

Aus der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen  
Abteilung Psychiatrie und Psychotherapie mit Poliklinik  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. G. Buchkremer

**Einfluss genetischer Polymorphismen im dopaminergen  
System und der mit dem dopaminergen System  
assoziierten Persönlichkeitsmerkmale auf das  
Rauchverhalten**

Inaugural – Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
Zu Tübingen

vorgelegt von  
CLAUDIA CHRISTINE BAJINSKI

aus  
Waiblingen

2008

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Batra

2. Berichterstatter: Professor Dr. O. Rieß



<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	TABAKABHÄNGIGKEIT .....	1
1.2	ÄTIOLOGIE DER TABAKABHÄNGIGKEIT .....	4
1.3	GENETISCHE ASPEKTE .....	6
1.4	KANDIDATENGENE FÜR DAS RAUCHVERHALTEN .....	8
1.5	DAS DOPAMINERGE SYSTEM.....	9
1.6	RAUCHEN, DOPAMIN UND PSYCHOPATHOLOGIE AM BEISPIEL VON ADHD UND NOVELTY SEEKING-PERSÖNLICHKEIT .....	13
1.7	FRAGESTELLUNG.....	17
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>18</b>
2.1	SUBSTANZEN UND LÖSUNGEN .....	18
2.1.1	<i>DNA-Isolierung:</i> .....	18
2.1.2	<i>PCR-Ansatz</i> .....	18
2.1.3	<i>Gelelektrophorese</i> .....	19
2.1.4	<i>Restriktionsverdau</i> .....	20
2.1.5	<i>Verwendete Geräte, Hilfsmittel und Gefäße</i> .....	21
2.2	VERSUCHSDESIGN .....	22
2.3	PROBANDEN .....	22
2.4	TESTINSTRUMENTE .....	23
2.4.1	<i>FTND</i> .....	23
2.4.2	<i>ADHD – Checkliste</i> .....	23
2.4.3	<i>TPQ</i> .....	24
2.5	MOLEKULARGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN .....	25
2.5.1	<i>Gewinnung und Aufbewahrung</i> .....	25
2.5.2	<i>DNA-Isolierung</i> .....	25
2.5.3	<i>Spektrometrische Konzentrationsbestimmung der DNA</i> .....	26
2.5.4	<i>Untersuchte Polymorphismen</i> .....	26
2.5.5	<i>Polymerasenkettenreaktion (PCR)</i> .....	26
2.5.6	<i>PCR-Kontaminationsprävention</i> .....	28
2.5.7	<i>Agarosegelelektrophorese</i> .....	28
2.5.8	<i>Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse</i> .....	29
2.6	STATISTISCHE AUSWERTUNG .....	30

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>32</b>
3.1	VERANSCHAULICHUNG DER AGAROSEGELELEKTROPHORESE .....	32
3.2	STATISTISCHE ERGEBNISSE .....	33
3.2.1	<i>Stichprobenbeschreibung</i> .....	33
3.2.2	<i>Genotyp- und Allelfrequenzen</i> .....	36
3.2.3	<i>Voranalysen psychologischer Variablen</i> .....	38
3.2.4	<i>Genetische Hypothesen</i> .....	38
3.2.5	<i>Lineare Regression der dopaminergen Polymorphismen</i> .....	39
3.2.6	<i>Explorative univariate Analyse</i> .....	44
3.2.7	<i>Einfluss genetischer Variablen auf die Abstinenz</i> .....	44
3.2.8	<i>48-Basenpaar-Genotyp</i> .....	46
3.3	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE .....	50
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>51</b>
4.1	DAS DOPAMINERGE SYSTEM .....	51
4.2	PERSÖNLICHKEIT UND GENETIK .....	53
4.3	EINFLUSS VON PERSÖNLICHKEITSVARIABLEN AUF DAS RAUCHVERHALTEN .....	55
4.4	INTERAKTION VON GENETIK UND UMWELT .....	56
4.5	WEITERFÜHRENDE ÜBERLEGUNGEN .....	57
4.6	AUSBLICK .....	59
4.7	SCHLUSSFOLGERUNG .....	61
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>73</b>
7.1	FAGERSTRÖM-TEST FÜR NIKOTINABHÄNGIGKEIT .....	73
7.2	ADHD-CHECKLISTE-ERWACHSENEN NACH DSM-IV.....	74

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

A	Adenosin
ADHD	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Disorder
ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom
Bp	Basenpaar
C	Cytosin
CYP	Cytochrom
DAT	Dopamintransporter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNTP	Desoxynukeotidtriphosphate
DRD2	Dopaminrezeptor 2
DRD4	Dopaminrezeptor 4
EDTA	Ethylene diamine tetraacetid acid
et al.	et alii (und andere)
G	Guanin
l	Liter
M	Molar
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mM	Millimolar
ng	Nanogramm
NS	Novelty Seeking
OD	Optische Dichte
PCR	polymerase chain reaction
SDS	Sodiumdodecylsulfate
SS	Sensation Seeking
T	Thymidin
TRIS	Tri(hydroxymethyl)aminomehtan
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µm	Mikromolar

# 1 Einleitung

## 1.1 Tabakabhängigkeit

Lange galt Rauchen als Ausdruck einer modernen, positiven Lebensphilosophie. Erst spät wurde man sich der gesundheitlichen Schädigung durch den Tabakkonsum bewusst. Dies erklärt auch, warum die „Tabakabhängigkeit“ erst 1991 als Krankheitsbegriff in die 10. Version der Internationalen Klassifikation der Krankheiten (ICD-10) aufgenommen worden ist (Dilling et al. 2006).

Als ursprüngliche Heimat der Tabakpflanze (*Nicotiana tabacum*) gilt Amerika, bereits vor Jahrhunderten nutzten Indianer die berauschende Wirkung zu kultischen Zwecken. Im Gegensatz zu den nordamerikanischen Indianern, welche den Tabak in Pfeifen rauchten, zeigten sich die südamerikanischen Indianer vielfältiger im Konsum (schnupfen, kauen). Die heute gängigste Konsummethode besteht im Rauchen von Zigaretten. Über die Seefahrer von Kolumbus gelangte der Tabak nach Europa.

Derzeit werden weltweit pro Jahr etwa 6 Billionen ( $6 \times 10^{12}$ ) Zigaretten geraucht. Allein in Deutschland beträgt der Rauchkonsum circa 1.650 Zigaretten pro Person über dem 15. Lebensjahr (Batra 2000). Fast 27.4% der über 15jährigen bezeichnen sich als Raucher (Mikrozensus 2003), die Entwicklungstendenz ist „positiv“ hin zum vermehrten Konsum.

Der Tabakrauch enthält nach heutigen Erkenntnissen mehr als 4.000 Inhaltsstoffe. Neben dem bekanntesten, Nikotin, finden sich auch Stoffe, welche in Tierversuchen eine karzinogene Wirkung zeigen. Laut der „International Agenda for Research on Cancer“ (IACR 1972-2000) konnte dies für 11 Substanzen eindeutig gesichert werden, bei 8 wird die Wahrscheinlichkeit als sehr hoch eingestuft und bei weiteren 48 ist dies möglich. Unter anderem gehören dazu Arsen, Benzen, Cadmium und Nickel.

Aufgrund der Wirkungen des Nikotins auf neurochemischer Ebene, welche diverse neurophysiologische Effekte hervorrufen, geht man davon aus, dass Nikotin bei der Entstehung der Tabakabhängigkeit eine zentrale Rolle spielt.

Nikotin gilt als eines der stärksten Pflanzengifte, welches bei einer Zufuhr von ca. 1mg/kg Körpergewicht tödliche Folgen zeigt (DHS, 2005). Eine Zigarette enthält ca. 3-6mg Nikotin. Es ist ein farbloses, mit Wasser mischbares Aliphat, von tabakähnlichem Geruch, welches sich an der Luft rasch braun färbt. Sein Wirkungsspektrum auf neuronaler Ebene zeigt sich durch die mittelbare Freisetzung/Blockade von Transmittern wie Dopamin, Noradrenalin, Acetylcholin, 5-Hydroxytryptamin, Gamma-Aminobuttersäure und  $\beta$ -Endorphinen sehr vielfältig (Heinz & Batra, 2000). Entsprechend der zugeführten Dosis können unterschiedliche Wirkungen beobachtet werden, man spricht auch vom sogenannten „bivalenten Wirkspektrum“ des Nikotins: Bei Zufuhr hoher Dosen zum Beispiel zeigt sich (durch eine cholinerge Blockade sowie auch einer erhöhten  $\beta$ -Endorphin-Freisetzung bedingt) eine sedierende Wirkung, man wird entspannter und beruhigter, ebenso wirkt es anxiolytisch (Heinz & Batra, 2000). Im Gegensatz dazu zeigt sich bei der Zufuhr niedriger Dosen (durch eine cholinerg-katecholaminerge Aktivierung) eine aktivierende Wirkung mit Erhöhung der Leistungsfähigkeit (erhöhte Aufmerksamkeit, verbesserte Leistung bei sich wiederholenden Aufgaben) und einer Veränderung der Stimmungslage (Genussempfinden wird erhöht, es wirkt anregend) (Heinz & Batra, 2000). Darüber hinaus zeigt es Einfluss auf das Körpergewicht (durch Herabsetzen des Hungergefühls, Stoffwechselforgänge werden beschleunigt, es kommt zur Gewichtsreduktion). Bei wiederholten Gaben entwickelt sich, vermutlich durch eine Vermehrung der nikotinergeren Acetylcholinrezeptoren, eine Neuroadaption mit den Folgen einer Toleranzentwicklung und einer Entzugssymptomatik (Heinz & Batra, 2000). Letztere geht einher mit Gereiztheit, Unruhe, Schläfrigkeit, Konzentrationsschwierigkeiten, Leistungsbeeinträchtigung, Hunger, Gewichtszunahme, Schlafstörungen und einem starken Verlangen nach Zigaretten. Nicht zu vergessen sind ebenso psychische Erscheinungen wie Nervosität, Angst oder gar depressive Verstimmungen (Heinz & Batra, 2000). Nebst der zentralen Wirkung zeigen sich auch periphere Effekte des Nikotins wie eine Vasokonstriktion, eine Zunahme der Herzfrequenz, ein Blutdruckanstieg, eine Abnahme des Hautwiderstandes und ein Absinken der Hauttemperatur (Batra, 2000).



Nach dem Diagnostischen Statistischen Manual (DSM IV, Saß et al. 2003) der Amerikanischen Psychiatrischen Gesellschaft und dem ICD-10 (Dilling et al. 2006) wird eine Nikotin- bzw. Tabakabhängigkeit dann angenommen, wenn mindestens 3 von folgenden 6 Beurteilungskriterien (bei DSM IV: 7 Kriterien) im Verlauf des letzten Jahres erfüllt sind:

1. Zwanghafter Wunsch, Tabak zu konsumieren.
2. Verminderte Kontrollfähigkeit über den Beginn, die Beendigung und die Menge des Tabakkonsums.
3. Toleranzentwicklung.
4. Entzugerscheinungen.
5. Fortschreitende Vernachlässigung anderer Interessen oder Vergnügen im Interesse des Tabakkonsums.
6. Rauchen trotz detaillierten Wissens über die vorhandenen Gesundheitsschäden.

Laut den Leitlinien der Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft aus dem Jahre 2001 erfolgt die Therapie der Tabakabhängigkeit optimalerweise mittels einer Kombination aus einer nichtmedikamentösen Therapie (bevorzugt Verhaltenstherapie) und einer Pharmakotherapie im Sinne einer Nikotinersatztherapie (Nikotin mittels Pflaster, Kaugummi, Tablette, Inhaler oder Nasenspray) oder alternativ mit dem seit 2000 für die Raucherentwöhnung zugelassenen Antidepressivum Bupropion.

## 1.2 Ätiologie der Tabakabhängigkeit

Grundlegend stellt sich die Frage, warum einige Raucher einen gelegentlichen Konsum betreiben können, während andere eine starke Abhängigkeit entwickeln.

Allgemein betrachtet erben wir nicht direkt die Disposition zum Rauchen oder generell zur Abhängigkeitsentwicklung. Vielmehr erben wir Variationen in Struktur und biochemischer Zusammensetzung unterschiedlicher Systeme, wie dem endokrinen oder dem Nervensystem. Diese Strukturvarianten führen dazu, dass wir individuelle Dispositionen entwickeln, welche unterschiedlich auf Affekt, Verhalten, Kognition oder Umwelt reagieren (Zuckerman 1992, zit. nach Gilbert & Gilbert, 1995) und deren Interaktion ebenso eine Rolle spielen. Dies verdeutlicht, dass bei der Entstehung der Tabakabhängigkeit kein isolierter Auslöser, sondern multifaktorielle Ursachen eine Rolle spielen.

Ein Modell von Swan et al. (2003) für die Entstehung einer Tabakabhängigkeit geht von einem integrativen Modell aus: Sowohl Umwelt als auch die genetische Disposition beeinflussen gleichermaßen Faktoren wie Vulnerabilität (zum Beispiel Komorbidität wie Angsterkrankung, Depression, Alkoholabhängigkeit, Substanzmissbrauch oder eine dissoziale Persönlichkeitsstörung), Rauchgewohnheiten (Rauchbeginn, Rauchmenge, Zeit bis zum regelmäßigen Konsum, Eigenschaften des Suchtstoffes, Entzugssymptomatik), Rauchmotivation (positive Stimulation, psychosozialer Druck, automatisierte Verhaltensweisen), Nikotinabhängigkeit (körpereigener Nikotinmetabolismus, Rauchmenge) als auch Verstärkermechanismen (Entzugssymptomatik, positive Verstärkung), welche allesamt in ihrer Interaktion zu einer Abhängigkeitsentwicklung führen können.

Eine Metaanalyse der verfügbaren Zwillingsstudien zur Heredität des Rauchens von Sullivan und Kendler (1999) kommt zu dem Ergebnis, dass 54% der Varianzaufklärung für die Entstehung einer Tabakabhängigkeit durch genetische Faktoren erfüllt sind, welche damit Umgebungs- oder individuelle Faktoren dominieren.

Ausgehend von einem polygenetischen Ansatz wird angenommen, dass hieran sowohl Gene, die für die Expression von Neurotransmittern und deren Rezeptoren verantwortlich sind, als auch Gene, die den Abbau von Nikotin regulieren, beteiligt sind. Nebst der Beeinflussung multipler Neurotransmittersysteme, unter anderem des adrenergen, noradrenergen und serotonergen Systems, kommt insbesondere dem dopaminergen System eine wichtige Rolle zu. Man vermutet, dass die nikotinvermittelte Dopaminausschüttung in den mesolimbischen Strukturen – hier vor allem im Nucleus accumbens – Belohnungseffekte vermittelt, welche letztendlich für die Entwicklung einer Abhängigkeit relevant sein dürften (Brody et al. 2004).

Eine weitere Hypothese besagt, dass Persönlichkeitsvariablen mit Aktivitäten in Neurotransmittersystemen, welche wiederum vererblich sind, zusammenhängen. So bringt man eine ausgeprägte „Harm-Avoidance“ mit einer hohen serotonergen Aktivität in Verbindung, ein risikofreudiges Verhalten, beschrieben als „Novelty-Seeking“, mit einer geringen basalen Dopaminaktivität, eine hohe Anpassungstendenz mit einer geringen noradrenergen Aktivität und aggressives Verhalten mit einer Störung im serotonergen und GABAergen Haushalt zusammen (Etter et al. 2003).

Insbesondere bei Persönlichkeiten mit Störungen im Bereich der Hyperaktivität/Aufmerksamkeit wie z.B. ADHD ist der Raucheranteil mit 40% gegenüber der Allgemeinbevölkerung in Deutschland (26%) deutlich erhöht (Sullivan et al. 2001). Aber auch bei Störungen der Regulation aggressiver Impulse sowie bei einem ausgeprägten Novelty-Seeking konnte eine hohe Komorbidität mit Tabakabhängigkeit festgestellt werden (Heath et al 1995, Perkins et al. 2000, Etter et al 2003).

Aus psychologischer Sicht kann Abhängigkeit über ein lerntheoretisches Modell erklärt werden. Hierbei geht man davon aus, dass Verhalten durch positive (direkte Belohnung oder auch das Ausbleiben einer Bestrafung / aversiv erlebten Situation) und negative Konsequenzen (direkte Bestrafung oder das Ausbleiben einer positiven Verstärkung) geleitet wird. Darüber hinaus bestimmen auch soziale Modelle und intrinsische Erwartungen (kognitive Prozesse) das Aufrechterhalten eines Verhaltens. Psychoanalytisch betrachtet stellt das Rauchen beispielsweise eine unzureichende Konfliktlösung dar, in welcher aufgrund einer neurotischen Fehlhaltung (i.S. einer Regression) einer oralen Triebbefriedigung nachgegeben wird (Batra 2000).

### 1.3 Genetische Aspekte

Eine direkte, monogene Vererbung der Tabakabhängigkeit nach Mendel ist weder erwiesen noch wahrscheinlich. Im Gegensatz zu Mendel'schen Erbmustern, die eine Merkmalsausprägung zu 100% erklären, geht man bei der Entwicklung einer Tabakabhängigkeit von einem genetischen Anteil von weniger als 50% aus, obwohl unter bestimmten Voraussetzungen (Selektion der untersuchten Stichprobe) die Schätzungen bis zu 70-95% gehen (Noble 2003). Hier stellt sich nun die Frage, ob ein spezifisches „Sucht-Gen“ existiert oder vielmehr eine polygene Vererbung vorliegt und welche der ungefähr 30.000 Gene im menschlichen Genom dafür verantwortlich sein könnten.

Die Erbgutinformationen des menschlichen Organismus werden durch Gene, welche in Form der Desoxyribonukleinsäure (DNA) vorliegen, weitergegeben. Bereits 1869 wurde die DNA als „Nuklein“ von Friedrich Miescher entdeckt, der jedoch deren Struktur und Funktion noch nicht bestimmen konnte. Dies gelang erst James Watson und Francis Crick im Jahre 1953, wofür sie 1962 den Nobelpreis erhielten. Die Bausteine der DNA bestehen aus Nukleotiden mit der Desoxyribose, einem Phosphatrest sowie insgesamt 4 Basen (Adenin, Guanin, Thymin, Cytosin). Ein potentieller Austausch einzelner Basen führt zu einer genetischen Variation, am häufigsten dem sogenannten Single Nucleotide Polymorphism (SNP). Weitere Veränderungen der Chromosomenstruktur können sich durch z.B. durch Deletion, Duplikation, Insertion, Inversion oder Translokation ergeben. Man schätzt, dass etwa 3-10 Millionen unterschiedlicher SNPs in der Weltbevölkerung existieren und beinahe 90% der menschlichen genetischen Variabilität repräsentieren.

Um der Frage der „verantwortlichen“ Gene nachzugehen, stehen unterschiedliche epidemiologische und molekulargenetische Untersuchungsmethoden zur Verfügung. Nebst Familienstudien (Vergleich Anteil erkrankter Familienmitglieder versus gesunder) sowie deren Sonderformen in Form von Zwillingsstudien (Vergleich zwischen eineiigen Zwillingen (EZ) und zweieiigen Zwillingen (ZZ) erlaubt eine Aussage über den genetischen Anteil einer Erkrankung. Die Konkordanzrate entspricht hierbei dem Anteil eines Merkmals eines Zwillingspaares bezogen auf die

Gesamtgruppe eines Zwillingsstyps) und Adoptionsstudien (Merkmalsvergleich zwischen Adoptierten, Adoptiveltern und leiblichen Eltern) sind vor allem Assoziations- und Kopplungsstudien von Interesse.

Assoziationsstudien arbeiten mit sogenannten „Kandidatengeneten“. Das heißt, eine Person wird aufgrund eines Phänotyps / einer Merkmalsausprägung einer Gruppe zugeordnet, welche mit einer Kontrollgruppe hinsichtlich der Allelfrequenz in einem definierten, bekannten Kandidatengen verglichen wird.

Im Gegensatz dazu wird bei Kopplungsstudien das gesamte Genom systematisch untersucht. Man greift auf genetische Polymorphismen zurück, deren Lokalisation bekannt ist und die auf die zu untersuchenden Regionen verteilt sind. Die Pathogenese muss dabei nicht gesichert sein.

## 1.4 Kandidatengene für das Rauchverhalten

Nikotin zeigt eine komplexe Wirkung auf das Neurotransmittersystem, aufgrund dessen wird ein kumulativer Effekt verschiedener Gene auf das erhöhte Risiko einer Abhängigkeitsentwicklung vermutet:

Rund 80% des Nikotins wird in der Leber durch die Enzyme CYP2A6 (zu 90% verantwortlich) und CYP2D6 über die sogenannte C-Oxidation zu Cotinin metabolisiert und dann über die Niere ausgeschieden. Aufgrund dessen könnte man vermuten, dass genetische Variabilität in diesem System Einfluss auf die Entstehung und das Ausmaß einer Tabakabhängigkeit haben könnte.

Über die Bindung von Nikotin an präsynaptische nikotinerge Acetylcholinrezeptoren erfolgt eine Dopamin-Ausschüttung im mesolimbischen System, hier vor allem im Nucleus accumbens, die für das hohe Suchtpotential verantwortlich gemacht werden. Man geht außerdem davon aus, dass es zu einer Vermehrung des Acetylcholinrezeptors kommt, der sogenannten „Up-Regulation“ (Buisson & Bertrand, 2001).

Ein anderes Beispiel geben Untersuchungen zum Tryptophan-Hydroxylase-Gen, welches an der Biosynthese von Serotonin beteiligt ist, die einen signifikanten Zusammenhang mit dem Rauchbeginn, nicht jedoch bezüglich der Aufrechterhaltung des Konsums (Lerman et al. 2001, Sullivan et al. 2001) zeigen.

Nikotin stimuliert die Dopaminfreisetzung im Nucleus accumbens. Man vermutet, dass dies Belohnungseffekte vermittelt, welche wesentlich an der Entstehung der Tabakabhängigkeit beteiligt sind (Batra et al. 2003). Ebenso konnten Zusammenhänge von Rauchern mit diversen genetischen Polymorphismen des Dopaminrezeptors und des Dopamintransporters gezeigt werden (Bierut et al 2000, Comings et al. 1995, Spitz et al. 1998). Aufgrund der Annahme, dass über die Belohnungseffekte des Rauchens ein hohes Suchtpotential entsteht, soll im Folgenden näher auf diesen Aspekt eingegangen werden.

## 1.5 Das Dopaminerge System

Das dopaminerge System spielt beim Konsum psychotroper Substanzen eine wichtige Rolle in Bezug auf die Verstärkerwirkung und somit die Abhängigkeitsentwicklung: Bei Tierversuchen an Ratten stellten Olds und Milner bereits 1954 (Olds und Milner 1954, zit. aus Pinel 2000) fest, dass diese bereitwillig wiederholt einen Hebel betätigten, um sich dadurch selbst kurze Stromstöße in bestimmten Hirnregionen zu verabreichen. Dieses Phänomen wird als intracranielle Selbstreizung bezeichnet. Man nimmt an, dass in diesen Hirnregionen im Normalfall die angenehmen Effekte von Belohnungsreizen wie Nahrung oder Wasser vermittelt werden. Es erstreckt sich im Mittelhirn vom ventralen Striatum bis hin zum limbischen System.

Vergleichbare Ergebnisse erzielten DiChiara & Imperato gut 30 Jahre später (1988) anhand von Tierversuchen an Ratten. Sie konnten feststellen, dass Drogen, welche vom Menschen in missbräuchlicher Manier konsumiert werden (z.B. Alkohol, Opiate, Nikotin, Amphetamine und Kokain) die extrazelluläre Dopaminkonzentration im Bereich des Nucleus accumbens (hier schwerpunktmäßig) und des dorsalen Nucleus caudatus erhöht; während hingegen der Konsum aversiver Stoffe (z.B. U50, 488, Tifluadom, Agonisten vom K-opioid-Rezeptoren) eine eindeutige Reduktion der Dopaminkonzentration bewirken.

Neuere Studien weisen die Effekte der präsynaptischen Aktivität von Nikotin auf Dopamin mittels PET-Untersuchungen nach. Dabei fand sich bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern eine signifikant höhere Dopaminkonzentration sowohl im Putamen (durchschnittlich 17.3% höher) als auch in der Cauda-Region (durchschnittlich 30.4% höher) (Salogangas et al. 2000). Dieser positive Effekt konnte in weiteren Studien bestätigt werden (Brody et al. 2004, Zubieta et al. 2005).

Doch nicht nur Dopamin als Neurotransmitter, sondern auch die zugehörigen Rezeptoren und Transporter rückten ins Interesse der Untersuchungen.

Bei den Dopaminrezeptoren unterscheidet man zwischen D1- (weitere Unterteilung in Subgruppe D1 und D5) und D2-Rezeptoren (weitere Unterteilung in Subgruppe D2, D3, D4), zusätzlich existiert ein Dopamintransporter. Relevant bei der Entstehung der Suchterkrankung scheinen vor allem der Dopamintransporter und D2-Rezeptor (DRD2) zu sein.

Der Genort des DRD2 ist auf dem Chromosom 11 im Bereich von 11q22.2 – 11q22.3 lokalisiert. Viele hier durchgeführte Untersuchungen bezogen sich auf alkoholranke Patienten (Blum et al 1990, Blum et al. 1991, Connor et al. 2002, Hietala et al. 1997, Heinz et al. 2000, Kono et al 1997, Lawford et al 2000, Noble et al. 1993, Noble et al. 1994, Spitz et al 1998). Häufig konnte ein erhöhtes Vorkommen des TaqIA-Alles bei alkoholranke Patienten beobachtet werden, insgesamt blieb die Datenlage jedoch uneinheitlich.

Erst in den vergangenen Jahren wurden auch Studien an Rauchern durchgeführt, häufig untersuchte Polymorphismen sind vor allem das TaqIA- und TaqIB-Allel.

Aufgrund guter Vergleichsmöglichkeiten mit anderen Studien wurde in dieser Studie ein Zusammenhang des Rauchens mit dem TaqIA-Polymorphismus (rs1800497) untersucht. Der Polymorphismus entsteht aus einem einzelnen Nukleotidaustausch von C nach T. Der Polymorphismus ist 10.541 Basenpaare hinter dem Stopcodon von DRD2 in der untranslatierten Region des 3'-Endes des DRD2-Genes zu finden. Einen neuen und interessanten Aspekt warf die Studie von Swan et al. (2005) auf, der feststellen konnte, dass der TaqA1-Polymorphismus ein nicht-synonymer Polymorphismus im angrenzenden Gen für das Ankyrin-Repeat und Kinase-Enzym (ANKK1) ist. Dies stellt zur Diskussion, über welchen Mechanismus ein positives Assoziationssignal vermittelt werden könnte. Auf der Basis der bisherigen Untersuchungen beziehen wir uns in dieser Studie weiterhin auf DRD2 (TaqA1).

Comings et al. konnte 1995 in einer groß angelegten Studie mit 312 Rauchern und insgesamt 714 Kontrollen ein signifikant erhöhtes Vorkommen von TaqA1 bei Rauchern (48.7%) versus Nichtrauchern (25.7%) feststellen. Entsprechende Tendenzen zeigten sich in einer Studie von Spitz et al. (1998), welche 157 an Lungen-Carcinom erkrankte Patienten auf raucheranamnestische Daten, jetziges Rauchverhalten und genetische Variablen (TaqA1, TaqB1) hin untersuchte. Zwar



konnten keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden, jedoch zeigten sich positive Assoziationen zu einer höheren TaqB1-Prävalenz bei Rauchern. Im Gegensatz dazu konnten Bierut et al. (2000) keinerlei Assoziationen zwischen Rauchverhalten und Polymorphismen im dopaminergen System (TaqA1, TaqB1) feststellen.

Der Dopamin-D4-Rezeptor gleicht in seiner Struktur dem Dopamin-D2-Rezeptor (Van Tol 1992). Er wird in der Schale des Nucleus accumbens exprimiert und liegt telomernah auf Chromosom 11p. In Exon 3 findet sich ein sogenannter VNTR-Polymorphismus (Variable Number of Tandem Repeat), auch als Minisatellitensequenz bezeichnet, welcher in dieser Studie untersucht wird. Hierbei handelt es sich um einen Längenpolymorphismus, welcher durch unterschiedliche Anzahl von Wiederholungen (2 bis 11) eines 48 Basenmotivs entsteht. Häufige Allele sind das Allel 2 (8.8%), das Allel 4 (65.1%) und das Allel 7 (19.2%) (Ding et al. 2002, Vallender & Lahn, 2004), wobei Schwankungen der Verteilung populationsabhängig zu sein scheinen. So kann zum Beispiel das 7-Repeat-Allel, welches durchschnittlich zu ca. 20% vorliegt, in den USA durchschnittlich zu 48.3% gefunden werden, in Asien hingegen lediglich durchschnittlich zu 1.9% (Chang et al. 1996). Beim 4-R-Allel scheint es sich evolutionstechnisch um das älteste Allel zu handeln, durch Genkonversion entstand das 7-R- und 2-R-allel, es handelt sich hierbei um jüngere Mutationsereignisse. Die Relevanz ist bisher unklar. Hypothesen, dass einzelne Varianten unterschiedliche Einflüsse auf die Signalübertragung haben könnten, konnten jedoch nicht bestätigt werden (Van Tol et al. 1992). Ding et al. (2002) konnte durch Untersuchung mehrerer Marker im DRD4 zeigen, dass bestimmte Allelsequenzen „en bloque“ weitergegeben werden, als so genannte „Haplotypen-Block“. Insgesamt bleibt die biologische Relevanz der einzelnen Allele jedoch weiterhin unklar.

Auf der Suche nach Funktionsunterschieden zwischen den so genannten „kurzkettigen Allelen“ (bis zu 6 Repeats) und den „langkettigen Allelen“ konnte bisher kein klarer Hinweis gefunden werden (Ono et al. 1997).

Direkte Assoziationen zwischen Rauchen und DRD4 konnten bisher nicht gefunden werden, jedoch wurden Assoziationen zwischen dem 7-Repeat-Allel und ADHD sowie Novelty Seeking beobachtet (Ding et al. 2002).

Das Dopamintransporter-Gen (DAT, SLC6A3-Gen) ist auf Chromosom 5 im Bereich 5p15.3 lokalisiert.

Wir untersuchten hier den SNP rs2617604, welcher aus einem Basenaustausch von C nach T entsteht. Als Resultat entsteht aus der Aminosäure Phenylalanin an Position **XXX** Leucin. Der Polymorphismus befindet sich im Exon 2 an der Position 1425927.

Roman et al. (2001) berichtet über einen signifikanten Zusammenhang des DRD4-7-Repeat-Allels und des Dopamintransporters-10-Repeat-Allels mit Symptomen der Hyperaktivität oder Impulsivität. Es konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang mit dem Aufmerksamkeitsdefizit & Hyperaktivitätssyndrom (ADHD) gefunden werden.

Zusammenhänge des dopaminergen Systems sowohl mit Rauchvariablen als auch mit genetisch determinierten Persönlichkeitsmerkmalen stellt die Frage nach einer hypothetischen Dreiecksverbindung:

Inwieweit haben genetische Polymorphismen direkten Einfluss auf das Rauchverhalten oder aber indirekt über die genetisch determinierten Persönlichkeitsmerkmale, welche wiederum per se ein erhöhtes Risiko für eine Suchtentwicklung darstellen.

Aufgrund der beschriebenen hohen Komorbiditäten von ADHD und NS mit Rauchen konzentrieren wir uns auf diese Subgruppe und untersuchten potentielle Zusammenhänge zwischen Rauchen und Psychopathologie am Beispiel von Merkmalen des ADHD und Novelty Seeking.

## 1.6 Rauchen, Dopamin und Psychopathologie am Beispiel von ADHD und Novelty Seeking-Persönlichkeit

Der genaue ätiologische Hintergrund zur Entstehung der Krankheitsbildes des Aufmerksamkeits-Defizit und Hyperaktivitäts-Syndroms, kurz ADHD, ist bisher nicht genau bekannt. Vermutet werden sowohl Umweltfaktoren (z.B. frühe Entbehrungen, Rauchen der Mütter während der Schwangerschaft) als auch genetische Faktoren (Castellanos & Tannock 2002, Faraone et al. 1999, Faraone et al. 2000). Die Beobachtung, dass indirekte Dopaminagonisten wie Amphetamine und Methylphenidat die Symptomatik der Erkrankung deutlich reduzieren, legt die Annahme nahe, dass ein Dopamin-Mangel als ursächlicher Faktor vorliegt, die sogenannte „Katecholaminhypothese“.

Auch eine genaue Diagnostik des ADHD erweist sich als schwierig. Die Ursache mag darin liegen, dass kein einheitliches Krankheitsbild vorliegt, sondern unterschiedliche Symptome mit unterschiedlichsten Ausprägungen vorliegen können, aber nicht müssen. Eine hohe Rate komorbider Erkrankungen, wie z.B. depressive Syndrome, Angststörungen, antisoziale Persönlichkeitsstörungen, Tourette-Syndrom oder Substanzmissbrauch erschweren die Diagnosestellung. Lange galt die Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHD) als eine ausschließlich im Kindesalter vorkommende Erkrankung. Heutzutage schätzt man, dass ein bis zwei Drittel der betroffenen Kinder auch noch im Erwachsenenalter unter erheblichen Beeinträchtigungen leiden. In verschiedenen Lehrbüchern wird eine Prävalenzrate von 1-10% angegeben, mit deutlicher Bevorzugung des männlichen Geschlechts im Verhältnis 3:1 bis 4:1.

Generell sind folgende Symptome häufig anzutreffen:

Die **Aufmerksamkeits- und Konzentrationsstörung** kann sich in vielerlei Hinsicht bemerkbar machen. So können zum Beispiel die Lesefaulheit von Erwachsenen mit überdurchschnittlicher Intelligenz oder bevorzugtes nächtliches Arbeiten ohne störende Außenreize Hinweise hierauf sein.

**Motorische Störungen** äußern sich vor allem in einer motorischen Hyperaktivität. Während dies bei Kindern offensichtlich ist („Zappelphilipp“) zeigen Erwachsene in diskreterer Form akathisie-ähnliche Symptome, Entspannungsprobleme und in verstärktem Maße eingesetzte körperliche Betätigung. Ausdruck für die Impulsivität können ein vermehrtes Redebedürfnis, motorische Aktivitäten ohne vorherige Risikoeinschätzung oder ein impulsiver Kontrollverlust sein.

Auch eine **Desorganisation** sowohl im beruflichen wie auch im privaten Bereich sind typische Symptome der ADHD im Erwachsenenalter. Dieses kann sich zum Beispiel durch einen chaotischen Arbeitsplatz oder Wohnung bemerkbar machen.

**Gestörtes Sozialverhalten** wird häufig im Sinne eines oppositionellen Trotzverhaltens bemerkt.

Aufgrund des mangelnden Gefühls für Konventionen und Grenzen können diese Patienten nur **wenig persönliche Beziehungen** zu ihren Mitmenschen aufbauen.

Unter **emotionaler Instabilität** versteht man Stimmungsschwankungen von ausgeprägten Hochs bis zu depressiven Tiefs, welche zum Teil innerhalb kurzer Zeit auch ohne erkennbare Ursache wechseln können.

Ein weiteres auffälliges Symptom zeigt sich in einer ausgeprägten **Frustrationsintoleranz** in Belastungssituationen. Bei Stress kann es immer wieder zu impulsiven Ausbrüchen kommen.

Im Gegensatz dazu gestaltet sich die Erfassung der „Novelty-Seeking-Persönlichkeit“ einheitlicher. Cloninger (1987) postuliert drei hypothetische Persönlichkeitsdimensionen, die er mit Hilfe des „Tridimensional Personality Questionnaire“ (TPQ) abzubilden versucht. Er unterscheidet eine „Novelty-Seeking“-Persönlichkeit (NS), eine „Harm-Avoidance“-Persönlichkeit (HA) und in eine „Reward-Dependance“-Persönlichkeit (RD). Diese Persönlichkeitsstrukturen führt er auf zentrale neuronale Charakteristika zurück.

Bei der HA-Persönlichkeit wird ein veränderter Serotoninlevel vermutet. Der Phänotyp charakterisiert sich durch ein vermeidendes Verhalten in Verbindung mit einer deutlich erniedrigten Frustrationstoleranz.

Bei der RD-Persönlichkeit steht eine ausgeprägte Suche nach Anerkennung im Vordergrund. Hierbei wird ein veränderter Noradrenalin Spiegel angenommen.

Das Konzept der NS-Persönlichkeit hingegen geht auf Berichte von Marvin Zuckerman (1964,1994) zurück, der zu Beginn der 60er Jahre erstmalig ein

grundloses Aufsuchen von unter Umständen lebensbedrohlichen Risiken allein zum Zweck des Genusses charakterisierte. Die Risiken können dabei unterschiedlicher Natur wie zum Beispiel körperlicher, sozialer oder finanzieller Art sein. Die zugehörigen Erfahrungen können auf diversen Terrains wie Sport, sexuellen Aktivitäten oder aber im Drogenkonsum gemacht werden. Die NS-Persönlichkeit unterschätzt oder akzeptiert das Risiko als Einsatz für die Belohnung, welche ihm aus der Risikosituation entsteht. Demographische Untersuchungen zeigen, dass NS häufiger bei Männern vorkommt, zwischen dem 9. und 14. Lebensjahr beginnt und ein Maximum Ende der 20er Jahre erreicht.

Zwillingsstudien ließen bezüglich der Ätiologie des NS einen genetischen Anteil bis zu 42% vermuten (Young et al. 2000), die Studienlage bezüglich der relevanten „NS-Gene“ erweist sich als uneinheitlich. Während einige einen Zusammenhang mit dem serotonergen System vermuten (Greenberg et al. 2000, Herbst et al. 2000), legen andere die Vermutung nahe, dass ein „aktives“ Fragment im cerebralen Angiotensin-II-Gen (entstanden durch Deletion) eine Reihe von Hirnfunktionen beeinflusst, welche unter anderem die Modulation von extrovertiertem und impulsivem Verhalten steuert. Das Angiotensin-I-Converting-Enzym katalysiert die Konversion von Angiotensin I zum physiologisch aktiven Oktapeptid Angiotensin II, welches die Balance zwischen Flüssigkeit und Elektrolytgehalt kontrolliert. Es konnten signifikant höhere Werte von aktivem cerebralem Angiotensin II im Liquor bei Patienten mit einem hohen NS-Score gefunden werden (Shimizu et al. 2005).

Kontroverse Ergebnisse finden sich auch bei Zusammenhängen mit dem dopaminergen System. Einige Studien widerlegen diesen Zusammenhang (Sullivan et al. 1998, Pogue-Geile et al. 1998, Ono et al. 1997, Persson et al. 2000), andere fanden jedoch signifikante Ergebnisse. Noble et al. (1998) untersuchten 119 gesunde Patienten auf Zusammenhänge hinsichtlich ihrer Persönlichkeitsmerkmale (am Beispiel TPQ) und genetischen Polymorphismen im dopaminergen System (DRD2: TaqA1, TaqB1, Intron61, DRD4: 48bp). Es fanden sich signifikante Zusammenhänge zwischen einem erhöhten Level an „Novelty-Seeking“ und dem Vorkommen der TaqA1/TaqB1/Intron61-Polymorphismen bzw. weitaus signifikantere Werte wenn sich noch zusätzlich das 7-Repeat-Allel vorfand. Die signifikante Beziehung konnte zwischen „Reward-Dependence“ und den DRD2-Polymorphismen ebenfalls

gefunden werden, nicht jedoch zwischen „Reward-Dependence“, „Harm-Avoidance“ und anderen Polymorphismen.

Beispielsweise fanden Ekelund et al. (1999) in einer Gruppe von 4773 Personen 190 Probanden mit den höchsten NS-Scores beim Polymorphismen im DRD4-Rezeptor ein signifikant erhöhtes Vorkommen der 2- und 5-Repeat-Allele.

Ein interessanter Aspekt ist die hohe Kongruenz von NS-Persönlichkeit und Suchterkrankung. Hierbei zeigt sich, dass verhaltensauffällige NS-Persönlichkeiten unabhängig vom Geschlecht ein vielfach höheres Substanz-Mißbrauchs-Risiko im Allgemeinen aufweisen (Disney et al. 1999), häufig die Tabakabhängigkeit im Speziellen betreffend (Heath et al. 1995, Perkins et al. 2000, Etter et al. 2003).

Ob der Tabakkonsum dabei als Teilbefriedigung des Risikoverhaltens zu werten ist oder aber im Sinne einer Selbstmedikation bei hypothetischer Dopaminbeteiligung einen Ausgleich des dopaminergen Mangels schafft, ist offen.

## 1.7 Fragestellung

Genetische Varianten des dopaminergen Systems scheinen für die Entwicklung der Nikotinabhängigkeit von Bedeutung. Dabei konnten in den bisherigen Studien entweder Zusammenhänge zwischen Rauchverhalten und Polymorphismen des dopaminergen Systems gefunden werden (Spitz et al. 1998, Bierut et al. 2000, Comings et al. 1995), oder andererseits zwischen dem dopaminergen System und Persönlichkeitsmerkmalen, welche per se ein „Rauchrisiko“ darstellen (Noble et al. 1998, Ekelund et al. 1999).

In dieser Studie stellten wir die Frage nach der anteiligen Beeinflussung des Rauchverhaltens durch die genetischen dopaminergen Polymorphismen, unter Berücksichtigung der entsprechenden Persönlichkeitsvariablen.

Es wurde angenommen, dass bei stark abhängigen Rauchern, bei einer großen Anzahl der täglich gerauchten Zigaretten, einem frühen Rauchbeginn bzw. einer langen Rauchdauer in Jahren eine Assoziation zu Polymorphismen im dopaminergen Systems (DRD2: TaqA1, rs1800497; DRD4: VNTR 48bp; DAT: SLC6A3, rs2617604) gegeben ist. Darüber hinaus wurde eine partielle Mediation des Rauchverhaltens durch Persönlichkeitsvariablen vermutet.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Substanzen und Lösungen

#### 2.1.2000 DNA-Isolierung:

**Substanzen:**

Lysispuffer

White Cell Lysis Puffer

Protein-Lösung

100% Ethanol

70% Ethanol

Ampuwa

Proteinase K

SDS-Lösung

NaCl-Lösung

**Bezug:**

Roche Molecular Biochemicals

Roche Molecular Biochemicals

Roche Molecular Biochemicals

Merck, Darmstadt

Merck, Darmstadt

Fresenius Kabi Deutschland, Bad Homburg

Sigma

Roth

Merck, Darmstadt

**Lösungen:**

TE-Puffer

108g Tris base

40ml 0,5 M EDTA, pH8

add 1l H<sub>2</sub>O

#### 2.1.2001 PCR-Ansatz

**Substanzen:**

Ampuwa

PCR-Puffer mit MgCl<sub>2</sub>

dNTP-Set 100mM

DMSO

Taq-Polymerase

**Bezug:**

Fresenius Kabi Deutschland, Bad Homburg

Gene Craft, Germany

Invitrogen, UK

Fluka Chemie, Steinheim

Gene Craft, Germany



**Synthetische Oligonukleotide (Primer):**

Die Primer wurden von der Firma metabion hergestellt. Die Sequenzen der Primer für die Polymorphismen im DRD4, 48bp-repeat, sowie für den Dopamintransporter DAT wurden mit Hilfe des Programmes „genome“ herausgesucht. Das Primerpaar des CYP2A6\*2-Polymorphismus stammt aus dem Pyrosequencing Assay Protokoll (REF), das des DRD2-Polymorphismus aus Batra (2000).

**TaqIA (Batra, 2000)**

971-Forward            5' CCGTCGACGGCTGGCCAAGTTG-TCTA 3'

5014-Reverse            5' CCGTCGACCCTTCCTGAGTGTCATCA 3'

**DRD4 – 48bp-repeat**

2444-Forward            5' TCATGCTGCTGCTCTACTGG 3'

2445-Reverse            5' GTCTGCGGTGGAGTCTGG 3'

**Dopamintransporter DAT**

Forward                 5' GACTCATGTCTTCCGTGGTG 3'

Reverse                 5' GTAGCACAGGTAGGGGAACC 3'

**2.1.2002            Gelelektrophorese****Substanz:**

Agarosepulver

Ethidiumbromid-Lösung, 1%

100-bp DNA-Leiter

**Bezug:**

Invitrogen, UK

Roth

Invitrogen, UK

**Lösungen:**

10 x TBE-Puffer

108g Tris base

55g Borsäure

40ml 0,5 M EDTA, pH8

add 1l H<sub>2</sub>O

Agaroseblaupuffer

20 ml            5 x TBE

40 ml 20 % Ficoll (Typ 400 Sigma)

10 ml 0.1% Bromphenolblau  
auf 100 ml mit Aquadest auffüllen

**2.1.2003** Restriktionsverdau

**Substanz:**

Ampuwa

BSA

Enzyme

**Bezug:**

Fresenius Kabi Deutschland, Bad Homburg

Bio Labs, New England

Bio Labs, New England

### 2.1.2004      Verwendete Geräte, Hilfsmittel und Gefäße

Zentrifuge		Eppendorf, Hamburg
Falcon-Röhrchen 50ml		Cell Star, greiner bio-one
Wärmeschrank		Binder, Tuttlingen
Vortex-Gerät		Heidolph, Germany
Elektrophoresekammer		PeQ lab biotechnology
Gefrierschrank	-20 °C	Kirsch
	+4 °C	Kirsch
Gelkamera		Olympus
Laborwaage		Kern & Sohn, Balingen
Mikrowelle		LG
PCR-Geräte	PCR-System 9700	Applied Biosystem
	PTC – 200	Biozym, Oldendorf
Pipette	0.5 – 10µl	Eppendorf, Hamburg
	10 – 100 µl	Eppendorf, Hamburg
	100-1000µl	Eppendorf, Hamburg
	50 – 5000µl	Eppendorf, Hamburg
Schüttler		Bachhofer, Reutlingen
Wasserbad		GFL
Heizgerät	HLC HBT 130	Bovenden
Blutentnahmemonovette	EDTA	Sarstedt, Nümbrecht
Zentrifugenröhrchen	1.5ml/2ml	greiner bio-one
Elektrophoresegerät	Consort E835	Pharmacia, Freiburg

## 2.2 Versuchsdesign

Zwischen Juli 2002 und Dezember 2003 wurden insgesamt 241 Raucher einer verhaltenstherapeutischen Gruppentherapie (6 Sitzungen á 90 Minuten) in Verbindung mit einer Nikotinsubstitution unterzogen. Neben rauchanamnestischen und psychologischen Variablen wurden mögliche biologische Prädiktoren der Abhängigkeit und Abstinenzfähigkeit (genetische Polymorphismen der Neurorezeptoren Dopamin D2, D4 und Dopamintransportergen) erfasst. Für die molekulargenetische Untersuchung wurde DNA aus EDTA-Blut isoliert.

Es wurden Polymorphismen im DRD2 (TaqA1, rs1800497), DRD4 (VNTR-48-bp) und DAT (SLC6A3-Gen, rs2617604) untersucht.

## 2.3 Probanden

Genehmigt wurden die genetischen Untersuchungen durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen (Projekt-Nummer 46/2002, positives Votum vom 04.04.2002).

Vor Beginn der Studie wurden alle Probanden ausführlich über Hintergrund und Ablauf der Studie sowie über potentielle Risiken der Untersuchung aufgeklärt. Eine schriftliche Einverständniserklärung zur Durchführung der genetischen Analysen war Voraussetzung.

Aus dem Pool von 241 Rauchern, welche an der Entwöhnungstherapie durch den Arbeitskreis Raucherentwöhnung der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie teilnahmen, wurden nach Ausschluss von 39 Teilnehmern aufgrund einer Major Depression und/oder schizophrenen Störung ( $n = 14$ ), einer Begleitmedikation mit Bupropion (Zyban®) ( $n=1$ ) oder der Teilnahme an weniger als 2 Behandlungswochen bzw. unvollständiger Datensätze ( $n = 24$ ) insgesamt 202 Patienten auf genetische und persönlichkeitspezifische Daten hin untersucht. Die Gruppe bestand aus 93 Männern (46%) und 109 Frauen (54%). Das durchschnittliche Alter der Probanden lag bei Studienbeginn bei 41,4 Jahren (SD 9.67). Alle Probanden sind kaukasischer Abstammung.

## **2.4 Testinstrumente**

Bei allen eingeschlossenen Teilnehmern wurde der Fagerström Test for Nicotine Dependence (FTND, siehe Anhang), eine ADHD-Checkliste nach DSM IV (siehe Anhang) und der TPQ-Persönlichkeitsfragebogen nach Cloninger (Dufeu 1995) erfasst.

### **2.4.1 FTND**

Es handelt sich hierbei um eine Deutsche Übersetzung des Fagerström Test for Nicotine Dependence (Heatherton et al. 1991). Der Test besteht aus insgesamt 6 Items, in welchen der Patient nach Rauchgewohnheiten und Rauchmenge befragt wird. Somit erhält man einen Richtwert über die „Stärke der Nikotinabhängigkeit“. Es kann ein Summenwert von 0-10 Punkten erreicht werden. Ein hoher Punktwert korreliert mit einer stärkeren Abhängigkeit (ausgeprägtere Entzugssymptomatik bzw. geringere Abstinenzwahrscheinlichkeit).

### **2.4.2 ADHD – Checkliste**

Hierbei handelt es sich um eine Checkliste der DSM-Kriterien für die Diagnose einer Aktivitäts- und Aufmerksamkeitsstörung (Saß et al. 2003). Erfragt werden Verhaltensmuster der vergangenen 6 Monate, in welchen ein potentielles erhöhtes Aktivitätsniveau bzw. ein Aufmerksamkeitsdefizit vorliegt. Der Test besteht aus insgesamt 18 Items, welche die Patienten selbstständig in drei Kategorien mit „nicht erfüllt“ (0 Punkte), „teilweise erfüllt“ (1 Punkt) und „erfüllt“ (2 Punkte) beantworten können. Der maximale Summenwert beträgt 36 Punkte.

### 2.4.3 TPQ

Es wurde die deutsche Version des „Tridimensional Personality Questionnaire (TPQ) von Cloninger verwendet (Dufeu et al. 1995). Der Testkonstruktion liegt die Annahme zugrunde, dass die Persönlichkeit von drei weitestgehend unabhängigen Dimensionen geprägt ist, welche ihre biologische Entsprechung in verschiedenen Neurotransmittersystemen haben und biologisch (genetisch) determiniert sind.

Die erste Dimension, „Harm avoidance“, beschreibt das Verhalten einer Person in risikoreichen Situationen bzw. die Tendenz, diese zu vermeiden. Patienten mit einer hohen Ausprägung der Harm avoidance sollen introvertiert, eher ängstlich, wenig belastbar und gehemmt sein. Vermutet wird hierbei ursächlich eine hohe serotonerge Aktivität.

Die zweite Dimension, „Novelty seeking“, beschreibt die Fähigkeit einer Person, neugierig auf neue Situationen zuzugehen. Personen dieser Kategorie gelten als extrovertiert, risikofreudig, spontan und impulsiv. Genetisch wird hier eine geringe basale Dopaminaktivität vermutet.

In der dritten Dimension, „Reward dependence“, spiegelt sich ein hohes Maß der Abhängigkeit von externer Belohnung wieder. Personen dieser Kategorie sollen theoretisch fleißig, ausdauernd, emotional sein und ein hohes Bedürfnis nach sozialer Bestätigung zeigen. Hier geht man von einer geringen noradrenergen Aktivität aus (Dufeu et al. 1995, Etter et al. 2003).

Die insgesamt 100 Items des TPQ werden vom Patienten selbstständig mit „stimmt“ (1 Punkt) oder „stimmt nicht“ (0 Punkte) ausgefüllt. Die Kategorien „Novelty Seeking“ und Harm avoidance beinhalten jeweils 34 Items, die dritte Kategorie 32 Items. Die Items sind im Fragebogen in gemischter Reihenfolge angeordnet.

## 2.5 Molekulargenetische Untersuchungen

### 2.5.1 Gewinnung und Aufbewahrung

Von allen Probanden wurden 2 x 9ml venöses EDTA-Blut für die genetische Untersuchung abgenommen. Dies wurde bis zur Weiterverarbeitung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgekühlt gelagert.

### 2.5.2 DNA-Isolierung

Vor der eigentlichen DNA-Extraktion wurden die im Vollblut enthaltenen Zellen lysiert. Hierfür wurden 10 ml EDTA-Blut 30ml Lysispuffer (Roche-Kit, s.S. 19) hinzugefügt. Nach 10-minütiger Behandlung auf dem Schüttler erfolgte anschließend eine 10-minütige Zentrifugation bei 2250g und  $4^{\circ}\text{C}$ . Der Überstand wurde dekantiert und verworfen. Um eine vollständige Lyse zu gewährleisten, wurde der Vorgang 3-4mal wiederholt. Im zweiten Schritt erfolgte der Verdau nativer Proteine. Hierfür wurde dem gewonnenen Pellet 5 ml SE-Puffer (Roche-Kit, s.S. 19), 100  $\mu\text{l}$  Proteinase K (Roche-Kit, s.S. 19) und 250  $\mu\text{l}$  20%iger SDS (Roche-Kit, s.S. 19) hingefügt und im  $55^{\circ}\text{C}$  Wasserbad über Nacht inkubiert.

Die nun klare Lösung wurde am Folgetag mit 2 ml 6M NaCl versetzt und für ca. 30 Sekunden gevortext. Es folgte eine erneute Zentrifugation für 15 Minuten bei 4176 g und  $4^{\circ}\text{C}$ . Das ausgefallene Protein blieb als Pellet am Boden des Falcons zurück, der gewonnene Überstand, welcher die DNA enthielt, wurde in ein neues Falcon überführt. Zur Optimierung der Trennung zwischen Protein und DNA wurde die Zentrifugation zuerst für 12 Minuten bei 4194 g und  $24^{\circ}\text{C}$ , anschließend erneut für 10 Minuten bei 4230 g und  $24^{\circ}\text{C}$  durchgeführt und das ausgefallene Protein jeweils verworfen.

Die gewonnene DNA-haltige Lösung wurde mit 500 $\mu\text{l}$  100%igen Ethanol versetzt. Darunter präzipitierte sich die DNA und konnte unter Zuhilfenahme einer Pipettenspitze in ein 2ml Zentrifugenröhrchen überführt, mit 70%igen Ethanol gereinigt und in TE-Puffer (200-400  $\mu\text{l}$ ) gelöst werden.

### 2.5.3 Spektrometrische Konzentrationsbestimmung der DNA

Mit Hilfe des PicoGreen-Verfahrens wurde die DNA-Konzentration bestimmt. Hierbei wurde initial die Absorption im Spektralphotometer einer Referenz-Stocklösung bei 260 nm bestimmt. Es wurde eine Küvette mit 1cm Weglänge benutzt, anhand empirischer Vergleichsdaten wurde die Konzentration bestimmt. Nach Erstellung einer Standardkurve (0- 25pg/ml – 250 pg/ml – 2.5 ng/ml – 25ng/ml) wurde die Konzentration der restlichen Proben bei 595 nm Wellenlänge bestimmt. Eine optische Dichte (OD) von 1 entspricht ca. 0.167 µg/ml doppelsträngiger DNA.

Zur endgültigen Analyse der diversen Marker wurden die einzelnen Proben auf eine Endkonzentration zwischen 10 und 20 ng/µl verdünnt.

### 2.5.4 Untersuchte Polymorphismen

#### DRD2

Der Genort des DRD2 ist auf dem Chromosom 11 im Bereich von 11q22.2 – 11q22.3 lokalisiert. In dieser Studie wurde ein potentieller Zusammenhang mit dem TaqA1-Polymorphismus rs1800497 untersucht.

#### DRD4

Der Genort des Dopamin-D4-Rezeptor liegt telomernah auf Chromosom 11p. In dieser Studie wurde der 48-bp-Längenpolymorphismus im Exon III untersucht.

#### DAT

Das Dopamintransporter-Gen (DAT, SLC6A3-Gen) ist auf Chromosom 5 im Bereich 5p15.3 lokalisiert. In dieser Studie wurde der SNP rs 2617604 untersucht.

### 2.5.5 Polymerasenkettenreaktion (PCR)

Die Polymerasenkettenreaktion (PCR) ist ein Verfahren, bei welchem eine vorher definierte DNA-Sequenz in vitro zur genauen Untersuchung des genetischen Codes vervielfältigt wird, ohne dafür lebende Organismen verwenden zu müssen. Ausgangsmaterial ist ein DNA-Strang. Dieser wird durch das Enzym DNA-Polymerase kopiert. Diese stammt aus Bakterien aus heißen Quellen und ist



thermostabil. Sie wird auch taq-Polymerase genannt, nach dem Ursprungsorganismus *Thermophilus aquaticus*. Die Länge des kopierten Stranges wird durch sogenannte Primer festgelegt. Darunter versteht man künstliche DNA-Stücke von circa 20-40 Basenpaaren Länge, welche genau mit dem Anfang bzw. Endes des zu kopierenden Stranges übereinstimmen. Der eigentliche PCR-Prozess, das sogenannte Amplifizieren, besteht aus drei grundlegenden Schritten:

**Melting** (Schmelzen, 95°C, 30-60 Sekunden): Im ersten Schritt wird die doppelsträngige DNA in ihre beiden Einzelstränge aufgeteilt.

**Annealing** (Anlagerung, ca. 37-65°C, 30-120 Sekunden): Hierbei lagern sich die Primer an die jeweiligen DNA-Stränge an. Anschließend lagert sich die oben erwähnte DNA-Polymerase an die Primer an.

**Elongation** (Verlängerung, 65-80°C, 30-120 Sekunden): Im dritten und letzten Schritt wird der fehlende zweite Strang erzeugt, indem die DNA-Polymerase an der einzelsträngigen DNA entlangläuft.

Um genügend Kopien zu bekommen, müssen die drei Schritte mehrfach (normalerweise etwa 30-45 mal) wiederholt werden. Da bei jedem Durchgang die Menge verdoppelt wird, steigt diese also exponentiell an. Bei 45 Durchläufen werden zum Beispiel  $2^{45} = 3.52 \times 10^{13}$  Kopien angefertigt.

PCR TaqA1: Die PCR wurde in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Darin enthalten waren 5 µl 10 x Puffer mit 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP's, 2.5µl 100%iger DMSO, 0,8µl 5-U-Taq-Polymerase, 4 pmol Primer, 10 µl DNA (200 ng) und 25.7 µl Aqua-bidest. Es wurde ein 9700 Thermocycler der Firma Applied Biosystems verwendet. Zyklusprofil: 10 Minuten 95°C , 45 x (40 Sekunden 95°C , 40 Sekunden 60°C , 40 Sekunden 72°C ), 10 Minuten 72°C .

PCR DRD4: Die PCR wurde in einem Gesamtvolumen von 25 µl durchgeführt. Darin enthalten waren 2,5 µl 10 x Puffer mit 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mM dNTP's, 1.25µl 100%iger DMSO, 0,4 µl 5-U-Taq-Polymerase, 2 pmol Primer, 5 µl DNA (100 ng) und 12.9 µl Aqua-bidest. Es wurde ein 9700 Thermocycler der Firma Applied Biosystems verwendet. Zyklusprofil: 10 Minuten 95°C , 45 x (40 Sekunden 95°C , 40 Sekunden 52°C , 40 Sekunden 72°C ), 10 Minuten 72°C .

PCR DAT: Die PCR wurde in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Darin enthalten waren 5 µl 10 x Puffer mit 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP's, 2.5µl 100%iger DMSO, 0,8µl 5-U-Taq-Polymerase, 4 pmol Primer, 10 µl DNA (200 ng) und 25.7 µl Aqua-bidest. Es wurde ein 9700 Thermocycler der Firma Applied Biosystems verwendet. Zyklusprofil: 10 Minuten 95°C , 45 x (40 Sekunden 95°C , 40 Sekunden 55°C , 40 Sekunden 72°C ), 10 Minuten 72°C .

### 2.5.6 PCR-Kontaminationsprävention

Um falsche Ergebnisse bei der PCR zu vermeiden, ist auf eine geringe Kontamination zu achten. Um dies zu garantieren, wurden folgende Maßnahmen unternommen:

- Obligates Tragen von Handschuhen.
- Getrennte Arbeitsbereiche für prä-PCR und post-PCR Arbeiten.
- Durchführung von Positiv- und Negativkontrollen bei jedem PCR-Ansatz.
- Die Präparation der DNA erfolgt in einem anderen Raum als die PCR-Untersuchungen.
- Die für die PCR benötigten Lösungen und die DNA werden getrennt voneinander aufbewahrt.

### 2.5.7 Agarosegelelektrophorese

Bei der Elektrophorese in Agarosegelen handelt es sich um ein Standardverfahren, um die DNA-Fragmente in ihre unterschiedlichen Größen aufzutrennen. Grundlage hierfür bildet die negative Ladung von DNA-Molekülen, welche damit in einem elektrisch angelegten Feld wandern. Das Agarosegel bildet ein molekulares Sieb aus verzweigten Zuckerketten, in welchem die DNA-Fragmente entsprechend ihrer Größe aufgefangen werden.

Im elektrischen Feld wandern DNA-Fragmente durch das Maschennetz in Richtung Pluspol. Dabei gilt, je kleiner ein Fragment ist, desto schneller ist dessen Wanderungsgeschwindigkeit. Fragmente gleicher Länge legen entsprechend einen gleich langen Weg zurück. Zuletzt wird dem noch flüssigen Agarosegel

Ethidiumbromid zugegeben. Dieses interkaliert in doppelsträngige DNA und macht diese im UV-Licht sichtbar. Nach Beendigung der Elektrophorese wird das Agarosegel auf einen UV-Transilluminator gelegt und die DNA-Fragmente werden als violett-leuchtende Bandenmuster sichtbar.

Bei der aktuellen Untersuchung wurden für ein kleines Gel mit maximal 2 x 12 Taschen (entsprechend großes Gel mit maximal 4 x 25 Taschen) 0,8g (1,6g) Agarosepulver in 40ml (80ml) 1xTriborsäure-EDTA (TBE) als Puffer suspendiert und in der Mikrowelle bei voller Leistung solange erhitzt, bis eine klare Lösung entstand. Die Agarosekonzentration lag somit bei 2%. Die Lösung wurde anschließend mit 0,4 µl (0,8µl) Ethidiumbromid versetzt. Die nun fertige Lösung wurde in entsprechende Flachbettgelkammern gegossen. Durch Einsetzen von Kämmen in das noch flüssige Gel wurden Taschen gebildet, in welche die Proben später eingebracht werden konnten. Nach 20-30 Minuten war das Gel soweit erstarrt, dass die Kämmen gezogen werden konnten. Für den Gellauf wurde jeweils 1xTBE-Puffer verwendet. Pro Geltasche wurden jeweils 4µl PCR-Produkt und Ladepuffer pipettiert. Als Vergleichswert für die Größe der DNA-Fragmente diente ein 100 bp (Basenpaar)-Leiter. Er besteht aus 15 Fragmenten, die in 100 bp-Schritten von 100 bis 1500 reichen sowie einem zusätzlichen 2072 bp-Fragment. Für die elektrophoretische Auftrennung der Proben wurde die Elektrophoresekammer an ein Netzgerät mit einer Spannung von 80V (115V) und daraus resultierender Stromstärke von 100 mA für 30-40 Minuten angeschlossen. Die DNA-Fragmente konnten im Gel nachfolgend mit Hilfe eines UV-Transilluminators sichtbar gemacht und mit Hilfe einer Polaroidkamera dokumentiert werden.

### **2.5.8 Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse**

Die Genotypisierung von TaqA1 und DAT wurden anhand einer Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse durchgeführt.

Ein entsprechendes Enzym (Restriktionsendonuklease) sorgt dafür, dass das PCR-Produkt an der spezifischen polymorphen Stelle bei einem potentiellen Basenaustausch geschnitten wird. Die daraus entstehenden PCR-Fragmente werden anhand einer Gelelektrophorese als Bandenmuster sichtbar gemacht.

Bei TaqA1 erfolgt der Verdau mittels des Enzyms TaqAI. Es schneidet die Sequenz 5´...T\*CGA...3´ - das sogenannte T-Allel – nicht aber die Sequenz **XXX**, das C-Allel. Ein C/C-Allel entspricht dem A1-Allel, hierbei handelt es sich um ein 310-bp-Fragment. Das T/T-Allel entspricht dem A2-Allel, es weist zwei Fragmente der Länge 180bp und 130bp auf. Der Mischtyp, C/T-Allel oder A1/A2-Allel besitzt alle drei Fragmente (130bp, 180bp, 310bp).

Der Verdau wurde in einem Gesamtvolumen von 15 µl durchgeführt. Darin enthalten waren 13 µl PCR-Produkt, 1µl BSA, 1µl Enzym und 1µl NE-Puffer<sup>3</sup>. Die Inkubation erfolgte bei einer Temperatur von 65°C für 12 Stunden, anschließend folgte eine Enzyminaktivierung bei 95°C für 5 Minuten.

Bei DAT erfolgt der Verdau mittels des Enzyms BbvI. Es schneidet die Sequenz 5´...GCAGC(N)<sup>8</sup>\*...3´ - das sogenannte C-Allel – nicht aber die Sequenz **XXX**, das T-Allel. Der Verdau wurde in einem Gesamtvolumen von 15 µl durchgeführt. Darin enthalten waren 14 µl PCR-Produkt und 1µl Enzym. Die Inkubation erfolgte bei einer Temperatur von 37°C für 150 Minuten.

## 2.6 Statistische Auswertung

Die Datenauswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows, Version 11.5.

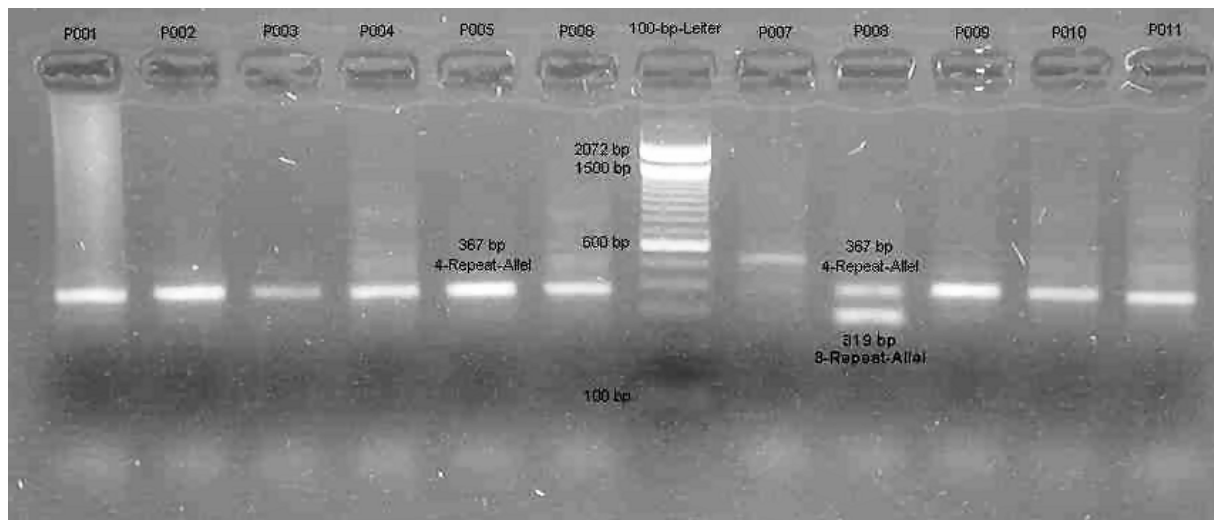
Es wurde eine hierarchische lineare Regression durchgeführt, um die Beziehung zwischen den einzelnen Rauchvariablen, den psychologischen Variablen sowie den untersuchten Genotypen zu explorieren. Für die Regression wurden in einem ersten Schritt (Schritt 1) dummy-kodierte Genotypen des dopaminergen Systems (DRD2, DRD4, DAT) untersucht. In einem weiteren Schritt (Schritt 2) wurden die psychologischen Variablen hinzugefügt. Diese Vorgehensweise ermöglicht es, einen potentiellen Einfluss einzelner Variablen auf den Gruppeneffekt zu untersuchen, welcher mit einer Mediationsanalyse weiter getestet werden kann.

Vereinzelte mussten fehlende Werte in den psychologischen Messinstrumenten durch die Mittelwerte aus dem Instrument ersetzt werden. Dies diente dazu, die statistische Power zu erhöhen und potentielle Biases zu vermindern, die sich durch einzelne Ausschlüsse ergeben hätten.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Veranschaulichung der Agarosegelelektrophorese

Durch die Agarosegelelektrophorese wurden die entsprechenden DNA-Fragmente in Form von Bandenmustern unter UV-Licht sichtbar gemacht.



**Abbildung 1:** Agarosegel mit Genotypisierungsergebnissen von 11 Probanden  
Abkürzungen: P = Proband, bp = Basenpaar

In Abbildung 1 wird ein Agarosegel mit Genotypisierungsergebnissen von 11 Probanden am Beispiel des 48-Repeat-Polymorphismus des DRD4 demonstriert. Der Polymorphismus kennzeichnet sich durch unterschiedlich häufig wiederholte Schleifen von 48 Basenpaaren aus. Bekannt sind derzeit Variationen von 2-11 Repeats. Aufgrund der ausgesuchten Primer ist ein 2-Repeat-Polymorphismus durch eine Länge von 271 Basenpaaren gekennzeichnet. Die nachfolgenden Repeats zeigen dementsprechend eine erweiterte Länge von jeweils 48 Basenpaare, also 3-Repeat von 319 Basenpaaren, 4-Repeat von 367 Basenpaaren, 5-Repeat von 415 Basenpaaren usw. bis zu 11-Repeat mit einer Länge von 703 Basenpaaren.

Zum Größenvergleich ist in Bande 7 eine 100-bp-DNA-Leiter als Standard aufgetragen. Dieser charakterisiert sich durch fest definierte Bandenmuster, welche von 2072 bp bis 100 bp reichen.

Da jeder Mensch für die Autosomen ein mütterliches und ein väterliches Chromosom besitzt, sind immer zwei Allele amplifiziert. Beispielhaft sehen wir hier bei Proband 8 zwei Banden mit einer Länge von 367 bzw. 319 Basenpaaren. Er besitzt einen 4-Repeat/3-Repeat-Genotypen. Bei Proband 7 ist die Bandenstärke sehr schwach ausgeprägt und somit nicht aussagekräftig. Der Versuch musste wiederholt werden. Alle übrigen Probanden zeigen keine zweite sichtbare Bande. Dies liegt daran, dass beide Banden gleich lang sind und im Muster zusammenfallen. Bei den restlichen Probanden hier ist also von einem 4-Repeat/4-Repeat-Genotypen auszugehen.

## 3.2 Statistische Ergebnisse

### 3.2.1 Stichprobenbeschreibung

Initial wurden 241 Raucher rekrutiert. Aufgrund der Einnahme von Psychopharmaka, einer unzureichenden Datenlage oder Abbruchs der Behandlung wurden insgesamt 39 Patienten ausgeschlossen. Somit konnten die Daten von 202 Probanden ausgewertet werden. In den nachfolgenden Tabellen 1- 3 werden soziodemographische, rauchanamnestische sowie psychologische Variablen erläutert. Durch vereinzelt fehlende Angaben der Probanden reduziert sich der Umfang der Stichprobe für manche Auswertungen (bis zu 4 Missings bei rauchanamnestischen Daten und bis zu 12 Missings bei psychologischen Variablen).

	N	Männer	Frauen
Geschlecht (N) (%)	202	93 (46%)	109 (54%)

**Tabelle 1:** Geschlechtsverteilung

	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Median	Range
Alter in Jahren	202	41,43	9,67	41,00	18-67
Anzahl Zigaretten/die	198	22,88	8,46	20,00	8-60
FTND-Summenwert	202	5,07	2,22	5,00	1-10
Rauchdauer in Jahren	201	22,83	10,24	23,00	1-45
Alter des regelmäßigen Rauchbeginns	198	17,51	2,94	17,00	11-30
ADHD-Summenwert	196	9,20 (2,83)	6,33 (1,10)	7,50 (2,74)	0-30
TPQ-Novelty Seeking	190	16,91	4,68	17,00	5-29
TPQ-Reward Dependence	190	17,47	4,74	18,00	4-29

**Tabelle 2:** Soziodemographische, rauchanamnestische und psychologische Merkmale zur Stichprobenbeschreibung. Bei den in Klammern aufgelisteten Daten handelt es sich um die in den Analysen verwendeten transformierten Werte.

Variable	Häufigkeit	Prozent
Anzahl bisheriger Abstinenzversuche	202	100
keine	31	15,3
einmal	49	24,3
2-5 mal	93	46,0
6-10 mal	19	9,4
- öfter als 10 mal	10	5,0
Zeitpunkt des letzten Abstinenzversuchs	202	100
kein Abstinenzversuch	31	15,3
im letzten Monat	3	1,5
vor 1-6 Monaten	28	13,9
vor 6-12 Monaten	21	10,4
vor 1-5 Jahren	65	32,2
vor mehr als 5 Jahren	54	26,7

**Tabelle 3:** Rauchanamnestische Daten



---

Nach Therapieende waren 154 Raucher abstinent, 48 waren rückfällig, nach einem Monat waren noch 128 abstinent, nach 6 Monaten 98 abstinent. Katamnesen erfolgten nach Kursende, nach einem und nach 6 Monaten. Die Auswertung folgt einer Intention-to-treat-Analyse, d.h. Patienten mit fehlenden Daten werden als rückfällig gewertet.

### 3.2.2 Genotyp- und Allelfrequenzen

#### TaqA1

Die Ergebnisse zeigen eine hohe Inzidenz des T/T-Allels mit 63,9 % (129/196) bei einer niedrigen Inzidenz des C/C-Allels (4%, 8/196) (Tabelle 4). Um die beobachtete Verteilung mit der theoretisch erwarteten Verteilung zu vergleichen, wurde eine Hardy-Weinberg-Berechnung durchgeführt. Demnach weichen die beobachteten Genotypen nicht signifikant von der erwarteten Verteilung ab ( $X^2 = 0,52$ ,  $p = 0,77$ ).

	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>C/C</b>	8	4
<b>C/T</b>	59	29,2
<b>T/T</b>	129	63,9
<b>Gesamt</b>	196 von 202	100

<b>Allelfrequenz C f(C)=p</b>	0,19
<b>Allelfrequenz T f(T)=q</b>	0,81

**Tabelle 4:** Genotyp- und Allelfrequenzen sowie erwartete Verteilung TaqA1

#### DRD4

Das Ergebnis zeigt eine hohe Verteilung zugunsten des Genotypes 4-4. Nachfolgende Tabelle gibt eine beschreibende Statistik der Allelfrequenzen, der nach Hardy-Weinberg erwarteten Verteilung und der beobachteten Genotypen wieder. Die gefundene genotypische Verteilung weicht signifikant von einer Hardy-Weinberg-Verteilung ab ( $p < 0.000001$ ). Die Berechnung richtet sich nach dem „Exact Test“ mit Hilfe des GENPOP-Programms.

<b>Genotypes</b>	<b>Beobachtet</b>	<b>Erwartet</b>
2,2	9	2.076
3,2	1	2.513
3,3	3	0.709
4,2	19	28.950
4,3	15	17.073

4,4	114	97.983
5,2	1	2.513
5,3	1	1.482
5,4	3	17.073
5,5	9	0.709
6,2	0	0.218
6,3	0	0.129
6,4	0	1.485
6,5	0	0.129
6,6	1	0.003
7,2	0	0.437
7,3	0	0.258
7,4	0	2.969
7,5	0	0.258
7,6	0	0.022
7,7	2	0.017
8,2	0	0.218
8,3	0	0.129
8,4	0	1.485
8,5	0	0.129
8,6	0	0.011
8,7	0	0.022
8,8	1	0.003

**Tabelle 5:** Genotyp-Verteilung DRD4 (48bp):

Erwartete Anzahl der Homozygoten:	101.4986
Beobachtete Anzahl der Homozygoten:	139
Erwartete Anzahl der Heterozygoten:	77.50142
Beobachtete Anzahl der Heterozygoten:	40

### DAT

Auch hier zeigte sich eine sehr hohe Inzidenz des C/C-Allels mit 96 % (194/199). Um das Verhältnis der beobachteten Genotypen mit der theoretisch erwarteten

Verteilung zu vergleichen, wurde wiederum eine Hardy-Weinberg-Berechnung durchgeführt. Die Genotypen wichen nicht signifikant von der erwarteten Verteilung ab ( $X^2 = 0,28$ ,  $p = 0,87$ ). Die genauen Daten sind in Tabelle 7 dargestellt.

	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>C/C</b>	194	96
<b>C/T</b>	5	2,5
<b>T/T</b>	0	0
<b>Gesamt</b>	199	100

<b>Allelfrequenz T f(C)=p</b>	0,99
<b>Allelfrequenz C f(T)=q</b>	0.01

**Tabelle 6:** Genotyp- und Allelfrequenzen sowie erwartete Verteilung DAT-SNP

### 3.2.3 Voranalysen psychologischer Variablen

Es erfolgte eine Untersuchung der Daten auf Normalverteilung anhand einer explorativen Datenanalyse. Für alle Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von  $p = 0,05$  festgelegt.

Aufgrund einer schiefen Verteilung für die ADHD-Variablen wurde eine Quadratwurzel-Transformierung durchgeführt. Für die ISE-N-Skala wurde eine Log zur Basis 10-Transformierung gewählt. Dadurch konnten mögliche einflussreiche Ausreißer eliminiert werden.

### 3.2.4 Genetische Hypothesen

Es wurde angenommen, dass bei stark abhängigen Rauchern mit einem hohen FTND-Wert, einer großen Anzahl der täglich gerauchten Zigaretten, einem frühen Rauchbeginn bzw. einer langen Rauchdauer in Jahren eine Assoziation zu Polymorphismen im dopaminergen Systems (DRD2, DRD4, DAT) gegeben ist. Darüber hinaus wurde eine partielle Mediation von Persönlichkeitsvariablen auf das Rauchverhalten vermutet.

### 3.2.5 Lineare Regression der dopaminergen Polymorphismen

Entsprechend der Hypothesen wurde eine hierarchische Regression durchgeführt. Es wurden in einem ersten Schritt (Schritt 1) dummy-kodierte Genotypen des dopaminergen Systems untersucht. In einem weiteren Schritt (Schritt 2) wurden die psychologischen Variablen hinzugefügt.

Bei den abhängigen Variablen handelt es sich um die Anzahl der täglich gerauchten Zigaretten, den FTND-Summenwert, die gesamte Rauchdauer in Jahren sowie das Alter, ab welchem der Proband regelmäßig rauchte. Als unabhängige Variablen dienten die genetischen Variablen des dopaminergen Systems DRD2 (TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel) und DAT (rs 2617604).

Da beim 48-bp-Polymorphismus die Variablen der Genotypen keine kontinuierliche Skalierung aufwiesen, konnte dieser bei der Berechnung der linearen Regression nicht berücksichtigt werden. Eine Dummy-Kodierung konnte hier nicht durchgeführt werden. Aufgrund einer sehr hohen Kolinearität vom ersten und zweiten Allel wurde bei der Berechnung der linearen Regression das zweite Allel herausgenommen, da dieses in der explorativen Datenanalyse weniger Variabilität aufwies und somit einen schlechteren Prädiktor darstellt.

Als Mediationsvariablen dienten die psychologischen Variablen des TPQ-Novelty Seeking und TPQ-Reward Dependence sowie ADHD.

Die Analysen werden in Tabelle 8 näher erläutert. Für alle Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von  $p = 0,05$  festgelegt.

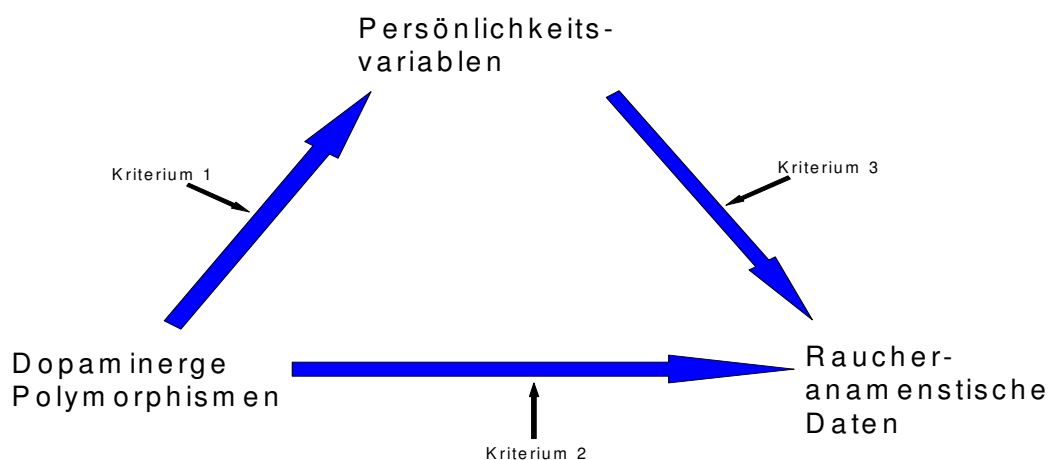
Mit der nachfolgend geplanten Mediationsanalyse sollte überprüft werden, ob theoretische Veränderungsmechanismen die Beziehung zwischen Genotypen und dem Rauchverhalten beeinflussen. Um eine sinnvolle Mediationsanalyse durchzuführen, müssen drei Kriterien erfüllt sein (Baron & Kenny, 1986):

Das erste Kriterium besagt, dass die unabhängige Variable die potentiellen Mediationsvariablen vorhersagen können muss. Um festzustellen, ob die aktuellen Daten diese Kriterien erfüllen, wurden 3 einfache Regressionsmodelle untersucht. Im ersten Modell wurde der Einfluss der dopaminergen Polymorphismen von DRD2

(TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel), DAT (rs 2617604) als unabhängige Variablen auf die Mediationsvariable TPQ-Novelty Seeking hin untersucht. Hierbei zeigte sich keine Signifikanz  $F(4;163) = 0,302$ ;  $p = 0,876$ . Im zweiten Modell wurden dieselben unabhängigen Variablen mit der Mediationsvariablen TPQ-Reward Dependence vorhergesagt. Auch hier zeigte sich keine Signifikanz  $F(4;163) = 0,825$ ;  $p = 0,511$ . Auch im dritten Modell (dopaminerge unabhängige Variable mit Mediationsvariable ADHD) zeigte sich keine Signifikanz  $F(4;169) = 0,677$ ;  $p = 0,609$ . Aufgrund der fehlenden Signifikanzen in allen Modellen sind die Voraussetzungen für das erste Kriterium nicht erfüllt.

Das zweite Kriterium ist dann erfüllt, wenn die unabhängigen Variablen (dopaminerge Polymorphismen) die abhängigen Variablen vorhersagen können. Als abhängige Variablen dienen die Rauchvariablen wie Anzahl der Zigaretten pro Tag, FTND, Rauchdauer in Jahren und Alter, ab welchem der Patient regelmäßig zu Rauchen begonnen hat.

Im dritten Kriterium wird gefordert, dass in einem dritten Schritt die Varianz, welche sich durch die unabhängigen Variablen erklärt, also hier die dopaminergen Polymorphismen, durch Hinzufügen von neuen Mediatoren, hier die Persönlichkeitsvariablen, reduziert wird. Dies erklärt sich dadurch, dass die neu aufgenommenen Mediatoren diesen Teil der Varianz aufklären. Zur weiteren Erläuterung dient Abbildung 2.



**Abbildung 2:** Mediationsanalyse

Die Kriterien 2 und 3 wurden mit Hilfe der hierarchischen Berechnung überprüft. Bezüglich der Anzahl der Zigaretten pro Tag konnten keine Signifikanzen festgestellt werden (Schritt 1:  $F(4,163) = (0,091)$ ;  $p = 0,985$ ; Schritt 2:  $F(7;160) = (1,261)$ ;  $p = 0,273$ ).

Ebenso konnten keine signifikanten Werte in Zusammenhang mit dem FTND-Summenwert gefunden werden (Schritt 1:  $F(4,163) = (0,068)$ ;  $p = 0,991$ ; Schritt 2:  $F(7,160) = (1,041)$ ;  $p = 0,405$ ).

Auch die Rauchdauer in Jahren (Schritt 1:  $F(4,163) = (0,439)$ ;  $p = 0,780$ , Schritt 2:  $F(7,160) = (1,170)$ ;  $p = 0,361$ ) sowie das Alter zu Beginn des regelmäßigen Rauchens (Schritt 1:  $F(4,163) = (0,602)$ ;  $p = 0,662$ , Schritt 2:  $F(7,160) = (1,257)$ ;  $p = 0,275$ ) erbrachten keine signifikanten Zusammenhänge.

Somit sind auch die zweite und dritte Kategorie der Mediationsanalyse nicht erfüllt. Zur näheren Erläuterung der Ergebnisse dienen Tabellen 7-10.

Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag						
			$\Delta R$	B (SE)	$\beta$	p
Kriterium 2	Dopaminerge Polymorphis- men	TaqA1-DU1	0,00*	0,021 (0,065)	0,026	0,750
		TaqA1-DU2		0,014 (0,027)	0,043	0,601
		48-bp-A1		-0,001 (0,013)	-0,008	0,920
		DAT		-0,021 (0,079)	-0,002	0,792
Kriterium 3	Persön- lichkeits- variablen	TPQ-NS	0,011	-0,002 (0,003)	-0,054	0,505
		TPQ-RD		0,003 (0,003)	0,091	0,252
		ADHD		0,029 (0,011)	0,202	0,013

**Tabelle 7:** Stufenweise Lineare Regression für Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag.

DU = Dummy-codierte Variablen 1 und 2.

$\Delta R^2$  = Änderung in % in der von dem Modell aufgeklärten Varianz im korrigierten R-Quadrat.

B = Unstandardisierter Regressionskoeffizient.

SE = Standardfehler für B-Werte.

$\beta$  = Standardisierter Regressionskoeffizient.

P = Signifikanzniveau.

\* = Wegen negativen Werten nach Adjustierung wird der Wert als 0,00 angegeben (Cohen & Cohen 1983).

FTND						
			$\Delta R$	B (SE)	$\beta$	p
Kriterium 2	Dopaminerge Polymorphis- men	TaqA1-DU1	0,00*	0,68 (0,923)	-0,038	0,942
		TaqA1-DU2		-0,086 (0,386)	-0,018	0,823
		48-bp-A1		-0,072 (0,182)	-0,032	0,692
		DAT		-0,068 (1,120)	-0,005	0,951
Kriterium 3	Persön- lichkeits- variablen	TPQ-NS	0,00*	-0,018 (0,038)	-0,038	0,649
		TPQ-RD		0,074 (0,037)	0,157	0,050
		ADHD		0,248 (0,163)	0,123	0,131

**Tabelle 8:** Stufenweise Lineare Regression für FTND.

DU = Dummy-codierte Variablen 1 und 2.

$\Delta R^2$  = Änderung in % in der von dem Modell aufgeklärten Varianz im korrigierten R-Quadrat.

B = Unstandardisierter Regressionskoeffizient.

SE = Standardfehler für B-Werte.

$\beta$  = Standardisierter Regressionskoeffizient.

P = Signifikanzniveau.

\* = Wegen negativen Werten nach Adjustierung wird der Wert als 0,00 angegeben (Cohen & Cohen 1983).

Rauchdauer in Jahren						
			$\Delta R$	B (SE)	$\beta$	p
Kriterium 2	Dopaminerge Polymorphis- men	TaqA1-DU1	0,00*	-4,073 (4,232)	-0,079	0,337
		TaqA1-DU2		-1,118 (1,772)	-0,052	0,529
		48-bp-A1		0,342 (0,835)	0,032	0,683
		DAT		-3,296 (5,136)	-0,051	0,522
Kriterium 3	Persön- lichkeits- variablen	TPQ-NS	0,00*	-0,242 (0,176)	-0,110	0,172
		TPQ-RD		-0,290 (0,172)	-0,134	0,094
		ADHD		-0,080 (0,751)	-0,009	0,915

**Tabelle 9:** Stufenweise Lineare Regression für die Rauchdauer in Jahren.



DU = Dummy-codierte Variablen 1 und 2.

$\Delta R^2$  = Änderung in % in der von dem Modell aufgeklärten Varianz im korrigierten R-Quadrat.

B = Unstandardisierter Regressionskoeffizient.

SE = Standardfehler für B-Werte.

$\beta$  = Standardisierter Regressionskoeffizient.

P = Signifikanzniveau.

\* = Wegen negativen Werten nach Adjustierung wird der Wert als 0,00 angegeben (Cohen & Cohen 1983).

Alter zu Beginn der Abhängigkeit						
			$\Delta R$	B (SE)	$\beta$	p
Kriterium 2	Dopaminerge Polymorphism	TaqA1-DU1	0,00*	0,248 (0,508)	0,017	0,839
		TaqA1-DU2		-0,653 (0,508)	-0,105	0,201
		48-bp-A1		-0,097 (0,240)	-0,032	0,687
		DAT		-0,105 (1,474)	-0,006	0,943
Kriterium 3	Persön- lichkeits- variablen	TPQ-NS	0,011	-0,042 (0,050)	-0,067	0,408
		TPQ-RD		-0,090 (0,049)	-0,145	0,070
		ADHD		-0,181 (0,215)	-0,068	0,401

**Tabelle 10:** Stufenweise Lineare Regression für das Alter zu Beginn der Abhängigkeit.

DU = Dummy-codierte Variablen 1 und 2.

$\Delta R^2$  = Änderung in % in der von dem Modell aufgeklärten Varianz im korrigierten R-Quadrat.

B = Unstandardisierter Regressionskoeffizient.

SE = Standardfehler für B-Werte.

$\beta$  = Standardisierter Regressionskoeffizient.

P = Signifikanzniveau.

\* = Wegen negativen Werten nach Adjustierung wird der Wert als 0,00 angegeben (Cohen & Cohen 1983).

### 3.2.6 Explorative univariate Analyse

Wir vermuteten, dass bei stark abhängigen Rauchern die entsprechenden Rauchvariablen mit Polymorphismen im dopaminergen System assoziiert sind und darüber hinaus von Persönlichkeitsvariablen partiell beeinflusst werden. Die Analyse erfolgte mittels einer Mediation. Im Zusammenhang mit TPQ-RD und FTND bzw. ADHD und Rauchdauer in Jahren zeigten sich zwei signifikante Einzelwerte. Da das Modell insgesamt nicht signifikant war, konnten wir die Einzelwerte nicht interpretieren. Um dennoch einer möglichen positiven Assoziation zwischen den Persönlichkeitsvariablen und den Rauchvariablen nachzugehen, wurden die Einzelwerte im Rahmen einer explorativen Analyse nebenbefundlich weiter untersucht.

#### ADHD + Anzahl der Zigaretten/Tag:

Unter der Annahme, dass ein hoher Grad an ADHD mit einer hohen Anzahl an gerauchten Zigaretten pro Tag einseitig positiv korreliert, wurde eine Pearson-Korrelation (r-Effektgrößen: kleiner Effekt  $r=0,10$ , mittlerer Effekt:  $r=0,30$ , großer Effekt  $r=0,50$ ) berechnet (Cohen 1977). Es zeigte sich mit  $r=0,201$ ,  $r^2=0,04$  einen mittleren signifikanten Effekt, 4% der Varianz des Rauchens können durch ADHD aufgeklärt werden.

#### TPQ-RD + FTND:

Es wurde angenommen, dass ein hoher Grad an RD mit einem höheren Punktwert im FTND korreliert. Hierbei wurde ebenfalls eine Pearson-Korrelation (r-Effektgrößen: kleiner Effekt  $r=0,10$ , mittlerer Effekt:  $r=0,30$ , großer Effekt  $r=0,50$ ) berechnet (Cohen 1977). Es zeigte sich auch hier eine signifikante Korrelation mit mittlerem Effekt  $r=0,167$ ,  $r^2=0,03$ . Somit können 3% der Varianz des Rauchens durch RD aufgeklärt werden.

### 3.2.7 Einfluss genetischer Variablen auf die Abstinenz

Bei dichotomer Datenlage wurde bei der Berechnung der Abstinenzdaten eine logistische Regression durchgeführt. Hierbei wurden die Abstinenzdaten 6 Monate

nach Therapieende, mit den genetischen Daten sowie den Persönlichkeitsvariablen in Verbindung gebracht.

Im ersten Schritt wurden die dopaminergen Polymorphismen DRD2 (TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel), DAT (rs 2617604) aufgenommen. Das Modell zeigte keine Signifikanz ( $X^2(4, n = 160) = 0,91$ ;  $p = 0,92$ ).

		B (SE)	$\beta$	p
Dopaminerge Polymorphismen	TaqA1_DU1	0,0419 (0,958)	1,520	0,589
	TaqA1_DU2	-0,122 (0,351)	0,885	0,616
	DRD4-A1	-0,28 (0,161)	0,972	0,807
	DAT	0,797 (1,237)	2,219	0,516
Persönlichkeitsvariablen	(NS,RD, ADHD)	0,83 (0,632)	1,087	0,92

**Tabelle 11:** Logistische Regression der Abstinenzdaten 6 Monate nach Therapieende mit den genetischen Daten in Verbindung mit den Persönlichkeitsvariablen (NS, RD, ADHD).

DU = Dummy-codierte Variablen 1 und 2.

B = Unstandardisierter Regressionskoeffizient.

SE = Standardfehler für B-Werte.

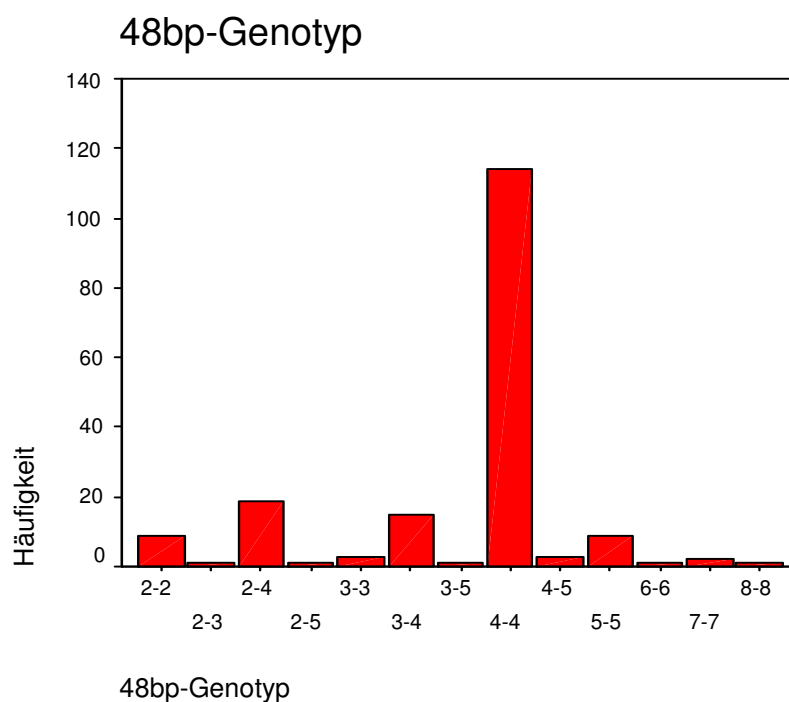
$\beta$  = Standardisierter Regressionskoeffizient.

P = Signifikanzniveau.

Im dritten Schritt wurde der Zusammenhang der Abstinenzraten mit den psychologischen Variablen untersucht. Auch hierbei zeigte sich keine Signifikanz ( $X^2(8,160) = 11,69$ ;  $p = 0,17$ ).

### 3.2.8 48-Basenpaar-Genotyp

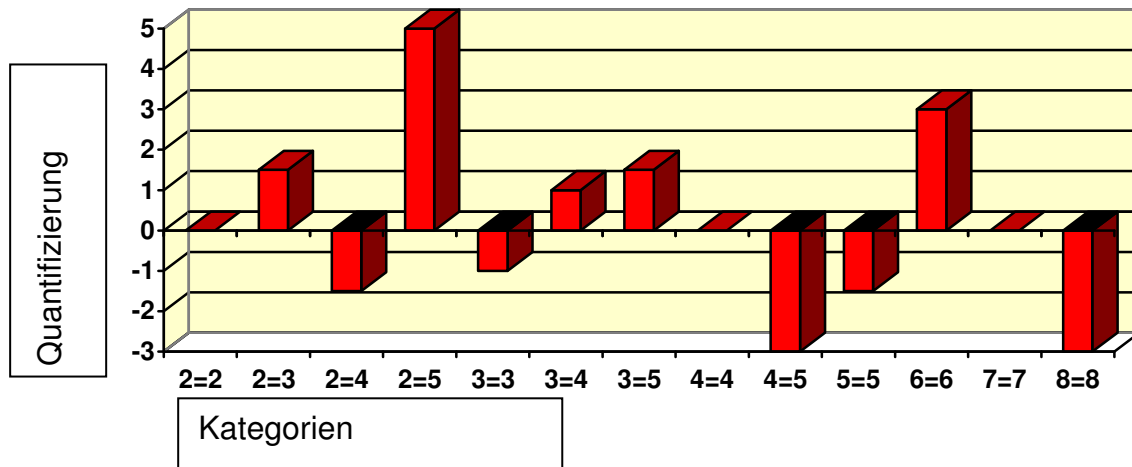
Da bei der linearen Regression nur die Allelfrequenzen des 48-Basenpaar-Polymorphismus berücksichtigt wurden, erfolgte zusätzlich eine weitere Berechnung mit dem CATREG-Programm, da hierbei die Genotypisierung eingebracht werden konnte. Die genetischen Daten wurden mit den Rauchervariablen (Anzahl der Zigaretten pro die, FTND-Wert, Rauchdauer in Jahren sowie Alter des Beginns des regelmäßigen Rauchens) verbunden.



**Abbildung 3:** Verteilung und Häufigkeiten des 48-bp-Genotypes

Bei Ordinalskalierung der Zigaretten pro Tag zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang ( $F(12,163) = (2,043)$ ;  $p = 0,024$ ). Der Regressionskoeffizient  $\beta$  betrug  $-0.362$ . Dies bedeutet: je höher die Quantifizierung bei der Transformation ausfällt, desto weniger Zigaretten werden pro Tag geraucht. Bei den Genotypen 2-5 zeigt sich ein deutlich hoher Wert. Diese kann jedoch nicht bei entsprechend weiteren Genotypen mit jeweils einem 2-Allel oder einem 5-Allel gefunden werden. Darüber hinaus kann auch kein Zusammenhang mit „kurzkettigen“ Allelen gefunden werden, so dass der Befund nur schwer zu interpretieren ist.

Transformation: 48-bp-Genotyp – Zigaretten pro Tag:

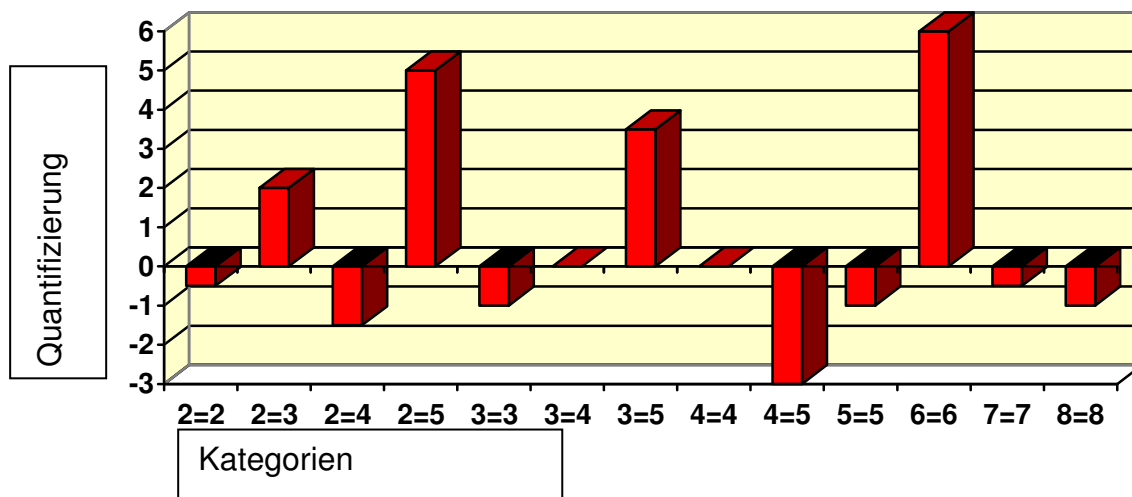


Messniveau der optimalen Skalierung: Nominal

**Abbildung 4:** Quantifizierung des 48-bp-Genotypes in Bezug auf Zigaretten pro Tag.

Dieser signifikante Zusammenhang kann bei Berücksichtigung der FTND-Werte nicht verifiziert werden. Hier zeigt sich mit  $F(12,166) = 1,077$ ;  $p = 0,383$  kein signifikanter Befund.

Transformation: 48-bp-Genotyp – FTND-Summenwert:

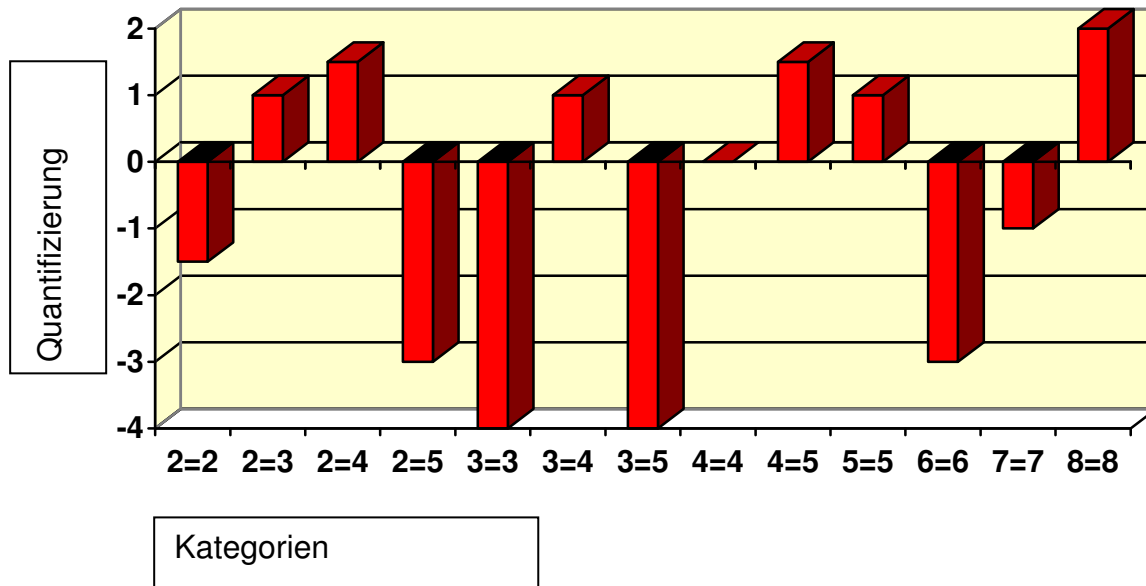


Messniveau der optimalen Skalierung: Nominal

**Abbildung 5:** Quantifizierung des 48-bp-Genotypes in Bezug auf den FTND-Summenwert.

Ebenso zeigt sich in Zusammenhang mit der Rauchdauer in Jahren mit  $F(12,165) = 0,938$ ;  $p = 0,510$  ein unauffälliger Befund.

Transformation: 48-bp-Genotyp – Rauchdauer in Jahren:

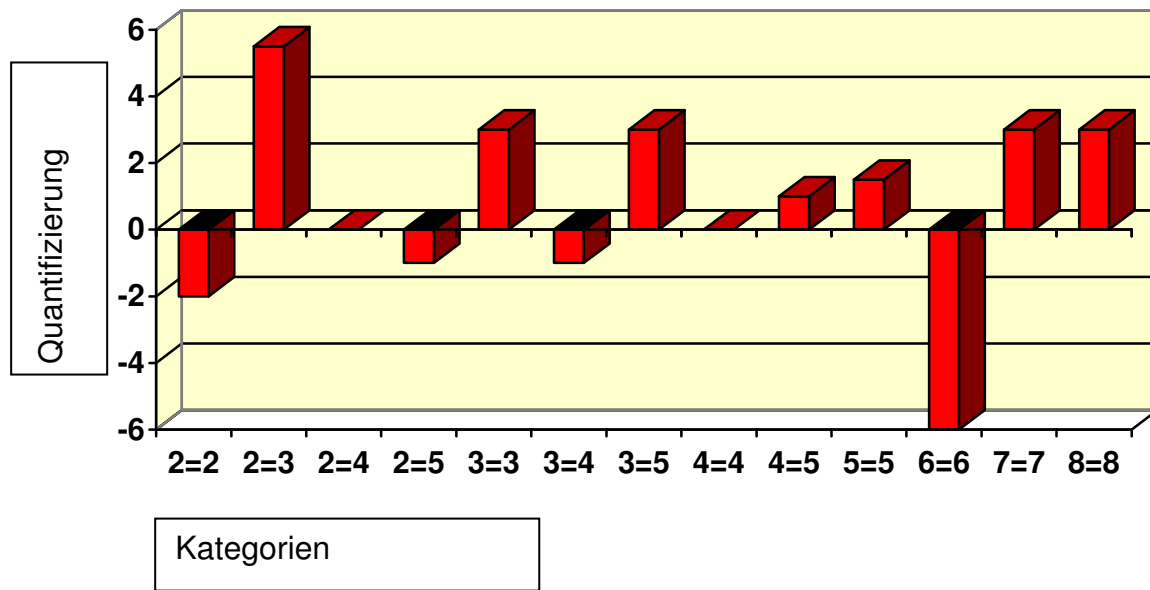


Messniveau der optimalen Skalierung: Nominal

**Abbildung 6:** Quantifizierung des 48-bp-Genotypes in Bezug auf Rauchdauer in Jahren

Ein schwer interpretierbarer signifikanter Zusammenhang zeigt sich ebenfalls beim Alter des regelmäßigen Rauchbeginns. Unter Ordinalskalierung zeigt sich mit  $F(9,162) = (2,26)$ ;  $p = 0,021$  ein signifikantes Ergebnis.  $\beta$  beträgt hier  $-0,33$ . Hier zeigt sich eine geringe Quantifizierung bei den Genotypen 6-6, welches theoretisch mit einem späteren abgängigen Rauchbeginn einhergeht.

Transformation: 48-bp-Genotyp – Alter bei Rauchbeginn:



Messniveau der optimalen Skalierung: Nominal

**Abbildung 7:** Quantifizierung des 48-bp-Genotypes in Bezug auf das Alter bei Rauchbeginn.

### 3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ein Zusammenhang diverser Rauchvariablen wie Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag, FTND-Wert, Anzahl der Rauchjahre sowie Alter bei Beginn des regelmäßigen Rauchens mit Polymorphismen des dopaminergen Systems DRD2 (TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel) und DAT (rs 2617604) ist nicht gegeben.

Auch hypothetische Mediationsvariablen (TPQ-Noveltty-Seeking, TPQ-Reward Dependence, Symptome der ADHD) vermitteln keinen signifikanten Einfluss auf die Zielvariablen.

Bei der Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Persönlichkeitsvariablen und rauchanamnestischen Faktoren zeigten sich in der explorativen Analyse mit TPQ-RD und FTND bzw. ADHD und Rauchdauer in Jahren zwei signifikante Einzelwerte.

4% der Varianz des Rauchens können durch „ADHD“ aufgeklärt werden, 3% der Varianz des Rauchens können durch ausgeprägte Merkmale des „Reward-Dependence“ aufgeklärt werden.

Zur Ermittlung potentieller Einflussfaktoren auf die Abstinenzraten wurde eine logistische Regression durchgeführt. Es konnte weder bei den dopaminergen Polymorphismen DRD2 (TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel) und DAT (rs 2617604) noch bei den psychologischen Variablen ein signifikanter Einfluss gefunden werden.

Lediglich bei der Analyse des 48-Basenpaar-Genotypes konnten in Zusammenhang mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten pro die und der Rauchdauer in Jahren signifikante Zusammenhänge gefunden werden, welche jedoch nur schwer zu interpretieren sind.



## 4 Diskussion

### 4.1 Das dopaminerge System

Swan (2003) geht bei der Entstehung und Aufrechterhaltung eines Nikotinkonsums von einem sogenannten integrativen Modell aus. Beeinflusst durch Umweltfaktoren, Familie, Bildung, Peer-group als auch durch genetische Risikofaktoren spielen die Interaktion aus Vulnerabilität, Modalitäten des Tabakkonsums, die Rauchmotivation als auch positive Verstärkerfunktionen eine wesentliche Rolle bei der Entstehung einer Nikotinabhängigkeit aber auch anderer Abhängigkeitserkrankungen.

Zur Frage der genetischen Risikofaktoren findet man immer wieder Studien, die den Beitrag des dopaminergen Systems bei der Abhängigkeitsentwicklung untersuchen. Im Zentrum des Interesses steht dabei die Wirkung des Dopamins im mesolimbischen System, welches vom ventral-tegmentalen Areal über assoziierte aufsteigende Bahnen bis hin zum Nucleus accumbens führt, und für die belohnende motivationalen Effekte vieler Drogen wie Kokain, Alkohol und Opiate, aber auch Nikotin verantwortlich zu sein scheint. Es konnte gezeigt werden, dass ein chronischer Nikotinkonsum zu einer innersynaptischen Zunahme des Dopamins im Bereich des Nucleus accumbens führt (Berrettini & Lerman 2005).

Noble et al. stellte 1994 die Hypothese auf, dass ein Mangel an DRD2 im Bereich des Belohnungszentrums eine Prädisposition zur Entwicklung einer Suchterkrankung darstellen könnte. In einer Untersuchung an 354 Kaukasiern fand er einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem TaqA1-Allel im DRD2-Rezeptorgen und einer hohen Rauchintensität.

Comings et al. (1995) fanden signifikante Zusammenhänge von TaqA1 bei Rauchern (48.7%) versus Nicht-Rauchern (25.9%). Kritisch ist jedoch, dass sich die Kontrollgruppe aus diversen Studien bzw. aus Literatur-Kontrollen zusammensetzt. Dies führte dazu, dass leider keinerlei Aussagen über Voranalysen und theoretisch erwartete Aussagen (Hardy-Weinberg-Verteilung) zu finden sind. Diese notwendigen

Voranalysen sind bei Bierut et al. (2000) ebenfalls nicht zu finden. Spitz et al. (1998) fand zwar keinen signifikanten Zusammenhang zwischen TaqA1 und dem Rauchverhalten, jedoch ein höheres Auftreten von TaqB1 bei Rauchern und Kontrollen (30.3% - %13.3) versus Nie-Rauchern und Kontrollen (30.9% - 0%). Bei insgesamt 157 untersuchten Patienten (15 Nie-Raucher, 80 Ex-Raucher, 62 Raucher) und 126 Kontrollen handelt es sich aber um sehr kleine Gruppen.

In dieser Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang diverser Rauchvariablen wie Anzahl der gerauchten Zigaretten pro die, FTND-Wert, Anzahl der Rauchjahre sowie Alter mit Beginn des regelmäßigen Rauchens mit Polymorphismen im Bereich des dopaminergen Systems gefunden werden. Ein Einfluss der Polymorphismen auf die Abstinenzrate nach Therapieende konnte ebenfalls nicht festgestellt werden.

Lediglich bei der Analyse des Dopamin-4-Rezeptors (48-bp-Repeat-Polymorphismus) konnten in Zusammenhang mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten pro die und der Rauchdauer in Jahren signifikante Zusammenhänge gefunden werden, welche jedoch nur schwer zu interpretieren sind. In der Literatur finden sich diesbezüglich keine weiteren Untersuchungen

Bei Berücksichtigung der Zigarettenzahl pro die zeigte sich bei dem Genotypen 2-5 eine deutlich hohe Quantifizierung, was theoretisch mit einer niedrigeren Anzahl der Zigaretten pro die einhergeht. Diese kann jedoch bei weiteren Genotypen mit jeweils einem 2-Allel oder einem 5-Allel nicht gefunden werden. Darüber hinaus kann auch kein Zusammenhang mit „kurzkettigen“ Allelen gefunden werden.

Ein schwer interpretierbarer signifikanter Zusammenhang zeigt sich ebenfalls beim Alter des regelmäßigen Rauchbeginns. Hier findet man eine geringe Quantifizierung bei den Genotypen 6-6, welches mit einem späteren Rauchbeginn einhergeht.

Auch wenn kein Kausalzusammenhang zum dopaminergen System gefunden werden konnte, so ist zu beachten, dass in dieser Studie mit Berücksichtigung des dopaminergen Systems nur ein geringer Ausschnitt der genetischen Variabilität untersucht wurde. Potentielle Störungen der serotonergen oder noradrenergen

Aktivität wurden gänzlich außer Acht gelassen, weitere Studien sollten diesbezüglich durchgeführt werden.

## 4.2 Persönlichkeit und Genetik

Es stellt sich die Frage, inwieweit die genetischen Polymorphismen das Rauchverhalten direkt beeinflussen können, oder aber indirekt über einen Mediator z.B. Persönlichkeitsvariablen wirken. Zwar finden sich einige Studien, welche einen Zusammenhang erläutern, doch auch hier liegen keine eindeutigen Ergebnisse vor:

In einer Studie von Muglia et al. (2000) werden 66 gesunde Probanden und 66 an ADHD erkrankte Probanden auf einen Zusammenhang von ADHD mit dem 48-bp Polymorphismus des DRD4 hin untersucht. Es zeigt sich ein signifikanter Wert des 7-Repeat-Allels bezüglich ADHD. Vergleicht man jedoch die absolute Verteilung des 7-Repeat-Allels mit denen von Chang et al. (1996), so lassen sich weit unterschiedlichere Repräsentationen feststellen: Chang et al. (1996) fand heraus, dass die weltweite Allel-Verteilung sehr variiert, durchschnittliche 7-Repeat-Allel-Verteilung reichen von 1.9% in Asien bis hin zu 48.3% in Amerika bei gesunden Probanden. Die von Muglia et al. (2000) in den USA durchgeführte Studie zeigt de facto eine 7-Repeat-Verteilung von 21% bei Patienten mit ADHD versus 9.8% bei den gesunden Kontrollen. In diesem Falle müsste die Heterogenität der Gruppe hinterfragt werden.

Andrerseits konnten ähnliche Befunde auch in anderen Studien gefunden werden (Faraone et al. 2001, DiMaio et al. 2003). In der dort durchgeführten Metaanalyse fanden sich, wenn auch nur geringe, so doch Assoziationen zwischen dem 7-Repeat-Allel des DRD4 und ADHD. Ein anderer möglicher richtungsweisender Befund ist das geringe Vorkommen von sowohl dem 7-Repeat-Allel in Asien als auch dem geringem Vorkommen von ADHD in asiatischen Ländern (Faraone et al. 2000).

In Zusammenhang mit der Persönlichkeitsvariablen Novelty seeking untersuchten Keltikangas-Järvinen et al. (2003) ebenfalls den 48-bp-Polymorphismus. In einer randomisierten Population wurden aus insgesamt 150 Probanden die 10% mit dem höchsten Score mit den 10% verglichen, die den niedrigsten Score aufwiesen.

Signifikante Unterschiede zeigten sich bezüglich der NS-Untergruppe „Sensationslust“ (OD 2,94; 95% CI, 1,32-6,59) und „Impulsivität“ (OD 2,74; 95% CI, 1,23-6,11). Bei den Berechnungen wurde ein einfacher  $\chi^2$ -Test durchgeführt, die Einteilung der DRD4-Polymorphismen erfolgte in „kurzkettig“ (bis zu 6 Repeats) und „langkettig“ (mehr als 7 Repeats), insofern konnte eine genaue Genotypisierung bei den Berechnungen nicht berücksichtigt werden. Die Verteilung der einzelnen Allelhäufigkeiten entsprach der allgemeinen Literatur. Bei dem Ergebnis wurde diskutiert, ob das Verhalten in neuen Situationen (Vermeidung versus Aufsuchen) ein Aspekt vieler Persönlichkeitsprägungen ist, welcher mit dem DRD4-Polymorphismus assoziiert ist.

Noble et al. (1998) untersuchte in einer weiteren Studie 119 gesunde Kaukasier hinsichtlich potentieller Zusammenhänge zwischen Merkmalsausprägungen im TPQ und genetischer Polymorphismen im DRD2 (TaqA1, TaqB1, Intron61) und DRD4 (48bp). Im Rahmen einer ANOVA-Berechnung, in welcher er die genetischen Komponenten als unabhängige Variable und die Persönlichkeitsvariable mit der abhängigen Variablen gleichsetzte, fand er signifikante Werte in Zusammenhang mit erhöhten Werten bei TPQ-NS und vorhandenen Polymorphismen im DRD2 (TaqA1/TaqB1/l61), welche bei zusätzlich vorhandenem 7-Repeat-Allel (DRD4) einen additiven Effekt zu haben schienen. In Bezug auf TPQ-RD und die DRD2-Polymorphismen war die Signifikanz ebenfalls zu finden, jedoch nicht in Zusammenhang mit dem DRD4-Polymorphismus. Es fand sich ebenfalls kein Zusammenhang mit der Persönlichkeitsvariablen Harm-Avoidance. Ebenso wenig fanden sich signifikante Werte mit einzelnen Polymorphismen.

Diese positiven Zusammenhänge konnten weder von Jorm et al. (2001), welcher 660 verhaltensauffällige Kinder in Südamerika im Alter von 5 bis 16 Jahren auf einen 40-bp-VNTS-Polymorphismus im untranslatierten 3'-Ende des Dopamintransporters hin untersuchte, noch von DeBrettes et al. (1998), die einen signifikanten Zusammenhang zwischen der NS-Persönlichkeit und dem TaqA1-Allel suchten, bestätigt werden.

Im Rahmen einer Mediationsuntersuchung wurde in dieser Studie ein potentieller Zusammenhang zwischen genetischen Polymorphismen des dopaminergen Systems auf Rauchvariablen unter Berücksichtigung von Persönlichkeitsvariablen als Mediatoren untersucht. Als Mediationsvariablen dienten die psychologischen

Variablen des TPQ-Noveltty Seeking und TPQ-Reward Dependence sowie ADHD. Im Gegensatz zu Ronai et al (2002) konnten die dort gefundenen positiven Zusammenhänge hier nicht bestätigt werden.

Zu berücksichtigen ist jedoch, dass der indirekte Einfluss der Persönlichkeitsvariablen über die genetischen Polymorphismen zum einen nur einen Teilaspekt darstellt, zum anderen polygenetisch bedingt ist und die Analyse der genauen Sequenzvarianz schwierig ist.

### **4.3 Einfluss von Persönlichkeitsvariablen auf das Rauchverhalten**

Im Modell von Swan (2003) nehmen neben den genetischen Einflussvariablen auch Persönlichkeitsvariablen und psychische Störungen Einfluss auf das Rauchverhalten. Von Interesse ist wegen seines Bezuges zum dopaminergen System und der nachgewiesenermaßen hohen Raucherprävalenz die Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHD). So konnte in einer Studie von Groß et al. 1999 bei der Untersuchung von 164 erwachsenen Probanden mit einem hyperkinetischen Syndrom gezeigt werden, dass diese eine erhöhte Vulnerabilität für Suchterkrankungen aufweisen. Die erworbenen Sekundärstörungen erschwerten die Aussicht auf eine erfolgreiche Therapie der Grunderkrankung.

Eine ähnliche Beobachtung beschreiben Disney et al. 1999. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass Verhaltensauffälligkeiten im Kindesalter unabhängig vom Geschlecht das Risiko eines Substanzmissbrauches erhöhen. Ein konkreter Zusammenhang mit der Erkrankung an ADHD konnte dabei aber nicht festgestellt werden.

Dufeu et al. (1995) untersuchten in einer Studie 190 trinkende Alkoholiker sowie 36 Kontrollen nach einer 6-monatigen Abstinenzphase. Alle Probanden wurden mit Hilfe des TPQ-Fragebogens charakterisiert. Dufeu wollte damit zeigen, dass auch das Temperament und nicht nur eine spezielle biologische Sensitivität zur Suchtentwicklung prädisponieren. Innerhalb der drei möglichen Persönlichkeitstypen

Novelty Seeking, Harm Avoidance und Reward Dependence teilte er die Probanden in zwei hypothetische Kategorien ein. Kategorie 1 mit einem hohen NS-Score bei niedrigem HA-Score, sollte ursächlich vermehrt umweltbedingt beeinflusst werden. Kategorie 2 mit einem hohen HA-Score bei erniedrigtem NS-Score wurde als ursächlich genetisch beeinflusst angenommen.

Als Resultat konnte insgesamt eine hohe Intensität des Typs Harm Avoidance gefunden werden, diese zeigte sich zudem bei Frauen noch stärker. Über einen Zeitverlauf schien die Ausprägung jedoch nicht konstant, sondern vielmehr Intoxikationseffekten zu unterliegen. Die NS-Skala hingegen zeigte vor allem bei Männern eine hohe interne Konsistenz, welche sich zudem zeitstabil präsentierte. Als potentielle Schlussfolgerung kam Dufeu zu dem Fazit, dass die Persönlichkeit einer der verlaufsbestimmenden Faktoren der Abhängigkeitsentwicklung sei.

Unerwartet zeigt sich leider auch bezüglich der hier eruierten Persönlichkeitsvariablen (TPQ-Novelty-Seeking, TPQ-Reward Dependence, Symptome der ADHD) in einem Modell, das alle Persönlichkeitsvariablen einschloss kein vermittelnder Einfluss auf die Rauchvariablen.

Lediglich im Zusammenhang mit TPQ-RD/ FTND bzw. ADHD/ Rauchdauer in Jahren zeigten sich in der Mediationsanalyse zwei signifikante Einzelwerte. Da das Modell insgesamt nicht signifikant war, sind die Einzelwerte aber nicht zu interpretieren. Dennoch sind wir einer hypothetischen positiven Assoziation nachgegangen und konnten mittlere Effektstärken für beide Zusammenhänge finden.

#### **4.4 Interaktion von Genetik und Umwelt**

Trotz der kontroversen Befunde scheint ein genetischer Beitrag zur Entstehung der Tabakabhängigkeit zumindest teilweise plausibel zu sein. Unter der grundlegenden Annahme einer Interaktion von Genetik und Umwelt (Hettema et al 1999, White et al. 2003) wird der genetische Einfluss auf 40-60 % geschätzt (McGue et al. 2000). Kendler et al. (1999) gehen für den frühen Rauchbeginn von einem 60%igem Anteil

aus. Darüber hinaus ziehen sie Umwelteinflüsse, ein geringes Bildungsniveau, ein hoher Level an Neurotizismus und Extrovertiertheit sowie eine breite Vielfalt an psychiatrischen Erkrankungen ursächlich in Betracht. Bezüglich der Abhängigkeitsentwicklung nehmen sie sogar einen genetischen Anteil bis 70% an.

#### **4.5 Weiterführende Überlegungen**

Die postulierten Hypothesen können in unseren Untersuchungen nicht bestätigt werden. Trotz der hier fehlenden signifikanten Ergebnisse sprechen sowohl andere Studien als auch bisher vorliegende Modelle für eine Interaktion aus Genetik, Persönlichkeit und Umwelt als die wahrscheinlichste Ursache für die Entstehung einer Tabakabhängigkeit. Unsere Studie weist einige Einschränkungen auf, die eine Widerlegung dieser Hypothese ausschließen.

In Bezug auf die genetische Grundlage macht es die allzu große Zahl von Sequenzvarianten schwer, genau diejenigen Sequenzen herauszufinden, welche an der Ätiologie der Suchtentwicklung beteiligt sind. Des Weiteren wird die erbliche Disposition in der Regel durch mehrere Gene bestimmt, die häufig sowohl in Wechselwirkung miteinander als auch in Wechselwirkung mit Umwelt- und Persönlichkeitsfaktoren erst zur Manifestation führen.

Einschränkungen in dieser Studie könnte auch die Selektion von Rauchern sein, welche alle an einer Entwöhnungstherapie teilnahmen und somit selektiv als „abstinenzwillig“ betrachtet werden können. Somit wurde hier nur eine Subgruppe von Rauchern angesprochen. Eine weitere Einschränkung ergibt sich aus der relativ geringen Fallzahl.

Aufgrund der unterschiedlichen Varianz von genetischen Polymorphismen und Umweltfaktoren, welche einen individuellen Einfluss auf die Entstehung und Aufrechterhaltung einer Suchtentwicklung haben, stellt sich die Frage, ob jede Person eine individuelle beeinflussbare Prädisposition zeigt. Dies würde zu der Schlussfolgerung führen, dass man Probanden in potentielle Subtypen einteilen könnte.

Geht man beispielsweise von einem „genetischen Subtypen“ im Gegensatz zum „Persönlichkeits-Subtyp“ aus, so hieße dies, dass bestimmte Polymorphismen oder eine Kombination aus bestimmten Polymorphismen als Marker für die Entstehung einer Suchtentwicklung dienen. Dabei ist zu beachten, dass der Polymorphismus aufgrund der polygenen Vererbung nicht als diagnostischer Marker per se zu verwenden ist, jedoch eine mögliche Disposition vorhersagt.

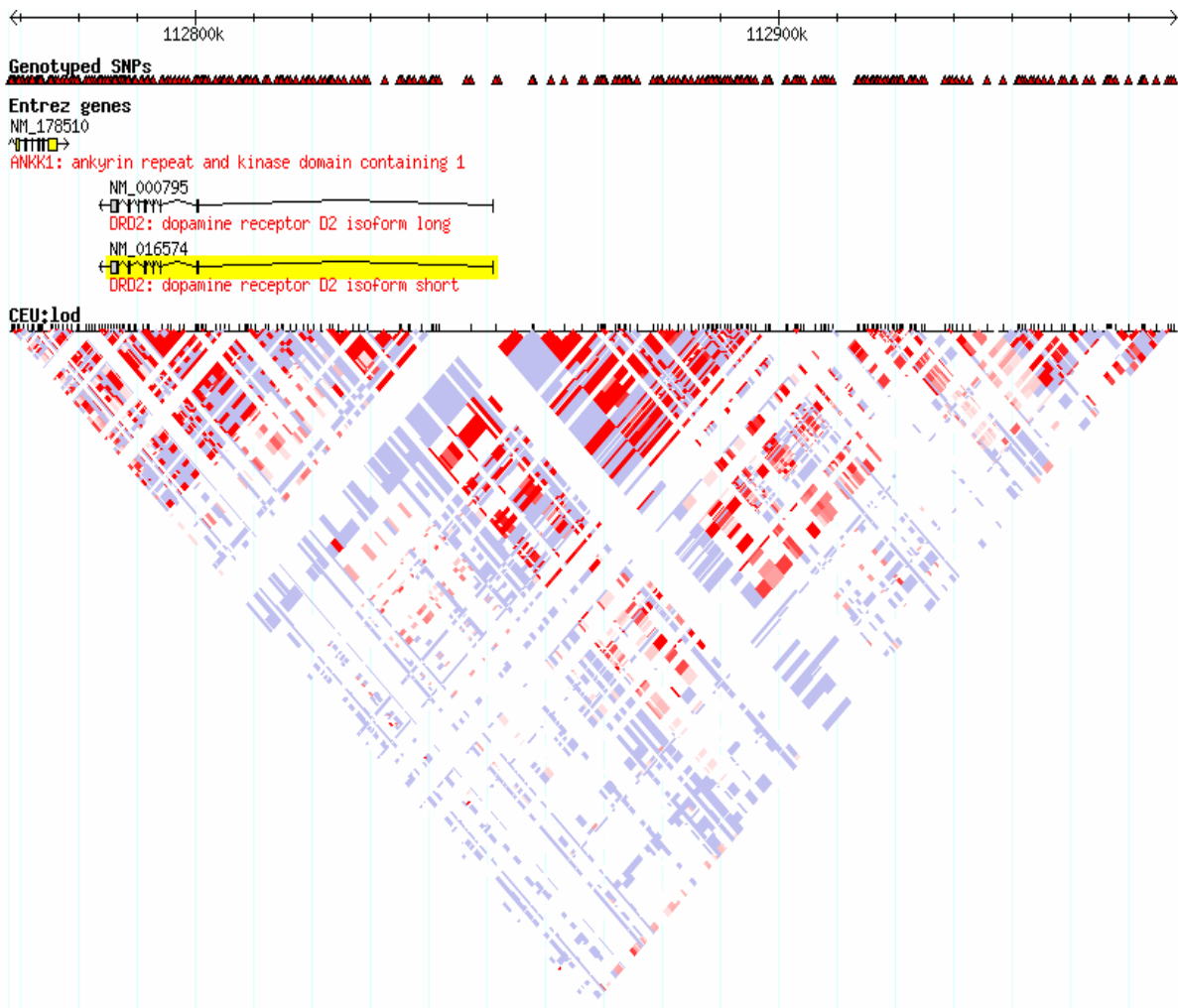
So konnte zum Beispiel in anderen Bereichen eine positive Assoziation zwischen APOE und der Alzheimer-Erkrankung, CNTF und der Entstehung von Psychosen, TPH und Suizidalität, SLC6A3 und Kokain-induzierten Psychosen gezeigt werden (Gelernter et al. 1999).

Um die Aussagekraft von Assoziationsstudien zukünftig noch weiter steigern zu können, wurde zuletzt eine Haplotyp-Karte des menschlichen Erbguts für verschiedene Populationen ausgearbeitet ([www.hapmap.org](http://www.hapmap.org)).

Es zeigte sich, dass einzelne Marker (SNP's) eine hohe Aussagekraft für größere DNA-Abschnitte besitzen, da sie mit benachbarten Polymorphismen im linkage disequilibrium (LD, beschreibt überzufällig häufige Verbindungen eines Allels mit einem anderen) stehen und damit gekoppelt vererbt werden (siehe Abbildung 8). Am Beispiel des DRD2-Gens findet sich interessanterweise ein Haplotyp-Block mit relativ hohem LD vom 3'-Ende des DRD2-Gens, bis in den Bereich von TaqA1 (ANKK1) reichend. Daraus erklärt sich auch, dass das TaqA1-Allel durchaus funktionelle Auswirkung auf die DRD2-Funktion haben kann, ohne selbst direkt im DRD2-Gen zu liegen.

Weitere Analysen zur Assoziation des Rauchens mit Polymorphismen des dopaminergen Systems könnten über genau diese hoch informativen Polymorphismen (sogenannte taqSNPs) ein Maximum an Aussagekraft bei gleichzeitig relativ kleinem Aufwand ergeben und somit diese potentiell interessante genomische Region in einer bisher nicht erzielbaren Breite untersuchen.





**Abbildung 8:** linkage disequilibrium des DRD2/ANKK1

#### 4.6 Ausblick

Laut Leitlinien des „American College of Chest Physicians“ und des „National Institute for Clinical Excellence“ sowie den deutschen Leitlinien der DG-Sucht und DGPPN (Schmidt et al. 2006) sind derzeit 6 Medikamente als Therapie erster Wahl zur Behandlung der Tabakabhängigkeit empfohlen: der Amphetaminabkömmling Bupropion, Nikotin in Form von Nikotinpflaster, Nikotinkaugummi, Nikotin-Inhaler, Nikotintabletten sowie Nikotin-Nasenspray. Die medikamentöse Therapie sollte eine nicht-pharmakologische Therapie, die Verhaltenstherapie, ergänzen. Hierbei kann sowohl eine Gruppen- als auch Einzeltherapie in Betracht gezogen werden

(Anderson et al. 2002). Zugelassen ist neuerdings auch der partielle  $\alpha_4\beta_2$ Atetylcholin-Rezeptoragonist Varenicline.

Weitere Therapieoptionen bestehen derzeit aus der Behandlung mit diversen anderen Antidepressiva. Darunter zeigte Nortriptylin die vielversprechendste Wirkung. Neuere Studien untersuchten die Wirkung von Rimonabant, einem Cannabinoid-1-Blocker, welcher in der Adipositasbehandlung eingesetzt wird. Erste positive Ergebnisse konnten jedoch nicht bestätigt werden. Immer mehr ins Licht des Untersuchungsinteresses rücken auch so genannte Nikotinvakzine. Diese sollen bewirken, dass die Produktion spezifischer Antikörper gegen Nikotin stimuliert wird. Dadurch soll erreicht werden, dass die Zieldroge durch die Antikörper vor Entfaltung der psychotropen Wirkung inaktiviert wird (Henningfield et al. 2005).

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass eine Kombination aus pharmakologischer und psychotherapeutischer Behandlung sinnvoll ist. Diese sollte jedoch individuelle Faktoren berücksichtigen und so genannte „Subtypen“ mit einschließen:

Aufgrund einer hohen Komorbidität der Posttraumatischen Belastungsstörung (PTSD) mit Nikotinabhängigkeit wurden in einer Studie (McFall et al., 2005) 66 betroffene Patienten untersucht. Die erste Gruppe wurde mit einem standardisierten verhaltenstherapeutischen Entwöhnungsprogramm behandelt, während bei der anderen eine integrierte PTSD-Behandlung beinhaltet war. Unterstützend erhielten beide Gruppen eine medikamentöse Therapie mit Bupropion oder Nikotin in Form von Pflaster, Kaugummi oder Nasenspray. Dabei zeigte sich, dass in der zweiten Gruppe die Abstinenzrate nach Therapieende fünfmal höher war. Eine Assoziation mit einer Verschlechterung der PTSD-Symptomatik oder einer depressiven Symptomatik konnte nicht beobachtet werden. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme, dass individuellere Therapieoptionen eine höhere Abstinenzrate nach sich ziehen.

Audrain-McGovern et al. (2004) konnten eine positive Assoziation mit dem DRD2-A1-Allel und einer geringeren Abstinenzrate zeigen. Dabei potenzierte sich der Effekt durch die bereits vor der Untersuchung vorliegende depressive Symptomatik. Auch hier zeigt sich, dass durch die Berücksichtigung der Komorbidität bzw.

Persönlichkeitsvariante (introvertierter, depressiver versus extrovertierten Typen) verbesserte Abstinenzraten erzielt werden können.

#### **4.7 Schlussfolgerung**

Seit fast zwei Jahrzehnten wird eine Beteiligung des mesolimbischen dopaminergen Systems sowie eine individuelle genetische Variabilität in diesem System bei der Entwicklung einer Tabakabhängigkeit diskutiert. Neuere Studien zeigen, dass eine weitaus umfassendere und komplexere Entstehungsgrundlage anzunehmen ist. Der Beitrag des dopaminergen Systems ist eingebettet in einer komplexen Interaktion von Genetik, Umwelt und Persönlichkeit.

Die große Zahl von Sequenzvarianten erschwert es, exakt diejenigen Sequenzen herauszufinden, welche an der Ätiologie der Suchtentwicklung beteiligt sind. Ein „Raucher-Gen“ per se wird daher nicht zu finden sein. Dennoch könnten weitere Untersuchungen zeigen, dass eine Kombination aus bestimmten Polymorphismen eine Suchtentwicklung fördert und somit eine erhöhte Disposition zur Tabakabhängigkeit darstellen kann.

## 5 Zusammenfassung

Obwohl die gesundheitlichen Folgeschäden des Tabakkonsums gut bekannt sind, gelingt vielen Rauchern der Weg zur Abstinenz nicht. Für die Entwicklung der Abhängigkeit spielen dabei psychische als auch biologische Faktoren eine wesentliche Rolle. Erstere ist am besten durch ein lerntheoretisches Modell, letztere im Wesentlichen durch Nikotin vermittelte Wirkung zu erklären. Diese zeigt sich sehr vielfältig, Transmitter wie Dopamin, Noradrenalin, Acetylcholin, 5-Hydroxytryptamin, Gamma-Aminobuttersäure und  $\beta$ -Endorphine werden sowohl durch eine Freisetzung als auch durch eine Blockade beeinflusst. Vor allem aber der Einfluss auf das dopaminerge System soll durch eine direkte Stimulierung der Dopaminfreisetzung im Nucleus accumbens (dem Belohnungszentrum) eine wesentliche Verstärkerwirkung bei der Entwicklung der Abhängigkeit einnehmen.

Ein weiterer potentieller Einfluss des dopaminergen Systems auf das Rauchverhalten besteht in Persönlichkeitsvariablen, die mit dopaminergen Transmissionen in Verbindung gebracht werden. Hypothesen bestehen dahingehend, dass eine ausgeprägte „Harm-Avoidance“ mit einer hohen Aktivität im serotonergen System in Zusammenhang steht, während ein hohes Maß an „Novelty-Seeking“ mit einer geringen basalen Dopaminaktivität in Verbindung gebracht wird. Eine starke Tendenz zum Anpassungsverhalten wird mit einer geringen noradrenergen Transmission und extrem impulsives, aggressives Verhalten mit Änderungen im serotonergen und GABA<sup>erg</sup>en Haushalt assoziiert (Etter et al. 2003).

Ziel dieser Studie war es, am Beispiel des dopaminergen Systems (TaqA1, Längenpolymorphismus DRD4 (48bp), DAT-Polymorphismus) den genetischen Einfluss auf diverse Rauchdaten wie Rauchdauer, Rauchintensität und Abstinenzfähigkeit zu überprüfen.

Unter der Berücksichtigung eines potentiellen verstärkenden Effektes von Persönlichkeitsmerkmalen auf den Tabakkonsum wurde im Rahmen einer Mediationsanalyse anhand des Beispiels ADHD und Novelty Seeking deren potentiell additiver Einfluss auf die Tabakabhängigkeit untersucht.

Es wurden insgesamt 202 Raucher, die an einem Entwöhnungsprogramm des Arbeitskreis Raucherentwöhnung des Universitätsklinikums für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen teilnahmen, nach Erhebung rauchanamesischer (Anzahl der gerauchten Zigaretten pro die, Grad der Tabakabhängigkeit (FTND), Rauchdauer in Jahren, Beginn des regelmäßigen Rauchens) und persönlichkeitspezifischer Faktoren (ADHD, Novelty Seeking) hinsichtlich genetischer Polymorphismen im dopaminergen System untersucht.

In dieser Studie konnte kein Zusammenhang zwischen den Rauchvariablen wie Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag, FTND-Wert, Anzahl der Rauchjahre sowie Alter bei Beginn des regelmäßigen Rauchens mit Polymorphismen des dopaminergen Systems DRD2 (TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel) und DAT (rs 2617604) festgestellt werden. Dies gilt auch für die hypothetischen Mediationsvariablen (TPQ-Novelty-Seeking, TPQ-Reward Dependence, Symptome der ADHD).

Zur Ermittlung potentieller Einflussfaktoren auf die Abstinenzraten wurde eine logistische Regression durchgeführt. Es konnte weder bei den dopaminergen Polymorphismen DRD2 (TaqA1, rs 1800497), DRD4 (48bp-A1-Allel) und DAT (rs 2617604) noch bei den psychologischen Variablen ein signifikanter Einfluss gefunden werden. Es fanden sich dagegen nebenbefundlich schwache Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen ADHD und der gerauchten Zigaretten pro Tag und einer erhöhten Ausprägung des Persönlichkeitsmerkmals „Reward-Dependence“ und einem erhöhten Punktwert im FTND.

Lediglich bei der Analyse des 48-Basenpaar-Genotypes konnten signifikante Zusammenhänge mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten pro die und der Rauchdauer in Jahren gefunden werden, welche jedoch nur schwer zu interpretieren sind.

Die Ergebnisse führen zu der Annahme, dass bei der Entwicklung einer Tabakabhängigkeit von einer weitaus komplexeren Entstehungsgrundlage auszugehen ist. Der Beitrag des dopaminergen Systems ist eingebettet in eine komplexe Interaktion von Genetik, Umwelt und Persönlichkeit.

Die große Zahl von Sequenzvarianten erschwert es, exakt diejenigen Sequenzen zu bestimmen, welche an der Ätiologie der Suchtentwicklung beteiligt sind. Ein „Raucher-Gen“ per se wird daher nicht zu finden sein. Dennoch könnten weitere Untersuchungen zeigen, dass eine Kombination aus bestimmten Polymorphismen eine Suchtentwicklung fördert und somit eine erhöhte Disposition zur Tabakabhängigkeit darstellen. Vielversprechend zeigt sich hierbei die Untersuchung assoziierter Haplotypen-Blöcke über hochinformativ taqSNPs.

## 6 Literatur

1. Anderson JE, Jorenby DE, Scott WJ, Fiore MC. Treating Tobacco Use and Dependence. *Chest* 2002; 121:932-941.
2. Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft. Empfehlung zur Therapie von Tabakabhängigkeit. *Suchtmed* 2001; 3:156-175.
3. Audrain-McGovern J, Lerman C, Wileyto EP, Rodriguez D, Shields PG. Interacting Effects of Genetic Predisposition and Depression on Adolescent Smoking Progression. *Am J Psychiatry* 2004; 161:1224-1230.
4. Baron RM, Kenny DA. The Moderator-Mediator Variable Distinction in Social Psychological Research: Conceptual, Strategic, and Statistical Considerations. *J Pers Soc Psychol* 1986; 51:1173-1182.
5. Batra A. Tabakabhängigkeit und Raucherentwöhnung bei psychiatrischen Patienten. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2000; 68:80-92.
6. Batra A, Gelfort G, Bartels M, Smoltczyk H, Buchkremer G, Riess O, Schöls L. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene – a genetic risk factor in heavy smoking? *Addict Biol* 2000; 5:429-436.
7. Batra A. Tabakabhängigkeit. Biologische und psychosoziale Entstehungsbedingungen und Therapiemöglichkeiten. (Monographien aus dem Gesamtgebiet der Psychiatrie; Bd.97). Darmstadt: Steinkopff. 2000.
8. Batra V, Patkar AA, Berrettini WH, Weinstein SP, Leone FT. The Genetic Determinants of Smoking. *Chest* 2003; 123:1730-1739.
9. Berrettini WH, Lerman CE. Pharmacotherapy and Pharmacogenetics of Nicotine Dependence. *Am J Psychiatry* 2005; 162:1441-1451.
10. Bierut LJ, Rice JP, Edenberg HJ, Goate A, Foroud T, Cloninger CR, Begleiter H, Conneally PM, Crowe RR, Hesselbrock V, Li TK, Nurnberger Jr. JI, Porjesz B, Schuckit MA, Reich T. Family-Based Study of the Association of the Dopamine D2 Receptor Gene (DRD2) With Habitual Smoking. *J Med Genet* 2000; 90:299-302.
11. Blum K, Noble EP, Sheridan PJ, Montgomery A, Ritchie T, Jagadeeswaran P, Nogami H, Briggs AH, Cohn JB. Allelic Association of Human Dopamine D2 Receptor Gene in Alcoholism. *JAMA*. 1990; 263:2055-2060.
12. Blum K, Noble EP, Sheridan PJ, Finley O, Montgomery A, Ritchie T, Ozkaragoz T, Fitch RJ, Sadlack F, Sheffield D, Dahlmann T, Halbardier S,

- Nogami H. Rapid Communication: Association of the A1 Allele of the D2 Dopamine Receptor Gene With Severe Alcoholism. *Alcohol* 1991; 8:409-416.
13. Brody A, Olmstead RE, London ED, Farahi J, Meyer JH, Grossman P, Lee GS, Huang J, Hahn EL, Mandelkern MA. Smoking-Induces Ventral Striatum Dopamine Release. *Am J Psychiatry* 2004; 161:1211-1218.
14. Buisson B, Bertrand D. Chronic Exposure to Nicotine Upregulates the Human  $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptor Function. *J Neurosci* 2001; 21:1819-1829.
15. Castellanos FX, Tannock R. Neuroscience of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: The Search for Endophenotypes. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3:617-628.
16. Chang FM, Kidd JR, Livak KJ, Pakstis AJ, Kidd KK. The world-wide distribution of allele frequencies at the human dopamine D4 receptor locus. *Hum Genet* 1996; 98:91-101.
17. Chen WJ, Lu ML, Hsu YPP, Chen CC, Yu JM, Cheng ATA. Dopamine D2 Receptor Gene and Alcoholism Among Four Aboriginal Groups and Han in Taiwan. *Am J Med Genet* 1997; 74:129-136.
18. Cloninger CR. A systematic method for clinical description and classification of personality variants. A proposal. *Arch Gen Psychiatry* 1987; 44:573-588.
19. Cohen J. *Statistical power for the behavioral sciences*. New York: Academic Press. 1977.
20. Cohen J, Cohen P. *Applied Multiple Regression/Correlation Analysis for the Behavioral Sciences* (2nd ed.). New York: Lawrence Erlbaum Associates, 1983
21. Comings DE, Ferry L, Bradshaw-Robinson S, Burchette R, Chiu C, Muhleman D. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene: a genetic risk factor in smoking. *Pharmacogenetics* 1995; 6:73-79.
22. Connor JP, Young RMCD, Lawford BR, Ritchie TL, Noble EP. D2 dopamine receptor (DRD2) polymorphism is associated with severity of alcohol dependence. *Eur Psychiatry* 2002; 17:17-23.
23. DeBrettes B, Berlin I, Laurent C, Lepine JP, Mallet J, Puech AJ. The dopamine D2 receptor gene TaqI A polymorphism is not associated with Novelty Seeking, Harm Avoidance and Reward Dependence in healthy subjects. *Eur Psychiatry* 1998; 13:427-30.



24. DHS, Deutsche Hauptstelle für Sucht, 2005.
25. DiChiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:5274-5278.
26. Dilling H, Mombour W, Schmidt MH (eds). Internationale Klassifikation psychischer Störungen: ICD-10, Kapitel V (F). Göttingen, Huber, 2004.
27. DiMaio S, Grizenko N, Joober R. Dopamine genes and attention-deficit hyperactivity disorder: a review. *J Psychiatry Neurosci* 2003; 28:27-38.
28. Ding YC, Chi HC, Grady DL, Morishima A, Kidd JR, Kidd KK, Flodman P, Spence MA, Schuck S, Swanson JM, Zhang YP, Moyzis RK. Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:309-314.
29. Disney ER, Elkins IJ, McGue M, Iacono WG. Effects of ADHD, Conduct Disorder, and Gender on Substance Use and Abuse in Adolescence. *Am J Psychiatry* 1999; 156:1515-1521.
30. Dufeu P, Kuhn S, Schmidt LG. Prüfung der Gütekriterien einer deutschen Version des „Tridimensional personality Questionnaire (TPQ“ von Cloninger bei Alkoholabhängigen. *Sucht* 1995; 41:395-407.
31. Ekelung J, Lichtermann D, Järvelin MR, Peltonen L. Association Between Novelty Seeking and the Type 4 Dopamine Receptor Genes in a Large Finnish Cohort Sample. *Am J Psychiatry* 1999; 156:1453-1455.
32. Etter JF, Pelissolo A, Pomerleau CS, DeSaint-Hilaire Z. Associations between smoking and heritable temperament traits. *Nicotine Tob Res* 2003; 5:401-409.
33. Faraone SV, Biederman J, Weiffenbach B, Keith T, Chu MP, Weaver A, Spencer TJ, Wilens TE, Frazier J, Cleves M, Sakai J. Dopamine D4 Gene 7-Repeat Allele and Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry* 1999; 156:768-770.
34. Faraone SV, Biederman J, Mick E, Williamson S, Wilens T, Spencer T, Weber W, Jetton J, Kraus I, Pert J, Zallen B. Family Study of Girls With Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry* 2000; 157:1077-1083.
35. Faraone SV, Doyle AE, Mick E, Biederman J. Meta-Analysis of the Association Between the 7-Repeat Allele of the Dopamine D4 Receptor Gene and Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry* 2001; 158:1052-1057.

36. Gelernter J, O'Malley S, Risch N, Kranzler HR, Krystal J, Merikangas K, Kennedy JL, Kidd KK. No Association Between an Allele at the D2 Dopamine Receptor Gene (DRD2) and Alcoholism. *JAMA* 1991; 266:1801-1807.
37. Gelernter J, Kranzler H, Lacobella J. Population Studies of Polymorphisms at Loci of Neuropsychiatric Interest (Tryptophan Hydroxylase (TPH), Dopamine Transporter Protein (SCL6A3), D3 Dopamine Receptor (DRD3), Apolipoprotein E (APOE),  $\mu$  Opioid Receptor (OPRM1), and Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF)). *Genomics* 1998; 52: 289-297.
38. Gilbert DG, Gilbert BO. Personality, Psychopathology, and Nicotine Response as Mediators of the Genetics of Smoking. *Behav Genet* 1995; 25:133-147.
39. Greenberg BD, Li Q, Lucas FR, Hu S, Sirota LA, Benjamin J, Lesch KP, Hamer D, Murphy DL. Association Between the Serotonin Transporter Promoter Polymorphism and Personality Traits in a Primarily Female Population Sample. *Am J Med Genet* 2000; 96: 202-216.
40. Groß J, Blocher D, Trott GE, Rösler M. Erfassung des hyperkinetischen Syndroms bei Erwachsenen. *Nervenarzt* 1999; 70:20-25.
41. Heath AC, Madden PAF, Slutske WS, Martin NG. Personality and the Inheritance of Smoking Behavior: A Genetic Perspective. *Behav Genet* 1995; 25:103-117.
42. Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, Fagerström KO. The Fagerström Test for Nicotine Dependence: A revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *Br J Addict* 1991; 86:1119-1127.
43. Heinz A, Goldman D, Jones DW, Palmour R, Hommer D, Gorey JG, Lee KS, Linnoila M, Weinberger DR. Genotype Influences in vivo dopaminergic transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22:133-139.
44. Heinz A, Batra A. Neurobiologie der Alkohol- und Nikotinabhängigkeit. Psychiatrie, Neurologie, Klinische Psychologie: Grundlagen-Methoden-Ergebnisse. Verlag W. Kohlhammer. 2000.
45. Henningfield JE, Fant RV, Buchhalter AR, Stitzer ML. Pharmacotherapy for Nicotine Dependence. *CA Cancer J Clin* 2005; 55:281-299.
46. Herbst JH, Zonderman AB, McCrae RR, Costa PT. Do the Dimensions of the Temperament and Character Inventory Map a Simple Genetic Architecture?

- Evidence From Molecular Genetics and Factor Analysis. *Am J Psychiatry* 2000 157:1285-1290.
47. Hettema JM, Corey LA, Kendler KS. A multivariate genetic analysis of the use of tobacco, alcohol, and caffeine in a population based sample of male and female twins. *Drug Alcohol Depend* 1999 57:69-78.
  48. Hietala J, Pohjalainen T, Heikkilä-Kallio U, West C, Salaspuro M, Syvälahti E. Allelic association between D2 but not D2 dopamine receptor genes and alcoholism in Finland. *Psychiatr Genet* 1997; 7:19-25.
  49. Jorm AF, Prior M, Sanson A, Smart D, Zhang Y, Easteal S. Association of a Polymorphism of the Dopamine Transporter Gene With Externalizing Behavior Problems and Associated Temperament Traits: A Longitudinal Study From Infancy to the Mid-Teens. *Am J Med Genet* 2001; 105:346-350.
  50. Keltigangas-Järvinen L, Elovainio M, Kivimäki M, Lichtermann D, Ekelund J, Peltonen L. Association Between the Type 4 Dopamine Receptor Gene Polymorphism and Novelty Seeking. *Psychosom Med* 2003 65:471-476.
  51. Kendler KS, Neale M, Sullivan P, Corey LA, Gardner CO, Prescott CA. A population-based twin study in women of smoking initiation and nicotine dependence. *Psychol Med* 1999; 29:299-308.
  52. Kono Y, Yoneda H, Sakai T, Nonomura Y, Inayama Y, Koh J, Sakai J, Inada Y, Imamichi H, Asaba H. Association Between Early-Onset Alcoholism and the Dopamine D2 Receptor Gene. *Am J Med Genet* 1997; 74:179-192.
  53. Lawford BR, Young RMCD, Noble EP, Sargent J, Rowell J, Shadforth S, Zhang X, Ritchie T. The D2 Dopamine Receptor A1 Allele and Opioid Dependence: Association With Heroin Use and Response to Methadone Treatment. *Am J Med Genet* 2000; 96:592-598.
  54. Lerman C, Carporaso NE, Bush A, Zheng YL, Audrain J, Main D, Shields PG. Tryptophan hydroxylase gene variant and smoking behavior. *Am J Med Genet* 2001; 105:518-520.
  55. McFall M, Sacon A, Thompson CE, Yoshimoto D, Malte C, Straits-Troster K, Kanter E, Zhou XHA, Dougherty CM, Stelle B. Improving the Rates of Quitting Smoking for Veterans With Posttraumatic Stress Disorder. *Am J Psychiatry* 2005; 162:1311-1319.

56. McGue M, Elkins I, Iacono WG. Rapid Publication: Genetic and Environmental Influences on Adolescent Substance Use and Abuse. *Am J Med Genet* 2000; 96:671-677.
57. Muglia P, Jain U, Macciardi F, Kennedy JL. Adult Attention Deficit Hyperactivity Disorder and the Dopamine D4 Receptor Gene. *Am J Med Genet* 2000; 96:273-277.
58. Noble EP. The D2 Dopamine Receptor Gene: A Review of Association Studies in Alcoholism. *Behav Genet* 1993; 23.:119-129.
59. Noble EP, Jeor ST, Ritchie T., Syndulko K, Jeor SC, Fitch RJ, Brunner RL, Sparkes RS: D2 Dopamine Receptor Gene and Cigarette Smoking: A Reward gene? *Medical Hypotheses* 1994; 42:257-260.
60. Noble EP. The D2 Dopamine Receptor Gene: A Review of Association Studies in Alcoholism and Phenotypes. *Alcohol* 1998; 16:33-45.
61. Noble EP, Ozkaragoz TZ, Ritchie TL, Zhang X, Belin TR, Sparkes RS. D2 and D4 Dopamine Receptor Polymorphisms and Personality. *Am J Med Genet* 1998; 81:257-267.
62. Noble EP. D2 Dopamine Receptor Genes in Psychiatric and Neurologic Disorders and Its Phenotypes. *Am J Med Genet* 2003; 116B:103-125.
63. Ono Y, Manki H, Yoshimura K, Muramatsu T, Mizushima H, Higuchi S, Yagi G, Kanaba S, Asai M. Association Between Dopamine D4 Receptor (DRD4) Exon III Polymorphism and Novelty Seeking in Japanese Subjects. *Am J Med Genet* 1997; 74:501-503.
64. Perkins KA, Gerlach D, Broge M, Grobe JE. Greater Sensitivity to Subjective Effects of Nicotine in Nonsmokers High in Sensation Seeking. *Exp Clin Psychopharmacol* 2000; 8 :462-272.
65. Pinel JPJ. *Spektrum Lehrbuch: Biopsychologie*. (2000) 2. deutsche Auflage, herausgegeben von Wolfram Boucsein. Spektrum, Akademischer Verlag.
66. Pogue-Geile M, Ferrell R, Deka R, Debski T, Manuck S. Human Novelty – Seeking Personality Traits and Dopamine D4 Receptor Polymorphism: A Twin and Genetic Association Study. *Am J Med Genet* 1998; 81:44-48.
67. Roman T, Schmitz M, Polynczyk G, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: A Study of Association With Both the Dopamine Transporter Gene and the Dopamine D4 Receptor Gene. *Am J Med Genet* 2001; 105:471-478.

68. Ronai Z, Guttman A, Nemoda Z, Gervai J, Sasvari-Szekely M. Direct haplotype detection of adjacent polymorphic sites in the regulatory region of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene. *Electrophoresis* 2002; 23:1512-1516.
69. Salokangas RKR, Vilkmann H, Ilonen T, Taiminen T, Bergman J, Haaparanta M, Solin O, Alanen A, Syvälahti E, Hietala J. High Levels of Dopamine Activity in the Basal Ganglia of Cigarette Smokers. *Am J Psychiatry* 2000; 157:632-634.
70. Sass H, Wittchen HU, Zaudig M: Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen DSM-IV. Hogrefe, Göttingen, Ben, Toronto, Seattle 2003.
71. Schmidt LG, Gastpar M, Falkai P, Gaebel W. Evidenzbasierte Suchtmedizin. Dt. Ärzte-Verlag 2006.
72. Shimizu E, Hashimoto K, Ohgake S, Koizumi H, Okamura N, Koike K, Fujisaki M, Iyo M. Association between angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion gene functional polymorphism and novelty seeking personality in healthy females. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006 30:99-103.
73. Spitz MR, Shi H, Yang F, Hudmon KS, Jiang H, Chamberlain RM, Amos CI, Wan Y, Cinciripini P, Hong WK, Wu X. Case-Control Study of the D2 Dopamine Receptor Gene and Smoking Status in Lung Cancer Patients. *J Nat Cancer Inst* 1998; 90:358-363.
74. Sullivan MA, Rudnik-Levin F. Attention Deficit/Hyperactivity Disorder and Substance Abuse. *ANN NY Acad Sci* 2001; 931:251-270.
75. Sullivan PF, Fifeild WJ, Kennedy MA, Mulder RT, Sellman JD, Joyce PR. No Association Between Novelty Seeking and the Type 4 Dopamine Receptor Gene (DRD4) in Two New Zealand Samples. *Am J Psychiatry* 1998; 155: 98-101.
76. Sullivan PF, Kendler KS. The genetic epidemiology of smoking. *Nicotine Tob Res* 1999 ; 1:51-57.
77. Swan GE, Hudmon KS, Jack LM, Hemberger K, Carmelli D, Khroyan T, Ring HZ, Hops H, Andrews JA, Tildesley E, McBride D, Benowitz N, Webster Cc, Wilhelmsen KC, Feiler HS, Koenig B, Caron L, Illes J, Cheng LSC. Environmental and Genetic Determinants of Tobacco Use. *Methodology for al*

- Multidisciplinary, Longitudinal Family-Based Investigation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12:994-1005.
78. Swan GE, Valdes AM, Ring HZ, Khroyan TV, Jack LM, Ton CC, Curry SJ, McAfee T. Dopamine receptor DRD2 genotype and smoking cessation outcome following treatment with bupropion SR. *Pharmacogenetics* 2005 ; 5: 21-29.
79. VanTol HHM, Wu CM, Guan HC, Ohara K, Bunzow JR, Civelli O, Kennedy J, Seeman P, Niznik HB, Jovanovic V. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* 1992; 358:149-152.
80. White VM, Hopper FJL, Wearing AJ, Hill DJ. The role fo genes in tobacco smoking during adolescence and young adulthood: a multivariate behavior genetic investigation. *Addiction* 2003; 98:1087-1100.
81. Young SE, Stallings MC, Corley RP, Krauter KS, Hewitt JK. Genetic and Environmental Influences on Behavioral Disinhibition. *Am J Med Genet* 2000; 96:684-695.
82. Zubieta JK, Heitzeg MM, Xu Y, Koeppe RA, Ni L, Guthrie S, Domino EF. Regional Cerebral Blood Flow Responses to Smoking in Tobacco Smokers After Overnight Abstinence. *Am J Psychiatry* 2005; 162:567-577.
83. Zuckerman M, Kolin I, Pirce L, Zoob I: Development of a sensation seeking scale. *Journal of Consulting psychology* 1964; 28:477-482.
84. Zuckerman M. Behavioral Expressions and Biosocial Bases of Sensation Seeking. Cambridge University Press 1994.

## 7 Anhang

### 7.1 Fagerström-Test für Nikotinabhängigkeit

**1. Wann nach dem Aufwachen rauchen Sie Ihre erste Zigarette?**

- |                             |                       |          |
|-----------------------------|-----------------------|----------|
| Innerhalb von 5 Minuten     | <input type="radio"/> | 3 Punkte |
| Innerhalb von 6-30 Minuten  | <input type="radio"/> | 2 Punkte |
| Innerhalb von 31-60 Minuten | <input type="radio"/> | 1 Punkt  |
| Nach 60 Minuten             | <input type="radio"/> | 0 Punkte |

**2. Finden Sie es schwierig, an Orten, wo das Rauchen verboten ist, das Rauchen sein zu lassen?**

- |      |                       |          |
|------|-----------------------|----------|
| Ja   | <input type="radio"/> | 1 Punkt  |
| Nein | <input type="radio"/> | 0 Punkte |

**3. Auf welche Zigarette würden Sie nicht verzichten wollen?**

- |                     |                       |          |
|---------------------|-----------------------|----------|
| Die erste am Morgen | <input type="radio"/> | 1 Punkt  |
| Andere              | <input type="radio"/> | 0 Punkte |

**4. Wie viele Zigaretten rauchen Sie im Allgemeinen am Tag?**

- |             |                       |          |
|-------------|-----------------------|----------|
| Bis 10      | <input type="radio"/> | 0 Punkte |
| 11-20       | <input type="radio"/> | 1 Punkt  |
| 21-30       | <input type="radio"/> | 2 Punkte |
| mehr als 30 | <input type="radio"/> | 3 Punkte |

**5. Rauchen Sie am frühen Morgen im Allgemeinen mehr als am Rest des Tages?**

- |      |                       |          |
|------|-----------------------|----------|
| Ja   | <input type="radio"/> | 1 Punkt  |
| Nein | <input type="radio"/> | 0 Punkte |

**6. Kommt es vor, dass Sie Rauchen, wenn Sie krank sind und tagsüber im Bett bleiben müssten?**

- |      |                       |          |
|------|-----------------------|----------|
| Ja   | <input type="radio"/> | 1 Punkt  |
| Nein | <input type="radio"/> | 0 Punkte |

Deutsche Übersetzung des Fagerström Test for Nicotine Dependence  
(Heatherton et al. 1991).

## 7.2 ADHD-Checkliste-Erwachsenen nach DSM-IV

1.	Ich beachte häufig Einzelheiten nicht oder mache	0	1	2
2.	Flüchtigkeitsfehler bei der Arbeit.			
3.	Ich zappale häufig mit Händen oder Füßen oder	0	1	2
4.	rutsche auf dem Stuhl herum.			
5.	Ich habe oft Schwierigkeiten, längere Zeit die	0	1	2
6.	Aufmerksamkeit bei Aufgaben aufrecht zu halten.			
7.	Ich stehe in Situationen, in denen Sitzen bleiben	0	1	2
8.	erwartet wird, häufig auf.			
9.	Ich höre häufig nicht zu, wenn andere mich ansprechen.	0	1	2
10.	Ich fühle mich oft unruhig.	0	1	2
11.	Ich führe häufig Anweisungen anderer nicht vollständig durch	0	1	2
12.	und kann Arbeiten nicht zu Ende bringen.			
13.	Ich habe häufig Schwierigkeiten, mich mit Freizeitaktivitäten	0	1	2
14.	ruhig zu beschäftigen.			
15.	Ich habe häufig Schwierigkeiten, Aufgaben und	0	1	2
16.	Aktivitäten zu organisieren.			
17.	Ich bin häufig auf Achse oder fühle mich wie durch	0	1	2
18.	einen Motor angetrieben.			
19.	Ich vermeide häufig Aufgaben oder habe eine Abneigung	0	1	2
20.	gegen Aufgaben, die länger dauernde geistige Anstrengung			
21.	erfordern.			
22.	Ich rede häufig übermäßig viel.	0	1	2
23.	Ich verliere häufig Gegenstände, die für Aufgaben oder	0	1	2
24.	Aktivitäten benötigt werden.			
25.	14. Ich platze häufig mit der Antwort heraus, bevor die Frage	0	1	2
26.	zu Ende gestellt wird.			
27.	Ich lasse mich durch äußere Reize leicht ablenken.	0	1	2
28.	Ich kann nur schwer warten, bis ich an der Reihe bin.	0	1	2
29.	Ich bin bei Alltagsaktivitäten häufig vergesslich.	0	1	2
30.	Ich unterbreche oder störe häufig andere.	0	1	2

ADHD-Checkliste für Erwachsene nach DSM-IV (Sass et al. 2003).

0=nicht erfüllt, 1= teilweise erfüllt, 2= erfüllt.



## Danksagung

Herrn **Prof. Dr. G. Buchkremer** möchte ich für die Unterstützung bei dieser Arbeit danken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn **Prof. Dr. Anil Batra** für die gute Betreuung und Beratung während der Erstellung dieser Arbeit.

Ein herzliches Dankeschön geht an **Prof. Dr. Olaf Riess** und seinem gesamten Laborteam, in deren hilfsbereiter und freundlicher Atmosphäre ein angenehmes Laborforschen möglich war. Insbesondere möchte ich mich für die ausgesprochen freundschaftliche, motivierende und unermüdliche Unterstützung von **Dr. Peter Bauer** bedanken.

Bei allen statistischen Gedanken und Fragestellungen stand mir **Dr. Susan Collins** auf unersetzliche Weise ausdauernd mit Rat und Tat zur Seite, ohne deren Hilfe die Arbeit niemals diese Form hätte annehmen können.

Ein freundschaftliches Dankeschön geht weiterhin an **Frau (Dr. in spe) Martina Schröter**, die mir in vielen beratenden Stunden wertvolle Ideen geliefert hat.

**Lebenslauf:**

**Name:** Claudia Christine Bajinski

Geboren: 11. Juli 1972

In: Waiblingen

**Schulischer Werdegang**

1979-1982 Sommerrain-Grundschule Schornbach

1983-1988 Burg-Gymnasium Schorndorf

1989-1992 Maria-Merian-Gymnasium Waiblingen

1992 Abschluss Abitur

**Studium**

Sommersemester 1993 Beginn des Medizinstudiums an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Herbst 1995 Ärztliche Vorprüfung in Tübingen

Frühjahr 1998 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen

Herbst 1999 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen

03.11.2000 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen

**Ärztliche Tätigkeit**

13.11.2000 Ärztin im Praktikum an der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie in Tübingen

Seit 14.05.2002 Assistenzärztin an der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie in Tübingen