MM, Motrico E, Martínez-Canavate T, Lorente JA, Luna

JD, Cervilla JA: High-Activity Variants of the uMAOA Polymorphism Increase the Risk for Depression in a Large Primary Care Sample. Amerocan Journal of Medical Genetics Part B, 2008, 150B: 395-402

[37] Rude S, Covich J, Jarrold W, Hedlund S, Zentner M: Detecting Depressive Schemata in Vulnerable Individuals: Questionnaires Versus Laboratory Tasks. Cognitive Therapy and Research, 2001, 25: 103-116

[38] Rude S, Durham-Fowler JA, Baum ES, Rooney SB, Maestas KL: Self-report and Cognitive Processing Measures of Depressive Thinking Predict Subsequent Major Depressive Disorder. Cognitive Therapy and Research, 2009, 34: 107-115

[39] Rude S, Valdez CR, Odom S, Ebrahim A: Negative Cognitive Biases Predict Subsequent Depression. Cognitive Therapy and Research, 2003, 27: 415-429

[40] Rude S, Wenzlaff RM, Gibbs B, Vane J, Whitney T: Negative processing biases predict subsequent depressive symptoms. Cognition and Emotion, 2002, 16(3): 423-440

[41] Ryu S-H, Lee S-H, Lee H-J, Cha J-H, Ham B-J, Han C-S, Choi M-J, Lee M-S: Association between Norepinephrine Transporter Gene Polymorphism and Major Depression. Neuropsychobiology, 2004, 49: 174-177

[42] Sabol SZ, Du S, Hamer D: A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. Human Genetics, 1998, 103: 273-279

[43] Schulze TG, Müller DJ, Krauss H, Scherk H, Ohlraun S, Syagailo YV, Windemuth C, Neidt H, Grässle M, Papassotiropoulos A, Heun R, Nöthen MM, Maier W, Lesch K-P, Rietschel M: Association Between a Functional Polymorphism in the Monoamine Oxidase A Gene Promoter and Major Depressive Disorder. American Journal of Medical Genetics Neuropsychiatric Genetics), 2000, 96: 801-803

[44] Serretti A, Lorenzi C, Lilli R, Mandelli L, Pirovano A, Smeraldi E: Pharmcogenetics of Lithium Prophylaxis in Mood Disorders: Analysis of COMT, MAO-A and Gβ3 Variants. American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics), 2002, 114: 370-379

[45] Shannon JR, Flattem NL, Jordan J, Jacob G, Black BK, Biaggioni I, Blakely RD, Robertson D: Orthostatic Intolerance and Tachycardia associated with

Norepinephrine-Transporter Deficiency. The New England Journal of Medicine, 2000, 342: 541-549

[46] Shih JC, Chen K, Ridd MJ: Monoamine Oxidase: From Genes to Behavior. Annual Review of Neuroscience, 1999, 22: 197-217

[47] Shih JC, Thompson RF: Monoamine Oxidase in Neuropsychiatry and Behavior. American Journal of Human Genetics, 1999, 65: 593-598

[48] Soliman A, Bagby RM, Wilson AA, Miler L, Clark M, Rusjan P, Sacher J, Houle S, Meyer JH: Relationship of monoamine oxidase A binding to adaptive and maladaptive personality traits. Psychological Medicine, 2010

[49] Song D-H, Jhung K, Song J, Cheon K-A: The 1287 G/A polymorphism of the Norepinephrine Transporter gene (NET) is involved in Commission Errors in Korean children with Attention deficit Hyperactivity Disorder. Behavioral and Brain Functions, 2011, 7: 12

[50] Stöber G, Nöthen MM, Pörzgen P, Brüss M, Bönisch H, Knapp M, Beckmann H, Propping P: Systematic Search for Variation in the Human Norepinephrine Transporter Gene: Identification of Five Naturally Occuring Missense Mutations and Study of Association With Major Psychiatric Disorders. American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics), 1996, 67: 523-532

[51] Urwin RE, Bennetts B, Wilcken B, Lampropoulos B, Beumnt P, Clarke S, Russell J, Tanner S, Nunn KP: Anorexia nervosa (restrictive subtype) is gene promoter polymorphic region. Molecular Psychiatry, 2002, 7: 652-657

[52] Van der Does W: Thought suppression and cognitive vulnerability to depression. British Journal of Clinical Psychology, 2005, 44: 1-14

[53] Viviani R, Lo H, Sim E-J Beschoner P, Stingl JC, Horn AB: The Neural Substrate of Positive Bias in Spontaneous Emotional Processing. PLoS ONE, 2010, 5(11): e15454. doi:10.1371/journal.phone.0015454

[54] Wenzlaff RM, Bates DE: Unmasking a Cognitive Vulnerability to Depression: How Lapses in Mental Control Reveal Depressive Thinking. Journal of Personality and Social Psychology, 1998, 75: 1559-1571

[55] Yang L, Wang Y-F, Li J, Faraone SV: Association of Norepinephrine Transporter Gene With Methylphenidate Response. Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, 2004, 43: 1154-1158

[56] Yoshida K, Takahashi H, Higuchi H, Kamata M, Ito KI, Sato K, Naito S, Shimizu T, Itoh K, Inoue K, Suzuki T, Nemeroff CB: Prediction of Antidepressant Response to Milnacipran by Norepinephrine Transporter Gene Polymorphisms. American Journal of Psychiatry, 2004, 161: 1575-1580

[57] Yu W-Y, Tsai S-J, Hong C-J, Chen T-J, Chen M-C, Yang C-W: Association Study of a Monoamine Oxidase A Gene Promoter Polymorphism with Major Depressive Disorder and Antidepressant Response. Neuropsychopharmacology, 2005, 30: 1719-1723

[58] Zill P, Engel R, Baghai TC, Juckel G, Frodl T, Müller-Siecheneder F, Zwanzger P, Schüle C, Minov C, Behrens S, Rupprecht R, Hegerl U, Möller HJ, Bondy B: Identification of a Naturally Occurring Polymorphism in the Promoter Region of the Norepinephrine Transporter and Analysis in Major Depression. Neuropsychopharmacology, 2002, 26: 489-493

[59] Zhang H, Smith GN, Liu X, Holden JJA: Association of MAOA, 5-HTT, and NET promoter polymorphisms with gene expression and protein activity in human placentas. Physiological Genomics, 2010, 42(1): 85-92

Anhang

A1 Tabellen

Tab. 1 Übersicht der Arbeitsgeräte
Tab. 2 Übersicht der Reagenzien
Tab. 3 Übersicht der Primersequenzen
Tab. 4 Auswertung der Gelelektrophorese zum NET1287-Polymorphismus
Tab. 5 Auswertung der Gelelektrophorese zum MAOA-Polymorphismus
Tab. 6 Genotypverteilung MAOA
Tab. 7 Genotypverteilung NET1287
Tab. 8 Allelverteilung MAO und NET1287
Tab. 9 MAOA-Genotyp und Anteil negativer Sätze
Tab. 10 NET1287-Genotyp und Anteil negativer Sätze

A2 Schaubilder

Abb. 1 Boxplot des Zusammenhangs zwischen MAOA-Genotyp und dem Anteil negativer Sätze (Durchgang ohne Load)
Abb. 2 Boxplot des Zusammenhangs zwischen NET1287-Genotyp und dem Anteil negativer Sätze (Durchgang ohne Load)

A3 Anleitung für Scrambled Sentences Task (SST)

[Lo „Thought suppression as a cognitive vulnerability factor for depression – an fMRI study“, 2009]

Sie werden gleich aufgefordert, Sätze zu bilden. Jeder der durcheinander gewürfelten Sätze besteht aus sechs Wörtern. Lesen Sie bitte alle sechs Wörter aufmerksam durch bevor Sie einen Satz bilden und ihn niederschreiben. Jeder gebildete Satz sollte aus fünf Wörtern bestehen.

Z.B.:

hat grüne Kind das Augen blaue

Notiert:

Das Kind hat grüne Augen.

Bilden Sie bitte grammatikalisch richtige Sätze und keine Fragen. Sie können die Sätze so bilden, wie sie Ihnen zuerst in den Sinn kommen. Rechtschreibfehler sind nicht wichtig. Arbeiten Sie so zügig wie möglich, da die Zeit pro Satz limitiert ist. Antworten Sie so spontan wie möglich und denken Sie nicht zu viel nach. Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten.

A4 Satzvorgaben des SST

[Lo „Thought suppression as a cognitive vulnerability factor for depression – an fMRI study“, 2009]

Block 1:

„das ist schön sehr Leben traurig“

„sterben Blumen die wachsen schnell meisten“

„Soldaten Ende am kämpfen die siegten“

„sieht die Zukunft rosig düster aus“

„unsinnig Studium sinnvoll ein heutzutage ist“

„Hoffnungen das Paar keine hatte große“

„Kopf mein ist sehr klar vernebelt“

„interessant Leben mein langweilig eher ist“

„beschwerlich Leben mir erscheint leicht das“

„ist sehr Leben mein stressig entspannt“

„Prüfung ich habe bestanden die verhauen“

„ist unmöglich zu Glück möglich erlangen“

„finde unsympathisch Person nett ich diese“

„Erwartungen erfülle die ich nicht schon“

„wahrscheinlich werde glücklich ich sein unglücklich“

„Problemen wachse ich an verzweifle meinen“

„gut mich Leute über schlecht denken die“

„ein dieser Kinofilm war Flop Hit“

„körperliches Aussehen mein akzeptabel ist schlecht“

„Leben das ist zu mir grausam gut“

Block 2:

„mich Leute verstehen missverstehen diese“

„viele mein Professor wenige Hausaufgaben vergibt“

„Pflanze meine ist langsam verblüht gewachsen“

„ist meines Lachen ansteckend Freundes das schrill“
„einmal ich versagen noch werde bestehen“
„Zukunft mir Sorgen die bereitet Freude“
„wertvolle ich wertlose bin eine Person“
„gewöhnlich mögen Leute verachten mich die“
„schwer die letzte war leicht Prüfung“
„alles okay mir bei ist nichts“
„fühle gerade mich energievoll ich müde“
„vergeht Zeit schnell die langsam meistens“
„ist meine besser Konzentration momentan schlechter“
„traurig meine größtenteils Erinnerungen positiv sind“
„fällen ist schwer Entscheidungen zu leicht“
„nichts habe geben zu ich viel“
„heim ich möchte gerne weg gehen“
„nicht ich glaube an mich häufig“
„Zuneigung ich anderer verdiene die vermeide“
„habe ich viele Freunde verloren gefunden“

A5 Allgemeine Depressionsskala

Aus urheberrechtlichen Gründen wurde der Inhalt der Allgemeinen Depressionsskala entfernt.

A6 Laborprotokoll NET1287-Polymorphismus

25µl PCR-Mastermix:	10x Puffer (Invitrogen)	2,5µl
	$MgCl_2$ (50 mM)	0,5µl
	dNTPs (2mM)	2,5µl
	H_2O (steril, bidest.)	18,35µl
	Primer 8_F (10 µM)	0,5µl
	Primer 8_R (10 µM)	0,5µl
	AmpliTaq Polymerase (Invitrogen)	0,15µl

Mastermix für entsprechende Probenzahl ansetzen, 25µl Mix je Probe in PCR-Gefäße pipettieren, je 2µl genomische DNA dazugeben.

Cycler-Programm:
94°C für 2 min
35x (94°C für 30 s - 56°C für 40 s - 72°C für 1 min)
72°C für 7 min
4°C bis unendlich

Nach der PCR:
10µl je Probe in Mikrotiterplatte zu 2µl Bromphenolblaupuffer pipettieren, mischen, auf 2% Agarosegel (70ml 1xTBE + 1,4g Agarose) auftragen
DNA-Standard: 3µl 50bp-DNA-Leiter (MBI Fermentas)
Elektrophorese bei 100 Volt für 40 min
20 min färben in 2ml 50xTAE + 98ml H_2O + 10µl Ethidiumbromid
positive Proben haben eine 241 bp-Bande und können mit *Cfr13I* verdaut werden

Cfr13I-Restriktion:
15µl PCR-Produkt mit 5 µl Enzymmastermix versetzen

Enzymmastermix:	Bidest. Wasser	1,5µl
	Puffer Y*	2µl
	Cfr13I	1,5µl

12h bei 37°C inkubieren

Elektrophorese:
10µl je Probe mit 2µl Bromphenolblaupuffer pipettieren
auf 3%iges Agarosegel (120ml 1xTBE + 3,6g Agarose)

auftragen
DNA-Standard: 3µl 50 bp-DNA-Leiter (MBI Fermentas)
Elektrophorese bei 100 Volt für 120 min
20 min färben in 2ml 50xTAE + 98ml H_2O + 10µl Ethidiumbromid

A7 Laborprotokoll MAO-Polymorphismus

40µl PCR-Mastermix:	10x Puffer (Invitrogen)	4,0µl
	$MgCl_2$ (50mM)	1,2µl
	dNTPs (2mM)	4,0µl
	MAOaPT1 (10µM)	2,0µl
	MAOaPB1 (10µM)	2,0µl
	Taq-Polymerase	1,0µl
	H_2O (steril, bidest)	23,8µl
	DMSO	2,0µl

Mastermix für entsprechende Probenzahl ansetzen, 40µl Mix je Probe in PCR-Gefäß pipettieren, je 2µl genomische DANN dazugeben.

Cycler-Programm:
94°C für 2 min
32x (95°C für 1 min – 61°C für 1 min – 72° für 1 min)
72°C für 7 min
4°C für unendlich

Elektrophorese:
10µl PCR-Produkt je Probe in Mikrotiterplatte zu 2µl Bromphenolblaupuffer pipettieren, auf 3%-iges Agarosegel (70ml 1xTBE + 2,1g Agarose) auftragen
DNA-Standard: 3µl 50 bp-DNA-Leiter (MBI Fermentas)
Elektrophorese für 120 min bei 120 V
20 min färben in 2ml 50xTAE + 98ml H_2O + 10µl Ethidiumbromid

Danksagung

Ich danke Frau Prof. Dr. Julia Stingl für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die Möglichkeit, den experimentellen Teil der Arbeit am Institut für Klinische Pharmakologie der Universität Ulm durchzuführen.

Bei Herrn Dr. Roberto Viviani, PhD an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie Ulm, bedanke ich mich für die engagierte und geduldige Betreuung meiner Arbeit. Weiterer Dank gilt Frau Dr. Dipl.-Psych. Eun-Jin Sim für ihre Hilfe bei der Datenerhebung sowie allen Probanden, die diese Arbeit ermöglicht haben.

Meiner Familie danke ich für die Unterstützung und das Vertrauen, das sie in mich gesetzt hat**.**

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Marlene Veser, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema „Zusammenhang zwischen *NET*1287- und *MAOA*-Polymorphismen und emotionalen Verarbeitungsprozessen im Scrambled Sentences Test“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.